

DOI: 10.13376/j.cbls/2015172

文章编号: 1004-0374(2015)10-1237-09

· 评述与综述 ·

## 生物时钟调控DNA损伤反应的研究进展

唐小利, 郭志刚, 刘畅\*

(南京师范大学生命科学学院江苏省分子医学生物技术重点实验室, 南京 210023)

**摘要:** 随着地球的自转, 哺乳动物的许多生理和行为都表现出以 24 h 为周期的节律性振荡。生物时钟是昼夜节律产生的物质基础。在分子水平上, 生物时钟由一组高度保守的时钟基因及其编码的蛋白质形成的转录-翻译反馈环路组成。它控制着许多生化反应的进行, 包括细胞对基因毒性刺激等环境因素的反应。最近的研究发现, 生物时钟在细胞的 DNA 损伤反应过程(包括 DNA 修复、DNA 损伤检验点以及细胞凋亡)中发挥着重要的调控作用。深入了解其中的机制将为治疗相关疾病提供潜在的药物靶点, 也可指导开发新的治疗方案, 如时辰疗法。

**关键词:** 生物时钟; DNA 损伤反应; 时辰疗法

**中图分类号:** Q344; Q41 **文献标志码:** A

## Advances in the regulation of DNA damage response by the circadian clock

TANG Xiao-Li, GUO Zhi-Gang, LIU Chang\*

(Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology,  
College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** With the rotation of the earth, many physiologies and behaviors of mammals exhibit oscillations with a period of 24 h. The circadian clock is the basis of these circadian rhythms. At the molecular level, the circadian clock consists of transcription-translation feedback loops formed by a set of highly conserved circadian genes and their proteins. It controls many biochemical reactions, including cellular responses to environmental factors such as genotoxic stimuli. It is recently reported that the circadian clock plays an important role in regulating the cellular responses to DNA damage including DNA repair, DNA damage checkpoints and apoptosis. A better understanding of the mechanisms will provide potential drug targets for the related diseases, and also guide development of new therapeutic regimens such as chronotherapy.

**Key words:** circadian clock; DNA damage response; chronotherapy

地球 24 h 的自转使众多植物和动物处于昼夜明暗交替的环境中, 使其行为和生理活动也相应地呈现周期性变化, 而这种适应性的变化则是由生物体内的“生物时钟”(circadian clock)所控制的。生物时钟系统由生物时钟基因和时钟控制基因组成, 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节律有利于动物的生存, 体温、血压、内分泌和代谢等生理节律可预知并适应于环境的变化, 从而维持机体的健康。

最近的研究显示, 生物时钟也参与调控 DNA 损伤反应。多种内源或外源性因素皆可诱发细胞的

DNA 损伤, 包括氧化应激、致瘤突变、基因毒性应激以及代谢应激等<sup>[1]</sup>。为了应对这些危险性因素, 真核生物进化出了 DNA 损伤反应, 通过感应并传

收稿日期: 2015-04-07; 修回日期: 2015-05-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2012CB947601); 国家自然科学基金面上项目(31422028, 31171137, 31271261); 中组部青年拔尖人才计划项目; 江苏省杰出青年科学基金项目(BK20140041); 江苏省优势学科建设项目(PAPD)

\*通信作者: E-mail: 08256@njnu.edu.cn; Tel: 025-85891870

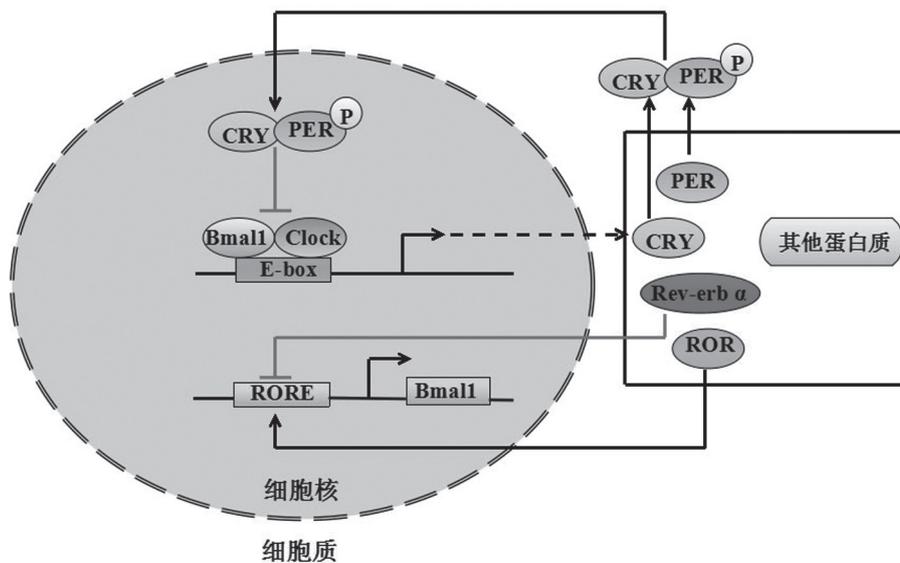
递 DNA 损伤信息, 使细胞对 DNA 损伤做出一系列反应, 最后解决 DNA 损伤修复和复制问题<sup>[2-3]</sup>。研究发现, 生物时钟与 DNA 修复系统存在一定联系。在小鼠的大脑和肝脏中, UV 照射后的核苷酸切除修复活性呈现出节律性振荡<sup>[4-5]</sup>。另外, 时钟元件可作为关键调节子在 DNA 损伤反应中发挥特定作用, 如 PER1 与 DNA 损伤检验点蛋白质复合物 ATM-Chk2 互相作用, 调控电离辐射等可导致 DNA 双链断裂的因素引起的 DNA 损伤<sup>[6]</sup>。值得注意的是, 生物时钟对 DNA 损伤反应调控作用的失效可导致基因组不稳定以及肿瘤发生, 如时钟基因 *Per2* 纯合突变的小鼠中 *cyclin D* 和 *c-Myc* 的表达失调, 并发生组织增生和淋巴瘤<sup>[7]</sup>。然而, 在易发癌症的小鼠, 如缺乏肿瘤抑制基因 *p53*(50% 的癌症中有 *p53* 突变) 的小鼠中, 同时缺失时钟基因 *Cry*, 则可降低由 *p53* 缺乏引起的肿瘤发生率<sup>[8]</sup>。由生物时钟介导的依赖于 *p73* 的细胞凋亡途径的激活可提高缺乏 *p53* 功能的肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[9]</sup>。因此, 本文将阐述生物时钟在 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的作用。

