

DOI: 10.13376/j.cbls/2015201

文章编号: 1004-0374(2015)11-1455-07



程波, 博士, 副教授。美国佐治亚医学院博士后, 国家自然科学基金面上项目获得者, 作为主要参与者获得湖北省科技进步一等奖, 首届武汉市中青年医学骨干人才。以第一作者在 *PNAS*、*CIRCULATION RESEARCH* 等国际权威期刊发表论文数篇。主要研究领域: 生物节律与心血管疾病、生物节律与口腔颌面部疾病。

哺乳类动物生物周期节律对动脉粥样硬化的调控机制

唐清明[#], 翁秀红[#], 程波^{*}

(华中科技大学同济医学院附属协和医院口腔科, 武汉 430022)

摘要: 生物周期节律 (circadian rhythms) 是指机体内生命活动随时间节律性变化的规律。相关研究证实哺乳动物心血管系统的功能活动存在昼夜周期节律变化, 而生物周期节律紊乱也参与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的发生、发展。哺乳动物心血管系统中生物周期节律紊乱会破坏血管壁细胞生理功能, 改变血流状态, 诱发血管炎症反应, 影响内皮源性一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的合成与释放等, 从而促进斑块的形成和发展, 诱发斑块的不稳定, 对 AS 的发生、发展具有重要的作用。现总结近年来生物节律与 AS 的研究进展, 探讨哺乳动物心血管系统生物周期节律的表现形式以及节律紊乱对 AS 的调控机制, 期为 AS 的防治提供新的思路。

关键词: 生物周期节律; 动脉粥样硬化; 生物钟基因; 生物钟紊乱

中图分类号: Q955; R543.12 文献标志码: A

The regulation mechanisms of mammalian circadian rhythms on atherosclerosis

TANG Qing-Ming[#], WENG Xiu-Hong[#], CHENG Bo^{*}

(Department of Stomatology, Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: It has been confirmed that functional activities in mammalian cardiovascular system displayed circadian oscillations, which means regular pattern of living activities, publicly, it also named circadian rhythms. Furthermore, it implicated that circadian rhythms dysregulation plays a critical role in the pathogenesis of atherosclerosis. Moreover, it contributed to cardiovascular diseases via its regulatory effect on physical function of vessel,

收稿日期: 2015-08-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81370405)

[#]共同第一作者

^{*}通信作者: E-mail: chengbo_01@hotmail.com

haemodynamics, inflammatory response and endothelium-derived NO synthesis and release, resulting in plaque formation and instability which participated in atherosclerosis process. In this review, the current understanding of the circadian rhythms in mammalian cardiovascular system and its roles in atherosclerosis were both discussed in order to make full understanding in the mechanism of atherosclerosis.

Key words: circadian rhythms; atherosclerosis; clock genes; circadian rhythm disorders

生物机体内各种生命活动均按一定时间顺序发生周期性振荡变化,如哺乳动物心血管系统中血脂、血糖、血压以及体内激素水平变化等。这些变化的节律被称为生物周期节律(circadian rhythms)。昼夜节律生物钟(circadian clock)是设定并调控机体出现这种昼夜周期变化的系统。这种以近似24 h为周期的振荡器(oscillator)是机体在进化过程中为了更好地适应环境自然选择作用下的产物^[1]。机体内对维持生物节律起关键性作用的基因被称为钟基因(clock genes),主要包括*BMAL1*、*CLOCK*、*CRYs*、*PERs*、*ROR*和*REV-ERB*等。而受钟基因调控的基因被称为钟控基因(clock controlled genes, CCGs)。Moore^[2]利用手术切除和移植实验发现,中央昼夜节律振荡器位于下丘脑视交叉上核;而研究证据也表明外周组织、永生化细胞等也存在昼夜振荡器,并具有和中央昼夜节律振荡器相似的分子机制^[3-6]。昼夜振荡器的分子机制主要是基于一些具有自我调节功能的转录-翻译反馈环路。*BMAL1*、*CLOCK*和*NPAS2*是包含有basic helix-loop-helix(碱性螺旋-环-螺旋)和PER-ARNT-SIM(PAS)域的转录因子,通过bHLH-PAS结构域形成异二聚体*CLOCK/NPAS2:BMAL1*,该二聚体与*Per*和*Cry*基因启动子区的E-box(CACGTG)结合,以启动这些钟基因的转录;而PER、CRY在经酪蛋白激酶(CKI)磷酸化后形成PER:CRY异二聚体,将作为负性成分抑制*CLOCK/NPAS2-BMAL1*异源二聚体介导的转录,从而负反馈调节*PER*和*CRY*的转录^[7]。*CLOCK:BMAL1*异二聚体也可激活视黄酸相关受体基因*REV-ERBA*和*RORA*以及过氧化物增殖激活受体*PPAR α* 的转录。此外,*BMAL1:CLOCK*二聚体通过与E-box序列结合,可调控下游钟控基因的转录,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近似24 h的昼夜振荡的生理节律。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)所致的心脑血管疾病是严重危害人类生命健康的疾病之一。随着生活水平的提高和饮食结构的改变,其发病率迅速攀升,目前已成为我国人口死亡的主要原因。多

