

• 论 著 •

PBMC 中磷酸二酯酶 6C 的表达水平与 2 型糖尿病及血糖血脂异常的关系*

徐 建,赵 乐,黄瑞贤,张晶晶,陈 浩,陈学琴,丁元林,孔丹莉[△]
广东医科大学流行病与卫生统计学教研室,广东东莞 523808

摘 要:**目的** 本研究旨在探讨外周血单个核细胞(PBMC)中磷酸二酯酶 6(PDE6)相关基因表达水平与 2 型糖尿病(T2D)和血糖血脂之间的关系。**方法** 通过 GEO 数据库获取肥胖、胰岛素抵抗(IR)、空腹血糖异常(IFG)和 T2D 的 PBMC 芯片中 PDE6 相关基因的 mRNA 表达数据,先采用 meta 分析筛选出潜在的 T2D 关键基因,再进行其与血糖血脂指标的相关分析以及在肥胖等人群中的差异分析。**结果** 本研究一共纳入 8 个 PBMC 芯片数据,共计 155 个研究对象。meta 分析显示,与健康对照组相比,T2D 组中的 PDE6A、PDE6B、PDE6D、PDE6G 和 PDE6H 的表达差异均无统计学意义($P>0.05$),仅 PDE6C 下调表达呈差异有统计学意义($P<0.05$),标准化均数差(SMD)和 95%CI 为 $-0.72(-1.24,-0.19)$, $P<0.05$ 。此外,FPG、HbA1c、TC 和 TG 均与 PDE6C 呈负相关关系(Pearson 相关系数依次为 -0.835 、 -0.817 、 -0.759 和 -0.755 , $P<0.05$)。差异分析显示,无论机体是否存在 IR,与非肥胖者相比,肥胖者 PDE6C 表达仅呈上调趋势($P>0.05$);而肥胖个体在减肥手术治疗后 PDE6C 的表达显著下调($P<0.05$),但 BS 并不显著下调肥胖 T2D 个体中 PDE6C 的表达($P>0.05$)。此外,在健康对照组、IFG 和 T2D 组的两两比较中,与健康对照组相比,PDE6C 在 IFG 组仅呈下调表达趋势($P>0.05$),但在 T2D 组则显著下调表达($P=0.011$);与 IFG 组相比,T2D 组 PDE6C 也仅呈下调表达趋势($P>0.05$)。**结论** PBMC 中下调表达的 PDE6C 可能与 T2D 及血糖血脂水平异常有关。

关键词: 2 型糖尿病; 外周血单个核细胞; 磷酸二酯酶 6; 数据挖掘; meta 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.14.013

中图法分类号:R446.11

文章编号:1673-4130(2023)14-1727-05

文献标志码:A

Relationship between the expression level of phosphodiesterase 6 in PBMC and type 2 diabetes as well as impaired blood glucose and lipid*

XU Jian,ZHAO Le,HUANG Ruixian,ZHANG Jingjing,CHEN Hao,
CHEN Xueqin,DING Yuanlin,KONG Danli[△]

Department of Epidemiology and Health Statistics,Guangdong Medical
University,Dongguan,Guangdong 523808,China

Abstract: Objective To investigate the relationship among the gene expression levels related phosphodiesterase 6 (PDE6) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and type 2 diabetes (T2D) as well as blood glucose and lipid. **Methods** The mRNA expression data sets of PDE6-related genes in PBMC from obesity, insulin resistance (IR), impaired fasting glucose (IFG) and T2D were extracted through GEO database. Next, using the obtained data, we screened out the potential key genes of T2D by meta analysis, and analyzed the correlation among them and blood glucose and lipid indexes as well as the difference of them between subjects with and without obesity (or other cases). **Results** A total of 8 PBMC data sets were included in this study, with 155 subjects. Meta analysis showed that compared with the healthy control group, the expression of PDE6C was significant downregulated in T2D group [its standardized mean difference (SMD, 95%CI) was $-0.72(-1.24,-0.19)$, $P<0.05$], but not significantly different about PDE6A, PDE6B, PDE6D, PDE6G and PDE6H ($P>0.05$). Meanwhile, the expression of PDE6C was negatively correlated with the levels of FPG, HbA1c, TC and TG, and the Pearson correlation coefficients were -0.835 , -0.817 , -0.759 and -0.755 , respectively, $P<0.05$). Additionally, difference analysis showed that the expression of PDE6C in obese patients was non-significantly upregulated compared with non-obese patients ($P>0.05$), regardless of whether they had the presence of IR or not. However, compared to before bariatric surgery (BS), the expression of PDE6C

