

昼夜钟调节细胞衰老的研究进展

魏玉 吴珺华*

(同济大学附属口腔医院, 上海牙组织修复与再生工程技术研究中心, 上海 200072)

摘要 昼夜钟是普遍存在于哺乳动物下丘脑视交叉上核和外周组织的内源性调节系统, 使生物体的生理活动和行为以地球自转24 h为周期发生昼夜改变。除了调控组织发育和多种疾病的发生外, 昼夜钟还可通过影响细胞周期、细胞内活性氧水平等方式参与细胞衰老的调控。该文综述了昼夜钟参与细胞衰老调控的作用机制, 并总结了其参与调控的细胞衰老信号通路, 有助于从多角度研究细胞衰老的机制。

关键词 昼夜钟; 细胞衰老; 细胞周期; 活性氧

Research Progress of Circadian Clock Involved in Cellular Senescence

WEI Yu, WU Junhua*

(Shanghai Engineering Research Center of Tooth Restoration and Regeneration and School & Hospital of Stomatology, Tongji University, Shanghai 200072, China)

Abstract Circadian clock is an endogenous regulatory system commonly found in the mammalian suprachiasmatic nucleus of hypothalamus and peripheral tissues, which makes the physiological activities and behaviors of organisms carry out the day-and-night cycle with the rotation of the earth for 24 h. In addition to regulating tissue development and the occurrence of diseases, circadian clock can also regulate cellular senescence by affecting cell cycle, intracellular reactive oxygen species and so on. In this paper, the mechanism of circadian clock involved in regulating cellular senescence is reviewed, and the cellular senescence-associated signaling pathways regulated by circadian clock are summarized to help to study the mechanism of cellular senescence in various aspects.

Keywords circadian clock; cellular senescence; cell cycle; reactive oxygen species

生物体内部存在一种自我调节机制来适应每天的环境变化, 这种调节机制被称作“昼夜钟(circadian clock)”。包括血压、体温以及激素的释放等生理活动的昼夜节律改变都与昼夜钟的调控有关。研究表明, 昼夜钟可以从多个层面参与调节细胞以及组织器官的稳定, 且与细胞衰老关系密切。因此, 明确昼夜钟与细胞衰老(cellular senescence)间的关系, 可以为某些昼夜钟紊乱或早衰相关疾病的治疗提供

新思路。

1 昼夜钟系统组成和功能

昼夜钟是存在于大多数哺乳动物体内的一种内源性系统, 包括*Bmal1*、*Clock*、隐花色素基因Cryptochrome家族(*Cry1/2*)和周期基因Period家族(*Per1/2/3*)等在内的核心时钟基因在下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)和几乎所有的外

收稿日期: 2020-05-21 接受日期: 2020-08-03

上海市自然科学基金(批准号: 19ZR1462000)和上海市科学技术委员会基金(批准号: 14411967200)资助的课题

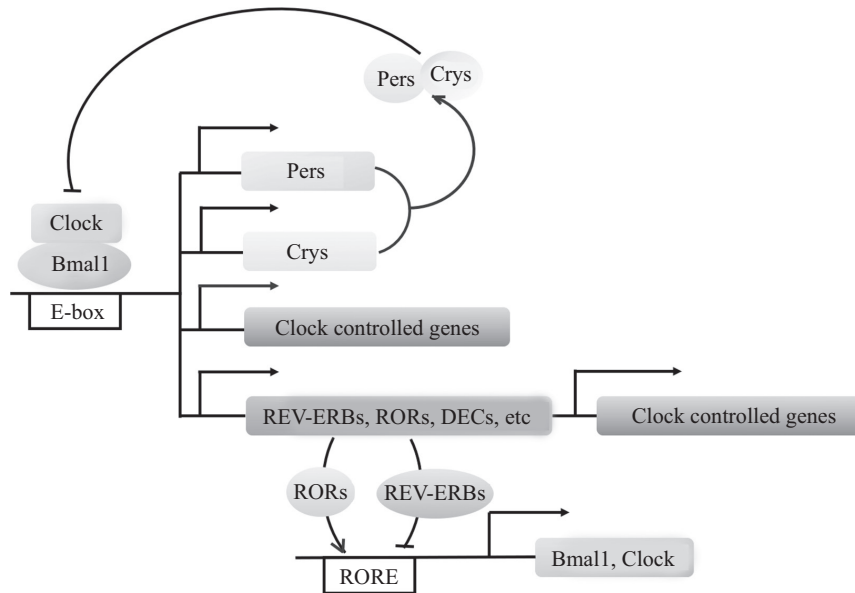
*通讯作者。Tel: 021-66313729, E-mail: wujunhua_sh@tongji.edu.cn