种因素参与AS的发生、发展,对其发病机制和治疗对策的探究是当前研究的热点。近年来,临床研究结果发现冠状动脉粥样硬化所致的心肌缺血、心肌梗死等多种心血管疾病在清晨高发,而夜间发病风险相对较低,呈现出明显的周期节律性^[8-9]。同时,研究也发现轮班工作制是AS的重要危险因素之一^[10],从而提示生物节律与AS之间存在显著相关性。

1 血管生物周期节律振荡器

与位于下丘脑视交叉上核的中央生物节律振荡器相似,外周组织器官中也存在着具有组织器官特异性的生物节律振荡器,我们将其称为外周生物周期节律振荡器^[11]。中央生物周期节律振荡器可通过直接调控生物钟相关基因的表达来调节机体的日常生理功能,同时也可通过调节外周生物周期节律振荡器间接地调节机体的生理功能。在心脏、肝脏组织中,约有8%~10%基因表达具有周期节律性,血管中也存在生物周期节律振荡器,生物钟基因在血管中呈周期性表达^[12-15],并且这些基因的表达节律具有组织特异性^[16]。为进一步了解生物周期节律在心血管疾病中,尤其是动脉粥样硬化的调控机制,首先需阐明血管生物周期节律振荡器的组织和器官特异性。

1.1 血管壁细胞中基因的节律性表达

Storch等^[16]发现在血管内皮细胞及血管平滑肌细胞中核心钟基因呈现周期节律性表达,并且存在一个内在的生物周期节律。人动脉内皮细胞NOX4(NAPDH oxidase 4)和叶酸代谢限速酶的表达受到节律性调控^[17]。生理情况下,血管平滑肌细胞中,*MMP1*(基质金属蛋白酶I)、*MMP3*(基质金属蛋白酶III)、*collagen3a*(胶原蛋白III)、*transgelin1(sm22a)*(转凝蛋白I)、*calponin1*(钙调蛋白I)、*TIMP1/3*(金属蛋白酶组织抑制物-1/3)等基因的表达都受到钟基因的调节^[18],说明平滑肌细胞的功能亦受到生物节律的调控^[19]。

1.2 动脉血压的周期节律变化

生物钟在血压的周期变化中扮演了重要的角色。正常人动脉血压会出现稳定的昼夜周期波动现

象, 表现为白天血压升高, 而夜间血压降低。而鼠类等夜间活动的动物血压昼夜周期变化规律则恰恰与日间活动动物相反。在部分高血压患者人群中, 他们的生物周期节律紊乱表现在血压的生物周期节律发生了改变, 非勺型高血压患者失去了夜间血压下降的特点。*Bmal1*-KO 小鼠动脉血压完全丧失了昼夜变化规律, 即使在夜间活动中也表现为低血压^[8]; *Cry1-Cry2* double KO 小鼠动脉血压则表现为静止时出现高压^[20]; *Per2*-mutant 小鼠表现出与 *Bmal1*-KO 小鼠类似的低血压表现^[21]。2015年, Xie 等^[22] 研究报道, 平滑肌细胞特异性 *BMAL1* 敲除小鼠 (SM-*Bmal1*-KO) 表现为失节律性低血压, 而心肌细胞特异性 *Bmal1* 敲除小鼠 (ICS-*Bmal1*-KO) 或者经 12 h L/D 光照调节的 SM-*Bmal1*-KO 小鼠, 与正常野生型小鼠相比, 血压节律性无明显差异。因此, 在血管生物周期节律振荡器中, 不论是其正性调控元件还是其负性调控元件发生变化, 动脉血压的昼夜周期变化规律都将遭到破坏, 这也表明生物钟对血压的稳定昼夜周期变化具有非常重要的作用。

