

综述

生物钟基因与脂质代谢紊乱

毕 虹¹, 李浩秀¹, 李伟荣^{2*}(¹山西医科大学附属第九临床医学院, 太原 030009; ²山西省心血管病医院神经内科, 太原 030024)

摘要: 生物钟是生物适应环境节律变化形成的特殊生理机制, 具有一定的节律性。生物钟基因被证实参与调节多种生物生理活动, 如生物的各种代谢活动、细胞的凋亡与坏死、肿瘤的发生与发展炎症反应等。其中, 脂质代谢作为一项重要的代谢活动, 其紊乱可能诱发高血脂症、动脉粥样硬化等疾病。脂质代谢的调节受生物钟相关基因的调节。本文就有关生物钟的生理机制及生物钟基因参与脂质代谢调节的研究进行综述。

关键词: 生物钟; 生物钟基因; 脂质代谢

Circadian clock genes and disorders of lipid metabolism

BI Meng¹, LI Haoxiu¹, LI Weirong^{2*}(¹The Ninth Affiliated Clinical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030009, China;²Department of Neurology, Shanxi Cardiovascular Hospital, Taiyuan 030024, China)

Abstract: The biological clock is a special physiological mechanism formed by organisms adapting to changes in environmental rhythms, and has a certain rhythm. The circadian clock gene has been shown to be involved in the regulation of biological physiological activities, for example, various metabolic activities of organisms, apoptosis and necrosis of cells, occurrence and development of tumors, inflammatory reactions and so on. Lipid metabolism is an important metabolic activity in biology, the disorder of lipid metabolism may induce hyperlipidemia, atherosclerosis and other diseases. A growing number of research shows that lipid metabolism is regulated by genes associated with the circadian clock. This work reviews the physiological mechanism of the circadian clock and the involvement of circadian clock genes in the regulation of lipid metabolism.

Key Words: biological clock; circadian clock genes; lipid metabolism

生物钟是一种特殊的生理机制, 就像生物体内也存在一个“看不见的钟”, 使生物的生理功能具有一定的节律性。生物按照一定节律进行的周期性生命活动叫做生物节律, 生物钟的周期约为24 h, 也被称为近日生物钟, 除了周期约为24 h的生物节律, 还有小于24 h的超日节律与大于24 h的亚日节律。长期以来, 生物钟的研究一直是生

命科学研究的重点与前沿领域, 对于我们从系统水平阐述生命的稳态有重要意义, 2017年诺贝尔生理学或医学奖授予了三位科学家, 以表彰他们在“生物节律的分子机制方面的发现”, 这是学术界对于生物钟与生物节律研究的最高肯定。生物钟调节生物分子、细胞、生理等各方面的昼夜节律。生物钟的紊乱会导致肿瘤、代谢、睡眠等

收稿日期: 2023-03-03

基金项目: 山西省卫健委“四个一批”科技兴医创新计划重大科技专项(2021XM14)

第一作者: E-mail: 979662198@qq.com

*通信作者: E-mail: weironglee@163.com

异常, 进而影响人类健康^[1]。脂质代谢紊乱是由于脂类及其代谢产物含量发生异常变化导致的一种病理状态, 可诱发高脂血症、动脉粥样硬化等多种疾病, 是血管病高危因素^[2]。本文就有关生物钟的生理机制及生物钟基因参与脂质代谢调节的研究综述如下, 以期为更好地研究生物钟的生理机制及防治相关疾病提供理论依据。

1 生物钟的生理分子机制

进入21世纪, 随着社会竞争和工作压力的增大, 人们的生活作息也发生了巨大变化, 熬夜加班、失眠现象也较为普遍, 而目前节律紊乱已被确定为肥胖、心血管疾病和癌症等疾病的一个风险因素。这可能是目前各种“老年病”患者“年轻化”的影响因素之一。因此, 对于生物节律与生物钟的研究尤为重要。目前的研究认为, 生物钟分为中枢生物钟和外周生物钟: 中枢生物钟位于下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN), 视网膜中的神经节细胞接收光信号后, 传入中枢生物钟, 进而产生昼夜震荡; 而外周生物钟存在于外周组织细胞中, 也受中枢生物钟的调控, 因此生物整体的昼夜节律会保持在同一水平^[3]。

