

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.24.023

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20241030.1929.011\(2024-10-31\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20241030.1929.011(2024-10-31))

## 生物钟基因在急性炎症性疾病中的研究进展\*

黄丹丹<sup>1</sup>, 刘燕<sup>2</sup>, 易竹君<sup>2△</sup>

(重庆大学附属三峡医院:1. 总院门诊部;2. 肝胆胰脾外科, 重庆 404000)

**[摘要]** 机体的昼夜节律主要受生物钟基因的调控,是生物进化的结果,在维持生物体正常功能中起重要作用。当昼夜节律受到干扰或失调时,就会产生不利的健康后果。目前研究发现生物钟基因介导的昼夜节律紊乱在急性炎症性疾病的发生发展中起重要调控作用,例如脓毒症、缺血/再灌注损伤、新型冠状病毒感染(COVID-19)等。该文综述了近年来生物钟基因在急性炎症性疾病中的研究进展,并探讨靶向生物钟基因在治疗炎症相关性疾病中的作用以及尚存在的问题。

**[关键词]** 生物钟基因;昼夜节律;急性炎症性疾病;免疫;进展;综述

**[中图分类号]** R446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)24-3806-04

### Research progress of biological clock gene in acute inflammatory diseases\*

HUANG Dandan<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>2</sup>, YI Zhujun<sup>2△</sup>

(1. Department of Outpatient; 2. Department of Hepatopancreatobiliary and Splenic Surgery, Affiliated Three Gorges Hospital, Chongqing University, Chongqing 404000, China)

**[Abstract]** The circadian rhythm of the body is mainly regulated by the biological clock gene, which is the result of biological evolution and plays an important role in maintaining the normal function of the organism. When the circadian rhythm is disturbed or disordered, it will produce adverse health consequences. The current researches find that circadian rhythm disorder mediated by biological clock gene plays an important regulatory role in the occurrence and development of acute inflammatory diseases, such as sepsis, ischemia-reperfusion injury and COVID-19. This paper reviews the research progress of biological clock gene in acute inflammatory diseases in recent years, and discusses the role of targeted biological clock gene in the treatment of inflammatory related diseases and the existing problems.

**[Key words]** biological clock gene; circadian rhythm; acute inflammation; immunology; progression; review

生物体昼夜节律主要是由遗传和环境因素共同决定<sup>[1]</sup>。不同生物体的昼夜节律存在很大差异,即使同一生物体,在生老病死的不同阶段,昼夜节律也明显不同<sup>[2]</sup>。除了个体存在昼夜节律外,机体的各种器官、细胞也存在与生物钟相关的节律,这些生物钟节律均受生物钟基因的调控。目前常见的生物钟基因有 Bmal1、Clock、隐花色素蛋白(Cry)、负性调控因子周期蛋白(Per)、Rev-Erb $\alpha$ 、Rev-Erb $\beta$  等。Bmal1 与 Clock 通过形成异源二聚体,激活 Per 和 Cry 介导的转录过程,随着 Per 和 Cry 蛋白的积累,它们通过负反馈作用,抑制 Bmal1/Clock 异源二聚体与 E-box 的结合来抑制 Bmal1/Clock 对转录的激活作用,通过形成一个负反馈调节,从而诱导机体生物钟呈节律性振荡<sup>[3]</sup>。炎症是机体最常见的病理过程,急性炎症反应通常是在外伤或被细菌感染时出现的局部或全身反

应,以局部出现红、肿、热、痛和全身出现发热等症状外,伴大量免疫细胞浸润和炎性介质分泌。近年来,生物钟基因在脓毒症、缺血/再灌注损伤、急性肾损伤和新型冠状病毒感染(COVID-19)等急性炎症性疾病中的研究也成为热点,并取得许多进展,现综述如下。

#### 1 生物钟基因与脓毒症

革兰阴性菌感染并发脓毒症休克是临床 ICU 病房感染致死的主要原因。其机制是革兰阴性菌产生的内毒素(LPS)通过与机体免疫细胞膜上 Toll 样受体 4(TLR4)结合,使免疫细胞被过度激活,产生大量包括肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-6 和 IL-1 $\beta$  在内的炎性因子,引起多器官功能损伤和衰竭,进而导致患者死亡<sup>[4]</sup>。动物实验研究表明脓毒症的死亡率与脓毒症的诱导时间密切相关,例如,在盲肠结扎穿孔术(CLP)诱导的小鼠脓毒症模型中发现与

\* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(82302430);重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2022NSCQ-BHX0711);万州区博士“直通车”科研项目(wzstc-20220126)。△ 通信作者, E-mail:792937539@qq.com。

休息期(白天)中段时间相比,在活动期(晚上)结束时进行 CLP 手术的小鼠预后更差<sup>[5]</sup>,这表明昼夜节律系统可能起重要调节作用。此外,生物钟基因 *Bmal1* 在抑制脓毒症宿主免疫应答中也发挥重要作用,在 CLP 诱导的小鼠脓毒症模型中,靶向敲除巨噬细胞 *Bmal1* 基因,不仅促进丙酮酸激酶 2(PKM2)的表达和乳酸生成,还通过增加 STAT1 依赖的免疫检查点蛋白 PD-L1 的表达,诱导 T 细胞凋亡,加重多器官功能障碍,进而增加脓毒症小鼠的死亡率<sup>[6]</sup>。LANG 等<sup>[7]</sup>探讨了光照时间对脓毒症小鼠死亡率的影响,发现与正常光照-黑暗的条件相比,持续的黑暗处理使小鼠对 LPS 的敏感性增加了 3 倍,死亡率增加了 60%,生物钟基因 *Clock* 和 *Bmal1* 在调控炎症因子干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、IL-6 和抗炎因子 IL-10 的分泌以及小鼠生存中起重要作用。有趣的是,GEIGER 等<sup>[8]</sup>研究表明是摄食,而不是光照,调控着小鼠对 LPS 的敏感性,LPS 诱导的脓毒症小鼠的死亡率与细胞因子的产生和髓系细胞中 *Bmal1* 的表达无关。相比之下,靶向敲除肝细胞中 *Bmal1* 基因会导致小鼠对 LPS 敏感性升高。在临床研究中,COIFFARD 等<sup>[9]</sup>评估了严重创伤患者脓毒症的发生与免疫系统昼夜节律的关系,通过检测不同时间点外周血中皮质醇、细胞因子、白细胞(中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞)和生物钟基因(*Bmal1*、*Per2* 和 *Per3*)水平,发现脓症患者以上所有指标的昼夜节律都受损,早期昼夜节律紊乱与脓毒症的发生密切相关,是脓毒症严重程度的一个标志。LACHMANN 等<sup>[10]</sup>发现与健康的年轻男性相比,脓症患者免疫细胞的分子节律呈生物钟基因依赖性的降低,这种生物钟基因表达的下调和免疫细胞节律性的丧失相关,可能进一步加重机体的免疫反应和器官损伤。以上研究表明生物钟基因在脓毒症的调控中起重要作用,但相关分子机制仍待进一步研究。

## 2 生物钟基因与缺血/再灌注损伤

心肌梗死是全球公共卫生重大危害,让阻塞的冠状动脉再次通血是治疗急性心肌梗死最主要的措施之一。但是,冠状动脉血液再灌注也是一把双刃剑:一方面它恢复冠状动脉血供,减轻心脏缺血损伤;另一方面也通过激活免疫细胞导致活性氧(ROS)的暴发,引起心脏缺血/再灌注损伤<sup>[11]</sup>。临床研究表明,清晨心肌缺血比其他时间更加严重<sup>[12]</sup>。这表明昼夜节律机制可能是缺血/再灌注损伤的重要调控器。此外,研究表明在心肌缺血/再灌注损伤小鼠模型中,白天心肌组织损伤更加严重,*Per2* 的水平在白天更高。下调 *Per2* 的表达,通过产生更多 ROS 介导线粒体损伤,这也从侧面说明过表达 *Per2* 可能通过减少 ROS 的产生,缓解线粒体损伤,从而保护心肌细胞<sup>[12]</sup>。ZHANG 等<sup>[13]</sup>研究发现川陈皮素能通过减轻 PI3K/AKT 介导的内质网应激(ERS)相关的心肌细胞凋

