

2型糖尿病及糖耐量减低者外周血白细胞端粒长度及影响因素

刘茶珍^{1a}, 阮晔^{1b}, 朱佩云^{1a}, 葛军², 孟健², 王文静^{1a}

摘要:

[目的] 探讨糖尿病发展过程中外周血白细胞端粒长度的变化及其影响因素。

[方法] 以2012—2014年上海市杨浦区市东医院招募的387例志愿者为研究对象, 其中2型糖尿病(T2DM)患者65例、糖耐量减低(IGT)者112例、正常对照210例, 进行问卷调查、体格检查和血液生化指标检测, 提取外周血白细胞基因组DNA, 采用实时荧光定量PCR法检测端粒长度。采用多元线性回归分析影响端粒长度变化的因素。

[结果] T2DM组和IGT组的体质指数、空腹血糖、餐后2h血糖、糖化血红蛋白均高于对照组, 但其端粒相对长度分别为 0.70 ± 0.09 和 0.88 ± 0.10 , 均低于对照组(1.06 ± 0.22)(均 $P < 0.05$)。多元线性回归分析显示: T2DM组的年龄、体质指数、空腹血糖和餐后2h血糖与端粒相对长度呈负相关($b = -0.042$ 、 -0.006 、 -0.037 、 -0.034 , 均 $P < 0.05$); IGT组的年龄和餐后2h血糖与端粒相对长度呈负相关($b = -0.041$ 、 -0.042 , 均 $P < 0.05$)。

[结论] 端粒长度缩短可能是T2DM发生的一个危险因素。端粒长度缩短不仅受到年龄和体质指数的影响, 而且受到血糖水平的影响。

关键词: 2型糖尿病; 糖耐量减低; 端粒长度; 年龄; 体质指数

引用: 刘茶珍, 阮晔, 朱佩云, 等. 2型糖尿病及糖耐量减低者外周血白细胞端粒长度及影响因素[J]. 环境与职业医学, 2018, 35(7): 634-637. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.17655

Telomere length of peripheral white blood cells and its influencing factors in patients with type 2 diabetes mellitus or impaired glucose tolerance LIU Cha-zhen^{1a}, RUAN Ye^{1b}, ZHU Pei-yun^{1a}, GE Jun², MENG Jian², WANG Wen-jing^{1a} (1.a.Functional Medicine Laboratory b.Department of Elderly Health, Division of Chronic Non-Communicable Disease and Injury Prevention, Shanghai Municipal Center of Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China; 2. Department of Endocrinology, Shidong Hospital of Yangpu District, Shanghai 200438, China). Address correspondence to WANG Wen-jing, E-mail: wangwenjing@scdc.sh.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To study the change and influencing factors of telomere length of peripheral white blood cells in the development of diabetes mellitus.

[Methods] A total of 387 volunteers were recruited from Shidong Hospital of Yangpu District from 2012 to 2014, including 65 type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients, 112 impaired glucose tolerance (IGT) patients, and 209 control subjects. Questionnaire survey, physical examination, and blood biochemical test were conducted. DNA from peripheral white blood cells were extracted to measure telomere length by real-time fluorescence quantitative PCR. Multiple linear regression analysis was performed to analyze the factors influencing telomere length.

[Results] The body mass index, fasting plasma glucose, 2-hour postprandial plasma glucose, and hemoglobin A1c in the subjects with T2DM or IGT were higher than those in the control subjects, while relative telomere length was shorter (T2DM patients: 0.70 ± 0.09 , IGT patients: 0.88 ± 0.10 , controls: 1.06 ± 0.22 , $P < 0.05$). The results of multiple linear regression analysis showed that age, body mass index, fasting plasma glucose, and 2-hour postprandial plasma glucose were negatively correlated with relative telomere

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 上海市第四轮公共卫生三年行动计划慢病重点学科(编号: 15GWZK0801); 上海市第四轮公共卫生三年行动计划(编号: GWIV-22)

[作者简介] 并列第一作者。刘茶珍(1968—), 女, 博士, 主任医师; 研究方向: 慢性病分子流行病学; E-mail: liuchazhen@scdc.sh.cn。阮晔(1977—), 女, 博士, 副主任医师; 研究方向: 慢性病防治; E-mail: ruanye@scdc.sh.cn

[通信作者] 王文静, E-mail: wangwenjing@scdc.sh.cn

[作者单位] 1. 上海市疾病预防控制中心慢性非传染病与伤害防治所 a. 功能医学实验室 b. 老年健康科, 上海 200336; 2. 杨浦区市东医院内分泌科, 上海 200438

length in the T2DM group ($b=-0.042, -0.006, -0.037, -0.034, P_s<0.05$), while age and 2-hour postprandial plasma glucose were negatively correlated with relative telomere length in the IGT group ($b=-0.041, -0.042, P_s<0.05$).

