

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.06.007

论著·临床研究

多巴胺 D2 受体基因 rs4274224 多态性及家庭因素对学龄儿童节律性的影响

李玉玲¹ 恩和巴雅尔¹ 关宏岩²

(1. 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特 010022;
2. 首都儿科研究所儿童早期综合发展研究室, 北京 100020)

[摘要] **目的** 探讨多巴胺 D2 受体 (DRD2) 基因 rs4274224 多态性、家庭因素与学龄儿童节律性的关联及交互作用。**方法** 采用 8~12 岁儿童气质问卷 (MCTQ)、父母教养方式评价量表 (EMBU)、家庭亲密性与适应性量表 (FACES II -CV) 对儿童节律性、父母教养方式及家庭功能进行测评, 运用自动化 Mass Array SNP 基因分型技术分析 DRD2 基因 rs4274224 多态性。**结果** DRD2 基因 rs4274224 位点 AA 基因型儿童的节律性得分 (2.9 ± 0.6 分) 明显低于 GA/GG 基因型儿童 (3.1 ± 0.7 分), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。多元回归分析显示, 儿童性别、父亲文化程度、家庭适应性对儿童节律性得分有影响 ($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示, 影响儿童节律性高低的主要因素为家庭适应性、DRD2 基因 rs4274224 多态性与家庭适应性的交互作用, 高适应性家庭的儿童节律性更高 ($OR = 0.112, P < 0.01$), 家庭适应性低增加 AA 基因型儿童发生节律性问题的风险 ($OR = 21.554, P < 0.01$)。**结论** 家庭适应性及其与 rs4274224 的交互作用共同作用于儿童节律性。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(6): 501-505]

[关键词] 节律性; 气质; 基因多态性; 家庭适应性; 儿童

Effects of rs4274224 polymorphisms in the DRD2 gene and family factors on the regularity based on the temperament in school-age children

LI Yu-Ling, Enherbayaer, GUAN Hong-Yan. Institute of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Huhhot 010022, China (Email: liyuling137@163.com)

Abstract: Objective To study the effects of rs4274224 polymorphisms in the DRD2 gene, family factors and their interaction on the regularity in school-age children. **Methods** The rs4274224 polymorphisms were genotyped using Sequenom Mass Array. The regularity was assessed based on the Middle Childhood Temperament Questionnaire (MCTQ). The parental rearing pattern was assessed with Egna Minnen av Bardnodnauppforstran (EMBU). The family function was assessed using Family Cohesion and Adaptability Scale (FACES II-CV). **Results** The regularity score in children with AA genotype of rs4274224 in the DRD2 gene was significantly lower than in those with GA/GG genotype (2.9 ± 0.6 vs 3.1 ± 0.7 ; $P < 0.05$). The results of multiple regression analysis showed that the regularity was related to child gender, father's education level and family adaptability. The results of logistic regression analysis showed that the main factors influencing the regularity were family adaptability and its interaction with rs4274224 polymorphisms. The regularity was better in children with high family adaptability than in those with low family adaptability ($OR = 0.112, P < 0.01$). The children with AA genotype and low family adaptability were tend to be associated with low regularity ($OR = 21.554, P < 0.01$). **Conclusions** The regularity based the temperament for school-age children might be influenced by family adaptability and its interaction with rs4274224 polymorphisms.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(6): 501-505]

Key words: Regularity; Temperament; Genetic polymorphism; Family adaptability; Child

