

生物钟核受体 ROR α 和 REV-ERB α 在血管病理生理中的作用

苏洁, 成扶雨, 卜军*

(上海交通大学医学院附属仁济医院心血管内科, 上海 200127)

[摘要] 人体的生理活动受到生物钟系统内时钟基因的调控。生物钟核受体 ROR α 和 REV-ERB α 是人体生物钟系统的重要组成部分, 二者在维持机体生物节律中发挥着重要作用。ROR α 和 REV-ERB α 亦参与调节糖代谢、脂质代谢、血管炎症反应和纤溶蛋白降解等病理生理过程。大量研究表明, 异常的昼夜节律是血管功能紊乱的独立危险因素。围绕生物钟核受体 ROR α 和 REV-ERB α 在生物节律和血管稳态调节中的作用, 对 ROR α 和 REV-ERB α 在血管病理生理过程中关键作用的最新研究进展进行综述。

[关键词] 血管稳态; 心血管疾病; 昼夜节律; 核受体; ROR α ; REV-ERB α

[中图分类号] R54; R966 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2020) 12-0906-11

Roles of Circadian Nuclear Receptor ROR α and REV-ERB α in Vascular Pathophysiology

SU Jie, CHENG Fuyu, PU Jun

(Department of Cardiovascular Internal Medicine, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China)

[Abstract] Human physiological activities follow regular circadian rhythms which are under the control of clock genes. Nuclear receptors ROR α and REV-ERB α are key components of the clock machinery, playing an important role in keeping proper timing of the clock. Furthermore, ROR α and REV-ERB α regulate glucose metabolism, lipid metabolism, vascular inflammation and fibrinolysis. A large number of studies have shown that abnormal circadian rhythm is an independent risk factor for vascular dysfunction. In this paper, we focus on the roles of ROR α and REV-ERB α in regulation of circadian rhythm and vascular homeostasis, and review the latest research progress on the roles of ROR α and REV-ERB α in the vascular pathophysiological function.

[Key words] vascular homeostasis; cardiovascular disease; circadian rhythm; nuclear receptor; ROR α ; REV-ERB α

核受体 (nuclear receptors, NRs) 是一种配体调控的转录因子, 多数 NRs 在配体激素诱导后, 可与核受体辅助调节因子结合, 从而调控下游基因的表达。NRs 参与调节能量代谢, 包括脂质的利用与储存、胆固醇的合成与分解、胰岛素信号和葡萄糖代谢信号通路等。另外, NRs 在调节免疫反应及昼夜节律等生物学功能方面发挥着重要作用。视黄酸受体相关的孤儿核受体 (retinoic acid-related orphan receptors, RORs) 和 REV-ERBs (reverse viral erythroblastosis oncogene product) 是 2 种特殊的核受体亚

群, 参与调节昼夜节律等多种生理过程。得益于二者的脂溶性, RORs 和 REV-ERBs 能够直接进入胞核参与下游基因的调控。有研究显示, 在 RORs 和 REV-ERBs 参与调控的不同生理过程中^[1], 其对血管稳态的调节以及对心血管系统的作用是多方面的, 本文将通过二者在维持血管稳态与调节血管病理重构方面的贡献进行综述, 进一步归纳生物钟核受体 RORs 和 REV-ERBs 在血管病理生理过程中的作用。

1 ROR α 和 REV-ERB α 的结构与功能

NRs 作为重要的配体激活因子, 可与其他蛋白质协同作用, 调节对机体发育、代谢平衡有重要作用的基因表达。当配体与 NRs 的配体结合域结合后, NRs 的构象发生改变, 从而募集辅因子蛋白, 以配体依赖的方式调节靶基因转录的水平。大多数 NRs 以二聚体的形式与 DNA 结合, 包括同型二聚体 (如

接受日期: 2020-05-11

项目资助: 国家杰出青年基金 (No. 81625002); 国家自然科学基金重点项目 (No. 81930007)

*** 通讯作者:** 卜军, 教授;

研究方向: 心血管内科学-冠心病事件链机制及干预;

Tel: 021-68383477; **E-mail:** pujun310@hotmail.com

类固醇激素)和异型二聚体[如类视黄醇 X 受体 (retinoid X receptors, RXRs)]^[2-3]; 少量 NRs 可作为单体与 DNA 结合, 被称为孤儿核受体。

REV-ERBs 作为孤儿核受体家族的一员, 之前由于尚未发现其配体, 其参与调节重要生理功能的作用一直被忽视。直至紫质/原血红素 (porphyrin/heme) 被发现是 REV-ERB α/β 的配体^[4-5], REV-ERBs 的作用才开始逐渐受到重视。另一个孤儿核受体亚群——RORs, 也是十分重要的昼夜节律调节因子, 它与 REV-ERBs 具有相同的 DNA 结合位点, 并且常常与之在相同的组织中表达。它们的表达与机体免疫反应和代谢过程密切相关, 了解这些受体包括它们动态的相互作用以及它们在机体生理学中的作用可进一步提高研究人员对 NRs 家族的认识。

1.1 RORs

RORs 由 3 种亚型组成, 分别为 ROR α 、ROR β 和 ROR γ , 3 种亚型呈现出高度的序列相似性, 仅在受体的氨基末端区域有一定变化^[6]。ROR α 广泛存在于哺乳动物的各种组织中, 如肝脏、骨骼肌、皮肤、肺、脂肪组织、肾脏、胸腺和大脑等^[7]。人体中存在 4 种 ROR α 亚基 ($\alpha 1 \sim \alpha 4$), 而小鼠体内只存在 2 种亚基 ($\alpha 1$ 和 $\alpha 4$)^[8]。ROR β 在体内分布不及 ROR α 广泛, 其仅限于在中枢神经系统表达, 且小鼠体内含有 2 种亚基 ($\beta 1$ 和 $\beta 2$), 而其中只有 $\beta 1$ 存在于人体^[9]。ROR γ 的 2 种亚基 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 均存在于人体和小鼠体内, 其分布较为广泛。ROR γ (主要是 ROR $\gamma 2$, 即 ROR $\gamma 2$) 在胸腺中表达量最高, 参与机体免疫反应^[10], 同时也表达在肝脏、骨骼肌、脂肪组织和肾脏。总之, 这 3 种 RORs 亚型均表现出不同的组织表达模式, 并参与特定靶基因调控的生理过程。

所有的 RORs 都能识别特定的 DNA 序列并以单体形式与之结合, 这种特定的 DNA 序列被称为 ROR 反应元件 (ROR response elements, ROREs)。当与该元件结合时, ROR 蛋白会招募共激活因子, 促进靶基因的转录。在控制节律方面, ROR 基因转录具有生物节律性, 它可通过调控生物钟关键因子 BMAL1、CLOCK 等对昼夜节律产生影响, 在敲除 *Rora* 和 *Rorb* 后, 小鼠机体代谢表现出明显的昼夜节律紊乱^[11]。

