



# 时钟基因 *Rev-erba* 在运动诱导线粒体生物合成中的作用及可能机制\*

杨婷婷 程凤佳 高扬 于亮\*\*

(北京体育大学运动人体科学学院, 北京 100084)

**摘要** 线粒体生物合成是细胞适应能量需求、维持能量稳态的重要手段, 其过程受到生物钟系统的全局调控。作为机体的能量供应站点, 线粒体生物合成障碍与各种疾病的发生发展密切相关。时钟基因 *Rev-erba* 能整合昼夜节律与能量代谢, 在调节线粒体生物合成过程中起到了重要作用。运动作为一种行之有效的改善健康、促进恢复的非药用方式, 不仅能促进线粒体生物合成增强, 还与 *Rev-erba* 存在着双向调节, 因此考虑 *Rev-erba* 可能是运动诱导线粒体生物合成的中介物质。本文就 *Rev-erba* 在调节线粒体生物合成中的作用、影响 *Rev-erba* 的可能因素、运动与 *Rev-erba* 的相互作用及运动通过 *Rev-erba* 诱导线粒体生物合成的潜在机制进行了梳理和探讨, 以期运动促进线粒体生物合成机制提供理论参考。

**关键词** *Rev-erba*, 线粒体生物合成, 运动, 昼夜节律

**中图分类号** R87, R337.1

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0371

时钟蛋白 *Rev-erba*, 即核受体亚家族 1D 组成员 1 (nuclear receptor subfamily 1 group D member 1, Nr1d1), 是一种重要的代谢调节因子, 在肌肉、肝脏、脂肪和胰腺等组织中以昼夜节律的方式表达, 它既能维持和稳定生物节律, 又在能量代谢中发挥重要作用, 因此被认为是生物钟系统和新陈代谢的整合器<sup>[1]</sup>。线粒体生物合成是细胞为响应能量需求而启动的一种以现有线粒体为模板, 进行自我生长和分裂的生理过程<sup>[2]</sup>, 它包括了线粒体数量和质量的升级以及形态和功能的统一。作为机体的“能量工厂”, 线粒体生物合成障碍与众多疾病的发生发展密切相关<sup>[3-5]</sup>。研究已证实, 线粒体生物合成受到生物钟系统的调节和控制, 其中时钟基因 *Rev-erba* 更是扮演了重要角色, 在各种因素的作用下, *Rev-erba* 表达会发生变化, 随之影响线粒体生物合成过程, 因此, *Rev-erba* 可能是治疗由线粒体生物合成障碍所致各种疾病的潜在靶点。

运动作为一种增强体质、促进健康的重要手段, 其对线粒体生物合成的积极作用得到了诸多验证<sup>[6]</sup>。*Rev-erba* 作为重要的时钟基因之一, 对运动刺激极为敏感, 同时机体运动能力也受到 *Rev-erba*

的间接调控。基于 *Rev-erba* 在线粒体生物合成中的重要影响, 以及 *Rev-erba* 与运动的密切联系, 考虑 *Rev-erba* 可能是运动诱导线粒体生物合成的关键作用点。因此, 梳理不同运动模式对 *Rev-erba* 的差异性影响及 *Rev-erba* 对运动能力的调控作用, 探讨运动通过 *Rev-erba* 调节线粒体生物合成的可能机制, 可以为运动促进线粒体生物合成机制提供理论参考。

## 1 *Rev-erba* 生物学特征

### 1.1 *Rev-erba* 的结构与分布

*Rev-erba* 是核受体家族 (nuclear receptor family, NRs) 的重要成员之一, 可以响应各种环境刺激并广泛参与人体昼夜节律、代谢稳态以及免疫功能等多个生理过程的调控。Lazar 等<sup>[7]</sup> 于大鼠的垂体瘤细胞中首次分离获得 *Rev-erba*。起初因未

\* 国家自然科学基金 (32071168) 和中央高校基本科研业务费专项基金 (2022YB019, 20221013, 20221019) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 010-62967640, E-mail: yuliang@bsu.edu.cn

收稿日期: 2023-09-21, 接受日期: 2023-11-22

发现 *Rev-erba* 的生理性内源配体而将其归类为“孤儿”核受体，认为它是配体独立的构成型转录因子。随着对该分子的研究不断深入，人们发现了血红素 (heme) 是 *Rev-erba* 的特异性生理配体，在没有血红素结合的条件下，*Rev-erba* 不具备转录活性<sup>[8]</sup>。几年之后，*Rev-erba* 的同源异构体 *Rev-erbβ* 也被发现，为明确二者的调控潜力，有研究者生成了 *Rev-erba* 和 *Rev-erbβ* 的比较序列，结果显示，在它们所有的识别位点中，有超过 50% 的位点是可以被共同识别的<sup>[9]</sup>，因此，*Rev-erba* 和 *Rev-erbβ* 的功能性高度重叠。在 *Rev-erba* 敲除小鼠模型中，*Rev-erbβ* 可以进行部分补偿<sup>[10]</sup>，而 *Rev-erba/β* 双敲除则会导致时钟基因表达中断和昼夜节律行为的完全丧失<sup>[11]</sup>。

*Rev-erba* 在体内发挥的生理作用取决于其独特的结构特点。核受体家族的一般结构为氨基酸可变区 (A/B 域)、高度保守的锌指结构域 DNA 结合区

(C 域或 DBD 区)、铰链区 (D 域)、配体结合区 (E 域或 LBD 区) 以及激活功能结构域 (F 域)，其中 DBD 区富含半胱氨酸，可通过锌指结构与特异性 DNA 序列结合，而 LBD 区可与特异性的配体结合。与其他核受体家族不同的是，*Rev-erba* 的 LBD 区不但与核受体共抑制因子 (nuclear receptor co-repressor, NCoR) 等结合，且缺乏激活转录的 F 域 (图 1)。同为核受体家族成员的视黄酸受体相关孤儿受体 (RAR-related orphan receptors, RORs) 与 *Rev-erbs* 竞争相同的响应元件，共同诱导靶基因的转录<sup>[9]</sup>，因此，RORs 和 *Rev-erbs* 的活性平衡对于靶基因的调控至关重要<sup>[12]</sup>。

研究发现，*Rev-erba* 在机体的多个部位均有分布，在代谢旺盛的组织，如骨骼肌、心脏、肝脏、脂肪等处的含量尤为丰富。这可能与 *Rev-erba* 广泛参与机体生理过程的调节有关<sup>[10]</sup>。

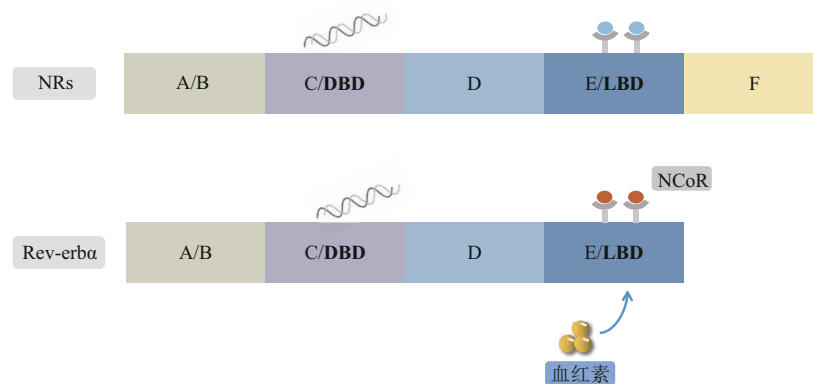


Fig. 1 Structure of the nuclear receptor family and *Rev-erba*

图1 核受体家族与 *Rev-erba* 的结构

核受体家族的一般结构为氨基酸可变区 (A/B 域)、高度保守的锌指结构域 DNA 结合区 (C 域或 DBD 区)、铰链区 (D 域)、配体结合区 (E 域或 LBD 区) 以及激活功能结构域 (F 域)，其中 DBD 区富含半胱氨酸，可与特异性 DNA 序列结合，而 LBD 区与特异性的配体结合。与其他核受体家族不同的是，*Rev-erba* 缺乏激活转录的 F 域，作为 *Rev-erba* 的特异性生理配体的血红素 (heme) 与 NCoR 等可与 *Rev-erba* 的 LBD 区结合。

## 1.2 *Rev-erba* 与昼夜节律调控

昼夜节律是指生物体为适应明-暗环境变化而进化出的一种以 24 h 为周期的内源性节律，它使得机体的各个生理过程可以对环境的改变做出预见性的应答，从而保证整体功能正常运作，当昼夜节律紊乱或中断时，会引发各种疾病<sup>[13]</sup>。昼夜节律的核心分子机制主要是由多个基因构成且自主调控的转录翻译反馈环路 (transcriptional-translational feedback loop, TTFL)。该环路由两部分构成：一

方面，在核心环路中，芳香烃受体核转运蛋白的类似蛋白 1 (brain and muscle Arnt-like protein 1, Bmal1) 蛋白和昼夜节律运动输出周期 (circadian locomotor output cycles kaput, Clock) 蛋白属于转录激活因子，二者形成的异源二聚体不断蓄积，随后与靶基因增强子 (enhancer-box, E-box) 区域结合，驱动周期 1~3 (*Period 1-3*, *Per1-3*) 和隐花色素 1/2 (*cryptochrome 1/2*, *Cry1/2*) 家族及其他基因的转录。随着 *Pers* 和 *Crys* 的不断积累，二者

