

## 昼夜节律与急性缺血性脑卒中相关性机制的研究进展

何苗 尤晶 史静 周峰 李伟荣

030000 太原,山西医科大学附属第九临床医学院(何苗、尤晶、史静、周峰);030000 太原,山西医科大学附属精神卫生医院(李伟荣)

通信作者:李伟荣,Email:weironglee@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2022.10.011

**【摘要】** 昼夜节律是表现为约24 h内源性振荡的诸多生物过程,受到生物钟基因调控,其同步对分子、细胞、器官、系统和整个生物体水平的生理稳态至关重要。急性缺血性脑卒中显示出昼夜节律的时间趋势,相关研究表明,昼夜节律紊乱可能是急性缺血性脑卒中的重要危险因素,对急性缺血性脑卒中的干预可能具有时间依赖效应。现就昼夜节律参与急性缺血性卒中的机制进行综述,并概述未来研究方向。

**【关键词】** 昼夜节律; 生物钟基因; 缺血性脑卒中; 综述

**基金项目:** 山西省医学重点科研项目(2021XM14);山西省重点研发计划项目(201903D321226)

### Mechanism research progress of the correlation between circadian rhythm and acute ischemic stroke

He Miao, You Jing, Shi Jing, Zhou Feng, Li Weirong

The Ninth Clinical Medical School of Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China (He M, You J, Shi J, Zhou F); Mental Health Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China (Li WR)

Corresponding author: Li Weirong, Email: weironglee@163.com

**【Abstract】** Circadian rhythm is a series of biological processes that oscillate within about 24 hours and are regulated by clock genes, whose synchronization is critical to the physiological homeostasis of molecular, cellular, organ systems and the whole organism. Acute ischemic stroke shows a temporal trend of circadian

- 
- [43] Zhang Q, Yin J, Xu F, et al. Isoflurane post-conditioning contributes to anti-apoptotic effect after cerebral ischaemia in rats through the ERK5/MEF2D signaling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(8): 3803-3815. DOI: 10.1111/jcmm.16282.
- [44] Lord C, Elsabbagh M, Baird G, et al. Autism spectrum disorder[J]. Lancet, 2018, 392(10146): 508-520. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31129-2.
- [45] Pfeiffer BE, Zang T, Wilkerson JR, et al. Fragile X mental retardation protein is required for synapse elimination by the activity-dependent transcription factor MEF2 [J]. Neuron, 2010, 66(2): 191-197. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.03.017.
- [46] Li Z, McKercher SR, Cui J, et al. Myocyte enhancer factor 2C as a neurogenic and antiapoptotic transcription factor in murine embryonic stem cells[J]. J Neurosci, 2008, 28(26): 6557-6568. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0134-08.2008.
- [47] de Araujo CA. Autism: an 'epidemic' of contemporary times?[J]. J Anal Psychol, 2022, 67(1): 5-20. DOI: 10.1111/1468-5922.12746.
- [48] Jin SX, Higashimori H, Schin C, et al. Astroglial FMRP modulates synaptic signaling and behavior phenotypes in FXS mouse model[J]. Glia, 2021, 69(3): 594-608. DOI: 10.1002/glia.23915.
- [49] Tsai NP, Wilkerson JR, Guo W, et al. FMRP-dependent Mdm2 dephosphorylation is required for MEF2-induced synapse elimination[J]. Hum Mol Genet, 2017, 26(2): 293-304. DOI: 10.1093/hmg/ddw386.
- [50] Casingal CR, Kikkawa T, Inada H, et al. Identification of FMRP target mRNAs in the developmental brain: FMRP might coordinate Ras/MAPK, Wnt/ $\beta$ -catenin, and mTOR signaling during corticogenesis[J]. Mol Brain, 2020, 13(1): 167. DOI: 10.1186/s13041-020-00706-1.
- [51] Adrião A, Santana I, Ribeiro C, et al. Identification of a novel mutation in MEF2C gene in an atypical patient with frontotemporal lobar degeneration[J]. Neurol Sci, 2022, 43(1): 319-326. DOI: 10.1007/s10072-021-05269-0.

(收稿日期: 2022-04-23)

(本文编辑: 赵金鑫)

rhythm. Related studies suggest that circadian rhythm disturbance may be an important risk factor for acute ischemic stroke, and intervention for acute ischemic stroke may have a time-dependent effect. This review discusses the mechanisms of circadian rhythm involvement in acute ischemic stroke and outlines future research directions.