Received: May 21, 2020 Accepted: August 3, 2020

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shanghai (Grant No.19ZR1462000) and the Science and Technology Committee Foundation of Shanghai (Grant No.14411967200)

*Corresponding author. Tel: +86-21-66313729, E-mail: wujunhua_sh@tongji.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5412>



“→”表示正向调节; “⊥”表示负向调节。

“→” represents positive regulation; “⊥” represents negative regulation.

图1 昼夜钟系统转录-翻译反馈环路

Fig.1 Transcription-translation feedback loop of circadian clock system

周组织中都有节奏地表达,使生物体的生理活动和行为发生昼夜节律改变,与地球自转24 h同步。在一个节律周期内,异二聚体转录因子Bmal1/Clock通过与基因启动子区域的E-box元件结合,激活*Pers*和*Crys*的转录。当这两种分子在细胞质内积累到一定量时,会形成多聚体复合物,反向抑制Bmal1/Clock异二聚体的转录活性,形成转录-翻译反馈环路;此外,Bmal1/Clock异二聚体也可以促进昼夜钟系统内其他转录因子,如REV-ERBs(REV-ERB α/β)、RORs(ROR $\alpha/\beta/\gamma$)、DECs(DEC1/2)等的表达,形成次级反馈环路,间接调控部分基因的节律表达;或者自身作为转录因子直接调控基因的节律表达^[1](图1)。

据文献报道,生物体内约有10%的基因呈现周期性表达规律,昼夜钟基因通过调控体内基因的表达,进而影响机体的稳定。研究表明,肿瘤和部分代谢相关的疾病如脂肪肝、糖尿病等疾病的发生发展与昼夜钟紊乱关系密切^[2]。在骨组织内,昼夜钟基因通过参与调节成骨细胞和破骨细胞等功能来维持骨组织的动态平衡^[3]。口腔颌面部硬组织的发育在一定程度上也受到昼夜钟基因的调控^[4]。此外,有研究证实昼夜钟紊乱小鼠部分组织内的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平也显著提高,且出现如脱毛、动脉粥样硬化、关节病变、异位骨化、糖代谢失衡、寿命缩短等过早衰老的表现^[5]。由此

可见,昼夜钟系统的正常运行对于维持机体正常生命活动至关重要。

2 细胞衰老的分子机制

细胞衰老是指在多种压力因素刺激下的一种持续性细胞周期阻滞状态,包括端粒磨损、DNA损伤、癌基因激活、ROS水平上升、表观遗传学改变等因素都是细胞衰老的诱因。衰老的细胞除自身增殖受阻功能减弱外,还可以产生衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),并通过旁分泌作用对邻近的细胞和组织构成慢性低度炎症环境,从而导致组织器官功能受损。癌症、动脉粥样硬化、糖尿病、骨关节炎以及神经退行性疾病包括阿尔茨海默病、帕金森病等都与细胞衰老密切相关^[6]。

衰老的细胞主要停滞在G₁期,但G₂期阻滞时也会发生细胞衰老现象。在细胞衰老的过程中,p53/p21和p16通路起到重要作用,是两条经典通路^[7]。其中,各种不利因素导致的DNA双链断裂会激活DNA损伤应答(DNA damage response, DDR),从而引发DNA损伤激酶ATM、ATR、CHK1和CHK2的磷酸化,激活p53基因,以促进下游p21的表达;此外,CDKN2A基因(编码p16蛋白)位点脱抑制或致癌信号等因素会激活p16的表达。p16和p21作为细胞周期蛋

