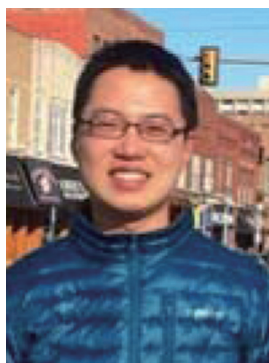


DOI: 10.13376/j.cbls/2015195

文章编号: 1004-0374(2015)11-1409-09



刘畅, 南京师范大学生命科学学院副院长, 分子细胞生物学研究所教授、博导。刘畅教授长期从事生物时钟和能量代谢整合机制的研究, 近五年来以独立通讯作者身份在 *Hepatology*、*Diabetes*、*J Pathology* 等国际著名学术刊物上发表 SCI 论文 24 篇。先后入选中组部青年拔尖人才计划(万人计划)、教育部新世纪优秀人才计划等人才项目, 得到国家自然科学基金委优秀青年科学基金、江苏省杰出青年基金等科研基金的资助, 获得第九届江苏省优秀科技工作者、江苏省十大青年科技之星、“江苏省五四青年奖章”提名奖等荣誉称号。

## 代谢生物钟研究进展

陈思禹, 钱近春, 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:** 生物时钟大致以 24 h 为一个周期, 参与调节一系列代谢和生理功能。流行病学和遗传学的相关证据显示, 生物时钟的紊乱直接导致许多病理状况, 包括睡眠失调、抑郁、代谢综合征和癌症。在分子水平上, 生物时钟系统的组成元件与细胞代谢的调控因子之间存在功能性的相互作用: 一方面, 生物时钟可以调控多种代谢途径; 另一方面, 代谢物的供给和进食行为也可以反过来作用于生物时钟。进一步理解生物时钟节律和细胞代谢的相互调节作用, 将为代谢性疾病的干预治疗提供新的理论基础。

**关键词:** 生物时钟; 能量代谢; 整合

中图分类号: Q41 文献标志码: A

## The molecular mechanism for the integration of circadian clock and energy metabolism

CHEN Si-Yu, QIAN Jin-Chun, LIU Chang\*

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

**Abstract:** Circadian rhythms occur with a periodicity of approximately 24 h and regulate a wide array of metabolic and physiologic functions. Accumulating epidemiological and genetic evidence indicates that disruption of circadian rhythms can be directly linked to many pathological conditions, including sleep disorders, depression, metabolic syndrome and cancer. Intriguingly, several molecular gears constituting the clock machinery have been found to establish functional interplays with regulators of cellular metabolism. Although the circadian clock regulates multiple metabolic pathways, metabolite availability and feeding behavior can in turn regulate the circadian clock. An in-depth understanding of this reciprocal regulation of circadian rhythms and cellular metabolism may provide insights into the development of therapeutic interventions against specific metabolic disorders.

**Key words:** circadian clock; energy metabolism; integration

收稿日期: 2015-07-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2012CB947600)

\*通信作者: E-mail: changliu@njnu.edu.cn

## 1 生物时钟与细胞代谢过程的控制

地球的自转导致了昼夜交替，对我们的生理和行为产生了深远的影响。生物时钟（来自拉丁语 *circa diem*，意为“大约一天”）可使生物体预见环境的改变，从而调整它们的行为和生理机能（比如摄食和捕食行为）来适应每天的环境变化。已知许多代谢过程，如糖代谢、胆固醇代谢以及肾脏功能都受控于生物时钟，近些年发现生物时钟的紊乱会导致严重的疾病<sup>[1]</sup>。小鼠钟基因的突变会引起代谢综合征和肥胖的发生，这些基因常合成一些转录因子来维持生物时钟节律的持续性和周期性<sup>[2-3]</sup>。流行病学研究发现，代谢综合征与倒班工作之间存在联系<sup>[4-5]</sup>。受试者在夜间饮食或活动，会导致行为与生物时钟周期不相适应，此时瘦素的表达下降，而葡萄糖和胰岛素的水平增加<sup>[6]</sup>。此外，在静息的时候进食<sup>[7]</sup>或在夜晚接受光照会使小鼠体重增加。总体而言，生物时钟调控众多的代谢途径，而代谢物和进食行为也可以反过来调控生物时钟<sup>[8]</sup>。本综述，将讨论时钟和代谢的相互作用是如何调节的，以及在生物时钟紊乱的情况下会产生何种生理代谢

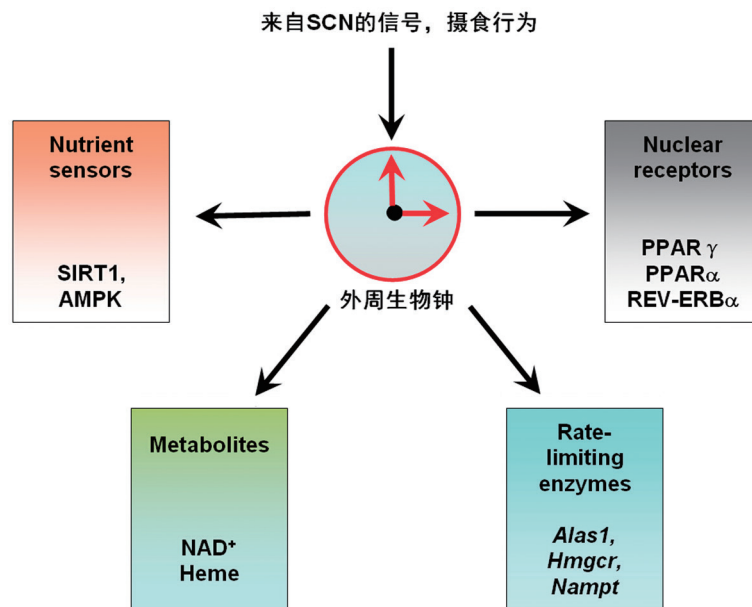
的结果。

### 1.1 生物时钟如何掌控生理代谢

为了确保机体对代谢途径的精确调控，很多代谢相关的关键步骤和分子都受控于生物时钟系统（图1）。这种调控通过以下方式实现：调节代谢途径中重要限速酶的表达；整合核受体和营养信号蛋白；调节代谢物等。

首先讨论第一种方式，即自然界以生物时钟的方式来控制代谢途径中的限速步骤<sup>[9]</sup>，如胆固醇生物合成的限速酶——HMG-CoA还原酶(HMGCR)的激活呈现节律性<sup>[10]</sup>，在夜晚达到最高值<sup>[11]</sup>。因此，降胆固醇的药物，如通过抑制HMGCR来达到作用的他汀类药物，在睡前服用最为有效。

