

不同摄食模式对小鼠生物钟及脂质代谢基因节律的影响

温敏,董喆,崔洁,薛长湖,王玉明

中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003

[摘要] **目的:**研究不同摄食模式对ICR小鼠脑内及肝脏生物钟基因表达的影响。**方法:**将90只雄性ICR小鼠分为自由摄食组、明期摄食组和暗期摄食组,每组30只,12 h与12 h明-暗交替条件下喂养两周。以4 h为间隔,每组分别在08:00、12:00、16:00、20:00、0:00、04:00时间点各处死5只小鼠取脑和肝脏,检测各时间点小鼠脑和肝脏组织内各生物钟及钟控基因的表达。**结果:**与肝脏相比,脑内节律振荡器更易受摄食方式的影响;且暗期摄食使脑内Cry2、Per1、Per2的峰值分别下调了81.8%、76.7%、85.9%,对脑内节律振荡器的影响更为显著。而暗期摄食条件下肝脏各生物钟基因的表达模式与自由摄食条件下相似。此外,与自由摄食组相比,明、暗期摄食条件下,Rev-erb α 和Dbp的峰值均明显下调(下调了50%、90.5%和70.6%、64.3%),且Rev-erb α 、Dbp的表达模式在两种摄食条件下相反。明、暗期摄食条件下,肝脏脂质代谢基因SREBP1-c、PPAR α 、FAS、CPT的表达模式不同,且明、暗期摄食均下调了肝脏脂质代谢基因SREBP1-c和PPAR α 的表达水平(分别下调了81.8%、75.0%和4.75%、79.2%)。**结论:**改变固有的摄食方式会夹带小鼠脑和肝脏内节律振荡器,肝脏中各节律振荡器均与摄食(时间)相偶联。

[关键词] 摄食行为;生物钟;昼夜节律;基因

[中图分类号] R151.1 **[文献标志码]** A

Effects of feeding mode on biological clock and circadian expression of lipid metabolism-related genes in mice

WEN Min, DONG Zhe, CUI Jie, XUE Chang-hu, WANG Yu-ming (College of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Corresponding author: WANG Yu-ming, E-mail: wangyuming@ouc.edu.cn.

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of feeding mode on biological clock and circadian expression of lipids metabolism-related genes in mice. **Methods:** Ninety healthy male ICR mice were divided into 3 groups with 30 in each: ad libitum-feeding, daytime-feeding and nighttime-feeding groups, in a 12 h to 12 h light-dark cycle. After

收稿日期:2014-01-02 接受日期:2014-05-20

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2012BAD33B07)。

作者简介:温敏(1989-),女,硕士研究生,从事分子营养学研究;E-mail: woshiwenmin@163.com

通讯作者:王玉明(1973-),男,博士,教授,博士生导师,从事食品营养学与分子营养学研究;E-mail: wangyuming@ouc.edu.cn

two weeks of feeding the animals was sacrificed in batches (5 in each batch) at 4, 8, 12, 16, 20 and 24 h, the circadian expression of lipids metabolism-related genes in the liver and brain was detected by real-time quantitative RT-PCR at 6 time points.

Results: The circadian oscillator in the brain was more sensitive to alteration of feeding mode than that in the liver, nighttime feeding decreased peak mRNA levels of *Cry2*, *Per1*, and *Per2* (5.5, 4.3 and 7.1 folds, respectively) in the brain. However, there was no difference in the expression rhythm of hepatic clock genes between nighttime-feeding and ad libitum group. In addition, changed feeding mode significantly decreased the peak value of *Rev-erb α* (2 folds for daytime feeding, 3.4 folds for nighttime feeding) and *Dbp* (10.6 folds for daytime feeding, 2.8 folds for nighttime feeding), which two had opposite expression mode in different feeding modes. Different expression rhythm of lipid metabolism-related genes *SREBP1-c*, *PPAR α* , *FAS*, and *CPT* was shown with decreased mRNA expression levels of *SREBP1-c* and *PPAR α* in daytime feeding (5.5 folds, 4 folds) and nighttime feeding (4.4 folds, 4.8 folds). **Conclusion:** Changing the feeding mode could entrain circadian oscillators both in the brain and liver. What is more, hepatic circadian oscillators couple with the feeding time.

[**Key words**] Feeding behavior; Biological clocks; Circadian rhythm; Genes

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2014, 43(5):513-520.]

生物钟是一个进化保守的机制,通过产生周期接近 24 h 的行为和生理节律,帮助机体内各器官提前适应可预期的环境变化,并使之与光-暗周期同步^[1]。哺乳动物节律振荡基于一转录-转译反馈回路:转录因子 BMAL1 结合 CLOCK 或 NPAS2 通过二聚体异构化结合到含有核心核苷酸序列 CACGTG 的生理节律启动子元件 E-box 上,启动 *Period* (*Per1*、*Per2*、*Per3*) 和 *Cryptochrome* (*Cry1*、*Cry2*) 的基因的转录。*PER* 和 *CRY* 蛋白入核抑制 CLOCK/NPAS2: BMAL1 转录活性,使 *Per* 和 *Cry* 基因转录和蛋白水平呈现大约 24 h 周期性振荡^[2]。此外,钟控基因孤儿核激素受体 *Rev-erb α* 和白蛋白 D-位点结合蛋白 (*Dbp*) 作为节律振荡的直接输出因子参与生物钟的调控。*Rev-erb α* (转录阻遏物) 还与维甲酸孤儿受体 (*ROR α* 、*ROR β*) (转录激活物) 组成一组较短的反馈回路,调控 *Bmal1* 基因的转录^[3-4]。

