

特约综述



刘畅, 中国药科大学生命科学与技术学院教授、博导。刘畅教授致力于研究代谢调控与代谢紊乱的分子发病机制, 利用细胞系统和动物模型, 通过分子生物学技术手段, 在生理学水平上探索营养失衡、生物时钟与糖脂代谢调控发生紊乱的机制关联, 力图揭示肥胖、脂肪肝、2型糖尿病、动脉粥样硬化等代谢疾病发生发展的分子基础。作为通讯作者, 刘畅教授已在 *Hepatology*、*Diabetes*、*J Pathol* 等国际著名刊物上共发表SCI论文30余篇。

<http://sky.cpu.edu.cn/s/24/t/41/7d/37/info32055.htm>

生物时钟与能量代谢的整合研究

时雨杰 刘畅*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210038)

摘要 生物时钟系统是生物界的共有系统。以哺乳动物为例, 生物时钟控制着各种生理进程, 如睡眠周期、血压、血液激素水平及能量代谢等, 使之呈现出以大约24 h为周期的节律性变化。哺乳动物的生物时钟与能量代谢稳态之间存在紧密的联系。该文根据此前的研究将二者间的整合模式归为以下3类: (1)以核受体、转录因子/辅因子及其分子伴侣、非编码RNA等为节点, 同时调控时钟与代谢进程, 促使二者整合, 即“并联型”整合模式; (2)由钟控基因(clock-controlled genes, CCGs)承接生物时钟信号, 作为下游效应器进而调控代谢进程, 线性化使二者整合, 即“串联型”整合模式; (3)以某些代谢物为节点, 既能响应上游环境刺激, 又能同时调控下游时钟和代谢进程, 促使二者整合, 即“组合型”整合模式。综上所述, 对生物时钟和能量代谢整合的研究为将来从时辰生物学的角度防控及治疗代谢综合征提供了新的思路。

关键词 生物时钟; 能量代谢; 整合模式

Study on the Integration of Circadian Clock and Energy Metabolism

Shi Yujie, Liu Chang*

(College of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

Abstract Circadian clock system is a universal system in the biosphere. Taking mammals for example, circadian clock system finely controls multiple physiological events, such as sleep/wake cycle, blood pressure, circulating hormones, as well as the energy metabolism, which exhibit diurnal fluctuation. Thus, the circadian clock

国家自然科学基金优秀青年基金(批准号: 31422028)、江苏省杰出青年基金(批准号: BK20140041)、江苏省333高层次人才培养工程(批准号: BRA2015323)、心血管疾病转化医药协同创新中心(南京医科大学)和江苏省高校优势学科建设工程(PAPD)项目资助的课题

*通讯作者。Tel: 025-85891870, E-mail: 1020162547@cpu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31422028), Natural Science Foundation of Jiangsu Province (Grant No.BK20140041), 333 Talents Project (Grant No.BRA2015323), the Collaborative Innovation Center for Cardiovascular Disease Translational Medicine (Nanjing Medical University) and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

*Corresponding author. Tel: +86-25-85891870, E-mail: 1020162547@cpu.edu.cn

网络出版时间: 2017-02-23 17:13:06

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170223.1713.010.html>

and energy metabolism are tightly coupled. In this paper, we summarized three well-known integration modes of these two physiological processes based on previous studies: (1) nuclear receptors, transcriptional factors/cofactors, and non-coding RNAs serve as the nodes, simultaneously regulate clock and metabolic processes, thus promote their integration. This integration mode is recognized as the “parallel type”; (2) as downstream effectors, clock-controlled genes (CCGs) respond to the clock signals and in turn regulate metabolic processes, thus integrate these two pathways in a “series type” manner; (3) some metabolites respond to the upstream environmental stimuli and then simultaneously regulate clock and metabolic processes, or integrate circadian clock and energy metabolism by themselves. This integration mode is recognized as the “combination type”. Collectively, studies on the integration of circadian clock and energy metabolism provide new strategies for prevention and treatment of metabolic syndromes from the view of chronobiology.

Keywords circadian clock; energy metabolism; integration modes

昼夜节律是指以大约24 h为周期的生物进程振荡模式。以哺乳动物为例,睡眠-觉醒、血压和心率、激素分泌、体温和能量代谢均显示出节律性的振荡,这些内源性的应答与人类的健康和疾病息息相关^[1]。昼夜节律紊乱已经成为代谢综合征的一个恶化因素^[2-6]。由于频繁的倒班工作、随处可见的人造光源、跨子午线飞行和夜生活的泛滥,昼夜节律紊乱在发达国家十分常见。有报道指出,倒夜班的人患肥胖和代谢综合征的几率比正常人要高得多^[2,7-8]。高脂饮食能通过影响时钟基因及其靶基因的振荡使小鼠体重增加,而Hatori等^[9]发现,短期的能量限制抑制了这种增重效应。通过改变饮食时间,脂肪组织中核心钟基因*Bmal1*(brain and muscle ARNT-like 1)缺失的小鼠会产生明显的肥胖症状^[10]。这些证据显示“什么时候吃”可能跟“吃什么”同等重要。

1 生物时钟

昼夜节律,即生物时钟,由多个时钟基因驱动,广泛存在于植物、动物、微生物中,说明生物时钟是生物界的共有系统。生物时钟系统由生物时钟基因和时钟控制基因(clock-controlled genes, CCGs)组成,维持着生物体正常的行为和生理节律。睡眠、觅食以及逃避天敌等行为的节律性有利于动物的生存,体温、血压、内分泌和代谢等生理节律可预知并适应环境的变化,从而维持机体的健康。哺乳动物的生物时钟由位于大脑前下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nuclei, SCN)的中枢生物时钟以及位于外周组织器官中的外周生物时钟组成。中枢生物时钟和外周生物时钟协调运作,使机体的昼夜节律与环境保持同步,保证了生命活动和