[Conclusion] Short telomere length might be a risk factor of T2DM. Telomere shortening is affected not only by age and body mass index, but also by blood glucose level.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; impaired glucose tolerance; telomere length; age; body mass index

Citation: LIU Cha-zhen, RUAN Ye, ZHU Pei-yun, et al. Telomere length of peripheral white blood cells and its influencing factors in patients with type 2 diabetes mellitus or impaired glucose tolerance[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2018, 35(7): 634-637. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.17655

端粒是位于真核细胞染色体两端的帽状结构,由富含鸟氨酸的串联重复序列(TTAGGG)组成,主要通过防止染色体末端融合及降解,避免复制过程中遗传信息丢失,来维护染色体的完整性和稳定性。端粒被认为是细胞有丝分裂的“生物钟”。由于细胞是末端复制,每分裂一次,端粒就缩短20~200 bp,当细胞端粒缩短到5~7 kb时,细胞就不再分裂,在形态和功能上表现出衰老的特征。因此,端粒长度常作为细胞衰老的生物学标志。

由于老龄化和城市化趋势严重,上海市糖尿病患病率和死亡率均高于全国水平,且呈快速上升趋势^[1-4]。2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是由遗传和环境因素共同作用而引起的一组以糖代谢紊乱为主要表现的常见慢性病。糖尿病前期糖耐量减低(impaired glucose tolerance, IGT)是糖耐量正常和糖尿病之间的特殊代谢状态,是发展成糖尿病的过渡阶段,在IGT阶段已出现胰岛素抵抗和高胰岛素血症。糖尿病危险因素可通过端粒依赖途径引起胰岛 β 细胞衰老和凋亡,导致糖尿病的发生。T2DM及并发症患者中外周血白细胞端粒长度会缩短,但糖尿病前期是否同样出现端粒缩短现象鲜有报道。为此,本研究采用病例对照设计,以T2DM及IGT者为研究对象,探讨T2DM发展过程中外周血白细胞端粒长度的变化及其影响因素。

1 对象与方法

1.1 研究对象

根据《中国2型糖尿病防治指南(2007年版)》^[5]中的糖尿病诊断标准,将2012—2014年上海市杨浦区市东医院招募的387例志愿者全部纳入为研究对象,其中T2DM患者65例、IGT者112例、正常对照210例。所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 内容与方法

1.2.1 问卷调查、体格检查和血液生化指标检测 问卷

调查内容主要包括人口学信息、既往疾病史、家族史、吸烟、饮酒和体力活动等情况。测量研究对象的身高、体重、腰围、臀围和血压值等。计算腰臀比和体质量指数(body mass index, BMI),腰臀比=腰围(cm)/臀围(cm),BMI=体重(kg)/身高²(m²)。

血液生化指标检测:清晨抽取过夜空腹外周静脉血5 mL,检测空腹血糖、血脂和糖化血红蛋白水平;服用75 g无水葡萄糖粉后测定餐后30 min、120 min血糖。采用葡萄糖氧化酶法测定血糖水平;采用酶法测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、血肌酐水平;采用高效液相色谱法测定糖化血红蛋白。

1.2.2 外周血白细胞基因组DNA的提取 采用全血基因组提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司,中国]提取外周血白细胞DNA。严格按说明书操作,DNA的 D_{260}/D_{280} 均在1.80~2.00。全部DNA使用质量浓度为10 ng/ μ L。

1.2.3 端粒相对长度检测 使用实时荧光定量PCR技术检测各组端粒重复拷贝数(T)和单拷贝基因 β -globin的拷贝数(S),运用T/S值来评估端粒相对长度。使用ABI7900HT荧光定量PCR仪(ABI公司,美国)扩增DNA,扩增体系的总体积为10 μ L。端粒和单拷贝基因的引物序列如下:Telomere-F: 5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTAGTGT-3', Telomere-R: 5'-TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA-3'; β -globin-F: 5'-GCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGC-3'; β -globin-R: 5'-CACCAACTT CATCCACGTTCCACC-3'。端粒扩增条件为:95℃预变性15 min,1个循环;95℃变性15 s,56℃退火30 s,72℃延伸30 s,总共40个循环。单拷贝 β -globin基因扩增条件为:95℃预变性15 min,1个循环;95℃变性15 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,总