外界环境中光-暗、食物、温度以及化学因子等信号是调控生物钟的主要授时因子 (*zeitgeber*)。在高等的多细胞生物中,生物钟可以分为母钟(中枢时钟)和子钟(外周时钟),母钟位于哺乳动物下丘脑前部的视交叉上核 (*suprachiasmatic nucleus*, *SCN*),主要受光夹带;

子钟位于外周组织(如肝脏、肾脏、心脏等)细胞内。生物钟不仅控制着机体的行为和生理节律(包括活动、睡眠、觉醒、体温和许多内分泌等全身的节律活动),其与生物代谢也有着密不可分的联系。研究发现,生物钟基因表达的改变可导致胰岛素抵抗和肥胖^[5],改变食物摄入的固有节律(如限食、摄食时间的改变)会快速影响外周组织(如心脏、肝脏)的生物钟^[6],但是对 *SCN* 内母钟的影响则存在争议,目前尚无定论。本研究以 ICR 小鼠为研究对象,在同一实验体系中,比较了自由摄食、明期和暗期摄食对小鼠脑内和肝脏生物钟基因、钟控基因、脂肪酸代谢相关基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

Trizol(美国 Invitrogen 公司);DEPC 水(北京索莱宝公司);MMLV 逆转录酶(美国 Promega 公司);DNTP(日本 TAKARA 公司);RNAase inhibitor(美国 Roche 公司);SYBR Green I Master Mix(罗氏公司);Random Primer(生工生物公司);其他试剂均为国产分析纯;实时荧光 PCR 仪, IQ5(美国伯乐公司);超速冷冻离心机,

CP100MX 型(日本日立公司);Nanodrop 2000 分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司)。

1.2 动物分组与喂养

SPF 级雄性 ICR 小鼠 90 只,体质量(18 ~ 20 g),喂饲标准饲料(实验动物及标准饲料均购于青岛市药品检验所)适应性喂养 1 周后,按体质量随机分为自由摄食组、明期摄食组、暗期摄食组,每组 30 只(6 笼,每笼 5 只)。明期摄食组每天 08:30 ~ 20:30 喂饲,暗期摄食组每天 20:30 ~ 08:30 喂饲,自由饮水。室温(23 ± 2)℃,12 h 与 12 h 明暗交替,每天 08:30 ~ 20:30 亮灯,20:30 ~ 08:30 熄灯。喂养 2 周后,以 4 h 为间隔,分别于 08:00、12:00、16:00、20:00、0:00、04:00 处死小鼠,每个时间点每组 5 只。迅速取出大脑和肝脏组织,并将大脑沿中线剖开,分为左、右脑两部分,分别置于液氮中冻存。

1.3 总 RNA 的提取和基因转录水平分析

采用 Trizol 一步法提取肝脏(0.1 g)和脑内(左脑部分)总 RNA,进行 RNA 琼脂糖凝胶电泳检测,用 Nanodrop 2000 分光光度计检测 RNA 的纯度(波长 1260 nm/波长 280 nm 吸光度值大多在 1.80 ~ 2.20 之间,说明 RNA 纯度较高)及浓度。取 2 μg RNA 按照文献[7]方法进行逆转录。采用实时荧光定量 PCR 方法测定各时钟基因 mRNA 的表达水平,结果以与 18s RNA 表达量比值表示。条件为:95℃预变性 30 s;95℃变性 5 s,60℃退火 30 s,共 40 个循环,引物见表 1。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,数据

用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 Duncan's multiple range test 方法处理,对实验数据进行多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同摄食模式对脑内生物钟基因表达的影响

自由摄食条件下,小鼠脑内生物钟基因 Clock、Bmal1、Cry1、Cry2、Per1、Per2 的表达均呈现良好的节律性,且表达模式相似(图 1)。与自由摄食组比较,明、暗期摄食组 Clock、Bmal1、Cry1、Cry2 的相位偏移 8 h(均由 20:00 偏移至 4:00),且峰值减小(Clock 分别减少了 28.5%、47.4%,Bmal1 分别减少了 37.5%、56.5%,Cry1 分别减少了 44.4%、50.0%,Cry2 分别减少了 70.6%、81.8%)。有趣的是,Cry1、Cry2 在明期的表达模式相反,但在暗期的表达模式相似。与自由摄食组比较,明期摄食条件下 Per1 和 Per2 的相位发生同步偏移(均由 20:00 偏移至 8:00,偏移 12 h),峰值减小(Per1 减少了 66.7%、Per2 减少了 79.6%);暗期摄食条件下,Per1 的表达模式与自由摄食组相似,而 Per2 的相位偏移 8 h(由 20:00 偏移至 4:00),Per1、Per2 的峰值分别减少了 76.7%、85.9%。