形成的复合物可抑制 *Bmal1* 和 *Clock* 的活性<sup>[14]</sup>。另一方面, 在稳定环路中, *Rev-erba* 主要作为一种转录抑制因子在 TTFL 发挥作用<sup>[9]</sup>, *Rev-erba* 和 *RORα* 竞争性地与乙二酸相关孤儿受体反应元件 (retinoic acid-related orphan receptor response elements, ROREs) 结合, 可分别起到抑制和激活 *Bmal1* 转录的作用<sup>[15]</sup>。除此之外, *Rev-erba* 还与其他时钟基因存在复杂的联系。例如, *Rev-erba* 可被 *Bmal1* 和 *Clock* 异源二聚体激活, 而被 *Pers* 及 *Crys* 所抑制, 由此产生了 *Rev-erba* 的节律性震荡。不仅如此, *Rev-erba* 还能单独抑制 *Crys*、PAS 结构域蛋白 2 (neuronal PAS domain protein 2, *Npas2*) 等时钟基因的表达。总之, *Rev-erba* 与其他时钟基因共同构成了庞大而精密的调控网络, 通过表观遗传、转录和翻译等方式调控下游钟控基 (clock-controlled genes, CCGs) 的表达, 能够有效调节生物体睡眠觉醒周期、激素分泌以及代谢等

活动<sup>[16]</sup>。

基于 *Rev-erba* 与生物钟系统中的众多基因所存在的联系, 其在整个生物钟系统所起的作用也进一步被阐明。当 *Rev-erba* 表达异常时, 其他生物钟基因会受到明显影响。给处于持续黑暗条件下的小鼠单次注射 *Rev-erbs* 的合成配体 SR9011 或 SR9009 之后分离小鼠下丘脑, 发现 *Per2*、*Cry2*、*Bmal1*、*Clock* 的表达模式受到干扰, *Npas2* 的震荡几乎完全消失<sup>[17]</sup>。敲除 *Rev-erba* 后, *Bmal1* 和 *Npas2* 表达显著上调<sup>[11]</sup>。此外, *Rev-erba* 对维持生物钟系统的相位和周期正常化具有重要作用。*Rev-erba* 敲除小鼠在持续黑暗环境下节律变短, 并且相位前移<sup>[18]</sup>。张芹等<sup>[19]</sup>发现, *Rev-erba* 缺失导致雌鼠出现生殖缺陷, 生理周期延长了约 3.22 h。以上研究结果提示, *Rev-erba* 在庞大的生物钟调控网络中扮演着极为关键角色, 其表达直接影响着其他时钟基因的稳定以及节律性输出 (图 2)。

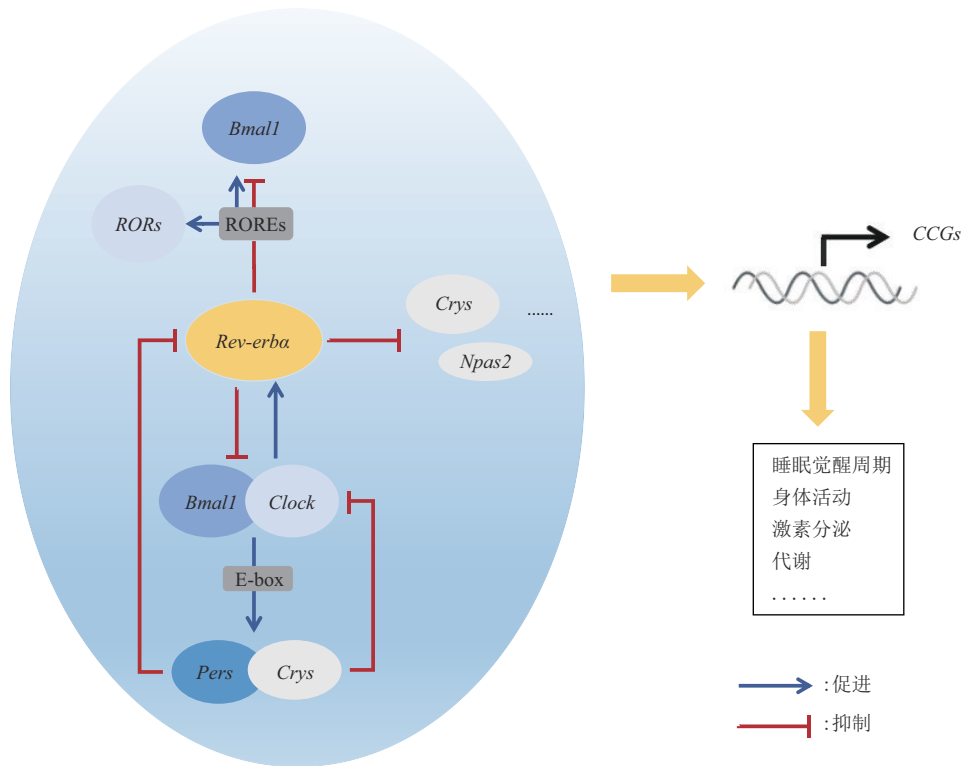


Fig. 2 Role of *Rev-erba* in the regulation of TTFL

图2 *Rev-erba*在调节TTFL的作用

在转录翻译反馈环路 (transcriptional-translational feedback loop, TTFL) 的核心环路中, *Bmal1* 和 *Clock* 可不断蓄积并形成异源二聚体, 随后与 E-box 区域结合, 驱动 *Periods* 和 *Crys* 家族基因的转录。随着 *Pers* 和 *Crys* 的不断积累, 二者形成的复合物抑制 *Bmal1* 和 *Clock* 的活性。在稳定环路中, *Rev-erba* 和 *RORα* 竞争性地与 ROREs 结合, 分别抑制和激活 *Bmal1* 转录。另外, *Rev-erba* 与其他时钟基因存在复杂的联系, *Rev-erba* 可被 *Bmal1* 和 *Clock* 异源二聚体激活, 而被 *Pers* 及 *Crys* 所抑制。另外, *Rev-erba* 也可以单独抑制 *Crys*、*Npas2* 等时钟基因的表达。*Rev-erba* 与其他时钟基因调控下游钟控基因 (clock-controlled genes, CCGs) 的表达, 有效调节生物体睡眠觉醒周期、激素分泌以及代谢等活动。

## 2 *Rev-erba*与线粒体生物合成

### 2.1 *Rev-erba*在线粒体生物合成中的作用

线粒体是普遍存在于真核细胞生物中的一种细胞器,通过氧化磷酸化驱动ADP转化为ATP,为细胞提供生命活动所必需的能量<sup>[20]</sup>。线粒体具有高度的动态性,为了响应发育信号以及外界环境应激所触发的能量需求,细胞会启动线粒体生物合成(mitochondria biogenesis)过程<sup>[21]</sup>。由于线粒体基因组编码能力有限,大部分线粒体蛋白质的合成受核编码基因组调控。过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子1 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ )被认为是线粒体生物合成的主调控因子,其过表达导致线粒体数量增加和功能增强<sup>[4]</sup>。当PGC-1 $\alpha$ 被磷酸化或去乙酰化激活后,可以刺激下游一系列核转录因子,即核呼吸因子1/2(nuclear respiratory factor-1/2, NRF-1/2)等,并增加最终效应物线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)的表达及线粒体DNA(mitochondria DNA, mtDNA)复制和转录。因此,机体可通过PGC-1 $\alpha$ /NRFs/TFAM通路产生新的线粒体,完成线粒体生物合成过程<sup>[22]</sup>。

已知*Rev-erba*可调节线粒体生物合成,其表达高低直接影响着线粒体生物合成过程。Woldt等<sup>[23]</sup>通过在体实验发现,骨骼肌中特异性敲除*Rev-erba*后,小鼠耐力水平降低,出现了明显的线粒体生物合成障碍,PGC-1 $\alpha$ 的mRNA和蛋白质浓度分别下降了56%和50%,过表达*Rev-erba*则出现了相反的情况,表现为线粒体活性增强,数量增多,PGC-1 $\alpha$ 和TFAM的表达增加。同样地,Amador等<sup>[24]</sup>也在离体研究中发现,细胞中过表达*Rev-erba*可以促进线粒体生物合成,且与线粒体代谢相关的基因表达明显增强,这与骨骼肌中得出的结论一致。以上研究结果表明,*Rev-erba*可以驱动线粒体生物合成,缺失*Rev-erba*导致线粒体生物合成受损。

线粒体自噬可以靶向清除受损或多余线粒体,是维持健康线粒体数量,保持线粒体稳态另一个重要过程。研究表明,*Rev-erba*可以协同调节线粒体生物合成及自噬,使机体多项生理过程趋于正常化。Sun等<sup>[25]</sup>发现,*Rev-erba*可以通过调节多囊卵巢综合征中的线粒体生物合成和自噬来抑制颗粒细胞的凋亡。同时*Rev-erba*也可以影响线粒体生物合成及自噬过程来调节骨骼肌有氧能力<sup>[23]</sup>。综上,