生理状态的实时协调。在生物时钟系统中,时钟基因构成了一个相互间紧密联系且具有连锁反馈环路的调控系统(图1)。BMAL1和CLOCK(circadian locomoter output cycles protein kaput)或者其同源物NPAS2[neural Per-Arnt-Sim (PAS) domain protein 2]构成异二聚体。BMAL1:CLOCK/NPAS2复合物能与*Per1-3*(Period1-3)和*Cry1/2*(Cryptochrome 1/2)启动子上的E-box元件结合,从而激活其转录。当PER和CRY在胞质中累积到一定程度时,它们就会二聚化并入核与BMAL1:CLOCK/NPAS2复合物结合,进而抑制其活性,关闭其自身的转录进程。研究发现,有多种调控机制控制着这条反馈环路,包括对时钟蛋白的乙酰化、磷酸化、以及泛素化等翻译后修饰作用^[11-13]。例如,酪蛋白激酶(casein kinase 1 ϵ/σ , CK1 ϵ/σ)能通过翻译后修饰对PER和CRY进行调控:CK1 ϵ 和CK1 σ 通过Skp1(S-phase kinase-associated protein 1)、Cullin1、SCF(stem cell factor)/b-TrCP(β -transducin repeat-containing protein)泛素化连接酶复合物靶向结合PER并促使其降解,或者通过单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)激酶靶向结合CRY使其降解加速^[14]。而CLOCK对BMAL1的苏素化修饰亦能对CLOCK-BMAL1异二聚体产生自体调控^[15]。此外,这一主反馈环还和诸多核受体参与的调控环相互联系,孤核受体ROR(α,β,γ)(RAR-related orphan receptor $\alpha/\beta/\gamma$)和REV-ERB(α,β)(nuclear receptor subfamily 1 group D member α/β)就是很好的例子。BMAL1能驱动*Ror*和*Rev-erb*的转录,反过来ROR和REV-ERB能竞争性地增强和抑制*Bmal1*的转录水平。因此,REV-ERB与ROR的竞争净值决定着BMAL1的最终表达水平^[16-19]。这些反馈环路构成

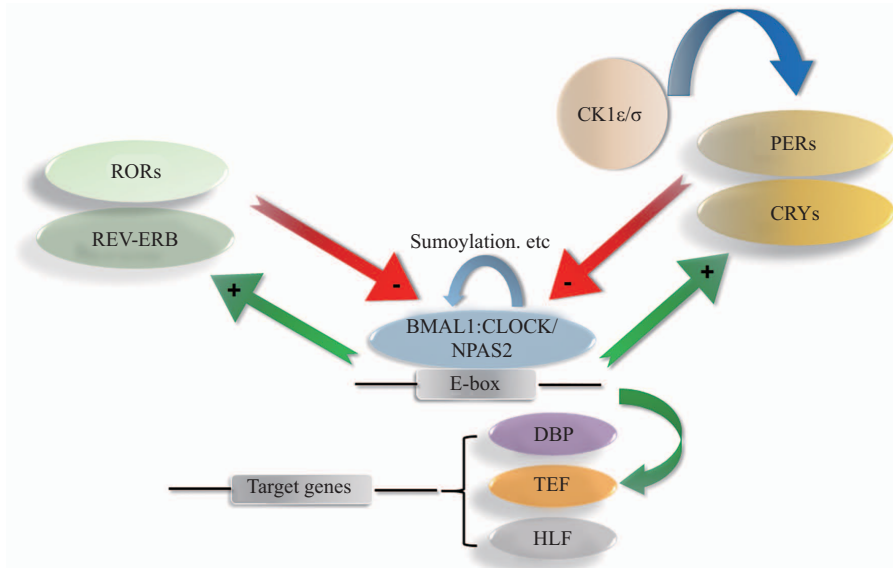


图1 生物时钟系统

Fig.1 The comprehensive system of circadian clock

复杂的调控网络, 节律性地调控诸多靶基因的表达。比如, BMAL1:CLOCK/NPAS2 异二聚体可调控 E-box 元件调控转录因子 DBP (D-box binding protein)、TEF (thyrotroph embryonic factor)、HLF (hepatic leukemia factor)、KLF10 (Krüppel-like factor 10) 等的节律性表达^[20-21], 这些转录因子又可形成同聚体或异二聚体继而激活下游靶基因的表达^[22]。

2 生物时钟和能量代谢的联系

近年来的研究证实, 代谢系统受到精确的节律控制。人们在大脑和几乎所有的外周组织中, 都发现了完整的核心时钟元件。啮齿类动物和人类的许多代谢活动都具有节律性, 比如肝糖异生、胆酸合成以及肝脏的解毒过程^[14]。另一方面, 生物时钟中的一些关键因子也具有重要的代谢调控功能。比如, ROR α 作为 BMAL1 的激活蛋白, 能够调节骨骼肌的脂肪生成和贮存^[23]。REV-ERB α 能抑制 BMAL1 的表达, 继而同样能调节脂肪生成^[24]。这些事实说明, 生物体内的生物时钟和能量代谢过程是紧密整合的, 它们只有协同运作才能保证机体的健康。就一天内的时间段而言, 清晨是心血管疾病的高发时间段。对于经常熬夜的人群来说, 患心血管疾病和乳腺癌的几率更高^[25]。在小鼠体内的研究也证实了生物时钟和能量平衡之间的紧密联系。例如, *Clock*^{A19/A19} 突变小鼠表达 CLOCK 蛋白的显性负性突变体, 它们比正常小鼠更胖, 并伴有高血脂、脂肪肝等症状^[26]。利

用组织特异性时钟基因突变小鼠进行的研究进一步揭示了生物时钟的生理功能。例如, 在胰岛中敲除 *Bmal1*, 会导致小鼠胰岛素分泌量减少、胰岛体积缩小和葡萄糖耐受性损伤^[27]。时钟节律紊乱会影响代谢, 而营养信号的改变反过来也会扰乱时钟。最近的研究指出, 与不限时给予高脂饲料相比, 仅在小鼠休息时段给予它们高脂饲料, 更易诱导其肥胖的发生。高脂饮食会导致诸多核心钟基因和钟控基因的表达周期发生改变, 而夜间饮食和胰岛素抵抗则能使某些基因的振幅发生明显变化^[14]。这些研究揭示了时钟和代谢调节之间的交互联系, 对于从生物节律角度理解代谢性疾病的发生具有重大意义。我们通过此前的研究, 将生物时钟与能量代谢的整合模式归纳为以下三类: (1)“并联型”整合模式; (2)“串联型”整合模式; (3)“组合型”整合模式。

3 “并联型”整合模式

“并联型”整合模式, 即核受体、转录因子/辅因子及其分子伴侣、非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 等作为节点, 同时调控生物时钟和能量代谢进程, 促使二者的整合 (图 2)。

核受体是一类配体应答型的转录调控蛋白, 能调节包括糖脂代谢以及线粒体氧化磷酸化等能量代谢进程。ROR 和 REV-ERB 就属于孤核受体家族。如前所述, ROR 和 REV-ERB 在时钟和代谢调控方面都具有重要作用。例如, 固醇调节元件结合蛋白