1.3 血管通透性的周期节律变化

哺乳动物血管内皮细胞的屏障功能也具有生物周期节律性变化的特点。Staughton 和 Weinberg^[23] 发现家兔白蛋白在主动脉中的通透性会发生周期节律性改变; 大鼠辣根过氧化物酶在小动脉中的穿透性也具有同样的特点^[24]; 此外, 小鼠动脉中伊文思蓝染料的通透率在主观描述的生物周期开始时最高^[25]。

1.4 血管纤维溶解-凝血平衡的周期节律变化

纤维溶解活动的强弱与中风、急性心肌梗死事件有关。纤溶活动越强, 此类事件的发生率越低。纤溶活动的强弱与 t-PA (组织型纤溶酶原激活剂)、PAI-1 (纤溶酶原激活剂抑制剂 1) 和 TF (组织因子) 有着直接联系。t-PA 是纤溶系统中的一个重要组分, PAI-1 是主要的纤溶抑制物之一, TF 是粥样斑块形成的重要引发剂。在特定钟基因敲除的小鼠体内, 这些纤溶-凝血相关蛋白表达失去正常节律, 表明这些物质的表达受到钟基因的调控^[26-28]。此外, 研究发现清晨时, 机体内的纤溶活动相比其他时间段更弱^[29], 这一发现合理解释了清晨时, 心血管事件高发的原因。

1.5 血管舒缩反应的周期节律变化

血管舒张和收缩节律存在昼夜周期变化^[30]。在一天中的不同时间点, 酚妥拉明作用于人前臂血管引起的血流变化、血管阻力及舒张反应不同^[31]。

健康年轻男性人群中, 血流介导的肱动脉扩张呈现出昼夜节律变化^[31]。内皮依赖性血管舒张反应在凌晨3点钟最为显著^[32]。血管内皮一氧化氮合酶 (eNOS) 的磷酸化水平也具有生物周期节律性^[33], 而 eNOS 介导强舒血管物质 NO 的产生和释放。这解释了在不同时间点动脉舒张功能不同的现象^[18,34]。

2 生物周期节律作用于AS发生、发展的调控机制

动脉粥样硬化是一种与代谢相关的血管慢性炎症性疾病, 其发生、发展的具体调控机制至今未完全阐明, 对其发病机制和治疗对策的探究是当前研究的热点。越来越多的研究结果证实血管中存在外周特异性生物周期节律振荡器, 血管生物周期节律的紊乱是 AS 发生、发展的危险因素之一。在前期研究中发现, 血管移植物自身的生物节律紊乱可独立导致移植血管动脉粥样硬化的形成, 从而明确了在 AS 斑块形成过程中, 血管自身的生物周期节律占据主导地位。现有研究结果表明, 生物周期节律紊乱会导致血管壁细胞功能异常, 细胞代谢异常, 血液流变学的改变, 内皮源性 eNOS 活性降低, 单核-巨噬细胞炎症反应变化等, 从而促进动脉粥样硬化的发生、发展。

