

生物钟基因 *Bmal1* 与时辰治疗在恶性肿瘤中的研究进展

贺前勇¹, 金 风², 李媛媛²

(1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵州医科大学附属肿瘤医院/贵州省肿瘤医院, 贵州 贵阳 550001)

摘 要: *Bmal1* 作为生物钟基因的核心基因之一, 在不同恶性肿瘤组织中均有表达, 其通过正负反馈调节通路呈昼夜节律性表达, 在生物学上可能扮演抑癌或促癌基因的角色。 *Bmal1* 与肿瘤的发生发展关系确切, 并与临床分期、病理分化程度、放化疗敏感性、预后等因素密切相关, 而时辰治疗已广泛应用于临床, 并取得良好的疗效。全文就生物钟基因 *Bmal1* 与时辰治疗在恶性肿瘤临床治疗中的研究进展作一综述。

关键词: 生物钟基因; *Bmal1*; 时辰治疗; 恶性肿瘤

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2016)04-0290-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.04.A010

Research Progress in Circadian Gene *Bmal1* and Chronotherapy in Malignant Tumor

HE Qian-yong¹, JIN Feng², LI Yuan-yuan²

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 2. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University/Affiliated Hospital of Guizhou Medical University/Guizhou Cancer Hospital, Guiyang 550001, China)

Abstract: *Bmal1* gene is the core circadian rhythm genes, which expresses in different tumors and shows circadian rhythmicity through negative feedback regulating pathways. It may play a role as tumor suppressor gene or carcinogenic gene, and has intimate connection with clinical stages, pathological differentiation, sensitivity of radiotherapy and chemotherapy and prognosis. It plays a vital significant to explore the relationship between *Bmal1* gene expression and chrono-therapy. The research progress between circadian rhythm gene *Bmal1* and chrono-therapy in clinical work were clarified in this review.

Key words: circadian gene; *Bmal1*; chrono-therapy; malignant tumor

《Science》曾对生物钟基因作出如下评价:“生物钟可能改变人类对自然的认识, 从而产生重大社会效益和经济效益的有重大突破的研究领域”。生物钟基因存在于哺乳动物中, *Bmal1* 基因是哺乳动物生命活动中重要的中央时钟元件, 位于 11 号染色体短臂, 编码蛋白质 *Bmal1*, 属于 bHLH-PAS 结构域转录因子家族。 *Bmal1* 作为生物钟体系的核心基因, 其突变后可引起生物节律体系的紊乱, 甚至导致肿瘤

的发生, 并在肿瘤细胞的增殖、凋亡、生长代谢、治疗等方面发挥着重要作用^[1]。近年来, 探讨生物钟基因与肿瘤发生发展之间的关系已成为研究的热点, 而时辰治疗已广泛应用于临床, 因此, 探讨生物钟基因 *Bmal1* 表达与时辰治疗之间的关系具有重要意义。

1 生物钟基因概述

任何生物体内都有内在的生物节律调节中心, 一切生物均有周期, 约为一日的生物节律, 昼夜性节律由特定的几种基因形成, 这些基因称为生物钟基

收稿日期: 2015-10-17; 修回日期: 2016-01-31

基金项目: 国家自然科学基金(81560437); 贵州省科技厅、贵阳医学院联合基金(黔科合 LH 字[2014]7139)

通讯作者: 金风, E-mail: jinf886@yeah.net

因,它们之间相互作用,以调节细胞内的昼夜活动。光照是一个正信号,它可以通过激活 *perl*、*per2* 基因而启动昼夜节律调节系统,而细胞周期的昼夜波动又反过来调节其他基因的转录后程序,从而形成细胞生物学 24h 周期变化,即所谓“昼夜节律”。哺乳动物细胞节律调控中枢位于下丘脑基底部的视交叉上核,通过神经介质和松果体分泌的褪黑素,将外部光周期信息整合到体内,使人体内在细胞的新陈代谢和增殖分化随 24h 明暗交替呈现规律性变化,峰值和谷值在预定的时间发生。因此,生物钟基因规律调节人体各种生理过程,包括血压、激素分泌、睡眠和免疫活动等^[2];昼夜节律紊乱可能会增加心血管疾病、免疫系统疾病和癌症等疾病发生的风险^[3]。生物钟基因 *Bmal1* 作为生物钟体系的核心基因,参与组织细胞的增殖、凋亡及生长代谢的节律性,其突变后可引起生物节律体系的紊乱,导致肿瘤的发生。