[收稿日期] 2016-02-04; [接受日期] 2016-03-15

[基金项目] 国家自然科学基金 (31260265; 30960167); 内蒙古师范大学校科研基金 (2013ZRYB21)。

[作者简介] 李玉玲, 女, 博士, 教授。

在 Carey 儿童气质系列量表中, 节律性 (regularity) 是儿童气质特点的主要维度之一, 在儿童早期主要表现在饥饿、睡眠等生理活动是否有规律; 对 8~12 岁学龄儿童而言, 节律性被可预见性/组织性所替代, 其含义不再是问题生理活动的节律性, 而是指儿童在日常学习和生活中的规律性、条理性、组织性, 如作决定时有困难, 对食物的选择每天有所不同, 外出玩时能按时回家^[1]。故该年龄段儿童的节律性亦可用“可预见性/组织性”替代。节律性存在族群和个体差异性, 受到遗传与环境两方面因素影响^[2]。国外追踪研究发现, 与其他气质维度相比, 节律性的稳定性相对较差^[3]。国内近期有关气质的双生子研究发现, 学龄儿童节律性的遗传度为中等水平 (男 46.26%, 女 60.65%)^[4]。

早期儿童气质是成年人格特质的组成部分, 与成年人人格特征相关的基因也有可能影响儿童气质。位于第 11 号染色体长臂 2 区 2 带至 3 带区域 (11q22-23) 的多巴胺 D2 受体 (DRD2) 基因, 是近年来研究较多的影响人格特征的候选基因之一。有研究发现, DRD2 基因与猎奇性^[5]、趋避性^[5]、情绪特性^[6]、攻击性^[6]、奖赏性依赖^[7] 等人格特征有关。Pecina 等^[7] 报道, DRD2 的 rs4274224、rs4581480 基因多态性与奖赏性依赖和内隐情绪等过程有关, 尤以 rs4274224 作用更为明显。Huang 等^[8] 研究发现, DRD2 的 rs4274224、rs7131056、rs4648318 和 rs6278 各基因位点与尼古丁成瘾行为仅存在弱相关, 且其关联性大小可能存在一定的种群差异。目前国内外对儿童气质的同类研究较少^[9-11], 有关儿童节律性的相关研究更为罕见。

小学中高年级是儿童身心发展的关键时期, 其节律性的发展对社会适应能力、学业发展等具有重要影响。本研究以 8~12 岁学龄儿童为研究对象, 以 DRD2 基因 rs4274224 多态性为遗传标记, 探讨家庭因素及遗传因素对儿童节律性的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

随机整群抽取内蒙古呼和浩特市某小学 150 名 8~12 岁学龄儿童进行问卷调查和口腔上皮采集, 被试均身心发育正常, 无明显的行为心理疾病和

精神异常, 家中无精神病患者。剔除资料不全者, 共收回有效问卷 137 份 (回收率为 91.3%), 选取其中 128 例口腔上皮含量较高的样本进行分子生物学测试, 最终获得各组资料齐全样本 122 例, 其中男 63 例, 平均年龄 9.9 ± 1.3 岁; 女 59 例, 平均年龄 9.5 ± 1.3 岁。本研究在征得学校、家长、儿童知情同意后进行。

1.2 研究方法

(1) 问卷调查及测评: ①家庭一般情况调查: 由父母填写家庭一般情况调查问卷, 问卷中包括儿童性别、年龄、父母生育年龄、父母职业及文化程度、家庭人均收入等。其中父母职业分为: 企事业 (包括机关干部、公务员、知识分子、公司白领)、在职工人、个体职业、无业待业及其他 (包括下岗工人、服务人员、待业及无业人员等) 4 组; 父母文化程度分为本科及以上、大专、高中及中专、初中及以下 4 组。②儿童气质及节律性测评: 采用 Carey 等编制并经标准化的 8~12 岁儿童气质问卷 (Middle Childhood Temperament Questionnaire, MCTQ) 对儿童气质进行测评, 计算儿童节律性得分, 问卷由家长填写, 得分越高, 表明节律性弱^[1]。③父母教养方式测评: 使用修订版父母教养方式量表 (EMBU) 对家庭教养方式进行粗分^[11,12]。④家庭功能测评: 使用第三次修订的中文版家庭亲密度及适应性量表 (FACES II -CV) 计算家庭亲密度和适应性得分^[11,13]。经信度和效度检验后认定 MCTQ、EMBU、FACES II -CV 量表均具有较高的信度和效度及内部一致性。