白依赖性激酶抑制剂, 均可直接参与抑制细胞周期蛋白-细胞周期蛋白依赖性激酶-周期蛋白依赖性激酶抑制剂(Cyclin-CDK-CKI)调控网络, 导致细胞衰老。

研究发现, 衰老的细胞自身昼夜钟分子的表达会发生改变: 例如Bmal1、Per2表达水平降低。此外, 昼夜钟系统也参与到细胞衰老的调控中, 主要体现为参与调节影响细胞周期的关键信号分子、影响细胞内ROS水平以及参与调节细胞衰老相关信号通路等方面。本文从以上角度出发, 对昼夜钟参与调控细胞衰老的可能机制进行综述, 以期细胞衰老的研究提供参考。

3 昼夜钟参与调节细胞衰老

3.1 昼夜钟基因通过调节细胞周期影响细胞衰老

研究表明, DNA生物合成和有丝分裂在表皮细胞、免疫细胞、肝细胞等多种细胞中存在周期规律^[8]; 在人口腔黏膜细胞中, 部分细胞周期蛋白, 例如细胞周期蛋白E(Cyclin E)、细胞周期蛋白A(Cyclin A)以及细胞周期蛋白B1(Cyclin B1)存在昼夜节律表达规律^[9]。由此可见, 正常细胞周期稳定的维持有赖于昼夜钟系统的精准调控。而昼夜钟系统内的相关基因可以从多个方面直接或间接地参与调控细胞周期进

而影响细胞衰老(表1)。

3.1.1 Bmal1/Clock Bmal1和Clock作为昼夜钟系统反馈环路的起始分子, 它们多数情况下以二聚体的形式行使功能, 但也可以单独参与调控基因的表达。研究发现, Bmal1可直接与抑癌基因p53的启动子区域结合促进其表达^[10]。p53作为细胞衰老的重要标志基因之一, 主要参与DDR, 通过p53/p21途径导致细胞衰老。而DDR这一机制旨在保护生物的基因组免受外界刺激的侵害, 确保细胞周期顺利进行, 其中组蛋白H2AX在DNA双键断裂处迅速磷酸化(γ-H2AX)形成焦点, 募集损伤修复相关蛋白进行修复, 在修复DNA方面起到重要作用。有研究发现, Bmal1和Clock均可通过影响γ-H2AX和p21的表达参与DDR^[11]。

昼夜钟基因Bmal1和Clock可通过多种途径参与调控G₂-M期的转变。首先, Bmal1可以直接抑制参与G₂-M期转变的细胞周期蛋白依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)的表达^[12]; 其次, FAR-SHADI等^[13]发现, Bmal1/Clock异二聚体可以通过激活Cyclin B1促进G₂-M期转变, 而且WANG等^[14]也发现, 沉默Clock基因会使Cyclin B1表达降低, 进而抑制G₂-M期转变; 此外, Bmal1/Clock异二聚体还可以与G₂-M期抑制剂Wee1基因启动子区域的E-box元件

表1 昼夜钟基因参与细胞周期调控的分子机制总结			
Table 1 Summary of the molecular mechanism of circadian clock genes involved in cell cycle regulation			
昼夜钟基因	目标基因/信号通路	主要影响	参考文献
Circadian clock genes	Target genes/signaling pathway	Main effects	References
Bmal1	p53	DDR, G ₂ -M	[10]
	p21, γ-H2AX	DDR	[11]
	CDK5	G ₂ -M	[12]
Clock	p21, γ-H2AX	DDR	[11]
	Cyclin B1	G ₂ -M	[14]
Bmal1/Clock heterodimer	Cyclin B1, Wee1	G ₂ -M	[13-15]
Per1	ATM, CHK2	DDR	[19]
	p16	G ₁ -S	[18]
Per2	Cyclin D1, p53, p16	G ₁ -S	[17-18]
Cry1	ATR-CHK1 signaling pathway	DDR	[22]
Cry2	Cyclin D1	G ₁ -S	[23]
REV-ERBs	p21	G ₁ -S	[24]
	Cyclin A2	G ₂ -M	[25]
RORs	p21	G ₁ -S	[24]
DEC1	Cyclin D1, Cyclin E	G ₁ -S	[26-27]
	p53	DDR	[30]
DEC2	p16, Cyclin D1	G ₁ -S	[28-29]

