

果蝇衰老与昼夜节律和睡眠相关的研究进展*

吕鹏飞** 赵章武 杜娟***

(中国农业大学植物保护学院, 农业部作物有害生物监测与绿色防控重点实验室, 北京 100193)

摘 要 人类和果蝇都具有保守的昼夜节律系统。对果蝇因衰老而引起的节律和睡眠变化的相关研究是了解人类衰老后身体机能发生怎样变化的重要途经。昼夜生物钟节律系统主要包括输入系统、核心时钟系统和输出系统。睡眠是生物周期性出现的一种自发和可逆的静息状态, 普遍存在于低等和高等生物中。昼夜节律和睡眠都会随着果蝇的衰老而逐渐变弱。早期研究表明, 衰老后昼夜节律系统变弱跟体内外周神经元的钟基因表达量大幅度降低有关, 但是衰老后核心钟基因的表达量变化却不清楚。本文对果蝇中节律、睡眠及其与衰老关系的研究进行综述。

关键词 果蝇; 昼夜节律; 睡眠; 衰老; 钟基因

Progress in research on the relationship between aging, circadian rhythm and sleep in *Drosophila*

LÜ Peng-Fei** ZHAO Zhang-Wu DU Juan***

(MOA Key Laboratory of Pest Monitoring and Green Management, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Both *Drosophila* and humans have a conservative circadian system. Research on the effects of aging on the circadian rhythm and sleep in *Drosophila* may aid understanding similar effects of aging in humans. The circadian clock is mainly comprised of an input system, core clock system and output system. Sleep is a kind of spontaneous, periodic and reversible resting state that is found in both simple and complex organisms. Circadian rhythm and sleep gradually weaken with age in *Drosophila*. Early in vivo and in vitro studies have found that the weakening of the circadian rhythm system with age in *Drosophila* is related to significant reduction in expression of the clock gene in peripheral neurons. However, the effects of aging on the expression of core circadian genes remains unclear. This paper reviews recent progress in research on the effects of aging on circadian rhythm and sleep in *Drosophila*.

Key words *Drosophila*; circadian rhythm; sleep; aging; clock genes

近年来, 公共卫生及医疗设施的进步大大延长了人类的寿命, 而与年龄相关的痴呆症、阿尔茨海默病、帕金森氏病 (White *et al.*, 2014) 和癌症等疾病患病率却显著增高 (De Nobrega and Lyons, 2020)。因此, 急需对因衰老而引发的各种疾病问题进行系统性的研究, 以应对人口老龄化。近年来, 人们对果蝇的节律、睡眠和衰老等生命活动的研究更加深入, 发现衰老会引起果蝇

的节律和睡眠发生紊乱 (Zepelin *et al.*, 1984; Giebultowicz and Long, 2015)。研究表明, 果蝇和人类有超过 60% 的同源基因, 这包括大多数人类疾病相关的基因 (Reiter *et al.*, 2001)。此外, 在生理和行为上, 果蝇具有跟哺乳动物相似的节律活动, 比如睡眠、学习记忆等 (Allada and Chung, 2010)。因而以果蝇作为研究对象, 探究衰老与节律和睡眠的关系对推进人类衰老相关疾病的

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31772535, 31730076)

**第一作者 First author, E-mail: lpf1108623@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: dujuan9981@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-05-08; 接受日期 Accepted: 2021-07-18

研究意义重大。果蝇和哺乳动物的睡眠具有相同的特征 (Allada and Siegel, 2008), 都会受到年龄变化、性别差异和外在此条件等因素的影响 (Kume *et al.*, 2005), 而衰老正是其中很重要的一个因素。衰老是生命体必经的过程。研究表明, 与衰老的哺乳动物相似, 果蝇衰老后表现出肌肉退化、昼夜节律紊乱、学习和记忆功能下降和睡眠改变等特征 (Giebultowicz and Long, 2015)。鉴于当前对果蝇衰老、节律以及睡眠关系研究的必要性, 本文将对果蝇中节律、睡眠及其与衰老关系的研究进行综述, 以期对果蝇的衰老、节律以及睡眠方向的研究提供理论基础。

1 生物节律的研究进展

1.1 生物节律的概念

生物节律是指具有约 24 h 周期的内源性节律, 由内源性生物钟调控 (Long and Giebultowicz, 2018)。生物钟是一种细胞自主机制, 由核心钟基因组成, 是广泛存在于各个生物体的内在节律性, 在分子水平上, 是基于转录激活因子和抑制因子的负反馈循环 (Mazzocchi *et al.*, 2016)。研究发现, 光周期、温度、食物等环境因素可以直接影响内源性生物钟 (Lakin-Thomas, 2000)。

生物钟对真核细胞的行为和生理特性有着至关重要的影响。比如, 生物体内一系列的内源生物钟基因, 调控外在行为产生周期振荡的节律性, 如激素水平变化、体温波动和睡眠周期等。这些节律使生物体在不断变化的环境中能够保持稳定的生理活动, 并使得生物体的生理活动和自然环境的周期性变化相适应 (Lakin-Thomas, 2000)。在众多节律中, 人们对昼夜节律的研究最多也最为清楚。

1.2 昼夜节律生物钟系统的组成

生物钟系统具有保守性, 不管是单细胞生物还是复杂的人类都主要由输入系统、核心时钟系统和输出系统三部分构成 (Cermakian and Sassone-Corsi, 2000)。输入系统由感受器和传入途径两部分组成, 感受器接受外部环境信号并将该信号通过传入路径传入到核心时钟系统。核心时钟系统由具有节律性表达的钟基因和相应的蛋白组成, 能够接受和处理由输入系统传入的信号, 并做出相应的反馈。输出系统接收核心时钟系统产生的特定信号, 将信号传到特定的组织和效应器 (Cermakian and Sassone-Corsi, 2000)。生物钟系统的三部分之间相互依赖并调控, 形成了生物体复杂的昼夜节律调控网络 (图 1)。

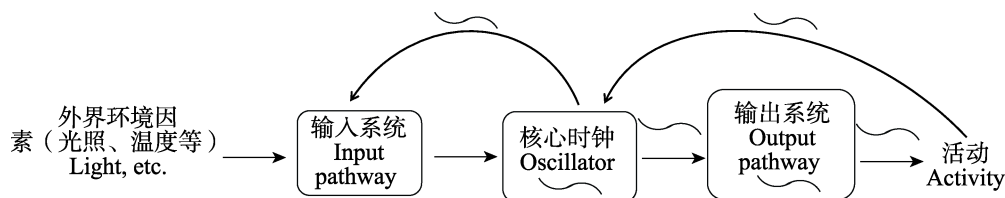


图 1 果蝇昼夜节律生物钟调控系统模型 (Lakin-Thomas, 2000)