2 *Bmal1* 在不同肿瘤组织中的表达及与临床特征的关系

2.1 头颈部鳞癌

Hsu 等^[4]的研究探讨 40 例头颈部鳞癌患者年龄、性别、TNM 分期、肿瘤大小、浸润深度、生存与生物钟基因 *Bmal1* 表达之间的相关性,结果显示在头颈部鳞癌组织中生物钟基因 *Bmal1* 呈表达下调状态,且其表达下调与疾病晚期相关,Ⅲ/Ⅳ期患者较 I/Ⅱ期患者表达明显降低,而与肿瘤大小、浸润深度、年龄之间无明显相关性。

2.2 胃癌

研究表明 *Bmal1* 在胃癌及癌旁组织中表达无差异性,进一步探讨其与疾病的严重性、年龄、生存之间的关系同样未发现统计学差异^[5]。而国内魏等^[6]研究发现 *Bmal1* 在胃癌组织中呈高表达,*Bmal1* 的表达强度与年龄、肿瘤分化程度相关,年龄 ≥ 60 岁较 <60 岁患者表达低,病理低分化较高-中分化患者表达高。

2.3 大肠癌

Karantanos 等^[7]对 42 例结直肠癌患者生物钟基因表达情况进行分析,结果发现 *Bmal1* 基因较正常肠黏膜组织表达高,但分析发现其表达与临床病理特征之间无明显相关性。该作者进一步研究发现,

Bmal1 基因高表达与预后相关,影响患者的总生存,这可能与 *Bmal1* 激活肿瘤细胞增殖、扩散密切相关^[8]。Oshima 等^[9]对 202 例初治结直肠癌患者生物钟基因的表达情况进行分析,发现 *Bmal1* 的表达水平与正常肠黏膜相似,与年龄、性别、肿瘤大小、淋巴结转移、淋巴结浸润、血管浸润等无明显相关性,但 *Bmal1* 高表达与肝转移相关;因此,*Bmal1* 高表达可能可以作为结直肠癌肝转移的一个预测指标。而 Okazaki 等^[10]的研究发现,*Bmal1* 基因促进了铁调节蛋白 2(IRP2)mRNA 的转录,表达生物钟基因的结肠癌细胞较野生型结肠癌细胞更能促进肿瘤细胞的增殖。

2.4 胰腺癌

最近 Jiang 等^[11]通过体内外研究证实,*Bmal1* 过表达显著抑制了细胞增殖和细胞浸润,并且诱导细胞周期向 G₂/M 阻滞,另外,研究还发现 *Bmal1* 直接结合 p53 基因启动子,转录激活下游 p53 产物从而抑制肿瘤生长。*Bmal1* 在胰腺癌可作为一个抑癌基因和作为一个潜在的标志物帮助诊断胰腺癌。

2.5 其他肿瘤

目前关于 *Bmal1* 基因的研究领域较广,涉及肺癌^[12]、乳腺癌^[13,14]、恶性胸膜间皮瘤^[15]、脑胶质瘤^[16]、甲状腺恶性肿瘤^[17]、卵巢癌^[18]等。以上研究表明,*Bmal1* 作为生物钟的核心基因,参与肿瘤细胞增殖、分化,与肿瘤相关临床特征密切相关,在不同肿瘤组织中发挥着不同的作用。

3 时辰治疗在恶性肿瘤治疗研究中的进展

3.1 时辰化疗

随着对时辰药理学的深入研究,时辰化疗有了强有力的证据,时辰化疗被广泛应用于临床,并给患者带来越来越多的益处。时辰化疗是根据正常组织、肿瘤组织及药物代谢的生物节律,选择肿瘤组织对药物最敏感和/或对机体毒性最低的时间给药,提高化疗药物的剂量而提高治疗疗效。Gorbacheva 等^[19]对昼夜节律基因 *Clock* 突变鼠及 *Bmal1* 基因敲除鼠与野生鼠对环磷酰胺毒性的时辰敏感性进行比较,发现两组之间对环磷酰胺的化疗敏感性有明显差异,其中 *Clock* 突变鼠以及 *Bmal1* 基因敲除鼠,无论