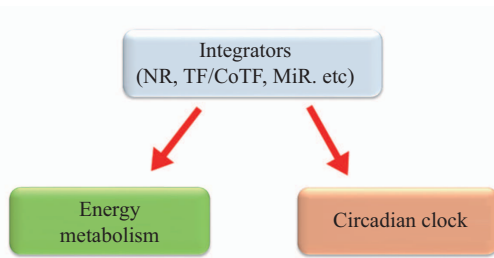


图2 “并联型”整合模式

Fig.2 “Parallel Type” integration mode

(sterol-regulatory element binding proteins, SREBPs) 是肝脏脂肪酸和固醇生物合成的重要调节分子, REV-ERB α 通过胰岛素诱导基因2(insulin induced gene 2, *Insig2*)影响其在内质网中的释放,进而影响其表达及活性的振荡模式。REV-ERB α 过表达的小鼠中某些SREBP的靶基因转录水平下降,导致小鼠血脂降低^[14]。另一方面, *Rora*缺失小鼠(staggerer mice)血液中的甘油三酯含量较野生型小鼠而言显著下降,并且在给予高脂饲料后,这些小鼠会患上比野生型小鼠更加严重的动脉粥样硬化^[28]。雌激素受体相关核受体(estrogen related receptor, ERR)家族有三个成员: ERR α 、ERR β 和ERR γ 。在成年机体内, ERR α 和ERR γ 表达分布广泛,而ERR β 的表达仅限于眼、大脑、心脏和肾脏^[29]。有证据显示, ERR α 参与脂肪酸代谢和能量平衡的调控^[30-32]。而且, ERR α 在白色脂肪组织和肝脏中呈现出节律性表达。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)能够调控诸多靶基因的表达,其在多种生理或病理进程中扮演着十分重要的作用,尤其是在能量代谢层面上。在PPAR家族中, PPAR α/γ 直接参与核心钟基因*Bmal1*和*Rev-erba*的调控,反过来*Ppara*也是BMAL1的重要靶基因^[33]。

我们课题组在以往的研究中,主要以PPAR γ 共激活因子PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α)为对象,探索生物时钟和能量代谢之间的整合模式。

转录共激活因子指的是一系列不与DNA直接结合,但能通过和转录因子相互作用来调控转录过程的蛋白质。PGC-1 α 的表达高度受控于环境刺激和营养信号,一旦PGC-1 α 被诱导表达,它就会激活下游的多种代谢通路(如适应性产热、肝糖异生以及脂肪酸 β 氧化等),从而使生物体对外界刺激信号作出反应^[34]。PGC-1 α 在肝脏和骨骼肌中的表达呈

现出明显的昼夜节律性,并且能诱导生物时钟关键基因(如*Bmal1*、*Clock*和*Rev-erba*等)的表达,说明PGC-1 α 是生物时钟基因的一个上游调节因子。此外, SIRT1(Sirtuin 1)对PGC-1 α 的去乙酰化也能激活*Bmal1*^[35],提示PGC-1 α 的表观遗传修饰也影响着生物时钟和能量代谢的整合。染色质重塑通常伴随着组蛋白修饰和转录调节,是真核生物基因表达调控的重要环节。我们经研究发现, PGC-1 α 的伴侣分子、染色质重塑复合物SWI/SNF家族成员BAF60a(BRG1-associated factor 60A)在肝脏和心血管系统中能作为媒介分子,将表观遗传修饰、生物时钟和能量代谢进程偶联起来。在肝脏中, BAF60a可以协同ROR α 激活生物时钟关键基因*Bmal1*和糖异生关键基因*G6pase*(glucose-6-phosphatase)的转录。BAF60还能结合到*Bmal1*和*G6pase*启动子的RORE(ROR response element)上,使该处的染色质结构活化。因此, BAF60a是肝脏生物时钟和葡萄糖代谢进程的关键偶联分子^[36]。同样地,在心血管系统中, BAF60a能通过PGC-1 α 的介导与ROR α 结合,激活大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)中*Bmal1*的转录。同时, BAF60a深度参与调控VSMCs的生理功能稳态,如VSMCs增殖、迁移以及黏附^[37]。

除了从DNA、mRNA、蛋白质的节律性表达和修饰来对时钟与代谢的整合进行考量, ncRNA也是一个不可被忽视的要素。研究表明,大多数哺乳动物基因组的转录区超过90%,其中只有大约2%的转录产物编码蛋白质,其他绝大多数转录产物是ncRNA^[38],而microRNA(miRNA)是其中重要的成员。

miRNA是一类存在于多个物种的短链非编码RNA,它们广泛参与生物进程的调控^[39]。第一个被发现的miRNA是线虫的*lin-4*和*let-7*。随后,多个研究小组在包括人类、果蝇、植物等多种生物中鉴别出数百个miRNA。miRNA是由具有发夹结构的、70~90个碱基大小的单链RNA前体经Dicer酶加工后形成的成熟分子,长度为19~25个碱基,并能与其靶基因3'-UTR上的miRNA识别元件结合,进而诱发靶点mRNA的降解或者翻译抑制^[40]。据估计,哺乳动物基因组编码超过1 000种miRNA,几乎每种miRNA都有上百个靶点,多达60%的哺乳动物的蛋白编码转录子能够被miRNA调节^[41]。因此,时钟

基因很可能也处于miRNA的调控之下。SCN中的miR-219和miR-132就显示出振荡表达模式,并且对这些miRNA的拮抗改变了振荡周期以及由光照诱导的小鼠活动节律的相位改变,暗示了miRNA在中枢时钟调控昼夜节律过程中的潜在作用^[41]。此外,miRNA在外周生物时钟调控中也具有重要作用。心血管系统中的miR-107能够响应高血脂信号,靶向调控时钟基因*Clock*和*Cry2*^[42]。在肝脏中,miR-122基因座编码一种高丰度、肝脏特异性的miRNA,其广泛参与胆固醇和脂质代谢的调控,对miR-122的反义抑制能对许多参与这两个代谢进程的基因的节律表达产生转录后干扰^[43]。