亡,从而缓解缺血/再灌注损伤。OYAMA 等<sup>[14]</sup>探究了强光照防治心肌缺血的潜在机制,发现强光能诱导小鼠心肌 *Per2* 产生,从而维持内皮细胞屏障功能。相比之下,靶向敲除内皮细胞中 *Per2* 会破坏这种屏障功能。此外,人体内昼夜节律振幅调控的机制与小鼠类似,即依赖于 *Per2* 的代谢通路。此外,用 SR9009 靶向调控昼夜节律增强子 *Rev-Erb*,有利于心肌缺血/再灌注后的长期修复,在小鼠缺血/再灌注模型中,SR9009 的治疗可抑制心肌 NLRP3 炎症小体表达,减少免疫细胞募集和炎症因子的分泌<sup>[15]</sup>。以上研究表明,生物钟基因在心肌缺血/再灌注损伤中起重要作用,通过调控昼夜节律可以防治再灌注损伤,但需要更多的临床研究进行验证。

## 3 生物钟基因与急性肾损伤

急性肾损伤是一种常见的急危重疾病,是由多种病因引起的肾功能快速下降而出现的临床综合征。根据病因发生的解剖位置不同可分为 3 大类:肾前性、肾性和肾后性。缺血/再灌注是造成肾性急性肾损伤的重要因素之一<sup>[16]</sup>。研究表明,*Bmal1* 通过与 E-box 原件结合到 *Nrf2* 基因的启动子上,从而激活 *Nrf2* 基因转录,这对 *Nrf2*/*Are* 通路的调控以及小鼠缺血/再灌注后肾脏抗氧化应激密切相关,*Nrf2*/*Are* 通路的节律紊乱可能会影响下游抗氧化蛋白的表达,说明生物钟基因可能是急性肾损伤的重要调控器<sup>[17]</sup>。此外,GUO 等<sup>[18]</sup>探究了生物钟基因 *Rev-Erba*/ $\beta$  在铁死亡和急性肾损伤中的潜在作用,在叶酸诱导的急性肾损伤模型中,分别靶向敲除 *Rev-Erba*、*Rev-Erb $\beta$*  和 *Rev-Erba*/ $\beta$ ,发现基因双敲除(*Rev-Erba*/ $\beta$ )的小鼠在急性肾损过程中预后更好,机制上,*Rev-Erba*/ $\beta$  通过抑制 *Slc7a11* 和 *HO-1*(两种铁死亡抑制基因)的转录促进铁死亡。这说明以 *Rev-Erba*/ $\beta$  为靶点抑制铁死亡可能是抑制叶酸介导的急性肾衰竭的重要途径。然而,临床研究表明,心脏手术后急性肾损伤的发生不受时间影响,这可能还涉及其他机制<sup>[19]</sup>。以上结果说明,生物钟基因在急性肾损伤中起重要调控作用。

## 4 生物钟基因与 COVID-19

目前研究表明生物钟昼夜节律紊乱也增加了 COVID-19 的患病风险<sup>[20]</sup>。FATIMA 等<sup>[21]</sup>以 18 221 例参与者为研究样本,发现轮班工作制与患 COVID-19 风险增加有关,特别是夜班工人,感染 COVID-19 的风险比白班工人更高。这说明昼夜节律和 COVID-19 易感性密切相关,这为重新审视定义 COVID-19 高风险人群的标准和给予轮班倒工人合适的干预治疗提供了理论依据。此外,SARS-CoV-2 相关基因的表达也呈现昼夜节律变化,与昼夜节律调节器的表达水平密切相关<sup>[22]</sup>。最新研究表明干扰睡眠和昼夜节律也显著增加了人群感染 SARS-CoV-2 的风险<sup>[23]</sup>。以上结果说明健康规律的作息可能降低的 COVID-

