

· 临床研究 ·

# 老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血 DNA 甲基化/羟甲基化的表达及其临床意义

马晓权\*, 方兴中, 成建荣

(兰州市第一人民医院普外科, 兰州 730050)

**【摘要】目的** 探讨老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血 DNA 甲基化/羟甲基化的检测及其临床意义。**方法** 选择 2021 年 1 月至 2022 年 12 月兰州市第一人民医院收治的 136 例老年甲状腺结节合并糖尿病患者为研究组,另选同期体检正常的 135 例老年人为对照组。采集所有入组对象一般资料,测定空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2hPBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离四碘甲状腺原氨酸(FT4)、促甲状腺激素(TSH)、甲状腺球蛋白抗体(TGAb)和甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)水平。采用酶联免疫吸附法检测外周血全基因组 5-甲基胞嘧啶(5-mC)、5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和甲基双加氧酶(TET2)水平。采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。根据数据类型,分别采用 *t* 检验、Mann-Whitney *U* 检验或  $\chi^2$  检验进行组间比较。采用 Spearman 相关性分析探讨外周血 5-mC、5-hmC 与甲状腺结节合并糖尿病的相关性。**结果** 研究组患者 FPG、2hPBG、HbA1c、TSH、TGAb 和 TPOAb 水平均高于对照组,FT3 低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。研究组外周血 5-mC、5-hmC 水平均高于对照组[6.64%(3.53%,8.53%) 和 4.28%(1.70%,7.20%);50.41%(35.00%,63.27%) 和 36.51%(17.81%,50.06%)] ;外周血 TET2、ICAM-1 水平均高于对照组[9.37(5.70,13.56) 和 4.56(1.52,6.99) pg/ml; 4.98(2.35,7.01) 和 0.97(0.15,1.60) ng/ml], 差异均有统计学意义( $P<0.001$ )。Spearman 相关性分析结果显示,5-mC 与 TGAb、TPOAb 和 HbA1c 呈正相关( $r=0.413,0.348,0.405;P<0.05$ );5-hmC 与 TGAb、TPOAb、FBG 和 2hPG 呈正相关( $r=0.375,0.406,0.376,0.311;P<0.05$ );5-mC 与 5-hmC 呈正相关( $r=0.256;P<0.05$ )。**结论** 老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血全基因组 DNA 甲基化与羟甲基化水平显著正常人群,外周血 5-mC、5-hmC 水平与老年甲状腺结节、糖尿病发病显著相关。

**【关键词】** 老年人;甲状腺结节;糖尿病;DNA 甲基化;羟甲基化

**【中图分类号】** R446.6      **【文献标志码】** A      **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2023.10.160

## Expression of DNA methylation/hydroxymethylation in peripheral blood of elderly patients with thyroid nodules and diabetes mellitus and its clinical significance

Ma Xiaquan\*, Fang Xingzhong, Cheng Jianrong

(Department of General Surgery, Lanzhou First People's Hospital, Lanzhou 730050, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression and clinical significance of DNA methylation/hydroxymethylation in peripheral blood of elderly patients with thyroid nodules and diabetes mellitus. **Methods** A total of 136 elderly diabetes patients complicated with thyroid nodules admitted to our hospital from January 2021 to December 2022 were recruited as the study group, and another 135 elderly healthy age-matched individuals who took physical examination at the same time served as the control group. Their general data were collected, and serum levels of fasting blood glucose (FBG), 2h postprandial blood glucose (2hPBG), glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), free triiodothyronine (FT3), free tetraiodothyronine (FT4), thyroid stimulating hormone (TSH), anti-thyroglobulin antibodies (TGAb) and thyroid peroxidase antibody (TPOAb) were detected and recorded. The levels of whole genome 5-methylcytosine (5-mC), 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC), intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and ten-eleven translocation-2 (TET2) in the peripheral blood were measured with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). SPSS statistics 21.0 was used for data analysis. Depending on data type, student's *t* test, Mann-Whitney *U* test or *Chi*-square test was used for intergroup comparison. Spearman correlation analysis was employed to analyze the relationship between 5-mC and 5-hmC levels in peripheral blood and thyroid nodules with diabetes mellitus. **Results** The serum levels of FBG, 2hPBG, HbA1c, TSH, TGAb and TPOAb were significantly higher, while that