2.2 不同摄食模式对小鼠肝脏生物钟基因表达的影响

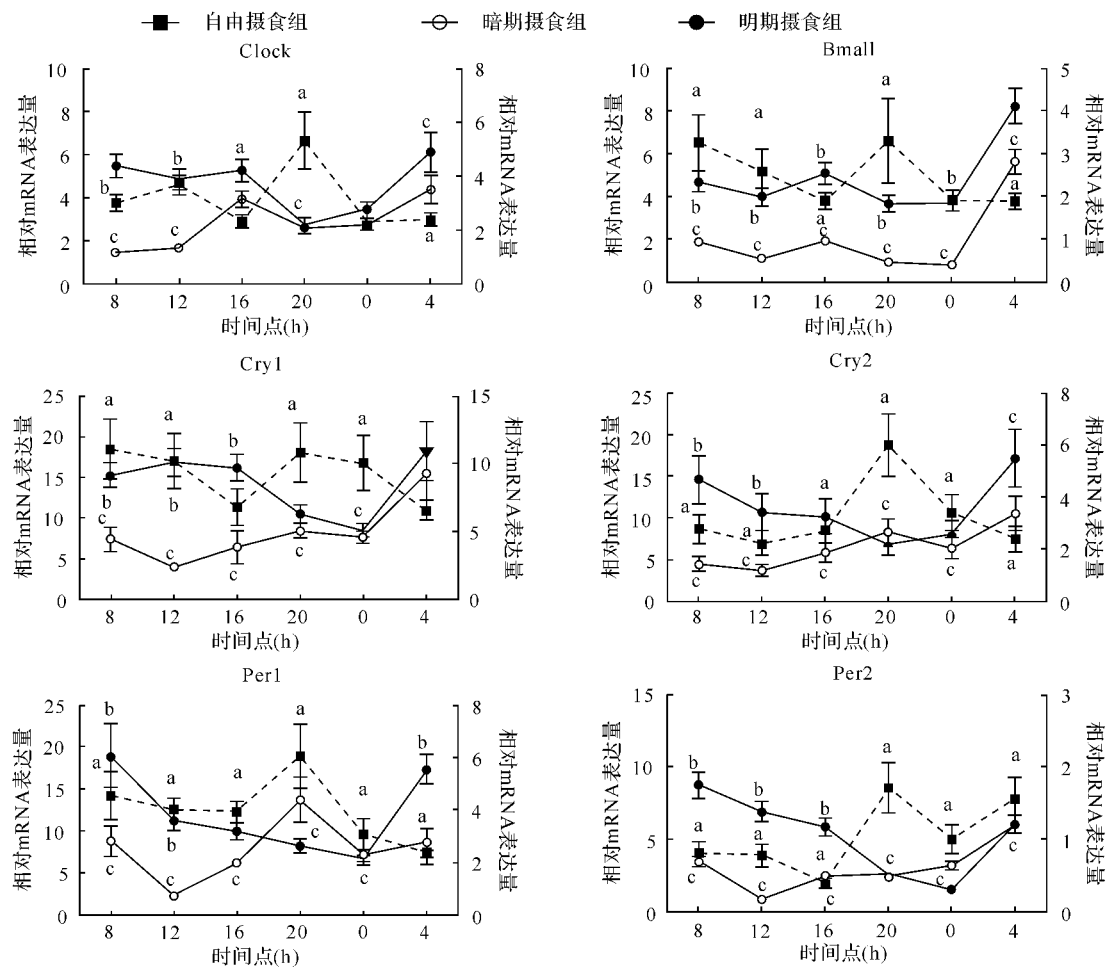
不同摄食模式对小鼠肝脏生物钟基因表达的影响如图 2 所示。各组小鼠肝脏中各生物钟基因的表达均具有良好的节律性。

与自由摄食组相比,明期摄食组 Clock 相位偏移 8 h 至明期第二阶段(12:00);Bmal1、Cry1 的相位偏移 12 h 至明期第三阶段(16:00),Per1 的相位偏移 12 h 至明期第一阶段(8:00),Per2 的相位偏移 4 h(由 20:00 至 16:00)。不同的是,明期摄食条件下,Cry2 的表达模式与自由摄食条件下相似。

与自由摄食组相比,暗期摄食组 Clock 和 Bmal1 的相位分别偏移 8 h(至 12:00)和 4 h(至 0:00);Cry1 的相位偏移 4 h(至 8:00),Cry2 的表达模式

表 1 实时荧光定量 PCR 检测基因引物
Table 1 The specific primers used for the real-time quantitative PCR