19 感染率。

## 5 昼夜节律干预

如果生物钟基因引起的昼夜节律功能障碍是导致急性炎症性疾病发展的一个关键危险因素,那么,通过调节生物钟基因的表达或恢复正常的昼夜节律理论上可能预防或减缓疾病的进展,并减轻相关临床症状。然而,在不同的生物体上,研究结果差异较大,主要体现在相关的动物研究取得了较多的阳性结果,而临床研究进展较少。例如,在动物水平上,研究发现上调巨噬细胞生物钟核心基因 *Bmal1* 的表达可降低脓毒症小鼠血清中炎症因子水平,改善脓毒症小鼠生存率<sup>[7]</sup>。此外,将脓毒症小鼠暴露在明亮的蓝光下可以增强细菌清除,减少全身炎症和器官损伤<sup>[24]</sup>。有临床研究发现,通过检测 ICU 脓毒症患者尿液中 6-磺胺褪黑素 (6-SMT) 水平来研究环境光照与褪黑素释放的相关性,发现脓毒症患者尿 6-SMT 的排泄呈昼夜变化紊乱,但进一步研究表明 6-SMT 的节律紊乱与光照无关,低强度的改变光照水平对 6-SMT 释放节律以及脓毒症患者血清中炎症因子水平并无显著影响<sup>[25]</sup>。JACOB 等<sup>[26]</sup> 研究也得到类似的结果,即光照治疗并不能有效提高患者的生存率,此外,由于 ICU 通常是恒定的光照条件,光照引起的患者睡眠不足可能会导致患者炎症反应进一步复杂化。因此,如何将生物钟基因与昼夜节律用于改善临床脓毒症患者的预后,是研究者们亟待解决的问题之一。

## 6 结 语

生物钟基因介导的昼夜节律紊乱通过改变细胞周期、凋亡和代谢在内的多种途径对脓毒症、缺血/再灌注损伤、COVID-19 等急性炎症性疾病的发生和发展起重要调节作用。虽然已经明确了生物钟基因引起的昼夜节律紊乱和急性炎症性疾病之间的紧密联系,但对其机制的探索还处于初始阶段<sup>[27]</sup>。无论是肿瘤、炎症性疾病还是其他疾病,目前报道的通过干预生物钟基因的表达或昼夜节律来治疗上述疾病的研究仍然较少,相关研究结果在不同个体以及不同种属上也存在较大差异。根据生物钟昼夜节律的特点,后续的研究方向可以考虑通过改变生活方式,包括睡眠时间、体育活动和营养时间等,进而减少急性炎症性疾病的发生,抑制病程的进展<sup>[28]</sup>。此外,生物钟基因的表达与性激素分泌密切相关,研究生物钟基因与性激素的相关性对急性炎症相关性疾病的防治可能起重要作用<sup>[29-30]</sup>。最后,根据生物钟基因表达和昼夜节律的特点合理安排药物干预时间也是至关重要的。未来的研究将有助于研究者们进一步认识生物钟基因在急性炎症性疾病发生和发展的调节作用。总之,了解和掌握生物钟基因在急性炎症性疾病进展中的分子机制,对相关疾病的防治和管理都具有重要意义。

## 参考文献

- [1] POOLE J, RAY D. The role of circadian clock genes in critical illness: the potential role of translational clock gene therapies for targeting inflammation, mitochondrial function, and muscle mass in intensive care[J]. *J Biol Rhythms*, 2022, 37(4): 385-402.
- [2] LOGAN R W, MCCLUNG C A. Rhythms of life: circadian disruption and brain disorders across the lifespan[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(1): 49-65.
- [3] LO E H, ALBERS G W, DICHGANS M, et al. Circadian biology and stroke[J]. *Stroke*, 2021, 52(6): 2180-2190.
- [4] GABARIN R S, LI M, ZIMMEL P A, et al. Intracellular and extracellular lipopolysaccharide signaling in sepsis: avenues for novel therapeutic strategies[J]. *J Innate Immun*, 2021, 13(6): 323-332.
- [5] HEIPERTZ E L, HARPER J, LOPEZ C A, et al. Circadian rhythms influence the severity of sepsis in mice via a TLR2-dependent, leukocyte-intrinsic mechanism[J]. *J Immunol*, 2018, 201(1): 193-201.
- [6] DENG W, ZHU S, ZENG L, et al. The circadian clock controls immune checkpoint pathway in sepsis[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(2): 366-378.
- [7] LANG V, FERENCIK S, ANANTHASUBRAMANIAM B, et al. Susceptibility rhythm to bacterial endotoxin in myeloid clock-knockout mice[J]. *Elife*, 2021, 10: e62469.
- [8] GEIGER S S, TRABA J, RICHOS N, et al. Feeding-induced resistance to acute lethal sepsis is dependent on hepatic BMAL1 and FXR signaling[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2745.
- [9] COIFFARD B, DIALLO A B, CULVER A, et al. Circadian rhythm disruption and sepsis in severe trauma patients[J]. *Shock*, 2019, 52(1): 29-36.
- [10] LACHMANN G, ANANTHASUBRAMANIAM B, WÜNSCH V A, et al. Circadian rhythms in septic shock patients[J]. *Ann Intensive Care*, 2021, 11(1): 64.
- [11] PEDRIALI G, RAMACCINI D, BOUHAMIDA E, et al. Perspectives on mitochondrial relevance in cardiac ischemia/reperfusion injury