收稿日期: 2023-04-10; 接受日期: 2023-05-08

基金项目: 兰州市科学技术局科技发展计划项目(2022-ZD-7)

通信作者: 马晓权, E-mail: maxiaoquan889@163.com

of FT3 was obviously lower in the study group than the control group ( $P<0.05$ ). Higher levels of 5-mC and 5-hmC in peripheral blood were observed in the study group than the control group [6.64% (3.53%, 8.53%) vs 4.28% (1.70%, 7.20%), 50.41% (35.00%, 63.27%) vs 36.51% (17.81%, 50.06%);  $P<0.001$ ], and so were the levels of TET2 and ICAM-1 [9.37 (5.70, 13.56) vs 4.56 (1.52, 6.99) pg/ml, 4.98 (2.35, 7.01) vs 0.97 (0.15, 1.60) ng/ml;  $P<0.001$ ]. Spearman correlation analysis showed that 5-mC was positively correlated with TgAb, TPOAb and HbA1c ( $r=0.413, 0.348, 0.405$ ;  $P<0.05$ ), 5-hmC was positively correlated with TgAb, TPOAb, FPG and 2hPG ( $r=0.375, 0.406, 0.376, 0.311$ ;  $P<0.05$ ), and 5-mC was positively correlated with 5-hmC ( $r=0.256$ ;  $P<0.05$ ). **Conclusion** The level of DNA methylation and hydroxymethylation in the whole genome of the peripheral blood is significantly higher in the elderly diabetes patients with thyroid nodules than the normal population. Peripheral blood levels of 5-mC and 5-hmC are significantly related to the incidence of thyroid nodules and diabetes mellitus in the elderly.

**【Key words】** aged; thyroid nodules; diabetes mellitus; DNA methylation; hydroxymethylation

*This work was supported by the Science and Technology Development Plan of Lanzhou Municipal Bureau of Science and Technology (2022-ZD-7).*

*Corresponding author: Ma Xiaquan, E-mail: maxiaoquan889@163.com*

甲状腺结节是内分泌科较为常见的老年疾病类型,指甲状腺内存在的可随吞咽动作上下移动的肿块,发病因素较为复杂<sup>[1]</sup>。甲状腺退行性变、甲状腺炎、自身免疫及新生物等多种临床甲状腺疾病均可表现出结节症状,可单发也可多发,以多发病灶更为常见<sup>[2]</sup>。糖尿病是以胰岛素分泌不足和胰岛素障碍为重要病理基础、高血糖为主要表现特征的代谢类疾病,临床发病率高,并发症多,危害性大,现已成为全球范围内的公共卫生问题。既往研究发现,甲状腺结节与糖尿病发病之间存在一定关联,患有 2 型糖尿病的患者出现甲状腺结节的概率明显增加,两种疾病之间或许存在共同的免疫及遗传基础,可互相影响加重病情<sup>[3]</sup>。DNA 甲基化和羟甲基化是 DNA 化学修饰的一种形式,甲基化是指在 DNA 甲基转移酶(DNA methyl transferase1, DNMT1)的催化下将胞嘧啶转化为 5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5-mC)<sup>[4]</sup>,羟甲基化是在甲基双加氧酶(ten-eleven translocation-2, TET2)的作用下将 5-mC 转化为 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC),二者均可在不改变 DNA 序列的条件下进行表观遗传修饰,作为外遗传编码的一部分,也是一种常见的外遗传机制<sup>[5]</sup>。既往研究多探讨 DNA 甲基化和羟甲基化在动脉粥样硬化相关疾病中的作用,而对于 DNA 甲基化/羟甲基化在甲状腺结节及糖尿病中的作用效果的相关研究较少。基于此,本研究对老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血 DNA 甲基化/羟甲基化进行检测,分析异常表观遗传学修饰在该病中的作用及临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2021 年 1 月至 2022 年 12 月兰州市第一人民医院普外科收治的 136 例老年甲状腺结节合并糖尿病患者作为研究组。研究组纳入标准:(1)符合甲状腺结节相关诊断标准<sup>[6]</sup>,且经 2 位以上高年资影像科医师共同阅片,经彩超确诊;(2)符合成年糖尿病相关诊断标准<sup>[7]</sup>;(3)年龄 $\geq 60$  周岁。研究组