何时均对环磷酸胺敏感。最近研究报道,结肠癌细胞中 *Bmal1* 过度表达能够抑制细胞的生长,*Bmal1* 表达变化影响了紫杉醇的化疗敏感性^[20]。魏等^[21]发现,通过干扰 *Bmal1* 表达可调控胃癌细胞的增殖,且与时间呈正相关,*Bmal1* 特异性沉默后抑制了胃癌细胞中野生型 *p53* 的表达,形成了一个正反馈环路,推测如果干扰这一环路或者利用肿瘤组织与正常组织的表达差异性,理论上可增加胃癌治疗的敏感性,同时增强正常组织的耐受性,从而为肿瘤的时辰治疗奠定理论基础。而 Hu 等^[22]发现,通过上调 *Bmal1* 表达可减轻小鼠的化疗毒副反应,增加了化疗耐受性。上述研究结果显示,*Bmal1* 基因的表达影响了化疗药物对靶细胞的杀伤力,说明 *Bmal1* 基因与时辰化疗之间关系密切^[19]。

3.1.1 鼻咽癌

Jin^[23]的一项鼻咽癌 II 期临床研究结果表明,时辰化疗可减轻化疗毒副反应,提高患者的局部控制率。近年来采用时辰化疗治疗局部晚期鼻咽癌的多项研究表明^[24-27],时辰化疗可降低鼻咽癌患者化疗毒副反应,增加患者耐受性,提高患者生活质量,改善患者免疫功能,提高患者生存率。而毛振华等^[28]采用时辰化疗治疗初治远处转移鼻咽癌,结果表明时辰化疗能够降低严重呕吐的发生率,在减少严重骨髓抑制方面可能存在优势,可能改善了患者的免疫功能。因此,时辰化疗有可能成为鼻咽癌一种更合理的治疗模式^[26]。

3.1.2 头颈部鳞癌

杨俊昌等^[29]对局部晚期头颈部鳞癌的一项研究表明,TPF 方案时辰诱导化疗联合 IMRT 技术及紫杉醇同期化疗治疗局部晚期头颈部鳞癌近期疗效较好,2 年生存率达 71.6%,3~4 级不良反应发生率较低。苟小霞等^[30]采用时辰诱导化疗序贯同步放化疗治疗局部晚期头颈部鳞癌,临床观察总有效率为 62.0%,2 年总生存率达 58.0%。其主要毒副反应是骨髓抑制和消化道反应,Ⅲ、Ⅳ级毒副反应较少。李旭等^[31]采用时辰诱导化疗及同步放化疗治疗局部晚期喉癌的临床研究显示,IMRT 联合诱导加同步时间调节化疗的治疗近期疗效较好,口腔黏膜、血液学、消化系统、口干症的治疗不良反应均可接受。

3.1.3 肺癌

Ji 等^[32]报道了中国晚期非小细胞肺癌时辰化疗

临床研究结果,将国内 11 项临床研究数据分为时辰化疗组和传统化疗组,结果发现时辰化疗组平均有效率高于传统组,分别为 56.3% 和 36.8% ($P < 0.05$),在 1 年生存率、中位生存时间、总生存时间方面也有获益,且时辰化疗组在血液学毒性、恶心、呕吐、生活质量等方面优于传统组。林萍萍等^[33]在肺癌模型裸鼠上研究中发现,厄洛替尼时辰给药对裸鼠移植肺癌的抗肿瘤作用具有时辰节律性,这给厄洛替尼优化给药时间提供了理论依据。

3.1.4 大肠癌

郭麟等^[34]分析比较采用伊立替康(CPT-11)联合氟尿嘧啶(5-Fu)及亚叶酸钙(LV)组成的 IFL 方案时辰化疗治疗方案与常规 FOLFIRI 方案化疗治疗晚期结直肠癌的疗效和毒副作用,时辰化疗方案和 FOLFIRI 方案在总有效率、疾病控制率、中位无进展生存时间、中位总生存时间方面差异均无统计学意义,常见的 3~4 级毒副作用在时辰化疗方案中的发生率低于 FOLFIRI 方案,患者耐受性较好。笔者的另一篇报道^[35]比较奥沙利铂(OXA)联合氟尿嘧啶(5-Fu)及亚叶酸钙(LV)组成的 OFL 方案时辰化疗与常规 FOLFOX6 方案一线治疗晚期结直肠癌 (ACC)的效果、安全性和总生存。时辰组和常规组的总有效率和疾病控制率分别为 54.5% (30/55)、48.1% (26/54) 和 72.7% (40/55)、68.5% (37/54),两组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);时辰组和常规组的 PFS 分别为 6.3 个月和 6.0 个月,差异无统计学意义 ($P = 0.476$);OS 分别为 17.8 个月和 15.9 个月,差异有统计学意义 ($P = 0.003$);两方案常见的毒副反应为恶心呕吐、中性粒细胞减少、脱发和疲乏,毒副反应在时辰组中的发生率低于常规组 ($P < 0.05$)。说明 OFL 方案时辰化疗一线治疗晚期结直肠癌患者毒副反应发生率明显低于常规 FOLFOX6 方案,患者耐受性较好。多位学者提出,*Bmal1* 基因将来可能成为肿瘤治疗的新靶点。Zeng 等^[36]基于体内实验结果表明,接种 *Bmal1* 基因 C26 细胞的小鼠体重较对照组重,这与接种 *Bmal1* 基因 C26 细胞的小鼠 *Bmal1* 表达降低相关。通过 MTT 方法检测多西他赛和依托泊苷对接种 *Bmal1* 基因 C26 细胞 50% 的药物抑制浓度,发现均较比对照组抑制明显。研究证实,生物钟基因 *Bmal1* 在调节肿瘤细胞凋亡、细胞周期节律、细胞损伤反应和机体稳态等方面扮演了一个重要角色,*Bmal1* 基

