

哺乳动物生物钟的数学建模及研究进展*

李莹^{1†} 刘曾荣²

(1. 上海海洋大学信息学院, 上海 201306) (2. 上海大学系统生物技术研究所, 上海 200444)

摘要 由于数学模型在整合实验数据和分析基因调控网络的动力学方面的独特优势, 近年来数学模型在生物节律研究领域越来越受到人们的重视. 哺乳动物昼夜节律是由位于视觉交叉上颌的神经元控制的, 其中的每个神经元都含有一个内在的生物钟, 关键的问题是具有广泛周期分布的神经元振子之间如何达到相同步. 在分子水平上结合数学方法中的网络分析与控制的观点构建生物网络, 然后用非线性动力学的相关知识进行理论分析和数值模拟, 是研究生命现象的一个有效途径. 本文从系统生物学的研究思路, 对生物钟的数学建模及其动力学研究做了一个综述, 并对其今后的研究热点进行了展望.

关键词 昼夜节律, 生物钟, 同步, 振子

引言

生物节律(生物钟)广泛存在于大自然的各种生命活动中, 是上亿年内生物在其发生和进化过程中, 为了与环境变化相适应而逐渐形成的内源性的与自然环境周期性变化相似的节律性的生命活动. 从蓝藻到人类, 几乎所有生物体的生理、代谢活动和行为过程都表现出以 24 小时为周期的昼夜节律性. 人们最熟悉的昼夜节律是每天的睡眠—觉醒节律. 此外, 人体的其它生理功能, 如体温、激素分泌和血压等也均表现出稳定的昼夜节律性变化. 经过长期进化, 生物体内发育分化出一个特殊的器官—生物钟, 用来协调各种不同组织与器官的昼夜节律, 使生物体适应自然界的环境变化.

昼夜节律的破坏将导致机体功能紊乱甚至疾病, 例如飞行引起的时差反应、睡眠时相延迟综合征、睡眠时相提前综合征、非 24 小时睡眠—觉醒模式、轮班制工作引起的睡眠障碍和心血管疾病等. 由于生物钟维持节律的分子机制没有研究清楚, 目前还不能对这些疾病进行有效的治疗. 因此, 在分子水平上研究昼夜节律的调控机制, 已成为生物学领域的研究热点. 相关研究将有助于我们更好地认识生命现象, 揭示生物有机体适应环境的内在机制, 提高疾病的诊治水平, 具有重要的理论价值和临床应用价值.

随着人类基因组计划的完成和分子生物学技术的不断完善, 我们已经掌握了包括果蝇、小鼠等模式生物和人类的所有遗传信息的组成, 因此从系统生物学的思路出发研究生物节律的产生机制已成为可能. 目前已发现生物体内存在众多的时钟基因和钟控基因, 时钟基因的表达调控网络(如转录—翻译反馈环路等)在昼夜节律的发生和维持中起着关键作用. 另一方面, 由于数学模型在整合实验数据和分析耦合反馈环路组成的基因调控网络的动力学方面的独特优势, 近年来数学模型在生物节律研究领域越来越受到人们的重视. 一个好的数学模型不仅能帮助我们理解生物钟的复杂结构, 而且可以预测新的行为以供实验进一步验证.

本文从系统生物学的研究思路, 对生物钟的的数学建模及其动力学研究做一个综述, 并对其今后的研究热点进行展望.

1 生物钟的生物学机制

哺乳动物在生理及行为上表现出来的节律行为是由 Suprachiasmatic Nucleus (SCN) 中的起搏器控制的^[1]. 行为、生理及代谢上的日常节律是由动物内在的节律生物钟调控的, 其核心是一个周期节律振荡器, 该生物钟能够受光因子的影响而使节律重新设置; 同时, 在外周组织以及培养的细胞中也发现了内源性的生物钟, 这种外周生物钟的节律能

被体液信号因子以及进食周期的诱导而发生改变. 节律生物钟调控着动物、植物、真菌类甚至一些原核生物的节律现象. 通过 SCN 振荡器周期与外界环境的同步协调作用, 依次在生理和行为上调节局部的节律, 对整个哺乳动物躯体的控制赋予了精确性和稳定性.