(2) DNA 提取与基因型测定: 采集被试口腔上皮细胞, 采用 TIANamp Swab DNA Kit (TIANGEN BIOTECH, Beijing) 试剂盒提取全基因组 DNA。检索与 DRD2 基因相关的单核苷酸多态性位点, 采用 Sequenom Mass Array System (Sequenom iPLEX Assay, San Diego, CA) 测定多态性位点基因型, 其主要步骤为: 提取 15 ng 全基因组 DNA 进行多重聚合酶链式反应 (PCR), 设计 DRD2 基因 PCR 引物: 正向 5'-ACGTTGGATGAGCTCATTGTCACCTCCGAG-3', 反向 5'-ACGTTGGATGTACCCAGCTCCTTACCAATC-3'; PCR 反应体系为: 1 × PCR 反应缓冲液, 0.5 × PCR Enhancer Solution (Life Technology), 引物 0.2 μM, DNA 聚合酶 2.5 U, dNTP 0.2 mM, 每个样本反应体系为 25 μL。反应条件为: 95 °C

30 s, 60°C 30 s, 68°C 1 min, 共 35 个循环。利用 PCR 扩增后的产物进行基因座专一的单碱基延伸反应,并用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱进行分析。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理与分析。单因素分析采用独立样本 *t* 检验或单因素方差分析;多因素分析采用多元线性回归分析和 logistic 回归分析。回归分析时,将节律性得分标准化(标准化参照全国常模^[14]进行),以 0 为界限将被试划分为“高”“低”两组,得分 >0 为“高”,得分 <0 为“低”;依据第 3 版 FACES II -CV 常模^[1,13]将家庭适应性得分以 50.9 分为界划为“高”“低”两组;并将父亲/母亲文化程度分为“高”“低”两组(大学及以上为“高”,大学以下为“低”)。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡的吻合度检验

对 DRD2 基因 rs4274224 位点进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验。结果显示,该位点的基因型(AA、GA、GG)期望值与观测值吻合很好($\chi^2=1.265, P>0.05$),符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。

按性别、不同气质类型、父亲/母亲文化程度、家庭适应性类型等家庭环境因素分组比较 rs4274224 位点基因型分布情况,结果表明被试的基因型与性别、气质类型、父亲/母亲文化、家庭适应性类型等环境因素均无显著相关。

2.2 DRD2 基因 rs4274224 多态性与儿童节律性的关系

DRD2 基因 rs4274224 位点 AA 基因型儿童的节律性得分(2.9±0.6分)明显低于 GA/GG 基因型儿童(3.1±0.7分)(*t*=2.370, *P*<0.05)。由于 rs4274224 的 GG 基因型出现次数很少,因此将 GG 基因型与 GA 基因型进行了合并,下同。

2.3 儿童节律性影响因素的单因素分析

以儿童节律性为因变量,以可能影响儿童节律性的儿童性别、儿童年龄、父母文化程度、父母婚姻状况、家庭结构、家庭人均收入、家庭重

大事件的发生、家庭亲密度、家庭适应性、教养方式等家庭因素为自变量,进行儿童节律性影响因素的单因素分析,结果显示,儿童性别、父亲职业、母亲职业、父亲文化程度、家庭适应性对儿童节律性有影响,其中女童、父亲职业为企事业、母亲职业为企事业、父亲文化程度高、家庭适应性高者节律性强,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见表 1。