## 1 哺乳动物生物时钟

在哺乳动物中, 生物时钟由位于大脑前下丘脑

视交叉上核 (suprachiasmatic nuclei, SCN) 的中枢生物时钟和位于各外周组织器官中的外周生物时钟组成。SCN 是昼夜节律的起搏点, 光照是其最主要的授时信号。哺乳动物通过视网膜接收光信号, 并经视网膜-下丘脑束 (retinohypothalamic track, RHT) 将信号传送至 SCN, 从而引导 SCN 的昼夜节律。SCN 除了调节自身节律外, 还可以通过神经递质、体液和内分泌等途径影响外周生物时钟系统, 使彼此保持同步<sup>[10]</sup>。外周生物时钟位于肝脏、心脏、肾脏、肺和皮肤等几乎所有外周器官, 它们维持着昼夜节律并调节组织特异性基因的表达。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, 同时保证生命活动和生理状态的实时协调。

中枢生物时钟与外周生物时钟的分子机制相似, 由至少 10 个基因及其编码蛋白质组成的转录-翻译反馈回路构成 (图 1)。在主反馈回路中, 核心时钟基因 *Clock* (大脑中是 *Npas2*) 和 *Bmal1* 编码具有 bHLH-PAS 结构域的蛋白质, 形成的 CLOCK (NPAS2)/BMAL1 异二聚体作为正向调节因子, 通过结合 *Per* (*Per1*、*Per2*、*Per3*) 和 *Cry* (*Cry1*、*Cry2*) 基因启动子上的 E-box 元件 (5'-CACGTG-3') 激活其转录<sup>[11-13]</sup>。而起负调节作用的 PER 和 CRY 蛋白在细胞质中节律性地积累, 形成复合物入核结合



细胞核内, CLOCK/BMAL1 异二聚体结合下游基因, 如 *Per*、*Cry*、*Rev-erb*、*Ror* 启动子上的 E-box 序列, 从而激活它们的转录。当细胞质中 PER、CRY 蛋白积累达到临界浓度时, 又会进入细胞核抑制 CLOCK/BMAL1 的转录活性, 并降低其自身的表达。而由激酶 (如 CK1 $\epsilon/\delta$ 、AMPK) 介导的 PER 和 CRY 蛋白的降解 (图中未描述) 将终止其对 CLOCK/BMAL1 的抑制效应, 从而又开启新的转录循环, 该负反馈回路以大约 24 h 为周期。另一方面, REV-ERB 和 ROR 蛋白入核后, 能竞争性地结合 *Bmal1* 等核心时钟基因启动子上的 RORE 序列而调控其转录。

图1 生物时钟核心分子机制

CLOCK/BMAL1 异二聚体, 进而周期性地抑制 CLOCK/BMAL1 的转录激活活性及其自身的转录。在持续黑暗的条件下, *Cry1/2* 双敲除小鼠或 *Per1/2* 双敲除小鼠都表现出节律紊乱<sup>[14-16]</sup>, 说明这条负反馈回路对于正常节律的维持尤为重要。有多种调控机制控制着该反馈回路进行的速度, 包括对时钟蛋白的磷酸化、乙酰化、多聚 ADP 核糖化以及泛素化等翻译后修饰作用<sup>[17-19]</sup>。另一条反馈回路涉及核受体 REV-ERB ( $\alpha$ 、 $\beta$ ) 和 ROR ( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ )。这两类核受体都受到 CLOCK/BMAL1 异二聚体的激活, 并竞争性地结合 *Bmal1* 启动子上的 RORE 序列, 分别抑制和激活 *Bmal1* 的转录<sup>[20-23]</sup>。因此, REV-ERB 与 ROR 的竞争决定着 *Bmal1* 的表达水平。另外, 转录共激活因子 PGC-1 $\alpha$  既是一个代谢调节因子, 也可通过促进 ROR $\alpha/\gamma$  的活性来激活 *Bmal1* 和 *Rev-erba* 的表达<sup>[24]</sup>。最后, CLOCK/BMAL1 异二聚体还可通过 E-box 元件调控 PAR bZip 转录因子 DBP、TEF 和 HLF 的节律性表达<sup>[25-26]</sup>。这些转录因子又可形成同聚体或异二聚体, 激活下游靶基因(主要是参与异源物代谢的基因)的表达<sup>[27-28]</sup>。

生物时钟驱动几乎所有生理过程的昼夜节律, 包括睡眠-觉醒循环、体温、代谢, 以及应激反应等<sup>[29-31]</sup>。另外, 细胞周期进程和 DNA 损伤反应途径也受到生物时钟的调控<sup>[32-33]</sup>。这些调控作用的破坏会导致多种病理情况的发生, 包括抑郁、睡眠紊乱、代谢紊乱以及心血管疾病等<sup>[34-36]</sup>。现代流行病学研究显示, 经常不规律的工作, 如倒班和跨时区等, 会导致生物时钟与外界环境的同步化作用失调, 这与一些疾病, 如心血管疾病、糖尿病以及癌症的发生密切相关<sup>[37-39]</sup>。此外, 缺失各种生物时钟核心元件的动物模型已经建立, 基于这些模型的实验也发现了许多基因特异性的病症, 包括代谢缺陷、癌症以及衰老等。在哺乳动物中, 生物时钟存在于几乎所有组织中, 从而组织特异性地调控许多生理和代谢进程。值得注意的是, 一些参与细胞周期、DNA 损伤修复以及遗传毒性应激反应的关键调控因子也受到生物时钟的调控, 它们的合成或活性以节律性的方式振荡, 从而控制细胞周期进程并调节细胞的应激敏感性<sup>[33]</sup>。