Fig. 1 Circadian clock regulation system model of *Drosophila* (Lakin-Thomas, 2000)

1.3 果蝇昼夜节律的分子调控机理

人们最早是通过遗传学和生物化学研究果蝇的昼夜节律行为, 并揭示了生物钟的分子机制 (Konopka and Benzer, 1971; Hardin, 2005)。到目前为止, 在果蝇中已经鉴定出 10 多种钟基因, 其中核心钟基因包括 *clock* (*clk*)、*cycle* (*cyc*)、*period* (*per*) 和 *timeless* (*tim*)。Konopka 和 Benzer (1971) 在持续黑暗条件下对调节生物节律的果

蝇突变体进行了遗传学筛选, 并在 1971 成功发现第一个生物钟基因——*per*, 奠定了生物钟节律分子模型产生的基础。在此之后, 人们相继发现 *tim* (Sehgal *et al.*, 1994)、*clk* (Allada *et al.*, 1998)、*cyc* (Rutila *et al.*, 1998) 等核心生物钟基因, 并探索出构成生物钟调控的核心环路。此外, *cryptochrome* (*cry*) (Stanewsky *et al.*, 1998), *doubletime* (*dbt*) (Price *et al.*, 1998), *shaggy* (*sgg*)

(Martinek *et al.*, 2001), *casein kinase 2* (*ck2*) (Akten *et al.*, 2003) 和 *clock orange* (*cwo*) (Kadener *et al.*, 2007) 等生物钟基因也被发现参与环路的调控, 使得生物体从细胞水平到行为水平产生稳定的节律振荡性。

生物钟调控的分子机制分为转录调控、转录后调控和翻译调控, 其中转录调控是核心 (Hardin, 2005)。转录调控又可以分为转录激活调控和转录抑制调控两大类 (Hardin, 2005)。到目前为止, 果蝇中已发现的转录激活子包括 *clk*、*cyc* 和 *PAR Domain Protein 1ε* (*pdp1ε*), 转录抑制子有 *per*、*tim*、*vri* (*vri*) 和 *cwo* (Hardin, 2005)。在细胞核内, CLK/CYC 异二聚体蛋白特异的结合到 *per*、*tim* 等基因启动子的 E-box 元件上, 激活基因的转录 (Allada *et al.*, 1998; Rutila *et al.*, 1998)。这些生物钟基因相互调控, 形成极其复杂的反馈调控环路。

果蝇生物钟的分子调控机制主要包括 3 个转录反馈环路。第一个环路是以 CLK/CYC 为中心, CLK/CYC 特异性的结合到 *pdp1ε* 和 *vri* 的 E-box 以激活基因的表达。PDP1ε 对 *clk* 的表达具有促进作用, 而 VRI 则与 PDP1ε 竞争性的结

合到 *clk* 启动子的 V/P 区, 从而抑制 *clk* 的表达 (Allada and Chung, 2010)。第二个环路是以 PER/TIM 为中心, CLK/CYC 有节奏的激活 *per* 和 *tim*, 在黄昏时 *per*、*tim* 的 mRNA 水平达到最高峰; 5 h 后 PER/TIM 蛋白水平也达到最高峰, 随后 PER/TIM 蛋白进入细胞核内抑制 *clk/cyc* 的表达, 从而抑制 *per*、*tim* 的转录 (Cyran *et al.*, 2003)。在第三个环路中, CWO 竞争性的结合到 CLK/CYC 靶标基因的 E-box 区, 抑制靶标基因的转录 (Kadener *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2007; Matsumoto *et al.*, 2007) (图 2)。

1.4 果蝇的生物钟和外周生物钟

研究发现, 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 成虫脑内大约有 150 个钟神经元, 按位置大致可以分为 8 组: 其中 4 组位于视叶 (Pptic lobe) 以及脑中部的腹侧神经元 (Ventral lateral neurons, LNvs) 和背侧神经元 (Dorsal lateral neurons, LNds); 3 组神经元位于脑背部的背神经元 (Dorsal neurons, DNs)。最后 1 组位于脑中部后侧的侧后神经元 (Lateral posterior neurons, LPNs) (Hall, 2000)。

除了上述的中央生物钟外, 在大脑的其他区

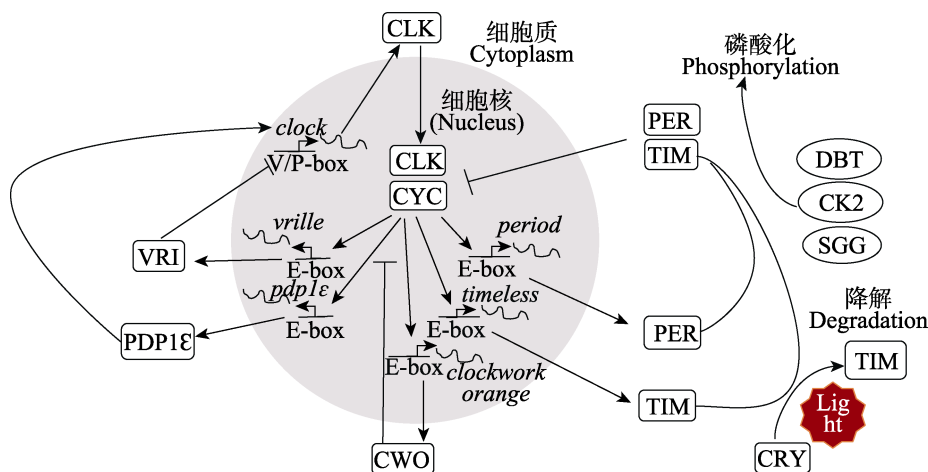


图 2 果蝇昼夜节律生物钟的分子机制 (Allada and Chung, 2010)

Fig. 2 Molecular mechanism of circadian rhythm in *Drosophila* (Allada and Chung, 2010)

CLK: Clock 蛋白; CYC: Cycle 蛋白; PDP1ε: PAR Domain Protein 1ε 蛋白; VRI: Vrille 蛋白;
CWO: Clockwork orange 蛋白; PER: Period 蛋白; TIM: Timeless 蛋白; CRY: Cryptochrome 蛋白;
DBT: Doubletime 蛋白; CK2: Casein kinase 2 蛋白; SGG: Shaggy 蛋白。

CLK: Clock protein; CYC: Cycle protein; PDP1ε: PAR Domain Protein 1ε protein; VRI: Vrille protein; CWO: Clockwork orange protein; PER: Period protein; TIM: Timeless protein; CRY: Cryptochrome protein; DBT: Doubletime protein; CK2: Casein kinase 2 protein; SGG: Shaggy protein.