* 基金项目: 广东医科大学学科建设类二级项目(4SG21276P); 广东省基础与应用基础研究基金区域联合基金重点项目(2020B1515120021); 湛江市科技发展专项资金竞争性分配项目(2018A01029)。

作者简介: 徐建,男,在读硕士研究生,主要从事流行病与卫生统计学研究。 [△] 通信作者, E-mail: kdlgdmu@gdmu.edu.cn。

in obese individuals was significantly downregulated after the surgery ($P < 0.05$), but not significantly reduced in obese T2D individuals after BS ($P > 0.05$). What's more, in the one-to-one comparisons among three groups, compared with the healthy control group, the expression of PDE6C was non-significantly down regulated in the IFG group ($P > 0.05$), but significantly reduced in the T2D group ($P = 0.011$); the expression of PDE6C in the T2D group was not significantly decreased in comparison to the IFG group ($P > 0.05$). **Conclusion** The down-regulated expression of PDE6C in PBMC may be related to T2D and abnormal blood glucose and lipid levels.

Key words: type 2 diabetes mellitus; peripheral blood mononuclear cells; phosphodiesterase 6; data mining; meta analysis

2 型糖尿病(T2D)是一种以机体糖耐量异常和胰岛素抵抗为主要特征的慢性高血糖症,其诊断和防治效果还尚未达到较为理想的状态^[1]。WHO 指出,2021 年全球已超过 4.2 亿糖尿病患者,预计到 2030 年将增至 5.78 亿,并且约有一半患有 T2D 的成年人未被诊断^[2]。T2D 也是我国主要的糖尿病类型(占糖尿病的 90% 以上),其未诊断人数比例也较高,并且肥胖和超重人群糖尿病患病率显著增加,以及糖尿病控制不佳会增加发生严重并发症的风险^[3]。研究发现,磷酸二酯酶 6(PDE6)在视杆细胞和视锥细胞的光传导中起着至关重要的作用,其基因突变会导致各种各样的视网膜退行性疾病^[4],并且糖尿病是糖尿病视网膜病变(DR)的主要危险因素^[5],以及血中 PDE6 的亚基 PDE6C 的 mRNA 表达水平在 DR 患者中显著下调^[6],这提示 PDE6 可能与 T2D 的发生发展有关,但目前 PDE6 与 T2D 之间的相关研究还尚未充分报道。因此,本研究旨在探讨外周血单个核细胞(PBMC)中 PDE6 相关基因表达水平与 T2D 及其血糖血脂之间的关系,为今后完善 T2D 防治措施和深入开展相关研究提供科学的理论依据。

1 资料与方法

1.1 T2D 芯片表达数据的获取 通过 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) 获取同时含有 T2D 患者和健康对照人群 PBMC 的 mRNA 芯片表达数据,并排除 2 组中研究对象均小于 5 例或 T2D 患者合并其他严重疾病的芯片数据,如视网膜退行性疾病、糖尿病酮症酸中毒、严重感染、严重心脑血管疾病、严重肝肾功能障碍或恶性肿瘤等。

1.2 芯片数据的预处理和 PDE6 相关基因表达数据的提取 首先,对每个纳入的芯片数据进行标准化和数据转化(如 log₂ 对数转化),并根据各芯片数据 GPL 号中注释信息将基因探针转换成基因名,然后通过 Gene 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) 检索 PDE6 相关基因并进行文献回顾,最终确定和提取 PDE6A、PDE6B、PDE6C、PDE6D、PDE6G 和 PDE6H^[7-8] 的基因表达数据纳入本研究。