我们在前期的研究中已经证实,以miRNA为代表的ncRNA在小鼠肝脏中能响应营养信号的刺激,并且以转录后调控的方式靶向调控核心钟基因*Bmal1*^[44]。我们发现,小鼠置于持续黑暗的环境中,miR-27b-3p在小鼠肝脏呈现节律性表达,并且其振荡相位能被限制性禁食(restricted feeding)所颠倒,表明其表达节律受到外周生物时钟的调控。同时,miR-27b-3p的表达在饥饿和*ob/ob*肥胖小鼠模型的肝脏中被显著诱导。生物信息学分析提示,*Bmal1*可能是miR-27b-3p的一个靶点。确实,在小鼠肝脏细胞中过表达miR-27b-3p,能剂量依赖性地减少BMAL1的蛋白表达,破坏了内源性BMAL1和糖异生基因的节律^[44]。因此,miR-27b-3p是一个时钟和代谢整合的新型节点。

4 “串联型”整合模式

“串联型”整合模式,即由CCGs承接生物时钟信号,作为下游效应器进而调控代谢进程,线性化使二者整合(图3)。在整个基因组中,大约有43%的基因

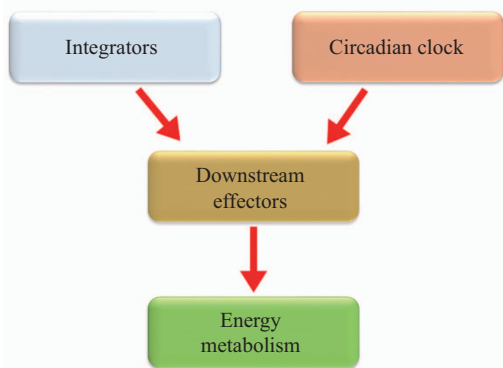


图3 “串联型”整合模式

Fig.3 “Series Type” integration mode

呈现出昼夜节律性表达,其中很多基因编码在代谢过程中起关键作用的酶^[45],这些基因很有可能以“串联型”模式参与时钟和代谢的整合。

Krüppel样转录因子10(*Klf10*)是CLOCK-BMAL1二聚体的下游靶基因。已有研究证实,*Klf10*缺失的小鼠患有严重的餐后及空腹高血糖。对此小鼠的转录组分析鉴别出了158种参与糖脂代谢进程的KLF10下游靶基因,其中有67种靶基因是CCGs。以磷酸烯醇式丙酮酸脱氢酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK, 糖异生进程中一种重要的限速酶)为例,*Klf10*^{-/-}小鼠肝脏中PEPCK的表达水平显著升高,且其原有的振荡节律[在ZT12(zeitgeber time 12)达到峰值]被打乱,继而糖异生进程被极大地诱导。此外,许多脂合成基因同样受到KLF10的调控。SREBP1c是肝脏脂肪酸合成过程中的关键转录因子,其本身的表达具有昼夜节律性,而*Klf10*^{-/-}小鼠肝脏中SREBP1c的振荡节律被完全改变,进而影响了其下游靶基因的表达^[46]。类似地,胰岛β细胞中的芳烃受体核转运蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT)同时受到D-box结合蛋白(D-box binding protein, DBP)和E4结合蛋白4(E4 binding protein 4, E4BP4)的调控,且其自身的表达振荡节律(在ZT4达到峰值)受到抑制。并且,ARNT也是胰岛β细胞功能受损和2型糖尿病发生的决定性因素^[47]。有报道指出,在肝脏中超过350种基因的表达呈现昼夜节律性^[48]。在以往的研究中,我们主要以肝脏为研究对象,以PGC-1α为节点向下游调控链延伸,探索了其下游响应外周生物时钟并影响代谢进程的关键基因。本课题组发现,PLZF(promyelocytic leukaemia zinc finger)、Vanin1(vascular non-inflammatory molecule 1)和Hepcidin是PGC-1α的下游效应器。更重要的是,它们能响应生物时钟信号,以“串联型”模式调控相应能量代谢进程的节律性振荡,这些研究丰富了我们对“串联型”整合模式的认识和理解。

我们发现,小鼠肝脏中的早幼粒细胞性白血病锌指蛋白(*Plzf*)基因的表达水平具有昼夜节律性,说明*Plzf*受到生物时钟的调控。而在饥饿和糖尿病小鼠的肝脏中,PGC-1α在糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)的介导下,与*Plzf*启动子上的GR结合位点相互作用,激活*Plzf*转录,增加的PLZF通过Akt信号通路激活肝糖异生并增加机体葡

葡萄糖输出^[49]。另一方面, Vanin1(VNN1)是一种在肝脏内富集的氧化应激传感器,参与了多种代谢通路的调控。临床调查表明,糖尿病患者的尿液和血液中VNN1含量远远超出正常水平^[50]。我们发现,在饥饿或罹患胰岛素抵抗的小鼠肝脏中,VNN1的表达被显著诱导,并且在Insulin/Akt信号通路的介导下,提高了糖异生相关基因的表达和肝脏葡萄糖的生成,诱发高血糖症。其中,PGC-1 α 作为*Vnn1*的上游整合子,锚定在*Vnn1*近端启动子的HNF4 α 结合位点附近,和HNF4 α 协同激活*Vnn1*的转录。更重要的是,*Vnn1*的表达水平呈现出“先降后升”的振荡节律,且在CT17(circadian time 17)达到谷值。VNN1能够响应生物时钟信号,在小鼠肝脏中呈节律性表达,提示我们,VNN1是调控肝糖异生节律性振荡的重要分子^[51]。此外,机体铁稳态主要由肝脏肽类激素Hepcidin来调控。本实验室发现,PGC-1 α 能够锚定于*Hepcdin*近端启动子的HNF4 α 结合位点,使染色质结构转变为失活状态进而抑制*Hepcdin*的表达。而且,*Hepcdin*作为PGC-1 α 的下游基因,与*Vnn1*相反,其表达水平表现出“先升后降”的振荡节律表达模式,在ZT13时达到峰值,之后显著下降,提示了Hepcidin在调控肝脏铁离子代谢节律性振荡中的作用^[52]。

5 “组合型”整合模式

“组合型”整合模式,即某些代谢物既能响应上游刺激,又能同时调控下游时钟和代谢进程,兼具“并联型”与“串联型”整合模式的特点(图4)。

血液和细胞内的代谢物作为重要的营养信号,深度参与生理活动的调控。研究表明,许多代谢物或内分泌激素的合成和分泌表现出昼夜节律性。迄今为止,大多具有分泌节律性的代谢物由下丘脑-垂体控制分泌,这些代谢物包括肾上腺皮质醇(cortisol)、生长激素(growth hormone, GH)、催乳素(prolactin)、甲状腺激素(thyroid hormone)和性腺甾体(gonadal steroids)等^[53-57]。此外,血液中某些营养信号敏感激素[如脂联素(adiponectin)和瘦素(leptin)]能够响应环境或行为的变化,比如亮-暗周期和进食-饥饿周期^[58-59]。