表 1 儿童节律性影响因素的单因素分析

因素	例数	节律性得分 ($\bar{x} \pm s$)	F 值	P 值
儿童性别				
男	63	3.1 ± 0.6	3.160	0.002
女	59	2.8 ± 0.6		
父亲职业				
企事业	21	2.6 ± 0.6	3.573	0.016
在职工人	26	3.0 ± 0.6		
个体	33	3.2 ± 0.6		
无业及其他	42	2.9 ± 0.6		
母亲职业				
企事业	19	2.6 ± 0.7	3.589	0.016
在职工人	18	3.0 ± 0.6		
个体	27	3.2 ± 0.6		
无业及其他	58	3.0 ± 0.6		
父亲文化程度				
初中及以下	49	3.1 ± 0.6	5.225	0.002
高中/中专	35	3.0 ± 0.5		
大专	29	2.9 ± 0.7		
本科及以上	9	2.3 ± 0.4		
家庭适应性				
僵硬	33	3.2 ± 0.5	3.147	0.028
有规律	50	3.0 ± 0.6		
灵活	31	2.8 ± 0.6		
无规律	8	2.6 ± 0.5		

2.4 儿童节律性影响因素的多元回归分析

以儿童节律性为因变量,以单因素分析中儿童性别、父亲职业、母亲职业、父亲文化程度、家庭适应性等 5 项具有统计意义的环境因素为自变量进行多元回归分析。在多元回归分析前,先检验各自变量间是否存在多重共线性,检验结果显示,各自变量的方差膨胀因子(VIF)值均小于 10,对应的容差水平(Tolerance)值亦大于 0.1,

表明各自变量之间不存在多重共线性。多元回归分析表明，与儿童节律性有统计学意义的相关变量包括儿童性别、父亲文化程度、家庭适应性 ($P < 0.05$)，见表 2。

表 2 儿童节律性影响因素的多元回归分析结果

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	<i>b'</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
儿童性别	-0.346	0.105	-0.283	-3.306	0.001
父亲文化程度	-0.144	0.056	-0.230	-2.586	0.011
家庭适应性	-0.017	0.008	-0.183	-2.059	0.042
常数项	4.072	0.389		10.459	<0.001

注： $R^2=0.189$ ， $F=8.624$ ， $P<0.001$ ， DW (Durbin-Watson) =2.003。

2.5 DRD2 基因 rs4274224 多态性与环境交互作用对儿童节律性的影响

为进一步分析性别、父亲文化程度高低 (分为“高”“低”两组)、家庭适应性高低 (分为“高”“低”两组)、rs4274224 多态性对儿童节律性高低的影响，分别以上述各变量及各变量间的交互作用为预测变量，以标准化分组 (即“高”“低”两组) 后的节律性为因变量，运用 LR 向后逐步法进行 logistic 回归分析。结果显示 (表 3)，家庭适应性、rs4274224 多态性与家庭适应性的交互作用对儿童节律性的 logistic 回归模型成立 ($\chi^2=25.719$ ， $df=4$ ， $P<0.05$)。Hosmer-Lemeshow 检验不显著 ($\chi^2=0.126$ ， $P>0.05$)。家庭适应性的

主效应对儿童节律性影响显著，结合表 1 可见，高适应性家庭的儿童节律性得分更低，即节律性更高 ($OR=0.112$ ， $P<0.01$)；rs4274224 多态性与家庭适应性的交互作用对儿童节律性有显著影响 ($OR=21.554$ ， $P<0.01$)。从交互作用图上可以看出 (图 1)，携带 G 等位基因的儿童节律性得分均较高，但在 AA 基因型儿童中，家庭适应性低者其节律性得分明显高于家庭适应性高的儿童。