另一个例子是生物时钟可以通过调节NAD<sup>+</sup>补救途径中的一个限速酶——烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)的表达来调控整个代谢途径<sup>[12-13]</sup>，这种酶的节律性表达驱使NAD<sup>+</sup>水平呈现振荡性。NAMPT的振荡性表达在钟基因*Clock*突变小鼠中完全丧失，从这种小鼠分离得到的胚胎成纤维细胞(MEFs)中NAD<sup>+</sup>的表达水平急剧减少。相似地，生物时钟通过调节亚铁血红素合成的限速酶氨基酮



外周组织，如肝脏的生物时钟，受到视交叉上核神经元(SCN)中核心生物时钟以及食物信号的调节，同时又能够通过各种途径调控代谢通路，包括调节代谢限速步骤、控制代谢物的量与营养感受器的相互作用以及修饰核受体等等，如限速酶HMGCR、NAMPT和ALAS1的活性或表达都呈现出节律性，因此，便实现了生物时钟对胆固醇合成、NAD<sup>+</sup>合成以及血红素合成三种代谢途径的调控。一些代谢物，如cAMP、heme以及NAD<sup>+</sup>等皆是生物时钟的输出产物，而又可作为输入信号影响生物时钟或代谢途径。另一方面，SIRT1和AMPK是机体能量代谢的传感器，在多种组织中其活性都具有生物节律，且分别因细胞中NAD<sup>+</sup>/NADH和AMP/ATP比率的上升而启动，参与下游靶蛋白的去乙酰化或磷酸化过程。一些核受体如PPAR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 和REV-ERB $\alpha$ 受到核心时钟元件CLOCK/BMAL1或PER的调控，同时又参与调控脂质代谢等。

图1 生物时钟调节能量代谢

戊酸合成酶 (ALAS1), 来调控细胞中的亚铁血红素水平<sup>[14]</sup>。

第二种方式是通过核受体调节。核受体组成了能被配体激活的转录因子超家族, 它们能够调节多种生命活动, 包括生长、发育、内分泌、增殖和能量代谢<sup>[15]</sup>。一些核受体直接受钟基因表达产物 CLOCK 和 BMAL1 的调控, 这些核受体包括视黄酸相关的孤儿受体  $\alpha$  (ROR $\alpha$ ) 和 REV-ERB $\alpha$ , 以及过氧化物酶体增殖物活化受体  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ )<sup>[16]</sup>。PPAR $\alpha$  能够作为多不饱和脂肪酸的受体, 调节脂肪酸的氧化和载脂蛋白的合成, 也可作为药物如 fenofibrates 的作用靶点<sup>[15]</sup>。有趣的是, CLOCK 和 BMAL1 能够结合到 *ppara* 启动子的 E-box 上, 直接调节 PPAR $\alpha$  的表达; 同时, PPAR $\alpha$  也能够结合到 *bmal1* 启动子的 PPAR $\alpha$  反应元件 (PPRE) 上, 调控 BMAL1 的表达<sup>[17]</sup>。这表明, 核受体、代谢和生物钟之间存在紧密的联系。为了验证这种假设, 有人将不同代谢组织中的 45 个核受体做了瞬时 mRNA 表达分析<sup>[18]</sup>, 结果发现其中有 25 个核受体的表达显示出组织特异性的生物节律, 这可以解释日常糖脂代谢为何会出现振荡现象。

最近的研究发现, 周期蛋白 (PER1~3) 能够与一些核受体相互结合, 建立起生物钟调节核受体功能的另一种模式<sup>[19-22]</sup>。PER 蛋白直接受 CLOCK 和 BMAL1 的调节, 又能通过抑制 CLOCK-BMAL1 异源二聚体的表达, 来抑制其自身的表达。PER2 可以与许多核受体结合, 如 PPAR $\gamma$ <sup>[20]</sup>、ER $\alpha$ <sup>[22]</sup>、PPAR $\alpha$ 、REV-ERB $\alpha$ 、HNF4 $\alpha$ 、TR $\alpha$ 、NURR1 和 ROR $\alpha$ <sup>[19]</sup>。PER3 也可以和 PPAR $\gamma$  结合<sup>[21]</sup>。PER 家族与核受体的结合会导致两种结果: 一是核心生物钟基因表达的调控, 如 PER2 能和 PPAR $\alpha$  与 REV-ERB $\alpha$  协调作用, 调节 BMAL1 的表达; 二是核受体的活力和稳定性受到时钟调控, 进而调节一些代谢通路, 如 PER2 能够抑制 PPAR $\gamma$  被招募到其靶基因的启动子上, 这种情况主要出现在白色脂肪组织 (WAT) 中<sup>[20]</sup>。当 WAT 中缺失 PER2 时, 一些 PPAR $\gamma$  靶基因的表达抑制被解除, 同时褐色脂肪组织 (BAT) 的特异性基因开始表达。

PER2 与 REV-ERB $\alpha$  以及其他核受体之间的相互作用对于肝脏糖代谢尤为重要<sup>[19]</sup>。在 *Rev-erba*<sup>-/-</sup>/*Per2*<sup>Brdm1</sup> 突变小鼠中, 糖原降解途径的关键酶——葡萄糖-6-磷酸酶的振荡变得迟缓, 导致肝脏糖元水平的节律性变弱或丧失。PER3 也可以与一些核受体结合调控代谢, 如 PER3 通过结合到 PPAR $\gamma$  的