基因名称	上游引物	下游引物
Clock	TCACCACGTTCACTCAGGACA	AAGGATTCCCATGGAGCAA
Bmal1	ACAATGAGCCAGACAACG	TTCCCATCTATTGCGTGT
Cry1	CGACGACCATGATGAGAACT	ACAACCGAAGCGAGATAAG
Cry2	TCCCAAGGCTGTTCAAGG	GTGGTTTCTGCCCATTCA
Per1	TGAAGCAAGACCGGGAGAG	CACACACGCCATCACATCAA
Per2	CACCTGCCTCCGAAATAA	ACTACTGCCTCTGGACTGG
Rev-erba	CCCTGGACTCCAATAACAACACA	GCCATTGGAGCTGTCACTGTAG
CPT-1-a	GCCAGGAGGTCATAGAGACAT	GAGTCATGGAAGCCTCATACG
FAS	AGGGCTCGACCTGCTCTCA	GCCATGCCAGAGGCTGCTT
SREBP1-c	GGAGCCATCGATGCACATT	GGCCCCGGAAGTCACTGT
PPARa	GTACGGCAATGGCTTTATCA	CAATCCCTCTGCAACTT
Dbp	CTTTTGACCTCGGAGACAC	ACCTCCGGCTCCAGTACTTC
18s	GTTGCTGAGCGATTGTCTG	TTGCTCAATCTCGGCTGGC



左侧纵坐标代表的是自由摄食组,右侧纵坐标代表的是明、暗期摄食组。自由摄食组与明期摄食组比较,^a $P < 0.05$;明期摄食组与暗期摄食组比较,^b $P < 0.05$;自由摄食组与暗期摄食组比较,^c $P < 0.05$ ($n = 5$)。

图1 不同摄食模式下小鼠脑内生物钟基因 Clock、Bmal1、Cry1、Cry2、Per1、Per2 的表达

Fig. 1 Daily expression of intracerebral Clock, Bmal1, Cry1, Cry2, Per1, Per2 under an LD cycle in different feeding modes

与自由摄食组相似,但 Cry1 和 Cry2 的峰值均低于自由摄食组(减少了 48.5% 和 9.1%);Per1、Per2 的表达模式自由摄食组相似,但是 Per1 在整个周期的表达量明显上调(增加至 2.4 ~ 9.2 倍),而 Per2 在整个周期的表达量则下调(减少了 9.1% ~ 82.4%)。

