

文章编号: 1004-0374(2013)09-0902-06

酒精对哺乳动物生物钟的影响

徐亮¹, 吴涛¹, 陶燕来¹, 李永军¹, 季晨阳¹, 江倩茹¹, 乐佳清¹, 钮亭亭², 傅正伟^{1*}

(1 浙江工业大学生物与环境工程学院生理调控实验室, 杭州 310014; 2 上海体育学院, 上海 200438)

摘要: 生理节律是一种以内源性生物钟为基础的生理现象, 它能使生物体感知并适应外界环境信号的变化。然而, 生理节律一旦失调就可能诱发多种代谢相关疾病。研究表明, 酒精能够干扰以生物钟为基础的神经、体液的信号转导, 降低免疫系统的功能, 诱发多种健康问题。综述了酒精与生物钟基因之间的相互作用, 以及通过生物钟系统进一步干预行为活动、神经-内分泌系统和免疫系统相关的生理功能。

关键词: 生理节律; 哺乳动物; 酒精; 生物钟基因

中图分类号: TQ223.12; Q811.213 **文献标志码:** A

Effects of alcohol intake on the mammalian circadian clock

XU Liang¹, WU Tao¹, TAO Yan-Lai¹, LI Yong-Jun¹, JI Chen-Yang¹,

JIANG Qian-Ru¹, LE Jia-Qing¹, NIU Ting-Ting², FU Zheng-Wei^{1*}

(1 College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2 Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

Abstract: Circadian rhythm exists in most organisms, which is mainly generated by an internal biological clock. This biological clock is synchronized to the environmental daily periodicities by external time cues. However, the disruption of normal circadian rhythmicity is usually associated with various diseases such as metabolic disorders. Recent evidences have shown that chronic alcohol intake disrupts a variety of neurochemical and neuroendocrine functions, and impairs the immune system by disturbing the circadian rhythms. These effects of alcohol will finally contribute to a negative health consequence. This review summarized the bidirectional interactions between alcohol and clock genes, and the circadian-modulated behavioral, neuroendocrine, and immune functions.

Key words: circadian rhythm; mammals; alcohol; clock gene

1 哺乳动物内源性生物钟系统

生物节律广泛存在于生物界, 是大多数生物的基本特征。生物节律的定义是生物系统的重复过程, 它是机体不断进化的结果, 在机体适应外界环境的变化、维持内环境稳定等方面起着重要的作用。按照周期的长短, 生物节律可以分为亚日节律(infradian rhythm)、近日节律(circadian rhythm)和超日节律(ultradian rhythm)。其中, 近日节律最为普遍和重要, 是当前研究最多、物质基础相对研究得最清楚的生物节律。近日节律是机体固有的, 也就是具有内源性特征, 在没有外界环境信号作用的情况下, 以近24 h周期自由运转(free running)^[1]。近日节律的内源性分子机制被形象地称为“生物钟”, 它能使生

物体感知并适应环境中的光、温度和食物等周期信号, 从而使生物体与外界环境保持周期同步。哺乳动物的生物钟系统主要包括以下两类: 位于下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)的主钟(master clock)和存在于许多外周组织和器官中的外周钟(peripheral clocks)^[1]。

生物钟模型主要是由生物钟基因、钟控基因及其调控系统构成, 其中哺乳动物生物钟基因包括

收稿日期: 2013-02-28; 修回日期: 2013-04-24

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(312008-90); 浙江省新苗人才计划项目(2012R403008)