2.1 生物周期节律影响血管壁细胞功能

动脉粥样硬化是由于动脉内膜下脂质沉积形成粥样硬化斑块向管腔突出, 斑块增大融合或发生溃疡, 继发血栓形成、管腔狭窄, 甚至阻塞。因此, 动脉内皮损伤是动脉粥样硬化的始动因素。血管内皮细胞在维持血管功能方面发挥着重要的作用, 而动脉粥样硬化病变中内皮细胞功能发生显著改变。越来越多的研究结果提示, 生物周期节律会影响血管内皮细胞功能: 紊乱的生物周期节律会导致血管内皮细胞 (尤其是动脉内皮细胞) 受损; 生物节律紊乱小鼠 (*Per2*-mutant 小鼠、*Bmal1*-KO 小鼠和 *Clock*-mutant 小鼠) 的动脉组织对乙酰胆碱引起的内皮依赖性血管舒张反应性减弱^[18,21,35], 并且生物节律紊乱程度与血管内皮细胞功能损害之间存在正相关关系^[36]; *Per2*^{m/m} 小鼠动脉中 COX-1 (环氧化酶 1) 蛋白表达量增高, 对吲哚美辛介导的收缩反应更为敏感, 而 COX-1 介导的升压会导致血管内皮功能失调^[18], 其血管内皮细胞的增殖及血管网形成能力也相应受损^[37]。此外, 生物节律紊乱小鼠动脉血管中调节血管内皮功能的信号分子的绝对量或相对量减少, 例如 Akt (蛋白激酶 B)、SOD (超氧化物歧化酶)、

eNOS 等的磷酸化水平和 (或) 活化形式减少, eNOS 脱偶联增多, 组织中 ROS (活性氧) 聚集增加, 抗纤维蛋白溶解的 PAI-1 表达上调^[18,37-39] 等。

血管平滑肌是动脉中膜的主要组成成分, 在动脉粥样硬化斑块发生、发展中发挥重要作用。血管平滑肌细胞在内膜损伤和趋化因子的作用下, 增殖迁移至内膜下, 并发生表型转换, 摄取脂质形成泡沫细胞, 促进斑块的形成。相关临床研究发现, 斑块来源的平滑肌细胞钟基因的表达水平降低^[19], 表现为平滑肌细胞中 BMAL1 表达降低, NADPH 氧化酶 4 (NOX4) 表达升高, 而 NOX4 参与血管损伤后的重塑和平滑肌细胞的分化^[40], 促使异常血管重塑^[41]。生物钟的紊乱影响基质蛋白酶的功能, 导致细胞外基质堆积, 血管顺应性降低, 加剧损伤后的内膜增生, 导致血管的再狭窄^[41]。

内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 对于内皮损伤后的再血管化和缺血-再灌注后的血管生成有重要修复作用^[42-43]。血管壁细胞的老化也是动脉粥样硬化发生发展的危险因素。*Per2^{mm}* 小鼠内皮细胞中 Akt 信号介导的衰老明显增加, 且内皮祖细胞的动员明显减少^[37]。

2.2 生物周期节律影响血管壁细胞代谢

高血压、高血糖与高血脂是动脉粥样硬化三大危险因素。目前, 许多研究表明, 生物钟参与血管壁细胞代谢调节^[44-45]。*Rev-erba* 作为生物钟基因表达的重要调节剂, 在脂代谢、脂肪形成、血管炎症反应以及免疫细胞的发育等过程中具有重要的作用^[46-51]。钟基因敲除小鼠表现为糖脂代谢紊乱, 巨噬细胞脂质吞噬增多, 泡沫细胞形成增多, 从而促进 AS 进展^[52-55]。*Ma* 等^[56]发现, 如果将 *LDLr^{-/-}* 小鼠造血细胞中的 *Rev-erba* 基因敲除, 其粥样硬化斑块范围扩大。*Rev-erba* 不仅通过调节脂蛋白代谢和脂肪细胞分化维持脂肪稳态^[57], 也能抑制 apoCIII (载脂蛋白 C) 的表达, 降低血液中 VLDL (超低密度脂蛋白) 水平^[51]。

2.3 生物周期节律引起血流动力学变化

血流异常引起血管内皮细胞的损伤, 血小板和白细胞黏附增加, 红细胞变形能力降低, 血液黏滞性增加, 进一步加重内皮细胞损伤。内皮细胞损伤进一步加剧血流异常, 两者相互作用, 形成恶性循环。*Somanath* 等^[58]发现 *Bmal1^{-/-}* 小鼠和野生型 C57BL/6J 小鼠表现为不同的血流动力学特征。*Bmal1^{-/-}* 小鼠血栓形成活动明显增多、增快, 血小板聚集及黏附能力明显增强; 血浆中 vWF (血管性