1.3 纳入研究基因的 meta 分析和 T2D 潜在关键基因的筛选 采用 R 语言进行 meta 分析、森林图绘制、Egger 检验和敏感性分析。其中,采用标准化均数差

(SMD)作为合并效应量。通过 I^2 统计量评价研究间的异质性,若 $I^2 < 50\%$,则选用固定效应模型(FEM)进行效应量的合并,反之则选用随机效应模型(REM)^[9]。采用 Egger 检验和漏斗图判断是否存在发表偏移。敏感性分析则采用逐一剔除纳入芯片研究的方法(即逐一剔除法)进行效应量合并,并比较 FEM 和 REM 的合并效应量,若合并效应量方向发生改变,则提示结果不稳健^[9]。最后,将在 meta 分析或敏感性分析中差异有统计学意义的基因筛选为 T2D 潜在关键基因。

1.4 T2D 潜在关键基因与血糖血脂指标的相关分析 以及其在其他 PBMC 芯片数据中的差异分析 通过提取芯片数据中的血糖血脂指标数据,包括空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC),然后分别与 T2D 潜在关键基因进行两变量间的相关分析。众多研究已指出,肥胖、胰岛素抵抗(IR)和空腹血糖异常(IGF)影响着 T2D 的发生发展^[10-12]。为进一步了解 PDE6C 在肥胖、胰岛素抵抗和空腹血糖异常中的表达情况,4 个芯片数据(GSE87005、GSE19790、GSE21321 和 GSE32575)中的 PDE6C mRNA 表达数据被纳入研究,并采用上述同样的方法对纳入研究的芯片数据进行数据预处理和 T2D 潜在关键基因数据的提取,然后进行相应的差异分析。

1.5 统计学处理 采用 R 4.1.1 软件进行数据处理和统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析并采用 Bonfferoni 法进行两两比较,以及采用 Pearson 相关系数进行两变量间的相关分析。此外,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 本研究纳入芯片数据的基本情况 本研究共纳入 8 个 PBMC 芯片数据,包括健康人群、IS、IR、肥胖、空腹血糖异常(IGF)和 T2D 人群,共计 155 个研究对象,见表 1。

2.2 T2D 组和健康对照组 PDE6 相关基因的 meta 分析 本次 meta 分析纳入了 5 个芯片数据(GSE163980、GSE156993、GSE193626、GSE23561 和 GSE21321)的 67 例研究对象(T2D 组 33 例,健康对

照组 34 例)。分析结果显示,与健康对照组相比,仅 PDE6C 的下调表达差异有统计学意义[SMD 和 95% CI 为-0.72(-1.24,-0.19), $P<0.05$],见表 2、图 1。通过 Egger 法检验发现,仅 PDE6H 存在发表偏倚($P<0.05$),见表 2,其中 PDE6C 的漏斗图见图 2。另

外,敏感性分析发现,经逐一剔除 GSE156993 和 GSE21321 后,PDE6C 的合并效应不再稳健,见图 3;其他结果均稳健。上述结果提示 PDE6C 可能是 T2D 潜在关键基因。

表 1 本研究纳入 PBMC 的 mRNAs 芯片数据的基本情况

序号	数据来源	芯片平台	样本量和分组	提交年份和国家
1	GSE163980	GPL20115	共 10 例,健康对照组 5 例,T2D 组 5 例	2020 中国
2	GSE156993	GPL570	共 11 例,健康对照组 6 例,T2D 组 5 例	2020 巴西
3	GSE193626	GPL16956	共 12 例,健康对照组 6 例,T2D 组 6 例	2022 中国
4	GSE23561	GPL10775	共 17 例,健康对照组 9 例,T2D 组 8 例	2010 美国
5	GSE21321	GPL6883	共 24 例,健康对照组 8 例,IFG 组 7 例,T2D 组 9 例	2010 新加坡
6	GSE32575	GPL6102	共 30 例,健康对照组 12 例和减肥手术前后的肥胖组 18 例	2011 比利时
7	GSE19790	GPL6102	共 11 例,仅含减肥手术前后的肥胖 T2D 11 例	2010 美国
8	GSE87005	GPL6480	共 40 例,非肥胖 IS 组 10 例,肥胖 IS 组 10 例,非肥胖 IR 组 10 例和肥胖 IR 组 10 例	2016 意大利