因表达下调将促进肿瘤的进展和抑制抗癌药物的反应。Zeng 等^[37]的另外一项研究发现, *Bmal1* 的过度表达可抑制结直肠癌的增殖并且能够增加奥沙利铂在结直肠癌细胞中的敏感性, *Bmal1* 高表达的结直肠癌患者总生存优于低表达患者, 无疾病进展生存亦优于低表达患者。另外, 直肠癌新辅助化疗后通过检测生物钟基因的表达来预测患者的疗效, 分析接受 50.4Gy 的放疗和铂类联合氟尿嘧啶化疗达 CR 与非 CR 两组患者 *Bmal1* 表达情况, 结果显示 CR 组较非 CR 组低, 提示 *Bmal1* 基因的表达可能作为直肠癌诊断及预后评估的标志物^[38]。上述研究提示 *Bmal1* 可作为结直肠癌患者预测预后的新标志物, 同时可作为新的治疗靶点。

3.1.5 胃 癌

宋俊梅等^[39]报道, *Bmal1* 在胃癌组织中表达的高峰时间为 20:00, 表达的低谷时间为 08:00, 多西他赛作用于 *hBmal1* 表达高峰时对肿瘤细胞增殖抑制率较表达低谷时低, 多西他赛对肿瘤细胞增殖抑制率分别为 $22.306\% \pm 0.266\%$ 和 $44.927\% \pm 0.454\%$, 表明节律基因 *hBmal1* 过表达可以降低胃癌 SGC-7901 细胞对多西他赛的敏感性。

3.2 时辰放疗

3.2.1 鼻咽癌

早期对鼻咽癌 CNE-2 细胞系时辰照射初步探究发现, 鼻咽癌时辰放疗具有优越性。随后, 范治军等^[40]发现, 时辰照射鼻咽癌细胞在全天 24h 内 4:00、10:00、16:00、22:00 4 个时间点, 根据细胞周期曲线中的 G₂/M 期的高峰 10:00 和低谷 16:00 来照射, 通过微量细胞克隆形成法和平板克隆形成实验得出, 在高峰时照射的细胞存活率(SF)小于低谷照射时, 提示选择适当的时间给予肿瘤组织照射, 针对肿瘤细胞敏感期, 可达到提高治疗比的效果, 即时辰放疗的意义所在。Zhang 等^[41]研究发现, 拓扑替康联合时辰放疗组在人鼻咽癌移植瘤中疗效优于单纯放疗或者单纯拓扑替康治疗组, 在拓扑替康联合时辰放疗组 3, 9, 15 和 21 HALO (hour after light on) 4 组中, 15 HALO 放疗敏感性最好, 而 3 HALO 最差; 15 HALO 细胞凋亡指数增加而 S 期细胞比例降低, 证实了放射敏感性具有时间依赖性。李光明等^[42]将 65 例初治鼻咽癌患者随机分为常规放疗组和时辰放疗组, 分别为 31 例和 34 例, 两组放射治疗方法和治

疗剂量相同; 常规放疗组治疗时间在上午 8:00~10:00 时进行, 时辰放疗组治疗为 20:00~22:00。结果显示时辰放疗组的鼻咽部及颈部肿瘤完全消退率均比常规放疗组高, 且时辰治疗组的副作用较常规治疗组低。可见时辰放疗提高了鼻咽癌的疗效, 并降低了放疗的副作用。姚月玲^[43]报道了时辰放疗治疗鼻咽癌的疗效, 治疗 6 个月后时辰放疗组与常规放疗组的有效率分别为 96.88% 和 94.11% ($P < 0.01$), 时辰放疗组的严重急性反应(Ⅲ+Ⅳ)发生率为 18.75%, 比常规放疗组的 47.05% 低 ($P < 0.05$)。