靶位点来抑制其表达, 从而阻碍脂肪生成<sup>[21]</sup>。因此, *Per3*<sup>-/-</sup> 小鼠的脂肪组织增加, 而肌肉组织减少。

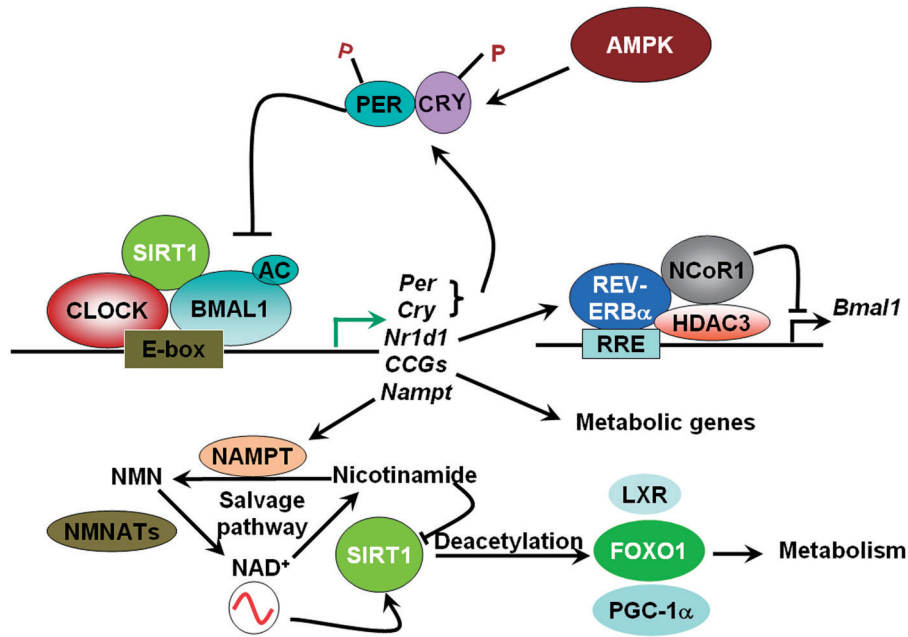
如上所述, PER 蛋白与各种核受体的相互作用不仅影响了众多的代谢途径, 还调控着核心生物钟基因的表达 (如 BMAL1)。这些现象进一步支持了生物钟可以从多种水平调节代谢的观点, 因此, 打乱生物钟的节律或会引发代谢病征。

第三种调控方式是通过营养感受器调控。对于生物钟能充分调控细胞代谢这一现象, 在细胞内势必有一种生物钟体系决定着能量状况。这种需求的实现依赖于营养信号感受器 SIRT1、AMPK 和生物钟系统的互相协作 (图 2)。

对于 SIRT1 在代谢中所扮演的角色已经有很充分的研究<sup>[23]</sup>。SIRT1 是一种去乙酰化酶, 它的激活依赖于 NAD<sup>+</sup><sup>[24]</sup>。另一方面, NAD<sup>+</sup>/NADH 的比率是反应细胞能量水平的直接指标, 因此, SIRT1 以 NAD<sup>+</sup> 条件依赖性的方式把细胞能量代谢和目的蛋白的去乙酰化直接联系起来。最近的研究证实, SIRT1 是生物钟系统的重要调控者<sup>[25-26]</sup>, 并且 NAD<sup>+</sup> 表达的振荡性决定了 SIRT1 激活的节律性<sup>[12]</sup>。SIRT1 通过组蛋白 (组蛋白 H3 Lys9 和 Lys14 处于振荡基因的启动子上) 和非组蛋白 (BMAL1 和 PER2) 的去乙酰化来调节生物钟。CLOCK-BMAL1 复合物与 SIRT1 相互作用, 将其招募到振荡基因的启动子上。重要的是, 生物钟基因的表达和 BMAL1 的乙酰化在肝脏特异性 SIRT1 突变小鼠中显著减弱<sup>[25]</sup>。虽然, BMAL1 的乙酰化充当了招募 CRY 的信号<sup>[27]</sup>, 但 PER2 乙酰化增加了它的稳定性<sup>[26]</sup>。基于以上研究, SIRT1 似乎是生物钟系统中的变阻器, 掌控着 CLOCK 介导的基因乙酰化的幅度和“紧密性”, 以及后续代谢组织中的转录循环<sup>[25]</sup>。

SIRT1 同样可以通过去乙酰化来调控代谢蛋白, 如 SIRT1 使 PGC-1 $\alpha$  和 FOXO1 去乙酰化<sup>[28]</sup>, 导致这两个蛋白活化, 随后 FOXO1 可以直接调节各种糖异生基因<sup>[29]</sup>, 而 PGC-1 $\alpha$  通过共激活糖皮质激素受体和 HNF-4 $\alpha$  诱导糖异生基因的表达<sup>[30]</sup>。SIRT1 还可以通过去乙酰化并激活 LXR 来调节胆固醇代谢<sup>[31]</sup>。LXR 诱导 ABCA1 的表达, 后者介导了胆固醇从外周组织到血液的流动。

AMPK 是细胞能量状态的感受器。当细胞能量状态低时, 换言之, 当 AMP/ATP 比值高时, AMPK 被激活, 此时产生 ATP 的异化进程开启, 消耗 ATP 的进程关闭。在小鼠的肝脏、下丘脑以及 MEFs 中, AMPK 的活性是有节律的<sup>[32-33]</sup>。AMPK 可以通过磷



CLOCK 和BMAL1结合到靶基因启动子中的E-box元件上, 调节它们的节律性表达, 这些基因包括核心时钟基因, 如PER、CRY、REV-ERB $\alpha$ 以及钟控基因(clock-controlled genes, CCGs)。一些CCGs是代谢通路的调控者(如PEPCK、GLUT2、HMGCR), 另一些则影响细胞中代谢物的水平(如NAMPT、ALAS1)。NAMPT是NAD<sup>+</sup>补救合成途径的限速酶, 其节律性表达驱动着细胞中NAD<sup>+</sup>水平的振荡, 而NAD<sup>+</sup>水平的振荡又决定着SIRT1活性的节律。营养信号感受器AMPK和SIRT1以节律性的方式被调控, 而它们自身可以对关键调控子进行翻译后修饰, 从而调控时钟振荡和能量代谢, 如SIRT1可使一些参与代谢途径的蛋白(如LXR、FOXO1、PGC-1 $\alpha$ )去乙酰化, 从而调控如胆固醇代谢和糖异生等代谢途径。

图2 生物时钟和能量代谢之间的相互作用

酸化CRY1<sup>[32]</sup>和CK1 $\epsilon$ <sup>[34]</sup>来调节生物时钟。CK1 $\epsilon$ 在调控昼夜节律中起着重要的作用, 它能磷酸化PER蛋白, 并控制其降解速率<sup>[35-36]</sup>。CRY1被AMPK磷酸化后, 将成为SCF泛素连接酶F-box和FBXL3的靶标, 从而被泛素化并降解<sup>[32]</sup>。此外, CK1 $\epsilon$ 被AMPK激活后, 会导致PER2的降解<sup>[34]</sup>。在葡萄糖剥夺和低能量的状态下, AMPK的活化改变了MEFs中时钟基因的表达。另外, 小鼠AMPK亚型的缺失会导致生物时钟基因的表达发生组织特异性的变化<sup>[33]</sup>。最后, AMPK的活化导致NAD<sup>+</sup>水平的增加<sup>[37]</sup>, 因此, AMPK还可以通过活化SIRT1间接地调节时钟基因的表达。