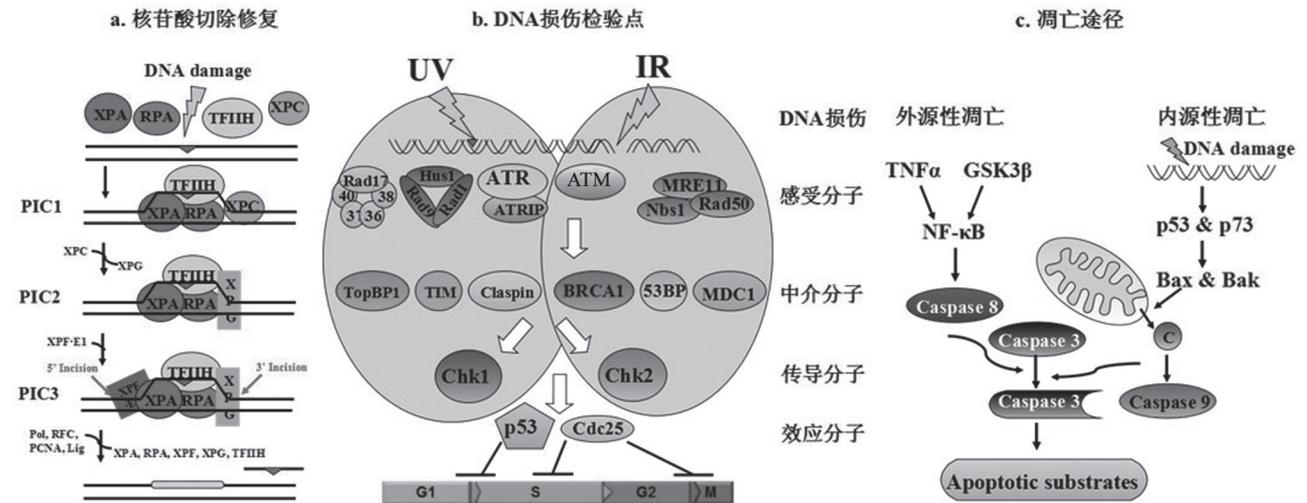
## 2 DNA损伤反应

DNA 的原始结构经常会遭受内源性的细胞代谢物以及外源性的 DNA 损伤因素的破坏。DNA 损伤反应包括 DNA 修复、DNA 损伤检验点以及细胞

凋亡(图2), 且它们都在一定程度上受到生物时钟的调控。

哺乳动物的 DNA 修复方式有几种, 包括碱基切除修复、核苷酸切除修复、错配修复以及重组/交联修复。然而, 目前的研究显示, 只有核苷酸切除修复受到生物时钟的直接调控<sup>[4-5, 40-41]</sup>。在许多生物包括人类和小鼠中, 核苷酸切除修复是识别并修复大结构 DNA 损伤的唯一途径, 如紫外线诱发的环丁烷嘧啶二聚体、药物或致癌物与 DNA 形成的药物/致癌物-DNA 加合物等<sup>[42]</sup>。在人类中, 该修复途径通过 6 个核心修复因子协调作用来完成<sup>[43-44]</sup>, 包括 RPA、XPA、XPC、TFIIH、XPG, 以及 XPF-ERCC1(图2a)。RPA、XPA 和 XPC 协同作用, 识别并结合至损伤位点, 再通过 XPA 和 XPC 招募 TFIIH, 形成一个稳定的复合物。TFIIH 复合物中的两种解旋酶 XPB 和 XPD, 解开 DNA 损伤位点附近约 20 bp 的双螺旋结构, 形成稳定的切除前复合物 1 (pre-incision complex 1, PIC1)。随后, XPG 进入而 XPC-HR23 脱离该复合物, 形成复合物 PIC2。XPF-ERCC1 通过与 XPA 的强烈作用被招募到复合体上, 形成复合物 PIC3。其中, 核酸酶 XPG 和 XPF-ERCC1 分别切割距损伤位点 3' 端第 (6  $\pm$  3) nt 和距其 5' 端第 (20  $\pm$  5) nt 的磷酸二酯键, 切下包含损伤位点的 24~32 nt 的寡聚物。最后, 该寡聚物与 TFIIH 形成的复合物被释放, 并由细胞内的核酸酶降解, 而 DNA 链上留下的缺口则由 DNA 聚合酶  $\delta/\epsilon$  和 DNA 连接酶 I 填补。

为应对 DNA 损伤并确保遗传的准确性, 细胞形成了复杂的细胞周期监督机制, 即 DNA 损伤检验点, 它可延迟或阻止细胞周期进程, 以利于 DNA 修复的进行。DNA 损伤检验点可以说是细胞周期检验点的损伤放大形式, 包括 G<sub>1</sub>/S 转换期检验点、S 期检验点和 G<sub>2</sub>/M 转换期检验点<sup>[42]</sup>。每一损伤检验点又包括 3 个阶段: DNA 损伤识别、损伤信号转导以及效应阶段。每一阶段都有相应的分子参与, 它们大多是蛋白激酶, 通过磷酸化各自的靶分子发挥作用(图2b)。目前已知的发挥 DNA 损伤信号感受作用的分子主要有: PI3K 样激酶 (PIKK) 家族成员 ATM (ataxia telangiectasia-mutated) 和 ATR (ATM and Rad3-related)、Rad17-RFC 复合物和 9-1-1 (Rad9-Rad1-Hus1) 复合物。ATR 和 ATM 的下游信号转导分子分别是两个重要的蛋白激酶: Chk1 和 Chk2。一些在感受分子和转导分子间发挥承上启下作用的中介分子也已被发现, 包括 BRCA1、Claspin、



(a)核苷酸切除修复: 六个核心修复因子协调运作, 先后形成切除前复合物1(PIC1)、PIC2以及PIC3, 最后切下包含损伤位点的寡聚物由细胞内的核酸酶降解, 而DNA链上留下的缺口则由DNA聚合酶和DNA连接酶I填补。(b) DNA损伤检验点: DNA损伤检验点通路中, 两个PIKK家族成员损伤感受器ATR和ATM发起信号转导级联反应, 经历DNA损伤识别、损伤信号转导以及效应三阶段, 实现对细胞周期进程的调节。(c)细胞凋亡途径: 包括由DNA损伤因素引起的内源性凋亡和由肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )等细胞因子引发的外源性凋亡。

图2 DNA损伤反应

53BP1 以及 MDC1。它们可在细胞周期的特定阶段帮助感受分子与转导分子的特异结合与活化, 从而增加 DNA 损伤信号转导的特异性。效应分子包括 p53、Cdc25 家族 (Cdc25A/B/C) 和 Cdc45 等, 它们受到转导分子的激活或抑制, 从而直接参与调节细胞周期进程。在哺乳动物细胞中, 有两个主要的检验点信号通路, 即 ATR-Chk1 通路和 ATM-Chk2 通路。前者主要受 UV、类 UV 因素以及复制叉进程抑制药物的激活, 后者主要受到电离辐射和诱发 DNA 双链断裂因素的激活。ATR 和 ATM 激酶在一些辅助蛋白的帮助下感知 DNA 损伤, 并在中介分子的帮助下分别磷酸化信号转导激酶 Chk1 和 Chk2。随后, Chk1 和 Chk2 磷酸化 p53、Cdc25 和 Cdc45 等效应蛋白, 从而抑制细胞周期进程中的两个关键的激酶 Cdc2 和 Cdk2, 分别阻滞 G<sub>2</sub>/M 和 G<sub>1</sub>/S 转换。