在分子机制层面, 哺乳动物的生物钟是由细胞自主转录-翻译反馈回路(transcription translation feedback loop, TTFL)中的激活和抑制转录因子协调的一种负反馈环路, 所有的时钟转录因子都参与其中^[4]。转录-翻译反馈环路的核心是两个转录因子: CLOCK(circadian locomotor output cycles kaput)和BMAL1(brain and muscle ARNT-like 1, 又称MOP3)。它们构成的异二聚体通过结合到特定基因片段E-box上启动下游*PER1/2/3*(Period)和*CRY1/2*(cryptochrome)基因的转录, PER蛋白和CRY蛋白也会组合成异二聚体反过来抑制CLOCK和BMAL1的活动, 构成一个负反馈环路^[5]。另外, 相关核孤儿受体ROR(RAR-related orphan receptor)和REV-ERB α/β (reverse strand of c-ERB α)构成另外一条途径, 参与调控BMAL1介导的生物钟反馈环路。还有PAR-bZIP(proline and acidic amino acid rich basic leucine zipper)相关受体, 包括DBP(D-binding protein)、TEF(thyrotroph

embryonic factor)、HLF(hepatic leukaemic factor)、NFIL3(nuclear factor, interleukin-3 regulated)/E4BP4(E4 promoter binding factor 4), 通过调控ROR和REV-ERB的表达, 进而参与调控BMAL1的波动^[6]。在分子机制上, 通过生物钟基因的表达和相关转录因子调控, 组成复杂的转录-翻译反馈环路, 这些基因和转录因子的相互作用产生内部震荡会驱动下游基因的节律性表达, 最终产生生物钟节律^[3]。参与生物钟的基因众多, 但主要还是围绕着核心生物钟基因*CLOCK*、*BMAL1*、*PER1/2/3*、*CRY1/2*及核受体REV-ERB α/β 进行研究。

2 生物钟基因与脂质代谢紊乱

目前普遍认为, 生物钟基因参与了脂质代谢的关键步骤的调节, 甚至参与生物钟基因反馈环路的核受体REV-ERB α/β , 也被证实直接参与调节脂质代谢关键调节因子(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)^[7]。下面将对近年来核心生物钟基因参与脂质代谢的研究进行综述。

2.1 BMAL1

BMAL1是最为核心的生物钟基因之一。有研究表明, 在*BMAL1*基因整体缺失的动物中, 其脂肪合成增加, 增加了高血脂、糖尿病的风险^[8]。其可能分子机制是BMAL1可激活Wnt信号通路, 抑制脂肪形成^[9]。与该结论不谋而合的是, 在原发性或继发性心脏功能障碍患者中, PPAR β 障碍是由于Wnt途径失活引起的^[10]。此外, BMAL1也可参与胆固醇水平调节, 在肝脏特异性*BMAL1*敲除的小鼠中Pcsk9/Ldl受体表达紊乱, 从而增加了血浆Ldl/Vldl胆固醇水平^[11]。对于磷脂代谢的昼夜调节, 国外研究指出, 肝脏磷脂酰胆碱是由生物钟基因通过Bmal1-REV-ERB-Chk α 轴调节的, 在*BMAL1*基因敲除的小鼠模型中, 可以通过调节Chk α 进而调节磷脂的合成^[12]。在长链脂肪酸的合成调控中, 研究报道, BMAL1介导的长链脂肪酸家族成员6(elongase of very long chain fatty acids family member 6, Elovl6)和硬脂酰辅酶去饱和酶1(astearoyl-CoA desaturase 1, *Scd1*)基因的激活减少, 参与抑制脂肪酸合成^[13]。考虑到*BMAL1*作为生物钟基因的核心基因之一, 其表达也会影响生物钟下游相关基因的表达, 因此更细化精准的生物钟基因分子参