136 例患者中男性 79 例,女性 57 例,年龄 65~84 (76.19 $\pm$ 1.43) 岁。另选同期在兰州市第一人民医院体检中心进行体检的同年龄段、体检结果为正常的 135 例老年人为对照组,其中男性 76 例,女性 59 例,年龄 62~85 (75.86 $\pm$ 1.69) 岁。对照组纳入标准:(1)年龄 $\geq 60$  岁;(2)体检结果显示无甲状腺结节及糖尿病。排除标准:(1)合并自身免疫疾病、恶性肿瘤或血液疾病;(2)合并急慢性感染性或传染性疾病;(3)重要器官功能不全;(4)接受过甲状腺激素替代治疗或抗甲状腺药物治疗;(5)高血压未控制。本研究经本院伦理委员会审批通过,患者及家属知情并签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 基线资料采集 采集所有入组对象一般资料和既往病史,包括性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、既往抽烟史、高血压史和冠心病史。

1.2.2 生化指标检测 口服葡萄糖耐量试验测定所有对象空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)和餐后 2 h 血糖(2h postprandial blood glucose, 2hPBG)水平;高效液相色谱法<sup>[8]</sup>测定糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)水平;全自动生化分析仪检测甘油三酯(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)水平;化学发光法<sup>[9]</sup>检测游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT3)、游离四碘甲状腺原氨酸(free tetraiodothyronine, FT4)和促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平;免疫化学发光法<sup>[10]</sup>检测甲状腺球蛋白抗体(anti-thyroglobulin antibodies, TGAb)和甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)水平。

1.2.3 外周血全基因组 DNA 甲基化/羟甲基化水平检测 采集所有研究对象外周血各 5 ml 加入含有乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid,

EDTA) 的抗凝管中,采用 Plus 血液基因组 DNA 纯化试剂盒进行外周血全基因组 DNA 纯化;采用酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[11]</sup> 以 5-mC 和 Quest 5-hmC DNA ELISA 试剂盒检测外周血全基因组 5-mC 和 5-hmC 水平,试剂盒均购自 Zymo Research 公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书要求进行。

1.2.4 外周血细胞间黏附分子-1、TET2 水平测定 采集所有研究对象外周血各 5 ml,采用 ELISA 法以人外周血细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 和 TET2 ELISA 试剂盒检测外周血 ICAM-1、TET2 含量,试剂盒均购自 MyBioSource 公司,所有操作均严格按照试剂盒说明书要求进行。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,组间比较采用 *t* 检验;不符合正态分布的计量资料使用中位数 (四分位数间距) [ $M(Q_1, Q_3)$ ] 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例数 (百分率) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 Spearman 相关性分析探讨外周血 5-mC、5-hmC 与甲状腺结节合并糖尿病的相关性。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组人群一般资料与既往病史情况比较

2 组人群年龄、性别、BMI、SBP、DBP、吸烟史、

高血压史和冠心病史等方面比较,差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ; 表 1)。

2.2 2 组人群生化指标比较

2 组人群 TG、HDL-C、LDL-C 和 FT4 水平比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 研究组患者 FBG、2hPBG、HbA1c、TSH、TgAb 和 TPOAb 水平均高于对照组,FT3 低于对照组,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ; 表 2)。

2.3 2 组人群外周血全基因组 DNA 甲基化/羟甲基化水平比较

研究组外周血 5-mC、5-hmC 水平均高于对照组 [6.64% (3.53%, 8.53%) 和 4.28% (1.70%, 7.20%); 50.41% (35.00%, 63.27%) 和 36.51% (17.81%, 50.06%)] ,差异有统计学意义 ( $P<0.001$ ; 图 1)。

2.4 2 组人群血清 TET2 与 ICAM-1 表达水平比较

研究组外周血 TET2、ICAM-1 水平均高于对照组 [9.37 (5.70, 13.56) 和 4.56 (1.52, 6.99) pg/ml; 4.98 (2.35, 7.01) 和 0.97 (0.15, 1.60) ng/ml] ,差异有统计学意义 ( $P<0.001$ ; 图 2)。