结合, 控制其昼夜表达从而参与细胞周期的调控^[15]。综上, Bmal1和Clock主要通过参与调控DDR和G₂-M期的转变影响细胞衰老。

3.1.2 周期基因Per家族 有研究证实, Per1可通过影响Cyclin-CDK-CKI网络内多种分子的表达进而参与细胞周期的调控^[16]。而Per2可以通过降低细胞内细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、提升p53水平从而加速细胞老化^[17]。此外, KOWALSKA等^[18]发现, Per蛋白可以被多功能核内蛋白NONO激活进而促进p16的转录参与细胞衰老的调控。研究表明, 周期基因Per家族在DDR中也起到重要调节作用, 其中Per1可以与DNA损伤激酶ATM和CHK2相互作用, 正向调控DDR^[19], 而Per2在此过程中起到负向调节作用^[20]。

3.1.3 隐花色素基因Cry家族 Cry家族参与细胞周期的调节主要体现在对DDR的调控作用。研究表明, Cry1和Cry2在DDR中相互协同作用, 缺乏Cry2的细胞DNA损伤积累会增多^[21]。Cry1蛋白还可与昼夜钟辅助蛋白Timeless协同调控DNA损伤激酶ATR-CHK1通路, 参与DDR^[22]。除了参与DDR外, 也有实验证实Cry2可以通过调控Cyclin D1的表达从而参与细胞周期G₁-S期的调控^[23]。

3.1.4 其他转录因子 除核心昼夜钟基因外, 昼夜钟系统内的其他转录因子, 也可以参与细胞周期的调控。研究表明, 孤儿核受体REV-ERBs和RORs可直接调控p21表达从而参与G₁-S期转变^[24]。在细胞周期Cyclin-CDK-CKI调控网络中, Cyclin A2-CDK2和Cyclin E-CDK2复合物可以参与G₁-S期转变的调控, Cyclin A2-CDK1复合物可以参与G₂-M期转变的调控。而昼夜钟系统内转录因子在上述细胞周期蛋白的调控中也起到一定作用。WANG等^[25]发现, REV-ERB β 可以通过降低Cyclin A2表达, 抑制细胞周期进程。BI等^[26-27]发现, DEC1可以直接抑制Cyclin D1启动子活性、稳定Cyclin E蛋白而参与细胞周期调控。此外, 细胞内DEC2表达增高也可以促进p16表达, 或参与抑制Cyclin D1表达进而抑制细胞增殖^[28-29]。除了直接参与细胞周期调控网络外, DEC1还可以与p53形成复杂的反馈调节环路参与DDR^[30]。

3.2 昼夜钟通过调节ROS平衡影响细胞衰老

氧化应激ROS是一类由氧或含氧物质组成的活性物质, 主要由线粒体代谢产生。过多的ROS积累不仅可以破坏线粒体DNA引发DDR, 还可以作为信号分子激活p38 MAPK通路, 进而参与p53/p21和p16