3.2.2 头颈部肿瘤

加拿大国际癌症研究中心(HN3)的一项关于头颈部肿瘤的前瞻性随机临床研究^[44], 将 216 例患者随机分为上午放疗组 (8:00~10:00) 和下午放疗组 (16:00~18:00), 观察两组口腔黏膜炎的发生情况。结果表明, 205 例可观察患者中, 3 级及以上口腔黏膜炎发生率上午放疗组与下午放疗组分别为 52.9% 和 62.4% ($P = 0.17$)。说明通过细胞周期节律性选择合适的时间放疗可减轻消化道黏膜的剂量限制。

3.2.3 肺 癌

张菁等^[45]对 Lewis 肺癌模型选择组 I 照射时间 11HALO(hour after light on)和组 II 照射时间 23 HALO 照射, 结果均显示照射后两组小鼠肿瘤体积均有所缩小, 但黑暗末期照射的组 I 表现较光照末期的组 II 肿瘤生长更加缓慢。在光镜下观察择时放射对肿瘤组织细胞增殖的影响, 发现未给予射线照射的对照组肿瘤组织仍保留明显的异质性, 形态不规则, 核大深染, 核异型, 可见异常核分裂相。光照末期照射的组 II 亦可见上述细胞形态, 而黑暗末期照射的组 I 可见细胞出现退行性变, 部分肿瘤组织出现区域性坏死。研究证实了针对黑暗末期的择时放疗在一定程度上可提高治疗指数。史玉树^[46]将 80 例非小细胞肺癌患者随机分为常规放疗组及时辰组, 常规放疗组放疗时间为每天早上 8 点至中午 12 点, 时辰组患者放疗时间为下午 6 点至晚上 10 点, 观察两组患者临床治疗的效果。结果表明放疗组患者癌细胞消退率为 45%, 时辰组为 65% ($P < 0.05$), 放疗组出现急性反应 13 例, 急性反应率为 100%, 时辰组未出现急性反应病例, 两组存在显著性差异 ($P < 0.05$)。袁振洲等^[47]对 100 例肺癌脑转移瘤患者进行择时放疗, 通过对磁共振弥散加权成像中表观弥散系数

(ADC) 值预测肿瘤的治疗效果, 在 6:00~8:00 的 A 组和 16:00~18:00 的 B 组各 50 例, 放疗后 A、B 组肿瘤实质部分 ADC 值分别为 $(1.34 \pm 0.17) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 、 $(1.12 \pm 0.09) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, A 组放疗前后 ADC 值差异有统计学意义 ($P < 0.01$), B 组放疗前后 ADC 值差异无统计学意义, 放疗后 A、B 两组 ADC 值差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。因此, 采取择时放疗可进一步提高肺癌脑转移瘤患者疗效。Rahn 等^[48]对 58 例非小细胞肺癌脑转移患者进行不同时间 γ -刀治疗, 放疗结束 3 个月后发现 10:00~12:30 治疗组较 12:30~15:00 治疗组获得更高局部控制率、更好中位生存率以及更低的中枢神经系统相关性死亡率。

4 展 望

生物钟基因 *Bmal1* 具有抑癌基因特性, 而少数研究结果报道生物钟基因 *Bmal1* 具有癌基因特性, 分别在不同肿瘤组织中发挥不同的作用。因此, 阐明生物钟基因 *Bmal1* 与肿瘤的发生机制意义深刻, 为研究生物钟基因 *Bmal1* 的表达和时辰治疗之间的关系奠定了理论基础, 并为临床指导时辰治疗、评估疾病预后等提供了依据。关于生物钟基因 *Bmal1* 的相关作用机制尚不完全清楚, 文献报道甚少, 因此需要进一步探讨 *Bmal1* 表达与肿瘤发生之间的机制, 探索 *Bmal1* 与时辰治疗之间的相互关系, 为时辰治疗提供新的理论依据。将来, 生物钟基因 *Bmal1* 可能指导时辰治疗成为一种更为合理的肿瘤治疗模式。

参考文献:

- [1] Hardin PE. Molecular genetic analysis of circadian time-keeping in *Drosophila*[J]. *Adv Genet*, 2011, 74: 141-173.
- [2] Yu EA, Weaver DR. Disrupting the circadian clock: gene-specific effects on aging, cancer, and other phenotypes [J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3(5): 479-493.
- [3] Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics[J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1349-1354.
- [4] Hsu CM, Lin SF, Lu CT, et al. Altered expression of circadian clock genes in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(1): 149-155.
- [5] Hu ML, Yeh KT, Lin PM, et al. Deregulated expression of circadian clock genes in gastric cancer [J]. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14(1): 2-17.
- [6] Wei B, Xiong ZF, Chen JS. Expression *Bmal1* in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Chin J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 22(9): 855-857. [魏柏, 熊枝繁, 陈景三. *Bmal1* 在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2013, 22(9): 855-857.]
- [7] Karantanos T, Theodoropoulos G, Gazouli M, et al. Expression of clock genes in patients with colorectal cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2013, 28(3): 280-285.
- [8] Karantanos T, Theodoropoulos G, Pektasides D, et al. Clock genes: their role in colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(8): 1986-1992.
- [9] Oshima T, Takenoshita S, Akaiki M, et al. Expression of circadian genes correlates with liver metastasis and outcomes in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(5): 1439-1446.
- [10] Jiang W, Zhao S, Jiang X, et al. The circadian clock gene *Bmal1* acts as a potential anti-oncogene in pancreatic cancer by activating the p53 tumor suppressor pathway[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(2): 314-325.
- [11] Okazaki F, Matsunaga N, Okazaki H, et al. Circadian clock in a mouse colon tumor regulates intracellular iron levels to promote tumor progression[J]. *J Biol Chem*, 2016 Jan 21. [Epub ahead of print].
- [12] Logan RW, Zhang C, Murugan S, et al. Growth in rats of NK cells and promotes lung cancer chronic shift-lag alters the circadian Clock[J]. *J Immunol*, 2012, 188(6): 2583-2591.
- [13] Kuo SJ, Chen ST, Yeh KT, et al. Disturbance of circadian gene expression in breast cancer[J]. *Virchows Arch*, 2009, 454(4): 467-474.
- [14] Cadenas C, van de Sandt L, Edlund K, et al. Loss of circadian clock gene expression is associated with tumor progression in breast cancer[J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(20): 3282-3291.
- [15] Elshazley M, Sato M, Hase T, et al. The circadian clock gene *BMAL1* is a novel therapeutic target for malignant pleural mesothelioma [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(12): 2820-2831.
- [16] Fujioka A, Takashima N, Shigeyoshi Y. Circadian rhythm generation in a glioma cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346(1): 169-174.
- [17] Tiphaine M, Patrick M, Frederic T, et al. Circadian clock characteristics are altered in human thyroid malignant nodules[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(11): 4446-4456.
- [18] Hideki T, Yuji T, Hiroki U, et al. Clinicopathological significance of circadian rhythm-related gene expression levels in patients with epithelial ovarian Cancer[J]. *Acta Ob-*