与脂质代谢的调节机制仍需要研究。

2.2 CLOCK

CLOCK也是核心生物钟蛋白质之一,可以与BMAL1形成异二聚体,作为生物钟基因调节的起始。对于CLOCK基因参与脂质代谢紊乱的研究,多是动物模型研究。在CLOCK转录因子表达阴性且昼夜节律异常的CLOCK突变小鼠中,小鼠会出现高食性并发展为肥胖,并伴有高血糖、高血脂和肝脏脂肪变性。Pan等^[14]在CLOCK突变的小鼠中发现,昼夜节律控制机制通过缺氧信号调节脂代谢,最终造成小鼠的脂肪肝。还有研究表明,在低密度脂蛋白受体敲除和载脂蛋白E敲除动脉粥样硬化动物模型中,CLOCK突变小鼠会导致血浆胆固醇升高和动脉粥样硬化的发生^[15]。Sirtuins是一种高度保守的酶,有7个成员(SIRT1~7)具有不同的亚细胞分布,也是脂质代谢的关键调节因子,利用NAD⁺作为辅助因子参与脂质代谢调节,导致固醇调节元件结合蛋白(sterol-regulatory element binding proteins, SREBP)泛素化和降解,从而抑制脂质和胆固醇的合成^[16,17]。研究表明,CLOCK通过NAD⁺介导SIRT6的调控,进而参与脂质代谢调节^[18]。上述研究说明,CLOCK基因参与了调节哺乳动物的脂质代谢。

2.3 REV-ERB α

国外有研究指出,REV-ERB α 蛋白表达是脂肪细胞分化过程中早期细胞增殖所必需的,相关mRNA水平也随之下降;REV-ERB α mRNA的表达在蛋白质水平较低时,通过抑制PPAR γ 有效阻止脂肪形成^[7]。REV-ERB α 敲除的小鼠脂肪组织中编码脂蛋白脂肪酶的基因表达上调,同时血浆中非酯化脂肪酸水平降低^[7]。在胆固醇合成中,SREBP可在内质网(endoplasmic reticulum, ER)膜中感知胆固醇的有效性,而SREBP-2控制着胆固醇合成相关的基因,如Hmg-CoA还原酶。SREBP-1c主要调控与脂肪生成有关的基因,如编码脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)的基因^[19,20]。REV-ERB α 缺失小鼠的研究证实了分子生物钟在调节SREBP-1c及其靶基因,包括FAS、脂肪酸去饱和酶2(fatty acid desaturase 2, Fads2)、胰岛素诱导基因1(insulin induced gene 1, Insig1)和Elovl6中的重要作用^[21]。同时,该研究发现,REV-ERB α 参与肝脏

特异性miR-122的转录。REV-ERB α 通过影响SREBP通路和调节胆固醇7-羟化酶(cholesterol 7-alpha hydroxy-lase, CYP7A1)转录来调节脂质和胆汁酸代谢^[21]。

2.4 PER1/2/3

PER1/2/3作为生物钟基因环路的抑制因子之一,也与脂质代谢相关。在PER2缺失的小鼠中,脂质代谢也发生了改变,血浆甘油三酯和非酯化脂肪酸显著减少^[22]。PER2已被发现直接结合PPAR γ 并阻止其招募到启动子目标,PER2通过阻断PPAR γ 转录活性,可下调小鼠胚胎成纤维细胞向脂肪细胞的分化。生物钟可能通过PER2介导的PPAR γ 抑制Elovl3表达来调节脂肪组织中超长链脂肪酸的合成^[23]。国内研究发现,生物钟基因PER1通过AMPK/SREBP-1信号通路抑制脂肪从头合成,调节肝癌细胞的脂质代谢^[24]。

2.5 CRY1/2

有相关研究表明,CRY1通过调节典型的Wnt/ β -catenin信号通路来调控脂肪生成的分化^[25]。敲除内源性CRY1能明显抑制脂肪生成标志物的表达和脂肪滴的形成,CRY1基因缺失的小鼠在高脂饮食下更容易出现脂质蓄积和肥胖症,并且其脂肪代谢的相关酶FAS、乙酰辅酶A羧化酶1(acetyl CoA carboxylase 1, ACC1)、脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)的基因表达会上调^[26]。CRY1敲除的小鼠在高脂饮食条件下,体重和脂肪堆积相较于对照组和CRY2敲除组有所下降,提示CRY1可能具有抵抗高脂饮食下的肥胖风险的能力^[27]。在ApoeE敲除的小鼠模型中,总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)的浓度也因CRY1的过度表达而下降^[28]。近期的一组横断面研究中,在遵循健康饮食模式的人群中,CRY1 rs2287161基因多态性对BMI和脂肪质量有明显的相互作用。此外,CRY1敲除的小鼠PPAR γ 也会发生变化,提示我们CRY1基因参与了脂质调节^[29]。