通路调控细胞衰老^[31]。研究表明, 昼夜钟还可以从多个方面调控细胞内ROS平衡。

3.2.1 昼夜钟调节线粒体功能 线粒体是由两层膜包被且拥有自身遗传物质的细胞器, 是细胞进行有氧呼吸的主要场所, 也是ROS产生的主要部位。研究证实, 线粒体呼吸作用表现出节律性改变^[32]。GONG等^[33]发现, 小鼠肝脏细胞内线粒体部分mRNA存在周期性表达规律, 可以影响细胞内氧化应激水平的动态稳定。线粒体内膜上存在多种转运蛋白, 对代谢产物的转运至关重要。研究发现, 昼夜钟基因Clock可与线粒体载体蛋白SLC25A10相互作用参与调控线粒体代谢水平, 从而影响细胞内ROS水平^[34]。此外, 在线粒体发生和自噬等功能的维持中, SIRT1/PGC-1 α 信号通路起到重要调控作用, 而Bmal1/Clock异二聚体与SIRT1分子也存在着复杂的反馈调节环路从而影响上述过程^[35]。

3.2.2 昼夜钟调节抗氧化分子的表达 研究表明, 细胞内ROS水平也存在昼夜周期表达规律^[36]。细胞内ROS水平的动态稳定依赖于促氧化与抗氧化之间的平衡, 昼夜钟在一定程度上参与部分抗氧化分子的调控。其中褪黑素(melatonin, MLT)作为天然的自由基清除剂在氧化应激压力导致的细胞衰老等方面起到重要调节作用, 其表达存在昼夜节律, 表现为夜间合成增加而白天抑制^[37]; 抗氧化剂谷胱甘肽(glutathione, GSH)也存在节律表达规律, 可能涉及表观遗传学的调控^[38]; 此外, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)以及广泛存在于细胞内的过氧化氢分解酶-谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)的启动子区域均存在E-box, 可能受Bmal1/Clock异二聚体转录调控, 但具体机制有待进一步实验验证^[39]。

3.2.3 昼夜钟调节ROS水平的其他机制 昼夜钟基因还可以通过调节多种信号通路间接参与细胞内ROS的调控。Nrf2作为转录调节因子, 可通过与抗氧化反应元件(antioxidant response elements, AREs)结合参与调控抗氧化基因SOD、GSH-Px等的表达从而保护细胞免受氧化应激压力的损伤。研究证实, Bmal1/Clock异二聚体可以直接与转录调节因子Nrf2启动子区域E-box结合调控其表达, 从而参与调控细胞内ROS水平^[40]。此外, Bmal1的缺乏导致细胞内ROS水平提升可能是通过BMP介导的信号通路调节^[41]。Clock^{A19}基因突变可以通过抑制细胞内Pdia3转录,

增加内质网压力和ROS水平,从而参与细胞衰老的调控^[42]。

昼夜钟还可以影响细胞对ROS的敏感性。有研究显示,缺乏Bmal1的细胞不仅ROS水平提升,而且对于外源性氧化应激压力(如H₂O₂)敏感性增加^[36]。而Per2基因突变时,细胞抵抗外界氧化应激压力的能力增加,其中可能涉及Bcl-2细胞凋亡信号通路^[43]。

3.3 昼夜钟基因参与调节与衰老相关的信号通路影响细胞衰老

除了直接参与细胞周期和氧化应激水平等的调控外,昼夜钟基因还参与调节细胞衰老相关的信号通路,间接参与细胞衰老的进程。

PI3K/AKT/mTOR信号通路可以影响细胞代谢、凋亡及自噬等功能,在细胞衰老的调节中起到重要作用,而该信号通路也受部分昼夜钟基因调控。DING等^[44]发现,Bmal1可能通过调节PI3K/AKT信号通路影响细胞的凋亡。KHAPRE等^[45]通过体内外研究均发现,Bmal1缺乏时,mTORC1水平增加,且与细胞加速衰老密切相关。LIU等^[46]发现,Per2可以调控PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制肿瘤细胞增殖,Per2基因突变还可以通过AKT依赖的信号通路促进血管内皮细胞的衰老^[47]。此外,降低Cry1表达可以激活AKT蛋白的磷酸化,进而通过p53/p21途径抑制细胞增殖^[48]。