**【 Key words 】** Circadian rhythm; Biological clock genes; Ischemic stroke; Review

**Fund programs:** Key Medical Scientific Research Project of Shanxi Province(2021XM14); Key Research and Development Project of Shanxi Province (201903D321226)

全球疾病负担研究(global burden of disease study, GBD)数据显示,卒中是我国成人致死、致残的首位病因,其中,急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)的发病率目前仍处于逐年上升的阶段<sup>[1]</sup>。因此,积极预防 AIS 的发生,改善 AIS 的发展及预后,具有广泛的前景。相关研究提出,除了常见的高危因素外,生物钟基因及昼夜节律与 AIS 的发生、发展和防治也紧密相关。AIS 的发病时间具有昼夜节律的特点,高危时段为上午 6:00—12:00,与其他时段比较,发病率增加了 79%<sup>[2]</sup>。因此,生物钟可能参与 AIS 的病理生理过程,是卒中潜在的干预靶点。现从直接影响与间接影响两方面深入探讨生物钟与 AIS 的关系。

### 一、生物钟基因与昼夜节律

哺乳动物的细胞自主分子钟是由 2 条紧密相连的转录/翻译反馈回路(transcription/translation feedback loops, TTFLs)产生的,它们共同作用产生稳固的 24 h 基因表达节律。其中,核心 TTFL 由 4 个完整的生物钟蛋白(CLOCK、BMAL1、PER 和 CRY)以及调节磷酸化的激酶(CKI $\alpha$ 、CKI $\delta$  和 CKI $\epsilon$ )、磷酸酶(PP1、PP5)驱动,从而定位和稳定这些生物钟蛋白。具体表现为生物钟核心基因 Bmal1、Clock 表达产生的蛋白构成 Clock/Bmal1 异二聚体,激活下游 Per、Cry 基因以及其他钟控基因的转录<sup>[3]</sup>。PER 和 CRY 蛋白在细胞质中形成抑制性复合物,并转运到细胞核作用于 Clock/Bmal1 异质二聚体,抑制其进一步的转录激活。当 PER 和 CRY 蛋白通过泛素化降解时,其复合物对 Clock/Bmal1 异质二聚体的抑制被解除,循环再次以约 24 h 的周期开始<sup>[4-5]</sup>。其中,酪蛋白激酶 CKI $\delta$  和 CKI $\epsilon$  通过控制 PER-CRY 复合物的降解以及影响其进入细胞核的速率,在生物钟的内在周期中发挥重要作用。酪蛋白激酶 CKI $\delta$  和 CKI $\epsilon$  的活性分别受到 PP1 和 PP5 磷酸酶的抑制或调控<sup>[6]</sup>。

另一条 TTFL 则是通过 ROR $\alpha$ 、b、c 的转录激活和 REV-ERB $\alpha$ 、 $\beta$  的抑制产生的<sup>[7-8]</sup>。TTFL 驱动 Bmal1 转录的节律性变化,导致 Cry1 mRNA 表达延

迟,使其与受 Clock/Bmal1 异二聚体调节的基因相抵消。虽然 BMAL1 峰值的节律性变化并不需要驱动核心 TTFL<sup>[9]</sup>,但 ROR/REV TTFL 诱导的 Cry1 表达延迟对适当的昼夜节律至关重要<sup>[10]</sup>。两条协同、紧密相连的反馈环路确保了机体抵抗外部环境干扰的稳固性,有助于保持精准的昼夜节律,也有助于在昼夜节律的转录输出过程中产生相位延迟,从而为局部生理机能提供最佳的基因表达时间。

近年来,人们对生物钟如何驱动 24 h 计时来协调生理节律的认识不断加深,但仍然缺乏对昼夜节律分子基础以及组织依耐性生物钟调控的进一步探讨。因此,需要更多的研究来解释 24 h 昼夜节律是如何产生的,以及个体间差异是如何通过遗传突变和基因多态性影响这一节律的。此类研究也将有助于确定分子靶点和昼夜节律的药理调节机制。

### 二、昼夜节律对 AIS 的直接影响

昼夜节律可以通过调节激素水平、血管炎症、血管自身调节能力、内皮功能、血栓形成水平和内源性溶栓水平等直接导致 AIS 的发生。

1. 昼夜节律与激素水平:人体的皮质醇分泌具有明显的昼夜节律,研究证实,皮质类固醇激素通过糖皮质激素提高血管对儿茶酚胺的敏感性,以及抑制前列腺素的合成<sup>[11]</sup>,从而增强血管收缩<sup>[12-13]</sup>,脑血管收缩增强与其他因素共同作用可促进 AIS 的发生。因此,皮质醇与 AIS 的发生可能具有相关性<sup>[13-14]</sup>。同时,皮质醇的分泌以清晨 6:00—8:00 左右最高,凌晨 2:00—4:00 左右最低<sup>[15]</sup>,这与 AIS 发病高峰期相吻合,再次为两者之间的相关性提供了依据。而皮质醇这种周期性的分泌是由生物钟控制的<sup>[16]</sup>。