### 3 生物时钟调控DNA修复

在哺乳动物中, 只有核苷酸切除修复活动具有明显的节律性。然而, 也不能排除其他修复途径可表现出微弱的振荡性, 如参与碱基切除修复的 O<sup>6</sup>-烷基鸟嘌呤 -DNA 烷基转移酶 (O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase, AGT) 和 N-甲基嘌呤 -DNA 糖基化酶 (N-methylpurine DNA glycosylase, MPG) 只具有微弱的节律性, 以致于其节律振荡的生理意

义还不太清楚<sup>[45-46]</sup>。另外, 错配修复与 DNA 复制偶联<sup>[47]</sup>, 而 DNA 复制过程本身受到生物时钟的调控<sup>[40,48]</sup>。因此, 在一些正处于复制期的细胞中, 错配修复可能在一定程度上受到生物时钟的间接影响。

核苷酸切除修复的六个修复因子都是损伤识别与切除反应的限速因素, 因此, 对它们的节律性控制就有可能使得核苷酸切除修复活动呈现周期性。对小鼠各种组织一天中的核苷酸切除修复活动的分析发现, 大脑和肝脏中的修复活动有明显的周期性<sup>[4]</sup>, 而睾丸中则不然<sup>[5]</sup>, 这可能是因为睾丸中缺乏生物时钟<sup>[49]</sup>。2009年, Kang 等<sup>[4]</sup>发现, 小鼠大脑中的核苷酸切除修复活性在 ZT10-14 (ZT0 指 12 h 光照 -12 h 黑暗模式的光照开始时间) 达到最高, 比在 ZT18-22 时的最低值高出 5~10 倍。而对各修复因子的表达分析发现, 只有损伤识别蛋白中的着色性干皮病因子 A (xeroderma pigmentosum A, XPA) 的表达具有节律性; 并且, 其表达模式与 BMAL1 同相, 而与 BMAL1 的抑制子 CRY1 和 PER2 反相。Kang 等<sup>[5]</sup>的进一步研究表明, *Xpa* 是一个时钟控制基因, 其启动子区包含两个 E-box 元件。在 C57BL/6 小鼠肝脏中, *Xpa* 的 mRNA 和蛋白质与核苷酸切除修复的节律振荡模式一致。然而, 在 *Cry1/2* 双敲除小鼠中, *Xpa* 的 mRNA 和蛋白质表达水平都呈持续性激活并缺乏节律性。因此, *Xpa* 受

到 CLOCK/BMAL1 的正调控以及 CRY 和 PER 的负调控, 且其蛋白的节律性振荡是切除修复活性呈现节律性的主要原因。

然而, 高效的转录节律不一定能够引起蛋白质含量的节律振荡。如果蛋白质是稳定的, 则节律性的转录只会引起蛋白质表达产生微弱的振幅变化。因此, 若蛋白质经历一定的降解过程, 其表达将表现出显著的振荡性。正常情况下, 与许多时钟蛋白, 如 CRY、PER 和 BMAL1 一样, XPA 蛋白也有一个约 3 h 的半衰期<sup>[5,50-53]</sup>。而 UV 诱导的 DNA 损伤能增加 XPA 的稳定性, 使其半衰期达到 12 h 以上<sup>[41]</sup>。XPA 被泛素连接酶 HERC2 泛素化, 并通过泛素-蛋白酶系统 (UPS) 降解; 而且, siRNA 导致的 HERC2 的表达下调会增加 XPA 蛋白的稳定性, 使其始终保持在较高的水平, 并增加核苷酸切除修复活性<sup>[5]</sup>。有趣的是, HERC2 本身也是一个时钟调控蛋白, 其在肝脏中与 XPA 同相振荡, 而在大脑中则没有振荡性<sup>[54]</sup>, 然而, *Xpa* 的转录及其蛋白水平在这两种器官中都有振荡性。因此, 一些蛋白质, 如 XPA, 无论以恒定速率降解还是以振荡的方式降解, 它们都有可能细胞中节律性地积累。

#### 4 生物时钟调控DNA损伤检验点

生物时钟主要以两种方式调控 DNA 损伤检验点: 在转录水平上控制损伤检验点蛋白质的积累; 时钟蛋白直接参与损伤检验点反应。

##### 4.1 第一种调控方式

目前已知的哺乳动物生物时钟对细胞周期的调控主要采用以下几种机制: 通过 c-Myc<sup>[7]</sup>、p21<sup>[55]</sup>、p20<sup>[56]</sup> 以及 NONO<sup>[57]</sup> 调控 G<sub>1</sub>/S 期转换; 通过 WEE1 调控 G<sub>2</sub>/M 期转换<sup>[58-59]</sup>。c-Myc 是一种具有 bHLH 结构域的转录因子, 可直接受到生物时钟控制, 在细胞的增殖和凋亡中发挥重要作用, 并调控一系列参与 G<sub>1</sub>/S 期转换的基因<sup>[6-7]</sup>。小鼠 *c-myc* 启动子上含有一个标准的 E-box 序列, NPAS2 (CLOCK)/BMAL1 异二聚体与之结合并抑制其转录。另外, 小鼠缺失 PER2 功能后, 电离辐射诱导的淋巴瘤的发生率升高且 DNA 损伤修复反应缺陷, 而 c-Myc 的高表达是淋巴瘤高发病率的主要原因。

p21 是一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子, 通过抑制 G<sub>1</sub> 期 Cyclin E-Cdk2 复合物的活性以负向调节细胞周期进程, 并结合 PCNA 以阻止 DNA 复制。p21 受到 CLOCK/BMAL1 和 ROR $\gamma$  的正调控和 REV-ERB $\alpha/\beta$  的负调控<sup>[55]</sup>。DNA 损伤诱

导 p21 的高表达, 从而抑制 Cdk2 的活性, 将细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub>/S 检验点。在 *Bmal1* 敲除小鼠肝脏中, 随着 REV-ERB $\alpha/\beta$  的表达降低以及 ROR $\gamma$  的表达增加, p21 也呈高表达, 从而使细胞的 G<sub>1</sub>/S 期转换滞后。p20 与 p21 一样, 受生物时钟调控, 并调控细胞周期 G<sub>1</sub>/S 转换。所不同的是, 与 p21 相比, p20 表达峰值时间要早 6 h, 且其调控作用不依赖于 p53<sup>[56]</sup>。