缺氧反应元件(hypoxia response elements, HREs)是介导细胞低氧反应的重要调控序列,低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)通常与其下游靶基因启动子区域的HREs结合,参与细胞内相关基因表达的调控,进而参与细胞代谢过程。研究发现,昼夜钟基因Bmal1、ROR α 及Per2在上述过程中呈现正向调控作用^[49-50],但Cry1呈现负向调节作用,不仅可以抑制HIF-1 α 与下游靶基因启动子的结合,还可以抑制HIF-1 α 基因的转录且促进其蛋白的降解^[51]。

4 总结与展望

综上所述,昼夜钟可以通过直接或间接调控细胞周期、细胞内ROS水平以及参与细胞衰老相关的信号通路等参与细胞衰老的调控,涉及机制比较复杂,其中还可能存在多级反馈环路。例如,褪黑素不仅存在昼夜表达规律,也可以反向调节昼夜钟系统,可用于临床上治疗睡眠障碍。而昼夜钟系统也受多种

外界因素的干扰,这也给关于昼夜钟的研究带来一定的挑战。此外,目前关于昼夜钟对细胞衰老的调控是否存在细胞选择性方面缺乏文献支持,需要进一步实验验证。随着研究的深入,更为详细的昼夜钟与细胞衰老相关的调控机制将会被发现。进一步明确昼夜钟与细胞衰老之间的多级调控关系,不仅为衰老相关的机制研究提供新思路,而且也可以为某些慢性疾病和功能障碍的治疗提供新的理论依据和方向。

参考文献 (References)

- [1] PILORZ V, ASTIZ M, HEINEN K O, et al. The concept of coupling in the mammalian circadian clock network [J]. J Mol Biol, 2020, 432(12): 3618-38.
- [2] CHAIX A, LIN T, LE H D, et al. Time-restricted feeding prevents obesity and metabolic syndrome in mice lacking a circadian clock [J]. Cell Metab, 2019, 29(2): 303-19.
- [3] TAKARADA T, XU C, OCHI H, et al. Bone resorption is regulated by circadian clock in osteoblasts [J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(4): 872-81.
- [4] ZHAO J, ZHOU X, TANG Q, et al. BMAL1 deficiency contributes to mandibular dysplasia by upregulating MMP3 [J]. Stem Cell Rep, 2018, 10(1): 180-95.
- [5] YANG G, CHEN L, GRANT G R, et al. Timing of expression of the core clock gene Bmal1 influences its effects on aging and survival [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(324): 324ra316.
- [6] KIRKLAND J L, TCHKONIA T. Cellular senescence: a translational perspective [J]. EBioMedicine, 2017, 21: 21-8.
- [7] MIJIT M, CARACCIOLO V, MELILLO A, et al. Role of p53 in the regulation of cellular senescence [J]. Biomolecules, 2020, 10(3): 420.
- [8] FEILLET C, VAN DER HORST G T, LEVI F, et al. Coupling between the circadian clock and cell cycle oscillators: implication for healthy cells and malignant growth [J]. Front Neurol, 2015, 6: 96.
- [9] BJARNASON G A, JORDAN R C, WOOD P A, et al. Circadian expression of clock genes in human oral mucosa and skin association with specific cell-cycle phases [J]. Am J Pathol, 2001, 158(5): 1793-801.
- [10] JIANG W, ZHAO S, JIANG X, et al. The circadian clock gene Bmal1 acts as a potential anti-oncogene in pancreatic cancer by activating the p53 tumor suppressor pathway [J]. Cancer Lett, 2016, 371(2): 314-25.
- [11] SUN Y, WANG P, LI H, et al. BMAL1 and CLOCK proteins in regulating UVB-induced apoptosis and DNA damage responses in human keratinocytes [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(12): 9563-74.
- [12] PENG H, ZHANG J, ZHANG P P, et al. ARNTL hypermethylation promotes tumorigenesis and inhibits cisplatin sensitivity by activating CDK5 transcription in nasopharyngeal carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 11.
- [13] FARSHADI E, YAN J, LECLERE P, et al. The positive circadian regulators CLOCK and BMAL1 control G₂/M cell cycle transi-