血友病因子) 和 PAI-1 含量较野生型 C57BL/6J 小鼠含量更高, vWF 的变化节律也被打乱。*Bmal1* 可调节凝血过程中重要组分的表达, 其缺失造成的生物节律紊乱会加速血栓的形成。

2.4 生物周期节律影响血管壁中NO的合成和释放

在 AS 的机制研究中, 内皮损伤学说被广泛接受。血管内膜的完整性和内皮细胞功能对于维持正常血管功能十分重要。内皮细胞为管腔内表面单层上皮细胞, 内皮型一氧化氮合成酶可合成和释放 NO, 维持管腔正常形态和功能。内皮源性 NO 可下调黏附蛋白 (如 P 选择素、ICAM-1 和 ECAM-1) 的表达, 抑制 MCP-1 (单核细胞趋化蛋白 1) 的表达, 从而减少白细胞黏附、迁移^[59-60]; NO 抑制 LDL (低密度脂蛋白) 氧化, 有效抑制血小板黏附, 阻止血小板聚集和迁移。血管损伤后血小板激活释放各种生长因子, 包括 PDGF (血小板源性生长因子) 和 VEGF (血管内皮生长因子) 等^[61]。NO 抑制这些物质的释放, 抑制平滑肌细胞增殖; 也可通过环磷酸鸟苷直接抑制平滑肌细胞的增殖^[62]。清晨 NO 生成量会伴随血压的升高而增加, 表明 NO 具有缓冲清晨血压增高的作用^[63]。总而言之, 内皮源性 NO 是防止动脉粥样硬化, 维持心血管系统内稳态的重要调节剂之一。但是, NO 的生成量会随着年龄的增长而减少, 导致血管功能失常。

NO 随着年龄增长而减少的特点与生物周期节律受损有关。用 NO 供体治疗血管功能紊乱症可使钟基因 *Per* 的表达量增加, 这与 NO 所致的磷酸化及去甲基化相关^[34]。年龄较大的动物的 eNOS 活性明显下降, 往往也伴随着生物钟基因表达异常和血压生物节律紊乱, 这与直接抑制内皮源性 NO 合酶发现的结果一致^[34]。而生物钟基因敲除的小鼠表现为 eNOS 脱偶联增加和内皮衰老加快, 导致 NO 生成减少^[37,39]。以上实验结果表明, 生物钟基因可影响 NO 合成和释放, 而 NO 亦可影响钟基因的表达。

2.5 生物周期节律影响血管免疫炎症反应

多项独立研究发现生物钟与免疫系统发育和功能密切相关, 且参与体内炎症反应的调控^[47-48,65-72], 包括适应性免疫和先天性免疫^[49,64-65]。AS 是以脂质沉积与 T 淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞浸润为特征的血管慢性炎症性疾病。单核细胞在趋化因子的作用下移行至损伤内膜下形成巨噬细胞, 表面清道夫受体吞噬脂质形成泡沫细胞, 与血管平滑肌来源的泡沫细胞共同促进脂质斑块的形成。钟基因的突变或者节律紊乱明显影响免疫系统的功能。*Per1/2* 突

变的小鼠巨噬细胞 M1 转化增多, 炎症反应加重^[55]。巨噬细胞节律性表达 *Rev-erba*, 而 *Rev-erba* 可调节多种免疫相关因子的表达^[66-69]。内皮细胞节律性分泌黏附分子与趋化因子 CCL2 介导单核细胞周期性黏附活动^[70], 而 *Rev-erba* 下调巨噬细胞中 CCL2 的表达, 从而抑制巨噬细胞的黏附和浸润, 发挥抑制炎症反应的作用^[71]。

3 结语与展望

当代生活节奏逐渐加快, 夜生活愈发丰富, 昼夜生活节律打乱的现象十分普遍。值夜班的医护人员、轮班工作的工人、常常倒时差的“空中飞人”, 他们体内的生物节律较普通人群明显不同。相关研究证实了生物周期节律可调节心血管系统的许多生理功能, 而生物周期节律紊乱也会诱使心血管事件的发生等。目前, 大量研究结果表明, 生物周期节律与动脉粥样硬化具有显著相关性。生物周期节律紊乱导致血管壁细胞功能异常、血液流变学改变、脂质代谢异常、单核-巨噬细胞炎症反应变化、内皮源性 NO 合酶活性降低等, 促进粥样斑块的形成。