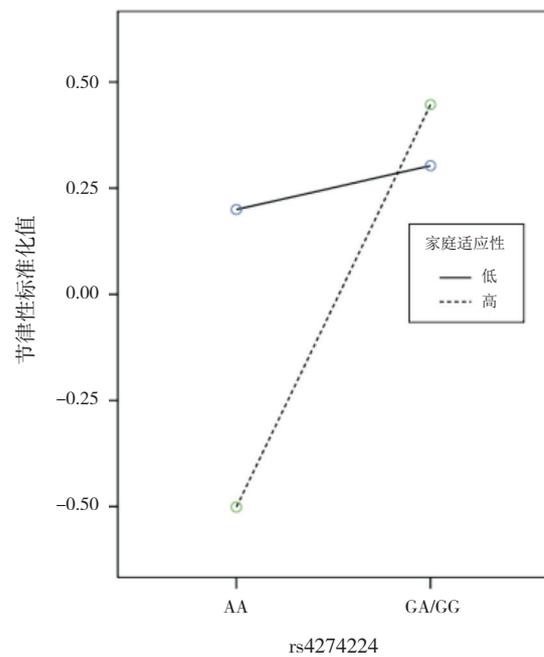


图 1 rs4274224 与家庭适应性的交互作用对节律性的影响

表 3 rs4274224 多态性、性别、家庭适应性、父亲文化程度对儿童节律性的影响

变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%CI	
						下限	上限
家庭适应性	-2.187	0.813	7.228	0.007	0.112	0.023	0.553
rs4274224 × 家庭适应性	3.071	1.018	9.098	0.003	21.554	2.931	158.515
家庭适应性 × 性别	1.464	0.931	2.474	0.116	4.324	0.698	26.808
父亲文化程度 × 性别	-22.313	14924.627	0.000	0.999	0.000	0.000	0.000
常数项	0.458	0.229	3.980	0.046	1.581		

3 讨论

儿童的气质是人格发展的基础。作为早期出现的个性特征，气质具有相对稳定性，但也受各种因素的影响。有人认为气质类型与儿童的心理行为发展密切相关，气质在一定程度上决定了儿

童行为发展的倾向^[14]。难养型儿童更容易发生品行问题、心身障碍、多动、焦虑、学习障碍等问题。气质特征通过环境因素对儿童的行为产生影响，即儿童的行为表现是其自身的气质特征与环境因素相互作用的结果。因此，遗传与环境因素对气质的影响^[3-4,9]以及气质与行为的关系研究^[15]一直

是儿童气质相关研究的热点问题。

目前有关儿童气质与DRD2基因的相关性研究较为少见,结论也存在不一致性。Nyman等^[16]对注意力缺陷多动障碍(ADHD)儿童的气质研究发现,DRD2基因的rs1079727、rs1800497与女孩的低坚持性有关。Dragan等^[17]发现DRD2基因的rs1799732、ANKK1基因的rs1800497与儿童气质的反应敏感性均无相关性。近期恩和巴雅尔等^[11]发现DRD2基因的rs1079595与学龄儿童的注意分散度密切相关。研究结果的不一致性除与多态性位点的不同有关外,研究样本的差异以及儿童气质测评方法的多样性也增加了相关研究的复杂性。

本研究采用Carey的MCTQ问卷法对儿童气质的节律性进行测评,发现节律性与DRD2基因rs4274224多态性有关,携带G等位基因的儿童节律性得分较高,节律性较差。此外,本研究未发现年龄对节律性的影响;但性别对节律性影响明显,女童节律性高于男童,与以往研究结论一致^[14]。

本研究发现,家庭适应性对儿童节律性发展影响较大,高适应性家庭,即灵活性较强的家庭儿童节律性较好。rs4274224多态性与家庭适应性的交互作用对儿童节律性也有显著影响,携带G等位基因的儿童节律性均较差,但对AA基因型儿童而言,低适应性家庭儿童的节律性明显低于高适应性家庭的儿童,即家庭的低适应性掩盖了AA基因型对儿童节律性的保护作用,增加了其发生节律性问题的可能性。这一结果进一步提示家长,为了更好地促进儿童节律性的发展,应为儿童创设适应性较强的、即有一定灵活性的家庭环境,僵硬呆板的家庭环境不利于儿童节律性的发展。

综合本研究结果可见,rs4274224基因多态性与儿童节律性存在关联,AA基因型儿童的节律性更高;儿童节律性发展呈现性别差异,女童明显优于男童;影响学龄儿童节律性的主要家庭因素为父亲文化程度和家庭适应性;rs4274224多态性与家庭适应性存在交互作用,家庭适应性低会增加AA基因型儿童发生节律性问题的风险。因此,家长和教育工作者应结合儿童性别、家庭环境和遗传背景,有针对性地引导其节律性更好发展。