*通信作者: E-mail: azwfu2003@yahoo.com.cn; Tel: 0571-88320599

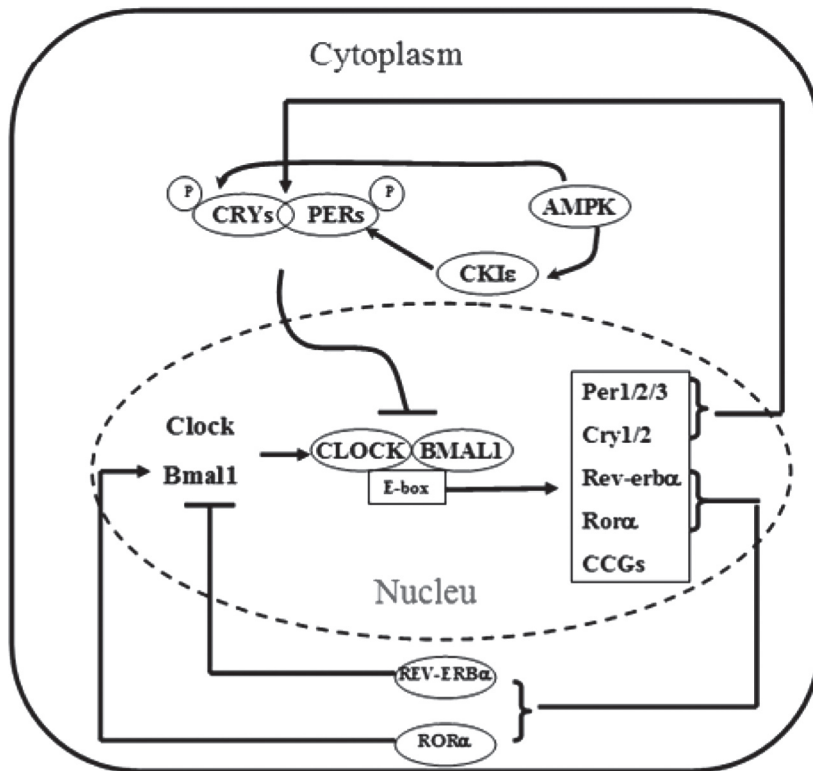
Clock、*Bmal1*、*Per (s)*、*Cry (s)*、*Rev-erb α* 等^[1-2]。这些生物钟基因及其产物组成一个完整的转录/翻译负反馈环路。其中主要的正向调控因子为CLOCK和BMAL1。两者通过bHLH-PAS结构域形成异二聚体CLOCK:BMAL1, 该二聚体与*Per (s)*和*Cry (s)*基因启动区的E-box (CAGTG)结合, 以启动这些基因的转录。而这些基因表达产物经过积累且被磷酸化后形成复合物进入细胞核, 抑制*Clock*和*Bmal1*的表达, 从而反馈调节*Per (s)*和*Cry (s)*的转录。另一条反馈通路则是由视黄酸相关受体基因*Rev-erb α* 和*Ror α* 所组成。CLOCK:BMAL1异二聚体同时可以激活*Rev-erb α* 、*Ror α* 。REV-ERB α 和ROR α 竞争*Bmal1*启动子区的视黄酸相关核受体反应元件 (ROREs), 抑制或者促进*Bmal1*的转录^[3]。此外, BMAL1:CLOCK二聚体通过与E-Box序列结合也能促进生物钟控制基因 (clock controlled genes, CCGs) 的转录, 使其呈节律性表达, 而 CCGs

的周期性节律表达使得各种生理和行为活动表现出24 h昼夜振荡的生理节律^[3]。

生物钟系统的负反馈环在控制机体各种生理和行为活动的同时也受到一些代谢相关的基因调控, 如酪蛋白激酶 (CKI ϵ) 能够磷酸化 PER2 蛋白质来调控生物钟环路, 另外, 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 也能够通过调节 CRY1 的磷酸化和其降解来调控哺乳动物生物钟系统^[4-6]。生物钟基因负反馈调节通路如图1所示。

2 酒精和哺乳动物生物钟基因的相互作用

研究发现, 酒精能够显著影响哺乳动物内源性生理振荡器, 进而导致一系列健康问题。例如酒精能够引起体温、血压、代谢、激素分泌和脑电图等的改变, 从而引起失眠、内分泌紊乱, 严重的甚至诱发癌症^[7-12]。为此, 在酒精与健康的相关研究中, 生物钟的功能开始逐渐引起人们的重视。



细胞中生物钟基因调控形成反馈环路主要分为以下3个方面: (1) 细胞核中*Clock*和*Bmal1*基因的产物形成异源二聚体与*Per (s)*、*Cry (s)*等基因启动子区的E-box结合, 以启动这些基因的转录; (2) 上述基因的转录产物在细胞质积累并且被AMPK和CKI ϵ 磷酸化后能够再次进入细胞核作为负性成分抑制CLOCK-BMAL1二聚体的活性; (3) CLOCK-BMAL1也可激活视黄酸相关受体基因*Rev-erba*和*Rora*等, REV-ERB α 能够与*Bmal1*启动子区的视黄酸受体元件 (RORE)结合抑制*Bmal1*的转录, 而ROR α 能够与REV-ERB α 竞争该受体元件, 从而促进*Bmal1*的转录。

