

中老年人睡眠与外周血白细胞端粒长度的关联性分析

刘惠芬 李峰 王业红 陈江慧 彭东旭 陈静 谭林华 米雪 赵本华

361102 厦门大学公共卫生学院分子疫苗学与分子诊断学国家重点实验室(刘惠芬、陈江慧、陈静、米雪、赵本华); 361009 厦门市莲花医院体检科(李峰、王业红、彭东旭); 361000 厦门市湖里区疾病预防控制中心地方病与慢性病防治科(谭林华)

通信作者:赵本华, Email: benhuazhao@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.07.008

【摘要】 目的 探索中老年人睡眠与外周血白细胞端粒长度的关联性,为提倡健康睡眠延缓衰老提供科学依据。**方法** 使用匹兹堡睡眠质量指数调查表(PSQI)及一般情况调查表,对176名中老年人进行睡眠质量状况调查;采用荧光定量PCR法测量外周血白细胞端粒相对长度,并进行相关和回归分析。**结果** 外周血白细胞端粒平均长度为 (0.995 ± 0.23) T/S,年龄与端粒长度呈负相关($r = -0.241, P = 0.003$);睡眠与年龄有关,随着年龄的增加,睡眠质量更差($r = -0.230, P < 0.01$)、入睡时间更长($r = 0.227, P < 0.01$)、睡眠时间更短($r = -0.486, P < 0.01$)、睡眠效率更差($r = -0.226, P < 0.01$);校正性别、年龄、婚姻、学历、家庭月收入、居住形式、吸烟、饮酒、体育锻炼、基础疾病因素的影响后,线性回归分析显示睡眠时间($\beta = 0.057, P < 0.01$)、入睡时间($\beta = -0.046, P < 0.01$)、睡眠质量($\beta = 0.086, P < 0.01$)是外周血白细胞端粒长度的独立影响因素,表明睡眠时间越长、入睡时间越短、睡眠质量越好,端粒长度越长。**结论** 睡眠是影响中老年人端粒长度的因素,优良的睡眠可能通过减缓端粒长度的缩短延缓衰老,鼓励在社区进行健康睡眠知识的宣教活动,提高睡眠质量。

【关键词】 睡眠质量; 衰老; 端粒长度

基金项目:厦门市科技计划(3502Z20144058);大学生创业训练计划项目(2015Y0936)

Association between sleep and leukocyte telomere length in middle-aged and older adults Liu Hui fen, Li Feng, Wang Yehong, Chen Jianghui, Peng Dongxu, Chen Jing, Tan Linhua, Mi Xue, Zhao Benhua
State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, Department of Epidemiology, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China (Liu HF, Chen JH, Chen J, Mi X, Zhao BH); Department of Health Examination, Lianhua Hospital, Xiamen 361009, China (Li F, Wang YH, Peng DX); Department of Endemic Disease and Chronic Disease, Huli Center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361000, China (Tan LH)

Corresponding author: Zhao Benhua, Email: benhuazhao@163.com

【Abstract】 Objective To understand the association between peripheral leukocytes telomere length (TL) and sleep in middle-aged and old adults. **Methods** A total of 176 middle-aged and old adults were investigated by using the Pittsburgh Sleep Quality Index and questionnaire. TL was measured by fluorescence quantitative PCR. The correlation and regression analysis between sleep and telomere length was performed. **Results** TL had a mean T/S ratio of 0.995 ± 0.23 . There was a negative correlation between TL and age ($r = -0.241, P = 0.003$). With increasing age, sleep quality became worse ($r = -0.230, P < 0.01$), the time to fall asleep became longer ($r = 0.227, P < 0.01$), sleep duration was shorter ($r = -0.486, P < 0.01$), sleep efficiency became worse ($r = -0.226, P < 0.01$). After controlling for the effects of gender, age, marital status, income level, residence, smoking, drinking, physical exercise and disease status, multiple linear regression analysis indicated that sleep quality ($\beta = 0.057, P < 0.01$), time to fall asleep ($\beta = -0.046, P < 0.01$), sleep duration ($\beta = 0.086, P < 0.01$) were independent influencing factors of telomere length, suggesting that the people who had better sleep quality, the shorter time to fall asleep, the longer sleep time would have longer telomere length. **Conclusions** Sleep is a relevant factor affecting TL in middle-aged and elderly population. Good sleep may delay aging by slowing TL. We encourage to conduct health education about the importance of sleep quality in community.