域和外围组织中也有振荡器,被称为外周生物钟(Ito and Tomioka, 2016)。比如,蜕皮激素的分泌,精子的释放等都是由外周振荡器控制的生理活动,外周生物钟的振荡与中央生物钟的振荡可以不一致。核心钟基因也作用于外周生物钟,例如:在 *cry^b* 突变体中果蝇对嗅觉刺激的电生理节律反应会消失(Krishnan *et al.*, 2001); PER 和 TIM 在 *cry* 突变体果蝇马氏管中振荡消失,但在小腹侧神经元中却表现出强劲的昼夜振荡(Ivanchenko *et al.*, 2001)。这些结果都表明 *cry* 除了能够在核心生物钟中作为光感受器外,在外周生物钟也能够起到重要的调控作用。

2 果蝇作为睡眠新型模式生物的研究进展

2.1 果蝇作为睡眠模式生物的依据

睡眠是动物普遍存在的现象,在广义上讲睡眠被定义为生物周期性出现的一种自发的和可逆的静息状态(Sehgal and Mignot, 2011)。生物都离不开睡眠,且睡眠与生物个体息息相关,比如睡眠时期受到来自体内和体外的 24 h 昼夜节律的影响;睡眠量受生物体内稳态系统的调控,对生物个体进行睡眠剥夺后,体内稳态系统会及时调控促使个体尽快进入睡眠(Dauviltiers *et al.*, 2005)。遗传学研究表明从果蝇到哺乳动物,睡眠的调节在很大程度上是保守的(Allada and Siegel, 2008)。比如,睡眠行为发生时果蝇会对外界环境的反应能力减弱,并且这个过程是可逆的。人们把果蝇对外界刺激的反应程度称为唤醒域(Arousal threshold),研究发现当果蝇从清醒状态进入睡眠时,果蝇的脑电波活动变化很大,一直运动着的果蝇更容易对外界刺激做出反应,而睡眠期间则唤醒域提高(Allada and Siegel, 2008)。果蝇睡眠会受到年龄变化,性别差异、外在条件变化等因素的影响(Kume *et al.*, 2005)。年纪越大的果蝇有越多的片段式睡眠,只有几天的年幼果蝇比成熟果蝇睡得更多(Dilley *et al.*, 2018)。此外,在应对睡眠压力时,果蝇跟人类相似。保持清醒状态的时间越长,人的睡眠压力

就越大,睡眠时间也越长,在果蝇身上也体现出这样的现象。经过比较发现,在超过 5 min 不动时,果蝇对外界刺激很少做出运动反应,因此,保持 5 min 以上不活动的果蝇即被认为处于睡眠状态(Shaw *et al.*, 2000; Cirelli and Bushey, 2008)。

2.2 果蝇睡眠的分子机制

目前,睡眠问题仍然是生物学现象中了解最少的课题之一,尽管果蝇脑有着相对简单的神经系统,但是其睡眠调控机理非常复杂,可能需要许多不同的分子及信号通路的参与。目前很多影响睡眠的信号分子还不知道起源于何处,但是接收这些信号的重要脑部区域已经被鉴定出来。包括蘑菇体(Mushroom body, MB)、脑间部神经元(Pars intercerebralis, PI)和腹侧神经元(Bushey and Cirelli, 2011)。睡眠分别由位于大脑中的核心振荡器和中央复合物所调控(Akerstedt and Gillberg, 1981; Guo *et al.*, 2016)。在果蝇大脑中,大约有 150 个钟神经元用来调控昼夜节律;蘑菇体和中央复合体调控体内睡眠平衡(Guo *et al.*, 2016)。昼夜节律和体内平衡相互作用共同调节睡眠,目前人们已经陆续发现多种连接钟神经元和中央复合体的神经回路和通路(Guo *et al.*, 2016; Potdar and Sheeba, 2018)。

2.2.1 昼夜节律调控睡眠

动物睡眠一个显著的特征是其具有周期性,且这个周期性循环是由日常节律所控制(Sehgal and Mignot, 2011)。研究者对长期睡眠不足的人调查时就发现,即使存在显著睡眠压力时,人的睡眠倾向每天也在发生着变化,这表明钟基因日常可能会参与到睡眠的调控中去(Akerstedt and Gillberg, 1981)。近年来,在果蝇体内人们发现钟基因除了调控行为节律外,也调控睡眠(Bushey and Cirelli, 2011)。例如,钟神经元 pigment-dispersing factor (*pdf*) 缺失突变了以后会明显增加睡眠(Parisky *et al.*, 2008)。此外,生物钟突变也会造成稳态缺陷。对 Canton-S、*per⁰¹* 和 *clk^{JRK}* 进行 12 h 的睡眠剥夺后,*per⁰¹* 和 *clk^{JRK}* 展现出更强的睡眠反弹(Shaw *et al.*, 2002)。*tim* 的突变体 *tim⁰¹* 在进行 3-6 h 的睡眠剥夺后几乎没有睡眠反弹,但是当被剥夺

12 h 后, 其展现出与 *per⁰¹* 和 *clk^{IRK}* 相似的睡眠反弹 (Shaw *et al.*, 2002)。核心生物钟基因功能的丧失, 使得生物体在恒定时间里不能够准确的睡眠与觉醒, 这样的突变体在光周期下虽然也能够表现出睡眠/觉醒的节奏, 是因为光对生物体活动直接进行影响造成的 (Wheeler *et al.*, 1993)。除了核心生物钟基因外, 负责昼夜节律的神经元也参与到睡眠调节中去。现已证明 LNvs 具有促进觉醒的功能, 而 DNs 则促进睡眠。比如, 位于 LNvs 的基因 *wake* 和 *Fbx14* 控制着昼夜节律的输出, 以设置适当的睡眠时间 (Liu *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017)。

2.2.2 神经递质对睡眠的调节 神经递质在调控睡眠中扮演着不可或缺的角色。到目前为止, 人们已经陆续发现多巴胺、章鱼胺、组胺、5-羟色胺、GABA、乙酰胆碱和谷氨酸参与到睡眠调控中去; 其中, 多巴胺、章鱼胺和组胺具有促进觉醒的作用, 5-羟色胺和 GABA 则促进睡眠, 乙酰胆碱和谷氨酸具有双重作用, 既可以促进睡眠也可以促进觉醒 (Ly *et al.*, 2018)。

离子通道是脑神经元活动的基础, 其在睡眠调节中具有举足轻重的作用。*Shaker(sh)* 基因编码组成钾离子通道的必要蛋白并控制着神经递质的释放, 其突变之后造成全局神经元活动增加, 造成睡眠减少 (Cirelli *et al.*, 2005)。