2. 昼夜节律与血管炎症:IL 是一类促进或抑制炎症过程的调节蛋白,在炎症反应中起着重要作用。相关研究发现,钟基因 Bmal1 可通过驱动 Nr1d1(编码 Rev-Erb $\alpha$ ) 基因的表达,从而抑制 TNF- $\alpha$  及 IL-6 释放<sup>[17]</sup>。TNF- $\alpha$  可直接作用于血管内皮细胞,造成内皮损伤。更为重要的是,IL-6 是 AIS 发生发展的独立危险因素,可促进细胞间黏附分子-1 表达,而后者可参与调节白细胞迁移和黏附,是血栓形成

和炎症反应等重要生理病理过程的分子基础<sup>[18]</sup>。另一方面, IL-6还可以上调血浆纤维蛋白原和激活血小板生成素的合成, 促进局部血液凝固, 减少组织灌注<sup>[19]</sup>。Chen和Yang<sup>[20]</sup>的研究表明, 血清IL-6基因多态性与缺血性卒中的个体易感性存在相关性。动脉粥样硬化是AIS和急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)等血管事件发病的共同病理基础, 即使颅内动脉和其他相似尺寸动脉的解剖、代谢等特点有所不同, 但作为全身动脉粥样硬化的一部分, 颅内动脉粥样硬化也存在类似于冠状动脉和颅外颈动脉不稳定斑块的病理表现<sup>[21-22]</sup>。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)参与颅内外动脉粥样硬化斑块的形成和血管壁的重塑, MMPs浓度升高可能导致斑块破裂, 引起AIS和ACS等<sup>[23]</sup>。同时, MMPs活性的增强导致促炎因子IL-1 $\beta$ 的激活<sup>[24]</sup>。一项针对ACS患者的研究发现, ACS患者中MMPs的表达水平较高, 同时该类患者MMP mRNAs水平与生物钟基因mRNA水平呈负相关, 这提示生物钟基因可通过调节MMPs的表达水平影响动脉粥样硬化斑块的稳定性<sup>[25]</sup>。目前有关生物钟基因基于MMPs与AIS相关性研究的报道较少, 随着研究的不断深入, 为两者之间的相关性探索提供了可能。

3. 昼夜节律与内皮功能/血管自身调节节律: 内皮功能的昼夜节律性在早期科学文献中都有一致的报道。研究发现在血管内皮细胞中存在时钟基因CLIF, 也被称为BMAL2<sup>[26]</sup>。外周组织中的CLOCK和BMAL2都可能直接调节纤溶酶原激活物抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)基因的昼夜表达, 从而促进晨起时血栓栓塞事件的发生<sup>[27]</sup>。Viswambharan等<sup>[28]</sup>也报道了昼夜节律钟基因Per2在内皮介导的血管反应调控中的作用, 小鼠中per2基因的缺失会损害内皮功能, 减少一氧化氮和血管舒张性前列腺素的生成, 以及增加环氧化酶-1(cyclooxygenase, COX-1)衍生血管收缩剂的释放。

清晨脑血管对CO<sub>2</sub>反应性降低和脑血管的自我调节功能受损可能是该时段卒中风险增加的潜在原因。研究发现, 与傍晚获得的测量结果相比, 大脑的自我调节能力在清晨减弱。血流介导的内皮依赖性血管舒张功能的降低可能是大脑中动脉血流速度(blood flow velocity in the middle cerebral artery, MCAv)对CO<sub>2</sub>反应性降低的部分原因。这种大脑自我调节功能的损害体现在站立后MCAv和皮质氧合血红蛋白浓度降低<sup>[29]</sup>。该现象与卒中高危人群紧

密相关, 如老年人或睡眠呼吸障碍患者<sup>[30]</sup>。

4. 昼夜节律与血栓形成水平/内源性溶栓水平: 血栓形成包括血管内皮损伤、血流状态改变、血液高凝状态三大要素。其中, 血小板功能及凝血因子浓度的改变均可影响血液凝固性, 进一步影响血栓形成。