*Rev-erba*不仅是线粒体生物合成增强的重要“助力因子”,还是细胞内维持线粒体生物合成及自噬过程的“稳定器”。因此,可以进一步挖掘*Rev-erba*的潜在医用价值,为治疗由线粒体稳态失调所导致疾病提供新思路。

### 2.2 影响*Rev-erba*的可能因素

*Rev-erba*对内在及外界环境的变化较为敏感,多种因素都可引起其活性发生变化,进而影响线粒体生物合成。

#### 2.2.1 昼夜节律紊乱

大脑皮层中时钟基因的表达很大程度上取决于先前的睡眠——觉醒史,昼夜节律紊乱会导致生物钟的起搏器——下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)损伤,不能同步化时钟基因的表达及维持时钟基因的节律性振荡<sup>[26]</sup>,进而引起觉醒、睡眠片段化和一系列不良反应<sup>[27]</sup>。因此稳定的昼夜节律,即相对规律的作息时间以及光照周期是维持*Rev-erba*节律性表达的重要条件。研究报道,持续光照显著抑制小鼠在多个时间点的*Rev-erba* mRNA表达<sup>[28]</sup>。处于昼夜节律紊乱环境中的小鼠下丘脑中*Rev-erba*及多个时钟基因的转录水平异常,出现焦躁、过度活跃及日间睡眠片段化<sup>[29]</sup>。但急性短期的睡眠剥夺,对*Rev-erba*表达量的影响存在分歧<sup>[30]</sup>,仍需要进一步探究。

线粒体生物合成与昼夜节律的稳定输出具有重要联系。首先,多个参与线粒体生物合成的因子,如PGC-1 $\alpha$ <sup>[20]</sup>、线粒体氧化还原蛋白,即电子传递链的复合物I~V(complexes I~V)等<sup>[31]</sup>表达都被发现具有昼夜节律性振荡。另外,线粒体生物合成不仅意味着线粒体数量的增加,还代表着线粒体动力学、形态变化、能量代谢等方面的改变。如线粒体当中的多种限速酶以昼夜节律变化的方式积累<sup>[32]</sup>。线粒体形态在一天当中呈现出周期性变化<sup>[33]</sup>,为了适应细胞每日的能量变化,线粒体能量代谢也不断经历着昼夜节律式波动<sup>[34]</sup>。因此,昼夜节律失调势必会对线粒体生物合成造成不利影响。有研究指出,睡眠障碍与原发性线粒体疾病存在密切关联<sup>[35]</sup>。当采取睡眠剥夺和限制干预时,细胞内活性氧(ROS)积累,氧化应激水平升高,线粒体生物合成相关酶活性降低,线粒体生物合成会受到明显影响<sup>[36]</sup>。在模拟人类轮班工作的光照条件下,PGC-1 $\alpha$ 、NRF-1、TFAM等蛋白质表达水平发生变化,mtDNA减少,*Rev-erba* mRNA相对

表达量也出现了降低的情况<sup>[37]</sup>。以上研究结果提示, 作为调节昼夜节律及线粒体生物合成的重要因素, *Rev-erba*可能在昼夜节律紊乱导致的线粒体生物合成障碍中发挥了关键作用。

### 2.2.2 代谢类疾病

代谢综合征 (metabolic syndrome, MetS) 是指肥胖、血糖血脂异常、高血压等多种心血管疾病的危险因素在一个个体中同时存在的临床综合征<sup>[38]</sup>。*Rev-erba*能感知细胞内的能量代谢状态, 参与了包括葡萄糖、脂肪、氨基酸和骨代谢等多个过程中<sup>[39]</sup>, 在肥胖和2型糖尿病患者体内均观察到*Rev-erba*出现明显升高<sup>[40]</sup>, 而*Rev-erba*蛋白下调会出现胰岛素抵抗、动脉粥样硬化、高脂血症等一系列不良代谢反应<sup>[41-42]</sup>。慢性炎症和氧化应激是MetS的重要内在机制。*Rev-erba*不仅可直接抑制或经核因子 $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号转导途径间接下调多种炎症因子, 如白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等表达<sup>[43]</sup>, 还能抑制NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体的活化<sup>[44]</sup>, 并参与了巨噬细胞极化以及免疫细胞发育等过程发挥抗炎作用<sup>[45]</sup>。有研究发现, *Rev-erba*激动剂SR9009能下调还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotidephosphate, NADPH) 氧化酶亚基表达水平, 减少ROS的生成, 从而有效减轻氧化应激造成的损伤<sup>[46]</sup>。以上研究结果提示, 代谢类疾病与*Rev-erba*存在着密切的联系, *Rev-erba*可能是治疗代谢类疾病的关键靶点。

作为机体内参与能量代谢的重要细胞器, 线粒体生物合成障碍通常与代谢类疾病相伴出现。在肥胖、2型糖尿病、肝脏脂肪变性以及心血管疾病模型中均观察到线粒体生物合成受损<sup>[47]</sup>。其机制可能与PGC-1 $\alpha$ 水平下降、氧化还原稳态失调、ROS过载、引起炎症和氧化应激有关<sup>[38]</sup>。同时, 与MetS发病机制相关的营养过剩及久坐、体力活动减少也是诱发的线粒体生物合成减少的重要原因<sup>[48]</sup>。因此, 增强线粒体生物合成被认为是对抗代谢综合征的有效手段。未来可深入研究线粒体生物合成障碍与代谢类疾病的关联, 并考虑*Rev-erba*在其中所起到的作用。

### 2.2.3 衰老

随着年龄的增长, 生物钟系统的调节能力会逐渐减弱, 出现多种节律性行为的失调, 例如体温降低和睡眠时间减少等<sup>[49]</sup>。衰老引起晶状体和瞳孔对光的摄取能力减弱, 光敏神经节细胞的敏感性下降, 导致SCN获得的光信号减少, 无法实现内源性时钟与外界环境的“同步”。有研究者认为, 衰老导致的机体节律性失调的分子机制可能与*Rev-erba*及其他时钟基因的振幅下降有关<sup>[50]</sup>。动物实验表明, 时钟基因的突变会导致小鼠出现早衰的表型<sup>[51]</sup>。人体研究也发现, 与年轻受试者相比, 年老受试者体内包括*Rev-erba*在内的多个时钟基因mRNA表达水平均下降<sup>[52]</sup>。另外, *Rev-erba*可能在治疗衰老所致的各型疾病中发挥了重要作用, 如*Rev-erba*可通过NRF2有效缓解由于增龄所致的视网膜色素上皮细胞变性<sup>[53]</sup>。因此, 增强*Rev-erba*及其他时钟基因振幅, 有利于老年人恢复生物节律, 提高衰老人群的生活质量。

多项证据表明, 增龄所导致的危害与能量供需失衡密切相关, 衰老过程中可能出现的mtDNA突变、基因组稳定性下降及表观遗传改变等原因都会导致线粒体功能障碍<sup>[54]</sup>。作为机体的能源提供者, 线粒体在与年龄相关的多种疾病, 如神经退行性疾病和心血管性疾病等发展中起着重要作用<sup>[54]</sup>。因此增强线粒体生物发生对于延缓或抵消衰老所致的机体损害具有重要意义。有研究报道, 泛醇10 (ubiquinol-10) 通过上调沉默信息调节因子1 (silent information regulator 1, SIRT1) /PGC-1 $\alpha$ 轴介导的线粒体生物合成防止衰老引起的线粒体活性和功能的下降<sup>[55]</sup>。PGC-1 $\alpha$ 能通过增强线粒体生物合成减少氧化应激对衰老视网膜细胞的损害<sup>[56]</sup>。因此, 作为PGC-1 $\alpha$ 的上游因子, *Rev-erba*可能通过介导线粒体生物合成以对抗衰老带来的不利影响。

对上述已有研究结果总结发现, 昼夜节律紊乱、代谢类疾病及衰老都是诱导*Rev-erba*活性发生变化的重要因素, 其伴随的炎症及氧化应激可能是抑制线粒体生物合成的内在机制。因此, *Rev-erba*作为影响线粒体生物合成的关键基因, 通过调节其活性状态, 增强线粒体生物合成, 可能是改善病理状态, 促进机体健康的重要手段。

### 3 运动与*Rev-erba*的相互调节

如前所述,多种内在及外界环境因素都可导致*Rev-erba*表达水平异常,诱发线粒体合成障碍,进而导致多种疾病的发生。运动作为一种被大众普遍接受的非药用手段,在增强线粒体功能,促进机体健康等方面发挥了重要作用。同时,研究发现,运动与*Rev-erba*亦有着密切的联系,*Rev-erba*可能成为连接运动及线粒体生物合成之间的关键桥梁。