2.2.3 神经内分泌物质对睡眠的调节 蜕皮激素、咽侧体抑制激素、保幼激素和神经肽 F 是重要的神经内分泌物质, 它们在睡眠调控中起着不同的作用 (Ishimoto and Kitamoto, 2010; Donlea *et al.*, 2014; Kannangara *et al.*, 2020; Yokoi *et al.*, 2020)。蜕皮激素是果蝇类固醇激素中主要的物质, 在果蝇发育、生理和行为进程中都起着重要的作用 (Ishimoto and Kitamoto, 2010)。当用蜕皮激素处理果蝇时, 果蝇的睡眠量以剂量依赖式的增加; 突变掉果蝇的蜕皮激素受体, 果蝇的睡眠量减少, 而且可以通过饲喂蜕皮激素进行挽救 (Ishimoto and Kitamoto, 2010)。蜕皮激素在睡眠稳态中也具有重要作用, 对果蝇进行睡眠剥夺后, 果蝇体内蜕皮激素含量增加; 当对蜕皮激素受体突变的果蝇进行睡眠剥夺时, 其恢复睡眠的

量远低于对照 (Ishimoto and Kitamoto, 2010)。位于中央复合体的背扇形体 (dFB) 是调控睡眠的重要神经中枢, dFB 通过释放一系列抑制信号调控睡眠, 其中就包括咽侧体抑制激素 (Donlea *et al.*, 2018)。咽侧体抑制激素的下游靶标包含中央复合体的一组名为螺旋细胞的中间神经元, 这些神经元主要是用来处理视觉传入的信号, 并将信号传入到椭圆体的 R2 环形神经元, 而咽侧体抑制激素可以抑制螺旋细胞以促进睡眠 (Liu *et al.*, 2016)。保幼激素在昆虫繁殖、蜕皮和生长发育过程中发挥重要作用。最近的研究表明, 保幼激素信号调节睡眠, 而且雄性表现出长睡眠表型, 而雌性则表现出短睡眠表型。阻断保幼激素信号通路可以消除这些差异 (Yokoi *et al.*, 2020)。果蝇神经肽 F 是哺乳动物神经肽 Y 的同系物。神经肽 F 及其受体调节昆虫的摄食行为, 有研究表明其也参与睡眠的调节。神经肽 F 或者其受体的过度表达会促进下游蜕皮激素表达, 进而影响睡眠 (Kannangara *et al.*, 2020)。

2.2.4 信号通路对睡眠的调节 信号通路对睡眠也具有调节作用, 目前发现的有环磷酸腺苷 (cAMP) 反应元件结合蛋白 (cAMP/PKA) 通路、G 蛋白信号通路、泛素-蛋白酶体途径等。cAMP/PKA 的活动与睡眠呈负相关性, cAMP/PKA 通路上调会导致睡眠减少 (Chen *et al.*, 2013)。G 蛋白偶联受体 (GPCR) 是脊椎动物和无脊椎动物中最丰富的受体家族。G 蛋白大约有 40 种, 其中大部分与细胞膜结合, 由 α 、 β 和 γ 3 个不同的亚基组成, 总分子量约为 100 ku。G 蛋白分为 6 类: Gs、Gi、Go、Gq、Gt 和 G?, 其中 G? 是功能未确定的 G 蛋白的名称。Go 在睡眠维持中起重要作用。增加 Go 信号会巩固果蝇的睡眠。蘑菇体中的 Go 靶向激活后可促进睡眠 (Guo *et al.*, 2011)。通过正向遗传学筛选, Stavropoulos 和 Young (2011) 筛选出了一个名叫 *insomniac (inc)* 的基因, 该基因突变后会导致明显的睡眠减少。*inc* 与泛素连接酶复合体 Cullin-3 (Cul3) 具有生理关系, 在神经元中降低 Cul3 的活性, 重现了 *inc* 突变体的表型。*inc* 和 Cul3 之间的关系表明泛素蛋白酶体信号通路

可能在动物睡眠和觉醒之间发挥普遍的作用 (Stavropoulos and Young, 2011)。

3 衰老

任何生物都将会衰老, 衰老是一个十分复杂的过程, 包括重要功能的丧失、有害物质的积累、生理代谢恶化等, 最终会导致死亡 (Eleftherianos and Castillo, 2012)。近年来, 人们越来越重视使用“简单”模型系统来研究衰老以及衰老所引起的各种变化。Kenyon 等 (1993) 在 1993 年首次发现类胰岛素受体基因 *daf-2* 突变可以明显延长线虫的寿命。后续的研究在哺乳动物和昆虫中都证实了胰岛素信号通路与衰老之间的关系。

尽管果蝇的生命周期相对较短, 且体型等方面与哺乳动物相差巨大, 但与衰老相关的许多表型变化跟哺乳动物具有相似性 (Giebltowicz and Long, 2015)。主要包括以下几个方面:

(1) 肌肉衰老和活动性降低。人类衰老最明显的一个特征就是肌肉萎缩和运动能力下降, 这一现象也在果蝇中发现。随着年龄的增长, 果蝇爬行速度和飞行能力都逐渐下降, 肌肉退化明显;

(2) 学习和记忆能力下降。人类年龄进入 50 岁后, 就会出现记忆力衰退、健忘、无法保持注意力和解决问题的能力下降等现象。已有研究发现, 衰老也会影响果蝇的学习获得能力, 衰老的果蝇更容易出现学习获得性障碍。此外, 衰老的果蝇表现出记忆力消退的速度加快、记忆过程的主动抑制和记忆恢复的损害;

(3) 感觉系统敏感度下降。随着年龄的增长, 人类的嗅觉敏感度显著下降。相似的, 对果蝇的研究表明, 衰老的果蝇对刺激性气味的规避行为下降, 中年雄性果蝇夜间交配行为改变也能够反映出嗅觉能力的下降;

(4) 心脏功能受损。大多数生物的心脏功能随年龄的增加而逐渐下降。研究表明, 中年和衰老的果蝇除了心率下降外, 非节律性收缩模式也越来越多;

(5) 睡眠发生改变。衰老的果蝇表现出跟人类相似的睡眠片段化、白天睡眠时间增加、唤醒域降低和对外界刺激敏感、睡眠剥夺后恢复睡眠

减少等特征。

果蝇衰老可能受到多个生理机制的调控。Zhang 和 Zhang (2012) 提出成年果蝇 3 号染色体上长寿基因 *methuselah(mth)* 突变后平均寿命会延长约 35%, Rana 等 (2013) 发现当过表达 *parkin* 时, 果蝇寿命比对照组延长了 25%。此外, 类固醇激素, 如保幼激素和蜕皮激素, 都对果蝇的寿命具有一定的影响。当果蝇类胰岛素受体 *dinr* 发生基因突变时, 果蝇的寿命延长了将近一倍; 敲掉 *dinr* 下游的基因 *chico*, 果蝇表现出与 *dinr* 突变体一样的表型, 证明胰岛素信号在衰老中的作用 (Colombani *et al.*, 2005)。