血小板生物学显示出显著的昼夜变化。巨核细胞的形成, 以及巨核细胞表面时钟蛋白mPer2和mBmal1的表达呈现出昼夜节律性<sup>[31]</sup>。既往研究指出, 内源性昼夜节律系统对人类血小板活化具有显著的影响。3种血小板活化标志物(血小板表面GP II b-III a、血小板表面P-选择素和血小板表面GP I b)在上午8:00—9:00的内源性昼夜节律阶段达到峰值, 这与主要不良脑血管事件的高危时间(上午6:00—12:00)一致<sup>[32]</sup>。全身凝血筛查检测凝血酶原时间(prothrombin time, PT)在早晨出现最低值, 上午8:00到下午4:00 PT和活化部分凝血酶原时间(activated partial thromboplasting time, APTT)的差异程度为10%, 而APTT最长在上午8:00, 最短在下午2:00<sup>[33]</sup>。动物实验发现, F VII水平在小鼠模型中显示出明显的24 h变化规律, 在由亮到暗过渡时达到峰值<sup>[34]</sup>, 考虑到小鼠的夜间活动习惯, 小鼠在黑暗期开始时的F VII峰值则与人类在光照期开始时的F VII峰值相对应。此外, Iversen等<sup>[35]</sup>观察到F VIII活性(F VIII: C)有明显的昼夜变化, 在上午8:00左右达到峰值, 然而, 由于F VIII在循环中与血管性血友病因子(von willebrand factor, VWF)结合, 他们还假设F VIII: C的节律性变化可能在一定程度上受到其载体蛋白VWF的影响, 而关于VWF昼夜变化的报道仍存在争议, 有待进一步研究。

凝血级联的激活主要由组织纤溶酶原激活物(tissue type plasminogen activator, t-PA)及其有效抑制剂组织纤溶酶原激活因子抑制剂1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)之间的相互作用决定<sup>[36]</sup>, 传统上伴随着纤溶活性的增加, 可减弱凝血过程, 防止血管阻塞。有研究观察到纤维蛋白溶解系统各参数同样具有昼夜变化, 其中, PAI-1受内源性昼夜节律控制, 在清晨达到峰值<sup>[33]</sup>, 并受到时钟基因Bmal1的调节。研究发现, Bmal1缺乏会扰乱肝脏和血浆中PAI-1的昼夜节律<sup>[34]</sup>。相反, t-PA活性在清晨显著降低, 下午2:00开始增高<sup>[33]</sup>。

### 三、昼夜节律对AIS的间接影响

昼夜节律紊乱与AIS的高危因素有显著的相关性, 可间接造成AIS。

1. 昼夜节律基于血压调控对 AIS 的影响: 高血压是卒中的决定性危险因素, 生物钟可通过影响肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS 系统)、血管功能、肾脏离子代谢等的昼夜节律影响高血压的形成。有实验观察到 *Cry-/-* (*Cry* 基因被彻底敲除) 的高血压小鼠 RAAS 系统激素分泌的昼夜节律与对照组相反, 且循环中 24 h 激素含量显著升高, 提示 *CRY* 蛋白可能通过 RAAS 系统调节血压的昼夜节律<sup>[37]</sup>。另有研究发现, *Bmal1-/-* 小鼠血管内皮细胞中 NADPH 氧化酶表达增加, 一氧化氮轴解耦连使超氧化物浓度升高, 导致血管内皮功能障碍, 从而导致持续低血压状态<sup>[38]</sup>。与之相反, *Per-/-* 小鼠血中前列腺素与血栓素 A2 浓度升高, 血管收缩功能明显增强<sup>[39]</sup>。Solocinski 等<sup>[40]</sup>发现 *PER1* 蛋白能够通过正性调控肾小管的  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  交换器、 $\text{Na}^+$  转运蛋白和钠通道的表达来调节肾脏对  $\text{Na}^+$  的代谢。除此之外, 生物钟基因 *Clock*、*Reverb $\alpha$* 、*Reverb $\beta$* 、*Dbp* 亦参与血压的调节<sup>[41]</sup>, 或成为高血压易感基因, 基因表达水平的检测有助于更加精准地预防和治疗高血压。

2. 昼夜节律基于血糖调节对 AIS 的影响: 血糖异常与 AIS 密切相关, 中枢及外周生物钟协同作用对血糖进行调控。下丘脑视交叉上核 (superchiasmatic nucleus, SCN) 的中央时钟不仅与外周时钟同步, 而且影响糖代谢各个环节的昼夜节律, 包括睡眠-觉醒行为、食物摄入、激素分泌、胰岛素敏感性等。SCN 通过连接下丘脑区域(如室旁下区、腹外侧视前区和下丘脑背内侧)控制睡眠-觉醒周期, 并通过增强对睡眠-觉醒行为昼夜节律的调节来控制食物摄入<sup>[42-43]</sup>。此外, 研究发现, 在啮齿类动物 SCN 发生病变后的 8 周内将出现胰岛素抵抗, 提示全身胰岛素敏感性的昼夜节律是受 SCN 控制的<sup>[44]</sup>。在针对人类的研究中, 同样也观察到了 SCN 在控制胰岛素敏感性方面的作用<sup>[45]</sup>。