#### 3.1 运动对*Rev-erba*的直接影响

机体内部的生物钟系统可以调节多种生理活动,而外界刺激也可以作为一种信号输入,直接调

控生物钟基因的表达。运动被认为是一种重要的“授时因子”,可以调节昼夜节律的振幅和相位,重置生物钟系统的节律性震荡,维持线粒体稳态,促进机体健康<sup>[16, 57]</sup>。Hansen等<sup>[58]</sup>在对久坐不动人群和耐力运动员进行骨骼肌活检后分化的人类原代肌管细胞(human primary myotubes, HPM)中发现,与久坐不动人群相比,耐力运动员HPM的*Rev-erba* mRNA水平在各时间点均显著升高,提示运动刺激可能是导致*Rev-erba*表达水平发生变化的关键因素。基于运动强度、模式及运动周期长短的多样化,其对*Rev-erba*的具体影响也不尽相同。本研究总结了不同运动方式和运动周期对*Rev-erba*表达水平的影响(表1)。

Table 1 Effects of different exercise modes and exercise cycles on the expression level of *Rev-erba*

表1 不同运动方式和运动周期对*Rev-erba*表达水平的影响

研究对象	研究部位	运动方案		<i>Rev-erba</i> 变化	参考文献
		运动频率	运动方式		
运动员	人类原代肌管细胞	每周至少进行3次	耐力运动	升高	[58]
小鼠	骨骼肌	一次性	耐力运动	降低	[59]
	骨骼肌	一次性	高强度运动	降低	
	海马体	一次性	抗阻运动	升高	
大鼠	骨骼肌、肝脏	5 d/周, 共10周	耐力运动	骨骼肌中未发生变化, 肝脏中升高	[60-61]
	骨骼肌、肝脏	5 d/周, 共10周	高强度运动	升高	
丹麦男性	骨骼肌	一次性	高强度运动	体外培养肌细胞中未发生变化	[62]
小鼠	骨骼肌	一次性	高强度运动	先升高后下降	[63]

一方面,*Rev-erba*表达水平受到运动强度的影响。Da Rocha等<sup>[59]</sup>研究了不同运动方案对不同组织中*Rev-erba*表达水平的影响,结果发现,*Rev-erba*对运动刺激极为敏感,耐力跑、高强度间歇跑以及抗阻运动均能改变外周和中央组织中*Rev-erba* mRNA表达,且高强度间歇跑相较于耐力跑在运动后12 h和18 h表现出更高的*Rev-erba* mRNA水平,提示*Rev-erba*的转录反应可能受到运动强度的影响。Shen等<sup>[60]</sup>的实验结果验证了这一猜想。在对高脂喂养小鼠进行中等强度和高强度运动干预后发现,所有运动组骨骼肌中*Rev-erba* mRNA均有升高趋势,且与低强度组相比高强度组升高更加明显。随后他们又探究了两种强度的运动对高脂喂养小鼠肝脏中*Rev-erba*蛋白表达的影响,高脂喂养会显著降低肝脏中*Rev-erba*蛋白水平,随后大鼠分别进行相当于60%VO<sub>2max</sub>的低强度运动和90%VO<sub>2max</sub>的高强度运动,结果表明,低强度持续运动刺激作

用较弱,不足以对抗高脂饮食引起的*Rev-erba*蛋白表达降低,而大强度间歇运动对*Rev-erba*的刺激效应更加显著,改善了肝脏中代谢异常和脂质沉积,提示运动刺激*Rev-erba*蛋白表达可能存在强度依赖性<sup>[61]</sup>。出现以上结果的原因可能是,*Rev-erba*作为调节代谢的重要因子,随能量稳态的变化而变化,高强度运动更能增加能量消耗,提高脂肪氧化率,因此高强度运动在提升*Rev-erba*表达方面更加显著。

另一方面,运动周期的长短也会影响*Rev-erba*表达水平,表现在一次性急性运动和长期运动干预对*Rev-erba*的表达的影响存在差异。Small等<sup>[62]</sup>让数名年轻受试者进行了相当于80%VO<sub>2max</sub>的一次性自行车运动,检测运动前和运动后60 min股外侧肌肉中几个时钟基因的表达,结果发现,运动后*Rev-erba* mRNA水平下降,然而在体外培养的肌细胞中,这一结果并未再现,*Rev-erba* mRNA没有发

生变化。Pinto等<sup>[63]</sup>让小鼠在跑台上进行了坡度为10°, 速度为20 m/min的急性运动, 运动后立即*Rev-erba*增加, 运动后1 h和3 h, *Rev-erba*蛋白水平趋向于下调。因此一次性运动或收缩活动对*Rev-erba*的影响可能是有限的, 长期规律的运动可能是影响*Rev-erba*表达的更有效方式。沈友青等<sup>[60-61]</sup>研究发现, 10周有氧运动干预能明显升高高脂喂养小鼠骨骼肌和肝脏内的*Rev-erba*蛋白表达, 增加对脂代谢因子的调控, 维持机体的脂代谢稳态。大量研究表明, 骨骼肌中大量基因即使是在非运动状态也会发生变化, 这意味着在急性运动之后, 骨骼肌中转录组的变化不仅由收缩活动引起, 还与本身的昼夜节律振荡有关<sup>[64]</sup>。因此一次性运动的时段以及采样时间会对最终的研究结果产生影响, 长时间规律的运动在影响*Rev-erba*表达水平方面可能更具显著性, 并且与改善骨骼肌代谢密切相关。

综上, *Rev-erba*对运动刺激极为敏感, 运动剂量的强度和周期长短都是其影响因素。目前运动对*Rev-erba*影响的研究仍旧缺乏, 运动的模式、频率等对其表达量的振幅、时相和周期的不同影响及其机制有待探究和量化。同时, 由于*Rev-erba*在组织中广泛分布, 未来可深入研究运动刺激对中央和外周组织中不同部位中*Rev-erba*的差异化作用。

### 3.2 *Rev-erba*对运动能力的间接调控

骨骼肌是产生和维持运动的器官, 其中有超过2 300个基因以昼夜节律的形式进行表达, 这些基因广泛参与了肌发生、转录和代谢等多个生理过程中<sup>[65]</sup>。昼夜节律紊乱后小鼠的运动能力显著降低, 且时钟基因在运动性骨骼肌损伤中发挥了重要作用<sup>[66]</sup>, 证明运动能力受到生物钟系统的调节。人体的多项运动能力一天当中存在波动, 一般在下午至傍晚达到最高水平<sup>[67]</sup>, 而这与时钟基因*Rev-erba*的峰值表达时间大致重合, 提示*Rev-erba*可能是连接运动能力与生物钟系统的重要桥梁。诸多研究已表明, *Rev-erba*与骨骼肌的各项生理机能之间存在密切联系, 缺失*Rev-erba*会对骨骼肌运动能力造成明显损害。Woldt等<sup>[23]</sup>发现, *Rev-erba*可通过介导线粒体生物合成及自噬来影响骨骼肌功能, 骨骼肌中缺乏*Rev-erba*的小鼠表现为运动能力下降, 骨骼肌有氧能力受损。Mayeuf等<sup>[68]</sup>的研究也表明, 骨骼肌中过表达或药理性激活*Rev-erba*可改善线粒体呼吸并增强运动能力, 且*Rev-erba*缺乏会导致肌

萎缩相关基因表达增加, 肌纤维横截面积变小, 肌肉质量降低, 相反在体外和体内过表达*Rev-erba*可降低肌萎缩相关基因水平并增加肌纤维面积。骨骼肌能量代谢是影响运动能力的重要因素, *Rev-erba*与骨骼肌糖脂代谢密切相关, *Rev-erba*表达缺失会抑制葡萄糖摄取, 血糖异常升高, 脂质代谢基因表达紊乱, 脂肪动员减少, 进而出现MetS<sup>[69]</sup>, 而使用*Rev-erba*激动剂或合成配体后可通过增加能量消耗, 减少脂肪量, 改善高血糖和血脂异常, 治疗由饮食诱导的肥胖<sup>[17]</sup>。另外, *Rev-erba*对骨骼肌再生起着重要的协调作用。轻微的磨损和正常的损伤可启动肌生成程序, 该过程涉及到肌源性前体(myogenic precursors, MPC)的增殖、分化以及融合等<sup>[70]</sup>。MPC增殖和分化的平衡是保证肌肉完成修复过程的前提条件, *Rev-erba*可促进MPC分化, 抑制过度增殖<sup>[71]</sup>。因此, 在肌生成的整个过程中, *Rev-erba*需要保持动态的调节和变化, 在肌肉损伤时*Rev-erba*表达下调有利于肌源性修复<sup>[72]</sup>, 而在后续的分化过程中*Rev-erba*表达增加可防止组织过度重塑, 敲除*Rev-erba*后, MPC的增殖效应明显增强<sup>[72]</sup>。因此, *Rev-erba*在骨骼肌再生过程中, 可促进再生潜力, 维持骨骼肌再生正常程序。

以上研究结果表明, *Rev-erba*通过参与骨骼肌线粒体生物合成及自噬、肌肉质量维持、能量代谢和骨骼肌再生等途径, 维持骨骼肌稳态, 间接调节运动能力, 在骨骼肌运动适应中扮演了重要角色, 未来可将*Rev-erba*作为治疗肌肉疾病的潜在靶点, 以及为增强运动表现, 提升肌肉能力提供理论支持。