1.2 REV-ERBs

REV-ERBs 包含 2 个亚单位 REV-ERB α 和 REV-ERB β , 显示出与 RORs 同等重要的结构特异性^[1]。REV-ERBs 多存在于脂肪组织、骨骼肌、大脑和肝脏等组织。然而, 不同组织 REV-ERB α 和 REV-ERB β 特异性表达水平不同。REV-ERB α 在分布部位广泛高表达, 而 REV-ERB β 只在特定的组织中高度表达, 如 REV-ERB β 在大脑局部组织 (松果腺和前额叶皮层)、甲状腺、子宫和垂体等呈现出高水平表达的特征, 在脂肪组织等表达量极低。与 RORs 基因的转录激活作用相比, REV-ERBs 是转录抑制因子, 这是由于 REV-ERBs 缺乏 AF-2 (activation-function-2) 区域, 该区域是参与基因共激活结合过程的关键 DNA 区域。因此, REV-ERBs 与 RORs 结合在相同的 RORE 的 DNA 反应元件上, 但 REV-ERBs 负责结合辅阻遏蛋白, 如核受体辅阻遏蛋白 (nuclear receptor corepressor, NCoR)。REV-ERBs 可以作为单体结合到 AGGTCA 序列, 形成 5' AT 富集延伸区域, 这种功能为转录沉默过程。REV-ERBs 也可以作为同型二聚体与 RORE 直接结合, 形成高度稳定的同型二聚体, 起着转录抑制子的作用。

2 昼夜节律与 ROR α 和 REV-ERB α

2.1 昼夜节律

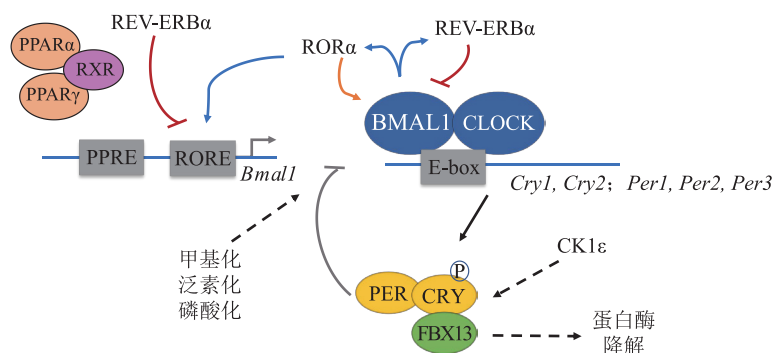
昼夜节律是指在一天内基因表达、行为以及许多生理过程发生的周期性振荡。生理节律的调节与行为、代谢活动、免疫反应和许多其他生理功能的昼夜控制是相互联系的。昼夜节律对生物体至关重要, 它使机体能够预测和优化代谢调节、激素分泌和运动活动, 以适应环境每天的变化, 如昼/夜和活动/休息周期、食物供应时间等。哺乳动物的昼夜节律钟位于下丘脑视交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, SCN), 调控并维持昼夜交替与生理功能的同步性。在昼夜周期性振荡过程中, SCN 的时钟振荡器通过整合明暗周期信号, 同时同步外周组织的自主振荡, 驱使昼夜节律相关的激素水平和酶活性发生变化, 从而调控多种代谢过程, 实现包括脂质和碳水化合物代谢、激素 (胰岛素、瘦素、皮质醇) 分泌等的昼夜节律性改变。当昼夜节律紊乱时, 多

种生物钟基因表达水平及代谢过程也会相继发生混乱^[12]。规律的工作周期及昼夜节律对于人体新陈代谢稳态的维持至关重要, 现代社会不健康的生活方式如倒班工作、倒时差、不规律的睡眠习惯或长期暴露于人造光下会对昼夜节律的平稳运作产生不良影响。有研究表明^[13-15], 昼夜节律紊乱可导致许多疾病的发生, 包括睡眠和情绪障碍、糖尿病、肥胖、神经精神疾病和癌症。

2.2 ROR α 和 REV-ERB α 的节律性调控

核受体 ROR α 和 REV-ERB α 的表达被认为是受昼夜节律钟调节的, 同时, 新近研究发现, ROR α 和 REV-ERB α 的表达或功能异常还影响诸多病理过程, 如肿瘤、心血管疾病^[16]、免疫炎症性疾病和代谢性疾病等, 而这些疾病的发生发展与昼夜节律密切相关^[17-18]。目前, 研究者们已经建立了由生物钟驱动的 NRs 表达、NRs 功能和昼夜节律之间的相互交叉联系。生物钟的周期性振荡是通过调控几种转录/翻译反馈回路实现的(见图1)。在该反馈回路中, ROR α 与 REV-ERB α 的核心功能最为关键, 它们通过调控几种生物钟基因的转录, 包括 *Bmal1* 和 *Clock* 等^[19], 实现对下游 *Period-2* (*Per2*)、隐花色素-1

(*cryptochrome-1*, *Cry1*) 和隐花色素-2 (*cryptochrome-2*, *Cry2*) 等依赖 *Bmal1* 和 *Clock* 转录的基因的调控作用。而 PER/CRY 异源二聚体浓度一旦达到临界水平, PER/CRY 异源二聚体又可进入细胞核, 转而抑制 BMAL1/CLOCK 的活化和自身转录, 并开始一个新的调节周期。这个反馈循环致使 BMAL1/CLOCK 和 PER/CRY 的表达振荡遵循昼夜节律模式。有研究表明, ROR α 可同时接受 BMAL1/CLOCK 和 REV-ERB α 的双重调控^[20]。在大鼠肝脏的 ROR α 近端启动子上, BMAL1/CLOCK 和 REV-ERB α 可被分别被招募到 E-box 和 RORE^[17]。E-box 元件中包含 2 个突变位点, 单独 E1 或 E2 的突变可降低 ROR α 的激活, 双突变则可完全消除 BMAL1/CLOCK 对 ROR α 的诱导。另外, BMAL1/CLOCK 激活的启动子可被 *Cry1* 抑制。另外有研究显示, 在 *Bmal1* 敲除小鼠肝脏中, ROR γ 亚型的表达极大地增强, 尤其是在 ZT4-8 阶段, 继而很大程度上抑制了 ROR γ 的节律性表达模式。ROR γ 的 mRNA 表达增加很大程度上是由于在 *Bmal1* 敲除肝脏中, REV-ERBs 的生物活性丧失, 导致本应在 ZT4-8 进行 *Rory* 基因抑制的过程丢失^[21]。



PPAR: 过氧化物酶体增殖物激活受体; RXR: 视黄醇X受体; PPRE: 过氧化物酶体增殖物反应元件; RORE: ROR反应元件; P: 磷酸化 (phosphorylation)

图1 ROR α 和 REV-ERB α 参与的生物钟节律性调控的分子机制

Figure 1 The molecular mechanisms of ROR α and REV-ERB α involved in the circadian clock