- [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10:1082095.
- [12] WENG Y, LI H, GAO L, et al. PER2 Regulates reactive oxygen species production in the circadian susceptibility to ischemia/reperfusion injury in the heart[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:6256399.
- [13] ZHANG B F, JIANG H, CHEN J, et al. Nobiletin ameliorates myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis through regulation of the PI3K/AKT signal pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73:98-107.
- [14] OYAMA Y, BARTMAN C M, BONNEY S, et al. Intense light-mediated circadian cardioprotection via transcriptional reprogramming of the endothelium [J]. *Cell Rep*, 2019, 28 (6): 1471-1484.
- [15] REITZ C J, ALIBHAI F J, KHATUA T N, et al. SR9009 administered for one day after myocardial ischemia-reperfusion prevents heart failure in mice by targeting the cardiac inflammatory[J]. *Commun Biol*, 2019, 2:353.
- [16] AMINI N, MALEKI M, BADAVIDI M. Nephroprotective activity of naringin against chemical-induced toxicity and renal ischemia/reperfusion injury: a review [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2022, 12(4):357-370.
- [17] SUN Q, ZENG C, DU L, et al. Mechanism of circadian regulation of the NRF2/ARE pathway in renal ischemia-reperfusion[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(3):190.
- [18] GUO L, ZHANG T, WANG F, et al. Targeted inhibition of Rev-Erb- $\alpha/\beta$  limits ferroptosis to ameliorate folic acid-induced acute kidney injury[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(2):328-345.
- [19] NINNI S, SEUNES C, ORTMANS S, et al. Peri-operative acute kidney injury upon cardiac surgery time-of-day [J]. *Int J Cardiol*, 2018, 272:54-59.
- [20] JOSHI A, SUNDAR I K. Circadian disruption in night shift work and its association with chronic pulmonary diseases[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2023, e2200292.
- [21] FATIMA Y, BUCKS R S, MAMUN A A, et al. Shift work is associated with increased risk of COVID-19: findings from the UK biobank cohort[J]. *J Sleep Res*, 2021, 30(5):e13326.
- [22] LI J, NIE P, TURCK C W, et al. Gene networks under circadian control exhibit diurnal organization in primate organs [J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1):764.
- [23] TAYLOR L, VON LENDENFELD F, ASHTON A, et al. Sleep and circadian rhythm disruption alters the lung transcriptome to predispose to viral infection [J]. *iScience*, 2023, 26 (2): 105877.
- [24] LEWIS A J, ZHANG X, GRIEPENTROG J E, et al. Blue light enhances bacterial clearance and reduces organ injury during sepsis[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(8):e779-787.
- [25] ACUÑA-FERNÁNDEZ C, MARÍN J S, DÍAZ-CASADO M E, et al. Daily changes in the expression of clock genes in sepsis and their relation with sepsis outcome and urinary excretion of 6-sulfatoximelatonin [J]. *Shock*, 2020, 53 (5):550-559.
- [26] JACOB H, CURTIS A M, KEARNEY C J. Therapeutics on the clock: circadian medicine in the treatment of chronic inflammatory diseases [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 182: 114254.
- [27] JERIGOVA V, ZEMAN M, OKULIAROVA M. Circadian disruption and consequences on innate immunity and inflammatory response [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22):13722.
- [28] MEYER N, HARVEY A G, LOCKLEY S W, et al. Circadian rhythms and disorders of the timing of sleep[J]. *Lancet*, 2022, 400(10357): 1061-1078.
- [29] MASI D, SPOLTORE M E, ROSSETTI R, et al. The influence of ketone bodies on circadian processes regarding appetite, sleep and hormone release: a systematic review of the literature[J]. *Nutrients*, 2022, 14(7):1410.
- [30] BRACO J T, NELSON J M, SAUNDERS C J, et al. Modulation of metabolic hormone signaling via a circadian hormone and biogenic amine in *drosophila melanogaster* [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8):4266.