共40个循环。使用溶解曲线检测扩增反应的特异性。

1.3 统计学分析

使用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。采用多元线性回归法分析端粒相对长度的影响因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象的一般情况、体格指标和血液生化指标

T2DM组、IGT组与对照组在年龄、腰臀比、收缩压、舒张压、HDL-C、LDL-C、TC和TG上的差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。3组的男性比例分别是24.6%、26.8%和24.4%,差异无统计学意义($\chi^2=0.179$, $P=0.914$)。但T2DM组和IGT组的BMI、空腹血糖、餐后2h血糖、糖化血红蛋白均高于对照组(均 $P<0.05$),T2DM组的HDL-C、血肌酐低于对照组(均 $P<0.05$)。见表1。

表1 T2DM组、IGT组和对照组的一般情况、体格指标和血液生化指标($\bar{x} \pm s$)

指标	T2DM组 (<i>n</i> =65)	IGT组 (<i>n</i> =112)	对照组 (<i>n</i> =210)	<i>F</i>	<i>P</i>
年龄	59.9 ± 5.1	60.1 ± 4.4	60.6 ± 3.7	0.837	0.434
体质量指数(kg/m ²)	26.84 ± 2.96*	26.41 ± 3.06*	25.18 ± 3.19	9.375	<0.001
腰臀比	90.73 ± 7.16	89.53 ± 6.04	89.12 ± 6.44	1.450	0.236
收缩压(mmHg)	135.34 ± 17.51	137.05 ± 17.52	133.48 ± 15.66	1.659	0.192
舒张压(mmHg)	83.79 ± 9.44	82.93 ± 8.53	81.58 ± 9.67	1.168	0.200
空腹血糖(mmol/L)	6.75 ± 1.16*#	5.50 ± 0.68*	4.92 ± 0.58	153.700	<0.001
餐后2h血糖(mmol/L)	13.50 ± 2.78*#	8.93 ± 0.88*	6.04 ± 1.07	668.370	<0.001
糖化血红蛋白(%)	6.89 ± 0.77*#	6.11 ± 0.43*	5.79 ± 0.31	146.430	<0.001
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.21 ± 0.28*#	1.40 ± 0.72	1.37 ± 0.47	2.775	0.064
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.48 ± 0.98	3.39 ± 0.92	3.39 ± 0.89	0.279	0.757
总胆固醇(mmol/L)	5.72 ± 1.12	5.52 ± 1.00	5.50 ± 0.99	1.202	0.302
三酰甘油(mmol/L)	2.04 ± 1.20	2.12 ± 1.30	2.05 ± 1.67	0.091	0.913
血肌酐(μmol/L)	63.76 ± 22.01*	66.69 ± 16.12*	71.78 ± 16.98	6.310	0.002

[注]*:与对照组比较, $P<0.05$ 。#:与IGT组比较, $P<0.05$ 。

2.2 端粒相对长度比较

通过计算检测样品的T/S_{检测}与参照样品的T/S_{参考}之比,得到T2DM组、IGT组和对照组的平均端粒相对长度为 0.70 ± 0.09 、 0.88 ± 0.10 和 1.06 ± 0.22 。不论性别和年龄,T2DM组和IGT组的平均端粒相对长度均低于对照组(均 $P<0.05$),T2DM组的平均端粒相对长度也低于IGT组(均 $P<0.05$)。3组研究对象均呈现 ≥ 60 岁组的端粒相对长度短于 <60 岁组,只在对照组中发现女性端粒相对长度长于男性(均 $P<0.05$)。见表2。