同时, 由于核受体 REV-ERBs、谷胱甘肽还原酶 (gluathione reductase, GR)、RORs 和过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs) 均与生物钟系统相互作用, 能够从分子水平介导巨噬细胞、T 细胞活性, 因此是联系炎症和节律的关键, 参与多种免疫性疾

病的发生发展。目前研究已经证实类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 不仅显示出病理症状的昼夜节律性^[22], 而 NRs 及其调控的代谢通路紊乱也参与 RA 的病理过程, 现已证实 RA 病理基础是免疫炎症反应, 并且存在生物钟昼夜节律紊乱的表现。因此, 通过对以上 NRs 与节律和炎症等相关性的研

究, 有望促进对 RA、肿瘤等难治性疾病发病机制认识的提升, 拓展难治性疾病的治疗手段, 进一步指导临床用药。

另一项研究表明, 在回肠中, ROR α 和 REV-ERB α 调节与 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号相关的多个节律性基因的表达。健康个体和炎症性肠病 (inflammatory bowel diseases, IBD) 患者中包括 *ARNTL2*、*NPAS2*、*PER1* 和 *ROR α* 在内的几个昼夜节律基因的表达上调, 这与这些蛋白在病理生理学中的作用一致^[23]。生理行为学实验中观察到, 敲除 *Rora* 或 *Rorb* 后的小鼠的神经精神疾病风险增加, 包括自闭症、双相情感障碍、精神分裂症、抑郁症和创伤后应激综合征, 这些病症可能与昼夜节律障碍相关^[24]。

综合来看, 这些研究都表明 ROR α 和 REV-ERB α 作为生物钟系统的重要调控因子, 调节各种免疫炎症通路的调节, 并为昼夜节律紊乱与多种疾病风险增加提供了一个可能的机制。

3 昼夜节律与血管稳态

人类的各项生理活动, 从大脑活动到心脏、肾脏或免疫功能等各个方面都表现出节律性。近年来的证据显示, 在心血管系统中, 昼夜节律与血管健康、血管稳态与重构之间关系密切^[25-26], 同时也对心血管系统的生理运作产生了重要影响^[27]。人类最明显的昼夜节律是睡眠/觉醒周期, 心率变化和血流、血管张力、纤溶活性和内皮功能都自然地受到日/夜变化的影响, 这些随时间变化的影响不仅是睡眠/清醒或休息/锻炼变化的结果, 而且还与血管固有特性的显著波动有关。因此, 昼夜节律紊乱已成为破坏血管稳态和促进心血管疾病发生发展的一大危险因素。虽然心血管疾病和昼夜节律之间的联系已有大量研究^[28-29], 但心血管生物钟调控病理生理的机制仍有待阐明, 这就需要进一步探讨组成血管系统的主要细胞类型固有的生物节律, 包括内皮细胞、血管平滑肌细胞、成纤维细胞和干细胞。

3.1 昼夜节律在血管稳态中的作用

上世纪 90 年代, 外科手术证明了 SCN 的消融可破坏血压的昼夜变化以及行为和内分泌节律^[30]。但这种初步的方法并不能从分子水平上直接洞察昼

夜节律 / 生物钟和血压之间的相互作用。随后有研究者制定了另一种方案^[31], 即通过检测大鼠主动脉对血管活性物质的敏感性, 以确定一天中收集组织的时间。作者发现主动脉血管反应性呈现出明显的时间依赖效应, 提示血管中存在潜在分子特性的周期性变化。这些发现与 Zhang 等^[32]近年的一项研究一致, 该研究表明, 小鼠主动脉转录组中有相当高比例 (约 5%) 的蛋白编码基因显示出昼夜节律性。

在改变了控制外周时钟的基因的转基因小鼠体内, 血管生理的昼夜节律控制发生了明显的改变; 在小鼠主动脉管中生物钟基因的昼夜节律表达被首次报道后^[33], 后续的一系列研究证实这些生物钟基因参与了血管生理变化。例如, 将主动脉从 *Bmal1* 敲除小鼠移植到野生型小鼠后, 受体小鼠仍然发展为严重的动脉粥样硬化, 而血流动力学没有改变, 这也意味着外周时钟在这种表型的产生中起着重要的作用^[34]。也有研究表明, 生理时钟的其他基因 (如 *Per*) 的遗传缺失会影响乙酰胆碱的内皮依赖性舒张功能障碍, 导致血管功能紊乱^[35]。另外, 在睡眠剥夺 (sleep deprivation, SD) 小鼠模型中, 昼夜节律钟功能障碍会导致血管系统硬化, 而这一现象与细胞外基质调控功能受损有关。

在人体试验中, 也得到了相似的结论。有研究入组了 60 名健康男性, 在不同时间的 SD 后, 分析其对心脏、血流动力学和内皮参数的影响, 并确定这些影响是否随着 SD 期延长而持续; 结果发现健康男性的 SD 与血压升高有关, 血压升高出现在 SD 发作 24 h 后, 并在 SD 发作期间持续升高; 观察到的血流动力学变化可能是由于血管内皮功能紊乱引起的, 与血管对 L-精氨酸 (*L-Arginine*, *L-Arg*) 和非对称二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA) 的反应性有关^[36]。可见昼夜节律发生紊乱后, 血管功能与血管内皮反应性均有不同程度影响。

3.2 昼夜节律与血管疾病

在时间节律规律的概念出现之前, 人们相信心血管事件的发生是随机的。然而, 一系列的流行病学研究表明, 几乎所有的急性心血管事件, 如不稳定型心绞痛、心肌梗死、心源性猝死或卒中等, 都表现出昼夜节律, 在清晨出现的频率最高; 这些心

血管事件与晨起血压升高、血管舒张功能下降、血小板聚集能力增强和复极化改变相一致^[37-38]。而如今,大量研究表明,心肌梗死面积随症状出现时间的变化而变化,并且这种关系与昼夜节律周期相关,支持了心肌易受缺血/再灌注影响的24 h周期这一假设,且这些结果与缺血时间和护理质量无关,二者在白天和晚上都有显著差异^[39-40]。

现代生活方式强加了外部的时间限制和行为模式的改变,这极易使人体暴露于昼夜节律紊乱的环境中。长期的不良睡眠习惯和夜间持续暴露在光线下导致的睡眠障碍是造成生物钟紊乱的主要因素。事实上,相当一部分人的睡眠时间达不到建议的7~8 h^[27]。基础研究显示,剥夺睡眠会改变小鼠的昼夜基因表达,从而导致心脏和肺中基因表达的改变^[41]。此外,流行病学研究表明,夜班工人患心血管疾病、糖尿病和肥胖的风险增加,这可能是由于直接改变活动-休息周期和不断暴露在光线下,通过抑制褪黑素的产生而造成睡眠障碍^[35]。这些变化继而可能会导致内部节律振荡器之间失去协调。虽然在早期的研究中,由于饮食改变、更高的工作量和伴随的疾病可能产生的间接影响,因果关系没有被明确定义。但对健康轮班工人的研究表明,昼夜节律失调会使血压升高,炎症标志物水平升高^[42]。此外,一些关于轮班工作和心血管疾病的荟萃分析显示,轮班工作会导致心血管事件的风险增加。

