

时间生物学概述

生理学教研室 金观源

几百年来尤其是近二十余年的研究表明,节律性也是生命的基本特征之一^[1]。从单细胞生物到人类的各种机能活动、生长繁殖、乃至某些微细的形态结构,随着时间的推移,都可能呈现某种规律性的改变,这就是生物周期性(bioperiodicity)或生物节律性(biorhythmicity),亦称生物节律(biological rhythm)。时间生物学,就是研究生物时间结构(biological time structure),或者说是研究生物节律现象及其机制的一门新兴学科^[2]。

生物节律按其周期长短一般分成三大类:亚日或日内节律(ultradian rhythm)指周期不到20h,或一日内重复二次或多次的节律。最显然的例子是睡眠深度每90~120 min一次的周期性波动。一些激素的分泌,如促性腺激素、皮质激素也有90min左右一次的周期性波动。近似昼夜节律(circadian rhythm)指周期为24h或约24h(20~28h)的节律。超日节律(infradian rhythm)指周期超过28h的节律。它包括周期约为7d、30d或一年的节律,分别称为近似周节律(circaseptan rhythm)、近似月节律(circatrigintan rhythm)与近似年节律(circannual rhythm)。最显著的例子是妇女的月经周期。成年妇女在月经周期中,其体温、性激素、免疫功能及神经精神活动、心肺功能等,都可能有月节律的波动,故亦称近似月节律(circamen-sual rhythm)。近似年节律则主要指季节性波动,故亦称季节性节律(seasonal rhythm)。人体的动脉血压、血浆激素水平、情绪波动均有近似年节律。

需要指出的是,国内在表达上述各种近似节律时,经常省略“近似”两字,其含义相同,但不确切。

1 生物节律的描述与分析

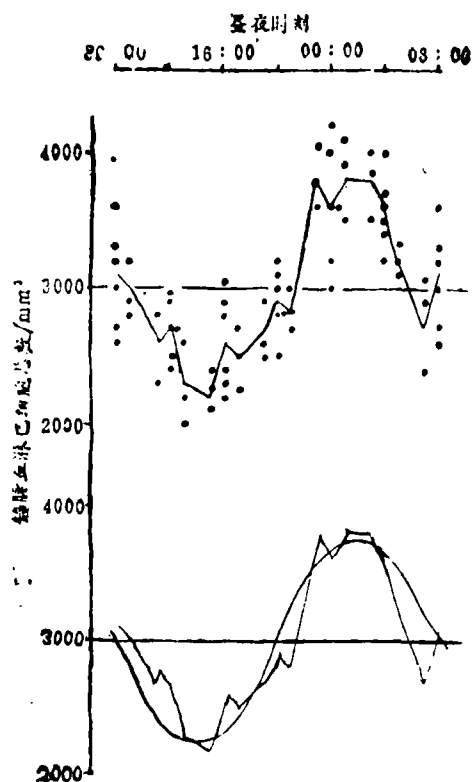
对一种生物节律的描述,首先用目测法,即把一个周期(如24h)不同时间(通常是每隔20min至4h)测得的原始数值或各点的平均值(及标准误),作为时间函数直接在坐标图上标点、联线(附图·上图)它们分别称为个体时间图与平均时间图^[2]。显然,时间图(chronogram)可对节律波形提供最初的印象,并启示可用何种现行的分析法处理。如果其波形与余弦或正弦曲线(仅起点与余弦不同)相似,则可应用Halberg等所倡导的余弦法(cosinor)^[3]进一步分析。

余弦法的基本公式是:

$$y(t_i) = M + A \cdot \cos\left(\frac{2\pi}{\tau}t_i + \phi\right)$$

式中 t_i 为周期内任一时刻。 M 是中值(指一种节律在各个时间点所测值的平均值)。 A 为振幅(代表该余弦函数的峰值和中值之间的距离)。 ϕ 是峰相,代表出现峰值的时刻与该节律相位参照点(ϕ_0)的相互关系,通常选择半夜(00:00)为节律相位参照点 ϕ_0 。 ϕ 经常用度数表示,亦可用小时或分表示,当节律的周期 $\tau = 24h = 360^\circ$ 时,1h = 15° 或 $1^\circ = 4\text{min}$ 。故如果参照点是当地时间午夜,则峰相 -15° 表示01:00(这里的负号与数学惯例一致)。根据余弦法,先以不同的周期(如24h或12h等)去试实测波形,对节律的周期 τ (及其可信限)作出估值,或根据实验条件(如

受试者处于近似 24 h 的标准化的周期下) 确定 τ 。然后就能利用最小二乘法及上述公式, 求得与实测时间序列数据最近似的函数 (通常是余弦) 曲线的三个参数: M 、 A 与 ϕ 。如附图所示, 12 例健康人静脉血淋巴细胞总数实测均值的昼夜变化曲线类似于正弦曲线 (带有小的波动), 周期为 24 h (附图, 上图)。当用余弦法分析后, 可知其 M 为 3002 ± 39 个/mm³, A 为 756 个/mm³ (95% 可信限为 503~1009), ϕ 在 02:08 (95% 可信限为 01:28~02:48) 或 -332° (95% 可信限为 $-304^\circ \sim -350^\circ$)。其最适函数曲线见附图下图。因 A 不为零 ($P < 0.0001$), 说明血淋巴细胞的昼夜波动确实具有节律性, 并不是偶然现象。