褪黑素(melatonin)是人体松果腺分泌的一种激素,其最主要的功能是传递环境亮-暗周期信号,起到促进睡眠的作用^[60],其分泌水平在亮周期较低,而在暗周期较高^[61]。褪黑素缺乏易导致直肠癌

和乳腺癌的发生,而且褪黑素受体的多态性与2型糖尿病的发病风险息息相关^[61-62]。有研究表明,褪黑素的合成由芳烷基胺N-乙酰转移酶(aralkylamine N-acetyltransferase, AANAT)通过AANAT调节系统调控,该调节系统包括视网膜、神经元结构、跨突触过程以及分子水平调控^[63]。脂联素(adiponectin)是一种经典的脂肪因子(脂肪来源的内分泌因子),其分泌也存在明显的节律性,脂联素分泌的峰值区段处于12:00~14:00^[59,64]。有意思的是,Barne等^[65]发现,白色脂肪组织的生物时钟能通过PPAR γ 和PGC-1 α 的节律性表达来调控脂联素的表达。与此同时,Hashinaga等^[66]用罹患低脂联素血症的KK-Ta小鼠作为模型,发现肝脏中生物时钟基因的相位被明显提前了。这说明,脂联素不仅受到生物时钟的调控,同时也会影响生物时钟。此外,脂联素还是一种胰岛素激活剂,其分泌水平与体重指数相反^[67],更有趣的是,脂联素水平与能量代谢息息相关,它能降低糖异生作用以及促进脂肪酸氧化,并在抗炎和抗动脉粥样硬化等诸多方面发挥功效^[66,68]。瘦素(leptin)同样也是一种脂肪因子,其在人类和啮齿类动物中的表达表现出明显的昼夜节律性,在夜间达到峰值。有研究表明,瘦素能够通过诱导*Per*的表达继而重设中枢生物时钟的表达相位^[69-70]。与此同时,营养信号和胰岛素信号能调控脂肪细胞分化依赖因子1(adipocytes differentiation dependent factor1, ADD1)/固醇反应元件结合蛋白1(SREBP1)的表达,ADD1和SREBP1继而通过调控*Leptin*的启动子活性来控制其表达^[71]。在脂代谢层面,瘦素则通过调节脂肪代谢相关酶的mRNA表达和浓度继而调控脂肪稳态^[72]。成纤维细胞生长因子21(fibroblast growth factor 21, FGF21)是一种很重要的肝脏因子,在抗糖尿病和降甘油三酯等方面具有潜在的功能。FGF21能通过响应饥饿-进食信号影响机体的昼夜节律。有研究表明,E4BP4能作为上游整合子通过响应胰岛素信号结合在*Fgf21*启动子上的E-box反应元件上,继而负向调控*Fgf21*的转录,但是胰岛素调控*E4bp4*表达的具体机制目前尚不得而知^[73]。

PGC-1 α 的下游代谢物亚铁血红素(Heme)可以直接调控CLOCK同源物NPAS2的转录活性,从而对生物时钟节律产生影响。Heme还可以作为REV-ERB α 的配体,影响其与核受体抑制复合物的相互作用^[74]。此外,Heme的生物合成也具有节律性^[75]。

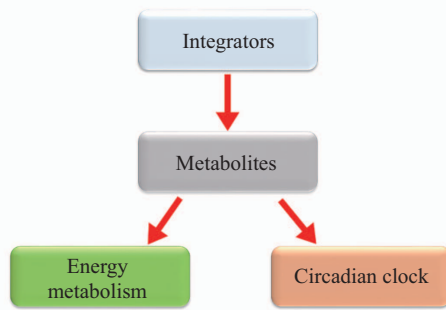


图4 “组合型”整合模式

Fig.4 “Combination Type” integration mode

Heme在机体内还能影响呼吸作用等多个代谢进程,说明Heme对代谢和生物时钟的调控是高度互动的。光照是生物节律的经典授时因子,持续黑暗则是内源性生物节律的重要驱动因素。Zhang等^[76]发现,处于持续黑暗环境下的小鼠体内脂肪水解酶基因呈节律性表达。啮齿类动物外周器官中的前辅脂酶(murine procolipase, *mClps*)和胰脂酶相关蛋白2(murine pancreatic lipase-related protein 2, *mPlrp2*)在持续黑暗的环境中被节律性地激活,但在正常光照-黑暗周期中并未观察到此现象。与此同时,Zhang等^[76]发现了与节律相关的5'-AMP,其在处于持续黑暗环境下的小鼠血液中含有量极高。给昼夜节律正常的小鼠注射人工合成的5'-AMP,3.5~4 h后,其肝脏中的mClps被显著诱导。因此,血液中5'-AMP的水平是决定外周器官能量供给和血糖、糖原及脂肪间平衡的关键代谢信号。

另外,还有多种激素,如饥饿素(ghrelin),也具有时钟节律性,从而协调外周组织的营养信号和整体行为的输出信号(比如进食和机体活动),维持机体能量稳态^[77]。

6 未来的研究方向

近年来,一批新兴的整合“节点”正逐渐进入研究者的视野,下面将主要论述两个全新的研究方向:DNA损伤及修复和肠道微生物。

6.1 DNA损伤及修复

有研究指出,生物时钟与DNA损伤之间存在一定的联系,时钟元件可作为关键调节子在DNA损伤反应中发挥特定的作用。例如,PER1能结合DNA损伤检验点蛋白复合物ATM-Chk2(ataxia telangiectasia mutated homolog-Checkpoint kinase 2),进而导致DNA双链断裂,引起DNA损伤^[78]。小鼠大脑的核苷

酸切除修复活动具有明显的周期性。Kang等^[77]发现,小鼠大脑中的核苷酸切除修复活性的峰值大约出现在ZT10~14,而谷值则出现在ZT18~22,峰值比谷值高出5至10倍。值得注意的是,生物时钟的缺失导致DNA损伤调控紊乱以及肿瘤的发生率大幅提高。例如,*Per2*纯合突变小鼠的*cyclin D*和*c-Myc*表达失调,并随之发生组织增生和淋巴瘤^[79]。因此,生物时钟在DNA损伤修复、DNA损伤检验点以及细胞凋亡等DNA损伤反应过程中发挥着重要的作用。