综上所述,考虑到昼夜节律紊乱和心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)之间的联系^[43],了解生物钟节律内的节律基因的表达变化,找出关键因子,从而加强血管功能的保护和CVD的防治是一种潜在的治疗策略,这有助于开发新的治疗策略,提高治疗方案的疗效和患者耐受性。

4 ROR α 和 REV-ERB α 在血管病理生理中的作用

异常生长的微血管和大血管生长被视为结构性冠状循环阻塞和功能障碍的临床病理改变,可以诱发多种心血管疾病(缺血再灌注损伤、动脉粥样硬化易损斑块破裂、血管重建、内皮功能障碍等^[44])。在这些血管的病理变化中,动脉粥样硬化性血管疾

病已成为急性心血管疾病的主要病因^[45]。易损斑块破裂已被认为是心肌梗死、卒中甚至猝死的主要威胁,以脂质代谢紊乱为主要病理改变。针对斑块内巨噬细胞极化过程,在动脉粥样硬化和易损动脉粥样硬化斑块形成的上游效应物中寻找新的治疗靶点和干预策略是有必要的,这将会促进研究人员加强对稳定的动脉粥样硬化斑块向易损斑块转变的过程的理解。如前所述,几乎所有器官中存在的昼夜节律钟都会影响组织的代谢稳态。因此,生物钟控制的节律基因异常是血管功能受损不容忽视的独立危险因素。研究表明,一些核受体参与了动脉粥样硬化的发生和进展,更重要的是,由于其对斑块纤维帽降解的正向调控作用,斑块的稳定性也受到了影响^[1]。本文归纳了ROR α 和REV-ERB α 在生物钟节律中对血管病理生理变化的几种影响。

4.1 ROR α 和 REV-ERB α 与血管功能

4.1.1 ROR α 与血管功能 动脉粥样硬化性心血管疾病在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者中具有很高的发病率和死亡率。有研究探究了SLE诱发的内皮功能障碍和ROR α 的作用之间的关系^[46]。该研究发现,SLE患者的血清可诱导人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)出现功能损伤,而褪黑素的作用可通过增加HUVEC中超氧化物歧化酶-1(superoxide dismutase-1, SOD1)、谷胱甘肽过氧化物酶-1(glutathione peroxidase-1, GPX1)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性,减少活性氧水平,从而延缓内皮细胞衰老,促进损伤后HUVEC的增殖和修复;并且,SLE炎性介质诱导的RAW264.7巨噬细胞迁移也被抑制,细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)表达减少,这些保护作用在很大程度上是由于ROR α 的参与。当特异性抑制ROR α 活性后,褪黑素的抗炎、抗氧化和抗凋亡作用即消失,可见ROR α 有潜力成为预防或治疗内皮功能障碍和动脉粥样硬化性心血管疾病的有效治疗靶点。

近期有研究显示,ROR α 可激活活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK),这与血管

平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖的抑制作用相关^[47]。其一, ROR α 及其激活剂胆固醇硫酸 (cholesterol sulfate, CS) 可诱导人体主动脉 VSMC 和大鼠 A7r5 细胞激活 AMPK 通路, 并伴随着哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 和 p70 核糖体蛋白 S6 激酶 1 的活性抑制。其二, ROR α 和 CS 还参与调控细胞周期因子的表达, 如 p53、p27 和 cyclin D。激活的 ROR α 可能通过细胞周期 G₁ 期的抑制作用, 抑制人体主动脉 VSMC 和大鼠 A7r5 细胞的增殖。二维和三维细胞迁移实验也验证了过表达 ROR α 或使用 CS 能够抑制 A7r5 细胞的迁移。其三, 体内使用腺病毒在主动脉内过表达 ROR α 后, 球囊诱导的大鼠的动脉损伤也得到了缓解。这些结果都表明, ROR α 通过 AMPK 诱导的 mTOR 通路, 抑制 VSMC 的增殖和迁移, 提示 ROR α 可能是心血管疾病的一个潜在治疗靶点。同时, 针对 ROR α 与内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 的关系, 也有研究认为, ROR α 可诱导循环中促红细胞生成素的产生, 继而激活 EPC 分化所需的 AMPK 活性, 促进 EPC 的分化与新生血管形成, 加速组织修复并维持血管功能的稳定^[48]。

4.1.2 REV-ERB α 与血管功能 大部分研究都表明, REV-ERB α 主要表达于 VSMC。有研究显示, 过表达 REV-ERB α 可上调白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6) 和环氧化酶 (cyclo-oxygenase, COX) 的表达, 活化核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B), 促进 p65 向 A7r5 细胞核的转位; 此外, 在 A7r5 VSMCs 中, ROR α 可上调 REV-ERB α 的表达, 但这种作用可被 REV-ERB α 本身抑制^[49]。这些结果提示 REV-ERB α 和 NF- κ B 通路之间存在相关性。

另有研究探索了 REV-ERB α 与血管内皮功能之间的关系。Li 等^[50] 发现由机械损伤或慢性炎症引起的血管内皮细胞损伤是引起血管疾病的重要原因。该研究证明, 低剂量、安全的外源性一氧化碳 (carbon monoxide, CO) 可通过诱导 REV-ERB α 促进染色质重构和组蛋白 H3 乙酰化实现, 从而增强内皮细胞的迁移能力。该研究通过观察靶细胞 REV-ERB α 调控 DNA 表达的作用, 发现其可以招募组蛋白脱

乙酰酶/核受体辅阻遏物 (histone deacetylase/nuclear receptor corepressor, HDAC/N-CoR), 调节负责内皮细胞迁移和血管生成的转录基因生成。当正常野生型小鼠移植了 REV-ERB α ^{-/-} 小鼠骨髓后, 受体小鼠体内 REV-ERB α 表达水平降低, 导致 CO 对金属丝损伤后新内膜形成的保护作用丧失。总的来说, REV-ERB α 作为 CO 对内皮细胞保护作用机制中的关键因子, 它参与调节 EPC 和内皮细胞的运动, 增强了血管损伤后的组织修复。因此, 通过调控 REV-ERB α 及其下游基因可能有利于治疗与血栓形成失调和血管生成有关的血管综合征等血管疾病。