在外周组织中, 肝脏、小肠、肌肉、脂肪等在维持血糖稳定中扮演着重要角色。其中, 小鼠肝特异性 *BMAL1* 缺陷可使葡萄糖转运蛋白-2 (glucosetransporter, *Glut2*) 的表达以及空腹血糖的昼夜节律性受损<sup>[46]</sup>, *CLOCK* 通过调控 *Gys2* (肝糖原合成的限速酶) 的转录激活调节肝糖原合成的昼夜节律<sup>[47]</sup>, 肝脏中 *CRY1* 上两个不同的 LC3 相互作用区 (LC3-interacting regions, LIRs) 可通过调节 *CRY1* 的自噬降解来发挥调控血糖昼夜节律的作用, 揭示了 LIRs 是血糖调节的潜在靶点<sup>[48]</sup>; 除此之外, *BMAL1* 通过调节膜糖

转运体的表达, 从而使小肠最大单糖摄取的时间与习惯摄食期相匹配<sup>[49]</sup>; *CLOCK* 和 *BMAL1* 通过改变蛋白质水平和葡萄糖转运蛋白-4 (glucosetransporter, *Glut4*) 的膜转位来调节肌肉组织的胰岛素敏感性<sup>[50]</sup>, 以及通过表达去乙酰化酶 *SIRT1* 来调节胰岛素信号通路<sup>[51]</sup>; 啮齿类动物的数据表明, 视黄醇结合蛋白受体 *STRA6* 可能参与脂肪组织胰岛素敏感性昼夜节律的调节<sup>[52]</sup>。因此, 昼夜节律紊乱可通过各个环节及组织影响血糖的调节, 从而影响 AIS 的发生。

3. 昼夜节律基于血脂代谢对 AIS 的影响: 血脂异常是 AIS 的独立危险因素, 生物钟基因在整个机体的脂质代谢中起着重要作用。既往研究表明 *Bmal1* 全基因敲除可诱导小鼠高脂血症并增强其动脉粥样硬化<sup>[53]</sup>。而最新研究发现, 肠道特异性 *Bmal1* 基因缺失可预防小鼠高脂肪喂养引起的肥胖、高脂血症和脂肪肝, 肠道生物钟基因因为脂肪吸收的加速器, 其机制为 *BMAL1* 通过直接结合启动子中的 E-box, 反式激活 *Dgat2* 基因 (编码三酰基甘油合成酶 *Dgat2*), 从而促进膳食脂肪吸收<sup>[54]</sup>。此外, *CLOCK* 和 *BMAL1* 调节脂解过程中关键酶的表达, 如脂肪甘油三酯脂肪酶 (adipose triglyceride lipase, *ATGL*)、脂蛋白脂肪酶 (lipoprotein lipase, *LPL*) 和激素敏感脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, *HSL*)<sup>[55-56]</sup>; 胆固醇 7 $\alpha$ -羟化酶 (cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase, *CYP7A1*) 是催化内源性胆固醇生物合成胆汁酸的限速酶。研究发现, *Rev-erb $\alpha$*  可通过抑制 *Lrh-1* 受体来调节 *CYP7A1*, 使 *CYP7A1* 呈现出明显的昼夜节律性<sup>[57]</sup>。由此可见, 控制生物钟基因表达可能会为血脂异常及其相关疾病带来新的切入点。

#### 四、总结与展望

昼夜节律可直接或间接影响 AIS 的发生、发展及预后。目前, 关于昼夜节律与 AIS 的相关性研究备受研究者们关注, 但其机制尚未完全明了。目前相关研究主要集中于动物实验, 临床研究较少。因此, 需要针对人类自身进行更多的研究, 以阐明生物钟基因对 AIS 的影响。此外, 随着研究的不断进展, 未来有望发现新的以分子时钟为目标的昼夜节律分子, 这使得对 AIS 患者生物钟疗法的研究成为具有潜力的研究方向。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 文章构思、文献收集、文章撰写及修订为何苗, 文章选题为何苗、尤晶, 质量控制为史静, 审校为周峰, 文章整体负责、监督管理李伟荣