3 基于生物钟基因的脂质代谢紊乱的治疗

目前,已经有大量关于生物钟基因参与脂质代谢合成的研究,根据生物钟基因发挥作用的相

关分子机制, 改善相关脂质代谢紊乱具有巨大前景。研究表明, 靶向自噬降解CRY1, 可以短暂抑制肝脏的糖异生^[30]。这可能为将来治疗高血糖提供新的靶点。国外报道, REV-ERB的受体激动剂SR9009和SR9011可以改善肥胖小鼠模型的代谢终点^[7]。另外一项研究发现, 白天进行褪黑素治疗, 显著改善了高脂肪饮食小鼠的脂质代谢障碍, 并且小鼠血清TG浓度与CLOCK mRNA呈显著正相关, 与CRY2和PER1 mRNA呈显著负相关^[31]。

4 结语

本文就有关生物钟的生理机制及生物钟基因参与脂质代谢调节的研究进行了综述。在某些脂肪酸、磷脂、胆固醇的合成中, 诸多研究表明, 生物钟相关基因参与了相关调节。而脂质代谢紊乱可能会造成脂肪肝、肥胖、动脉粥样硬化、心脑血管疾病, 提示我们针对生物钟基因参与脂质代谢调节, 更细化的分子机制及其影响的相关脂质代谢关键酶可以被研究, 从而可以针对相关基因和脂质代谢关键酶作为靶点的精准治疗。总之, 生物钟基因参与脂质代谢的机制复杂, 通过多层次全面探索生物钟基因参与脂质代谢紊乱的机制, 有助于提高人们对生物钟和脂质代谢关系的认识, 为将来通过靶向调控生物钟相关基因和代谢改善生物的脂质代谢、预防脂质代谢紊乱为基础的相关疾病提供参考。