表 2 T2D 组和健康对照组 PBMC 中 PDE6 相关基因表达的 meta 分析结果

基因	效应估计(T2D 组 vs. 健康对照组)		异质性 (I^2 , %)	分析模型	发表偏倚的 Egger 检验		结果是否稳健 (敏感性分析)
	SMD(95%CI)	P			t	P	
PDE6A	0.28(-0.21,0.77)	0.256 8	0.0	FEM	-1.59	0.209 5	是
PDE6B	0.19(-0.31,0.68)	0.463 3	29.0	FEM	-2.30	0.105 3	是
PDE6C	-0.72(-1.24,-0.19)	0.007 2*	47.9	FEM	-1.14	0.337 5	否
PDE6D	-0.24(-1.24,0.75)	0.632 1	67.6	REM	-0.75	0.506 0	是
PDE6G	0.23(-0.25,0.72)	0.345 2	0.0	FEM	1.33	0.275 1	是
PDE6H	-0.27(-0.77,0.22)	0.280 4	34.7	FEM	5.15	0.014 2*	是

注: * $P<0.05$ 。

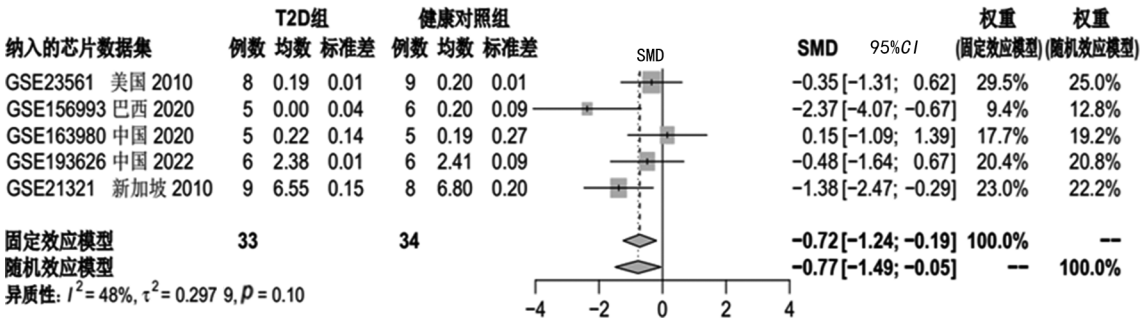


图 1 T2D 组和健康对照组 PDE6C 的森林图结果

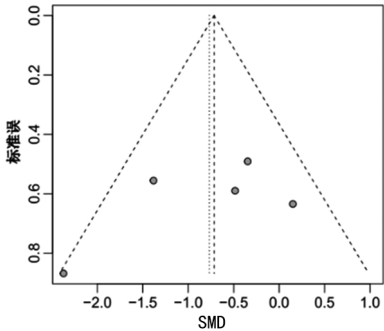


图 2 PDE6C 的漏斗图结果

2.3 临床资料的统计描述和差异分析以及与 PDE6C 之间的相关分析 在本研究中,GSE156993 提供了临床资料的相关数据,经差异分析和相关分析发现,T2D 组中的 FPG、HbA1c、TC 和 TG 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);并且 FPG、HbA1c、TC 和 TG 均与 PDE6C 呈负相关关系(Pearson 相关系数依次为-0.835、-0.817、-0.759 和-0.755, $P<0.05$),见表 3。上述结果表明 T2D 中血糖血脂水平升高可能与 PBMC 中 PDE6C 低表达水平相关。