动脉粥样硬化是一种与代谢相关的血管壁慢性炎症性疾病, 其发生、发展是一个非常复杂的过程。目前关于生物钟对心血管系统的影响的研究多建立在钟基因异常的动物(特别是钟基因敲除鼠)基础上, 而啮齿类动物的生活节律与人类的毕竟不同, 动物实验所得出的结论仍需要进一步验证。因此, 有关生物周期节律对动脉粥样硬化形成的调控机制有待进一步的探索。随着研究的深入, 将逐步阐明生物周期节律对动脉粥样硬化的调控机制, 为预防和治疗特殊职业人群心血管事件的发生提供理论基础和新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] Panda S, Hogenesch JB, Kay SA. Circadian rhythms from flies to human. *Nature*, 2002, 417(6886): 329-35
- [2] Moore RY. Circadian rhythms: basic neurobiology and clinical applications. *Annu Rev Med*, 1997, 48: 253-66
- [3] Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, et al. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, 2000, 289(5488): 2344-7
- [4] Balsalobre A, Damiola F, Schibler U. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*, 1998, 93(6): 929-37
- [5] 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
- [6] Yagita K, Tamanini F, van Der Horst GT, et al. Molecular mechanisms of the biological clock in cultured fibroblasts. *Science*, 2001, 292(5515): 278-81
- [7] Hirota T, Fukada Y. Resetting mechanism of central and peripheral circadian clocks in mammals. *Zool Sci*, 2004, 21(4): 359-68
- [8] Curtis AM, Cheng Y, Kapoor S, et al. Circadian variation of blood pressure and the vascular response to asynchronous stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(9): 3450-5
- [9] Tanaka A, Kawarabayashi T, Fukuda D, et al. Circadian variation of plaque rupture in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 2004, 93(1): 1-5
- [10] Haupt CM, Alte D, Dorr M, et al. The relation of exposure to shift work with atherosclerosis and myocardial infarction in a general population. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1): 205-11
- [11] Zylka MJ, Shearman LP, Weaver DR, et al. Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron*, 1998, 20(6): 1103-10
- [12] Maemura K, de la Monte SM, Chin MT, et al. CLIF, a novel cycle-like factor, regulates the circadian oscillation of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression. *J Biol Chem*, 2000, 275(47): 36847-51
- [13] Maemura K, Takeda N, Nagai R. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: role of the biological clock in cardiovascular diseases. *J Pharmacol Sci*, 2007, 103(2): 134-8
- [14] Nonaka H, Emoto N, Ikeda K, et al. Angiotensin II induces circadian gene expression of clock genes in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation*, 2001, 104(15): 1746-8
- [15] Reilly DF, Westgate EJ, FitzGerald GA. Peripheral circadian clocks in the vasculature. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(8): 1694-705
- [16] Storch KF, Lipan O, Leykin I, et al. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature*, 2002, 417(6884): 78-83
- [17] Anea CB, Zhang M, Chen F, et al. Circadian clock control of Nox4 and reactive oxygen species in the vasculature. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78626
- [18] Anea CB, Zhang M, Stepp DW, et al. Vascular disease in mice with a dysfunctional circadian clock. *Circulation*, 2009, 119(11): 1510-7
- [19] Lin C, Tang X, Zhu Z, et al. The rhythmic expression of clock genes attenuated in human plaque-derived vascular smooth muscle cells. *Lipids Health Dis*, 2014, 13:14
- [20] Masuki S, Todo T, Nakano Y, et al. Reduced α -adrenoceptor responsiveness and enhanced baroreflex sensitivity in *Cry*-deficient mice lacking a biological clock. *J Physiol*, 2005, 566(1): 213-24
- [21] Viswambaran H, Carvas JM, Antic V, et al. Mutation of the circadian clock gene *Per2* alters vascular endothelial function. *Circulation*, 2007, 115(16): 2188-95
- [22] Xie Z, Su W, Liu S, et al. Smooth-muscle BMAL1 participates in blood pressure circadian rhythm regulation.