4.2 ROR α 和 REV-ERB α 与动脉粥样硬化

4.2.1 ROR α 与动脉粥样硬化 由于 ROR α 在血管壁细胞 (包括 VSMC、内皮细胞和单核细胞) 上的节律性表达^[51], 可以推测 ROR α 也参与易损斑块的发生发展。研究显示, ROR α ^{sg/sg} 突变小鼠可发生严重的动脉粥样硬化, 并伴随着血清总胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇含量显著降低^[52]。另有研究显示, ROR α 的激活可有效抑制动脉粥样硬化的产生; 另外, 通过心脏切片形态学以评估冠状动脉粥样硬化斑块的发生率, 研究者们发现 *Rora* 敲除小鼠可发生严重的冠状动脉粥样硬化^[53]。除了在动脉粥样硬化中可发挥有益作用外, ROR α 也被报道参与调控脂质稳态相关基因 *APOA V* 的转录, 这些结果均提示 ROR α 可以作为治疗动脉粥样硬化的潜在靶标; 在体外细胞 HepG2 和 HuH7 中, ROR α 缺失条件下, *APOA V* 活动强度降低, *APOA V* 转录被抑制, 而过表达 ROR α , 可增加 *APOA V* 的表达水平; 有趣的是, *APOA V* 对 ROR α 的功能性依赖, 以及对脂质代谢的影响只在人体中产生, 并不存在于小鼠体内^[54-55]。

高发生率的自发性斑块破裂和腔内血栓形成是动脉粥样硬化的主要特征。最近的一项研究表明^[53], 通过部分结扎动脉可以刺激小鼠形成主动脉易损斑块。颈动脉结扎的同时, 增加左肾动脉处结扎可诱导肾血管性高血压, 促进内生 Ang II 的产生, 这种手术可导致颈部脂质斑块的产生, 促进血栓形成, 斑块自发破裂, 这些形态学表现均得到了证实。研究通过斑块免疫荧光染色和 mRNA 水平分析证明, 在易损颈动脉斑块中, ROR α 水平被抑制。此外, ROR α 缺

乏的小鼠血小板功能受损, ROR α 产生各种异常现象, 如易损斑块出血的发生率更高, 自发的斑块破裂和血栓, 收缩期血流速度改变, 脂质过度堆积等。重要的是, 异常表达的 ROR α 还影响着一些炎症因子的释放, 包括 IL-1 β 、IL-2、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein 1 α , MIP-1 α) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α), 这进一步加剧了血管损伤。鉴于 ROR α 对脂质的调控作用, 正如前面所示, 相较于野生型小鼠, ROR $\alpha^{sg/sg}$ 小鼠血浆三酰甘油和总胆固醇水平降低, 表明 ROR α 可能通过抗炎活动稳定斑块。

不过, 也有研究得出了相反的结论, 即抑制 ROR α 可有效抑制动脉粥样硬化的形成^[56]。该研究使用低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor precursor, LDL-R)^{-/-} 小鼠, 以高胆固醇饮食作为动脉粥样硬化模型组, 随后使用 ROR 抑制剂 SR1001 给药 4 周。结果发现该药可有效降低血浆 LDL 水平, 增加肠内胆固醇排泄, 但不影响高密度脂蛋白水平。同时 SR1001 处理组还可诱导免疫作用, 其特征是 Th17 细胞减少, Treg 和 Th2 细胞增多。该数据表明, ROR α 在动脉粥样硬化发展上发挥重要作用, 抑制 RORs 的活性可有效抑制斑块形成。

总的来说, ROR α 作为转录因子可调控代谢和炎症反应, 参与动脉粥样硬化的形成, 但其具体作用还需进一步的研究确认。

4.2.2 REV-ERB α 与动脉粥样硬化 代谢综合征和血脂异常均具有导致动脉粥样硬化血栓形成的共同机制, 成为心血管疾病的高危因素。昼夜节律在脂质代谢紊乱中起着关键作用, 昼夜节律的紊乱同样会破坏其他生物过程的平衡, 尤其是血管, 从而引发炎症、内皮功能障碍和血栓形成。巨噬细胞被广泛认为是参与炎症和脂质代谢相互作用的斑块发展各个阶段的关键组织者。REV-ERB α 在巨噬细胞中表达丰富, 这使 REV-ERB α 参与动脉粥样硬化斑块形成成为可能。在人肝细胞 HepG2 中, 转染 REV-ERB α 显示出特定的 ApoC-III 水平抑制作用, 这可能为 REV-ERB α 抑制三酰甘油脂蛋白的产生提供新的途径^[57]。越来越多的证据阐明, 在巨噬细胞

内 REV-ERB α 主要控制胆固醇体内平衡与脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 引起的炎症反应, 进一步验证了 REV-ERB α 的抗动脉粥样硬化作用。此外, 动脉粥样硬化的过程中炎症反应加速可能是由于体内缺乏 REV-ERB α , 而动脉粥样硬化后, 斑块中巨噬细胞倾向于过表达 REV-ERB α 从而延缓炎症反应。Wang 等^[58] 发现 REV-ERB α 可有效抑制纤溶酶原激活物抑制物-1 (plasminogen activator inhibitor type 1, PAI-1) 的节律性表达, PAI-1 的水平变化被视为调节炎症和动脉粥样硬化的核心细胞因子, REV-ERB α 通过结合 PAI-1 启动子, 达到抑制 PAI-1 活性的作用。节律性表达的 PAI-1 可导致急性血栓和其他严重的心血管事件, 如缺血性疾病。另一项研究使用 REV-ERB α 特定合成配体 SR9009, 测试药理学激活 REV-ERB α 是否能类似地抑制血管并发症; 结果发现 LDL 受体缺陷小鼠在接受 SR9009 处理后, 油红染色和 HE 染色均显示斑块沉积明显减少, 显示出潜在的抗动脉粥样硬化的效果, 处理组与对照组相比血浆脂质没有显著性差异; 在分子水平上, 骨髓来源的小鼠巨噬细胞中, 药理学激活 REV-ERB α 后, 干扰素 γ (interferon γ , IFN γ) 的 mRNA 和促炎因子的表达被明显抑制, 如 IL-6、巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 和 MCP-1, 说明激活的 REV-ERB α 可能通过抑制巨噬细胞炎症反应从而保护血管功能^[59]。总之, 这项最新研究得出的结论与之前的研究基本一致。

从这些研究发现可见, REV-ERB α 可在一定程度上预防和治疗动脉粥样硬化, 并且在稳定斑块问题上, 抑制巨噬细胞炎症可能成为 REV-ERB α 保护动脉粥样硬化的主要作用机制。因此, 药理学干预 REV-ERB α , 增强其内源活性或可作为抗动脉粥样硬化, 延缓动脉粥样硬化进展的有效治疗手段。

4.3 ROR α 和 REV-ERB α 与高血压

如前所述, 由于交感神经活动的节律性变化, 人体血压也在一天中呈现节律性改变。血压一般在清晨觉醒时开始升高, 在上午 10 点左右达到最高值, 而后不断下降, 在凌晨 3 点左右达到最低点^[60]。正是因为交感神经系统的昼夜节律与心血管稳态之间的关系, 所以清晨较高的心血管事件发生率与早晨