图1 生物钟分子基础模型

近几年,研究人员正在致力于研究酒精诱发这些由生理节律混乱引起的疾病的机制,他们推测酒精可能主要通过调节机体内在的生物钟基因来影响生物节律。研究人员通过设计不同的实验方案已经证明酒精暴露能够显著地改变生物钟基因的表达,如Chen等^[13]对SD (sprague-dawley rats) 幼鼠进行慢性酒精刺激发现下丘脑内 *Per1* 和 *Per2* 基因表达相位混乱,同样地对成年大鼠和小鼠进行酒精暴露也会扰乱下丘脑和室旁核中的 *Per1* 和 *Per2* 基因表达节律^[14-15]。此外,研究还发现酒精暴露可以使成年大鼠 SCN 中 *Cry1* 基因的表达量降低,同时能够使小脑和肝脏中 *Per2* 基因表达时相提前^[16]。Huang等^[17]对男性酗酒者血液白细胞生物钟基因表达的研究发现, *Per (s)*、*Cry (s)* 和 *Bmal1* 基因的表达量下降,而Ando等^[18]对健康男性进行急性酒精刺激后发现血液白细胞的 *Bmal1* 基因表达量上升。

此外,生物钟基因表达的改变也能够影响哺乳动物对酒精的摄取。2005年,德国科学家Spanagel等^[19]利用 *Per2* 基因突变的大鼠作为研究对象,对其进行慢性酒精刺激,结果发现 *Per2* 突变大鼠 SCN 中星形胶质细胞突触间隙的谷氨酸盐水平上升,最终导致饮酒量增加甚至造成酒精依赖;Spanagel等^[19]和Yuferov等^[20]同时运用单核苷酸多态性技术 (SNPs) 改变男性酗酒者 *Per2* 基因外显子序列,结果发现患者的饮酒量增加。由此可见饮酒和生物体内源性生物钟基因之间能够相互作用,酒精在影响生物节律的同时,生物钟基因也在调控酒精的摄入量。

为什么机体生物钟系统对酒精毒性这么敏感,目前比较被认可的解释:酒精能够通过调节特定的靶位基因调节整个生物钟系统。总结发现,在众多的生物钟基因中, *Per2* 基因最有可能是乙醇的靶标。因为长期的酒精暴露不仅能够改变成年大鼠下丘脑内和外周组织中 *Per* 基因的表达模式,并且在幼鼠研究中也发现类似的结果^[13-14, 16]。另外,对 *Per2* 基因突变的小鼠进行慢性酒精刺激发现小鼠的饮酒量增加,更容易形成酒精依赖,类似的结果在人类实验中也有发现^[19];但是 *Per1* 基因突变的小鼠却没有类似的现象^[21]。不仅如此, *Per2* 基因突变也能够抑制 β -内啡肽对酒精的反应^[22], β -内啡肽是 SCN 主钟信号传递的重要介质,所以 *Per2* 基因调控内源性生物钟系统控制 β -内啡肽对酒精的反应。这样, *Per2* 基因可能是酒精作用于内源性生物钟系统的靶位基因;但是也有专家认为酒精可能从改变

细胞基础代谢和阻碍大脑一些区域的信息传递这两个方面对生物钟系统产生作用:一方面,酒精在肝脏中代谢产生的高 NADH 可能促进 CLOCK:BMAL1 异二聚体与 E-box 的结合,导致生物钟基因表达节律变化;另一方面,神经递质 γ 氨基丁酸 (GABA) 和 NMDA-谷氨酸受体在光照和黑暗主导的昼夜相位变化的调节中有重要作用,而这些信号因子也是酒精的重要靶位点^[23-24]。