4 节律与衰老的关系

分子、行为和生理水平上的昼夜节律对维持果蝇体内时间稳态很重要。年幼个体果蝇具有强壮的、高振幅的循环节律, 当它们变老时, 其强度和振幅都会逐渐变弱 (Giebltowicz and Long, 2015), 比如衰老后, 体内荷尔蒙水平、身体温度、睡眠/觉醒循环以及其它生理上的和行为多样性均大幅度降低 (Touitou and Haus, 2000)。人类失去时间上协调的节律往往会造成许多疾病的发生, 包括阿尔兹海默症和癌症等 (Wu and Swaab, 2007)。通过敲掉老鼠体内钟基因使得节律发生紊乱后, 发现其表现出与衰老相关的症状, 寿命也相对减少 (Lee, 2006)。这些数据均表明节律系统与衰老在进化上具有保守性。因此, 研究出衰老后为什么节律水平会降低以及其调控机制, 对解决阿尔兹海默症和癌症等疾病至关重要。

在分子水平上, 昼夜节律是基于转录激活因子和抑制因子的负反馈循环 (Mazzocchi *et al.*, 2016)。目前人们对年幼果蝇的核心生物钟振荡研究的很清楚, 但是在衰老过程中钟基因的振荡是如何变化的仍不清楚。研究发现, 果蝇衰老时, 体内外周神经元的表达量大幅度降低, 而在中央节律神经元中却没有发现类似的现象 (Zhao *et al.*, 2018)。一直以来, 细胞周期和分子生物钟的异常与各种病理, 特别是癌症的发生相关 (Fu and Lee, 2003)。但是生物钟的基因特性在衰老过程

中是如何变化的还不是很清楚,现有的证据是矛盾的。据报道,在衰老的果蝇中,分子钟强烈表达 (Luo *et al.*, 2012), 但这一发现受到了另一项研究的挑战, 即 *per* 在果蝇衰老时表达减少 (Umezaki *et al.*, 2012)。对衰老哺乳动物的研究也显示出各种钟基因表达正常或者表达降低等有争议的结果 (Nakamura *et al.*, 2015; Banks *et al.*, 2016)。随着果蝇的衰老, 核心钟基因依然有很强的振荡效应, 但是蛋白质表达水平却显著的下降 (Kuintzle *et al.*, 2017)。

钟基因表达变化也会反过来影响衰老过程中的多种生理过程。有研究表明, 在果蝇神经系统中诱导钟基因 (*cry*、*per*、*tim*、*cyc* 和 *clk*) 过表达可以提升黑腹果蝇的健康寿命, 一旦钟基因发生了突变, 会加速衰老 (Giebultowicz and Long, 2015)。研究发现, 果蝇衰老后其钟基因调控行为发生了变化, 比如, 在死亡之前, *tim* 的表达至少增加了 150%, 并造成心律失常 (Zhao *et al.*, 2018)。这一现象与细胞稳态下降和衰老的各种疾病有关, 包括神经退化疾病和记忆形成受损。在钟基因中, *tim* 基因参与多种生理现象, 如胚胎发育。*tim* 与其它钟基因一起除了驱动昼夜节律性外, 最近被认为与细胞周期和 DNA 复制等过程有明显的关系 (Mazzocchi *et al.*, 2016)。另外, 哺乳动物生物钟功能的慢性干扰会加速生理性衰老和晚年疾病 (Antoch *et al.*, 2008)。除此之外, 越来越多的证据表明, 核心钟蛋白可能具有独特的非昼夜节律功能, 对于在正常和应激条件下维持组织内部稳态非常重要, 一旦它们发生功能性障碍可能会导致疾病的发展 (Ko and Takahashi, 2006; Kondratov *et al.*, 2007)。在这个领域, 最新的成果已经为新的研究途径铺平了道路, 目的是为了了解这些病理背后的分子机制, 以及钟蛋白的作用水平。这些机制的阐明将是诊断和预防工作的基础, 并为解决人口老龄化带来的各种问题做铺垫。

5 睡眠与衰老的关系

衰老往往伴随着许多生理生化以及生物进程的改变, 包括睡眠。生理学研究已经证明, 在

睡眠的几个方面, 健康老年人相对于年轻人来说都发生了显著的变化, 但是什么机制导致这种现象的发生目前仍不清楚 (Mendelson and Bergmann, 1999; Koh *et al.*, 2006)。流行病学研究发现疾病的发生与睡眠变化有很大的相关性, 比如老年人睡觉频率的增加、失眠等 (Foley *et al.*, 1995)。因此, 了解睡眠与衰老之间的关系, 对提高老龄化社会的生活质量是十分必要的。

黑腹果蝇是研究衰老常用的动物模型。果蝇与哺乳动物有着许多共同的睡眠特征。果蝇持续长时间睡眠会导致唤醒域提高。它们还显示深度睡眠阶段和轻度睡眠阶段的交替, 以及睡眠期间大脑活动的变化。果蝇对咖啡因等刺激物的反应方式与哺乳动物相似, 而且它们与哺乳动物拥有几个同样的睡眠-唤醒调节基因 (Hendricks *et al.*, 2000; Shaw *et al.*, 2000)。此外, 果蝇和哺乳动物一样存在睡眠反弹现象。

研究发现, 衰老会破坏果蝇和哺乳动物的睡眠-唤醒节律 (Vienne *et al.*, 2016)。年幼的果蝇睡眠时间长且不间断, 而年长的果蝇表现出更多的碎片化睡眠。在年幼的雌性果蝇中, 睡眠主要集中在夜间, 但是衰老的雌性果蝇在白天的睡眠增加, 晚上的睡眠逐渐减少 (Koh *et al.*, 2006)。随着睡眠持续时间的减少, 衰老还会增加短暂唤醒的次数和睡眠次数。相比于 10 d 果蝇, 30 d 果蝇的睡眠强度降低, 表现出唤醒域降低和对神经刺激的敏感度增强 (Vienne *et al.*, 2016)。年龄相关的睡眠稳态也发生了明显的变化, 衰老果蝇经历过睡眠剥夺后恢复睡眠会减少。衰老果蝇表现出总睡眠时间缩短、睡眠质量变差和睡眠潜伏期延长, 比年幼果蝇更容易从睡眠中唤醒 (Zepelin *et al.*, 1984)。尽管很早就认识到衰老对睡眠具有重要影响, 但是目前为止, 其分子水平上的调控尚不清楚。现有研究发现, 促进唤醒的多巴胺神经元活性随着果蝇年龄的增长而增加, 对促进睡眠的背扇形体 (dFSB) 产生更大的抑制作用; 基于 RNAi 筛选技术, 人们发现 *pdm3* 基因能够调控多巴胺神经元与促进睡眠神经元之间的联系, 如果 *pdm3* 基因发生突变, 年幼果蝇的睡眠会明显降低 (Dilley *et al.*, 2020)。