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 王陇德, 彭斌, 张鸿祺, 等.《中国脑卒中防治报告2020》概要[J]. 中国脑血管病杂志, 2022, 19(2): 136-144. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2022.02.011.
- [ 2 ] Mander BA, Marks SM.  $\beta$ -amyloid disrupts human NREM slow waves and related hippocampus-dependent memory consolidation[J]. Nat Neurosci, 2015, 18(7): 1051-1057. DOI: 10.1038/nn.4035.
- [ 3 ] Huang N, Chelliah Y, Shan Y, et al. Crystal structure of the heterodimeric CLOCK: BMAL1 transcriptional activator complex[J]. Science, 2012, 337(6091): 189-194. DOI: 10.1126/science.1222804.
- [ 4 ] Busino L, Bassermann F, Maiolica A, et al. SCFFbx3 controls the oscillation of the circadian clock by directing the degradation of cryptochrome proteins[J]. Science, 2007, 316(5826): 900-904. DOI: 10.1126/science.1141194.
- [ 5 ] Shirogane T, Jin J, Ang XL, et al. SCFbeta-TRCP controls clock-dependent transcription via casein kinase 1-dependent degradation of the mammalian period-1 (Per1) protein[J]. J Biol Chem, 2005, 280(29): 26863-26872. DOI: 10.1074/jbc.M502862200.
- [ 6 ] Lee HM, Chen R, Kim H, et al. The period of the circadian oscillator is primarily determined by the balance between casein kinase 1 and protein phosphatase 1[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(39): 16451-16456. DOI: 10.1073/pnas.1107178108.
- [ 7 ] Sato TK, Panda S, Miraglia LJ, et al. A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock[J]. Neuron, 2004, 43(4): 527-537. DOI: 10.1016/j.neuron.2004.07.018.
- [ 8 ] Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERBalpha controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator[J]. Cell, 2002, 110(2): 251-260. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00825-5.
- [ 9 ] Liu AC, Tran HG, Zhang EE, et al. Redundant function of REV-ERBalpha and beta and non-essential role for Bmal1 cycling in transcriptional regulation of intracellular circadian rhythms[J]. PLoS Genet, 2008, 4(2): e1000023. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000023.
- [ 10 ] Ukai-Tadenuma M, Yamada RG, Xu H, et al. Delay in feedback repression by cryptochrome 1 is required for circadian clock function[J]. Cell, 2011, 144(2): 268-281. DOI: 10.1016/j.cell.2010.12.019.
- [ 11 ] Yang S, Zhang L. Glucocorticoids and vascular reactivity[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2004, 2(1): 1-12. DOI: 10.2174/1570161043476483.
- [ 12 ] Froese L, Dian J, Gomez A, et al. The cerebrovascular response to norepinephrine: a scoping systematic review of the animal and human literature[J]. Pharmacol Res Perspect, 2020, 8(5): e00655. DOI: 10.1002/prp.2.655.
- [ 13 ] Mohd Azmi NAS, Juliana N. Cortisol on Circadian Rhythm and Its Effect on Cardiovascular System[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(2): 676. DOI: 10.3390/ijerph18020676.
- [ 14 ] Hanak V, Somers VK. Cardiovascular and cerebrovascular physiology in sleep[J]. Handb Clin Neurol, 2011, 98: 315-325. DOI: 10.1016/b978-0-444-52006-7.00019-8.
- [ 15 ] Timmermans S, Souffriau J, Libert C. A General Introduction to Glucocorticoid Biology[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1545. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01545.
- [ 16 ] Dickmeis T. Glucocorticoids and the circadian clock[J]. J Endocrinol, 2009, 200(1): 3-22. DOI: 10.1677/joe-08-0415.
- [ 17 ] Curtis AM, Bellet MM, Sassone-Corsi P, et al. Circadian clock proteins and immunity[J]. Immunity, 2014, 40(2): 178-186. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.02.002.
- [ 18 ] Habas K, Shang L. Alterations in intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in human endothelial cells[J]. Tissue Cell, 2018, 54: 139-143. DOI: 10.1016/j.tice.2018.09.002.
- [ 19 ] Voirin AC, Perek N, Roche F. Inflammatory stress induced by a combination of cytokines (IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ ) leads to a loss of integrity on bEnd.3 endothelial cells in vitro BBB model[J]. Brain Res, 2020, 1730: 146647. DOI: 10.1016/j.brainres.2020.146647.
- [ 20 ] Chen M, Yang Y. A meta-analysis on associations of IL-6 and IL-10 polymorphisms with susceptibility to ischemic stroke[J]. J Neuroimmunol, 2019, 335: 577004. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2019.577004.
- [ 21 ] Yang WJ, Wong KS, Chen XY. Intracranial Atherosclerosis: From Microscopy to High-Resolution Magnetic Resonance Imaging[J]. J Stroke, 2017, 19(3): 249-260. DOI: 10.5853/jos.2016.01956.
- [ 22 ] Chen XY, Fisher M. Pathological Characteristics[J]. Front Neurol Neurosci, 2016, 40: 21-33. DOI: 10.1159/000448267.
- [ 23 ] Volkov AM, Murashov IS, Polonskaya YV, et al. Changes of Content of Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Expression in Various Types of Atherosclerotic Plaques[J]. Kardiologija, 2018(10): 12-18. DOI: 10.18087/cardio.2018.10.10180.
- [ 24 ] Moritake A, Kawao N, Okada K, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 is involved in interleukin-1 $\beta$ -induced matrix metalloproteinase expression in murine chondrocytes[J]. Mod Rheumatol, 2019, 29(6): 959-963. DOI: 10.1080/14397595.2018.1525018.
- [ 25 ] Zhang ZQ, Ding JW, Wang XA, et al. Abnormal circadian rhythms are associated with plaque instability in acute coronary syndrome patients[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(10): 3761-3771.
- [ 26 ] 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]. J Biol Chem, 2000, 275(47): 36847-36851. DOI: 10.1074/jbc.C000629200.
- [ 27 ] Maemura K, Layne MD, Watanabe M, et al. Molecular mechanisms of morning onset of myocardial infarction[J]. Ann N Y Acad Sci, 2001, 947: 398-402. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03972.x.
- [ 28 ] Viswambharan H, Carvas JM, Antic V, et al. Mutation of the circadian clock gene Per2 alters vascular endothelial function[J]. Circulation, 2007, 115(16): 2188-2195. DOI: 10.1161/circulationaha.106.653303.
- [ 29 ] Ainslie PN, Murrell C, Peebles K, et al. Early morning impairment in cerebral autoregulation and cerebrovascular CO<sub>2</sub> reactivity in healthy humans: relation to endothelial function[J]. Exp Physiol, 2007, 92(4): 769-777. DOI: 10.1113/expphysiol.2006.036814.
- [ 30 ] Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, et al. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death[J]. N Engl J Med, 2005, 353(19): 2034-2041. DOI: 10.1056/NEJMoa043104.