【Key words】 Sleep quality; Aging; Telomere length

Fund programs: Science and Technology Program of Xiamen (3502Z20144058); Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship (2015Y0936)

端粒是真核细胞染色体末端的重复核苷酸序列,随着细胞分裂次数增加,其长度逐渐缩短,是人体衰老的生物学标志物^[1]。睡眠质量与人类衰老有关,先前的研究从生理特征方面发现睡眠质量差的老化征发生率和严重程度明显高于睡眠质量好者,但其中的作用机制目前尚未明了。为此本研究调查 176 例健康中老年人睡眠质量及测量外周血白细胞端粒长度,探讨睡眠与衰老关系,旨在为通过改变睡眠行为达到延缓衰老目的提供科学依据。

对象与方法

1. 研究对象:为 2015 年 6—12 月在厦门市莲花医院健康体检的 ≥ 45 岁中老年人,入组条件为厦门市居民,意识正常,未患癌症、免疫系统缺陷病等。一般情况调查包括年龄、性别、学历、婚姻、居住形式、家庭月收入、吸烟、饮酒、体育锻炼、基础疾病等,采用被调查对象自我评估的方法。全部量表由经过统一培训的研究生现场指导,研究对象独立填写完成,完成后现场收回。对填写的各项进行检查,漏项的予以当场补充。所有研究对象均签署知情同意书。

2. 研究方法:

(1)睡眠质量测定:采用匹兹堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)^[2]评定最近 1 个月的睡眠质量,包括睡眠质量、入睡时间、睡眠时间、睡眠效率、睡眠障碍、催眠药物使用、日间功能 7 个方面。本研究中使用催眠药物的人数过少,故只分析其他 6 项;其中睡眠时间分为 4 个等级: <5 、 $5\sim$ 、 $6\sim$ 、 >7 h。调查时咨询研究对象近 1 个月的睡眠模式是否可以代表过去较长时间的睡眠模式,此次只纳入睡眠测量值具有代表性的资料。

(2)测定相对端粒长度:采集研究对象 EDTA 抗凝外周血 2 ml,利用血液基因组 DNA 提取试剂盒(DP318,北京天根生化科技公司)提取外周血白细胞 DNA。参照 Cawthon 实验原理,端粒重复基因拷贝数(T)同单基因(本研究为 36B4)拷贝数(S)的比值(T/S)与端粒平均长度成正比^[3]。端粒相对长度计算公式: T/S 比值为 $[2^{Ct(\text{tel})}/2^{Ct(36B4)}]^{-1} = 2^{-\Delta Ct}$,一个样本相对于另一样本的 T/S,即相对 T/S 比率为 $2^{-(\Delta Ct1 - \Delta Ct2)} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。研究中采用实时荧光定量 PCR (Bio-Rad CFX-96™ 实时 PCR 仪)测定端粒长度。

3. 统计学分析:采用 EpiData 3 软件建立数据

库,应用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理。定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较用 t 检验或秩和检验,多组均值比较采用 ANOVA 检验,睡眠与端粒长度进行 Pearson 相关分析和多元线性回归分析,双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本情况:176 名研究对象,实际收回问卷 161 份,问卷回收率为 91.5%。另有 10 人由于缺少血样或者血样不合格被剔除,最终纳入分析 151 例。缺失的样本与有完整数据的样本在性别、年龄构成上的差异无统计学意义($P > 0.05$)。年龄 $45 \sim 87$ 岁,平均 (60.62 ± 8.68) 岁。其中男性 64 人(64.7%),平均年龄 (60.25 ± 8.74) 岁;女性 87 人(35.3%),平均年龄 (60.89 ± 8.68) 岁;性别间年龄差异无统计学意义($t = 0.443, P = 0.658$)。其他基本情况见表 1。

2. 影响端粒长度单因素分析:端粒平均长度 T/S 为 0.995 ± 0.23 。端粒平均 T/S 与年龄呈负相关($r = -0.241, P = 0.003$),表明随年龄增长,端粒长度逐渐缩短($\beta = -0.006, P = 0.003$),见图 1。单因素分析结果显示,端粒长度与性别有关($t = 2.182, P = 0.031$),男性的端粒长度(0.95)短于女性(1.03)。吸烟是影响端粒长度的因素($t = 2.910, P = 0.004$),吸烟者端粒长度(0.91)比未吸烟者(1.03)更短。学历、婚姻、收入、居住形式、饮酒、体育锻炼、基础疾病单因素分析结果无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