与此同时,DNA损伤反应调控代谢性疾病的研究也屡见报道。DNA损伤的积累与衰老及衰老相关的疾病(例如糖尿病)紧密相关,DNA损伤会引起细胞的死亡或衰老,并伴随着代谢器官功能的损坏(如胰岛 β 细胞缺失)及组织炎症,从而破坏机体的代谢稳态^[80]。近期的研究表明,某些调控分子[如p53、Sirtuins、ATM和PARP(poly ADP-ribose polymerase)等]在DNA损伤修复和细胞代谢的过程中扮演着重要的作用。以p53为例,正常的p53活性是血糖代谢稳态的必要因素,一旦其活性被抑制,机体极易产生饮食型肥胖相关的胰岛素抵抗,表明对DNA损伤的调控在代谢性疾病的预防和治疗方面有着重要意义^[80]。DNA损伤作为连接生物时钟和代谢性疾病的“枢纽”,将逐渐成为生物时钟和代谢整合机制及应用研究中的一枚关键“棋子”。

6.2 肠道微生物

寄居于肠道内的微生物是一个庞大的群体,肠道微生物与宿主之间的互作深刻影响着生理稳态。近期的研究表明,肠道微生物也会受到生物时钟的影响,这些肠道微生物的生物节律与其宿主具有同步性。Eran等^[81]对正常大鼠粪便中的微生物进行了16S扩增子测序,发现肠道微生物在整体数量和相互影响等方面存在昼夜节律性。暗周期是大鼠活跃期,此时大鼠的肠道微生物主要负责消化营养,修复并延伸其DNA;而在亮周期,微生物则成为机体的“管家”,参与诸如排毒、感知其周围的化学物质、长出鞭毛辅助移动等进程。节律缺失的*Per1/2*^{-/-}大鼠的肠道菌群,无论在数量还是活动度上均未出现上述波动;将取自这些大鼠的肠道微生物植入正常昼夜光照条件下的健康大鼠体内,一周内这些微生物的节律恢复正常,这表明肠道微生物在一定程度上会响应宿主自身的生物时钟。

近年来的粪移植技术广泛应用在诸多关于

肠道微生物与代谢的研究中。Tine等^[82]以32名儿童为受试对象,其中一半孩子体重超重。研究者将受试对象的肠道菌群转移至小鼠体内,在相同的培养环境以及食物供给下,监测小鼠的体重变化和代谢差异,并结合受试对象之间的差异对结果进行分析。结果发现,移植了超重儿童肠道微生物的小鼠,其体重增长比移植了正常体重儿童肠道微生物的小鼠更快。体重增长较少的小鼠,其肠道微生物消耗膳食纤维的能力也较低。肠道微生物和肥胖之间似乎构成了一个“恶性循环”:肥胖会影响肠道菌群的构成,而肠道菌群则通过改变消化效率等方式进一步导致体重增加。肠道微生物能同时响应并调控生物时钟和代谢进程,必然会引发新一轮的研究热潮,对肠道微生物的研究也许将使生物时钟与能量代谢的整合“拼图”更加完善。

综上所述,机体生物时钟与能量代谢稳态之间联系紧密,两者间的整合模式可归为以下3类:(1)以核受体、转录因子/辅因子及其分子伴侣、ncRNA等为节点,同时调控时钟与代谢进程,促使二者整合,即“并联型”整合模式;(2)由CCGs承接生物时钟信号,作为下游效应器进而调控代谢进程,线性化使二者整合,即“串联型”整合模式;(3)以某些代谢物为节点,既能响应上游环境刺激,又能同时调控下游时钟和代谢进程,促使二者整合,即“组合型”整合模式。

参考文献 (References)

- 1 Yang G, Paschos G, Curtis AM, Musiek ES, McLoughlin SC, FitzGerald GA. Knitting up the raveled sleeve of care. *Sci Transl Med* 2013; 5(212): 212rv3.
- 2 Karlsson B, Knutsson A, Lindahl B. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,485 people. *Occup Environ Med* 2001; 58(11): 747-52.
- 3 Gangwisch JE, Malaspina D, Boden-Albala B, Heymsfield SB. Inadequate sleep as a risk factor for obesity: Analyses of the NHANES I. *Sleep* 2005; 28(10): 1289-96.
- 4 Chaput JP, Brunet M, Tremblay A. Relationship between short sleeping hours and childhood overweight/obesity: Results from the 'Quebec en Forme' Project. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30(7): 1080-5.
- 5 Gallou-Kabani C, Vige A, Junien C. Lifelong circadian and epigenetic drifts in metabolic syndrome. *Epigenetics* 2007; 2(3): 137-46.
- 6 Maury E, Ramsey KM, Bass J. Circadian rhythms and metabolic syndrome: From experimental genetics to human disease. *Circ Res* 2010; 106(3): 447-62.
- 7 Karlsson B. Commentary: Metabolic syndrome as a result of shift work exposure? *Int J Epidemiol* 2009; 38(3): 854-5.
- 8 Holmback U, Forslund A, Lowden A, Forslund J, Akerstedt T, Lennernas M, *et al.* Endocrine responses to nocturnal eating—possible implications for night work. *Eur J Nutr* 2003; 42(2): 75-83.
- 9 Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, *et al.* Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell Metab* 2012; 15(6): 848-60.
- 10 Paschos GK, Ibrahim S, Song WL, Kunieda T, Grant G, Reyes TM, *et al.* Obesity in mice with adipocyte-specific deletion of clock component Arntl. *Nat Med* 2012; 18(12): 1768-77.
- 11 Mehra A, Baker CL, Loros JJ, Dunlap JC. Post-translational modifications in circadian rhythms. *Trends Biochem Sci* 2009; 34(10): 483-90.
- 12 Duguay D, Cermakian N. The crosstalk between physiology and circadian clock proteins. *Chronobiol Int* 2009; 26(8): 1479-513.
- 13 Asher G, Schibler U. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals. *Cell Metab* 2011; 13(2): 125-37.
- 14 Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science* 2010; 330(6009): 1349-54.
- 15 Cardone L, Hirayama J, Giordano F, Tamaru T, Palvimo JJ, Sassone-Corsi P. Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. *Science* 2005; 309(5739): 1390-4.
- 16 Cho H, Zhao X, Hatori M, Yu RT, Barish GD, Lam MT, *et al.* Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB-alpha and REV-ERB-beta. *Nature* 2012; 485(7396): 123-7.
- 17 Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, Zakany J, Duboule D, Albrecht U, *et al.* The orphan nuclear receptor REV-ERBalpha controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell* 2002; 110(2): 251-60.
- 18 Akashi M, Takumi T. The orphan nuclear receptor RORalpha regulates circadian transcription of the mammalian core-clock Bmal1. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12(5): 441-8.
- 19 Ueda HR, Chen W, Adachi A, Wakamatsu H, Hayashi S, Takasugi T, *et al.* A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature* 2002; 418(6897): 534-9.
- 20 Koike N, Yoo SH, Huang HC, Kumar V, Lee C, Kim TK, *et al.* Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science* 2012; 338(6105): 349-54.
- 21 Ripperger JA, Schibler U. Rhythmic CLOCK-BMAL1 binding to multiple E-box motifs drives circadian Dbp transcription and chromatin transitions. *Nat Genet* 2006; 38(3): 369-74.
- 22 Gachon F. Physiological function of PARbZip circadian clock-controlled transcription factors. *Ann Med* 2007; 39(8): 562-71.
- 23 Lau P, Nixon SJ, Parton RG, Muscat GE. RORalpha regulates the expression of genes involved in lipid homeostasis in skeletal muscle cells: Caveolin-3 and CPT-1 are direct targets of ROR. *J Biol Chem* 2004; 279(35): 36828-40.
- 24 Laitinen S, Fontaine C, Fruchart JC, Staels B. The role of the orphan nuclear receptor Rev-Erb alpha in adipocyte differentiation and function. *Biochimie* 2005; 87(1): 21-5.
- 25 Klerman EB. Clinical aspects of human circadian rhythms. *J Biol Rhythms* 2005; 20(4): 375-86.
- 26 Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E,