NONO 是一种 DNA/RNA 结合蛋白, 可参与剪切、转录抑制和 RNA 的出核过程。Brown 等<sup>[60]</sup>发现, 哺乳动物和果蝇中, NONO 与 PER1 蛋白相互作用, 维持正常的生理节律。随后又发现, NONO 与 PER 共同结合 G<sub>1</sub> 期阻滞基因 *p16-Ink4A* 的启动子, 从而节律性地激活其转录, 且 NONO 是生物时钟调控细胞周期所必需的<sup>[57]</sup>。另外, 缺失 NONO 和与之具有广泛同源性的 PSPC1, 会导致严重的辐射敏感性以及 DNA 双链断裂位点修复的延迟<sup>[61]</sup>。

WEE1 激酶在 G<sub>2</sub>/M 期转换中发挥关键作用, 它主要通过磷酸化失活有丝分裂细胞周期素依赖性激酶 CDC2, 从而抑制 G<sub>2</sub>/M 期的转换。在 *Cry* 突变小鼠肝脏中, WEE1 表达增加, 细胞延迟进入有丝分裂期, 从而导致肝脏再生迟缓<sup>[58]</sup>。尽管如此, 某些情况下, WEE1 的增加似乎并不能显著影响 G<sub>2</sub>/M 检验点。例如, *Cry1<sup>-/-</sup>Cry2<sup>-/-</sup>* 小鼠成纤维细胞中 WEE1 表达升高, 而细胞生长能力以及电离辐射 (IR) 和紫外线 (UV) 引起的 G<sub>2</sub>/M 检验点反应与野生型细胞并无差别。另外, 突变型细胞并未长时间滞留于 G<sub>2</sub>/M 期, 且其损伤诱导的 G<sub>2</sub>/M 期阻滞的恢复速率与正常细胞基本相同<sup>[59]</sup>。因此, WEE1 表达增加引起的不同结果可能依赖于细胞的生理条件、细胞类型以及细胞的内环境等。

##### 4.2 第二种调控方式

时钟元件直接参与 DNA 损伤检验点, 如哺乳动物 TIMELESS (TIM) 参与调控两个检验点信号通路, 即 ATR-Chk1 信号通路和 ATM-Chk2 信号通路<sup>[62-63]</sup>。哺乳动物 *Tim* 是一个时钟基因, 其蛋白质序列与果蝇的关键时钟蛋白 TIM 相似, 并在机体的生长和分化以及在细胞水平上维持复制叉的稳定性中扮演重要角色<sup>[64-65]</sup>。2005 年, Unsal-Kacmaz 等<sup>[62]</sup>发现, 人的 TIM 蛋白可同时与时钟蛋白 CRY2 和细胞周期检验点蛋白 Chk1 以及 ATR-ATEIP 复合物结合, 在 DNA 损伤检验点反应中发挥重要作用。TIM 可将 ATR 感受到的复制检验点

信号传递至 Chk1 激酶。下调细胞中 *Tim* 的表达会降低 Chk1 激酶的活性以及 PER2 的蛋白表达, 并严重导致细胞 DNA 复制和 S 期检验点的缺陷。2010 年, Yang 等<sup>[63]</sup> 发现, 哺乳动物的 TIM 在 ATM-Chk2 通路和 G<sub>2</sub>/M 检验点的调控中也具有重要作用。TIM 是依赖于 ATM 的 Chk2 激活所必需的, siRNA 干扰 TIM 和 ATM 的表达都会减少 Chk2 的磷酸化激活, TIM 的表达降低还可减少阿霉素诱导的 G<sub>2</sub>/M 细胞周期阻滞。与对照组细胞相比, 干扰 TIM 表达后滞留在 G<sub>2</sub>/M 检验点的细胞较少。由此可见, TIM 在联系生物时钟与 DNA 损伤检验点中发挥一定的功能。

另外, 核心时钟基因 *Per1* 和 *Per3* 也直接参与 DNA 损伤检验点。2006 年, Gery 等<sup>[6]</sup> 发现, PER1 直接与 ATM 和 Chk2 结合而激活 ATM-Chk2 检验点通路, 也可能作为一个衔接蛋白, 招募一些 ATM 的底物。PER1 的表达下降会干扰 IR 引起的 ATM 对 Chk2 的磷酸化激活, 并减少 DNA 损伤诱导的细胞凋亡。而 PER1 过表达则会通过促进凋亡过程而抑制大量癌细胞的增殖。2010 年, Im 等<sup>[66]</sup> 发现, 时钟基因 *Per3* 也直接参与调控 ATM-Chk2 通路。人源细胞中 siRNA 导致的 *Per3* 的下调几乎彻底损坏了 DNA 损伤诱导的检验点激酶 Chk2 的激活, 从而破坏 DNA 损伤诱导的 ATM-Chk2 检验点通路。PER3 可直接与 ATM 和 Chk2 结合, 且在无外源 DNA 损伤的情况下, PER3 过表达会诱导 Chk2 的激活, 而这种激活效应依赖于 ATM。PER3 过表达也会抑制细胞增殖以及凋亡引起的细胞死亡。因此, PER3 可作为一个检验点蛋白, 在检验点激活、细胞增殖及凋亡中发挥重要作用。

## 5 生物时钟调控细胞凋亡

细胞凋亡是最常见的程序性细胞死亡方式, 具有两种形式: 由 DNA 损伤因素引起的内源性凋亡; 由肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 等细胞因子引发的外源性凋亡<sup>[67]</sup> (图 2c)。生物时钟与这两类细胞凋亡都存在一定联系<sup>[68]</sup>。生物时钟主要通过调控 TNF $\alpha$  的合成和 GSK3 $\beta$  的磷酸化来调控外源凋亡途径。TNF $\alpha$  和 GSK3 $\beta$  进一步调节 NF- $\kappa$ B, 将信号转导至半胱氨酸蛋白 caspase 8, 随后 caspase 8 激活包括 caspase 3 在内的细胞凋亡进程执行者。在内源凋亡途径中, 生物时钟调控 DNA 损伤诱导的 p73 的表达增加。p73 进一步激活 Bax 和 Bak 的转录, 导致细胞色素 C 从线粒体中释放、凋亡体的组装, 以及

最后的转换蛋白 caspase 9 的分解和激活。激活的 caspase 9 进一步分解并激活凋亡执行者 caspase 3。下文将主要讨论生物时钟对 DNA 损伤诱发的内源凋亡过程的调控作用。