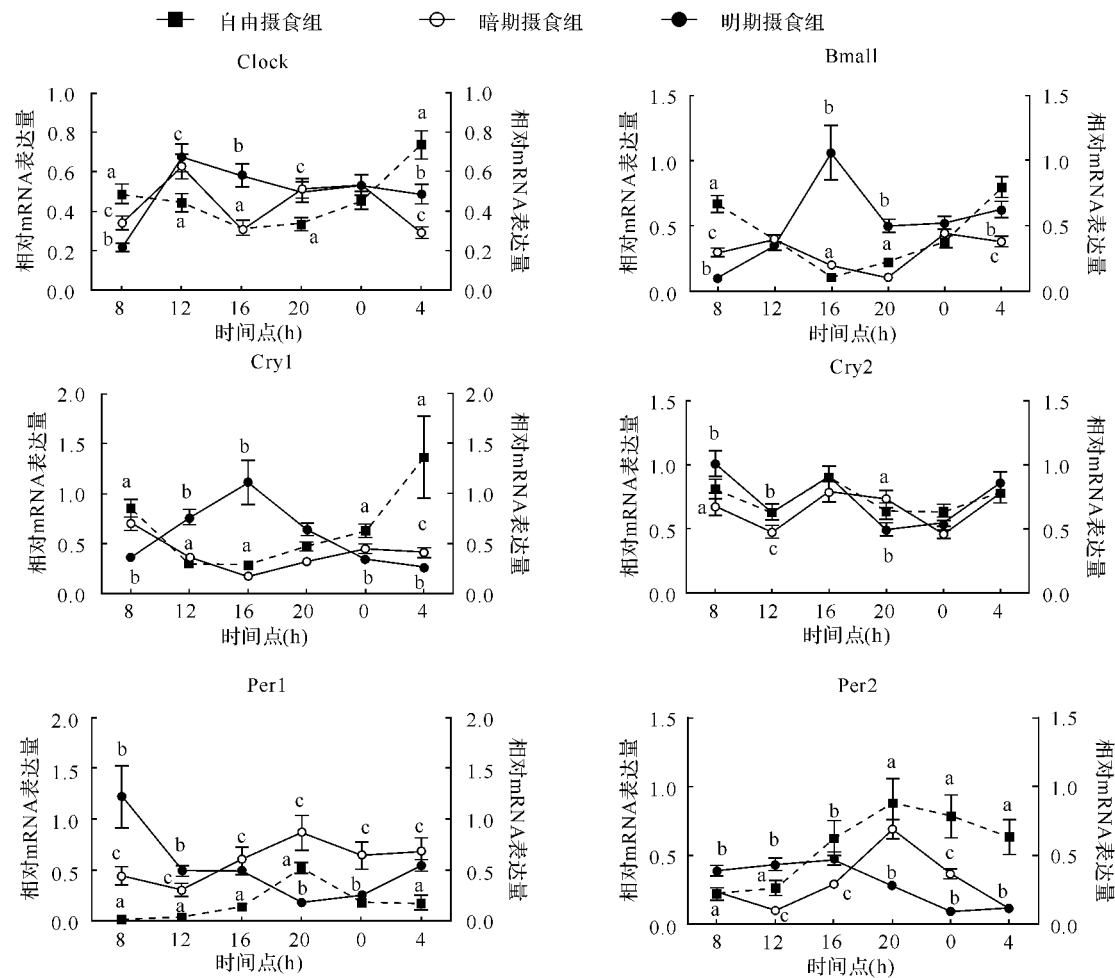
2.3 不同摄食模式对小鼠肝脏内钟控基因表达的影响

不同摄食模式对 ICR 小鼠肝脏钟控基因表达的影响如图 3 所示。自由摄食条件下,Rev-erb α 、Dbp 的表达均表现出良好的节律性。与自由摄食组比较,明、暗期摄食条件下,Rev-erb α 的峰值均减小(减少了 50.0%、70.6%),相位分别偏移 16 h (至 4:00)、4 h (至 16:00)。同样地,与自由摄食组比较,明、暗期摄食条件下,Dbp 的

峰值减小(减少了 90.5%、64.3%),相位分别偏移 8 h (至 8:00)、4 h (至 20:00)。此外,明、暗期摄食条件下 Rev-erb α 、Dbp 的表达模式相反。

2.4 不同摄食模式对小鼠肝脏脂质代谢基因节律的影响

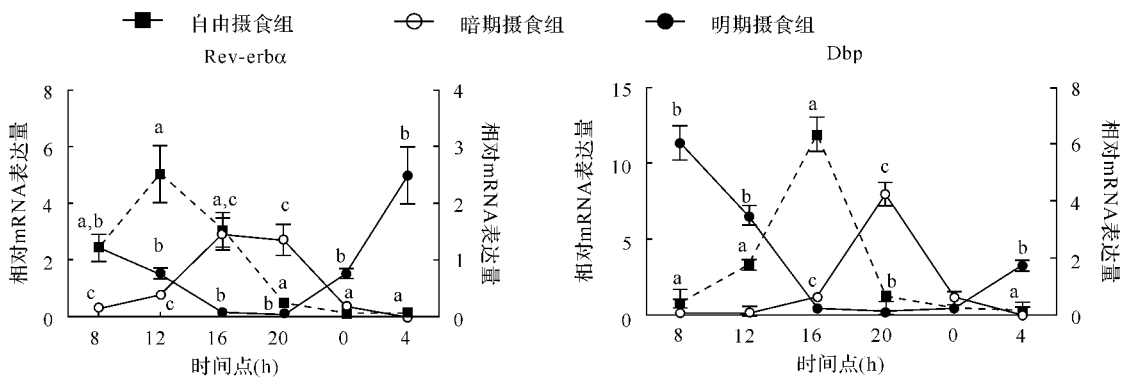
改变固有的摄食模式对小鼠肝脏钟控基因表达的影响如图 4 所示。自由摄食条件下,SREBP1-c、FAS 均表现出良好的节律性,且二者的表达模式相似。与自由摄食组相比,明期摄食组 SREBP1-c、FAS 的相位同时偏移 8 h,峰值均明显下调(减少了 81.8%、33.3%),但二者的表达模式依旧相似。与自由摄食组相比,暗期摄食组 SREBP1-c 的峰值明显低于自由摄食组(减少了 77.3%),节律性减弱;FAS 的表达模式虽与自由摄食组相似,但峰值明显减小(减少了 58.3%)。



左侧纵坐标代表的是自由摄食组,右侧纵坐标代表的是明、暗期摄食组. 自由摄食组与明期摄食组比较,^a $P < 0.05$;明期摄食组与暗期摄食组比较,^b $P < 0.05$;自由摄食组与暗期摄食组比较,^c $P < 0.05$ ($n = 5$).