## 4 运动通过*Rev-erba*调节线粒体生物合成的可能机制

### 4.1 *Rev-erba*调控AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 通路

*Rev-erba*对AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 通路的调控作用可能是运动影响线粒体生物合成的机制之一。线粒体生物合成作用增强是骨骼肌运动性适应的结果, 该结论已在众多研究中得以验证<sup>[73]</sup>。AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$ 是运动诱导线粒体生物合成的经典路径。肌肉收缩过程中, 细胞代谢状态发生变化, AMP/ATP比值增加, 磷酸化激活AMPK, 进一步诱导SIRT1去乙酰化酶活性, 并作用于下游的PGC-1 $\alpha$ , 诱导线粒体生物合成。另外, 烟酰胺

腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 是一种存在于活细胞中的辅酶, 常以氧化态  $\text{NAD}^+$  和还原态 NADH 的形式存在, 运动引起的  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  比值变化能直接控制 SIRT1 活性来调节骨骼肌的代谢特性。已知 *Rev-erba* 处于骨骼肌能量代谢和生物钟系统之间的“交汇点”<sup>[74]</sup>, 是 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  的上游, 且抑制 AMPK 活性会阻断 *Rev-erba* 对线粒体呼吸的刺激作用。Woldt 等<sup>[23]</sup> 研究表明, *Rev-erba* 缺失后, AMPK 活性降低, 损害了 SIRT1 介导的 PGC-1 $\alpha$  去乙酰化, 线粒体生物合成受到明显影响, 最终表现为缺陷小鼠骨骼肌氧化能力受损, 跑步能力严重下降。运动能增强 *Rev-erba* 基因的转录反应, 从而使转录翻译后的 *Rev-erba* 蛋白会进入胞浆, 与 AMPK 互相作用, 诱导线粒体生物合成。因此, 基于运动能显著影响时钟基因 *Rev-erba* 的表达, 推测运动后引起的线粒体合成增加可能是通过 *Rev-erba* 作用于 AMPK/SIRT1/PGC-1 $\alpha$  通路导致的 (图3)。

#### 4.2 *Rev-erba* 引起 $\text{Ca}^{2+}$ 通量变化

*Rev-erba* 诱导  $\text{Ca}^{2+}$  通量变化可能是运动诱导线粒体生物合成的另一个潜在机制。 $\text{Ca}^{2+}$  是调节肌肉收缩的关键信号, 因此在运动过程中  $\text{Ca}^{2+}$  通量是持续变化的。 $\text{Ca}^{2+}$  也是调节线粒体生物合成的重要因素, 增加  $\text{Ca}^{2+}$  水平可诱导 PGC-1 $\alpha$  和 TFAM 的表达, 并伴随着 NRF-1 和 NRF-2 与 DNA 结合的增加<sup>[75]</sup>。钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (calcium/calmodulin-dependent protein kinase, CaMK) /p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 可以激活 PGC-1 $\alpha$ , 诱导线粒体生物合成。此外, CaMK 也被证明可以通过 cAMP 反应元件 (cAMP response element binding, CREB) 结合直接刺激 PGC-1 $\alpha$ <sup>[76]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$  含量在机体内存在着昼夜节律性波动<sup>[77]</sup>,  $\text{Ca}^{2+}$  通量变化在 SCN 神经元的昼夜节律维持中有着明确的作用<sup>[62]</sup>, 提示体内  $\text{Ca}^{2+}$  水平受到生物钟系统的调节。Vieira 等<sup>[78]</sup> 研究发现, *Rev-erba* 可能通过  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的机制调节胰高血糖素的分泌, *Rev-erba* 激动剂 GSK4112 增加了细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加, 而 *Rev-erba* 拮抗剂则产生了相反的效果。因此, 运动引起细胞核内 *Rev-erba* 转录增强, 上调 *Rev-erba* 蛋白表达, 进而实现对细胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  通量的调节。以上结果表明, *Rev-erba* 在调节体内  $\text{Ca}^{2+}$  通量方面起到了重要作用, 运动可

能通过诱导 *Rev-erba* 表达引起  $\text{Ca}^{2+}$  通量改变, 进而增强线粒体生物合成过程, 但 *Rev-erba* 是否与  $\text{Ca}^{2+}$  通量变化存在相互作用及下游通路如何仍待进一步深入 (图3)。

#### 4.3 *Rev-erba* 激活氧化防御系统

除此之外, 运动可能通过调节 *Rev-erba* 表达, 进而影响 ROS 生成, 减轻氧化应激, 恢复线粒体生物合成的正常程序。线粒体是细胞产生 ROS 的主要位点, 当 ROS 的产生超过了细胞的氧化防御能力, 就会发生氧化应激。由于线粒体 DNA 中组蛋白缺乏及 DNA 修复能力的减弱使得线粒体在发生氧化应激时尤其容易受到损伤, 诱发线粒体生物合成障碍<sup>[79]</sup>。运动与体内适量 ROS 水平存在一个微妙的“天平”, 虽然短时间 (短于 1 min) 和低强度 (低于 30% 的  $\text{VO}_{2\text{max}}$ ) 的运动不会引起氧化应激, 但长时间和高强度的运动会使得骨骼肌中氧化应激标志物明显增加。短期 (连续 5 d) 和长期 (12 周) 的耐力训练能增加肌肉中的抗氧化酶活性, 消除由急性运动引起的氧化应激<sup>[80]</sup>。因此, 抗氧化系统的激活可能是抵抗运动性氧化应激的关键。研究表明, 抗氧化基因具有昼夜节律性震荡, 提示细胞对氧化应激的防御受到生物钟系统的调控。*Rev-erba* 可以上调抗氧化基因 mRNA 表达, 增强内源性抗氧化物质活性, 如抗氧化酶超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 等来启动 ROS 防御系统, 减少 ROS 生成, 有效减轻氧化应激造成的损伤<sup>[81]</sup>。而 *Rev-erba* 基因缺失会导致氧化应激的持续积累<sup>[53]</sup>。Sengupta 等<sup>[81]</sup> 发现, 小鼠肺成纤维细胞转染了耐降解的 *Rev-erba* 后, 上调了抗氧化酶的表达, 可保护细胞免受氧化应激损伤, 线粒体呼吸增强, 线粒体面积增大, PGC-1 $\alpha$  表达增加, 提示线粒体生物合成增强。有研究指出, 药理性激活 *Rev-erba* 可通过增强 PGC-1 $\alpha$  和下游信号通路 NRF-1、TFAM 表达, 增强线粒体功能, 缓解氧化应激, 进而减轻阿霉素诱导的心脏毒性作用<sup>[82]</sup>。

综上, 运动可能通过影响 *Rev-erba* 表达水平, 启动细胞内抗氧化系统, 增强氧化应激防御, 来维持和稳定线粒体生物合成过程。但何种运动强度及周期才能引起 *Rev-erba* 激活抗氧化系统并启动对线粒体生物合成过程的保护效应仍需进一步探究 (图3)。



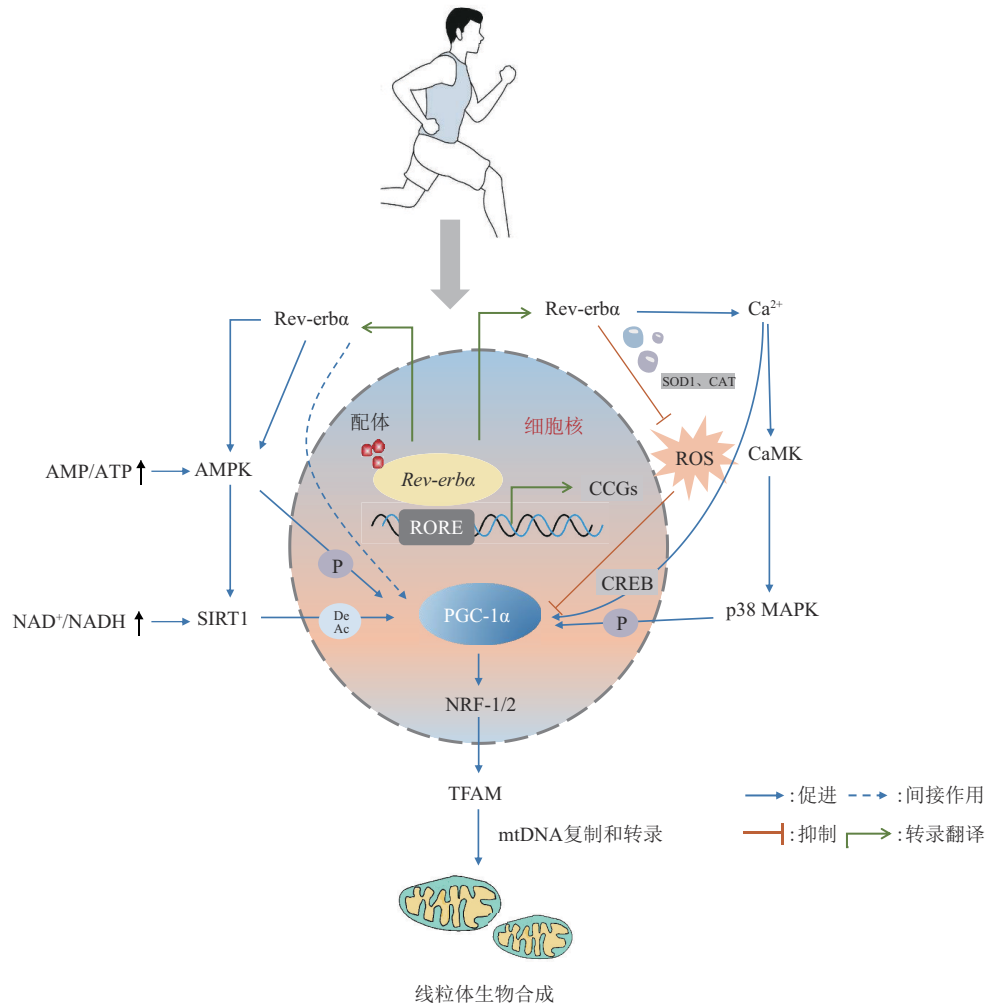


Fig. 3 Possible mechanism of exercise-induced mitochondrial biosynthesis via the clock gene *Rev-erba*