在内源凋亡途径中, 细胞 DNA 损伤以及未折叠蛋白引起的细胞应激反应都会升高 Bcl-2 促凋亡家族成员 Bax 和 Bak 的表达水平。肿瘤抑制因子 p53 在 DNA 损伤诱导的内源凋亡途径中扮演重要角色<sup>[67]</sup>。p53 是由 p53、p63 和 p73 组成的蛋白家族成员之一, 在基因毒性应激情况下, p53 主要通过增加 Bax 和 Bak 的表达, 进而诱导细胞凋亡的发生<sup>[69]</sup>。而 p63 和 p73 主要在生长和分化方面发挥功能, 在促凋亡方面的作用则是次要的, 其中 p73 有较强的肿瘤抑制作用<sup>[70]</sup>。2009 年, Ozturk 等<sup>[8]</sup> 发现, 与 p53<sup>-/-</sup> 细胞相比, p53<sup>-/-</sup>Cry1/2<sup>-/-</sup> 细胞对基因毒性药物更加敏感。这说明, *Cry* 的缺失会激活一种不依赖于 p53 的凋亡途径, 而在 p53<sup>+/+</sup> 细胞中, 这种凋亡途径的作用可能因为 p53 强烈的促凋亡效果而不明显。2011 年, Lee 等<sup>[9]</sup> 发现, 在缺失 CRY 的 p53<sup>-/-</sup> 细胞中, DNA 损伤会增加 p73 的表达。p53 和 p73 的蛋白质水平都会受到 DNA 损伤诱导而升高, p53 蛋白的增加主要通过翻译后修饰完成, 而 DNA 损伤诱导的 p73 的增加主要来源于转录水平上的调控。

p73 启动子上包含转录因子 C-EBP $\alpha$ 、Egr1 和 E2F1 的一个或多个结合位点, 前者发挥抑制作用, 而后两者发挥激活作用。Egr1 受到生物时钟的直接调控, 其启动子上含有一个 E-box 序列, 是一个一级时钟控制基因 (clock-controlled gene, CCG), p73 则是一个二级 CCG<sup>[9]</sup>。在没有 DNA 损伤的情况下, p73 的表达水平极低。DNA 损伤通过影响以上 3 种转录因子来激活 p73 的转录。UV 和类 UV 药物诱发的 DNA 损伤会引起 C-EBP $\alpha$  磷酸化并从 p73 启动子上释放出核, 而增加 Egr1 在 p73 启动子上的结合, 从而促进 p73 的转录和随后的细胞凋亡<sup>[9]</sup>。另外, DNA 损伤诱导的 p73 的表达受到时钟元件 CRY 的调控。*Cry* 的缺失会上调 *Egr1* 的表达, 进而激活 p73 的表达, 也会使得 p53<sup>-/-</sup> 细胞对类 UV 药物奥沙利铂更加敏感<sup>[9,71]</sup>。总的来说, 在 p53<sup>+/+</sup> 细胞中, 生物时钟对内源性凋亡的调控不明显, 这是由于在 DNA 损伤情况下, p53 有很显著的促凋亡效应。而在 p53<sup>-/-</sup> 细胞中, 生物时钟对奥沙利铂等类 UV 药物引起的内源性凋亡的调控主要通过调控 DNA 损伤诱导的 p73 的表达来实现。

## 6 讨论与展望

DNA 损伤反应缺陷会导致基因组不完整, 从而增加细胞中突变基因的积累, 最终导致肿瘤发生。DNA 损伤反应也会影响肿瘤细胞对药物的敏感性。许多化疗药物的抗癌活性依赖于肿瘤细胞(具有 DNA 修复缺陷)中 DNA 损伤反应的诱导, 如治疗生殖细胞肿瘤和浆液性卵巢癌特别有效的铂类药物, 主要通过和 DNA 形成加合物, 导致链内交联和链间交联发挥抑癌作用; 而且, 激活 p53、抑制细胞周期检验点和抑制 DNA 修复过程, 都可以提高药物的化疗效果<sup>[72]</sup>。因此, 对 DNA 损伤反应的适当调节可以提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。另外, DNA 损伤反应与新陈代谢活动也是高度协调的。研究发现, 肥胖和糖尿病患者血清中 DNA 氧化损伤的标志物 8-羟基-2-脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量显著升高, 且与糖尿病受试者的身体质量指数(body mass index, BMI)呈正相关<sup>[73]</sup>。许多关键的调控分子, 如肿瘤抑制因子 p53、去乙酰化酶家族中的 SIRT1 和 SIRT6、多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)以及 ATM 都具有调控 DNA 损伤反应和细胞代谢的双重作用<sup>[74]</sup>。因此, DNA 损伤反应的适时调节对于预防和治疗代谢疾病也是至关重要的。

时辰疗法是根据患者的疾病情况和某些周期性变化特征, 结合时辰药理学等特点, 在一天的特定时间给予药物, 以期达到最大疗效和最小副作用<sup>[75-76]</sup>。随着许多新型药物的开发, 用药物治疗癌症和代谢疾病的范围也在不断扩大。尽管有许多治疗方案的改进都增加了药物的疗效并降低了副作用, 药物的作用时间也会对疗效和副作用产生巨大的影响, 而这在临床应用中还未受到重视<sup>[75]</sup>。这可能是由于缺乏时钟因子在化学疗法中的基础机制的研究。顺铂及其二级和三级衍生物是最常用的抗癌药物<sup>[77]</sup>, 它们与 DNA 结合形成顺铂-DNA 加合物, 从而破坏细胞的 DNA 来杀死肿瘤细胞。在小鼠肝脏中, 顺铂-DNA 加合物的核苷酸切除修复活动表现出显著的节律性, 分别在 ZT10 和 ZT22 达到最高点和最低点<sup>[5]</sup>。这说明核苷酸切除修复活性的周期性振荡会影响顺铂的化疗效果, 在适当的时间给以顺铂将提高其治疗效果。细胞周期进程、DNA 修复能力以及细胞凋亡潜能等都会影响细胞对 DNA 损伤(基因毒性)诱导因子的反应。因此, 在设计相关时辰疗法方案时, 这些因素都应该被纳入