附图 健康人静脉血中淋巴细胞总数/mm³的昼夜节律^[3]

上图: 时间图 00:00~08:00; 睡眠期

下图: 余弦法所得最适曲线

由余弦法求得的参数通常用表格或图象形式表示。后者除可表示为最适余弦曲线之外, 亦可转换成极坐标, 即以其原点为圆心作圆表示周期, 在圆周上分别标出周期内各个时刻及其相应的度数。从圆心指向峰相的矢量长度表示振幅 (振幅矢量所指的时刻或度数即为峰相), 以该矢量顶点为中心所作的椭圆表示振幅的标准误 (95% 可信限), 而以原点至该椭圆的两条切线所夹的弧度表示峰相的标准误^[2]。在多变量生物节律的研究中, 在余弦法分析的基础上尚可绘制峰相图 (arcophase map)^[2], 即在同一张表中画出各变量节律峰相及其可信限, 使它们之间的关系一目了然。

利用余弦法对生物节律进行分析, 有许多优点, 如能客观证实节律性的存在 (只要 A 不为零, $P \leq 0.05$), 并使节律的参数定量化; 对于采样间隔不等的实测数据亦能分析; 并且能利用不同周期去试探, 发现调和函数 (合并有数种周期的节律波形); 应用电子计算机可在几秒钟内得出结果。但是, 它无法反映节律本身的一些微小波动, 例如用余弦法作图表示血浆皮质醇浓度的昼夜节律时, 皮质醇间发性分泌 (周期约为 40 min 至 4 h) 的亚日性节律变动就被当作“噪音”滤掉了。而且, 在某些场合, 节律的周期因不适合余弦函数甚至调和函数, 此时若用余弦法计算最适余弦曲线的峰相, 可与实际峰值时间有较大差距, 此时必须改用其他方法^[2]。

2 生物节律的一般特性

生物节律有许多特性, 其中最重要的有以下几种^[4]:

2.1 无处不在 现在知道, 几乎所有的生物, 包括植物、昆虫、鸟类、啮齿类及人类的生理功能都具有昼夜节律或年节律的变动。而且, 生物节律存在于生物功能的各级水平, 包括整体行为、系统、器官、组织乃至真核细胞水平, 可能只有前核细胞 (Prokaryo-

cytes) 例外。

2.2 内源性 尽管目前仍有极少数科学家坚持生物节律系受外源性(exogenous)地球物理力量(如磁场或宇宙辐射)所控制,但大多数时间生物学家公认,生物节律是由生物体或细胞内部的机制所控制,即属内源性节律(endogenous rhythm),其自然周期在缺乏任何环境因素或时间线索时仍持续不变。机体内的节律起搏点(Pacemaker)即所谓生物钟(biological clock)的存在已经肯定,哺乳动物昼夜节律的一个主要起搏点(或称母钟),位于下丘脑的视交叉上核^[6]。

2.3 遗传性 生物节律是由基因遗传,而不是后天习得的。1935年,Bunning在一种豆类植物中证明,其茎叶运动的昼夜节律特征可通过基因遗传。当把该植物的两种家系(Stocks)(其茎、叶运动的昼夜节律周期分别为23和27h)杂交时,子代植物的昼夜节律周期约为25h。由此他首先提出生物节律按遗传法则从一代传到下一代。近代用果蝇所作的研究,甚至已鉴定出几种有关基因^[2]。然而,尽管生物节律是遗传性的,某些外源性或内源性的因素能在相当大程度上影响它们。如近年发现的肠上皮细胞有丝分裂的节律,既受环境明暗周期影响,亦受颌下腺分泌的表皮生长因子(epidermal growth factor)所影响。

2.4 可驱动的(entrainable) 1954年,Halberg和Aschoff等认识到,环境因素的变化能影响内源性生物节律的表达,并称之为“同步因子”(synchronizer, zeitgeber 或 entraining agent),有时亦称时间线索(time cues),它可使近似昼夜节律的周期与精确的24h节律相同步^[6]。对大多数动植物来说,占优势的同步因子是光线。由地球自转而引起的明暗昼夜交替,是使自然界许多节律有精确24h周期的原

因。但对于人类来说,占优势的同步因子是社会生活方式(social regiment)即日常生活规律。

2.5 自我持续的(self-sustaining) 在除去同步因子的场合,如生物处于恒定光照或恒定黑暗条件下,生物节律并不衰减。

2.6 相对不依赖于温度 虽有报道大鼠在长期低温环境中,其软骨的生长速率增加,但该节律的周期通常不受能耐受范围的温度所影响。动物对化学性的干扰也相对不敏感。

2.7 自由运转(free-run) Aschoff等进一步证明,在环境同步因子的作用下,生物昼夜节律的周期只有小幅度的变动(24 ± 2 h)。当完全隔绝或取消同步因子后(如置于实验条件完全恒定的隔离室中),机体原先的24h精确昼夜节律将变成以其自然周期变动的自由运转性节律(free-running rhythm)。夜行性动物(如啮齿类)的自由运转节律周期短于24h,而昼行性动物(如灵长类)则长于24h。自由运转的能力对动植物都是很重要的。例如,当明暗周期随季节而变化时,机体能通过自由运转机制进行自我调整。光照期的变化,已证明是引起某些动物冬眠、移栖行为及年生殖周期等的原因。生物节律性的存在使生物能事先适应即将发生的周期性环境变化^[6]。