图2 不同摄食模式下小鼠肝脏生物钟基因 Clock、Bmal1、Cry1、Cry2、Per1、Per2 的表达

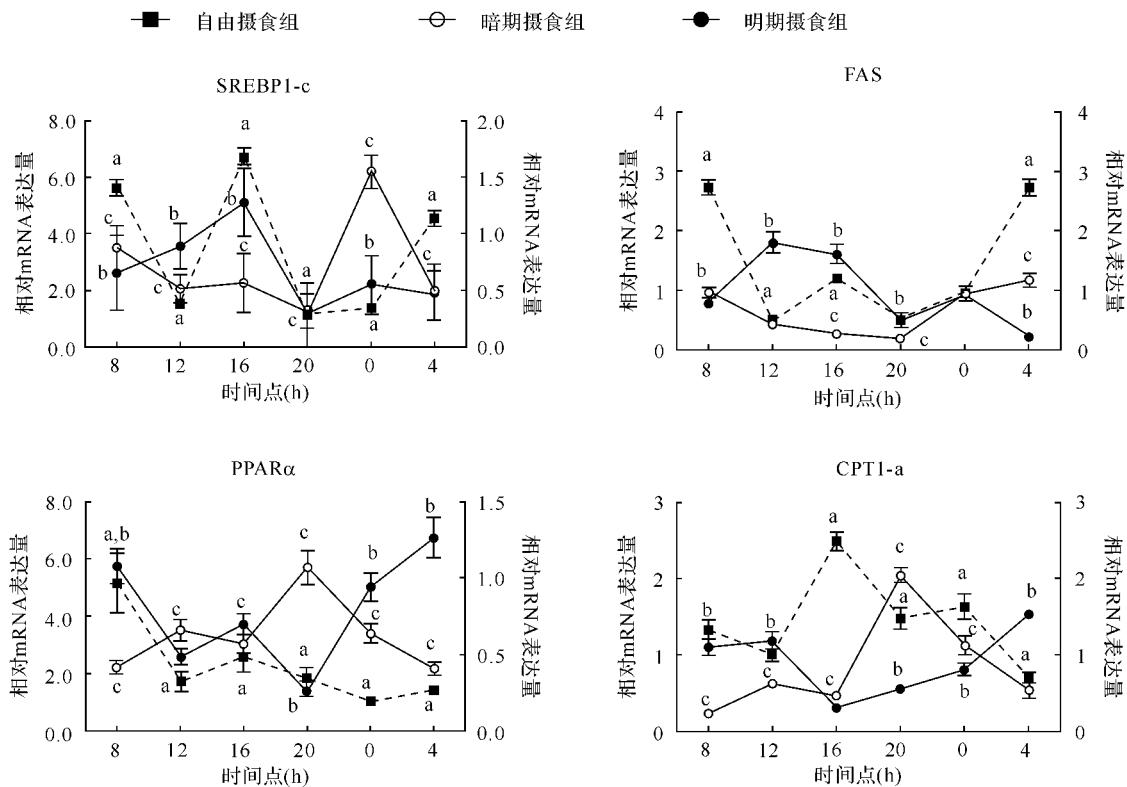
Fig.2 Daily expression of hepatic Clock, Bmal1, Cry1, Cry2, Per1, Per2 under an LD cycle in different feeding modes



左侧纵坐标代表的是自由摄食组,右侧纵坐标代表的是明、暗期摄食组. 自由摄食组与明期摄食组比较,^a $P < 0.05$;明期摄食组与暗期摄食组比较,^b $P < 0.05$;自由摄食组与暗期摄食组比较,^c $P < 0.05$ ($n = 5$).

图3 不同摄食模式下小鼠肝脏钟控基因 Rev-erb α 、Dbp 的表达

Fig.3 Daily expression of hepatic clock-controlled genes Rev-erb α , Dbp under an LD cycle in different feeding modes



左侧纵坐标代表的是自由摄食组,右侧纵坐标代表的是明、暗期摄食组。自由摄食组与明期摄食组比较,^a $P < 0.05$;明期摄食组与暗期摄食组比较,^b $P < 0.05$;自由摄食组与暗期摄食组比较,^c $P < 0.05$ ($n = 5$)。

图4 不同摄食模式下小鼠肝脏中基因 SREBP1-c、PPAR α 、FAS、CPT1-a 的表达

Fig.4 Daily expression of hepatic SREBP1-c, PPAR α , FAS, CPT1-a under an LD cycle in different feeding modes

同样,自由摄食条件下,PPAR α 与 CPT-1 α 的节律性良好,二者表达模式相似。与自由摄食组比较,明、暗期摄食条件下 PPAR α 的相位分别偏移至 4:00 (暗期-活动相位)、20:00,峰值分别减小了 75.0%、79.2%;CPT 的相位与 PPAR α 发生同步偏移,分别偏移至 4:00 (暗期-活动相位)、20:00,峰值分别减小了 16.7%、37.5%。

3 讨论

研究表明,节律基因表达的变化与体内代谢有密切的关系,Clock 基因突变后,会影响胆囊收缩素的节律性,从而破坏脂质的吸收^[8];Bmal1 基因敲除小鼠表现为血清葡萄糖和三酰甘油水平节律性减弱以及糖异生完全受到抑制^[9]。体内胰岛素、皮质酮等激素的分泌均受生物钟相关基因的调节,核激素受体在外周组织中按光/暗周期节律性的表达,表明外周生物钟与核受体信号网络之间大量的偶联关系^[10],肝脏中大部分调控食物消化和能量平衡的酶基因都节律性地表达^[11]。此外,能量的摄入也在分子水平上影响机体内在

的生物钟。长期摄食高脂饲料可以改变小鼠肝脏和肾脏内生物钟基因及钟控基因表达的节律性^[12],高脂饲料引发肥胖的小鼠在早期已经表现为明期摄食量的显著增加,节律周期延长^[13]。另外,有研究还发现暗期限食对遗传性肥胖小鼠的体重控制效果较明期限食更佳^[14]。但是,明期和暗期摄食对动物生物钟的影响差异尚不明确。

本研究首先观察了改变食物摄入的固有节律对小鼠脑内各时钟基因表达的影响。仅在明、暗期摄食模式下,脑内各生物钟基因(尤其是 Cry2、Per1、Per2)的转录水平下调,并改变了其振荡节律(相位偏移),这可能是仅在明、暗期摄食条件下对能量的一种保护机制^[1]或者脑内受摄食(能量)夹带的节律振荡器对摄食(能量)夹带的正反馈。有趣的是,仅在明、暗期摄食条件下,脑内各生物钟基因在明期的表达模式不同,但在暗期的表达模式相似,且 Clock、Bmal1 在整个周期的表达模式均相似。Wakamatsu 等^[15]发现,限食夹带小鼠大脑皮质与海马中节律基因的表达,但是不夹带 SCN 内节律振荡器^[16]。此外,下丘脑背内