考虑范围, 而更多更深入的分子机制的研究也将有利于在小鼠中(最终应用于人类)设计有效的时辰治疗方案。

值得注意的是, 生物时钟与 DNA 损伤反应之间也存在一定的交互关系。上文介绍了生物时钟对 DNA 损伤反应的调控作用, 但也有研究发现, DNA 损伤能通过改变时钟基因和行为节律的相位而影响生物时钟。例如,  $\gamma$  射线和电离辐射引起的 DNA 损伤都会不同程度地重设生物时钟, 其中电离辐射介导的相位重置涉及 ATM/ATR 途径<sup>[7,78]</sup>。这些研究提示, DNA 损伤可能是生物时钟的一种授时因子, 外界环境中 DNA 损伤的诱因(如一些物理性或化学性的基因毒性刺激)可能引起生物时钟的节律改变。然而, DNA 损伤反馈影响生物时钟的相关机制还未得到系统的研究, 两者整合调控机制的阐明将丰富生物时钟的调控网络, 并为治疗相关疾病提供新的药物靶点和方案。另外, 除了在放射治疗或化学治疗的情况下, 生物体不太可能接受研究中所用的辐射剂量或药物剂量。因此, 探究生物体每天能接受的, 影响其时钟系统的最低而又呈时间依赖的基因毒性刺激剂量也将是一个有趣的研究方向。最后, 由于激活或抑制许多关键信号通路都有可能影响生物时钟的正常运作, 以上研究的生理相关性还有待确立。由此可见, 深入了解生物时钟与 DNA 损伤反应之间的交叉对话机制是开展相关疾病治疗的关键。

### [参 考 文 献]

- [1] Lepez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging. *Cell*, 2013, 153(6): 1194-217
- [2] Ciccio A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 179-204
- [3] Harper JW, Elledge SJ. The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell*, 2007, 28(5): 739-45
- [4] Kang TH, Reardon JT, Kemp M, et al. Circadian oscillation of nucleotide excision repair in mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(8): 2864-7
- [5] Kang TH, Lindsey-Boltz LA, Reardon JT, et al. Circadian control of XPA and excision repair of cisplatin-DNA damage by cryptochrome and HERC2 ubiquitin ligase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(11): 4890-5
- [6] Gery S, Komatsu N, Baldijan L, et al. 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
- [7] Fu LN, Pelicano H, Liu JS, et al. The circadian gene *period2* plays an important role in tumor suppression and DNA-damage response *in vivo*. *Cell*, 2002, 111(7): 41-50

- [8] Ozturk N, Lee JH, Gaddameedhi S, et al. Loss of cryptochrome reduces cancer risk in p53 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(8): 2841-6
- [9] Lee JH, Sancar A. Circadian clock disruption improves the efficacy of chemotherapy through p73-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(26): 10668-72
- [10] Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 2002, 418(6901): 935-41
- [11] Lowrey PL, Takahashi JS. Genetics of circadian rhythms in mammalian model organisms. *Adv Genet*, 2011, 74: 175-230
- [12] Yoo SH, Ko CH, Lowrey PL et al. A noncanonical E-box enhancer drives mouse *Period2* circadian oscillations *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(7): 2608-13
- [13] Bungler MK, Wilsbacher LD, Moran SM, et al. *Mop3* is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 2000, 103(7): 1009-17
- [14] Kume K, Zylka MJ, Sriram S, et al. *mCRY1* and *mCRY2* are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell*, 1999, 98(2): 193-205
- [15] van der Horst GT, Muijtjens M, Kobayashi K, et al. Mammalian *Cry1* and *Cry2* are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature*, 1999, 398(6728): 627-30
- [16] Zheng BH, Albrecht U, Kaasik K, et al. Nonredundant roles of the *mPer1* and *mPer2* genes in the mammalian circadian clock. *Cell*, 2001, 105(5): 683-94
- [17] Mehra A, Baker CL, Loros JJ, et al. Post-translational modifications in circadian rhythms. *Trends Biochem Sci*, 2009, 34(10): 483-90
- [18] Duguay D, Cermakian N. The crosstalk between physiology and circadian clock proteins. *Chronobiol Int*, 2009, 26(8): 1479-513
- [19] Asher G, Schibler U. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals. *Cell Metab*, 2011, 13(2): 125-37
- [20] Cho H, Zhao X, Hatori M, et al. Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB- $\alpha$  and REV-ERB- $\beta$ . *Nature*, 2012, 485(7396): 123-7
- [21] Preitner N, Damiola F, Molina LL, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERB  $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 2002, 110(2): 251-60
- [22] Akashi M, Takumi T. The orphan nuclear receptor ROR  $\alpha$  regulates circadian transcription of the mammalian core-clock *Bmal1*. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, 12(5): 441-8
- [23] Ueda HR, Chen WB, Adachi A, et al. A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature*, 2002, 418(6897): 534-9
- [24] Liu C, Li SM, Liu TH, et al. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature*, 2007, 447(7143): 477-81
- [25] Koike N, Yoo SH, Huang HC, et al. Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science*, 2012, 338(6105): 349-54
- [26] Ripperger JR, 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
- [27] Gachon F. Physiological function of PARbZip circadian clock-controlled transcription factors. *Ann Med*, 2007, 39(8): 562-71
- [28] Gachon F, Olela FF, Schaad O, et al. The circadian PAR-domain basic leucine zipper transcription factors DBP, TEF, and HLF modulate basal and inducible xenobiotic detoxification. *Cell Metab*, 2006, 4(1): 25-36
- [29] Antoch MP, Kondratov RV. Circadian proteins and genotoxic stress response. *Circ Res*, 2010, 106(1): 68-78
- [30] Rutter J, Reick M, McKnight SL. Metabolism and the control of circadian rhythms. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 307-31
- [31] Sack RL, Auckley D, Auger RR, et al. Circadian rhythm sleep disorders: Part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm. *Sleep*, 2007, 30(11): 1484-501
- [32] Collis SJ, Boulton SJ. Emerging links between the biological clock and the DNA damage response. *Chromosoma*, 2007, 116(4): 331-9
- [33] Kondratov RV, Antoch MP. Circadian proteins in the regulation of cell cycle and genotoxic stress responses. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(7): 311-7
- [34] McClung CA. Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders. *Pharmacol Ther*, 2007, 114(2): 222-32
- [35] Gimble JM, Sutton GM, Ptitsyn AA, et al. Circadian rhythms in adipose tissue: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011, 14(6): 554-61
- [36] Paschos GK, FitzGerald GA. Circadian clocks and vascular function. *Circ Res*, 2010, 106(5): 833-41
- [37] Salhab M, Mokbel K. Breast cancer risk in flight attendants: an update. *Int J Fertil Womens Med*, 2006, 51(5): 205-7
- [38] Szosland D. Shift work and metabolic syndrome, diabetes mellitus and ischaemic heart disease. *Int J Occupat Med Env Health*, 2010, 23(3): 287-91
- [39] Wang XS, Armstrong ME, Cairns BJ, et al. Shift work and chronic disease: the epidemiological evidence. Author reply. *Occupat Med: Oxford*, 2011, 61(6): 444
- [40] Gaddameedhi S, Selby CP, Kaufmann WK, et al. Control of skin cancer by the circadian rhythm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(46): 18790-5
- [41] Kang TH, Reardon JT, Sancar A. Regulation of nucleotide excision repair activity by transcriptional and post-transcriptional control of the XPA protein. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(8): 3176-87
- [42] Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73: 39-85
- [43] Sancar A. DNA excision repair. *Annu Rev Biochem*, 1996, 65: 43-81
- [44] Huang JC, Svoboda DL, Reardon JT, et al. Human nucleotide excision nuclease removes thymine dimers from DNA by incising the 22nd phosphodiester bond 5' and the 6th phosphodiester bond 3' to the photodimer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(8): 3664-8