3 理论意义与实际应用

时间生物学使传统的稳态(homeostasis)概念得到进一步深化。长期以来,传统的稳态概念主要集中在机体内环境受扰动后才自动发生的校正反应上,或称为“反应性的稳态”。这种稳态通常依赖负反馈调节机制,对以秒、分及小时计的随机发生、无周期性、不可预言的环境刺激作出反应^[2]。从时间生物学观点来看,生物在长期进化过程中适应各种周期性(昼夜、月、年等)外环境变化,还发展了另一种稳态机制——“预

言性的稳态”。它的基础是机体内遗传性的周期或生物钟，因而可使机体在环境刺激到来之前，就预先调整生理系统的调定点，使机体以最大效率激活稳态调节机制^[7]。各种内源性的生物节律都可看作是“预言性稳态”的反映。因此，对于机体的整个调节功能来说，不论是反应性稳态还是预言性稳态都是必须的，生物学者对这两者在稳态调节中的作用都应理解。

时间生物学的近代发展表明，机体在不同的时间表现为不同的生物实体^[4]。这一观点是有许多实际意义的。例如，在设计、执行生物学实验并解释其结果时，必须考虑生物节律的影响，否则会导致错误的结论。如Halberg等曾对两组妇女血浆醛固酮水平进行观测，每100min测一次，连续观察24h，虽然年轻组（20~21岁）与年老组（52~59岁）的24h均值几乎相同，但两组昼夜节律的振幅有差异。即如果仅在08:00一次采样比较，将发现年轻组较高；如果仅在16:00采样，则又会得出年老组较高的结果；如果是在13:00采样，则两组将无差异。总之，实验结果及其结论将随所选择的单次实验时间而截然不同。几乎可以肯定，除非我们在设计与执行实验方案时，进行24h多个时间点采样，否则将会得出许多错误的结论。

近十多年来，时间生物学已渗透到医学的各个学科，时间生理学、时间病理学、时间流行病学、时间药理学、时间免疫学、时间毒理学、时间营养学、时间诊断学与时间治疗学等的研究均非常活跃。越来越多的证据表明，人体的病理过程及对药物的反应也有节律性变化，即人体既有最易患病或发作症状的时刻，对药物治疗也有毒副作用最小、效果最佳的时机^[8~12]。Halberg在实验中发现将一定剂量的内毒素授予活动期的小鼠（夜间）其死亡率为15%，而给予静止

结束时的小鼠其死亡率增至88%，说明内毒素作用与昼夜节律有关。提示人们在疾病的治疗上应选择最适当的时间用药，使之发挥最大的疗效，所谓时间治疗法（chronotherapeutics）应运而生，它冲破了传统均分给药法的束缚。人们在合理应用激素、降低抗肿瘤药毒性、提高某些难治病症（如肿瘤、精神病、睡眠障碍等）疗效方面均具有巨大的潜力。

时间生物学与医学的结合，将使医学进入四维时空^[13]，或者说形成一门新的学科——时间医学。它不但在疾病的治疗上，而且在疾病的诊断及预防等方面均有深远的意义。利用时间的力量与疾病作斗争，将是每个医生必须具备的科学观念^[13]。

参 考 文 献

1. Halberg F, et al. *Chronobiologia* 1977; 4 (Suppl 1): 1
2. Pauly J E. In: Vidrio E A, et al ed. *Biological Rhythms in Structure and Function*. New York: Alan R Liss Inc 1981: 1~21
3. Nelson W, et al. *Chronobiologia* 1979; 6: 305
4. Reinberg A and Smolensky MH. *Biological Rhythms and Medicine*. New York: Springer-Verlag 1983: 1~48
5. 金观源. 浙江医科大学学报 1987; 16(5): 232
6. Halberg F. *Ann Rev Physiol* 1969; 31: 675
7. Moore-Ede MC. *Am J Physiol* 1986; 250(5): R735
8. 伊藤真次, 吴今义译. 人体昼夜节律. 重庆: 重庆出版社, 1983: 1
9. 金观源. 浙江医学 1986; 8(2): 14
10. 金观源. 生物钟与健康. 福州: 福建科技出版社, 1988: 1
11. Reinberg A, et al. *Annual Review of Chronopharmacology*. Vol. 2, Oxford, Pergamon Press 1985: 1
12. Smolensky MH. *Path Biol* 1987; 35: 991
13. Dossey L. 世界科学 1983; 4: 32

（1988年1月19日收稿，同年4月20日修回）