- tion through cyclin B1 [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(1): 16-33.
- [14] WANG F, LI C, Y L, et al. The circadian gene clock plays an important role in cell apoptosis and the DNA damage response *in vitro* [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2016, 15(3): 480-6.
- [15] MATSUO T, YAMAGUCHI S, MITSUI S, et al. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division *in vivo* [J]. *Science*, 2003, 302(5643): 255-9.
- [16] FU X J, LI H X, YANG K, et al. The important tumor suppressor role of PER1 in regulating the cyclin-CDK-CKI network in SCC15 human oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 9: 2237-45.
- [17] XIANG S, COFFELT S B, MAO L, et al. Period-2: a tumor suppressor gene in breast cancer [J]. *J Circadian Rhythms*, 2008, 6: 4.
- [18] KOWALSKA E, RIPPERGER J A, HOEGGER D C, et al. NNO couples the circadian clock to the cell cycle [J]. *Proc Natl Acad Sci* 2013, 110(5): 1592-9.
- [19] GERY S, KOMATSU N, BALDJYAN L, et al. The circadian gene *per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells [J]. *Mol Cell*, 2006, 22(3): 375-82.
- [20] FU L, PELICANO H, LIU J, et al. The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response *in vivo* [J]. *Cell*, 2002, 111(1): 41-50.
- [21] PAPP S J, HUBER A L, JORDAN S D, et al. DNA damage shifts circadian clock time via Hausp-dependent Cry1 stabilization [J]. *Elife*, 2015, 4: e04883.
- [22] KANG T H, LEEM S H. Modulation of ATR-mediated DNA damage checkpoint response by cryptochrome 1 [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(7): 4427-34.
- [23] YU Y, LI Y, ZHOU L, et al. Cryptochrome 2 (CRY2) suppresses proliferation and migration and regulates clock gene network in osteosarcoma cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 3856-62.
- [24] GRECHEZ-CASSIAU A, RAYET B, GUILLAUMOND F, et al. The circadian clock component BMAL1 is a critical regulator of p21WAF1/CIP1 expression and hepatocyte proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 4535-42.
- [25] WANG Y, KOJETIN D, BURRIS T P. Anti-proliferative actions of a synthetic REV-ERBa/ β agonist in breast cancer cells [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2015, 96(4): 315-22.
- [26] BHAWAL U K, SATO F, ARAKAWA Y, et al. Basic helix-loop-helix transcription factor DEC1 negatively regulates cyclin D1 [J]. *J Pathol*, 2011, 224(3): 420-9.
- [27] BI H, LI S, QU X, et al. DEC1 regulates breast cancer cell proliferation by stabilizing cyclin E protein and delays the progression of cell cycle S phase [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1891.
- [28] SASAMOTO T, FUJIMOTO K, KANAWA M, et al. DEC2 is a negative regulator for the proliferation and differentiation of chondrocyte lineage-committed mesenchymal stem cells [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 876-84.
- [29] LI Y, SHEN Q, KIM H T, et al. The rexinoid bexarotene represses cyclin D1 transcription by inducing the DEC2 transcriptional repressor [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 128(3): 667-77.
- [30] QIAN Y, JUNG Y S, CHEN X. DEC1 and MIC-1: new players of p53-dependent cell fate decision [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(19): 3525-6.
- [31] BENKAFADAR N, FRANCOIS F, AFFORTIT C, et al. ROS-induced activation of DNA damage responses drives senescence-like state in postmitotic cochlear cells: implication for hearing preservation [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(8): 5950-69.
- [32] SCRIMA R, CELA O, MERLA G, et al. Clock-genes and mitochondrial respiratory activity: evidence of a reciprocal interplay [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1857(8): 1344-51.