表2 T2DM组、IGT组和对照组端粒相对长度比较

	T2DM组(<i>n</i> =65)	IGT组(<i>n</i> =112)	对照组(<i>n</i> =210)	<i>F</i>	<i>P</i>
总计	$0.70 \pm 0.09^{*#}$	$0.88 \pm 0.10^{*}$	1.06 ± 0.22	118.56	<0.001
性别					
男	$0.68 \pm 0.11^{*#}$	$0.85 \pm 0.10^{*}$	1.00 ± 0.18	30.91	<0.001
女	$0.70 \pm 0.08^{*#}$	$0.87 \pm 0.10^{*}$	1.08 ± 0.23	87.74	<0.001
<i>F</i>	2.47	0.68	4.25		
<i>P</i>	0.12	0.41	0.04		
年龄(岁)					
<60	$0.78 \pm 0.04^{*#}$	$0.97 \pm 0.04^{*}$	1.26 ± 0.22	107.41	<0.001
≥ 60	$0.64 \pm 0.06^{*#}$	$0.80 \pm 0.55^{*}$	0.94 ± 0.10	195.68	<0.001
<i>F</i>	314.51	92.76	210.74		
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001		

[注]*:与对照组比较, $P<0.05$;#:与IGT组比较, $P<0.05$ 。

2.3 端粒相对长度的影响因素分析

以端粒相对长度为因变量,年龄、腰臀比、BMI、收缩压、舒张压、空腹血糖、餐后2h血糖、糖化血红蛋白、血肌酐、HDL-C、LDL-C、TC、TG为自变量,建立多元线性回归模型。T2DM组的结果显示,腰臀比、收缩压、舒张压、糖化血红蛋白、血肌酐、HDL-C、LDL-C、TC、TG与端粒相对长度之间不相关(均 $P>0.05$),而年龄、BMI、空腹血糖、餐后2h血糖与端粒相对长度呈负相关(均 $P<0.05$),年龄越大,BMI、空腹血糖、餐后2h血糖水平越高,端粒相对长度越短。IGT组的结果显示,腰臀比、收缩压、舒张压、糖化血红蛋白、血肌酐、HDL-C、LDL-C、TC、TG与端粒相对长度之间不相关(均 $P>0.05$),而年龄和餐后2h血糖与端粒相对长度呈负相关($P<0.05$),年龄越大,餐后2h血糖水平越高,端粒相对长度越短。见表3。

表3 T2DM组和IGT组端粒相对长度影响因素的多元线性回归分析

	<i>b</i>	<i>S_b</i>	95%CI	<i>t</i>	<i>P</i>
IGT组					
常量	4.086	0.192	3.708~4.465	21.257	<0.001
年龄	-0.041	0.002	-0.044~-0.038	-24.075	<0.001
餐后2h血糖	-0.042	0.005	-0.051~-0.034	-9.436	<0.001
T2DM组					
常量	4.103	0.218	3.673~4.533	18.801	<0.001
年龄	-0.042	0.002	-0.046~-0.038	-20.663	<0.001
体质量指数	-0.006	0.003	-0.012~-0.001	-2.251	0.025
空腹血糖	-0.037	0.011	-0.059~-0.015	-3.293	0.001
餐后2h血糖	-0.034	0.004	-0.041~-0.027	-9.187	<0.001

3 讨论

端粒的作用在糖尿病研究领域越来越受到重视。T2DM是一种增龄性疾病,随着年龄的增长,T2DM的发病风险随之增加,是由于随着年龄的增长,端粒长度也随之缩短,胰岛 β 细胞功能衰退导致糖尿病的发生。目前研究显示,不仅1型糖尿病(type

1 diabetes mellitus, T1DM)患者端粒长度缩短,而且T2DM人群端粒长度也缩短^[6-7]。本研究发现,端粒的缩短不仅在T2DM状态,在糖尿病前期IGT者中外周血白细胞端粒长度也低于正常组,呈现T2DM<IGT<对照的趋势。可见端粒缩短是T2DM重要的特征之一,在糖尿病的发生发展过程中起到重要的作用。T2DM及IGT患者端粒长度缩短可能是由于氧化应激反应所致^[7-8],因为端粒富含的鸟嘌呤极易受到氧化应激反应的影响而导致端粒长度的缩短^[9-10]。