- [ 31 ] Hartley PS, John Sheward W, French K, et al. Food-entrained rhythmic expression of PER2 and BMAL1 in murine megakaryocytes does not correlate with circadian rhythms in megakaryopoiesis[ J ]. *J Thromb Haemost*, 2008, 6(7): 1144-1152. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.02978.x.
- [ 32 ] Scheer FA, Michelson AD, Frelinger AL 3rd, et al. The human endogenous circadian system causes greatest platelet activation during the biological morning independent of behaviors[ J ]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24549. DOI: 10.1371/journal.pone.0024549.
- [ 33 ] Budkowska M, Lebiecka A, Marcinowska Z, et al. The circadian rhythm of selected parameters of the hemostasis system in healthy people[ J ]. *Thromb Res*, 2019, 182: 79-88. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.08.015.
- [ 34 ] Hemmerlyckx B, Frederix L, Lijnen HR. Deficiency of Bmal1 disrupts the diurnal rhythm of haemostasis[ J ]. *Exp Gerontol*, 2019, 118: 1-8. DOI: 10.1016/j.exger.2018.12.017.
- [ 35 ] Iversen PO, Groot PD, Hjeltnes N, et al. Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia[ J ]. *Br J Haematol*, 2002, 119(4): 1011-1016. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03953.x.
- [ 36 ] Huebner BR, Moore EE, Moore HB, et al. Thrombin Provokes Degranulation of Platelet  $\alpha$ -Granules Leading to the Release of Active Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) [ J ]. *Shock*, 2018, 50(6): 671-676. DOI: 10.1097/shk.0000000000001089.
- [ 37 ] Okamura H, Doi M, Goto K, et al. Clock genes and salt-sensitive hypertension: a new type of aldosterone-synthesizing enzyme controlled by the circadian clock and angiotensin II [ J ]. *Hypertens Res*, 2016, 39(10): 681-687. DOI: 10.1038/hr.2016.91.
- [ 38 ] Richards J, Diaz AN, Gumz ML. Clock genes in hypertension: novel insights from rodent models[ J ]. *Blood Press Monit*, 2014, 19(5): 249-254. DOI: 10.1097/mbp.0000000000000060.
- [ 39 ] Rodrigo GC, Herbert KE. Regulation of vascular function and blood pressure by circadian variation in redox signalling[ J ]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 119: 115-120. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.381.
- [ 40 ] Solocinski K, Richards J, All S, et al. Transcriptional regulation of NHE3 and SGLT1 by the circadian clock protein Per1 in proximal tubule cells[ J ]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 309(11): F933-F942. DOI: 10.1152/ajprenal.00197.2014.
- [ 41 ] Tanaka S, Ueno T, Tsunemi A, et al. The adrenal gland circadian clock exhibits a distinct phase advance in spontaneously hypertensive rats[ J ]. *Hypertens Res*, 2019, 42(2): 165-173. DOI: 10.1038/s41440-018-0148-8.
- [ 42 ] Saper CB, Scammell TE, Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms[ J ]. *Nature*, 2005, 437(7063): 1257-1263. DOI: 10.1038/nature04284.
- [ 43 ] Scheer FA, Morris CJ, Shea SA. The internal circadian clock increases hunger and appetite in the evening independent of food intake and other behaviors[ J ]. *Obesity (Silver Spring)*, 2013, 21(3): 421-423. DOI: 10.1002/oby.20351.