- ste Gynecol Scand, 2008, 87(10): 1060–1070.
- [19] Gorbacheva VY, Kondratov RV, Zhang R, et al. Circadian sensitivity to the chemotherapeutic agent cyclophosphamide depends on the functional status of the CLOCK/BMAL1 transactivation complex [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(9): 3407–3412.
- [20] Wataru S, Seiichi T. Overexpression of both Clock and Bmal1 inhibits entry to S phase in human colon cancer cells[J]. Fukushima J Med Sci, 2015, 61(2): 111–124.
- [21] Wei B, Xiong ZF, Chen JS. Effects of circadian gene Bmal1 on proliferation in gastric cancer cell [J]. J Pra Med, 2014, 30(7): 1063–1065. [魏柏, 熊枝繁, 陈景三. 节律基因 Bmal1 对胃癌细胞增值的影响 [J]. 实用医学杂志, 2014, 30(7): 1063–1065.]
- [22] Yan H, Mary LS, Karen K, et al. Selenium is a modulator of circadian clock that protects mice from the toxicity of a chemotherapeutic drug via upregulation of the core clock protein, BMAL1[J]. Oncotarget, 2011, 2(12): 1279–1290.
- [23] Jin F. Induction chronochemotherapy plus radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma; a phase 2 prospective randomized study [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009, 2013, 87(2 Suppl): S448.
- [24] Li YY, Zeng Y, He MY, et al. DDP +5-Fu/CF chronochemotherapy plus 3D-CRT in the treatment of nasopharyngeal carcinoma research[J]. Chin J Radiol Med Prot, 2013, 33(6): 69–73. [李媛媛, 曾英, 何明媛, 等. 顺铂+5-氟尿嘧啶/亚叶酸钙增量时间调节化疗加后程三维适形放疗治疗鼻咽癌的临床研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2013, 33(6): 69–73.]
- [25] Li YY, Jin F, Wu WL, et al. Induction chrono-chemotherapy followed concurrent chemoradiation patients with local advanced nasopharyngeal carcinoma: II clinical research [J]. Chin J Chin Oncol, 2013, 40 (15): 34–39. [李媛媛, 金凤, 吴伟莉, 等. 时辰诱导化疗序贯同步放疗治疗局部晚期鼻咽癌的 II 期临床研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(15): 34–39.]
- [26] Li ZL, Jin F, Wu WL, et al. A prospective and randomized study of induction and concurrent chrono-chemotherapy combined with intensity modulated radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma[J]. Chin J Radiol Med Prot, 2015, 7(35): 505–509. [李卓玲, 金凤, 吴伟莉, 等. 诱导加同步时辰化疗联合调强放疗治疗鼻咽癌的前瞻性随机对照研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2015, 7(35): 505–509.]
- [27] Bi T, Jin F, Wu WL, et al. Phase II clinical trial of two different modes of administration of the induction chemotherapy for locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. Chin J Oncol, 2015, 9(37): 676–681. [毕婷, 金凤, 吴伟莉, 等. 诱导化疗不同给药方式治疗鼻咽癌的 II 期临床研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2015, 9(37): 676–681.]
- [28] Mao ZH, Jin F, Wu WL, et al. Clinical study of chronochemotherapy in treating Nasopharyngeal carcinoma patients with distant metastasis at preliminary diagnosis[J]. Chin J Clin Oncol, 2015, 14 (42): 709–715. [毛振华, 金凤, 吴伟莉, 等. 时辰化疗治疗初治远处转移鼻咽癌的临床研究[J]. 中国肿瘤临床, 2015, 14(42): 709–715.]
- [29] Yang JC, Wu WL, Jin F, et al. The clinical analysis of induction chrono-chemotherapy combined current chemoradiation therapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinomas[J]. Chin J Radiol Med Prot, 2012, 32 (4): 398–399. [杨俊昌, 吴伟莉, 金凤, 等. 时辰诱导化疗联合同期放疗治疗局部晚期头颈部鳞癌的临床分析[J]. 中华放射医学与防护志, 2012, 32(4): 398–399.]
- [30] Gou XX, Jin F, Wu WL, et al. Clinical observation of induction chrono-chemotherapy followed by concurrent chemoradiation patients with local advanced head and neck squamous cell carcinoma[J]. Mod Oncol, 2014, 22 (6): 1301–1303. [苟小霞, 金凤, 吴伟莉, 等. 时辰诱导化疗序贯同步放疗治疗局部晚期头颈部鳞癌的临床疗效观察[J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(6): 1301–1303.]
- [31] Li X, Jin F, Wu WL, et al. Research of induction and current chemotherapy plus intensity-modulated radiation therapy in locally advanced laryngeal cancer research[J]. Chin J Radiol Med Prot, 2011, 31(4): 470–472. [李旭, 金凤, 吴伟莉, 等. 诱导及同步化疗加调强放射治疗局部晚期喉癌的临床研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2011, 31(4): 470–472.]
- [32] Ji M, Li XD, Zhang HZ, et al. Report of clinical studies on chronochemotherapy for advanced non-small cell lung cancer in China[J]. Tumor Biol, 2014, 35(12): 12285–12292.
- [33] Lin PP, Li MC, Liu L, et al. Inhibitory effect of chronopharmaceutical drug delivery of erlotinib in Lung cancer nude mice model and its mechanism[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2015, 29 (2): 234–238. [林萍萍, 李明春, 刘亮, 等. 厄洛替尼时辰给药对肺癌模型裸鼠的抑瘤作用及作用机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(2): 234–238.]
- [34] Wu L, Yin XL, Wang QZ, et al. IFL regimen chronochemotherapy using melodie pump in advanced colorectal cancer [J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2013, 20 (23): 1841–1844. [邬麟, 殷先利, 王倩之, 等. 复发性晚期结直肠癌多通道编程输液泵 IFL 方案时辰化疗临床观察[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(23): 1841–1844.]