2.4 肥胖、胰岛素抵抗和空腹血糖异常人群 PBMC 中 PDE6C 的表达情况 4 个芯片数据(GSE87005、GSE19790、GSE21321 和 GSE32575)中的 PDE6C mRNA 表达数据被纳入该部分研究,通过一系列差异分析发现,无论机体是否存在 IR,与非肥胖者相比,肥胖者 PDE6C 表达仅呈上调趋势($P>0.05$),见图 4A、B 和 C;而肥胖个体在减肥手术(BS)治疗后 PDE6C 的表达显著下调($P<0.05$),见图 4D,但 BS 并不显著下调肥胖 T2D 个体中 PDE6C 的表达($P=0.081$),见图 4E。此外,PDE6C 在健康对照组、空腹血糖异常(IFG)和 T2D 组中呈不断下调趋势,但在 3 组间的两两比较中,PDE6C 仅在健康对照组与 T2D

组之间的差异有统计学意义($P=0.011$),见图 4F。因此,上述结果提示机体在从正常状态到 T2D 状态的过程中,PBMC 中 PDE6C 表达可能不断下调,并且减肥手术会使 PBMC 中 PDE6C 的表达下调,但 T2D 中的 PDE6C 可能已处于一种较稳定的低表达状态。

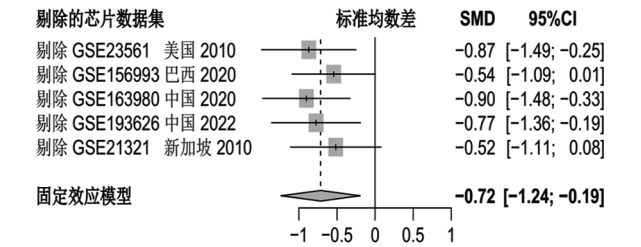
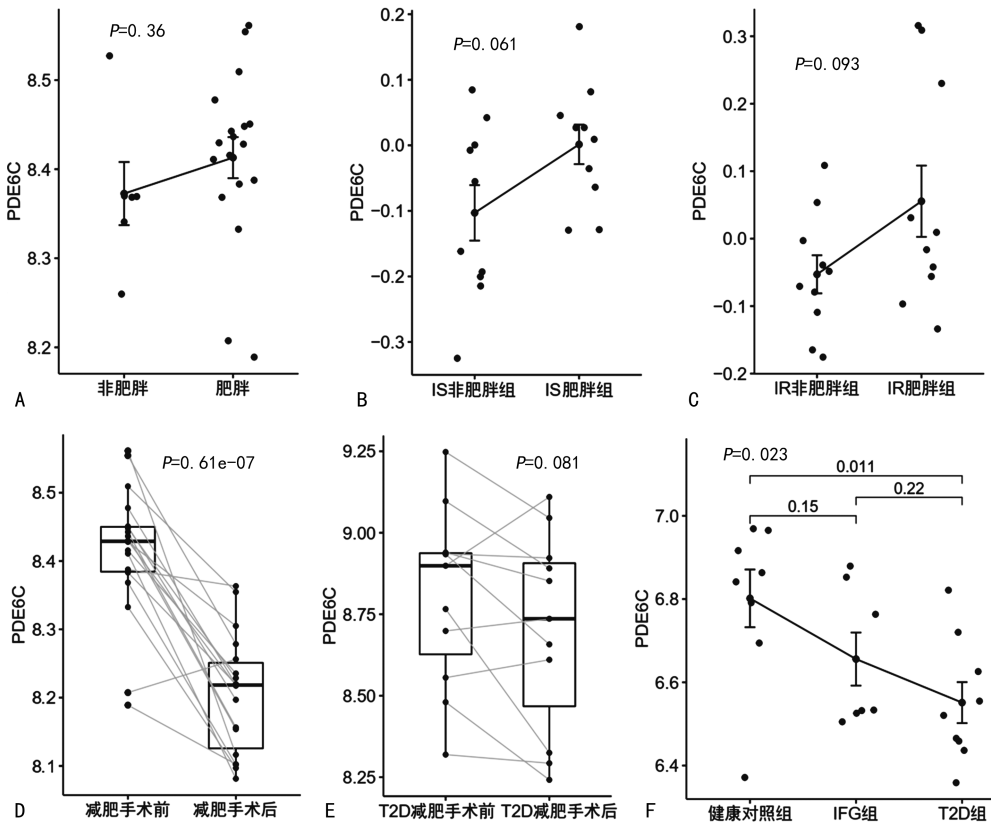