- J Clin Invest, 2015, 125(1): 324-36
- [23] Staughton TJ, Weinberg PD. Effect of time of day and rabbit strain on patterns of aortic wall permeability. *Exp Physiol*, 2004, 89(1): 109-18
- [24] Mato M, Ookawara S, Tooyama K, et al. Chronobiological studies on the blood-brain barrier. *Experientia*, 1981, 37(9): 1013-5
- [25] Rudic RD, McNamara P, Reilly D, et al. Bioinformatic analysis of circadian gene oscillation in mouse aorta. *Circulation*, 2005, 112(17): 2716-24
- [26] Huttunen JT, Alm J, Liikonen A, et al. Fluxes of methane, carbon dioxide and nitrous oxide in boreal lakes and potential anthropogenic effects on the aquatic greenhouse gas emissions. *Chemosphere*, 2003, 52(3): 609-21
- [27] Oishi K, Miyazaki K, Uchida D, et al. PERIOD2 is a circadian negative regulator of *PAI-1* gene expression in mice. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(4): 545-52
- [28] Wang J, Yin L, Lazar MA. The orphan nuclear receptor Rev-erb α regulates circadian expression of plasminogen activator inhibitor type 1. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 33842-8
- [29] Kluff C, Jie AF, Rijken DC, et al. Daytime fluctuations in blood of tissue-type plasminogen activator (t-PA) and its fast-acting inhibitor (PAI-1). *Thromb Haemost*, 1988, 59(2): 329-32
- [30] Hossmann V, Fitzgerald GA, Dollery CT. Circadian rhythm of baroreflex reactivity and adrenergic vascular response. *Cardiovasc Res*, 1980, 14(3): 125-9
- [31] Panza JA, Epstein SE, Quyyumi AA. Circadian variation in vascular tone and its relation to α -sympathetic vasoconstrictor activity. *N Engl J Med*, 1991, 325(14): 986-90
- [32] Etsuda H, Takase B, Uehata A, et al. Morning attenuation of endothelium-dependent, flow-mediated dilation in healthy young men: possible connection to morning peak of cardiac events? *Clin Cardiol*, 1999, 22(6): 417-21
- [33] Keskil Z, Gorgun CZ, Hodoglugil U, et al. Twenty-four-hour variations in the sensitivity of rat aorta to vasoactive agents. *Chronobiol Int*, 1996, 13(6): 465-75
- [34] Kunieda T, Minamino T, Miura K, et al. Reduced nitric oxide causes age-associated impairment of circadian rhythmicity. *Circ Res*, 2008, 102(5): 607-14
- [35] Anea CB, Cheng B, Sharma S, et al. Increased superoxide and endothelial NO synthase uncoupling in blood vessels of *Bmal1*-knockout mice. *Circ Res*, 2012, 111(9): 1157-65
- [36] Rudic RD. Time is of the essence: vascular implications of the circadian clock. *Circulation*, 2009, 120(17): 1714-21
- [37] Wang CY, Wen MS, Wang HW, et al. Increased vascular senescence and impaired endothelial progenitor cell function mediated by mutation of circadian gene *Per2*. *Circulation*, 2008, 118(21): 2166-73
- [38] Anea CB, Zhang M, Chen F, et al. Circadian clock control of Nox4 and reactive oxygen species in the vasculature. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78626
- [39] Cheng B, Anea CB, Yao L, et al. Tissue-intrinsic dysfunction of circadian clock confers transplant arteriosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(41): 17147-52
- [40] Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, et al. Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*, 1995, 270(5234): 296-9
- [41] Anea CB, Ali MI, Osmond JM, et al. Matrix metalloproteinase 2 and 9 dysfunction underlie vascular stiffness in circadian clock mutant mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(12): 2535-43
- [42] Zampetaki A, Kirton JP, Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res*, 2008, 78(3): 413-21
- [43] Lamping K. Endothelial progenitor cells: sowing the seeds for vascular repair. *Circ Res*, 2007, 100(9): 1243-5
- [44] Cretenet G, Le Clech M, Gachon F. Circadian clock-coordinated 12 Hr period rhythmic activation of the IRE1 α pathway controls lipid metabolism in mouse liver. *Cell Metab*, 2010, 11(1): 47-57
- [45] Guillaumond F, Grechez-Cassiau A, Subramaniam M, 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
- [46] Pircher P, Chomez P, Yu F, et al. Aberrant expression of myosin isoforms in skeletal muscles from mice lacking the *rev-erbAa* orphan receptor gene. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(2): R482-90
- [47] Preitner N, Damiola F, Molina LL, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 2002, 110(2): 251-60
- [48] Migita H, Morser J and Kawai K. Rev-erb α upregulates NF- κ B-responsive genes in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 2004, 561(1-3): 69-74
- [49] Yu X, Rollins D, Ruhn KA, et al. TH17 cell differentiation is regulated by the circadian clock. *Science*, 2013, 342(6159): 727-30
- [50] Fontaine C, Dubois G, Duguay Y, et al. The orphan nuclear receptor Rev-Erb α is a peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ target gene and promotes PPAR γ -induced adipocyte differentiation. *J Biol Chem*, 2003, 278(39): 37672-80
- [51] Raspe E, Duez H, Mansen A, et al. Identification of Rev-erb α as a physiological repressor of apoC-III gene transcription. *J Lipid Res*, 2002, 43(12): 2172-9
- [52] Lee J, Kim MS, Li R, et al. Loss of *Bmal1* leads to uncoupling and impaired glucose-stimulated insulin secretion in β -cells. *Islets*, 2011, 3(6): 381-8
- [53] 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
- [54] Pan X, Jiang XC, Hussain MM. Impaired cholesterol metabolism and enhanced atherosclerosis in clock mutant mice. *Circulation*, 2013, 128(16): 1758-69
- [55] Xu H, Li H, Woo SL, et al. Myeloid cell-specific disruption of *Period1* and *Period2* exacerbates diet-induced inflammation and insulin resistance. *J Biol Chem*, 2014, 289(23): 16374-88