本研究以端粒长度为因变量,以端粒长度变化的影响因素为自变量,进行多元线性回归分析,T2DM组结果显示:年龄、BMI、空腹血糖和餐后2h血糖与端粒长度呈负相关,IGT组结果显示年龄和餐后2h血糖与端粒长度呈负相关。结果表明高血糖是导致端粒长度缩短的重要因素,其原因可能是慢性高血糖增加机体氧化应激负荷,引起胰岛 β 细胞凋亡,导致胰岛 β 细胞数量减少,端粒缩短。魏盈盈等^[11]和黄成虎等^[12]研究发现T2DM患者通过药物干预后,其端粒长度增加,而血糖控制不佳者会加重端粒长度的缩短程度^[13]。以上研究表明,有效的药物干预可使端粒长度增加,良好的血糖控制可减缓端粒的缩短程度。此外,本次研究也证实年龄是决定端粒长度的重要因子,这与MONAGHAN^[14]的发现相同。BUXTON等^[15]的研究发现,端粒长度与代谢综合征关系密切,表现为肥胖患者端粒长度明显缩短。肥胖导致端粒缩短的机制之一是肥胖所造成的高胰岛素血症和胰岛素抵抗会造成氧化应激,直接导致端粒的磨损^[16]。肥胖会增加体内的氧化应激程度^[10],导致胰岛细胞被破坏,产生和加重糖尿病病情。本研究T2DM组的多元线性回归分析结果也表明,BMI的增加会导致端粒长度的缩短。

综上所述,本研究发现端粒长度缩短是发生T2DM的一个危险因素。端粒长度变化及其影响因素的研究将对糖尿病的诊断、病情发展起到重要作用,端粒长度有可能会成为糖尿病诊断、病情发展的重要分子指标。由于端粒长度缩短不仅与年龄有关,还与体质量指数和血糖水平密切相关。如果能有效控制体重,减少肥胖,控制血糖,则能减缓端粒长度缩短的进程,进而改变糖尿病及其并发症不断升高的趋势。

参考文献

[1] YANG W, LU J, WENG J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010,

- 362(12): 1090-1101.
- [2] XU Y, WANG L, HE J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959.
- [3] LI R, LU W, JIANG QW, et al. Increasing prevalence of type 2 diabetes in Chinese adults in Shanghai[J]. Diabetes Care, 2012, 35(5): 1028-1030.
- [4] RUAN Y, YAN QH, XU JY, et al. Epidemiology of diabetes in adults aged 35 and older from Shanghai, China[J]. Biomed Environ Sci, 2016, 29(6): 408-416.
- [5] 中华医学会糖尿病分会. 中国2型糖尿病防治指南(2007年版)[J]. 中华医学杂志, 2008, 88(18): 1227-1245.
- [6] 王建飞, 董旭, 张毅, 等. 1型糖尿病、2型糖尿病及2型糖尿病伴动脉硬化患者外周血白细胞端粒长度的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(6): 1066-1070.
- [7] 杨雁, 胡鹏, 刘喆隆, 等. 1型及2型糖尿病患者外周血白细胞端粒长度减短与氧化应激关系的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(3): 252-255.
- [8] SAMPSON MJ, WINTERBONE MS, HUGHES JC, et al. Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(2): 283-289.
- [9] DABELEA D, HARROD CS. Role of developmental overnutrition in pediatric obesity and type 2 diabetes[J]. Nutr Rev, 2013, 71(S1): S62-S67.
- [10] JONAS JC, BENSELLAM M, DUPREZ J, et al. Glucose regulation of islet stress responses and β -cell failure in type 2 diabetes[J]. Diabetes Obes Metab, 2009, 11(S4): 65-81.
- [11] 魏盈盈, 马德琳, 杨雁, 等. 初发2型糖尿病患者磷酸西格列汀干预后端粒长度及端粒酶活性变化[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(5): 369-373.
- [12] 黄成虎, 饶思维, 蔡俊玮, 等. 初发2型糖尿病患者端粒长度与胰岛功能间关系[J]. 湖北医药学院学报, 2016, 35(4): 362-365, 370.
- [13] 刘喆隆, 杨雁, 胡鹏, 等. 2型糖尿病患者血糖控制水平对外周血白细胞端粒长度的影响[J]. 临床内科杂志, 2012, 29(4): 237-239.
- [14] MONAGHAN P. Telomeres and life histories: the long and the short of it[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1206(1): 130-142.
- [15] BUXTON JL, DAS S, RODRIGUEZ A, et al. Multiple measures of adiposity are associated with mean leukocyte telomere length in the northern Finland birth cohort 1966[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99133.
- [16] 陈兵. 端粒-端粒酶系统与糖尿病患者中的不良生活方式[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 40(7): 918-921.

(收稿日期: 2017-11-01; 录用日期: 2018-05-29)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 陶黎纳, 陈姣; 校对: 汪源)