- [ 44 ] Coomans CP, Van Den Berg SA, Lucassen EA, et al. The suprachiasmatic nucleus controls circadian energy metabolism and hepatic insulin sensitivity[ J ]. *Diabetes*, 2013, 62(4): 1102-1108. DOI: 10.2337/db12-0507.
- [ 45 ] Morris CJ, Purvis TE, Mistretta J, et al. Effects of the Internal Circadian System and Circadian Misalignment on Glucose Tolerance in Chronic Shift Workers[ J ]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(3): 1066-1074. DOI: 10.1210/jc.2015-3924.
- [ 46 ] Ando H, Ushijima K, Shimba S, et al. Daily Fasting Blood Glucose Rhythm in Male Mice: A Role of the Circadian Clock in the Liver[ J ]. *Endocrinology*, 2016, 157(2): 463-469. DOI: 10.1210/en.2015-1376.
- [ 47 ] Doi R, Oishi K, Ishida N. CLOCK regulates circadian rhythms of hepatic glycogen synthesis through transcriptional activation of Gys2 [ J ]. *J Biol Chem*, 2010, 285(29): 22114-22121. DOI: 10.1074/jbc.M110.110361.
- [ 48 ] Toledo M, Batista-Gonzalez A, Merheb E, et al. Autophagy Regulates the Liver Clock and Glucose Metabolism by Degrading CRY1 [ J ]. *Cell Metab*, 2018, 28(2): 268-281, e4. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.05.023.
- [ 49 ] Iwashina I, Mochizuki K, Inamochi Y, et al. Clock genes regulate the feeding schedule-dependent diurnal rhythm changes in hexose transporter gene expressions through the binding of BMAL1 to the promoter/enhancer and transcribed regions[ J ]. *J Nutr Biochem*, 2011, 22(4): 334-343. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.02.012.
- [ 50 ] Dyar KA, Ciciliot S, Wright LE, et al. Muscle insulin sensitivity and glucose metabolism are controlled by the intrinsic muscle clock[ J ]. *Mol Metab*, 2014, 3(1): 29-41. DOI: 10.1016/j.molmet.2013.10.005.
- [ 51 ] Liu J, Zhou B, Yan M, et al. CLOCK and BMAL1 Regulate Muscle Insulin Sensitivity via SIRT1 in Male Mice[ J ]. *Endocrinology*, 2016, 157(6): 2259-2269. DOI: 10.1210/en.2015-2027.
- [ 52 ] Gliniak CM, Brown JM. The retinol-binding protein receptor STRA6 regulates diurnal insulin responses[ J ]. *J Biol Chem*, 2017, 292(36): 15080-15093. DOI: 10.1074/jbc.M117.782334.
- [ 53 ] Pan X, Bradfield CA, Hussain MM. Global and hepatocyte-specific ablation of Bmal1 induces hyperlipidaemia and enhances atherosclerosis[ J ]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13011. DOI: 10.1038/ncomms13011.
- [ 54 ] Yu F, Wang Z, Zhang T, et al. Deficiency of intestinal Bmal1 prevents obesity induced by high-fat feeding[ J ]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5323. DOI: 10.1038/s41467-021-25674-5.
- [ 55 ] 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[ J ]. *Faseb J*, 2012, 26(8): 3321-3335. DOI: 10.1096/fj.12-208751.
- [ 56 ] Shostak A, Meyer-Kovac J, Oster H. Circadian regulation of lipid mobilization in white adipose tissues[ J ]. *Diabetes*, 2013, 62(7): 2195-2203. DOI: 10.2337/db12-1449.
- [ 57 ] Zhang T, Zhao M, Lu D, et al. REV-ERB  $\alpha$  Regulates CYP7A1 Through Repression of Liver Receptor Homolog-1 [ J ]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46(3): 248-258. DOI: 10.1124/dmd.117.078105.

(收稿日期: 2022-04-06)

(本文编辑: 赵金鑫)