光照、温度、进食以及群居的的相互作用周期等外界因子都可以影响节律生物钟使节律重新设置, 其中光照一般被认为是影响生物钟最为重要的因素. 在自由运转的条件下, 这种节律生物钟受到日夜交替的光照影响并作出响应, 相锁于日常光照周期, 使得机体表现出以 24 小时为周期的昼夜节律. SCN 含有 16000 多个神经元细胞对称地分布在双边结构中, 其中有星形胶质细胞和各种多肽神经元细胞. 科学家们发现, SCN 中的单个细胞都能产生周期振子, 其周期分布在 20 到 28 小时之间^[2, 3]. 具体说来, 有很多因素影响这些节律振子重新调整周期到 24 小时, 比如细胞间的耦合、以 24 小时为周期的日夜交替的光照、细胞内外的噪声以及 SCN 的空间结构等.

SCN 中的节律性是多个细胞生物钟振子在机体网络中相互耦合的产物. 这些生物钟振子的核心分子机制是一个调控转录的负反馈环, 其中生物钟基因的产物蛋白调控着其自身的转录 (比如: *Per1*, *Per2*, *Per3*, *Cry1*, *Cry2*, *Bmal1*, *Reverba*, *Clock*, *Rora*)^[4]. 因为这些孤立振子的周期广泛分布, 于是在神经元之间必然存在着耦合机制. SCN 中神经元之间的耦合部分是通过神经递质实现的^[5, 6]. 这些耦合神经元振子同步后产生一个协同输出, 调控着整个机体的节律性.

SCN 具有功能和结构上的异质性. 众所周知, 根据 SCN 中不同区域产生多肽神经元的不同, 在解剖学上将 SCN 分成腹外侧 (VL) 核和背内侧 (DM) 壳两部分^[7], 不同区域的神经元具有不同的功能. VL 中生物钟基因的表达不具有节律性, 但是日常光照经过视网膜之后直接到达 VL 区域, VL 中的神经元接受光照信息; 而 DM 中生物钟基因具有节律性, 但是其不接收光照信号. 通过 VL 部分信息的传递, 将光照信号传递到 DM 中, 从而来调节其神经元的周期至 24 小时^[8]. 文献 [9] 和 [10] 给出了昼夜节律产生的三个过程: 外部信息的传入、振动、内部信息的传出. 日夜周期光照信号通过

视网膜首先到达 VL 区域的 VIP 神经元; 然后, VL 区域的神经元在耦合以及光照信号的影响下, 达到同步, 同步后与光照信号有相同周期; 最后, VIP 神经元将同步化信息传递给 DM 区域中的 AVP 神经元, AVP 神经元同步后输出昼夜节律信号. 由于独立的 SCN 神经元的自由运转周期是广泛分布的, 于是在神经元之间必然存在着耦合机制. 从数理角度来看, SCN 中的节律性是多个细胞生物钟振子在机体网络中相互耦合的产物, 这些耦合神经元振子同步后产生一个协同输出, 调控着整个机体的节律性.

2 生物钟的数学建模

生物节律的构成包括两个方面: 一是机体本身具有的内在节律; 二是受自然环境变化的影响, 生物节律与环境同步. 于是有关生物钟的数学建模主要集中在两方面, 一方面是单个神经元振子的模型, 单个神经元动力学行为是自维持振子, 对该模型的建立经历了从单纯的构造到依据分子生物学机制建立的过程; 另一方面是环境对神经元振子影响的模型, 包括光照、噪声以及细胞之间耦合等.

2.1 单细胞模型

早期对生物节律的研究是用经典的 Van der Pol 振子来描述 SCN 中的神经元的动力学行为^[11, 12]. 在 1990 年, Kronauer 提出一个经验模型来描述 SCN 中单个神经元细胞, 这个模型是一个 Van der Pol 振子另加一项表示日常光照的影响. 模型如下:

$$\begin{aligned} \left(\frac{12}{\pi}\right)\dot{x} &= y + \varepsilon\left(x - \frac{4}{3}x^3\right) + B \\ \left(\frac{12}{\pi}\right)\dot{y} &= -\left(\frac{24}{\tau}\right)^2x + By \end{aligned} \quad (1)$$

其中, $B = (1 - mx)CI^{\frac{1}{3}}$, I 是光照强度, m 和 C 是常数 ($m = 1/3$, $C = 0.018$), τ 是反映振子周期的常数 (约为 24 小时). Kronauer 模型的最基本的思想是从实验中观察到的生物钟信号出发, 来找尽可能简单的数学模型产生与生物钟信号有相同周期的稳定振子.