2.5 研究组患者外周血全基因组 DAN 5-mC、5-hmC 与甲状腺结节、糖尿病相关性

Spearman 相关性分析结果显示,研究组 5-mC 与 TgAb、TPOAb 和 HbA1c 呈正相关 ( $r = 0.413, 0.348, 0.405; P<0.05$ ); 5-hmC 与 TgAb、TPOAb、FBG 和 2hPG 呈正相关 ( $r = 0.375, 0.406, 0.376, 0.311; P<0.05$ )。5-mC 与 5-hmC 呈正相关 ( $r = 0.256; P<0.05$ ; 表 3)。

表 1 2 组人群一般资料比较  
Table 1 Comparison of general information between two groups

| Group               | <i>n</i> | Gender<br>(male/female, <i>n</i> ) | Age<br>(years, $\bar{x}\pm s$ ) | BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ ) | SBP<br>(mmHg, $\bar{x}\pm s$ ) | DBP<br>(mmHg, $\bar{x}\pm s$ ) | Smoking<br>[ <i>n</i> (%)] | Hypertension<br>[ <i>n</i> (%)] | Coronary heart<br>disease[ <i>n</i> (%)] |
|---------------------|----------|------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|
| Study               | 136      | 79/57                              | 76.19±1.43                      | 24.65±2.69                                   | 131.15±9.02                    | 82.81±6.33                     | 70(51.47)                  | 65(47.79)                       | 75(55.15)                                |
| Control             | 135      | 76/59                              | 75.86±1.69                      | 24.78±2.42                                   | 130.63±8.76                    | 81.97±6.95                     | 67(49.63)                  | 63(46.67)                       | 71(52.59)                                |
| <i>t</i> / $\chi^2$ |          | 0.089                              | 0.889                           | 0.418                                        | 0.481                          | 1.040                          | 0.092                      | 0.035                           | 0.178                                    |
| <i>P</i> value      |          | 0.766                              | 0.377                           | 0.676                                        | 0.631                          | 0.299                          | 0.762                      | 0.853                           | 0.673                                    |

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure. 1 mmHg=0.133 kPa.

表 2 2 组人群生化指标情况比较  
Table 2 Comparison of biochemical indicators between two groups ( $\bar{x}\pm s$ )

| Group          | <i>n</i> | FBG<br>(mmol/L) | 2hPBG<br>(mmol/L) | HbA1c<br>(%) | TG<br>(mmol/L) | HDL-C<br>(mmol/L) | LDL-C<br>(mmol/L) | FT3<br>(pmol/L) | FT4<br>(pmol/L) | TSH<br>(pmol/L) | TgAb<br>(IU/ml) | TPOAb<br>(IU/ml) |
|----------------|----------|-----------------|-------------------|--------------|----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Study          | 136      | 10.75±1.26      | 18.94±1.59        | 9.62±0.57    | 2.10±0.23      | 1.09±0.16         | 2.31±0.27         | 3.80±0.39       | 14.14±1.32      | 1.72±0.14       | 76.25±5.67      | 99.63±8.41       |
| Control        | 135      | 5.81±0.62       | 8.03±1.01         | 5.11±0.43    | 2.08±0.19      | 1.12±0.14         | 2.33±0.25         | 4.63±0.42       | 13.96±1.25      | 1.15±0.11       | 1.18±0.15       | 0.35±0.09        |
| <i>t</i>       |          | 240.902         | 67.367            | 74.489       | 0.780          | 1.642             | 0.633             | 16.859          | 1.152           | 37.250          | 153.778         | 137.152          |
| <i>P</i> value |          | <0.001          | <0.001            | <0.001       | 0.436          | 0.102             | 0.528             | <0.001          | 0.250           | <0.001          | <0.001          | <0.001           |

FBG: fasting blood glucose; 2hPBG: 2h postprandial blood glucose; HbA1c: glycosylated hemoglobin A1c; TG: triglyceride; HDL-C: high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: low-density lipoprotein cholesterol; FT3: free triiodothyronine; FT4: free tetraiodothyronine; TSH: thyroid stimulating hormone; TgAb: anti-thyroglobulin antibodies; TPOAb: thyroid peroxidase antibody.