3. 睡眠与年龄相关性:分析显示,随年龄增加,睡眠质量更差($r = -0.230, P < 0.01$)、入睡时间更长($r = 0.227, P < 0.01$)、睡眠时间更短($r = -0.486, P < 0.01$)、睡眠效率更差($r = -0.226, P < 0.01$);睡眠障碍和日间功能与年龄相关性的差异无统计学意义($P > 0.05$)。睡眠各相关指标具有明显的相关性(表 2)。

4. 睡眠与端粒长度关系:分析显示(表 2),睡眠质量($r = 0.346, P < 0.01$)、睡眠时间($r = 0.278, P < 0.01$)与端粒长度有关,入睡时间($r = 0.130, P = 0.111$)、睡眠效率($r = -0.085, P = 0.301$)、睡眠障碍($r = 0.102, P = 0.212$)、日间功能($r = 0.061, P = 0.459$)与端粒长度均无关,可以认为较差的睡眠质量、较短的睡眠时间有助于短端粒长度形成。

将 4 组不同睡眠质量的端粒长度进行比较,ANOVA 方差分析得,4 组不同睡眠质量端粒长度有

表1 151例中老年人各变量与端粒长度的单因素分析

变量	人数(构成比, %)	端粒相对T/S值	t/F值	P值
性别			2.182	0.031 ^a
男	64(42.4)	0.95±0.22		
女	87(57.6)	1.03±0.24		
年龄组(岁)			4.104	<0.01 ^b
<60	58(38.4)	1.09±0.26		
≥60	93(61.6)	0.93±0.19		
文化程度			0.317	0.729
小学及以下	21(13.9)	1.01±0.19		
初中	55(36.4)	0.97±0.25		
高中及以上	75(49.7)	1.00±0.31		
婚姻状态			1.616	0.108
在婚	133(88.1)	1.01±0.23		
非在婚	18(11.9)	0.91±0.22		
家庭月收入			0.251	0.778
低	37(24.5)	1.02±0.17		
中	64(42.4)	0.99±0.22		
高	50(33.1)	0.98±0.29		
居住方式			0.938	0.350
独居	13(8.6)	0.94±0.13		
非独居	138(91.4)	1.00±0.24		
吸烟			2.910	0.004 ^b
是	43(28.5)	0.91±0.25		
否	108(71.5)	1.03±0.22		
饮酒			0.364	0.716
是	41(27.2)	0.98±0.20		
否	110(72.8)	1.00±0.24		
体育锻炼			0.576	0.566
是	83(55.0)	1.00±0.24		
否	68(45.0)	0.98±0.22		
基础疾病			0.962	0.338
有	89(58.9)	1.01±0.23		
无	62(41.1)	0.97±0.23		

注:^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$

差异($F=8.890, P<0.01$),经LSD检验两两比较,睡眠质量很好组的端粒长度长于其他3组的端粒长度(图2)。将4组不同睡眠时间的端粒长度进行比较,ANOVA方差分析显示,4组不同睡眠时间端粒长度有差异($F=0.579, P=0.001$),经LSD检验两两比较,睡眠时间>7 h组的端粒长度长于睡眠时间<5 h和5~h组的端粒长度;睡眠时间6~h组的端粒长度长于睡眠时间<5 h和5~h组的端粒长度(图2)。

为了进一步了解睡眠与端粒长度的关系,以端粒长度为因变量Y,以性别、年龄、婚姻、学历、收入、居住形式、吸烟、饮酒、体育锻炼、基础疾病为协变量,分别以睡眠时间、入睡时间、睡眠质量、睡眠效率、睡眠障碍、日间功能为自变量X建立6个方程,采用逐步回归法进行线性回归分析,以 $\alpha_1=0.05$ 为入选变量的显著性水准, $\alpha_2=0.10$ 为剔除变量的显著性水准,发