侧核受损的大鼠觉醒、自主活动、体温等摄食夹带的行为受到限制,提示下丘脑背内侧核可能是摄食夹带的振荡区^[17]。虽然尚不确定摄食夹带脑内节律振荡器的准确位置和数目,但本次研究发现,改变动物固有的摄食模式可以影响脑内各生物钟基因的表达(节律改变、表达水平下调),提示摄食夹带脑内某一或某些节律振荡器中时钟基因的表达,这与之前的研究相吻合^[18]。本研究利用小鼠全脑为研究对象,脑内各节律基因出现两个峰值,分别在暗明交替时(08:00)和明暗交替时(20:00),提示两个不同时间出现的峰可能由脑内两个或多个节律振荡器发出。

已有研究表明限食可明显增加动物在摄食时间前2~3 h内的自由活动、体温^[19]、皮质酮分泌^[20]、肠胃蠕动^[21]以及消化酶^[22]的活性,即增加生物钟输出系统的振荡。对比两种摄食方式对肝脏内生物钟基因的影响,与自由摄食组相比,明期摄食组小鼠肝脏内节律基因 *Bmal1*、*Cry2*、*Per1* 的表达水平均明显上调,且不同程度地改变了各生物钟基因的表达模式;而暗期摄食组各生物钟基因的表达模式和表达水平均与自由摄食组相似(仅有 *Per1* 表达水平上调,*Per2* 表达水平下调)。提示改变固有的摄食模式(尤其在仅明期摄食的情况下)可以夹带肝脏节律振荡器,使肝脏节律振荡器的振荡更强烈。与自由摄食组相比,限食条件下(明期和暗期限食),肝脏内 *Per1* 的表达水平上调,*Per2* 的表达水平下降,两者表达水平对摄食时间的不同反馈与之前的研究相吻合^[23]。此外,肝脏是代谢和能量产生的核心器官,限食使肝脏内生物钟基因振荡维持正常水平或加强,这或许是生物钟发挥其本能协助肝脏适应外界环境(改变原有的摄食方式)以维持机体正常的代谢和能量供给的机制。

研究表明,钟控基因 *Rev-erb α* 不仅参与生物钟基因 *Bmal1* 的调控,也参与调控机体的代谢活动^[24]。此外,*Dbp* 的表达呈现节律性,并与肝 X 受体 α (*LXR α*)、法尼醇 X 受体(*FXR*)参与调节基因 *Cyp7a1* 的表达,从而调节机体胆固醇的平衡^[25]。本研究发现肝脏钟控基因的节律与摄食相偶联,改变动物固有的摄食模式会改变肝脏内钟控基因 *Rev-erb α* 、*Dbp* 的节律(相位偏移,振幅减小)。夜行动物在暗期进行摄食(约占全天摄食量的80%)、活动,所以暗期摄食虽然改变了肝

脏内各生物钟基因的表达水平,但是依旧维系原有的表达节律。明、暗期摄食条件下,肝脏生物钟基因、钟控基因的表达模式相反,而暗期摄食与自由摄食条件下的表达模式相似,提示肝脏生物钟与摄食相偶联。

SREBP1-c 通过调控下游基因 *FAS* 参与脂肪酸的合成,*PPAR α* 调控 *CPT1-a* 参与脂肪酸的 β 氧化。本研究结果显示,明、暗期摄食模式下,肝脏脂肪酸合成基因 *SREBP1-c*、*FAS* 的峰值均偏移至摄食相位,提示肝脏脂肪酸合成与摄食相偶联。*Salgado-Delgado* 等^[26] 研究发现,明期摄食并不会改变动物的活动节律(暗期活动仍占日活动量的80%),本研究发现明、暗期摄食模式下,脂肪酸分解基因 *PPAR α* 、*CPT* 的峰值均出现在暗期(活动相位),提示肝脏脂肪酸分解(供能)与活动相偶联。一个有趣的现象是,限食对肝脏钟控基因 *Rev-erb α* 、*Dbp* 与核受体 *SREBP1-c*、*PPAR α* 的影响与对脑内节律基因的影响类似,这或许缘于核受体在外周组织中按照光/暗周期节律性表达^[4],同时又参与能量代谢信号的传递(同时受摄食/能量的夹带)之故。此外,*WU* 等^[27] 研究发现,在24 h均为明期条件下逆转摄食时间可明显延长单独逆转摄食时间对外周组织节律振荡器的二次夹带周期。推测脑内受摄食夹带的节律振荡器或许通过某种神经或者化学信号与外周组织(肝脏)中的节律振荡器同步。

综上所述,改变动物固有的摄食模式会显著影响小鼠脑内及肝脏生物钟基因、钟控基因及肝脏脂质代谢基因表达的节律,提示饮食习惯的改变可通过改变生物节律影响动物的代谢状态,详细的机制值得进一步研究明确。

参考文献:

- [1] VOLLMERS C, GILL S, DITACCHIO L, et al. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2009, 106(50): 21453-21458.
- [2] REPPERT S M, WEAVER D R. Coordination of circadian timing in mammals [J]. *Nature*, 2002, 418(6901): 935-941.
- [3] PREITNER N, DAMIOLA F, LOPEZ-MOLINA L, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator [J]. *Cell*, 2002, 110

- (2):251-260.
- [4] BASS J, TAKAHASHI J S. Circadian integration of metabolism and energetic [J]. **Science**, 2010, 330 (6009):1349-1354.
 - [5] SHI S Q, ANSARI T S, MCGUINNESS O P, et al. Circadian disruption leads to insulin resistance and obesity [J]. **Curr Biol**, 2013, 23(5):372-381.
 - [6] WU T, NI Y, ZHUGE F, et al. Resetting process of peripheral circadian gene expression after the combined reversal of feeding schedule and light/dark cycle via a 24-h light period transition in rats [J]. **Physiol Res**, 2010, 59(4):581-590.
 - [7] ZHOU X L, KONG X F, ZHANG Z Z, et al. Effects of soybean oligosaccharides on development of small intestine and expression of SGLT1 and GLUT2 in weaned Huanjiang mini-piglets [J]. **Acta Nutrimenta Sinica**, 2013, 35: 48-51.
 - [8] OISHI K, ATSUMI G, SUGIYAMA S, et al. Disrupted fat absorption attenuates obesity induced by a high-fat diet in Clock mutant mice [J]. **FEBS Lett**, 2006, 580(1):127-130.
 - [9] FROY O. The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals [J]. **Front Neuroendocrinol**, 2007, 28(2-3):61-71.
 - [10] BASS J, TAKAHASHI J S. Circadian integration of metabolism and energetic [J]. **Science**, 2010, 330 (6009):1349-1354.
 - [11] 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 [J]. **Genes Dev**, 2000, 14 (23):2950-2961.
 - [12] HSIEH M C, YANG S C, TSENQ H L, et al. Abnormal expressions of circadian-clock and circadian clock-controlled genes in the livers and kidneys of long-term, high-fat-diet-treated mice [J]. **Int J Obes**, 2010, 34(2):227-239.
 - [13] KOHSAKA A, LAPOSKY A D, RAMSEY K M, et al. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice [J]. **Cell Metab**, 2007, 6 (5):414-421.
 - [14] MASAKI T, CAHIB S, YASUDA T, et al. Involvement of hypothalamic histamine H1 receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity [J]. **Diabetes**, 2004, 53(9):2250-2260.
 - [15] WAKAMATSU H, YOSHINOBU Y, AIDA R, et al. Restricted-feeding-induced anticipatory activity rhythm is associated with a phase-shift of the expression of mPer1 and mPer2 mRNA in the cerebral cortex and hippocampus but not in the suprachiasmatic nucleus of mice [J]. **Eur J Neurosci**, 2001, 13(6):1190-1196.
 - [16] HARA R, WAN K, WAKAMATSU H, et al. Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus [J]. **Genes Cells**, 2001, 6(3):269-278.
 - [17] MIEDA M, WILLIAMS S C, RICHARDSON J A, et al. The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker [J]. **Proc Natl Acad Sci**, 2006, 103(32):12150-12155.
 - [18] CASTILLO M R, HOCHSTETLER K J, TAVENIER R J, et al. Entrainment of the master circadian clock by scheduled feeding [J]. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 2004, 287(3):R551-R555.
 - [19] STEPHAN F K. The "other" circadian system: food as a Zeitgeber [J]. **J Biol Rhythms**, 2002, 17 (4):284-292.
 - [20] HONMA K I, HONMA S, HIROSHIGE T. Critical role of food amount for prefeeding corticosterone peak in rats [J]. **Am J Physiol**, 1983, 245(3):R339-R344.
 - [21] SAITO M, MURAKAMI E, SUDA M. Circadian rhythms in disaccharidases of rat small intestine and its relation to food intake [J]. **Biochim Biophys Acta**, 1976, 421(1):177-179.
 - [22] COMPERATORE C A, STEPHAN F K. Entrainment of duodenal activity to periodic feeding [J]. **J Biol Rhythms**, 1987, 2(3):227-242.
 - [23] 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 [J]. **Genes Dev**, 2000, 14 (23):2950-2961.
 - [24] BUGGE A, FENG D, EVERETT L J, et al. Rev-erb α and Rev-erb β coordinately protect the circadian clock and normal metabolic function [J]. **Genes Dev**, 2012, 26(7):657-667.
 - [25] REPPERT S M, WEAVER D R. Coordination of circadian timing in mammals [J]. **Nature**, 2002, 418(6901):935-941.
 - [26] SALGADO-DELGADO R, ANGELES-CASTELLANOS M, SADERI N, et al. Food intake during the normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work [J]. **Endocrinology**, 2010, 151(3):1019-1029.
 - [27] WU T, JIN Y, NI Y, et al. Effects of light cues on re-entrainment of the food-dominated peripheral clocks in mammals [J]. **Gene**, 2008, 419(1-2):27-34.

[本文编辑 沈敏 蒋婉洁]