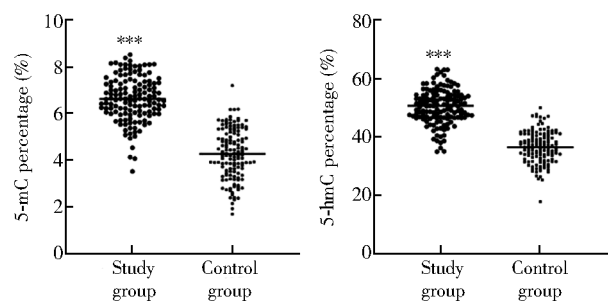


图 1 2 组人群外周血全基因组 5-mC 与 5-hmC 水平比较  
Figure 1 Comparison of whole genome 5-mC and 5-hmC levels between two groups of peripheral blood  
5-mC; 5-methylcytosine; 5-hmC; 5-hydroxymethylcytosine.  
Compared with control group, \*\*\*  $P<0.001$ .

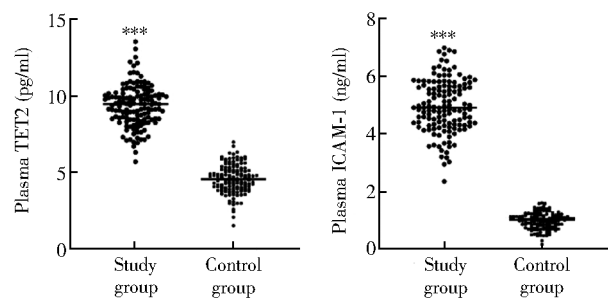


图 2 2 组人群外周血 TET2、ICAM-1 含量  
Figure 2 Peripheral blood TET2 and ICAM-1 levels in two groups  
TET2; ten-eleven translocation-2; ICAM-1; intercellular cell adhesion molecule-1. Compared with control group, \*\*\*  $P<0.001$ .

表 3 外周血全基因组 DAN 5-mC、5-hmC 与甲状腺结节、糖尿病的相关性

Table 3 Correlation of whole-genome DAN 5-mC and 5-hmC in peripheral blood with thyroid nodules and diabetes mellitus

| Item  | 5-mC     |                | 5-hmC    |                |
|-------|----------|----------------|----------|----------------|
|       | <i>r</i> | <i>P</i> value | <i>r</i> | <i>P</i> value |
| FT3   | 0.128    | 0.207          | 0.024    | 0.793          |
| FT4   | 0.139    | 0.125          | 0.201    | 0.092          |
| TSH   | 0.073    | 0.461          | 0.177    | 0.115          |
| TgAb  | 0.413    | 0.001 *        | 0.375    | 0.016 *        |
| TPOAb | 0.348    | 0.014 *        | 0.406    | 0.002 *        |
| FPG   | 0.231    | 0.079          | 0.376    | 0.015 *        |
| 2hPBG | 0.197    | 0.102          | 0.311    | 0.017 *        |
| HbA1c | 0.405    | 0.002 *        | 0.168    | 0.095          |
| 5-mC  | —        | —              | 0.256    | 0.022          |

FT3; free triiodothyronine; FT4; free tetraiodothyronine; TSH; thyroid stimulating hormone; TgAb; anti-thyroglobulin antibodies; TPOAb; thyroid peroxidase antibody; FBG; fasting blood glucose; 2hPBG; 2h post-prandial blood glucose; HbA1c; glycosylated hemoglobin A1c; 5-mC; 5-methylcytosine; 5-hmC; 5-hydroxymethylcytosine. —; no datum.

3 讨论

近年来,随着生活水平提高和生活方式改变,老年糖尿病患者的发病率逐年升高,有研究提出,长期处于高糖和胰岛素抵抗状态下的人群发生甲状腺结节的概率明显升高,胰岛素可影响机体甲状腺组织相关基因的表达水平和细胞内的能量代谢,引起甲状腺组织细胞快速增殖,导致甲状腺形态异常,引发甲状腺结节<sup>[12]</sup>。随着学者们对基因组学和表观遗传学的不断探索,最近的研究结果显示,DNA 甲基化和羟甲基化的改变与多种疾病如神经系统疾病、癌症、衰老、冠心病及自身免疫性疾病有关<sup>[13]</sup>,此外,也有研究报道称,自身免疫性甲状腺疾病患者的甲状腺细胞中可观察到异常 DNA 修饰<sup>[14]</sup>。基于此,本研究以 DNA 甲基化和羟甲基化为切入点,探讨全基因组 DNA 甲基化和羟甲基化在老年甲状腺结节合并糖尿病患者中的变化及意义,旨在从表观遗传学角度探讨老年甲状腺结节合并糖尿病的发病机制,并据此发现新的诊疗手段,从而降低发病率,优化治疗,改善预后。