图3 运动通过时钟基因*Rev-erba*诱导线粒体生物合成的可能机制

运动过程中, AMP/ATP及NAD<sup>+</sup>/NADH比值增加能分别影响AMPK和SIRT1活性, 调节骨骼肌的代谢特性。*Rev-erba*处于AMPK/SIRT1/PGC-1α的上游, 运动促进*Rev-erba*基因的转录反应, 从而使转录翻译后的*Rev-erba*蛋白会进入胞浆, 与AMPK互相作用, 使AMPK磷酸化或SIRT去乙酰化激活PGC-1α。运动引起细胞核内*Rev-erba*转录增强, 上调*Rev-erba*蛋白表达, 进而实现对细胞质中Ca<sup>2+</sup>通量的调节, 经Ca<sup>2+</sup>下游的CaMK/p38 MAPK磷酸化PGC-1α或CaMK与CREB结合直接刺激PGC-1α。另外, 运动后*Rev-erba*蛋白表达上升能增强内源性抗氧化物质, 如SOD1、CAT等活性来启动氧化防御系统, 减少ROS生成, 减轻氧化应激对线粒体生物合成造成的不利影响。*Rev-erba*通过以上途径激活PGC-1α后, 可通过PGC-1α/NRFs/TFAM通路增加mtDNA的复制和转录, 诱导线粒体生物合成过程。

## 5 总 结

时钟基因 *Rev-erba* 能整合昼夜节律与能量代谢, 在线粒体生物合成过程中发挥了重要作用, 昼夜节律紊乱、代谢类疾病以及衰老都会导致体内 *Rev-erba* 的表达水平发生变化, 进而诱发线粒体生物合成障碍。运动作为一种促进健康的积极手段, 能对 *Rev-erba* 的表达产生直接影响, 但在一定程度上受到运动强度和周期的制约, 同样地, *Rev-erba* 也通过影响骨骼肌的多个方面来改善健康, 间接促

进运动能力。*Rev-erba* 对 AMPK/SIRT1/PGC-1α 通路、Ca<sup>2+</sup> 通量以及抗氧化系统的激活作用可能是运动诱导线粒体生物合成的潜在机制。因此, 时钟基因 *Rev-erba* 可能是运动促进线粒体生物合成增加的重要靶点, 可为今后可以为运动促进线粒体生物合成机制提供理论参考。

## 参 考 文 献

[1] Duez H, Staels B. Rev-erb-alpha: an integrator of circadian rhythms and metabolism. *J Appl Physiol*, 2009, **107**(6): 1972-1980

- [2] Jornayvaz F R, Shulman G I. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem*, 2010, **47**(24): 69-84
- [3] Dorn G W, Vega R B, Kelly D P. Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart. *Genes Dev*, 2015, **29**(19): 1981-1991
- [4] Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Martinez-Moreno J M, *et al.* The role of PGC-1 $\alpha$  and mitochondrial biogenesis in kidney diseases. *Biomolecules*, 2020, **10**(2): 347
- [5] Sorrentino V, Menzies K J, Auwerx J. Repairing mitochondrial dysfunction in disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2018, **58**(1): 353-389
- [6] Smith J A B, Murach K A, Dyar K A, *et al.* Exercise metabolism and adaptation in skeletal muscle. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, **24**(9): 607-632
- [7] Phelan C A, Gampe R T, Lambert M H, *et al.* Structure of Rev-erb $\alpha$  bound to N-CoR reveals a unique mechanism of nuclear receptor-corepressor interaction. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, **17**(7): 808-814
- [8] Solt L A, Kojetin D J, Burris T P. The REV-ERBs and RORs: molecular links between circadian rhythms and lipid homeostasis. *Future Med Chem*, 2011, **3**(5): 623-638
- [9] Kojetin D J, Burris T P. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, **13**(3): 197-216
- [10] Griffett K, Hayes M E, Boeckmen M P, *et al.* The role of REV-ERB in NASH. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2022, **43**(5): 1133-1140
- [11] Ikeda R, Tsuchiya Y, Koike N, *et al.* REV-ERB  $\alpha$  and REV-ERB  $\beta$  function as key factors regulating mammalian circadian output. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 10171
- [12] Bugge A, Feng D, Everett L J, *et al.* Rev-erba and Rev-erbb coordinately protect the circadian clock and normal metabolic function. *Genes Dev*, 2012, **26**(7): 657-667
- [13] Neves A R, Albuquerque T, Quintela T, *et al.* Circadian rhythm and disease: relationship, new insights, and future perspectives. *J Cell Physiol*, 2022, **237**(8): 3239-3256
- [14] Honma S. The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. *J Physiol Sci*, 2018, **68**(3): 207-219
- [15] 高扬, 杨婷婷, 于亮. 时钟基因 Bmal1: 白色脂肪棕色化的重要调控点. *中国运动医学杂志*, 2023, **42**(6): 493-500  
Gao Y, Yang T T, Yu L. *Chinese Journal of Sports Medicine*, 2023, **42**(6): 493-500
- [16] 高扬, 苏香楠, 于亮. 运动重置骨骼肌生物钟调控线粒体质量控制的研究进展. *中国病理生理杂志*, 2022, **38**(6): 1128-34  
Gao Y, Su X N, Yu L. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2022, **38**(6): 1128-34
- [17] Solt L A, Wang Y, Banerjee S, *et al.* Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists. *Nature*, 2012, **485**(7396): 62-68
- [18] Zhang E E, Kay S A. Clocks not winding down: unravelling circadian networks. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(11): 764-776
- [19] 张芹, 董珍, 吴曦, 等. 生物钟基因 Rev-erb- $\alpha$  缺失导致雌鼠生理周期延长. *生理学报*, 2013, **65**(4): 395-401
- Zhang Q, Dong Z, Wu X, *et al.* *Acta Physiologica Sinica*, 2013, **65**(4): 395-401
- [20] Chan D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol*, 2020, **15**: 235-259
- [21] Kauppila T E S, Kauppila J H K, Larsson N G. Mammalian mitochondria and aging: an update. *Cell Metab*, 2017, **25**(1): 57-71
- [22] Popovl D. Mitochondrial biogenesis: an update. *J Cell Mol Med*, 2020, **24**(9): 4892-4899
- [23] Woldt E, Sebti Y, Solt L A, *et al.* Rev-erb- $\alpha$  modulates skeletal muscle oxidative capacity by regulating mitochondrial biogenesis and autophagy. *Nat Med*, 2013, **19**(8): 1039-1046
- [24] Amador A, Campbell S, Kazantzis M, *et al.* Distinct roles for REV-ERB $\alpha$  and REV-ERB $\beta$  in oxidative capacity and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *PLoS One*, 2018, **13**(5): e0196787
- [25] Sun L, Tian H, Xue S, *et al.* Circadian clock genes REV-ERBs inhibits granulosa cells apoptosis by regulating mitochondrial biogenesis and autophagy in polycystic ovary syndrome. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 658112
- [26] Hastings M H, Maywood E S, Brancaccio M. Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nat Rev Neurosci*, 2018, **19**(8): 453-469
- [27] Franken P, Dijk D J. Circadian clock genes and sleep homeostasis. *Eur J Neurosci*, 2009, **29**(9): 1820-1829
- [28] Yang C H, Hwang C F, Chuang J H, *et al.* Constant light dysregulates cochlear circadian clock and exacerbates noise-induced hearing loss. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(20): 7535
- [29] 卢悦, 赵国杰, 吴芳杉, 等.  $\gamma$ -氨基丁酸对昼夜节律紊乱型小鼠睡眠干预研究. *营养学报*, 2023, **45**(2): 139-147  
Lu Y, Zhao G J, Wu F S, *et al.* *Acta Nutrimenta Sinica*, 2023, **45**(2): 139-147
- [30] Ackermann K, Plomp R, Lao O, *et al.* Effect of sleep deprivation on rhythms of clock gene expression and melatonin in humans. *Chronobiol Int*, 2013, **30**(7): 901-909
- [31] Richardson R B, Mailloux R J. Mitochondria need their sleep: redox, bioenergetics, and temperature regulation of circadian rhythms and the role of cysteine-mediated redox signaling, uncoupling proteins, and substrate cycles. *Antioxidants*, 2023, **12**(3): 674
- [32] Neufeld-Cohen A, Robles M S, Aviram R, *et al.* Circadian control of oscillations in mitochondrial rate-limiting enzymes and nutrient utilization by PERIOD proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(12): 1673-1682
- [33] Schmitt K, Grimm A, Dalmann R, *et al.* Circadian control of DRP1 activity regulates mitochondrial dynamics and bioenergetics. *Cell Metab*, 2018, **27**(3): 657-666
- [34] Kohsaka A, Das P, Hashimoto I, *et al.* The circadian clock maintains cardiac function by regulating mitochondrial metabolism in mice. *PLoS One*, 2014, **9**(11): e112811
- [35] Brunetti V, Della M G, Servidei S, *et al.* Sleep disorders in mitochondrial diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2021, **21**(7): 30
- [36] Melhuish B L M, Brown G M, Braganza N A, *et al.* Mitochondria's role in sleep: novel insights from sleep deprivation and restriction