- et al.* Obesity and metabolic syndrome in circadian clock mutant mice. *Science* 2005; 308(5724): 1043-5.
- 27 Sadacca LA, Lamia KA, deLemos AS, Blum B, Weitz CJ. An intrinsic circadian clock of the pancreas is required for normal insulin release and glucose homeostasis in mice. *Diabetologia* 2011; 54(1): 120-4.
- 28 Marciano DP, Chang MR, Corzo CA, Goswami D, Lam VQ, Pascal BD, *et al.* The therapeutic potential of nuclear receptor modulators for treatment of metabolic disorders: PPARgamma, RORs, and Rev-erbs. *Cell Metab* 2014; 19(2): 193-208.
- 29 Bookout AL, Jeong Y, Downes M, Yu RT, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network. *Cell* 2006; 126(4): 789-99.
- 30 Kamei Y, Ohizumi H, Fujitani Y, Nemoto T, Tanaka T, Takahashi N, *et al.* PPARgamma coactivator 1beta/ERR ligand 1 is an ERR protein ligand, whose expression induces a high-energy expenditure and antagonizes obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(21): 12378-83.
- 31 Luo J, Sladek R, Carrier J, Bader JA, Richard D, Giguere V. Reduced fat mass in mice lacking orphan nuclear receptor estrogen-related receptor alpha. *Mol Cell Biol* 2003; 23(22): 7947-56.
- 32 Mootha VK, Handschin C, Arlow D, Xie X, St Pierre J, Sihag S, *et al.* Erralpha and Gabpa/b specify PGC-1alpha-dependent oxidative phosphorylation gene expression that is altered in diabetic muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(17): 6570-5.
- 33 Chen L, Yang G. PPARs integrate the mammalian clock and energy metabolism. *PPAR Res* 2014; doi: 10.1155/2014/653017.
- 34 Liu C, Lin JD. PGC-1 coactivators in the control of energy metabolism. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43(4): 248-57.
- 35 Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, Kaluzova M, Sassone-Corsi P. Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science* 2009; 324(5927): 654-7.
- 36 Tao W, Chen S, Shi G, Guo J, Xu Y, Liu C. SWItch/sucrose nonfermentable (SWI/SNF) complex subunit BAF60a integrates hepatic circadian clock and energy metabolism. *Hepatology* 2011; 54(4): 1410-20.
- 37 Chen S, Ding Y, Zhang Z, Wang H, Liu C. Hyperlipidaemia impairs the circadian clock and physiological homeostasis of vascular smooth muscle cells via the suppression of Smardc1. *J Pathol* 2014; 233(2): 159-69.
- 38 International Human Genome Sequencing C. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004; 431(7011): 931-45.
- 39 Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2): 281-97.
- 40 Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409(6818): 363-6.
- 41 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120(1): 15-20.
- 42 Daimiel-Ruiz L, Klett-Mingo M, Konstantinidou V, Mico V, Aranda JF, Garcia B, *et al.* Dietary lipids modulate the expression of miR-107, a miRNA that regulates the circadian system. *Mol Nutr Food Res* 2015; 59(9): 1865-78.
- 43 Gatfield D, Le Martelot G, Vejnar CE, Gerlach D, Schaad O, Fleury-Olela F, *et al.* Integration of microRNA miR-122 in hepatic circadian gene expression. *Genes Dev* 2009; 23(11): 1313-26.
- 44 Zhang W, Wang P, Chen S, Zhang Z, Liang T, Liu C. Rhythmic expression of miR-27b-3p targets the clock gene Bmal1 at the posttranscriptional level in the mouse liver. *FASEB J* 2016; 30(6): 2151-60.
- 45 Zhang R, Lahens NF, Ballance HI, Hughes ME, Hogenesch JB. A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(45): 16219-24.
- 46 Guillaumond F, Grechez-Cassiau A, Subramaniam M, Brangolo S, Peteri-Brunback B, Staels B, *et al.* Kruppel-like factor KLF10 is a link between the circadian clock and metabolism in liver. *Mol Cell Biol* 2010; 30(12): 3059-70.
- 47 Nakabayashi H, Ohta Y, Yamamoto M, Susuki Y, Taguchi A, Tanabe K, *et al.* Clock-controlled output gene Dbp is a regulator of Arnt/Hif-1beta gene expression in pancreatic islet beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 434(2): 370-5.
- 48 Kalsbeek A, la Fleur S, Fliers E. Circadian control of glucose metabolism. *Mol Metab* 2014; 3(4): 372-83.
- 49 Chen S, Qian J, Shi X, Gao T, Liang T, Liu C. Control of hepatic gluconeogenesis by the promyelocytic leukemia zinc finger protein. *Mol Endocrinol* 2014; 28(12): 1987-98.
- 50 Fugmann T, Borgia B, Revesz C, Godo M, Forsblom C, Hamar P, *et al.* Proteomic identification of vanin-1 as a marker of kidney damage in a rat model of type 1 diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2011; 80(3): 272-81.
- 51 Chen S, Zhang W, Tang C, Tang X, Liu L, Liu C. Vanin-1 is a key activator for hepatic gluconeogenesis. *Diabetes* 2014; 63(6): 2073-85.
- 52 Qian J, Chen S, Huang Y, Shi X, Liu C. PGC-1alpha regulates hepatic hepcidin expression and iron homeostasis in response to inflammation. *Mol Endocrinol* 2013; 27(4): 683-92.
- 53 Avram AM, Jaffe CA, Symons KV, Barkan AL. Endogenous circulating ghrelin does not mediate growth hormone rhythmicity or response to fasting. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5): 2982-7.
- 54 Russell W, Harrison RF, Smith N, Darzy K, Shalet S, Weetman AP, *et al.* Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(6): 2300-6.
- 55 Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(8): 2681-6.
- 56 Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: Structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000; 80(4): 1523-631.
- 57 Walton MJ, Anderson RA, Kicman AT, Elton RA, Ossowska K, Baird DT. A diurnal variation in testicular hormone production is maintained following gonadotrophin suppression in normal men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 66(1): 123-9.
- 58 Goel N, Stunkard AJ, Rogers NL, Van Dongen HP, Allison KC, O'Reardon JP, *et al.* Circadian rhythm profiles in women with night eating syndrome. *J Biol Rhythms* 2009; 24(1): 85-94.