生物时钟还可调控代谢物的水平。Minami等<sup>[38]</sup>研究表明, 数百种代谢物的含量水平在小鼠胞质中表现出昼夜振荡, 包括磷脂、氨基酸和尿素循环的中间产物。事实上, 这些代谢物的丰度受生物时钟精确控制。同时, 这些代谢物的振荡性独立于小鼠的年龄、性别或遗传背景<sup>[38]</sup>。

有趣的是, 一些呈现振荡性的代谢物, 原本是生物时钟的输出信号, 却可作为后续时钟循环的输入信号, 如cAMP和NAD<sup>+</sup>兼为生物时钟的输出信

号和调节因子<sup>[12-13,39]</sup>。cAMP作为第二信使, 在一些组织, 如肝脏和肌肉中充当饥饿信号, 能被胰高血糖素激活, 从而促进糖原分解<sup>[40]</sup>。而且, cAMP的水平在SCN以及MEFs中也具有振荡性<sup>[39]</sup>。通过药理学方法改变cAMP的浓度, 会导致时钟基因的转录发生振幅、相位和周期的变化。

在MEFs和肝脏中, *nampt*的节律性表达可以促使NAD<sup>+</sup>的水平产生振荡<sup>[12-13]</sup>。施以FK866(NAMPT的特异性抑制剂), 会改变时钟基因表达的相位和振幅。NAD<sup>+</sup>水解酶CD38缺乏的小鼠出现行为和代谢的节律缺陷, 同时, 许多组织中NAD<sup>+</sup>的水平升高<sup>[41-42]</sup>。CD38敲除小鼠的自发活动周期缩短, 休息-活动节律性以及氨基酸水平的节律性都发生改变<sup>[41]</sup>。

## 1.2 通过能量代谢调节生物时钟的功能

小鼠在12 h光照/12 h黑暗的环境中, 其摄食行为具有明显的昼夜节律性。几乎80%的食物消耗于小鼠活跃的夜间。最近的研究表明, 摄食时间或食物成分的改变显著影响时钟的功能。如果仅在白天给予小鼠食物(限制性喂食), 可以使其外周生物时钟基因与中枢生物时钟基因表达的相位发生

解偶联<sup>[8]</sup>。白天喂食完全翻转了肝脏生物时钟(外周时钟)基因表达的相位,而相同基因在SCN(中枢时钟)中的振荡相位保持不变。由此证实,食物对外周时钟而言是一种强效的授时因子<sup>[8]</sup>。有趣的是,*Cry1<sup>-/-</sup>/Cry2<sup>-/-</sup>*小鼠丧失了基本的生物节律。然而,在特定的时间给予它们食物,可以恢复其肝脏中某些基因表达的节律性<sup>[43]</sup>。此外,对果蝇进行白天限制性喂食,会导致其脂肪体(相当于哺乳动物的肝脏)时钟和大脑时钟的不同步,并影响其生殖健康<sup>[44]</sup>。

轮班工作,伴随着夜晚灯光的照射,会导致代谢综合征和心血管疾病的发生<sup>[4-5]</sup>。最近的一项研究表明,夜间暴露在灯光下的老鼠体重增加更为迅猛,葡萄糖耐受力减弱,白天进食量更大。此外,如果食物仅在暗周期投放,小鼠体重的增加将被阻止。在另一项研究中,小鼠都用高脂饲料喂养,那些仅在白天给食的小鼠与仅在黑夜给予同量食物的小鼠相比,体重增加更多,这个发现充分说明了食物摄取时间的重要性<sup>[7]</sup>。同时,一个有趣的问题伴随而来:仅在活跃期(对人而言为白天)摄入食物,是否是控制体重的一种有效方式,因为人类在没有人造光的情况下已进化数千年,仅当自然光是唯一的光源时,人类的中枢时钟才能运作得最好,所以在白天限制性摄入食物来帮助控制体重是可能的。

除了摄食时间,食物的品质也可影响生物时钟。给予高脂饲料的小鼠,其生物节律发生改变,自发活动周期延长<sup>[45]</sup>,它们在光周期中的食物摄取比例更高。而且,这些小鼠的核心时钟基因和CCGs的表达也发生了改变<sup>[45]</sup>。这些研究有力地证明了代谢也可以控制外周生物时钟。

## 2 生物时钟元件在维持代谢稳态中所起的作用

如前所述,生物时钟系统对于维持代谢稳态至关重要,因此,生物时钟组分和钟控基因的缺失/突变将导致许多代谢疾病。

### 2.1 CLOCK和BMAL1

*Clock*基因敲除小鼠在持续黑暗的环境中会表现出代谢异常,包括食欲过盛和肥胖,进而发展成高血糖、血脂异常和脂肪肝<sup>[2]</sup>。在这些小鼠中,神经肽*orexin*和*ghrelin*的mRNA表达水平下降,而它们参与了食物吸收的神经内分泌调节<sup>[46-47]</sup>。此外,这些小鼠的肾脏钠盐重吸收变弱,动脉血管压降低<sup>[48]</sup>。

*Bmal1*缺失小鼠的心律失常<sup>[49]</sup>,同时葡萄糖和

甘油三酯水平的节律性破坏<sup>[50]</sup>。在肝脏特异性*Bmal1*基因敲除小鼠中,关键代谢基因(如GLUT2)丧失表达节律,导致这些小鼠在饥饿时发生低血糖<sup>[51]</sup>。而在胰岛中敲除*Bmal1*,小鼠会患糖尿病<sup>[3,52]</sup>,伴随着血糖升高、葡萄糖耐受力受损以及胰岛素分泌量减少。不仅如此,若小鼠肌肉特异性缺失*Bmal1*,其对于胰岛素刺激的葡萄糖摄取过程会明显减弱<sup>[53]</sup>。更有意思的是,在全身性*Bmal1*敲除的情况下,恢复骨骼肌中BMAL1的表达可以部分抑制机体活动和体重的减少<sup>[54]</sup>。BMAL1另一个重要的代谢功能是调控脂肪生成。*Bmal1*的mRNA水平在脂肪分化的过程中很高<sup>[55]</sup>,*Bmal1<sup>-/-</sup>*的MEFs不能分化成脂肪细胞。