- [35] Wu L, Lu FG, Yin XL, et al. Effect comparison between OFL regimen chronochemotherapy and routine FOLFOX6 regimen in the first-time treatment of advanced colorectal cancer[J]. *China Med Herald*, 2013, 10(33): 21–24. [邬麟, 卢放根, 殷先利, 等. OFL 方案时辰化疗与常规 FOLFOX6 方案一线治疗晚期结直肠癌效果比较[J]. *中国医药导报*, 2013, 10(33): 21–24.]
- [36] Zeng ZL, Wu MW, Sun J, et al. Effects of the biological clock gene Bmal1 on tumour growth and anti-cancer drug activity[J]. *Biochem*, 2010, 148(3): 319–326.
- [37] Zeng ZL, Luo HY, Yang J, et al. Overexpression of the circadian clock gene Bmal1 increases sensitivity to oxaliplatin in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4): 1042–1052.
- [38] Lu HJ, Chu QQ, Xie GJ, et al. Circadian gene expression predicts patient response to neoadjuvant chemoradiation therapy for rectal cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 10985–10994.
- [39] Song JM, Zou WP, Hu X, et al. Influence of circadian genes hClock and hBmal1 on the chemosensitivity of gastric cancer[J]. *Chin J Clin Oncol*, 2013, 40(20): 1213–1216. [宋俊梅, 邹文萍, 胡欣, 等. 节律基因 hClock 及 hBmal1 对胃癌化疗敏感性的影响 [J]. *中国肿瘤临床*, 2013, 40(20): 1213–1216.]
- [40] Fan ZJ, Liu SY, Li K, et al. Circadian rhythms of cell cycle in human nasopharyngeal carcinoma cell and chronoradiation[J]. *Chin J Radiol Health*, 2013, 22(5): 521–523. [范治军, 刘士煜, 李科, 等. 鼻咽癌细胞生物节律及时辰照射观察[J]. *中国辐射卫生*, 2013, 22(5): 521–523.]
- [41] Zhang YL, Chen X, Ren PR, et al. Synergistic effect of combination topotecan and chronomodulated radiation therapy on xenografted human nasopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 2013, 87(2): 356–362.
- [42] Li GM, Liu TY, Zhu B, et al. Comparison of curative effects between chronoradiation therapy and routine radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma[J]. *Spa Med Eng*, 2006, 19(3): 225–227. [李光明, 刘廷友, 朱彬. 鼻咽癌时辰放疗与常规放疗的比较 [J]. *航天医学与医学工程*, 2006, 19(3): 225–227.]
- [43] Yao YL. Chrono-radiotherapy of nasopharyngeal carcinoma curative effect observation and nursing care [J]. *Int J Nurs*, 2010, 29(3): 375–376. [姚月玲. 时辰放射治疗鼻咽癌的疗效观察与护理[J]. *国际护理学杂志*, 2010, 29(3): 375–376.]
- [44] Georg AB, Robert GM, Abdenour N, et al. Comparison of toxicity associated with early morning versus late afternoon radiotherapy in patients with head-and-neck cancer; a prospective randomized trial of the national cancer institute of Canada clinical trials group (HN3)[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 73(1): 166–172.
- [45] Zhang J, Liu YY, Li Y, et al. Influence of chronotherapy on tumor growth in mice[J]. *Med J West China*, 2007, 19(2): 171–174. [张菁, 刘延友, 李颖, 等. 择时放疗对荷瘤小鼠肿瘤生长的影响[J]. *西部医学*, 2007, 19(2): 171–174.]
- [46] Shi YS. Clinical research of Chrono-radiotherapy for locally advanced non-small cell lung cancer hour radiotherapy [J]. *Chinn Prnc Med*, 2012, 07(26): 100–101. [史玉树. 局部晚期非小细胞肺癌时辰放疗的临床研究 [J]. *中国实用医学*, 2012, 7(26): 100–101.]
- [47] Yuan ZZ, Shen XL, Wang HH, et al. Value of apparent diffusion coefficients on monitoring in brain cancer metastasized from lung receiving radiochronotherapy[J]. *J Southeast Univ(Med Sci Mdi)*, 2010, 29(6): 631–634. [袁振洲, 沈晓洁, 王汉华, 等. ADC 值在监测肺癌脑转移瘤择时放疗中的价值[J]. *东南大学学报*, 2010, 29(6): 631–634.]
- [48] Rahn DA, Ray DK, Schlesinger DJ, et al. Gamma knife radiosurgery for brain metastasis of nonsmall cell lung cancer: is there a difference in outcome between morning and afternoon treatment[J]. *Cancer*, 2011, 117(2): 414–420.