3 酒精对哺乳动物行为活动节律的影响

哺乳动物行为活动节律主要是由 SCN 主钟调控的^[1],而酒精能够影响哺乳动物行为活动的节律。2005年,Rosenwasser等^[25]研究发现,长期饮酒会导致大鼠行为活动节律失常,且这种失常的行为在戒酒之后并不能及时恢复正常。同时还发现强制暴露于 10% 和 20% (v/v) 的酒精溶液的大鼠会出现行为节律自由运行周期延长或者缩短的情况,禁酒之后 10% 暴露的动物行为活动恢复到正常水平,而 20% 刺激的实验动物反而出现恶化,这也说明不同浓度的酒精对行为活动影响程度不同。酗酒和禁酒都能够引起行为活动自由运行 (free running) 周期的改变,这种现象与 20 世纪 90 年代研究人员使用叙利亚仓鼠 (*Syrian hamster*) 和幼鼠进行实验所得到的结果一致^[26-27]。类似的结果在其他研究中也发现,如Seggio等^[28]在对 C57BL/6J 小鼠的研究中发现,当对小鼠进行慢性酒精刺激时小鼠行为活动自由运行的周期明显缩短;2011年,Trujillo等^[29]使用对酒精敏感度不同的大鼠 (高度酒精偏爱 high-alcohol preferring, HAP 和低度酒精偏爱 low-alcohol preferring LAP) 作为研究对象也发现,在慢性酒精暴露之后,大鼠的行为活动周期出现延长或缩短的现象。

酒精刺激不仅能够影响哺乳动物的行为活动节律,它还能够调节内源性生物钟对光信号的响应情况。Rosenwasser等^[30]研究发现,对成年雄性大鼠酒精暴露后,大鼠对光信号刺激的应答模式发生变化,而对刚出生的幼鼠进行实验也发现了类似的结果^[31-32]。其他的研究人员在研究酒精暴露对光信号应答模式的影响时也发现了相似的结果:Allison等^[33]研究发现,酒精刺激的大鼠在改变光暗周期之后由光引起的生物钟基因的表达峰值时相发生了变化,并且伴随着行为活动节律的变化;Farnell等^[34]发现,酒精暴露之后,SD 大鼠对光信号的敏感程度明显下降,其活动峰值的时间由暗期逐渐向明期移动;Trujillo 等的实验结果也直接证明了上述的

观点^[29]。

综上所述,无论是人为的给予慢性酒精刺激或者是遗传性酒精偏爱(HAP、LAP)的哺乳动物,它们的行为活动和对光信号的敏感性均发生明显的变化。这也预示着酗酒人群可能也会出现类似的状况,这为我们在临床治疗酒精引起的疾病提供一条崭新的道路。

4 酒精和生物钟系统对神经和内分泌功能的调控

酒精在改变哺乳动物行为活动的同时,对神经和内分泌的功能也有一定的影响。酒精暴露能够影响含有 β -内啡肽(β -endorphin)的神经元的生理功能,这主要是因为 β -内啡肽能够参与控制饮水量^[35]。酒精刺激还能够调控神经递质的合成和分泌,McElroy等^[36]对C57BL/J6小鼠使用高浓度的酒精刺激,发现酒精能够影响 γ -氨基丁酸(GABA)的信号传递。 γ -氨基丁酸是下丘脑内SCN神经元重要的神经递质,他们指出高浓度的酒精能够增强激活GABA在SCN内的受体(GABA_{A8} receptors),从而调节SCN主钟的相位重置。Earnest等^[37]指出,对孕妇使用酒精刺激能够引起新生儿大脑包括SCN在内的多个区域细胞发育不全,并且会损伤其行为活动,还会导致中央神经系统(CNS)功能的紊乱。

酒精不仅能影响生物体神经信号传递系统,对体液信号传导也有着调控作用。2004年,Chen等^[13]研究发现,长期饮酒不仅能引起大鼠大脑弓状核(ARC)以及SCN区域核心生物钟基因 $Per2$ 和 $Per3$ 的表达节律的改变,而且同时也破坏了大脑弓状核中阿黑皮素原(POMC)的表达节律。下丘脑的POMC系统与HAP轴以及多巴胺系统紧密相关,它们对酒精引起的行为学以及内分泌等生理反应方面起着至关重要的调控作用^[38]。2007年,印度科学家Jagota和Reddy^[39]也报道了酒精能影响松果体中褪黑激素(melatonin)的分泌节律从而调控SCN主钟的生理节律。不仅如此,酒精引起生理节律紊乱的同时也会影响胰岛细胞内胰岛素(insulin)和胰高血糖素(glucagon)的分泌和其敏感性,这可能增加哺乳动物罹患糖尿病、肥胖等代谢综合征类疾病的风险^[40]。