在机体脂质稳态的调控中,CLOCK和BMAL1也扮演着重要的角色。机体通过调节CLOCK和BMAL1,进而驱动脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)和激素敏感脂肪酶(HSL)的节律性表达<sup>[56]</sup>。而当*Bmal1*基因缺失或*Clock*基因突变时,血清游离脂肪酸水平的节律性发生紊乱,脂质分解速率下降,最终导致肥胖发生<sup>[2,56-58]</sup>。在脂肪组织特异性敲除*Bmal1*小鼠体内,多不饱和脂肪酸的释放量也会发生改变,最终会影响脂肪组织-下丘脑的交叉对话<sup>[58]</sup>。

### 2.2 REV-ERB $\alpha$ / $\beta$

REV-ERB $\alpha$ 最初被认为是一个调控脂代谢的核受体<sup>[59]</sup>。另外,REV-ERB $\alpha$ 可以调控BMAL1的表达,而BMAL1对维持时钟振荡的稳健性又是至关重要<sup>[60]</sup>,因此,REV-ERB $\alpha$ 在生物时钟和能量代谢之间建立了非常重要的联系。*Rev-erba<sup>-/-</sup>*的小鼠仍具有节律性,但是它们的自主活动周期发生改变(在持续光照或者持续黑暗环境下周期缩短)。

PPAR $\gamma$ 是一个在脂代谢和脂肪细胞分化中起重要作用的调控因子,而REV-ERB $\alpha$ 是其下游靶基因<sup>[56]</sup>。REV-ERB $\alpha$ 的调控功能被核受体共抑制因子NcoR1所控制,NcoR1通过招募组蛋白去乙酰化酶HDAC3来介导靶基因(如*Bmal1*)的转录抑制。当小鼠NcoR1-HDAC3的相互作用被破坏,时钟和代谢的缺陷就会显现<sup>[61]</sup>,表现为生物周期缩短、能量消耗增强,并且不会发生饮食诱导的肥胖。此外,肝脏中脂代谢相关基因的表达周期发生改变<sup>[61]</sup>。HDAC3招募到基因组是有节律性的(白天招募得多,晚上招募得少)<sup>[62]</sup>。在这些HDAC3的结合位点上,REV-ERB $\alpha$ 和NcoR1的招募与HDAC3的招募同步,而组蛋白乙酰化以及RNA聚合酶II的招

募则步调相反。有趣的是, 肝脏中脂代谢的相关基因也是 HDAC3 和 REV-ERB $\alpha$  的主要靶点。HDAC3 或 REV-ERB $\alpha$  的敲除都会引发脂肪肝表型, 包括肝脏脂质和甘油三酯的含量增加<sup>[62]</sup>。REV-ERB $\alpha$  还可通过转录因子 SREBP 调控胆固醇代谢的节律, 以及通过 CYP7A1 调控胆汁酸合成<sup>[63-64]</sup>。对全身性 *Rev-erba* 敲除小鼠的研究发现, 在某种程度上, REV-ERB $\alpha$  还可通过对 LPL 转录直接调控来控制骨骼肌的脂质利用过程<sup>[65]</sup>。REV-ERB $\alpha$  也能通过影响 LKB1-AMPK-SIRT1-PGC-1 $\alpha$  通路, 影响运动能力和氧化代谢进程<sup>[66]</sup>。此外, 损坏  $\beta$ - 细胞中的 REV-ERB $\alpha$  会显著降低葡萄糖刺激的胰岛素分泌, 而损坏  $\alpha$ - 细胞中的 REV-ERB $\alpha$  则会导致低葡萄糖刺激的胰高血糖素的分泌量减少<sup>[67-68]</sup>。

亚铁血红素 (heme) 可以作为 REV-ERB $\alpha$  的配体<sup>[69-70]</sup>。Heme 的结合可以提高 REV-ERB $\alpha$  的热稳定性, 并增强其与共抑制复合物的相互作用, 所以, 它是 REV-ERB $\alpha$  起抑制作用所必需的。已知生物时钟能够调节细胞内 heme 的水平。氨乙酰丙酸合成酶 (ALAS1) 是 heme 生物合成的限速酶, 其表达具有节律性, 而且是 NPAS2 (CLOCK 的同源物)-BMAL1 异二聚体的特异性靶基因。Heme 和 NPAS2 结合, 并抑制它的反式激活活性<sup>[71]</sup>。ALAS1 的表达也受到 PGC-1 $\alpha$  的调节<sup>[72]</sup>。Heme 在代谢中起着重要作用, 它是过氧化氢酶、氧化酶以及细胞色素酶 p450 的辅因子, 帮助氧化和药物代谢<sup>[73]</sup>。此外, heme 和 REV-ERB $\alpha$ 、BMAL1 一样可以促进脂肪细胞的分化<sup>[74]</sup>。因此, heme 被认为是介导生物时钟和能量代谢之间精确协调的重要因子, 将转录节律环路与酶促代谢通路联系起来。

在褐色脂肪组织 (BAT) 的耗能活动调控中, 时钟元件 REV-ERB $\alpha$  也扮演着重要的角色, 能对上述活动进行节律性调控<sup>[75-77]</sup>。REV-ERB $\alpha$  的表达在睡眠时期达到最高点, 直接抑制 BAT 产热重要调节因子 *Ucp1* 的转录<sup>[78]</sup>。全身性敲除 *Rev-erba* 基本上破坏了 BAT 活动及机体核心温度的节律, 暗示着生物时钟对褐色脂肪的调控是体温表现出节律性的一个重要驱动力。

### 2.3 PER和CRY

关键时钟基因组分 PER 家族深度参与机体能量代谢稳态的维持过程。有研究显示, 醛固酮能通过 PER1 调控肾脏上皮钠离子通道  $\alpha$  亚基的表达, 以调控血压的稳态<sup>[79]</sup>。此外, 全身性敲除 *Per2* 的动物模型显示, 在恢复摄食期间, PER2 能

通过增加 GYS2 的表达, 刺激糖原合成<sup>[80]</sup>。不仅如此, 该小鼠体内的葡萄糖还能更有效地刺激胰岛素的分泌<sup>[81]</sup>。另外, *Per2* 缺失小鼠的一氧化氮的产生量较低, 导致其内皮依赖的血管舒张反应损坏<sup>[82]</sup>。临床研究显示, PER2 基因座位的 SNPs 与饥饿时饱和脂肪酸水平相关, 并能调节循环的血脂调控因子 APOC-II 和 APOB-48<sup>[83]</sup>。对一小类人群的研究也表明, PER2 基因的多态性与空腹高血糖相关<sup>[78]</sup>。