- [56] Ma H, Zhong W, Jiang Y, et al. Increased atherosclerotic lesions in LDL receptor deficient mice with hematopoietic nuclear receptor Rev-erb α knock-down. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(4): e000235
- [57] Sacks FM, Alaupovic P, Moye LA, et al. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the cholesterol and recurrent events (CARE) trial. *Circulation*, 2000, 102(16): 1886-92
- [58] Somanath PR, Podrez EA, Chen J, et al. Deficiency in core circadian protein Bmal1 is associated with a prothrombotic and vascular phenotype. *J Cell Physiol*, 2011, 226(1): 132-40
- [59] Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(11): 4651-5
- [60] Zeiher AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, et al. Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circ Res*, 1995, 76(6): 980-6
- [61] Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*, 2002, 8(11): 1227-34
- [62] Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature*, 2000, 407(6801): 233-41
- [63] Bode-Boger SM, Boger RH, Kielstein JT, et al. Role of endogenous nitric oxide in circadian blood pressure regulation in healthy humans and in patients with hypertension or atherosclerosis. *J Investig Med*, 2000, 48(2): 125-32
- [64] Curtis AM, Fagundes CT, Yang G, et al. Circadian control of innate immunity in macrophages by miR-155 targeting Bmal1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(23): 7231-6
- [65] Labrecque N, Cermakian N. Circadian clocks in the immune system. *J Biol Rhythms*, 2015, 30(4): 277-90
- [66] Hayashi M, Shimba S, Tezuka M. Characterization of the molecular clock in mouse peritoneal macrophages. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(4): 621-6
- [67] Keller M, Mazuch J, Abraham U, et al. A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(50): 21407-12
- [68] Gibbs JE, Blaikley J, Beesley S, et al. The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(2): 582-7
- [69] Silver AC, Arjona A, Walker WE, et al. The circadian clock controls toll-like receptor 9-mediated innate and adaptive immunity. *Immunity*, 2012, 36(2): 251-61
- [70] Scheiermann C, Kunisaki Y, Lucas D, et al. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity*, 2012, 37(2): 290-301
- [71] Sato S, Sakurai T, Ogasawara J, et al. A circadian clock gene, Rev-erb α , modulates the inflammatory function of macrophages through the negative regulation of Ccl2 expression. *J Immunol*, 2014, 192(1): 407-17