结合果蝇中成熟的遗传学操作技术,可以预见,果蝇将是研究睡眠与衰老之间关系的分子机制的重要模式生物。

6 展望

正常的节律和睡眠对健康和寿命都有着至关重要的作用。随着现代生物技术的发展,人们对衰老过程中节律和睡眠的研究越来越深入促使我们更加希望了解其体内运转的机制。

生物钟循环是细胞自主性的分子反馈环路,参与调控基因表达、细胞功能、生理进程和行为等众多途径中。在过去的 30 年中,人们对昼夜节律研究深入强调了正常的昼夜节律功能对健康的重要性以及紊乱的昼夜节律带来疾病的后果。人们在年幼果蝇中对生物钟节律的研究已经比较透彻,但是我们仍然不了解衰老是怎样影响生物钟系统的。相似于人类,在衰老的果蝇身上,活动节律倾向于变弱,显现出在节律系统上与衰老相关的改变具有保守性。现有研究表明外周生物钟表达水平在衰老后大幅度下降,但是核心生物钟基因的表达似乎不受影响。核心生物钟基因突变造成的节律失常往往会加速衰老以及减短寿命,证明弱的生物钟节律也会导致衰老的表型。生物钟系统的紊乱往往会导致各种疾病的发生,而衰老会加剧生物钟系统的紊乱,因此人们迫切需要解决生物钟节律与衰老之间的关系。

衰老与睡眠之间的联系是一个热门的研究话题。一方面,人类流行病学研究表明,睡眠时间的减少或者增加均与寿命缩短有关,但是睡眠时间是否会影响寿命仍存在很大的争议。另一方面,比较确定的是当人类衰老时睡眠量和睡眠质量下降,但其潜在的机制仍不清楚。人类睡眠质量下降往往会诱发一系列的疾病,比如心脏病、老年痴呆等。衰老的果蝇比年幼的果蝇睡眠时间短且睡眠碎片化严重,与哺乳动物衰老后出现的症状一致,即增加疾病的风险。然而,到目前为止我们仍然不了解衰老是如何在分子水平上影响昼夜节律系统和睡眠的。随着越来越多的时钟调控机制及其蛋白的发现,相信衰老与昼夜节律、睡眠的关系会更加清楚。

尽管了解昼夜节律、睡眠和衰老之间双向互相作用很重要,但这个研究是充满挑战的,比如研究所需要花费的时间、适合的哺乳动物模型等。果蝇作为一个成熟的系统模型,具有神经遗传学和分子生物学的简便性,可以为未来研究衰老和节律及睡眠之间相互作用提供巨大的财富。未来几年无疑将在理解昼夜节律系统与健康衰老之间的相互作用方面取得重大进展,其中包括开发强化昼夜节律的药物,以减轻与年龄相关引起的昼夜节律紊乱而造成的疾病。

参考文献 (References)

- Akerstedt T, Gillberg M, 1981. The circadian variation of experimentally displaced sleep. *Sleep*, 4(2): 159–169.
- Akten B, Jauch E, Genova GK, Kim EY, Edery I, Raabe T, Jackson FR, 2003. A role for CK2 in the *Drosophila* circadian oscillator. *Nature Neuroscience*, 6(3): 251–257.
- Allada R, Chung BY, 2010. Circadian organization of behavior and physiology in *Drosophila*. *Annual Review of Physiology*, 72: 605–624.
- Allada R, Siegel JM, 2008. Unearthing the phylogenetic roots of sleep. *Current Biology*, 18(15): R670–R679.
- Allada R, White NE, So WV, Hall JC, Rosbash M, 1998. A mutant *Drosophila* homolog of mammalian clock disrupts circadian rhythms and transcription of period and timeless. *Cell*, 93(5): 791–804.
- Antoch MP, Gorbacheva VY, Vykhovanets O, Toshkov IA, Kondratov RV, Kondratova AA, Lee C, Nikitin AY, 2008. Disruption of the circadian clock due to the clock mutation has discrete effects on aging and carcinogenesis. *Cell Cycle*, 7(9): 1197–1204.
- Banks G, Nolan PM, Peirson SN, 2016. Reciprocal interactions between circadian clocks and aging. *Mammalian Genome*, 27(7/8): 332–340.
- Bushey D, Cirelli C, 2011. From genetics to structure to function: Exploring sleep in drosophila. *Int. Rev. Neurobiol.*, 99(4): 213–244.
- Cermakian N, Sassone-Corsi P, 2000. Multilevel regulation of the circadian clock. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(1): 59–67.
- Chen W, Shi W, Li L, Zheng Z, Li T, Bai W, Zhao Z, 2013. Regulation of sleep by the short neuropeptide F (sNPF) in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 43(9): 809–819.
- Cirelli C, Bushey D, 2008. Sleep and wakefulness in *Drosophila melanogaster*. *Molecular and Biophysical Mechanisms of Arousal, Alertness, and Attention*, 1129(1): 323–329.