另一方面, CRY 家族也同样能够调控机体代谢稳态。*Cry1/2* 双敲除小鼠由于肾上腺的盐皮质激素醛固酮生成关键酶 HSD3B6 持续性升高, 导致醛固酮合成增加, 因而患有高血压症<sup>[84]</sup>。此外, 敲除 *Cry1* 和 *Cry2* 还会增加肝脏糖异生基因表达以及葡萄糖的产量<sup>[85]</sup>。肝脏中 CRY1 的表达在暗周期向光周期转换时升高, 从而降低饥饿导致的糖异生基因的表达<sup>[85]</sup>。*Cry1/2* 的单独敲除或双敲除小鼠均表现出受损的葡萄糖耐受能力<sup>[86]</sup>。反之, 腺病毒介导的 CRY1 过表达能降低 *db/db* 小鼠空腹血糖值, 并改善其胰岛素敏感性。与之相一致的是, *Cry1* 突变的转基因小鼠则出现多饮、多尿、高血糖等糖尿病病症<sup>[85,87]</sup>。另外, 全基因组关联性研究发现, CRY2 的基因变体与血糖水平相关<sup>[88]</sup>。

### 2.4 PGC-1 $\alpha$ 和PGC-1 $\beta$

PGC-1 $\alpha$  是一个转录共激活因子, 在饥饿、运动、低温等刺激下被诱导表达, 在调控能量代谢中发挥着重要作用<sup>[89]</sup>。PGC-1 $\alpha$  能够调节氧化磷酸化、BAT 的适应性产热、活性氧解毒酶类的表达, 还可以通过与 PPAR $\alpha$  结合促进脂肪酸的氧化, 通过增强 HNF4 $\alpha$  和糖皮质激素受体的活性来刺激肝糖异生<sup>[30,89-90]</sup>。2007 年, Liu 等<sup>[91]</sup>发现, PGC-1 $\alpha$  在调节生物时钟中也发挥了重要作用。PGC-1 $\alpha$  在代谢器官 (如肝脏和骨骼肌) 中呈节律性表达; 同时, 它共激活 ROR $\alpha$  和 ROR $\gamma$ , 并刺激 BMAL1 和 REV-ERB $\alpha$  的表达。*Pgc-1a* 基因敲除小鼠的自发活动、体温以及代谢速率的节律性受损<sup>[91]</sup>, 这是由时钟及代谢相关基因的表达异常所引起的。PGC-1 $\beta$  是 PGC 家族的另一成员, 小鼠缺乏 PGC-1 $\beta$  时表现出暗周期活动减少<sup>[92]</sup>。PGC-1 $\beta$  自身也呈节律性表达<sup>[91]</sup>, 但是不知道它是否能直接调控核心时钟系统。

这些结果表明, PGC-1 $\alpha$  受控于生物时钟, 反过来它又可调控生物时钟。有趣的是, PGC-1 $\alpha$  可以被 SIRT1 去乙酰基化并激活<sup>[93]</sup>, 所以, PGC-1 $\alpha$  可能是连接生物时钟和能量代谢的重要调控因子。

### 3 结论

从酵母到人类, 生物时钟和能量代谢都存在着紧密的偶联关系<sup>[77]</sup>。生物时钟不仅为代谢通路提供了一个微调机制, 而且可以使得许多不相容的反应暂时隔离。时钟基因突变会引起糖脂代谢的异常, 还会影响肾脏的功能。目前越来越多的研究阐明了时钟基因对代谢通路特异性的调控作用, 也提供了一些新兴的药物靶点。已有研究证实, 药物可以通过调控生物时钟来治疗代谢紊乱疾病。此外, 临床治疗也越来越重视时间的作用, 因为同一种药物在不同的时间给药, 产生的药效和副作用都是不一样的。

#### [参 考 文 献]

- [1] Eckel-Mahan K, Sassone-Corsi P. Metabolism control by the circadian clock and *vice versa*. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(5): 462-7
- [2] Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian *Clock* mutant mice. *Science*, 2005, 308(5724): 1043-5
- [3] Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, et al. Disruption of the clock components *CLOCK* and *BMAL1* leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature*, 2010, 466(7306): 627-31
- [4] 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
- [5] De Bacquer D, Van Risseghem M, Clays E, et al. Rotating shift work and the metabolic syndrome: a prospective study. *Int J Epidemiol*, 2009, 38(3): 848-54
- [6] Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, et al. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(11): 4453-8
- [7] Arble DM, Bass J, Laposky AD, et al. Circadian timing of food intake contributes to weight gain. *Obesity: Silver Spring*, 2009, 17(11): 2100-2
- [8] Damiola F, Le Minh N, Preitner N, et al. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev*, 2000, 14(23): 2950-61
- [9] Panda S, Antoch MP, Miller BH, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, 2002, 109(3): 307-20
- [10] Demierre MF, Higgins PD, Gruber SB, et al. Statins and cancer prevention. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(12): 930-42
- [11] Brown MS, Goldstein JL, Dietschy JM. Active and inactive forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in the liver of the rat. Comparison with the rate of cholesterol synthesis in different physiological states. *J Biol Chem*, 1979, 254(12): 5144-9
- [12] Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, et al. Circadian control of the  $\text{NAD}^+$  salvage pathway by *CLOCK-SIRT1*. *Science*, 2009, 324(5927): 654-7
- [13] Ramsey KM, Yoshino J, Brace CS, et al. Circadian clock feedback cycle through *NAMPT*-mediated  $\text{NAD}^+$  biosynthesis. *Science*, 2009 324(5927): 651-4
- [14] Kaasik K, Lee CC. Reciprocal regulation of haem biosynthesis and the circadian clock in mammals. *Nature*, 2004, 430(6998): 467-71
- [15] Sonoda J, Pei L, Evans RM. Nuclear receptors: decoding metabolic disease. *FEBS Lett*, 2008, 582(1): 2-9
- [16] Oishi K, Shirai H, Ishida N. *CLOCK* is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor $\alpha$  (*PPAR $\alpha$* ) in mice. *Biochem J*, 2005, 386(Pt 3): 575-81
- [17] Canaple L, Rambaud J, Dkhissi-Benyahya O, et al. Reciprocal regulation of brain and muscle *Arnt*-like protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  defines a novel positive feedback loop in the rodent liver circadian clock. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(8): 1715-27
- [18] Yang X, Downes M, Yu RT, et al. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell*, 2006, 126(4): 801-10
- [19] Schmutz I, Ripperger JA, Baeriswyl-Aebischer S, et al. The mammalian clock component *PERIOD2* coordinates circadian output by interaction with nuclear receptors. *Genes Dev*, 2010, 24(4): 345-57
- [20] Grimaldi B, Bellet MM, Katada S, et al. *PER2* controls lipid metabolism by direct regulation of *PPAR $\gamma$* . *Cell Metab*, 2010, 12(5): 509-20
- [21] Costa MJ, So AY, Kaasik K, et al. Circadian rhythm gene period 3 is an inhibitor of the adipocyte cell fate. *J Biol Chem*, 2011, 286(11): 9063-70
- [22] Gery S, Virk RK, Chumakov K, et al. The clock gene *Per2* links the circadian system to the estrogen receptor. *Oncogene*, 2007, 26(57): 7916-20
- [23] Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol*, 2010, 5: 253-95
- [24] Imai S, Armstrong CM, Kaerberlein M, et al. Transcriptional silencing and longevity protein *Sir2* is an  $\text{NAD}$ -dependent histone deacetylase. *Nature*, 2000, 403(6771): 795-800
- [25] Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, et al. The  $\text{NAD}^+$ -dependent deacetylase *SIRT1* modulates *CLOCK*-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 2008, 134(2): 329-40
- [26] Asher G, Gatfield D, Stratmann M, et al. *SIRT1* regulates circadian clock gene expression through *PER2* deacetylation. *Cell*, 2008, 134(2): 317-28
- [27] Hirayama J, Sahar S, Grimaldi B, et al. *CLOCK*-mediated acetylation of *BMAL1* controls circadian function. *Nature*, 2007, 450(7172): 1086-90
- [28] Schwer B, Verdin E. Conserved metabolic regulatory functions of sirtuins. *Cell Metab*, 2008, 7(2): 104-12
- [29] Frescas D, Valenti L, Accili D. Nuclear trapping of the forkhead transcription factor *FoxO1* via Sirt-dependent

- deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. *J Biol Chem*, 2005, 280(21): 20589-95
- [30] Yoon JC, Puigserver P, Chen G, et al. Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*, 2001, 413(6852): 131-8
- [31] Li X, Zhang S, Blander G, et al. SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR. *Mol Cell*, 2007, 28(1): 91-106
- [32] Lamia KA, Sachdeva UM, DiTacchio L, et al. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science*, 2009, 326(5951): 437-40
- [33] Um JH, Pendergast JS, Springer DA, et al. AMPK regulates circadian rhythms in a tissue- and isoform-specific manner. *PLoS One*, 2011, 6(3): e18450
- [34] Um JH, Yang S, Yamazaki S, et al. Activation of 5'-AMP-activated kinase with diabetes drug metformin induces casein kinase I $\epsilon$  (CKI $\epsilon$ )-dependent degradation of clock protein mPer2. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 20794-8
- [35] Akashi M, Tsuchiya Y, Yoshino T, et al. Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I $\epsilon$  (CKI $\epsilon$ ) and CKI $\delta$  in cultured cells. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(6): 1693-703
- [36] Shirogane T, Jin J, Ang XL, et al. SCF $\beta$ -TRCP controls clock-dependent transcription via casein kinase I-dependent degradation of the mammalian period-1 (Per1) protein. *J Biol Chem*, 2005, 280(29): 26863-72
- [37] Canto C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD<sup>+</sup> metabolism and SIRT1 activity. *Nature*, 2009, 458(7241): 1056-60
- [38] Minami Y, Kasukawa T, Kakazu Y, et al. Measurement of internal body time by blood metabolomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(24): 9890-5
- [39] O'Neill JS, Maywood ES, Chesham JE, et al. cAMP-dependent signaling as a core component of the mammalian circadian pacemaker. *Science*, 2008, 320(5878): 949-53
- [40] Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, 284(4): E671-8
- [41] Sahar S, Nin V, Barbosa MT, et al. Altered behavioral and metabolic circadian rhythms in mice with disrupted NAD<sup>+</sup> oscillation. *Aging:Albany NY*, 2011, 3(8): 794-802
- [42] Aksoy P, White TA, Thompson M, et al. Regulation of intracellular levels of NAD: a novel role for CD38. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 345(4): 1386-92
- [43] Vollmers C, Gill S, DiTacchio L, et al. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(50): 21453-8
- [44] Xu K, DiAngelo JR, Hughes ME, et al. The circadian clock interacts with metabolic physiology to influence reproductive fitness. *Cell Metab*, 2011, 13(6): 639-54
- [45] Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, et al. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metab*, 2007, 6(5): 414-21
- [46] Adamantidis A, de Lecea L. The hypocretins as sensors for metabolism and arousal. *J Physiol*, 2009, 587(Pt 1): 33-40
- [47] Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron*, 2002, 36(2): 199-211
- [48] Zuber AM, Centeno G, Pradervand S, et al. Molecular clock is involved in predictive circadian adjustment of renal function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(38): 16523-8
- [49] Bunger 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
- [50] Rudic RD, McNamara P, Curtis AM, et al. BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol*, 2004, 2(11): e377
- [51] Lamia KA, Storch KF, Weitz CJ. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(39): 15172-7
- [52] Sadacca LA, Lamia KA, deLemos AS, et al. An intrinsic circadian clock of the pancreas is required for normal insulin release and glucose homeostasis in mice. *Diabetologia*, 2011, 54(1): 120-4
- [53] Dyar KA, Ciciliot S, Wright LE, et al. Muscle insulin sensitivity and glucose metabolism are controlled by the intrinsic muscle clock. *Mol Metab*, 2014, 3(1): 29-41
- [54] McDearmon EL, Patel KN, Ko CH, et al. Dissecting the functions of the mammalian clock protein BMAL1 by tissue-specific rescue in mice. *Science*, 2006, 314(5803): 1304-8
- [55] Shimba S, Ishii N, Ohta Y, et al. Brain and muscle Arntl-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12071-6
- [56] Shostak A, Meyer-Kovac J, Oster H. Circadian regulation of lipid mobilization in white adipose tissues. *Diabetes*, 2013, 62(7): 2195-203
- [57] King DP, Zhao Y, Sangoram AM, et al. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell*, 1997, 89(4): 641-53
- [58] Paschos GK, Ibrahim S, Song WL, et al. Obesity in mice with adipocyte-specific deletion of clock component Arntl. *Nat Med*, 2012, 18(12): 1768-77
- [59] Fontaine C, Dubois G, Duguay Y, et al. The orphan nuclear receptor Rev-Erba is a peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) $\gamma$  target gene and promotes PPAR $\gamma$ -induced adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2003, 278(39): 37672-80
- [60] Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, 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
- [61] Alenghat T, Meyers K, Mullican SE, et al. Nuclear receptor corepressor and histone deacetylase 3 govern circadian metabolic physiology. *Nature*, 2008, 456(7224): 997-1000
- [62] Feng D, Liu T, Sun Z, et al. A circadian rhythm orchestrated by histone deacetylase 3 controls hepatic