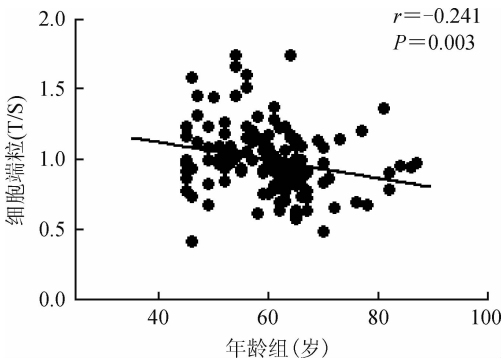


图1 研究对象年龄与细胞端粒长度的相关性分析

现睡眠时间($\beta=0.057, P<0.01$)、入睡时间($\beta=-0.046, P<0.01$)、睡眠质量($\beta=0.086, P<0.01$)是端粒长度的独立影响因素,其中睡眠时间、睡眠质量对端粒长度具有显著的正向预测力和影响力,而入睡时间具有负向预测力和影响力,其余无相关性(表3),表明睡眠时间越长,入睡时间越短,睡眠质量越好,端粒长度越长。

讨论

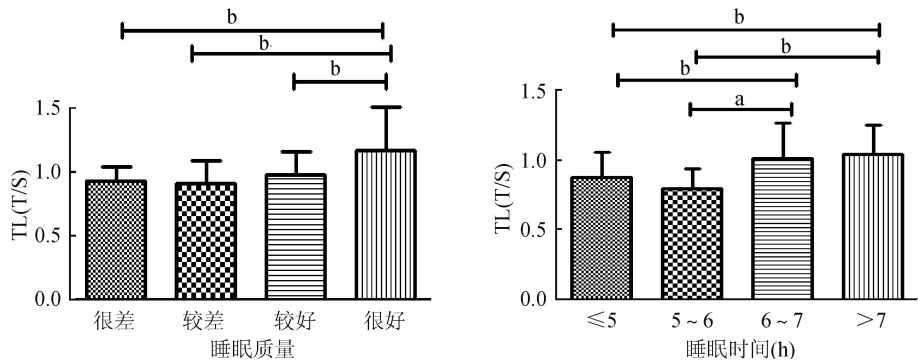
本研究中老年健康人群外周血白细胞端粒长度与年龄呈负相关关系,即端粒长度随年龄增长而缩短,与Fossel^[1]的研究一致。而随着年龄的增加,同样出现了睡眠质量差、入睡时间长等问题^[4]。睡眠与端粒长度的方差分析结果提示,保持良好的睡眠质量及适宜的睡眠时间均有利于长端粒的维持。回归分析在控制了一系列协变量后得出睡眠时间、入睡时间及睡眠质量是影响端粒长度的独立变量,证实了延长睡眠时间,缩短入睡时间,保证良好睡眠质量以达到减缓端粒长度缩短的速度,这也从侧面验证了优质睡眠有利于老年人延长寿命。

不良的睡眠质量与端粒长度的损耗机制目前尚未明确,现有的理论认为睡眠与端粒长度均与炎症、氧化应激有关。Chapotot等^[5]研究证实,睡眠剥夺能影响机体固有生物节律,激活交感神经系统,增加皮质醇的分泌,进而抑制端粒酶活性以缩短端粒长度^[6]。另外,睡眠质量差,能以多种途径诱发机体氧化应激^[7],

表2 睡眠与年龄及端粒长度相关性分析

	端粒长度	年龄	睡眠质量	入睡时间	睡眠时间	睡眠效率	睡眠障碍
年龄	-0.241 ^b						
睡眠质量	0.346 ^b	-0.230 ^b					
入睡时间	0.130	0.227 ^b	-0.294 ^b				
睡眠时间	0.278 ^b	-0.486 ^b	0.335 ^b	-0.259 ^b			
睡眠效率	-0.085	-0.226 ^b	0.304 ^b	-0.580 ^b	0.262 ^b		
睡眠障碍	0.102	0.095	-0.172 ^a	0.323 ^b	-0.061	-0.143	
日间功能	0.061	-0.084	-0.179 ^a	0.293 ^b	0.037	-0.273 ^b	0.416 ^b

注:^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$



注:TL 为细胞端粒长度; T/S 为端粒重复基因拷贝数(T)同单基因拷贝数(S)的比值; * $P<0.05$; ^b $P<0.01$
图2 不同睡眠质量、睡眠时间的研究对象细胞端粒长度比较

表3 端粒长度与睡眠时间的逐步线性回归分析

自变量	β	s_e	$\hat{\beta}$	t 值	P 值
吸烟	-0.100	0.040	-0.196	-2.512	0.013 ^a
睡眠时间	0.057	0.018	0.250	3.203	0.002 ^b
年龄	-0.006	0.002	-0.217	-2.808	0.006 ^b
吸烟	-0.126	0.039	-0.246	-3.232	0.002 ^b
入睡时间	-0.046	0.019	-0.185	-2.398	0.018 ^a
年龄	-0.005	0.002	-0.180	-2.374	0.019 ^a
吸烟	-0.122	0.038	-0.238	-3.232	0.002 ^b
睡眠质量	0.086	0.021	0.305	4.034	0.000