可见,酒精对生物体神经和体液信号的影响,尤其是SCN神经元功能和褪黑激素的分泌的变化会引起生理节律的紊乱,最终可能导致多个系统功能出现问题,还有可能会出现发育不良、抑郁症等

身体和精神疾病。

5 酒精通过生物钟影响免疫系统的功能

酒精不但可以影响哺乳动物神经系统和体液调节的功能,也能够通过影响内源性生物钟来影响哺乳动物免疫系统功能。长期酒精刺激能够降低机体免疫力,增加患病机率^[41]。即使长期饮用低浓度的酒精也能够增加癌症的死亡率^[42]。酒精抑制机体免疫力的途径主要是抑制大鼠自然杀伤细胞(NK Cell)、降低颗粒酶B(Granzyme B)和干扰素(IFN- γ)等的活性^[43-44]。而在哺乳动物免疫系统中颗粒酶B、穿孔素以及IFN- γ 等免疫因子的表达以及自然杀伤细胞的活性均具有生物节律^[45]。长期饮酒会破坏大鼠脾脏内颗粒酶B、穿孔素以及干扰素的日周节律表达,从而降低NK细胞的免疫杀伤能力,导致机体免疫力的下降,增加机体受感染以及癌症发病的几率^[45-46]。类似的,经常加班和跨时区旅行的人群中也发现细胞因子和IFN- γ 的合成以及积累的节律性消失,并且能够增加患癌症的风险^[47-48]。研究还发现,长期处于“时差”反应能够扰乱生物钟基因的表达,增加肿瘤的发病率^[49]。研究表明,生物钟核心基因 $Per2$ 在癌细胞中的正常表达能够抑制DNA损伤,当小鼠 $Per2$ 基因突变时引起的生物节律紊乱能够增加肿瘤的发生几率^[50]。由此可推测,酒精的摄取和滥用之所以能够增加疾病发生率,甚至诱发癌症,可能的原因是酒精通过扰乱哺乳动物生物钟系统,进而降低机体免疫系统的功能。

6 结语

综上所述,酒精对哺乳动物机体的毒性和机体内源性生理振荡器具有错综复杂的关系,内源性生物钟基因的表达可以调控哺乳动物摄入酒精的量和戒酒复发;酒精的刺激也可以改变生物钟基因的表达,导致行为活动、睡眠-觉醒、免疫系统和神经内分泌系统的节律紊乱。此外,酒精暴露的动物对光信号的应答模式发生变化,一些酗酒者的褪黑激素的分泌水平明显下降,但是对健康人群急性酒精暴露却不会出现此结果^[51]。以上这些现象都说明酒精、生理节律和健康这三者有着密不可分的关系。

虽然已经有了大量的关于酒精和生物钟系统相互作用的证据,但是它们之间相互作用的内在分子机制还不是十分明确,对现有的猜测还需要大量的证据证明。所以,接下来关于酒精和生物钟相互作用的研究应该着重于探索它们相互作用的内在机