- Cirelli C, Bushey D, Hill S, Huber R, Kreber R, Ganetzky B, Tononi G, 2005. Reduced sleep in *Drosophila shaker* mutants. *Nature*, 434(7037): 1087–1092.
- Colombani J, Bianchini L, Layalle S, Pondeville E, Dauphin-Villemant C, Antoniewski C, Carre C, Noselli S, Leopold P, 2005. Antagonistic actions of ecdysone and insulins determine final size in *Drosophila*. *Science*, 310(5748): 667–670.
- Cyran SA, Buchsbaum AM, Reddy KL, Lin MC, Glossop NRJ, Hardin PE, Young MW, Storti RV, Blau J, 2003. *vrrille*, *Pdp1*, and *dClock* form a second feedback loop in the *Drosophila* circadian clock. *Cell*, 112(3): 329–341.
- Dauviltiers Y, Maret S, Tafti M, 2005. Genetics of normal and pathological sleep in humans. *Sleep Medicine Reviews*, 9(2): 91–100.
- De Nobrega AK, Lyons LC, 2020. Aging and the clock: Perspective from flies to humans. *European Journal of Neuroscience*, 51(1): 454–481.
- Dilley LC, Szuperak M, Gong NN, Williams CE, Saldana RL, Garbe DS, Syed MH, Jain R, Kayser MS, 2020. Identification of a molecular basis for the juvenile sleep state. *Elife*, 9(52676): 1–21.
- Dilley LC, Vigderman A, Williams CE, Kayser MS, 2018. Behavioral and genetic features of sleep ontogeny in *Drosophila*. *Sleep*, 41(7): 1–11.
- Donlea JM, Pimentel D, Miesenboeck G, 2014. Neuronal machinery of sleep homeostasis in *Drosophila*. *Neuron*, 81(4): 860–872.
- Donlea JM, Pimentel D, Talbot CB, Kempf A, Omoto JJ, Hartenstein V, Miesenboeck G, 2018. Recurrent circuitry for balancing sleep need and sleep. *Neuron*, 97(2): 378–389.
- Eleftherianos I, Castillo JC, 2012. Molecular mechanisms of aging and immune system regulation in *Drosophila*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(8): 9826–9844.
- Foley DJ, Monjan AA, Brown SL, Simonsick EM, Wallace RB, Blazer DG, 1995. Sleep complaints among elderly persons—an epidemiologic-study of 3 communities. *Sleep*, 18(6): 425–432.
- Fu LN, Lee CC, 2003. The circadian clock: Pacemaker and tumour suppressor. *Nature Reviews Cancer*, 3(5): 350–361.
- Giebultowicz JM, Long DM, 2015. Aging and circadian rhythms. *Current Opinion in Insect Science*, 7(1): 82–86.
- Guo F, Yi W, Zhou M, Guo A, 2011. Go signaling in mushroom bodies regulates sleep in *Drosophila*. *Sleep*, 34(3): 273–281.
- Guo F, Yu J, Jung HJ, Abruzzi KC, Luo W, Riffith LCG, Rosbash M, 2016. Circadian neuron feedback controls the *Drosophila* sleep-activity profile. *Nature*, 536(7616): 292–297.
- Hall JC, 2000. Cryptochromes: Sensory reception, transduction, and clock functions subserving circadian systems. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(4): 456–466.
- Hardin PE, 2005. The circadian timekeeping system of *Drosophila*. *Current Biology*, 15(17): R714–R722.
- Hendricks JC, Finn SM, Panckeri KA, Chavkin J, Williams JA, Sehgal A, Pack AI, 2000. Rest in *Drosophila* is a sleep-like state. *Neuron*, 25(1): 129–138.
- Ishimoto H, Kitamoto T, 2010. The steroid molting hormone ecdysone regulates sleep in adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 185(1): 269–403.
- Ito C, Tomioka K, 2016. Heterogeneity of the peripheral circadian systems in *Drosophila melanogaster*: A review. *Frontiers in Physiology*, 7(8): 132–138.
- Ivanchenko M, Stanewsky R, Giebultowicz JM, 2001. Circadian photoreception in *Drosophila*: Functions of cryptochrome in peripheral and central clocks. *Journal of Biological Rhythms*, 16(3): 205–215.
- Kadener S, Stoleru D, McDonald M, Nawathean P, Rosbash M, 2007. Clockwork orange is a transcriptional repressor and a new *Drosophila* circadian pacemaker component. *Genes & Development*, 21(13): 1675–1686.
- Kannangara JR, Henstridge MA, Parsons LM, Kondo S, Mirth CK, Warr CG, 2020. A new role for neuropeptide f signaling in controlling developmental timing and body size in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 216(1): 135–144.
- Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R, 1993. A *c-elegans* mutant that lives twice as long as wild-type. *Nature*, 366(6454): 461–464.
- Ko CH, Takahashi JS, 2006. Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human Molecular Genetics*, 15(2): R271–R277.
- Koh K, Zheng X, Sehgal A, 2006. JETLAG resets the *Drosophila* circadian clock by promoting light-induced degradation of TIMELESS. *Science*, 312(5781): 1809–1812.
- Kondratov RV, Gorbacheva VY, Antoch MP, 2007. The role of mammalian circadian proteins in normal physiology and genotoxic stress responses. *Current Topics in Developmental Biology*, 78(2): 173–216.
- Konopka RJ, Benzer S, 1971. Clock mutants of *drosophila-melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(9): 2112–2116.
- Krishnan B, Levine JD, Lynch MKS, Dowse HB, Funes P, Hall JC, Hardin PE, Dryer SE, 2001. A new role for cryptochrome in a *Drosophila* circadian oscillator. *Nature*, 411(6835): 313–317.
- Kuintzle RC, Chow ES, Westby TN, Gvakharia BO, Giebultowicz JM, Hendrix DA, 2017. Circadian deep sequencing reveals stress-response genes that adopt robust rhythmic expression during aging. *Nature Communications*, 8(14529): 1–10.
- Kume K, Kume S, Park SK, Hirsh J, Jackson FR, 2005. Dopamine is