随着分子生物学的发展, 通过对生物钟基因组成和生物钟基因间相互作用的研究, 找到了哺乳动物昼夜节律生物钟的分子机制. 根据其分子机制提出了昼夜节律生物钟运行的正、负反馈环路分子模型, 其中负反馈环是核心调控机制^[4]. 根据参与生

物钟的基因和蛋白之间的调控机制,Goldbeter 建立了一个 16 维的常微分方程的计算模型^[13]. 为了研究环境对生物钟的影响以及生物钟产生的机制, Gonze 等基于 Goodwin 振子,提出了只反映其最核心机制的负反馈环模型如下:

$$\begin{cases} \dot{X} = v_1 \frac{K_1^n}{K_1^n + Z^n} - v_2 \frac{X}{K_2 + X} \\ \dot{Y} = k_3 X - v_4 \frac{Y}{K_4 + Y} \\ \dot{Z} = k_5 Y - v_6 \frac{Z}{K_6 + Z} \end{cases} \quad (2)$$

其中 $v_1, v_2, v_4, v_6, K_2, K_4, K_6, k_3, k_5$ 是参数. 在这个模型中,生物钟基因的 mRNA (X) 产生一个生物钟蛋白 (Y), 蛋白 (Y) 促进抑制子 (Z) 的转录, 后者抑制生物钟基因的转录, 这样就组成了一个负反馈环. $n=4$ 时, 这个模型是一个自主维持振子. 变量 X 表示生物钟基因 *per* 或 *cry* 的 mRNA 的浓度; Y 表示相应蛋白质 PER 或 CRY 的浓度; Z 是促进蛋白质或蛋白的核心形式 (抑制子). 在最初的模型中^[14], 自主维持振子可以通过选择一个急剧升降的 Hill 函数 (具有比较大的 Hill 系数) 得到^[15]. 这种限制主要是由用来描述衰减的线性项引起的. 很多人的研究是基于这个简单模型进行的.

随着对 MicroRNA 的研究的深入, 有关 MicroRNA 在后转录水平对生物钟的影响也引起了人们研究的兴趣^[16].

为了讨论生物钟节律产生机制, Forger 和 Kronauer 证明了^[17], 经过适当的变换, 多维微分方程模型在数学上等价于二维的 van der Pol 振子, 于是得到了以下极坐标下的参数形式的 van der Pol 方程:

$$\begin{cases} \frac{dr}{dt} = -\omega \cos(\theta)^2 [-1 + r^2 \cos(\theta)^2] \\ \frac{d\theta}{dt} = \omega [-1 + \varepsilon r^2 \cos(\theta)^2] \end{cases} \quad (3)$$

其中 θ 为角度, r 为极坐标半径, ω 为振子频率, ε 是刚性系数 (用来描述振子曲线接近余弦曲线的程度). 当 $\varepsilon=0$ 时, 该 van der Pol 方程是一个简单的线性谐波振子.

2.2 环境对生物钟的影响

昼夜节律是多元生理活动进行大约 24 小时的振荡, 是由内部时钟控制的. 虽然这些节律是内源性产生的, 但受到环境因素的影响. 众多环境因子 (诸如光周期、温度、食物和社会行为) 可被不同的生物

钟系统识别. 但对所有生物钟的调控来说, 最重要的还是光周期. 很多研究表明, 光周期是影响生物钟基因表达进而调控生物节律的主要环境因子.

光照对生物钟的影响, 主要是体现着对生物钟基因转录率的影响上面. 以模型 (1) 为例^[18,19]:

$$\begin{cases} \dot{X} = v_1 \frac{K_1^n}{K_1^n + Z^n} - v_2 \frac{X}{K_2 + X} + L \\ \dot{Y} = k_3 X - v_4 \frac{Y}{K_4 + Y} \\ \dot{Z} = k_5 Y - v_6 \frac{Z}{K_6 + Z} \end{cases} \quad (4)$$

其中 $L(t) = \begin{cases} L_0, t \in [24k, 24k + 12) \\ 0, t \in [24k + 12, 24(k + 1)) \end{cases}$.