理, 阐明产生酒精致病和成瘾的分子机制, 这可以为医生在临床治疗酒精毒性引起的疾病和设计戒酒方案时提供一个可靠的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Hastings MH. Circadian clocks. *Curr Biol*, 1997, 7(11): 670-2
- [2] Reppert SM. Cellular and molecular basis of circadian timing in mammals. *Semin Perinatol*, 2000, 24(4): 243-6
- [3] Isojima Y, Okumura N, Nagai K. Molecular mechanism of mammalian circadian clock. *J Biochem*, 2003, 134(6): 777-84
- [4] Peek CB, Ramsey KM, Marcheva B, et al. Nutrient sensing and circadian clock. *Cell*, 2012, 23(7): 312-8
- [5] Sahar S, Sassone CP. Regulation of metabolism: the circadian clock dictates the time. *Cell*, 2012, 23(1): 1-8
- [6] Lamia KA, Sachdeva UM, Williams EC, et al. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science*, 2009, 326(5951): 437-40
- [7] Brower KJ. Alcohol's effects on sleep in alcoholics. *Alcohol Res Health*, 2001, 25(2): 110-25
- [8] Secretan B, Straif K, Baan R, et al. A review of human carcinogens--Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol*, 2009, 10(11): 1033-4
- [9] Devaney M, Graham D, Greeley J. Circadian variation of the acute and delayed response to alcohol: investigation of core body temperature variations in humans. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, 75(4): 881-7
- [10] Kawano Y, Pontes CS, Abe H, et al. Effects of alcohol consumption and restriction on home blood pressure in hyper-tensive patients: serial changes in the morning and evening records. *Clin Exp Hypertens*, 2002, 24(1-2): 33-9
- [11] Liu Y, Higuchi S, Motohashi Y. Time-of-day effects of ethanol consumption on EEG topography and cognitive event-related potential in adult males. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci*, 2000, 19(6): 249-54
- [12] Mukai M, Uchimura N, Hirano T, et al. Circadian rhythms of hormone concentrations in alcohol withdrawal. *Psychiat Clin Neurosci*, 1998, 52(2): 238-40
- [13] Chen CP, Kuhn P, Advis JP, et al. Prenatal ethanol exposure alters the expression of period genes governing the circadian function of β -endorphin neurons in the hypothalamus. *J Neurochem*, 2006, 97(4): 1026-33
- [14] Chen CP, Kuhn P, Advis JP, et al. Chronic ethanol consumption impairs the circadian rhythm of pro-opiomelanocortin and period genes mRNA expression in the hypothalamus of the male rat. *J Neurochem*, 2004, 88(6): 1547-54
- [15] Takahashi S, Yokota S, Hara R, et al. Physical and inflammatory stressors elevate circadian clock gene mPer1 mRNA levels in the paraventricular nucleus of the mouse. *Endocrinology*, 2001, 142(11): 4910-7
- [16] Farnell YZ, Allen GC, Nahm SS, et al. Neonatal alcohol exposure differentially alters clock gene oscillations within the suprachiasmatic nucleus, cerebellum, and liver of adult rats. *Alcohol Clin Exp Res*, 2008, 32(3): 544-52
- [17] Huang MC, Ho CW, Chen CH, et al. Reduced expression of circadian clock genes in male alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 34(11): 1899-904
- [18] Ando H, Ushijima K, Kumazaki M, et al. Associations of metabolic parameters and ethanol consumption with messenger RNA expression of clock genes in healthy men. *Chronobiol Int*, 2010, 27(1): 194-203
- [19] Spanagel R, Pendyalam G, Abarca C, et al. The clock gene Per2 influences the glutamatergic system and modulates alcohol consumption. *Nat Med*, 2005, 11(1): 35-42
- [20] Yuferov V, Bart G, Kreek MJ. Clock reset for alcoholism. *Nat Med*, 2005, 11(1): 23-24
- [21] Zghoul T, Abarca C, Sanchis SC, et al. Ethanol self-administration and reinstatement of ethanol-seeking behavior in Per1(Brdm1) mutant mice. *Psychopharmacology: Berl*, 2007, 190(1): 13-9
- [22] Agapito M, Mian N, Boyadjieva NI, et al. Period 2 gene deletion abolishes β -endorphin neuronal response to ethanol. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 34(9): 1613-8
- [23] Allen GC, West JR, Chen WJ, et al. Developmental alcohol exposure disrupts circadian regulation of BDNF in the rat suprachiasmatic nucleus. *Neurotoxicol Teratol*, 2004, 26(3): 353-8
- [24] Buijs RM, Kalsbeek A, Goncharuk VD, et al. The biological clock tunes the organs of the body: timing by hormones and the autonomic nervous system. *J Endocrinol*, 2003, 177(1): 17-26
- [25] Rosenwasser AM, Fecteau ME, Logan RW. Effects of ethanol intake and ethanol withdrawal on free-running circadian activity rhythms in rats. *Physiol Behav*, 2005, 84(4): 537-42
- [26] Mistlberger RE, Nadeau J. Ethanol and circadian rhythms in the Syrian hamster: effects on entrained phase, reentrainment rate, and period. *Pharmacol Biochem Behav*, 1992, 43(1): 159-65
- [27] Dwyer SM, Rosenwasser AM. Neonatal clomipramine treatment, alcohol intake and circadian rhythms in rats. *Psychopharmacology: Berl*, 1998, 138(2): 176-83
- [28] Seggio JA, Fixaris MC, Reed JD, et al. Chronic ethanol intake alters circadian phase shifting and free-running period in mice. *J Biol Rhythms*, 2009, 24(4): 304-12
- [29] Trujillo JL, Do DT, Grahame NJ, et al. Ethanol consumption in mice: relationships with circadian period and entrainment. *Alcohol*, 2011, 45(2): 147-59
- [30] Rosenwasser AM, Logan RW, Fecteau ME. Chronic ethanol intake alters circadian period-responses to brief light pulses in rats. *Chronobiol Int*, 2005, 22(2): 227-36
- [31] Farnell YZ, West JR, Wei JAC, et al. Developmental alcohol exposure alters light-induced phase shifts of the circadian activity rhythm in rats. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28(7): 1020-7
- [32] Sei H, Sakata HH, Ohta K, et al. Prenatal exposure to alcohol alters the light response in postnatal circadian rhythm. *Brain Res*, 2003, 987(1): 131-4
- [33] Allison J, Brager BS, Ruby CL, et al. Chronic ethanol disrupts circadian photic entrainment and daily locomotor