- studies. *World J Biol Psychiatry*, 2022, **23**(1): 1-13
- [37] Travicic D Z, Pavlovic M V, Medar M L J, *et al.* Circadian desynchrony disturbs the function of rat spermatozoa. *Eur J Cell Biol*, 2023, **102**(2): 151323
- [38] Rius P S, Torres C I, Millan I, *et al.* PGC-1 $\alpha$ , inflammation, and oxidative stress: an integrative view in metabolism. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, **9**: 1452696
- [39] 冒姝羽, 赵昌睿, 刘畅. 核受体 REV-ERB $\alpha$  整合生物钟与能量代谢. *遗传*, 2023, **45**(2): 99-114
- Mao SY, Zhao C G, Liu C. *Hereditas*, 2023, **45**(2): 99-114
- [40] Vieira E, Ruano E, Figueroa A L, *et al.* Altered clock gene expression in obese visceral adipose tissue is associated with metabolic syndrome. *PLoS One*, 2014, **9**(11): e111678
- [41] Duez H, Van D V, Duhem C, *et al.* Regulation of bile acid synthesis by the nuclear receptor Rev-erba. *Gastroenterology*, 2008, **135**(2): 689-698
- [42] Vieira E, Merino B, Quesada I. Role of the clock gene Rev-erba in metabolism and in the endocrine pancreas. *Diabetes Obes Metab*, 2015, **17**(1): 106-114
- [43] Griffin P, Dimitry J M, Sheehan P W, *et al.* Circadian clock protein Rev-erba regulates neuroinflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(11): 5102-5107
- [44] Wang S, Lin Y, Yuan X, *et al.* REV-ERB $\alpha$  integrates colon clock with experimental colitis through regulation of NF- $\kappa$ B/NLRP3 axis. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 4246
- [45] Wang Q, Robinette M L, Billon C, *et al.* Circadian rhythm-dependent and circadian rhythm-independent impacts of the molecular clock on type 3 innate lymphoid cells. *Sci Immunol*, 2019, **4**(40): 7501
- [46] Wagner P M, Monjes N M, Guido M E. Chemotherapeutic effect of SR9009, a REV-ERB agonist, on the human glioblastoma T98G cells. *ASN Neuro*, 2019, **11**: 175
- [47] Heinonen S, Buzkova J, Muniandy M, *et al.* Impaired mitochondrial biogenesis in adipose tissue in acquired obesity. *Diabetes*, 2015, **64**(9): 3135-3145
- [48] Prasun P. Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, **1866**(10): 165838
- [49] Dijk D J, Duffy J F. Circadian regulation of human sleep and age-related changes in its timing, consolidation and EEG characteristics. *Ann Med*, 1999, **31**(2): 130-140
- [50] Chang H C, Guarente L. SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging. *Cell*, 2013, **153**(7): 1448-1460
- [51] Dubrovsky Y V, Samsa W E, Kondratov R V. Deficiency of circadian protein CLOCK reduces lifespan and increases age-related cataract development in mice. *Aging*, 2010, **2**(12): 936-944
- [52] Jiang Z, Zou K, Liu X, *et al.* Aging attenuates the ovarian circadian rhythm. *J Assist Reprod Genet*, 2021, **38**(1): 33-40
- [53] Huang S, Liu C H, Wang Z, *et al.* REV-ERB $\alpha$  regulates age-related and oxidative stress-induced degeneration in retinal pigment epithelium via NRF2. *Redox Biol*, 2022, **51**: 102261
- [54] Amorim J A, Coppotelli G, Rolo A P, *et al.* Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2022, **18**(4): 243-258
- [55] Tian G, Sawashita J, Kubo H, *et al.* Ubiquinol-10 supplementation activates mitochondria functions to decelerate senescence in senescence-accelerated mice. *Antioxid Redox Signal*, 2014, **20**(16): 2606-2620
- [56] Kaamiranta A K, Kajdaneck J, Morawiec J, *et al.* PGC-1 $\alpha$  protects RPE cells of the aging retina against oxidative stress-induced degeneration through the regulation of senescence and mitochondrial quality control. The significance for AMD pathogenesis. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(8): 2317
- [57] Gabriel B M, Zierath J R. Circadian rhythms and exercise-resetting the clock in metabolic disease. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, **15**(4): 197-206
- [58] Hansen J, Timmers S, Moonen-Kornips E, *et al.* Synchronized human skeletal myotubes of lean, obese and type 2 diabetic patients maintain circadian oscillation of clock genes. *Sci Rep*, 2016, **6**(6): 35047
- [59] Da Rocha A L, Pinto A P, Bedo B L S, *et al.* Exercise alters the circadian rhythm of REV-ERB- $\alpha$  and downregulates autophagy-related genes in peripheral and central tissues. *Sci Rep*, 2022, **12**(1): 20006
- [60] Shen Y, Xu X, Yue K, *et al.* Effect of different exercise protocols on metabolic profiles and fatty acid metabolism in skeletal muscle in high-fat diet-fed rats. *Obesity*, 2015, **23**(5): 1000-1006
- [61] 沈友青, 宋涛, 徐国栋. 持续运动和间歇运动对高脂喂养大鼠肝脏 Rev-erba 和 SCD1 表达的影响. *西安体育学院学报*, 2015, **32**(5): 606-615
- Shen Y Q, Song T, Xu G D. *Journal of XiAn physical education university*, 2015, **32**(5): 606-615
- [62] Small L, Altintas A, Laker R C, *et al.* Contraction influences Per2 gene expression in skeletal muscle through a calcium-dependent pathway. *J Physiol*, 2020, **598**(24): 5739-5752
- [63] Pinto A P, Munoz V R, Da Rocha A L, *et al.* IL-6 deletion decreased REV-ERB $\alpha$  protein and influenced autophagy and mitochondrial markers in the skeletal muscle after acute exercise. *Front Immunol*, 2022, **13**: 953272
- [64] Popov D V, Makhnovskii P A, Shagimardanova E I, *et al.* Contractile activity-specific transcriptome response to acute endurance exercise and training in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, **316**(4): 605-614
- [65] Harfmann B D, Schroder E A, Esser K A. Circadian rhythms, the molecular clock, and skeletal muscle. *J Biol Rhythms*, 2015, **30**(2): 84-94
- [66] 傅泽铤, 夏雨, 丁海丽. 时钟基因 BMAL1 在运动性骨骼肌损伤恢复中的作用. *中国应用生理学杂志*, 2022, **38**(3): 220-226
- Fu Z G, Xia Y, Ding H L. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 2022, **38**(3): 220-226
- [67] 董毅. 生物节律与运动. *中国体育科技*, 2019, **55**(4): 22-30
- Dong Y. *China Sport Science and Technology*. 2019, **55**(4): 22-30
- [68] Mayeuf L A, Thorel Q, Delhaye S, *et al.* Rev-erb- $\alpha$  regulates atrophy-related genes to control skeletal muscle mass. *Sci Rep*,