[参 考 文 献]

[1] 张劲松,许积德.心理卫生综合评定量表[M]//汪向东,王希

- 林,马弘,等.心理卫生评定手册(增订版).北京:中国心理卫生杂志社,1999:65-68.
- [2] Windle M, Wiesner M, Elliott MN, et al. The abbreviated dimensions of temperament survey: factor structure and construct validity across three racial/ethnic groups[J]. *J Pers Assess*, 2015, 97(5): 515-524.
- [3] Novosad C, Thoman EB. Stability of temperament over the childhood years[J]. *Am J Orthopsychiatry*, 1999, 69(4): 457-464.
- [4] 关宏岩,李玉玲,郑玉娜,等.学龄儿童气质遗传的双生子研究[J].*中国儿童保健杂志*, 2012, 20(10): 875-877.
- [5] Teh LK, Izuddin AF, M H FH, et al. Tridimensional personalities and polymorphism of dopamine D2 receptor among heroin addicts[J]. *Biol Res Nurs*, 2012, 14(2): 188-196.
- [6] 陈念劬. DRD2/A-241G基因多态性对儿童气质情绪特性与攻击行为关系的调节作用[D].上海:上海师范大学,2014.
- [7] Pecina M, Mickey BJ, Love T, et al. DRD2 polymorphisms modulate reward and emotion processing, dopamine neurotransmission and openness to experience[J]. *Cortex*, 2013, 49(3): 877-890.
- [8] Huang W, Payne TJ, Ma JZ, et al. Significant association of ANKK1 and detection of a functional polymorphism with nicotine dependence in an African-American sample[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(2): 319-330.
- [9] Wiebe SA, Espy KA, Stopp C, et al. Gene-environment interaction across development: exploring DRD2 genotype and prenatal smoking effects on self regulation [J]. *Dev Psych*, 2009, 45(1): 31-44.
- [10] 马静,黄春香,皮丕湘,等.多巴胺D2受体基因/ANKK1TaqIA多态性与小婴儿气质[J].*中国当代儿科杂志*, 2010, 12(2): 106-109.
- [11] 恩和巴雅尔,李玉玲,关宏岩,等. DRD2基因rs1079595多态性对学龄儿童注意分散度的影响[J].*中国当代儿科杂志*, 2015, 17(3): 270-274.
- [12] 岳冬梅,李鸣果,金魁和,等.父母教养方式:EMBU的初步修订及其在神经症患者中的应用[J].*中国心理卫生杂志*, 1993, 7(3): 97-101.
- [13] 费立鹏,沈其杰,郑延平,等.“家庭亲密度和适应性量表”和“家庭环境量表”的初步评价—正常家庭与精神分裂症家庭成员对照研究[J].*中国心理卫生杂志*, 1991, 5(5): 198-202.
- [14] 赵曼,张玉柱,恩和巴雅尔,等.学龄双生子儿童气质特点及其影响因素[J].*内蒙古师范大学学报(自然科学汉文版)*, 2014, 43(1): 66-71.
- [15] 杜霞,李玉玲,张玉柱,等.学龄双生子儿童心理行为问题及其影响因素[J].*中国当代儿科杂志*, 2015, 17(12): 1286-1291.
- [16] Nyman ES, Loukola A, Varilo T, et al. Sex-specific influence of DRD2 on ADHD-type temperament in a large population-based birth cohort[J]. *Psychiatr Genet*, 2012, 22 (4): 197-201.
- [17] Dragan WL, Oniszczenko W, Czerski PM, et al. Dopamine genes and sensory sensitivity as a temperamental trait: a family-based association study[J]. *J Individ Differ*, 2012, 33(4): 205-211.

(本文编辑:邓芳明)