DNA 甲基化又被叫做 DNA 的“第五个碱基”,是指胞嘧啶在 DNMT1 酶催化下产生 5-mC 的这一过程,DNA 异常甲基化可通过关闭某些基因活性达到沉默基因从而影响一些疾病发生发展的作用<sup>[15]</sup>。DNA 羟甲基化又被叫做 DNA 的“第六个碱基”,作为去甲基化的主要方式之一,可在 TET 酶的作用下将 5-mC 催化为 5-hmC 引起某些基因的重新活化和表达,进而达到调控表观遗传的目的<sup>[16]</sup>。本研究通过对比正常老年人与老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血 DNA 甲基化和羟甲基化的水平,结果显示,研究组患者全基因组 DNA 5-mC 和 5-hmC 水平均显著高于对照组,且血清 TET2 和 ICAM-1 含量也明显高于对照组,表明 5-mC 和 5-hmC 水平增加是老年甲状腺合并糖尿病患者血清 TET2 和 ICAM-1 活性升高的结果,外周血 DNA 甲基化和羟甲基化在老年甲状腺合并糖尿病患者发病过程中扮演着重要作用。本研究还对外周血 DNA 甲基化和羟甲基化水平与甲状腺结节合并糖尿病的发病影响因素进行了相关性分析,结果显示,5-mC 与 TgAb、TPOAb 和 HbA1c 呈正相关( $P<0.05$ );5-hmC 与 TgAb、TPOAb、FPG 和 2hPBG 呈正相关( $P<0.05$ );5-mC 与 5-hmC 呈正相关( $P<0.05$ ),提示老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血全基因组 DNA 甲基化和羟甲基化水平与患者甲状腺功能及血糖代谢有明显关联,老年患者的血糖代谢和甲状腺功能异常



影响了外周血全基因组 DNA 5-mC 和 5-hmC 水平,这与 Pinzón-Cortés 等<sup>[17]</sup>对糖尿病患者外周血甲基化的探索结论基本相符。5-mC 在老年患者胰岛组织和甲状腺组织中广泛分布,并在增强子区域大量存在,被 TET2 催化为 5-hmC,调控基因的表达和疾病进展<sup>[18]</sup>。此外,老年甲状腺结节合并糖尿病患者体内长期处于一种慢性高糖和炎症状态,多种黏附分子、趋化因子和炎症细胞因子均发生异常变化,ICAM-1 作为参与单核细胞黏附的主要细胞因子,在血管内壁上诱导单核细胞向巨噬细胞转换<sup>[19]</sup>,巨噬细胞又在升高的 TET2 作用下维持炎症因子的过度积累,加重血糖代谢和甲状腺代谢功能异常<sup>[20]</sup>,因此,DNA 甲基化和羟甲基化是老年甲状腺结节合并糖尿病发病的重要病理基础,与患者的血糖及甲状腺功能密切相关。

综上,老年甲状腺结节合并糖尿病患者外周血全基因组 DNA 甲基化与羟甲基化水平较正常老年人显著升高,外周血 5-mC、5-hmC 水平与老年人群甲状腺结节、糖尿病发病显著相关。然而本研究也存在一定的不足之处,如仅探讨了老年患者为外周血 DNA 甲基化和羟甲基化水平的变化及临床意义,未深入探索其影响发病的机制,后续会进一步研究。