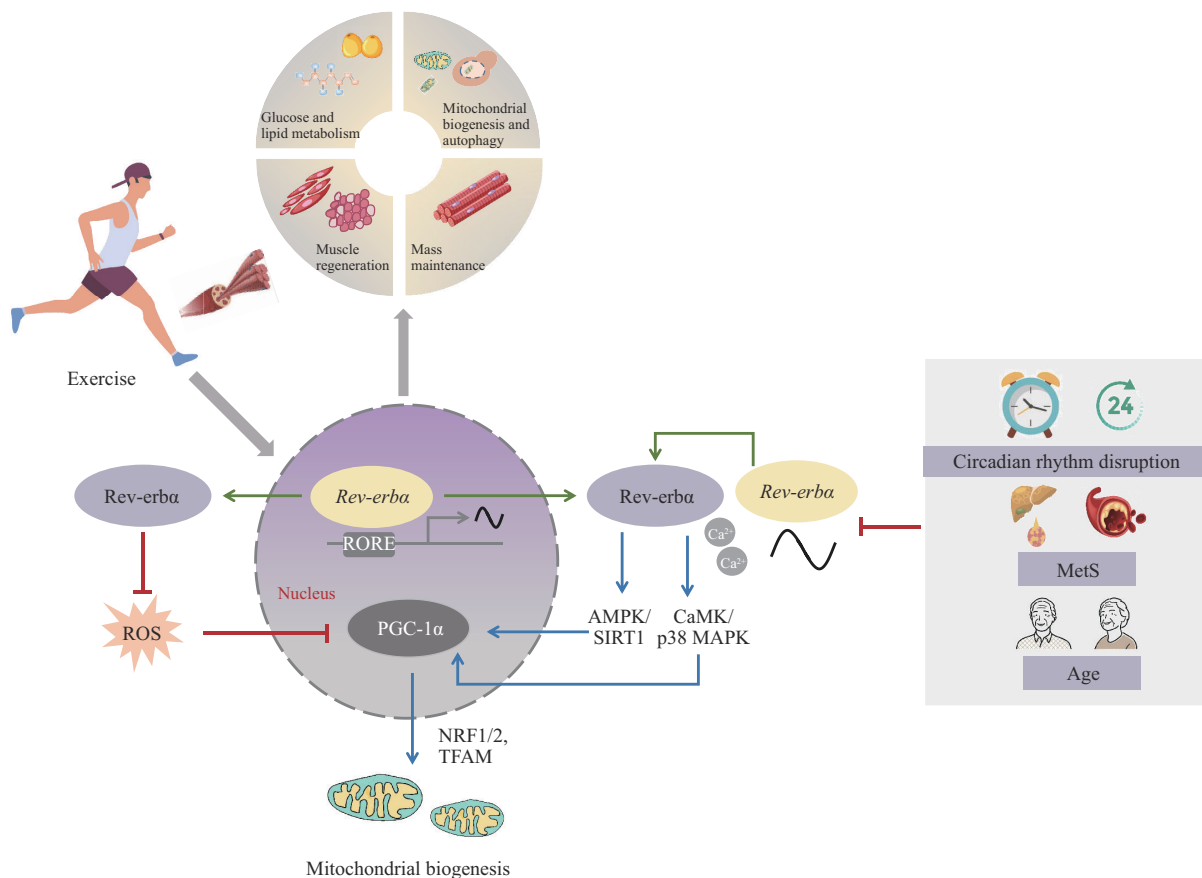
- 2017, **7**(1): 14383
- [69] Welch R D, Billon C, Kameric A, *et al.* Rev-erb $\alpha$  heterozygosity produces a dose-dependent phenotypic advantage in mice. *PLoS One*, 2020, **15**(5): e0227720
- [70] Yin H, Price F, Rudnicki M A. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev*, 2013, **93**(1): 23-67
- [71] Chatterjee S, Yin H, Li W, *et al.* The nuclear receptor and clock repressor Rev-erb $\alpha$  suppresses myogenesis. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 4585
- [72] Xiong X, Gao H, Lin Y, *et al.* Inhibition of Rev-erb $\alpha$  ameliorates muscular dystrophy. *Exp Cell Res*, 2021, **406**(2): 112766
- [73] Hood D A, Memme J M, Oliveira A N, *et al.* Maintenance of skeletal muscle mitochondria in health, exercise, and aging. *Annu Rev Physiol*, 2019, **81**(1): 19-41
- [74] Mayeuf L A, Staels B, Duez H. Skeletal muscle functions around the clock. *Diabetes Obes Metab*, 2015, **17**(1): 39-46
- [75] Ojuka E O, Jones T E, Han D H, *et al.* Raising Ca<sup>2+</sup> in L6 myotubes mimics effects of exercise on mitochondrial biogenesis in muscle. *FASEB J*, 2003, **17**(6): 675-681
- [76] Cardanho R C, Morais V A. Mitochondrial biogenesis in neurons: how and where. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(23): 13059
- [77] Schou A, Jorgensen N R, Maro V P, *et al.* The circadian rhythm of calcium and bone homeostasis in Maasai. *Am J Hum Biol*, 2022, **34**(8): 23756
- [78] Vieira E, Marroqui L, Figueroa A L, *et al.* Involvement of the clock gene Rev-erb alpha in the regulation of glucagon secretion in pancreatic alpha-cells. *PLoS One*, 2013, **8**(7): e69939
- [79] Moreira P I, Zhu X, Wang X, *et al.* Mitochondria: a therapeutic target in neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta*, 2010, **1802**(1): 212-220
- [80] Ppwers S K, Deminice R, Ozdemir M, *et al.* Exercise-induced oxidative stress: friend or foe?. *J Sport Health Sci*, 2020, **9**(5): 415-425
- [81] Sengupta S, Yang G, O'donnell J C, *et al.* The circadian gene Rev-erb $\alpha$  improves cellular bioenergetics and provides preconditioning for protection against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 2016, **93**: 177-189
- [82] Zou R, Wang S, Cai H, *et al.* Pharmacological activation of Rev-erb $\alpha$  attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by PGC-1 $\alpha$  signaling pathway. *Cardiovasc Ther*, 2023, **2023**: 2108584

## Role and Possible Mechanism of Clock Gene *Rev-erba* in Exercise-induced Mitochondrial Biogenesis\*

YANG Ting-Ting, CHENG Feng-Jia, GAO Yang, YU Liang\*\*

(School of Sport Human Science, Beijing Sport University, Beijing 100084, China)

### Graphical abstract



**Abstract** The clock gene *Rev-erba*, also known as nuclear receptor subfamily 1 group D member 1 (Nr1d1), is a crucial regulatory factor in organisms. It exhibits circadian rhythmic expression in metabolically active tissues such as skeletal muscles, heart, liver, and adipose tissue, responding to various environmental stimuli. *Rev-erba* plays a significant role in regulating circadian rhythms, metabolic homeostasis, and other physiological processes,

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32071168) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2022YB019, 20221013, 20221019).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-10-62967640, E-mail: yuliang@bsu.edu.cn

Received: September 21, 2023 Accepted: November 22, 2023

earning its designation as an “integrator” of the circadian system and metabolism. *Rev-erba* establishes complex connections with other clock genes through the transcriptional-translational feedback loop (TTFL), which is important for the rhythmic output of biological clock system and for the relative stability of phases and cycles. Mitochondrial biogenesis is a physiological process initiated by cells to maintain energy homeostasis by using existing mitochondria as a template for self-growth and division. As the “energy factory” of organism, disruptions in mitochondrial biogenesis are closely associated with the development of various diseases. Studies have shown that not only the factors involved in mitochondrial biogenesis have circadian oscillations, but also the morphology, dynamics and energy metabolism of mitochondria themselves have cyclic fluctuations throughout the day, suggesting that mitochondrial biogenesis is regulated by the biological clock system, in which the clock gene *Rev-erba* plays a key role, it drives mitochondrial biogenesis and synergistically regulates autophagy to normalize a number of physiological processes in the body. *Rev-erba* is sensitive to both internal and external environmental changes, and disruptions in circadian rhythms, metabolic diseases, and aging are significant inducers of changes in *Rev-erba* expression, and its concomitant inflammation and oxidative stress may be an intrinsic mechanism for inhibiting mitochondrial biogenesis. Therefore, the enhancement of mitochondrial biogenesis by regulating the *Rev-erba* activity status may be an important way to improve the pathology and promote the health of organism. Exercise, as a commonly accepted non-pharmacological tool, plays an important role in enhancing mitochondrial biogenesis and promoting health. It has been found that there is a close relationship between exercise and *Rev-erba*. On the one hand, exercise stimulation directly affects the expression of *Rev-erba*, especially high-intensity and long-term regular exercise; on the other hand, *Rev-erba* achieves indirect regulation of exercise capacity by mediating processes such as skeletal muscle mitochondrial biogenesis and autophagy, muscle mass maintenance, energy metabolism and skeletal muscle regeneration. Based on the above findings, it is hypothesized that *Rev-erba* may serve as a key bridge between exercise and mitochondrial biogenesis. Exercise enhances the transcriptional response of *Rev-erba* in the nucleus, upregulates the expression of *Rev-erba* protein in cytoplasm, activates the AMP-activated protein kinase (AMPK)/ silent information regulator 1 (SIRT1)/peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) pathway, regulates Ca<sup>2+</sup> flux and downstream signaling molecules; meanwhile, exercise can upregulate antioxidant gene expression and alleviate oxidative stress through *Rev-erba*, which ultimately enhances the function of mitochondria, and promotes mitochondrial biogenesis. In conclusion, the clock gene *Rev-erba* emerges as a crucial target for exercise-induced enhancement of mitochondrial biogenesis. In this paper, the biological characteristics of *Rev-erba*, the role of *Rev-erba* in regulating mitochondrial biogenesis and the factors that may influence it, the interaction between exercise and *Rev-erba*, and the potential mechanism of exercise-induced mitochondrial biogenesis *via Rev-erba* are sorted out and discussed, which can provide theoretical references to the mechanism of exercise-promoted mitochondrial biogenesis.

**Key words** *Rev-erba*, mitochondrial biosynthesis, exercise, circadian rhythm

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0371