血压峰值有关。血压变化受节律基因调控, 有研究指出, *Bmal1* 的遗传缺失可以消除血压的昼夜变化, 减少儿茶酚胺的产生^[61]。临床数据表明, 急性心肌梗死、心源性猝死和缺血性卒中的发生率在清晨最高^[37, 62]。而血压变化受生物节律钟基因轴调节。有证据表明, 不良或短暂的睡眠习惯(即睡眠时间少于 6.5 h) 极易导致健康个体血压和心率升高^[27, 63], 产生严重的心血管疾病, 并与发病率和死亡率升高相关。

褪黑素作为交感神经系统中时钟基因的授时因子, 在中枢神经系统结构如 SCN、外周组织如脂肪细胞和心肌细胞中发挥重要作用。褪黑素对野生型 SD (Sprague-Dawley) 大鼠和高血压大鼠 *Bmal1* 和 *Per2* 的表达呈昼夜节律作用, 但未改变 SCN 中时钟基因的表达。研究显示, 在高血压大鼠 SCN 中, 注射褪黑素的首个 24 h 的夜晚并不影响生物钟基因转录, 但它却改变了生物钟的表达模式, 在第 2 个周期夜晚显示褪黑素明显维持 REV-ERB α 的 mRNA 长期高表达, 特别是在褪黑素治疗后 12 h 内, 避免了 REV-ERB α 的 mRNA 下降^[64]。因此, 可以推测, 在成年大鼠心肌细胞内, REV-ERB α 在光信号传导至外周器官(如心脏)时, 调节外周器官的血压节律性中发挥重要作用。具体机制可能是褪黑素受体 MT₁ 和 MT₂ 的活性被抑制, 丧失了对 REV-ERB α 表达的调控。而褪黑素对心肌细胞生物钟的作用可能也涉及翻译后机制, 这需要进一步研究。另一项研究也表明, 大鼠的程序性高血压事件与节律基因表达相关, 当给予褪黑素治疗后, 交感神经系统接受褪黑素刺激, 从而使肾脏内 MT₂ 受体活性增加, 导致 ROR α 表达明显升高, 有效保护程序性高血压大鼠的血压^[65]。

综上所述, 受交感神经系统释放的褪黑素支配, 血压变化与 REV-ERB α 和 ROR α 的活性密切相关, 升高 REV-ERB α 和 ROR α 的基因表达水平可有效保护高血压带来的危害。

5 临床前景

由于在血管病理生理过程中发挥的重要作用, 以 REV-ERB α 和 ROR α 为靶点的药物正不断被研发, 以期获得较好的血管健康及临床疗效。

褪黑素是松果体分泌的一种吲哚类神经内分泌素, 而 ROR α 作为内源性褪黑素受体, 可能在昼夜节律、血管功能、血运重建中存在一定的作用。在一般人群和心血管疾病患者中, 心率和血压升高是各种原因死亡的危险因素。夜间心率下降不足, 即心率不下降, 也会增加心血管风险。心率/血压异常反映了自主神经系统中交感神经张力相对地不平衡。一项临床试验中, 对 26 名健康清醒的男性以仰卧位给予 2 mg 褪黑素, 60 min 后, 与给予安慰剂的受试者相比, 观察到心率和血压明显下降, 心率变异性增加, 血浆去甲肾上腺素和多巴胺含量显著降低^[66]。在另一项临床试验中, 共筛选了 97 位正常血压和高血压老年志愿者, 于睡觉前持续 2 周给予 1.5 mg 褪黑素, 结果显示受试者的收缩压和舒张压出现了不同程度的降低, 于 3:00—8:00 间(最易发生心血管事件的时间段)产生心率降低现象^[67]。一项涉及 78 名体位性心动过速综合征患者的研究表明, 与安慰剂相比, 褪黑素在使用后 2 h 内站立时间明显延长^[68]。综合上述临床试验结果可见, 褪黑素可以降低心率和血压, 同时褪黑素的时间生物学作用可以使夜间心率下降不足现象恢复正常。褪黑素的抗高血压和抗心动过速等特性预示着它在对抗心率升高及控制血压方面很有前途。

虽然 ROR α 与 REV-ERB α 的特异性小分子激动剂, 如 REV-ERB α 药理性激动剂 SR9009、GSK4112 等已被研制并可用于细胞实验与动物实验, 但由于目前关于稳定昼夜节律对冠心病和心力衰竭的影响的前瞻性研究还很少, 该类小分子新型药物仍处于临床前研究阶段, 而目前已知的大部分基础研究均表明, 以 ROR α 与 REV-ERB α 为靶点进行抗动脉粥样硬化、抗高血压的药物有乐观的临床研究前景, 未来围绕二者开展的药物临床试验具有极大的临床意义和治疗前景。

6 结语

综上所述, ROR α 和 REV-ERB α 是生物钟系统的重要组成部分, 其不仅是经典生物钟基因, 更是生物钟调节的关键因子, 在维持生物节律中发挥关键作用, 并且在血管稳态及心血管系统疾病中占有

重要地位。近年来很多研究都在关注 ROR α 和 REV-ERB α , 在维持血管结构稳态、血管健康以及动脉粥样硬化疾病发展中具有重要作用。在 ROR α 和 REV-ERB α 基因水平改变后, 容易在促动脉粥样硬化的危险因素下造成血管损伤, 促进脂质斑块形成, 并且易转变为一种易损斑块表型。但仍有部分研究对于 ROR α 和 REV-ERB α 这 2 种生物钟核受体在机体

内的作用持对立观点, 因此 ROR α 和 REV-ERB α 对人体心血管疾病发展的影响仍有待进一步的深入探讨。随着人们对生物钟基因的认识和研究的不断加深, 生物节律在血管病理生理过程中发挥的作用将逐渐被解密, 有理由相信, 干预生物节律将为预防和治疗心血管疾病提供重要的理论依据。

[参考文献]