参考文献

- [1] Rosensweig C, Green CB. Periodicity, repression, and the molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Eur J Neurosci*, 2020, 51(1): 139-165
- [2] Tangestani H, Emamat H, Yekaninejad MS, et al. Interaction of cry1 gene polymorphisms and dominant food patterns on obesity: a cross-sectional study. *Int J Prev Med*, 2022, 13(1): 51
- [3] Philpott JM, Torggrimson MR, Harold RL, et al. Biochemical mechanisms of period control within the mammalian circadian clock. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 126: 71-78
- [4] Lu Q, Kim JY. Mammalian circadian networks mediated by the suprachiasmatic nucleus. *FEBS J*, 2022, 289(21): 6589-6604
- [5] Lekkas D, Paschos GK. The circadian clock control of adipose tissue physiology and metabolism. *Auton Neurosci*, 2019, 219: 66-70
- [6] Sinturel F, Spaleniak W, Dibner C. Circadian rhythm of lipid metabolism. *Biochem Soc Trans*, 2022, 50(3): 1191-1204
- [7] Solt LA, Wang Y, Banerjee S, et al. Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists. *Nature*, 2012, 485(7396): 62-68
- [8] Lamia KA, Storch KF, Weitz CJ. Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(39): 15172-15177
- [9] Guo B, Chatterjee S, Li L, et al. The clock gene, brain and muscle Arnt-like 1, regulates adipogenesis via Wnt signaling pathway. *FASEB J*, 2012, 26(8): 3453-3463
- [10] Lecarpentier Y, Claes V, Duthoit G, et al. Circadian rhythms, Wnt/beta-catenin pathway and PPAR alpha/gamma profiles in diseases with primary or secondary cardiac dysfunction. *Front Physiol*, 2014, 5: 429
- [11] Ma D, Liu T, Chang L, et al. The liver clock controls cholesterol homeostasis through trib1 protein-mediated regulation of PCSK9/low density lipoprotein receptor (LDLR) axis. *J Biol Chem*, 2015, 290(52): 31003-31012
- [12] Gréchez-Cassiau A, Feillet C, Guérin S, et al. The hepatic circadian clock regulates the choline kinase α gene through the BMAL1-REV-ERB α axis. *Chronobiol Int*, 2015, 32(6): 774-784
- [13] Shi S, Ansari TS, McGuinness OP, et al. Circadian disruption leads to insulin resistance and obesity. *Curr Biol*, 2013, 23(5): 372-381
- [14] Pan X, Queiroz J, Hussain MM. Nonalcoholic fatty liver disease in CLOCK mutant mice. *J Clin Invest*, 2020, 130(8): 4282-4300
- [15] Pan X, Jiang XC, Hussain MM. Impaired cholesterol metabolism and enhanced atherosclerosis in clock mutant mice. *Circulation*, 2013, 128(16): 1758-1769
- [16] Nakagawa T, Guarente L. Sirtuins at a glance. *J Cell Sci*, 2011, 124(6): 833-838
- [17] Ye X, Li M, Hou T, et al. Sirtuins in glucose and lipid metabolism. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 1845-1859
- [18] Sun S, Liu Z, Feng Y, et al. Sirt6 deacetylase activity regulates circadian rhythms via Per2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 511(2): 234-238
- [19] Ponugoti B, Kim DH, Xiao Z, et al. SIRT1 deacetylates and inhibits SREBP-1C activity in regulation of hepatic lipid metabolism*. *J Biol Chem*, 2010, 285(44): 33959-33970
- [20] Zhao Q, Lin X, Wang G. Targeting SREBP-1-mediated lipogenesis as potential strategies for cancer. *Front Oncol*, 2022, 12: 952371
- [21] Le Martelot G, Claudel T, Gatfield D, et al. REV-ERB α participates in circadian SREBP signaling and bile acid homeostasis. *PLoS Biol*, 2009, 7(9): e1000181

- [22] Grimaldi B, Bellet MM, Katada S, et al. PER2 controls lipid metabolism by direct regulation of PPAR γ . *Cell Metab*, 2010, 12(5): 509-520
- [23] Mauvoisin D, Atger F, Dayon L, et al. Circadian and feeding rhythms orchestrate the diurnal liver acetylome. *Cell Rep*, 2017, 20(7): 1729-1743
- [24] 宁迪敏. 生物钟基因PER1调节脂质代谢对西黄丸抗肝癌效应的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2022
- [25] Sun S, Zhou L, Yu Y, et al. Knocking down clock control gene CRY1 decreases adipogenesis via canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(3): 746-753
- [26] Barclay JL, Shostak A, Leliavski A, et al. High-fat diet-induced hyperinsulinemia and tissue-specific insulin resistance in *Cry*-deficient mice. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*, 2013, 304(10): E1053-E1063
- [27] Griebel G, Ravinet-Trillou C, Beesk $\ddot{a}$ S, et al. Mice deficient in cryptochrome 1 (*Cry1 Δ*) exhibit resistance to obesity induced by a high-fat diet. *Front Endocrinol*, 2014, 5: 49
- [28] Yang L, Chu Y, Wang L, et al. Overexpression of CRY1 protects against the development of atherosclerosis via the TLR/NF- κ B pathway. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 525-530
- [29] Jordan SD, Kriebs A, Vaughan M, et al. CRY1/2 selectively repress PPAR δ and limit exercise capacity. *Cell Metab*, 2017, 26(1): 243-255
- [30] Toledo M, Batista-Gonzalez A, Merheb E, et al. Autophagy regulates the liver clock and glucose metabolism by degrading CRY1. *Cell Metab*, 2018, 28(2): 268-281
- [31] Yin J, Li Y, Han H, et al. Administration of exogenous melatonin improves the diurnal rhythms of the gut microbiota in mice fed a high-fat diet. *mSystems*, 2020, 5(3): e00002-20