注: * $P<0.05$; ^b $P<0.01$; 以性别、年龄、婚姻、学历、收入、居住形式、吸烟、饮酒、体育锻炼、基础疾病为协变量

导致自由基产生和清除失衡,使其大量堆积,引起端粒断裂累积,加速端粒长度缩短^[8]。总之,睡眠质量差导致的皮质醇分泌紊乱、自由基堆积、应激反应增加,这些机制又引起端粒长度的缩短,从而加速了衰老的进程。

关于睡眠与衰老关系的研究结果存在争议^[9-11]。本文以端粒长度作为衰老标志物来探索两者关系,分析中通过校正相关混杂因素,得出与端粒长度有关的独立因素。但也存在局限性,如横断面研究,难以分析睡眠与端粒长度的因果关系;睡眠质量是被调查者自我评估的,是主观性指标,可能受到当时情绪影响及存在回忆偏倚。另外,样本量相对较小,因此结论外推时应注意且限制在正常人群。

总之,本研究证实通过改善睡眠质量可能有助于减缓端粒长度的缩短,进而减轻细胞衰老的不利影响,并为抗衰老提供了干预手段,具有较强的现实指导意义。今后在社区应进行健康睡眠知识的宣教活动,帮助建立良好睡眠行为,从而提高睡眠质量,以达到延缓衰老的目的。

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] Fossel M. Use of telomere length as a biomarker for aging and age-related disease[J]. Curr Tran Geriatr Gerontol Rep, 2012, 1

(2): 121-127. DOI: 10.1007/s13670-012-0013-6.
[2] Buysse DJ, Reynolds III CF, Monk TH, et al. The pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research [J]. Psychiatry Res, 1989, 28 (2) : 193-213. DOI: 10.1016/0165-1781(89)90047-4.
[3] Lau LMS, Dagg RA, Henson JD, et al. Detection of alternative lengthening of telomeres by telomere quantitative PCR [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41 (2) : e34. DOI: 10.1093/nar/gks781.
[4] 温丽雅, 陈长香, 李淑杏. 老年人睡眠质量的相关因素分析[J]. 现代预防医学, 2010, 37 (15): 2871-2872.
Wen LY, Chen CX, Li SX. Analysis of related influencing factors of sleep quality in elderly people [J]. Mod Prev Med, 2010, 37 (15): 2871-2872.
[5] Chapotot F, Buguet A, Gronfier C, et al. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity is related to the level of central arousal: effect of sleep deprivation on the association of high-frequency waking electroencephalogram with cortisol release [J]. Neuroendocrinology, 2001, 73 (5) : 312-321. DOI: 10.1159/000054648.
[6] Tomiyama AJ, O' Donovan A, Lin J, et al. Does cellular aging relate to patterns of allostasis? An examination of basal and stress reactive HPA axis activity and telomere length [J]. Physiol Behav, 2012, 106 (1) : 40-45. DOI: 10.1016/j.physbeh.2011.11.016.
[7] Epel ES, Blackburn EH, Lin J, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101 (49) : 17312-17315. DOI: 10.1073/pnas.0407162101.
[8] Richter T, von Zglinicki T. A continuous correlation between oxidative stress and telomere shortening in fibroblasts [J]. Exp Gerontol, 2007, 42 (11) : 1039-1042. DOI: 10.1016/j.exger.2007.08.005.
[9] Prather AA, Puterman E, Lin J, et al. Shorter leukocyte telomere length in midlife women with poor sleep quality [J]. J Aging Res, 2011, 2011: 721390. DOI: 10.4061/2011/721390.
[10] Liang GY, Schernhammer E, Qi L, et al. Associations between rotating night shifts, sleep duration, and telomere length in women [J]. PLoS One, 2011, 6 (8) : e23462. DOI: 10.1371/journal.pone.0023462.
[11] Jackowska M, Hamer M, Carvalho LA, et al. Short sleep duration is associated with shorter telomere length in healthy men: findings from the Whitehall II Cohort Study [J]. PLoS One, 2012, 7 (10) : e47292. DOI: 10.1371/journal.pone.0047292.

(收稿日期: 2016-11-22)
(本文编辑: 张林东)