- [1] Kojetin D J, Burris T P. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(3): 197-216.
- [2] García P, Lorenzo P, de Lera A R. Natural ligands of RXR receptors[J/OL]. *Methods Enzymol*, 2020, 637: 209-234[2020-05-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687920300847?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/bs.mie.2020.02.006.
- [3] Maire A L, Germain P, Bourguet W. Protein-protein interactions in the regulation of RAR-RXR heterodimers transcriptional activity[J/OL]. *Methods Enzymol*, 2020, 637: 175-207[2020-05-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687920300859> DOI: 10.1016/bs.mie.2020.02.007
- [4] Yin L, Wu N, Curtin J C, et al. Rev-erb α , a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways[J]. *Science*, 2007, 318(5857): 1786-1789.
- [5] Fleischhacker A S, Carter E, Ragsdale S. Redox regulation of heme oxygenase-2 and the transcription factor, Rev-erb, through heme regulatory motifs[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(18): 1841-1857.
- [6] Fan J S, Lv Z L, Yang G H, et al. Retinoic acid receptor-related orphan receptors: critical roles in tumorigenesis[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1187-1187[2020-05-11]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01187/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01187.
- [7] Monnier C, Auclair M, Cam G L, et al. The nuclear retinoid-related orphan receptor ROR α controls circadian thermogenic programming in white fat depots[J/OL]. *Physiol Rep*, 2018, 6(8): e13678[2020-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5907938/>. DOI: 10.14814/phy2.13678.
- [8] Oh S K, Kim D, Kim K, et al. ROR α is crucial for attenuated inflammatory response to maintain intestinal homeostasis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(42): 21140-21149.
- [9] Feng S, Xu S, Wen Z, et al. Retinoic acid-related orphan receptor ROR β , circadian rhythm abnormalities and tumorigenesis (Review)[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(6): 1493-1500.
- [10] Jetten A M, Takeda Y, Slominski A, et al. Retinoic acid-related Orphan Receptor γ (ROR γ): connecting sterol metabolism to regulation of the immune system and autoimmune disease[J/OL]. *Curr Opin Toxicol*, 2018: 66-80[2020-05-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468202017301377>. DOI: 10.1016/j.cotox.2018.01.005.
- [11] Nishide S, Honma S, Honma K I, et al. Two coupled circadian oscillations regulate *Bmal1-ELuc* and *Per2-SLR2* expression in the mouse suprachiasmatic nucleus[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14765[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30283092>. DOI: 10.1038/s41598-018-32516-w.
- [12] 邢陈, 顾晔, 徐秀段, 等. 睡眠剥夺对大鼠肝脏生物钟基因表达水平的影响[J]. *军事医学*, 2018, 42(1): 60-63.
- [13] Greco C M, Sassone-Corsi P. Circadian blueprint of metabolic pathways in the brain[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(2): 71-82.
- [14] Ray K. Circadian neuroimmune circuits influence intestinal physiology[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(11): 648-649.
- [15] Xu T, Lu B. The effects of phytochemicals on circadian rhythm and related diseases[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 59(6): 882-892.
- [16] Mia S, Kane M S, Latimer M N, et al. Differential effects of REV-ERB α /b agonism on cardiac gene expression, metabolism, and contractile function in a mouse model of circadian disruption[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 318(6): H1487-H1508.
- [17] Ikeda R, Tsuchiya Y, Koike N, et al. REV-ERB α and REV-ERB β function as key factors regulating mammalian circadian output[J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10171[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31308426>. DOI: 10.1038/s41598-019-46656-0.
- [18] Lu D, Zhao M, Chen M, et al. Circadian clock-controlled drug metabolism: implications for chronotherapeutics[J]. *Drug Metab Dispos*, 2020, 48(5): 395-406.
- [19] Freeman S L, Kwon H, Fielding A J. Heme binding to human CLOCK affects interactions with the E-box[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(40): 19911-19916
- [20] Dong Z, Zhang G, Qu M, et al. Targeting glioblastoma stem cells through disruption of the circadian clock[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(11): 1556-1573.

- [21] Yukimasa T, Raja J, Veronique B, *et al.* ROR γ directly regulates the circadian expression of clock genes and downstream targets *in vivo*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (17): 8519-8535.
- [22] Cutolo M. Circadian rhythms and rheumatoid arthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2019, 86(3): 327-333.
- [23] Crumbley C, Wang Y, Kojetin D J, *et al.* Characterization of the core mammalian clock component, NPAS2, as a REV-ERB α /ROR α target gene[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(46): 35386-35392.
- [24] Cook D N, Kang H S, Jetten A M. Retinoic acid-related orphan receptors (RORs): regulatory functions in immunity, development, circadian rhythm, and metabolism[J/OL]. *Nucl Receptor Res*, 2015, 2: 101185[2020-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4750502/>. DOI: 10.11131/2015/101185.
- [25] Rabinovich-Nikitin I, Lieberman B, Martino T A, *et al.* Circadian-regulated cell death in cardiovascular diseases[J]. *Circulation*, 2019, 139(7): 965-980.
- [26] Khaper N, Bailey C D C, Ghugre N R, *et al.* Implications of disturbances in circadian rhythms for cardiovascular health: a new frontier in free radical biology[J/OL]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 119: 85-92[2020-05-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584917311991>. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.006.
- [27] Crnko S, Cour M, Van Laake L W, *et al.* Vasculature on the clock: circadian rhythm and vascular dysfunction[J/OL]. *Vasc Pharmacol*, 2018, 108: 1-7[2020-05-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1537189117304652>. DOI: 10.1016/j.vph.2018.05.003.
- [28] 张泽峰, 丁宏, 陈震, 等. 心绞痛患者血压昼夜节律与冠状动脉及颈动脉粥样硬化的关系[J]. *中国医师杂志*, 2019, 21(7): 1051-1053.
- [29] Cantone L, Tobaldini E, Favero C, *et al.* Particulate air pollution, clock gene methylation, and stroke: effects on stroke severity and disability[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3090[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32349365/>. DOI: 10.3390/ijms21093090.
- [30] Weaver D R. The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective[J]. *J Biol Rhythms*, 1998, 13(2): 100-112.
- [31] Keskil Z, Görgün C Z, Hodoğlugil U, *et al.* Twenty-four-hour variations in the sensitivity of rat aorta to vasoactive agents[J]. *Chronobiol Int*, 1996, 13(6): 465-475.
- [32] Zhang R, Lahens N F, Ballance H I, *et al.* A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(45): 16219-16224.
- [33] Mcnamara P, Seo S B, Rudic R D, *et al.* Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock[J]. *Cell*, 2001, 105(7): 877-889.
- [34] Wu X, Chen L, Zeb F, *et al.* Clock-Bmal1 mediates MMP9 induction in acrolein-promoted atherosclerosis associated with gut microbiota regulation[J]. *Environ Pollut*, 2019, 252(Pt B): 1455-1463.
- [35] Lunde L K, Skare Ø, Mamen A, *et al.* Cardiovascular health effects of shift work with long working hours and night shifts: study protocol for a three-year prospective follow-up study on industrial workers[J/OL]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(2): 589[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31963313/>. DOI: 10.3390/ijerph17020589.
- [36] Słomko J, Zawadka-Kunikowska M, Kozakiewicz M, *et al.* Hemodynamic, autonomic, and vascular function changes after sleep deprivation for 24, 28, and 32 hours in healthy men[J]. *Yonsei Med J*, 2018, 59(9): 1138-1142.
- [37] Alibhai F J, Tsimakouridze E V, Reitz C J, *et al.* Consequences of circadian and sleep disturbances for the cardiovascular system[J]. *Can J Cardiol*, 2015, 31(7): 860-872.
- [38] 李芳, 许毅, 韩敏. 原发性高血压患者血压昼夜节律变化与心律失常相关性研究[J]. *临床医药实践*, 2020, 29(4): 287-289.
- [39] Soares A C, Fonseca D A. Cardiovascular diseases: a therapeutic perspective around the clock[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(6): 1086-1098.
- [40] 牛文豪, 伍锋, 赵馨娜, 等. 青老年急性心肌梗死患者临床危险因素及发病节律性的比较性研究[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(4): 325-329, 334.
- [41] Bano-Otalora B, Madrid J A, Rol M A. Melatonin alleviates circadian system disruption induced by chronic shifts of the light-dark cycle in *Octodon degus*[J/OL]. *J Pineal Res*, 2020, 68(1): e12619[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31963313/>. DOI: 10.1111/jpi.12619.
- [42] Morris C J, Purvis T E, Mistretta J, *et al.* Circadian misalignment increases C-reactive protein and blood pressure in chronic shift workers[J]. *J Biol Rhythms*, 2017, 32(2): 154-164.
- [43] 姜婷婷, 季爽, 杨光锐, 等. 生物钟与心血管疾病联系的研究进展[J]. *生理学报*, 2019, 71(5): 107-115.
- [44] Suowen X, Yanni X, Peng L, *et al.* The novel coronary artery disease risk gene *JCAD/KIAA1462* promotes endothelial dysfunction and atherosclerosis[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(29): 2398-2408.
- [45] Imahori Y, Frost C, Mathiesen E B, *et al.* Original research: effect of adiposity on differences in carotid plaque burden in studies conducted in Norway and Russia: a cross-sectional analysis of two populations at very different risk of cardiovascular mortality[J/OL]. *BMJ Open*, 2020, 10(5): e036583[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32381537/>. DOI: 10.1136/bmjopen-2019-036583.
- [46] Huang H, Liu X, Chen D, *et al.* Melatonin prevents endothelial dysfunction in SLE by activating the nuclear receptor retinoic acid-related orphan receptor- α [J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106365[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32172204/>. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106365.
- [47] Kim E J, Choi Y K, Han Y H, *et al.* ROR α suppresses proliferation