图 3 T2D 组和健康对照组 PDE6C 的敏感性分析结果

表 3 GSE156993 芯片提取临床数据的差异分析和与 PDE6C 相关分析的结果

变量	$\bar{x} \pm s$		差异分析		相关分析		
	健康对照组(6 例)	T2D 组(5 例)	<i>t</i>	<i>P</i>	Pearson 相关系数(<i>r</i>)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄	41.17±3.19	48.40±9.69	1.599 4	0.174 0	—	—	—
FPG	87.00±8.81	274.20±48.42	8.528 7	0.000 8 *	-0.835(-0.956,-0.471)	-4.554	0.001 4 *
HbA1c	5.40±0.11	12.02±1.86	7.955 7	0.001 3 *	-0.817(-0.951,-0.425)	-4.246	0.002 2 *
TC	162.00±12.99	275.40±43.87	5.580 1	0.003 3 *	-0.759(-0.934,-0.291)	-3.494	0.006 8 *
TG	81.50±40.19	266.52±97.84	3.959 4	0.010 2 *	-0.755(-0.933,-0.284)	-3.457	0.007 2 *

注:mg/dL 为 FPG、TC 和 TG 的单位;岁和%分别为年龄和 HbA1c 的单位;—表示无相应数据;* $P<0.05$ 。



注:A、D 数据来源为 GSE32575;B、C 数据来源为 GSE87005;F 数据来源为 GSE21321。

图 4 PDE6C 的表达在不同数据集中不同人群间的差异比较

3 讨 论

研究发现,PDE6 在视杆细胞和视锥细胞的异常

水平会导致视网膜病变^[4],并且糖尿病会增加发生视网膜病变的风险^[5],但是目前 PDE6 与 T2D 和(或)

DR 之间的关系还尚未完全清楚,以及 PDE6 在 PBMC 中的表达水平的相关研究还未见充分报道。因此,本研究通过 T2D、肥胖、IR 和 IFG 等多个 GEO 芯片数据综合探讨了 PDE6 与 T2D 之间的关系。

首先,通过 meta 分析发现,与健康对照组相比, PDE6A、PDE6B、PDE6D、PDE6G 和 PDE6H 在 T2D 患者 PBMC 中的 mRNA 表达水平差异均无统计学意义($P>0.05$),仅 PDE6C 可能在 T2D 患者中显著下调表达。此外, BUTT 等^[6] 在研究中指出,血中 PDE6C 的 mRNA 水平在 DR 患者中显著下调。虽然 PDE6C 主要在视锥细胞中表达并参与 PDE6 的合成和光传导作用^[7],但已有研究指出视网膜特异性标志物表达情况可能与外周血中的表达情况一致,如视紫红质^[13] 和 RPE65^[14]。因此,这些结果暗示血中 PDE6C 表达下调可能反映了视锥细胞的减少或功能异常,并且可能与 DR 有关。

其次,目前已有研究指出视网膜病变严重程度与糖尿病病程、随机血糖和 HbA1c 呈正相关关系,并且肥胖、胰岛素抵抗、空腹血糖异常和减肥手术等均会影响 T2D 的发生发展^[11-12,15-16]。因此,本研究初步探讨了 PBMC 中 PDE6C 在 T2D 发生发展过程中的大致变化情况。研究发现, FPG、HbA1c、TC 和 TG 均与 PBMC 中 PDE6C 表达水平呈负相关关系,并且机体在从健康、IFG 到 T2D 状态的过程中, PBMC 中 PDE6C 的 mRNA 表达水平可能逐渐下调,并在 T2D 阶段出现显著下调表达。

另外,研究已表明,减肥手术治疗能改善 T2D 状态^[15-16]。在本研究中指出,相比于非肥胖者,无论机体是否存在 IR,肥胖者 PDE6C 表达水平变化差异均无统计学意义;但 BS 治疗后会下调 PBMC 中 PDE6C 的 mRNA 表达,这提示 BS 后可能只会引起短暂的 PDE6C 表达下调;相反,BS 治疗却对肥胖 T2D 患者 PDE6C 的表达影响较小,这也可能提示 PDE6C 在 T2D 患者 PBMC 中已处于一种较稳定的低表达状态。