- [33] GONG C, LI C, QI X, et al. The daily rhythms of mitochondrial gene expression and oxidative stress regulation are altered by aging in the mouse liver [J]. *Chronobiol Int*, 2015, 32(9): 1254-63.
- [34] CAI T, HUA B, LUO D, et al. The circadian protein CLOCK regulates cell metabolism via the mitochondrial carrier SLC25A10 [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(8): 1310-21.
- [35] NAKAHATA Y, SAHAR S, ASTARITA G, et al. Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1 [J]. *Science*, 2009, 324(5927): 654-7.
- [36] KHAPRE R V, KONDRATOVA A A, SUSOVA O, et al. Circadian clock protein BMAL1 regulates cellular senescence *in vivo* [J]. *Cell Cycle*, 2014, 10(23): 4162-9.
- [37] WEISSOVA K, SKRABALOVA J, SKALOVA K, et al. Circadian rhythms of melatonin and peripheral clock gene expression in idiopathic REM sleep behavior disorder [J]. *Sleep Med*, 2018, 52: 1-6.
- [38] KINOSHITA C, AOYAMA K, NAKAKI T. Neuroprotection afforded by circadian regulation of intracellular glutathione levels: a key role for miRNAs [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 119: 17-33.
- [39] KONDRATOV R V, VYKHOVANETS O, KONDRATOVA A A. Antioxidant N-acetyl-L-cysteine ameliorates symptoms of premature aging associated with the deficiency of the circadian protein BMAL1 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2009, 1(12): 979-87.
- [40] LEE J, MOULIK M, FANG Z, et al. Bmal1 and beta-cell clock are required for adaptation to circadian disruption, and their loss of function leads to oxidative stress-induced beta-cell failure in mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(11): 2327-38.
- [41] ZHU M, TANG H, TANG X, et al. BMAL1 suppresses ROS-induced endothelial-to-mesenchymal transition and atherosclerosis plaque progression via BMP signaling [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(10): 3150-61.
- [42] YUAN G, HUA B, CAI T, et al. Clock mediates liver senescence by controlling ER stress [J]. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9(12): 2647-65.
- [43] MAGNONE M C, LANGMESSER S, BEZDEK A C, et al. The mammalian circadian clock gene *per2* modulates cell death in response to oxidative stress [J]. *Front Neurol*, 2014, 5: 289.
- [44] DING H, ZHAO J, LIU H, et al. BMAL1 knockdown promoted apoptosis and reduced testosterone secretion in TM3 Leydig cell line [J]. *Gene*, 2020, 747: 144672.
- [45] KHAPRE R V, KONDRATOVA A A, PATEL S, et al. BMAL1-dependent regulation of the mTOR signaling pathway delays aging [J]. *Aging (Albany NY)*, 2014, 6(1): 48-57.
- [46] LIU H, GONG X, YANG K. Overexpression of the clock gene *Per2* suppresses oral squamous cell carcinoma progression by activating autophagy via the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *J Cancer*, 2020, 11(12): 3655-66.
- [47] WANG C Y, WEN M S, WANG H W, et al. Increased vascular senescence and impaired endothelial progenitor cell function

- mediated by mutation of circadian gene Per2 [J]. *Circulation*, 2008, 118(21): 2166-73.
- [48] ZHOU L, YU Y, SUN S, et al. Cry 1 regulates the clock gene network and promotes proliferation and migration via the Akt/P53/P21 pathway in human osteosarcoma cells [J]. *J Cancer*, 2018, 9(14): 2480-91.
- [49] KOBAYASHI M, MORINIBU A, KOYASU S, et al. A circadian clock gene, PER2, activates HIF-1 as an effector molecule for recruitment of HIF-1 α to promoter regions of its downstream genes [J]. *FEBS J*, 2017, 284(22): 3804-16.
- [50] SUYAMA K, SILAGI E, CHOI H, et al. Circadian factors BMAL1 and ROR α control HIF-1 α transcriptional activity in nucleus pulposus cells: implications in maintenance of intervertebral disc health [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 23056-71.
- [51] DIMOVA E Y, JAKUPOVIC M, KUBAICHUK K, et al. The circadian clock protein CRY1 is a negative regulator of HIF-1 α [J]. *iScience*, 2019, 13: 284-304.