- a regulator of arousal in the fruit fly. *Journal of Neuroscience*, 25(32): 7377–7384.
- Lakin-Thomas PL, 2000. Circadian rhythms-new functions for old clock genes? *Trends in Genetics*, 16(3): 135–142.
- Lee CC, 2006. Tumor suppression by the mammalian period genes. *Cancer Causes & Control*, 17(4): 525–530.
- Li Q, Li Y, Wang X, Qi J, Jin X, Tong H, Zhou Z, Zhang ZC, Han J, 2017. Fbxl4 serves as a clock output molecule that regulates sleep through promotion of rhythmic degradation of the gaba(a) receptor. *Current Biology*, 27(23): 3616–3625.
- Lim C, Chung BY, Pitman JL, McGill JJ, Pradhan S, Lee J, Keegan KP, Choe J, Allada R, 2007. Clockwork orange encodes a transcriptional repressor important for circadian-clock amplitude in *Drosophila*. *Current Biology*, 17(12): 1082–1089.
- Liu S, Lamaze A, Liu Q, Tabuchi M, Yang Y, Fowler M, Bharadwaj R, Zhang J, Bedont J, Blackshaw S, Lloyd TE, Montell C, Sehgal A, Koh K, Wu MN, 2014. Wide awake mediates the circadian timing of sleep onset. *Neuron*, 82(1): 151–166.
- Liu S, Liu Q, Tabuchi M, Wu MN, 2016. Sleep drive is encoded by neural plastic changes in a dedicated circuit. *Cell*, 165(6): 1347–1360.
- Long DM, Giebultowicz JM, 2018. Age-related changes in the expression of the circadian clock protein PERIOD in *Drosophila* glial cells. *Frontiers in Physiology*, 8(1131): 1–10.
- Luo W, Chen WF, Yue Z, Chen D, Sowcik M, Sehgal A, Zheng X, 2012. Old flies have a robust central oscillator but weaker behavioral rhythms that can be improved by genetic and environmental manipulations. *Aging Cell*, 11(3): 428–438.
- Ly S, Pack AI, Naidoo N, 2018. The neurobiological basis of sleep: Insights from *Drosophila*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 87: 67–86.
- Martinek S, Inonog S, Manoukian AS, Young MW, 2001. A role for the segment polarity gene shaggy/GSK-3 in the *Drosophila* circadian clock. *Cell*, 105(6): 769–779.
- Matsumoto A, Ukai-Tadenuma M, Yamada RG, Houl J, Uno KD, Kasukawa T, Dauwalder B, Itoh TQ, Takahashi K, Ueda R, Hardin PE, Tanimura T, Ueda HR, 2007. A functional genomics strategy reveals clockwork orange as a transcriptional regulator in the *Drosophila* circadian clock. *Genes & Development*, 21(13): 1687–1700.
- Mazzocchi G, Laukkanen MO, Vinciguerra M, Colangelo T, Colantuoni V, 2016. A timeless link between circadian patterns and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 22(1): 68–81.
- Mendelson WB, Bergmann BM, 1999. Age-related changes in sleep in the rat. *Sleep*, 22(2): 145–150.
- Nakamura TJ, Nakamura W, Tokuda IT, Ishikawa T, Kudo T, Colwell CS, Block GD, 2015. Age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions. *eNeuro*, 2(4): 1–10.
- Parisky KM, Agosto J, Pulver SR, Shang Y, Kuklin E, Hodge JLL, Kang K, Liu X, Garrity PA, Rosbash M, Griffith LC, 2008. PDF cells are a gaba-responsive wake-promoting component of the *Drosophila* sleep circuit. *Neuron*, 60(4): 672–682.
- Potdar S, Sheeba V, 2018. Wakefulness is promoted during day time by PDFR signalling to dopaminergic neurons in *Drosophila melanogaster*. *Eneuro*, 5(4): 1–17.
- Price JL, Blau J, Rothenfluh A, Abodeely M, Kloss B, Young MW, 1998. Double-time is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell*, 94(1): 83–95.
- Rana A, Rera M, Walker DW, 2013. Parkin overexpression during aging reduces proteotoxicity, alters mitochondrial dynamics, and extends lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(21): 8638–8643.
- Reiter LT, Potocki L, Chien S, Gribskov M, Bier E, 2001. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome Research*, 11(6): 1114–1125.
- Rutila JE, Suri V, Le M, So WV, Rosbash M, Hall JC, 1998. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila* period and timeless. *Cell*, 93(5): 805–814.
- Sehgal A, Mignot E, 2011. Genetics of sleep and sleep disorders. *Cell*, 146(2): 194–207.
- Sehgal A, Price JL, Man B, Young MW, 1994. Loss of circadian behavioral rhythms and per rna oscillations in the *Drosophila* mutant timeless. *Science*, 263(5153): 1603–1606.
- Shaw PJ, Cirelli C, Greenspan RJ, Tononi G, 2000. Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5459): 1834–1837.
- Shaw PJ, Tononi G, Greenspan RJ, Robinson DF, 2002. Stress response genes protect against lethal effects of sleep deprivation in *Drosophila*. *Nature*, 417(6886): 287–291.
- Stanewsky R, Kaneko M, Emery P, Beretta B, Wager-Smith K, Kay SA, Rosbash M, Hall JC, 1998. The cry(b) mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell*, 95(5): 681–692.
- Stavropoulos N, Young MW, 2011. Insomniac and cullin-3 regulate sleep and wakefulness in *Drosophila*. *Neuron*, 72(6): 964–976.
- Toutou Y, Haus E, 2000. Alterations with aging of the endocrine and neuroendocrine circadian system in humans. *Chronobiology International*, 17(3): 369–390.
- Umezaki Y, Yoshii T, Kawaguchi T, Helfrich-Foerster C, Tomioka K, 2012. Pigment-dispersing factor is involved in age-dependent rhythm changes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological*

- Rhythms*, 27(6): 423–432.
- Vienne J, Spann R, Guo F, Rosbash M, 2016. Age-related reduction of recovery sleep and arousal threshold in *Drosophila*. *Sleep*, 39(8): 1613–1624.
- Wheeler DA, Hamblencoyle MJ, Dushay MS, Hall JC, 1993. Behavior in light dark cycles of *Drosophila* mutants that are arrhythmic, blind, or both. *Journal of Biological Rhythms*, 8(1): 67–94.
- White MC, Holman DM, Boehm JE, Peipins LA, Grossman M, Henley J, 2014. Age and cancer risk a potentially modifiable relationship. *American Journal of Preventive Medicine*, 46(3): S7–S15.
- Wu YH, Swaab DF, 2007. Disturbance and strategies for reactivation of the circadian rhythm system in aging and Alzheimer's disease. *Sleep Medicine*, 8(6): 623–636.
- Yokoi T, Nabe T, Ishizuka C, Hayashi Ki, Ito-Harashima S, Yagi T, Nakagawa Y, Miyagawa H, 2020. Transcription-inducing activity of natural and synthetic juvenile hormone agonists through the *Drosophila* methoprene-tolerant protein. *Pest Management Science*, 76(7): 2316–2323.
- Zepelin H, McDonald CS, Zammit GK, 1984. Effects of age on auditory awakening thresholds. *Journals of Gerontology*, 39(3): 294–300.
- Zhang ZH, Zhang R, 2012. Research progress on the longevity gene methuselah in *Drosophila*. *Acta Entomologica Sinica*, 55(12): 1394–1398.
- Zhao J, Warman GR, Cheeseman JF, 2018. Clock gene expression and locomotor activity predict death in the last days of life in *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, 8: 1–10.



花蟹蛛 *Xysticus triguttatus* Keyserling

蜘蛛是节肢动物门 Arthropoda 蛛形纲 Arachnida 蜘蛛目 Araneae 种的通称。《应用昆虫学报》不仅发表昆虫（节肢动物门的昆虫纲 Insecta）的各类研究成果，同时也从广义角度关注蜘蛛等相关研究成果的报道，同时很多蜘蛛是昆虫的天敌。本期封面照片为花蟹蛛 *Xysticus triguttatus* Keyserling（蟹蛛科 Thomisidae，李枢强鉴定物种名称，张润志拍摄照片），2020 年 7 月 27 日拍摄于江苏扬州，显示花蟹蛛正在取食一只被捕获的瓢虫。这种花蟹蛛的报道很少，在美国的佐治亚州有分布的报道。

（张润志，中国科学院动物研究所）