细胞之间的耦合大都采用平均场效应, 仍以模型 (1) 为例^[21]:

$$\begin{cases} \dot{X}_i = v_1 \frac{K_1^n}{K_1^n + Z_i^n} - v_2 \frac{X_i}{K_2 + X_i} + v_c \frac{KF}{K_c + KF} \\ \dot{Y}_i = k_3 X_i - v_4 \frac{Y_i}{K_4 + Y_i} \\ \dot{Z}_i = k_5 Y_i - v_6 \frac{Z_i}{K_6 + Z_i} \\ \dot{V}_i = k_7 X_i - v_8 \frac{V_i}{K_8 + V_i} \end{cases} \quad (5)$$

其中 $F = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N V_i$. 下表 i 表示第 i 个神经元振子, $i = 1, 2, \dots, N$, N 为神经元的个数. V_i 表示神经递质的浓度.

3 生物钟的动力学研究

对生物钟动力学的研究主要集中在单细胞模型的研究和多细胞模型的研究. 我们在之前的工作中利用 Hope 分叉理论证明了自维持振子的存在性, 并用摄动理论研究了以 24 小时为周期的日常光照对振子周期的重置^[18], 利用数值模拟的方法验证了外界噪声对生物钟的影响^[19].

哺乳动物多细胞模型已经有人提出^[20-22], 到目前为止, 有关产生昼夜节律的 SCN 细胞振子的同步已经有大量的工作^[22-27]. 前人的工作中, 有的是研究 SCN 模型, 有的是研究振子的同步. 特别地, 有关 SCN 细胞的异质性, 在 Antle 和 Silver^[24, 25]的工作中已经被验证. 在 Antle 和 Silver 的模型中, 细胞被分成非节律“门槛”细胞以及具有广泛周期分布的节律细胞, 至于振子间耦合的作用

既没有要求也没有排除. 另一方面, To 及其合作者为哺乳动物的节律生物钟提出一个多细胞分子模型, 并假定同步在节律神经元细胞中产生是因为这些神经元细胞响应于周围环境中的日夜光照信号, 以 24 小时为周期节律性地释放 VIP^[22]. 然而, 他们的工作主要是基于数值模拟, 只有少量的理论分析. 在文献[26]中, 我们用分析的方法研究了具有异质性的 SCN 神经元细胞的同步机制.

4 展望

有关哺乳动物昼夜节律的产生机制已经有大量研究, 但是异质性 SCN 神经元之间的同步化机制还远远未研究清楚, 阐明这些 SCN 神经元是怎样耦合在一起驱动整个机体的生理和行为节律的依然是一个富有挑战性的课题. 另外, 同步化的神经元细胞如何将节律信息传递给外界组织, 从而调整机体的节律行为, 这也是今后研究的一个热点.