- 59 Scheer FA, Chan JL, Fargnoli J, Chamberland J, Arampatzi K, Shea SA, *et al.* Day/night variations of high-molecular-weight adiponectin and lipocalin-2 in healthy men studied under fed and fasted conditions. *Diabetologia* 2010; 53(11): 2401-5.
- 60 Dardente H. Melatonin-dependent timing of seasonal reproduction by the pars tuberalis: Pivotal roles for long daylengths and thyroid hormones. *J Neuroendocrinol* 2012; 24(2): 249-66.
- 61 Rondanelli M, Faliva MA, Perna S, Antonello N. Update on the role of melatonin in the prevention of cancer tumorigenesis and in the management of cancer correlates, such as sleep-wake and mood disturbances: Review and remarks. *Aging Clin Exp Res* 2013; 25(5): 499-510.
- 62 Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proenca C, Sparso T, Holmkvist J, Marchand M, *et al.* A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2009; 41(1): 89-94.
- 63 Ganguly S, Coon SL, Klein DC. Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: the critical role of serotonin acetylation. *Cell Tissue Res* 2002; 309(1): 127-37.
- 64 Gavrilu A, Peng CK, Chan JL, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: Comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(6): 2838-43.
- 65 Barnea M, Chapnik N, Genzer Y, Froy O. The circadian clock machinery controls adiponectin expression. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 399: 284-7.
- 66 Hashinaga T, Wada N, Otabe S, Yuan X, Kurita Y, Kakino S, *et al.* Modulation by adiponectin of circadian clock rhythmicity in model mice for metabolic syndrome. *Endocr J* 2013; 60(4): 483-92.
- 67 Maeda N, Funahashi T, Shimomura I. Cardiovascular-metabolic impact of adiponectin and aquaporin. *Endocr J* 2013; 60(3): 251-9.
- 68 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116(7): 1784-92.
- 69 Mendoza J, Lopez-Lopez C, Revel FG, Jeanneau K, Delerue F, Prinssen E, *et al.* Dimorphic effects of leptin on the circadian and hypocretinergic systems of mice. *J Neuroendocrinol* 2011; 23(1): 28-38.
- 70 Prosser RA, Bergeron HE. Leptin phase-advances the rat suprachiasmatic circadian clock *in vitro*. *Neurosci Lett* 2003; 336(3): 139-42.
- 71 Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, *et al.* Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest* 1998; 101(1): 1-9.
- 72 Tsiotra PC, Pappa V, Raptis SA, Tsigos C. Expression of the long and short leptin receptor isoforms in peripheral blood mononuclear cells: Implications for leptin's actions. *Metabolism* 2000; 49(12): 1537-41.
- 73 Tong X, Muchnik M, Chen Z, Patel M, Wu N, Joshi S, *et al.* Transcriptional repressor E4-binding protein 4 (E4BP4) regulates metabolic hormone fibroblast growth factor 21 (FGF21) during circadian cycles and feeding. *J Biol Chem* 2010; 285(47): 36401-9.
- 74 Yin L, Wu N, Curtin JC, Qatanani M, Szwegold NR, Reid RA, *et al.* Rev-erb α , a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways. *Science* 2007; 318(5857): 1786-9.
- 75 Kaasik K, Lee CC. Reciprocal regulation of haem biosynthesis and the circadian clock in mammals. *Nature* 2004; 430(6998): 467-71.
- 76 Zhang J, Kaasik K, Blackburn MR, Lee CC. Constant darkness is a circadian metabolic signal in mammals. *Nature* 2006; 439(7074): 340-3.
- 77 Kalsbeek A, Fliers E. Daily regulation of hormone profiles. *Handb Exp Pharmacol* 2013; doi: 10.1007/978-3-642-25950-0_8.
- 78 Gery S, Komatsu N, Baldjyan L, Yu A, Koo D, Koeffler HP. The circadian gene *per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Mol Cell* 2006; 22(3): 375-82.
- 79 Fu L, Pelicano H, Liu J, Huang P, Lee C. The circadian gene *Period2* plays an important role in tumor suppression and DNA damage response *in vivo*. *Cell* 2002; 111(1): 41-50.
- 80 Shimizu I, Yoshida Y, Suda M, Minamino T. DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metab* 2014; 20(6): 967-77.
- 81 Thaiss CA, Zeevi D, Levy M, Zilberman-Schapiro G, Suez J, Tengeler AC, *et al.* Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell* 2014; 159(3): 514-29.
- 82 Zhang L, Bahl MI, Roager HM, Fonvig CE, Hellgren LI, Frandsen HL, *et al.* Environmental spread of microbes impacts the development of metabolic phenotypes in mice transplanted with microbial communities from humans. *ISME J* 2016; doi: 10.1038/ismej.2016.151.