- lipid metabolism. *Science*, 2011, 331(6022): 1315-9
- [63] Duez H, van der Veen JN, Duhem C, et al. Regulation of bile acid synthesis by the nuclear receptor Rev-erb $\alpha$ . *Gastroenterology*, 2008, 135(2): 689-98
- [64] Le Martelot G, Claudel T, Gatfield D, et al. REV-ERB $\alpha$  participates in circadian SREBP signaling and bile acid homeostasis. *PLoS Biol*, 2009, 7(9): e1000181
- [65] Delezie J, Dumont S, Dardente H, et al. The nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  is required for the daily balance of carbohydrate and lipid metabolism. *FASEB J*, 2012, 26(8): 3321-35
- [66] Woldt E, Sebti Y, Solt LA, et al. Rev-erb- $\alpha$  modulates skeletal muscle oxidative capacity by regulating mitochondrial biogenesis and autophagy. *Nat Med*, 2013, 19(8): 1039-46
- [67] Vieira E, Marroqui L, Batista TM, et al. The clock gene *Rev-erba* regulates pancreatic  $\beta$ -cell function: modulation by leptin and high-fat diet. *Endocrinology*, 2012, 153(2): 592-601
- [68] Vieira E, Marroqui L, Figueroa AL, et al. Involvement of the clock gene *Rev-erba* in the regulation of glucagon secretion in pancreatic  $\alpha$ -cells. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69939
- [69] Raghuram S, Stayrook KR, Huang P, et al. Identification of heme as the ligand for the orphan nuclear receptors REV-ERB $\alpha$  and REV-ERB $\beta$ . *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(12): 1207-13
- [70] Yin L, Wu N, Curtin JC, et al. Rev-erb $\alpha$ , a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways. *Science*, 2007, 318(5857): 1786-9
- [71] Dioum EM, Rutter J, Tuckerman JR, et al. NPAS2: a gas-responsive transcription factor. *Science*, 2002, 298(5602): 2385-7
- [72] Handschin C, Lin J, Rhee J, et al. Nutritional regulation of hepatic heme biosynthesis and porphyria through PGC-1 $\alpha$ . *Cell*, 2005, 122(4): 505-15
- [73] Ponka P. Cell biology of heme. *Am J Med Sci*, 1999, 318(4): 241-56
- [74] Chen JJ, London IM. Hemin enhances the differentiation of mouse 3T3 cells to adipocytes. *Cell*, 1981, 26(1 Pt 1): 117-22
- [75] van der Veen DR, Shao J, Chapman S, et al. A diurnal rhythm in glucose uptake in brown adipose tissue revealed by *in vivo* PET-FDG imaging. *Obesity: Silver Spring*, 2012, 20(7): 1527-9
- [76] Zvonic S, Ptitsyn AA, Conrad SA, et al. Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. *Diabetes*, 2006, 55(4): 962-70
- [77] Redlin U, Nuesslein B, Schmidt I. Circadian changes of brown adipose tissue thermogenesis in juvenile rats. *Am J Physiol*, 1992, 262(3 Pt 2): R504-8
- [78] Gerhart-Hines Z, Feng D, Emmett MJ, et al. The nuclear receptor Rev-erb $\alpha$  controls circadian thermogenic plasticity. *Nature*, 2013, 503(7476): 410-3
- [79] Gumz ML, Stow LR, Lynch IJ, et al. The circadian clock protein Period 1 regulates expression of the renal epithelial sodium channel in mice. *J Clin Invest*, 2009, 119(8): 2423-34
- [80] Zani F, Breasson L, Becattini B, et al. PER2 promotes glucose storage to liver glycogen during feeding and acute fasting by inducing *Gys2* PTG and *G L* expression. *Mol Metab*, 2013, 2(3): 292-305
- [81] Zhao Y, Zhang Y, Zhou M, et al. Loss of *mPer2* increases plasma insulin levels by enhanced glucose-stimulated insulin secretion and impaired insulin clearance in mice. *FEBS Lett*, 2012, 586(9): 1306-11
- [82] Viswambharan H, Carvas JM, Antic V, et al. Mutation of the circadian clock gene *Per2* alters vascular endothelial function. *Circulation*, 2007, 115(16): 2188-95
- [83] Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, et al. A Period 2 genetic variant interacts with plasma SFA to modify plasma lipid concentrations in adults with metabolic syndrome. *J Nutr*, 2012, 142(7): 1213-8
- [84] Doi M, Takahashi Y, Komatsu R, et al. Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient *Cry*-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. *Nat Med*, 2010, 16(1): 67-74
- [85] Zhang EE, Liu Y, Dentin R, et al. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis. *Nat Med*, 2010, 16(10): 1152-6
- [86] Lamia KA, Papp SJ, Yu RT, et al. Cryptochromes mediate rhythmic repression of the glucocorticoid receptor. *Nature*, 2011, 480(7378): 552-6
- [87] Okano S, Akashi M, Hayasaka K, et al. Unusual circadian locomotor activity and pathophysiology in mutant *CRY1* transgenic mice. *Neurosci Lett*, 2009, 451(3): 246-51
- [88] Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet*, 2010, 42(2): 105-16
- [89] Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metab*, 2005, 1(6): 361-70
- [90] Feige JN, Auwerx J. Transcriptional coregulators in the control of energy homeostasis. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(6): 292-301
- [91] Liu C, Li S, Liu T, et al. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature*, 2007, 447(7143): 477-81
- [92] Sonoda J, Mehl IR, Chong LW, et al. PGC-1 $\beta$  controls mitochondrial metabolism to modulate circadian activity, adaptive thermogenesis, and hepatic steatosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(12): 5223-8
- [93] Rodgers JT, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 $\alpha$  and SIRT1. *Nature*, 2005, 434(7029): 113-8