## 【参考文献】

- [1] Ospina NS, Papaleontiou M. Thyroid nodule evaluation and management in older adults; a review of practical considerations for clinical endocrinologists[J]. *Endocr Pract*, 2021, 27(3): 261–268. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.003.
- [2] Kobaly K, Kim CS, Mandel SJ. Contemporary management of thyroid nodules[J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 517–528. DOI: 10.1146/annurev-med-042220-015032.
- [3] Zhang HM, Feng QW, Niu YX, *et al.* Thyroid nodules in type 2 diabetes mellitus[J]. *Curr Med Sci*, 2019, 39(4): 576–581. DOI: 10.1007/s11596-019-2076-5.
- [4] Law PP, Holland ML. DNA methylation at the crossroads of gene and environment interactions [J]. *Essays Biochem*, 2019, 63(6): 717–726. DOI: 10.1042/EBC20190031.
- [5] Li S, Tollefsbol TO. DNA methylation methods: global DNA methylation and methylomic analyses[J]. *Methods*, 2021, 187: 28–43. DOI: 10.1016/j.ymeth.2020.10.002.
- [6] 中华医学会内分泌学会《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南——甲状腺结节[J]. *中华内科杂志*, 2008, 47(10): 867–868. DOI: 10.3321/j.issn:0578-1426.2008.10.034.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4): 292–344. DOI: 10.19538/j.nk2018040108.
- [8] 徐安平, 陈卫东, 周宇, 等. 常见异常血红蛋白对 4 种离子交换高效液相色谱法检测糖化血红蛋白的影响[J]. *中华检验医学杂志*, 2018, 41(10): 765–769. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2018.10.012.
- [9] Feng P, Wei D, Zhang Y, *et al.* Comparison on the consistency of Mindray and Siemens chemiluminescence analyzers for detecting FT3, FT4 and TSH in patients with hyper- and hypothyroidism[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(20): 1133. DOI: 10.21037/atm-22-4589.
- [10] Cheng X, Yu S, Jin C, *et al.* Comparison of three different assays for measuring thyroglobulin and thyroglobulin antibodies in patients with chronic lymphocytic thyroiditis[J]. *Clin Biochem*, 2017, 50(18): 1183–1187. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2017.08.004.
- [11] Barbosa P, Schemczssen-Graeff Z, Marques A, *et al.* Silencing of transposable elements mediated by 5-mC and compensation of the heterochromatin content by presence of B chromosomes in *Astyanax scabripinnis*[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1162. DOI: 10.3390/cells10051162.
- [12] 鞠香丽, 裴冬梅. 甲状腺结节患病率与血糖、血脂代谢异常的相关性研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(10): 53–56. DOI: 10.7619/jcmp.202010013.
- [13] Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing[J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(6): 371–384. DOI: 10.1038/s41576-018-0004-3.
- [14] 梁书卿, 魏枫, 孙洪莉, 等. 5-氮杂-2'-脱氧胞苷对人甲状腺乳头状癌细胞 DNA 甲基化及 DAPK 基因表达的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(12): 1861–1865. DOI: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.12.009.
- [15] Zafon C, Gil J, Pérez-González B, *et al.* DNA methylation in thyroid cancer[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(7): R415–R439. DOI: 10.1530/ERC-19-0093.
- [16] 张松泽, 肖樟生, 杨飞标. 5-甲基胞嘧啶 5-羟甲基胞嘧啶在女性甲状腺乳头状癌组织中的表达及与 TET 蛋白的关系[J]. *中国妇幼保健*, 2022, 37(23): 4499–4502. DOI: 10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2022.23.044.
- [17] Pinzón-Cortés JA, Perna-Chaux A, Rojas-Villamizar NS, *et al.* Effect of diabetes status and hyperglycemia on global DNA methylation and hydroxymethylation[J]. *Endocr Connect*, 2017, 6(8): 708–725. DOI: 10.1530/EC-17-0199.
- [18] Angeloni A, Bogdanovic O. Enhancer DNA methylation: implications for gene regulation[J]. *Essays Biochem*, 2019, 63(6): 707–715. DOI: 10.1042/EBC20190030.
- [19] Shalaby SM, Mackawy AMH, Atef DM, *et al.* Promoter methylation and expression of intercellular adhesion molecule 1 gene in blood of autoimmune thyroiditis patients[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(5): 5345–5353. DOI: 10.1007/s11033-019-04990-6.
- [20] Soubrier F. TET2: a bridge between DNA methylation and vascular inflammation[J]. *Circulation*, 2020, 141(24): 2001–2003. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046155.

(编辑: 郑真真)