参 考 文 献

- Moore R Y, Speh J C, Leak R K. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell Tissue Research*, 2002, 309: 89 ~ 98
- Welsh D K, Logothetis D E, Meister M, et al. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 1995, 14: 697 ~ 706
- Honma S, Nakamura W, Shirakawa T, et al. Diversity in the circadian periods of single neurons of the rat suprachiasmatic nucleus depends on nuclear structure and intrinsic period. *Neuroscience Letter*, 2004, 358: 173 ~ 176
- Reppert S M, Weaver D R. Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 2001, 63: 647 ~ 676
- Shirakawa T, Honma S, Katsuno Y, et al. Multiple oscillators in the suprachiasmatic nucleus. *Chronobiology International*, 2001, 18: 371 ~ 387
- Hastings M, Herzog E. Clock genes, oscillators, and cellular networks in the suprachiasmatic nuclei. *Journal of Biological Rhythms*, 2004, 19: 400 ~ 413
- Moore R. Entrainment pathways and the functional organization of the circadian system. *Progress in Brain Research*, 1996, 111: 103 ~ 119
- Toshiyuki H, Joseph L, Judith M V, et al. Expression of period genes: rhythmic and nonrhythmic compartments of the suprachiasmatic nucleus pacemaker. *Journal of Neuroscience*, 2001, 21(19): 7742 ~ 7750
- Eskin A. Circadian system of the Aplysia eye: properties of the pacemaker and mechanisms of its entrainment. *Federation Proceedings*, 1979, 38(12): 2573 ~ 2579
- 贺桂琼, 孙善全. 视交叉上核的结构及其在昼夜节律中的作用. *解剖科学进展*, 2000, 6(2): 97 ~ 101 (He G Q, Sun S Q. Structure and role of suprachiasmatic nucleus in the circadian rhythm. *Process Anat. Sci.*, 2000, 6(2): 97 ~ 101 (in Chinese))
- Jewett M E, Kronauer R E. Refinement of a limit cycle oscillator model of the effects of light on the human circadian pacemaker. *Journal of Theoretical Biology*, 1998, 192: 455 ~ 465
- Jewett M E, Forger D B, Kronauer R E. Revised limit cycle oscillator model of human circadian pacemaker. *Journal of Biological Rhythms*, 1999, 14(6): 493 ~ 499
- Leloup J C, Goldbeter A. Toward a detailed computational model for the mammalian circadian clock. *PNAS*, 2003, 100(12): 7051 ~ 7056
- Goodwin, B C. Oscillatory behavior in enzymatic control processes. *Advances in Enzyme Regulation*, 1965, 3: 425 ~ 438
- Griffith J S. Mathematics of cellular control processes. I. Negative feedback to one gene. *Journal of Theoretical Biology*, 1968, 20: 202 ~ 208
- Liu K H, Wang R Q. MicroRNA-mediated regulation in the mammalian circadian rhythm. *Journal of Theoretical Biology*, 2012, 304: 103 ~ 110
- Forger D B, Kronauer R E. Reconciling mathematical models of biological clocks by averaging on approximate manifolds. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 2002, 62: 1281 ~ 1298
- Li Y, Zhang J B, Liu Z R. Circadian oscillators and phase synchronization under a light-dark cycle. *International Journal of Nonlinear Science*, 2006, 1(3): 131 ~ 138
- Li Y, Zhang J B, Liu Z R. Phase synchronization Induced by a light-dark cycle and extracellular noise. *Lecture Notes in Computer Science*, 2007, 4689: 1 ~ 7
- Gonze D, Bernard S, Waltermann C, et al. Spontaneous synchronization of coupled circadian oscillators. *Biophysical Journal*, 2005, 89: 120 ~ 129
- Bernard S, Gonze D, Cajavec B, et al. Synchronization-induced rhythmicity of circadian oscillators in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS Computational Biology*, 2007, 3:

0667 ~ 0679

- 22 To T L, Henson M A, Herzog E D, et al. A molecular model for intercellular synchronization in the mammalian circadian clock. *Biophysical Journal*, 2007, 92: 3792 ~ 3803
- 23 Rougemont J, Naef F. Collective synchronization in populations of globally coupled phase oscillators with drifting frequencies. *Physical Review E*, 2006, 73: 011104
- 24 Antle M, Foley D, Foley N, et al. Gates and oscillators: a network model of the brain clock. *Journal of Biological Rhythms*, 2003, 18(4): 339 ~ 350
- 25 Antle M, Foley D, Foley N, et al. Gates and oscillators II: zeitgebers and the network model of the brain clock. *Journal of Biological Rhythms*, 2007, 22(1): 14 ~ 25
- 26 Li Y, Liu Z R, Zhang J B, et al. Synchronization mechanisms of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *IET Systems Biology*, 2009, 3(2): 100 ~ 112
- 27 Komin N, Murza A C, Garcia E H, et al. Synchronization and entrainment of coupled circadian oscillators. *Biological Physics*, 2011, 1: 167 ~ 176

ADVANCES AND MATHEMATIC MODELING OF MAMMALIAN CIRCADIAN CLOCK*

Li Ying^{1†} Liu Zengrong²

(1. College of Information Technology of Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

(2. Institute of Systems Biology of Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract Because of the unique advantages of mathematical model in experimental data integration and dynamical analysis of gene regulatory network, the application of mathematical model in the research of circadian rhythm has been paid more and more attention for the past few years. In mammals, circadian rhythms are controlled by the neurons located in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus. Each neuron in the SCN contains an autonomous molecular clock. The fundamental question is how the individual cellular oscillators, expressing a wide range of periods, interact and assemble to achieve phase synchronization. It is an effective way to study the phenomenon of life at the molecular level. With the help of mathematical methods of network analysis and cybernetics, biological networks can be constructed and then theoretical study and numerical simulation can be given by dint of knowledge of nonlinear dynamics. In this paper, the advances of mathematical modeling and dynamical analysis in mammalian circadian clocks are given from a systems biology view. At last, prospects for studying circadian rhythm are brought forward.

Key words circadian rhythm, clock, synchronization, oscillator