最后,根据上述结果可表明, PBMC 中长期出现 PDE6C 表达下调可能提示机体存在较大的 T2D 发生风险。然而,由于本研究尚不能获得较为完整的数据,并且分析结果来源于多个芯片数据,目前暂无法充分评估不同芯片研究的异质性。

综上所述, PBMC 中下调表达的 PDE6C 可能与 T2D 及血糖血脂水平异常有关, PDE6C 可能是一种与 T2D 有关的生物标志物。但本研究仍存在不足之处,在今后还需相应的体内外实验和多中心临床研究来证实本研究结论的可靠性。

参考文献

[1] ZHENG Y, LEY S H, HU F B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications[J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(2): 88-98.
[2] World Health Organization. New WHA resolution to

bring much needed boost to diabetes prevention and control efforts [EB/OL]. (2021-05-27) [2022-11-23]. <https://www.who.int/news/item/27-05-2021-new-wha-resolution-to-bring-much-needed-boost-to-diabetes-prevention-and-control-efforts>.
[3] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2021, 37(4): 311-398.
[4] COTE R H, GUPTA R, IRWIN M J, et al. Photoreceptor phosphodiesterase (PDE6): structure, regulatory mechanisms, and implications for treatment of retinal diseases [J]. Adv Exp Med Biol, 2022, 1371: 33-59.
[5] MAGHBOOLI Z, EMAMGHOLIPOUR S, ALIAKBAR S, et al. Differential expressions of SIRT1, SIRT3, and SIRT4 in peripheral blood mononuclear cells from patients with type 2 diabetic retinopathy[J]. Arch Physiol Biochem, 2020, 126(4): 363-368.
[6] BUTT A, AHMAD M S, POWRIE J, et al. Assessment of diabetic retinopathy by measuring retina-specific mRNA in blood[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(Suppl 1): S79-S84.
[7] DONG H, CLAFFEY K P, BROCKE S, et al. Expression of phosphodiesterase 6 (PDE6) in human breast cancer cells[J]. Springerplus, 2013, 2: 680.
[8] LAGMAN D, FRANZEN I E, EGGERT J, et al. Evolution and expression of the phosphodiesterase 6 genes unveils vertebrate novelty to control photosensitivity [J]. BMC evolutionary biology, 2016, 16(1): 1-20.
[9] 杨蓓, 韩琳, 王茵, 等. 持续皮下胰岛素注射治疗老年 2 型糖尿病效果的 Meta 分析与试验序贯分析[J]. 中国全科医学, 2023, 26(15): 1892-1901.
[10] 邹姝乐, 韩孟冉, 杜岑, 等. 2 型糖尿病患者体质指数与单核细胞/高密度脂蛋白胆固醇比值相关性的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2022, 30(9): 652-656.
[11] 胡竟成, 朱燕, 周颖异, 等. 新诊断 2 型糖尿病患者外周血 OX40⁺ Tfh 细胞与胰岛素抵抗的相关性研究[J]. 中华糖尿病杂志, 2022, 14(8): 793-798.
[12] 韩朵兰, 赵浩佐, 高飞, 等. 天津地区 2 型糖尿病患者血糖控制现状及其影响因素分析[J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(12): 885-888.
[13] HAMAOU K, BUTT A, POWRIE J, et al. Concentration of circulating rhodopsin mRNA in diabetic retinopathy[J]. Clin Chem, 2004, 50(11): 2152-2155.
[14] SHALCHI Z, SANDHU H S, BUTT A N, et al. Retina-specific mRNA in the assessment of diabetic retinopathy [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1137(1): 253-257.
[15] CUMMINGS D E, RUBINO F. Metabolic surgery for the treatment of type 2 diabetes in obese individuals[J]. Diabetologia, 2018, 61(2): 257-264.
[16] FRYDRYCH L M, BIAN G, O' LONE D E, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus drive immune dysfunction, infection development, and sepsis mortality[J]. J Leukoc Biol, 2018, 104(3): 525-534.