- activity in the mouse. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 34(7): 1266-73
- [34] Farnell YZ, West JR, Chen WJ, et al. Developmental alcohol exposure alters light-induced phase shifts of the circadian activity rhythm in rats. *Alcohol Clin Exp Res*, 2004, 28(7): 1020-7
- [35] Sarkar DK. Circadian genes, the stress axis, and alcoholism. *Alcohol Res*, 2012, 34(3): 362-6
- [36] McElroy B, Zakaria A, Glass JD, et al. Ethanol modulates mammalian circadian clock phase resetting through extrasynaptic GABA receptor activation. *Neuroscience*, 2009, 164(2): 842-8
- [37] Earnest DJ, Chen WJ, West JR. Developmental alcohol and circadian clock function. *Alcohol Res Health*, 2001, 25(2): 136-40
- [38] Kiefer F, Wiedemann K. Neuroendocrine pathways of addictive behaviour. *Addict Biol*, 2004, 9(3-4): 205-12
- [39] Jagota A, Reddy MY. The effect of curcumin on ethanol induced changes in suprachiasmatic nucleus (SCN) and pineal. *Cell Mol Neurobiol*, 2007, 27(8): 997-1006
- [40] Tomie Furuya D, Binsack R, Onishi ME, et al. Low ethanol consumption induces enhancement of insulin sensitivity in liver of normal rats. *Life Sci*, 2005, 77(15): 1813-24
- [41] Watson RR, Borgs P, Witte M, et al. Alcohol, immunomodulation, and disease. *Alcohol Alcohol*, 1994, 29(2): 1319
- [42] Voelker R. Even low, regular alcohol use increases the risk of dying of cancer. *JAMA*, 2013, 309(10): 970
- [43] Boyadjieva N, Dokur M, Advis JP, et al. Chronic ethanol inhibits NK cell cytolytic activity: role of opioid peptide β -endorphin. *J Immunol*, 2001, 167(10): 5645-52
- [44] Dokur M, Boyadjieva NI, Sarkar DK. Reduction of perforin, granzyme B, and cytokine interferon γ by ethanol in male Fischer 344 rats. *Alcohol Clin Exp Res*, 2003, 27(4): 670-6
- [45] Arjona A, Boyadjieva N, Sarkar DK. Circadian rhythms of granzyme B, perforin, IFN- γ , and NK cell cytolytic activity in the spleen: effects of chronic ethanol. *J Immunol*, 2004, 172(5): 2811-7
- [46] Arjona A, Boyadjieva N, Kuhn P, et al. Fetal ethanol exposure disrupts the daily rhythms of splenic granzyme B, IFN- γ , and NK cell cytotoxicity in adulthood. *Alcohol Clin Exp Res*, 2006, 30(6): 1039-44
- [47] Bovbjerg DH. Circadian disruption and cancer: sleep and immune regulation. *Brain Behav Immun*, 2003, 1(Suppl 17): S48-50
- [48] Parent ME, El ZM, Rousseau MC, et al. Night work and the risk of cancer among men. *Am J Epidemiol*, 2012, 176(9): 751-9
- [49] Filipski E, Delaunay F, King VM, et al. Effects of chronic jet lag on tumor progression in mice. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7879-85
- [50] 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*. *Cell*, 2002, 111(1): 41-50
- [51] Danel T, Touitou Y. Alcohol consumption does not affect melatonin circadian synchronization in healthy men. *Alcohol Alcohol*, 2006, 41(4): 386-90