- [45] Marchenay C, Cellarier E, Levi F, et al. Circadian variation in O-6-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity in circulating blood mononuclear cells of healthy human subjects. *In J Cancer*, 2001, 91(1): 60-6
- [46] Kim J, Matsunaga N, Koyanagi S, et al. Clock gene mutation modulates the cellular sensitivity to genotoxic stress through altering the expression of N-methylpurine DNA glycosylase gene. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(8): 1075-82
- [47] Modrich P. Mechanisms in eukaryotic mismatch repair. *J Biol Chem*, 2006, 281(41): 30305-9
- [48] Geyfman M, Kumar V, Liu Q, et al. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1) controls circadian cell proliferation and susceptibility to UVB-induced DNA damage in the epidermis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(29): 11758-63
- [49] Miyamoto Y, Sancar A. Circadian regulation of cryptochrome genes in the mouse. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 71(2): 238-43
- [50] Busino L, Bassermann F, Maiolica A, et al. SCFFbx13 controls the oscillation of the circadian clock by directing the degradation of cryptochrome proteins. *Science*, 2007, 316(5826): 900-4
- [51] Siepka SM, Yoo SH, Park J, et al. Circadian mutant over-time reveals F-box protein FBXL3 regulation of cryptochrome and period gene expression. *Cell*, 2007, 129(5): 1011-23
- [52] Shirogane T, Jin JP, Ang XL, et al. SCF $\beta$ -TRCP controls Clock-dependent transcription via casein kinase 1-dependent degradation of the mammalian Period-1 (Per1) protein. *J Biol Chem*, 2005, 280(29): 26863-72
- [53] Cardone L, Hirayama J, Giordano F, et al. Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. *Science*, 2005, 309(5739): 1390-4
- [54] Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Kang TH, et al. Circadian clock control of the cellular response to DNA damage. *FEBS Lett*, 2010, 584(12): 2618-25
- [55] Grechez-Cassiau A, Rayet B, Guillaumond F, et al. The circadian clock component BMAL1 is a critical regulator of p21(WAF1/CIP1) expression and hepatocyte proliferation. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 4535-42
- [56] Laranjeiro R, Tamai TK, Peyric E, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor p20 controls circadian cell-cycle timing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(17): 6835-40
- [57] Kowalska E, Ripperger JA, Hoegger DC, et al. NONO couples the circadian clock to the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(5): 1592-9
- [58] Matsuo T, Yamaguchi S, Mitsui S, et al. Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division *in vivo*. *Science*, 2003, 302(5643): 255-9
- [59] Gauger MA, Sancar A. Cryptochrome, circadian cycle, cell cycle checkpoints, and cancer. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6828-34
- [60] Brown SA, Ripperger J, Kadener S, et al. PERIOD1-associated proteins modulate the negative limb of the mammalian circadian oscillator. *Science*, 2005, 308(5722): 693-6
- [61] Li SY, Li ZT, Shu FJ, et al. Double-strand break repair deficiency in NONO knockout murine embryonic fibroblasts and compensation by spontaneous upregulation of the PSPC1 paralog. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(15): 9771-80
- [62] Unsal-Kacmaz K, Mullen TE, Kaufmann WK, et al. Coupling of human circadian and cell cycles by the timeless protein. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(8): 3109-16
- [63] Yang XM, Wood PA, Hrushesky WJ. Mammalian TIMELESS is required for ATM-dependent CHK2 activation and G<sub>2</sub>/M checkpoint control. *J Biol Chem*, 2010, 285(5): 3030-4
- [64] Xiao J, Li CG, Zhu NL, et al. Timeless in lung morphogenesis. *Dev Dyn*, 2003, 228(1): 82-94
- [65] Unsal-Kacmaz K, Chastain PD, Qu PP, et al. The human Tim/Tipin complex coordinates an intra-S checkpoint response to UV that slows replication fork displacement. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(8): 3131-42
- [66] Im JS, Jung BH, Kim SE, et al. *Per3*, a circadian gene, is required for Chk2 activation in human cells. *FEBS Lett*, 2010, 584(23): 4731-4
- [67] Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, et al. Mechanisms of disease cell death. *New England J Med*, 2009, 361(16): 1570-83
- [68] Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Gaddameedhi S, et al. Circadian clock, cancer, and chemotherapy. *Biochemistry*, 2015, 54(2): 110-23
- [69] Stiewe T. The p53 family in differentiation and tumorigenesis. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(3): 165-8
- [70] Yu J, Baron V, Mercola D, et al. A network of p73, p53 and Egr1 is required for efficient apoptosis in tumor cells. *Cell Death Differ*, 2007, 14(3): 436-46
- [71] Lee JH, Gaddameedhi S, Ozturk N, et al. DNA damage-specific control of cell death by cryptochrome in p53-mutant Ras-transformed cells. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 785-91
- [72] Bouwman P, Jonkers J. The effects of deregulated DNA damage signalling on cancer chemotherapy response and resistance. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(9): 587-98
- [73] Al-Aubaidy HA, Jelinek HF. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 2011, 164(6): 899-904
- [74] Shimizu I, Yoshida Y, Suda M, et al. DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metab*, 2014, 20(6): 967-77
- [75] Levi F, Schibler U. Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47: 593-628
- [76] Kobayashi M, Wood PA, Hrushesky WJ. Circadian chemotherapy for gynecological and genitourinary cancers. *Chronobiol Int*, 2002, 19(1): 237-51
- [77] Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(8): 573-84
- [78] Oklejewicz M, Destici E, Tamanini F, et al. Phase resetting of the mammalian circadian clock by DNA damage. *Curr Biol*, 2008, 18(4): 286-91