- of vascular smooth muscle cells through activation of AMP-activated protein kinase[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 175(3): 515-521.
- [48] Ling S, Ni R Z, Yuan Y, *et al.* Natural compound bavachalcone promotes the differentiation of endothelial progenitor cells and neovascularization through the ROR α -erythropoietin-AMPK axis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86188-86205.
- [49] Migita H, Morser J, Kawai K. Rev-erbalph upregulates NF- κ B-responsive genes in vascular smooth muscle cells[J]. *Febs Letters*, 2004, 561(1/2/3): 69-74.
- [50] Li M, Gallo D, Csizmadia E, *et al.* Carbon monoxide induces chromatin remodelling to facilitate endothelial cell migration[J]. *Thromb Haemost*, 2014, 111(5): 951-959.
- [51] Coban N, Gulec C, Selcuk B O, *et al.* CYP19A1, MIF and ABCA1 genes are targets of the ROR α in monocyte and endothelial cells[J]. *Cell Biol Int*, 2016, 41(2): 163-176.
- [52] Mamontova A, Seguret-Mace S, Esposito B, *et al.* Severe atherosclerosis and hypoalphalipoproteinemia in the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor ROR α [J]. *Circulation*, 1999, 98(24): 2738-2743.
- [53] Ding S, Lin N, Sheng X, *et al.* Melatonin stabilizes rupture-prone vulnerable plaques via regulating macrophage polarization in a nuclear circadian receptor ROR α -dependent manner[J/OL]. *J Pineal Res*, 2019, 67(2): e12581[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31009101/>. DOI: 10.1111/jpi.12581.
- [54] Lind U, Nilsson T, Mcpheat J, *et al.* Identification of the human ApoA1 gene as a novel ROR α target gene[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(1): 233-241.
- [55] Genoux A. Transcriptional regulation of apolipoprotein A5 gene expression by the nuclear receptor ROR α [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(6): 1186-1192.
- [56] Billon C, Sitaula S, Burris T P. Inhibition of ROR α / γ suppresses atherosclerosis via inhibition of both cholesterol absorption and inflammation[J]. *Mol Metab*, 2016, 5(10): 997-1005.
- [57] Coste H, Rodriguez J C. Orphan nuclear hormone receptor Rev-erba regulates the human apolipoprotein CIII promoter[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(30): 27120-27129.
- [58] Wang J, Yin L, Lazar M A. The orphan nuclear receptor Rev-erba regulates circadian expression of plasminogen activator inhibitor type 1[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 33842-33848.
- [59] Sitaula S, Billon C, Kamenecka T M, *et al.* Suppression of atherosclerosis by synthetic REV-ERB agonist[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460(3): 566-571.
- [60] Niclou A M, James G D, Bovbjerg D H. The consistency of circadian blood pressure and heart rate patterns over three months in women employed in sedentary office jobs[J/OL]. *Am J Hum Biol*, 2018, 30(5): e23177[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30203463/>. DOI: 10.1002/ajhb.23177.
- [61] Zhang D, Jin C, Obi I E, *et al.* Loss of circadian gene *Bmal1* in the collecting duct lowers blood pressure in male, but not female, mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(3): F710-F719.
- [62] Fabbian F, Bhatia S, Giorgi A D, *et al.* Circadian periodicity of ischemic heart disease: a systematic review of the literature[J]. *Heart Fail Clin*, 2017, 13(4): 673-680.
- [63] Tobaldini E, Fiorelli E M, Solbiati M, *et al.* Short sleep duration and cardiometabolic risk: from pathophysiology to clinical evidence[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(4): 213-224.
- [64] Peliciari-Garcia R A, Zanquetta M M, Andrade-Silva J, *et al.* Expression of circadian clock and melatonin receptors within cultured rat cardiomyocytes[J]. *Chronobiol Int*, 2011, 28(1): 21-30.
- [65] Chang H Y, Tain Y L. Postnatal dexamethasone-induced programmed hypertension is related to the regulation of melatonin and its receptors[J/OL]. *Steroids*, 2016, 108: 1-6[2020-05-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26921678/>. DOI: 10.1016/j.steroids.2016.02.017.
- [66] Nishiyama K, Yasue H, Moriyama Y, *et al.* Acute effects of melatonin administration on cardiovascular autonomic regulation in healthy men[J]. *Am Heart J*, 2001, 141(5): 13A-17A.
- [67] Gubin D G, Gubin G D, Gapon L I, *et al.* Daily melatonin administration attenuates age-dependent disturbances of cardiovascular rhythms[J]. *Curr Aging Sci*, 2016, 9(1): 5-13.
- [68] Green E A, Black B K, Biaggioni I, *et al.* Melatonin reduces tachycardia in postural tachycardia syndrome: a randomized, crossover trial[J]. *Cardiovasc Ther*, 2014, 32(3): 105-112.



【专家介绍】 卜军：上海交通大学医学院附属仁济医院心内科主任医师、博导，国家万人计划科技创新领军人才（2018年），教育部长江学者特聘教授（2016年），国家杰出青年基金获得者（2016年），国家重点研发专项首席负责人，上海高水平地方高校重点创新团队负责人，致力于冠心病事件链临床与转化医学研究，成果发表在 *Circulation*、*JACC*、*EJH* 等国际知名期刊，并写入国际心血管内科学教科书和欧洲影像学指南等行业规范。