

综述

促食欲素及其受体系统与神经系统疾病

崔静^{1, #}, 赵维燕^{2, #}, 曹飞¹, 相倩¹, 高燕², 潘衍有³, 王琴琴^{3, *}

济宁医学院¹基础医学院; ²精神卫生学院; ³神经生物学研究所, 济宁 272067

摘要: 促食欲素(orexin)作为一种神经肽在神经系统内分布广泛。促食欲素通过与其受体1及受体2结合引起下游信号通路激活, 进而参与到摄食调节。近年来研究指出, 促食欲素及其受体系统也参与睡眠-觉醒、学习记忆等机体重要生理过程, 以及多种神经系统疾病的病理过程中。本文综述了促食欲素及其受体系统的生理及病理功能的最新研究进展, 并揭示其与神经系统疾病发生和发展的相关性, 为今后相关疾病的诊断和治疗提供理论基础。

关键词: 促食欲素; 促食欲素受体; 睡眠-觉醒; 进食行为; 记忆认知; 神经系统疾病

中图分类号: R338

Role of the system of orexin/receptors in neurological diseases

CUI Jing^{1, #}, ZHAO Wei-Yan^{2, #}, CAO Fei¹, XIANG Qian¹, GAO Yan², PAN Yan-You³, WANG Qin-Qin^{3, *}

¹College of Basic Medicine; ²School of Mental Health; ³Neurobiology Institute, Jining Medical University, Jining 272067, China

Abstract: The neuropeptide orexin is widely distributed in the nervous system. Previous studies showed that orexin is involved in the feeding behavior regulation by binding to its receptor 1 (OX1R) and receptor 2 (OX2R) to activate the downstream signaling pathway. Recent studies have demonstrated that the system of orexin and its receptors are also involved in important physiological processes such as sleep-wake, learning and memory, and pathological processes of various neurological diseases. In this review, we summarized the research progress on the function of the orexin and its receptor system in physiological and pathological processes, and revealed the correlation between orexin and nervous system diseases, in order to provide the theoretical guidance for the diagnosis and treatment of the related diseases in the future.

Key words: orexin; orexin receptors; sleep-wake; feeding; memory and cognition; neurological diseases

1 促食欲素(orexin)及其受体系统

促食欲素是由下丘脑外侧(lateral hypothalamus, LH)神经元表达的神经肽类激素^[1], 包括促食欲素A(orexin A, OA)和促食欲素B(orexin B, OB)^[2]。OA和OB均由下丘脑神经元合成, 由一种含130个氨基酸残基的前体肽(pre-pro-orexin, PPO)经蛋白水解酶在轴突运输过程中水解而成^[3]。在人类, PPO

基因位于染色体17q21-q24上, 其序列在人和动物(大鼠、小鼠、猪、牛等)间高度保守^[4-6]。研究显示, OA和OB氨基酸序列具有较高的相似性^[7]。其中, OA是一种含有N-焦谷氨酸残基和C-酰胺化、由33个氨基酸残基组成的多肽, 包含由4个半胱氨酸残基形成的两套链内二硫键, 其氨基酸序列在人、大鼠、小鼠、牛、猪等哺乳动物体内完全相同^[8, 9];

Received 2019-01-08 Accepted 2019-05-28

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of China (No. 201810443009), Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of Jining Medical University (No. cx2018005), A Project of Shandong Province Higher Educational Science and Technology Program (No. J18KA124), and Supporting Fund for Teachers' Research of Jining Medical University (No. JY2017KJ036, JY2017KJ034).

[#]These authors contributed equally to this review.

^{*}Corresponding author. E-mail: qqwang@mail.jnmc.edu.cn

OB 是一个 C-酰胺化的长为 28 个氨基酸残基的线性多肽^[10, 11], 人类的 OB 序列中仅有两个氨基酸不同于啮齿类^[8]。

大鼠脑内促食欲素能神经元主要分布在下丘脑, 特别是 LH、穹窿周区和下丘脑后区^[9]。形态学逆行和顺行示踪法发现, 促食欲素能神经元接受来自脑干和边缘系统的广泛核团的神经投射, 包括中缝背核 (dorsal raphe nucleus, DRN)、终纹床核、蓝斑 (locus coeruleus, LC)、杏仁核和内侧隔核等重要脑内核团。促食欲素能神经元在脑内投射也非常广泛, 包括皮质、丘脑、下丘脑、脑干和脊髓^[12]。此外, 小脑和海马也接受促食欲素能神经元的投射^[11, 13], 其中包括胆碱能和单胺能神经核团, 如 DRN、LC、背外侧大脑被盖核 / 脑桥背核和结节乳头核等^[11]。促食欲素通过刺激和调节 5-羟色胺能、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能、谷氨酸能、乙酰胆碱能及肾上腺素能信号系统参与摄食、睡眠-觉醒、能量代谢的调节及学习记忆过程^[14] (图 1)。

目前的研究显示, 促食欲素主要通过与其受体 (orexin receptors, OXR) 结合来发挥作用。OXR 为 7 次跨膜 G 蛋白耦联受体家族成员, 包括促食欲素受体 1 (orexin-1 receptor, OX1R) 和促食欲素受体 2 (orexin-2 receptor, OX2R) 两种亚型^[3]。OX1R 由 445 个氨基酸残基组成, OX2R 由 444 个氨基酸残基组成, 二者的氨基酸序列相似度为 68%, 明显高于其他 G 蛋白耦联受体^[14]。此外, 促食欲素通过与其受体结合, 引起下游钙离子及环磷酸腺苷水平的变化, 从而调控下游细胞外调节蛋白激酶 (extracellular

regulated protein kinases, ERK) 活性的改变, 进而参与到机体各项生理活动中^[15]。

OX1R 和 OX2R 在中枢神经系统中广泛表达。其中, OX1R 主要分布在海马、下丘脑前区、腹内侧核、DRN 及 LC 等区域; OX2R 主要分布在大脑皮质、下丘脑背内侧核、丘脑室周核、中缝核及顶盖前核等区域^[16]。两受体表达分布的差异性提示促食欲素与两种亚型的受体结合可产生不同的生理功能。进一步的研究显示, OX1R 和 OX2R 均可被 OA 和 OB 激活。其中, OX2R 是 OA、OB 的非特异性受体, 与两者的亲和力都较强, 而 OX1R 对 OA 有选择性, 其与 OA 的亲和力较强, 约为其与 OB 亲和力的 100~1 000 倍^[5]。

2 促食欲素及其受体的生理功能

促食欲素及其受体系统参与人体众多的生理过程的调节, 如睡眠-觉醒、进食行为、学习记忆、能量平衡、奖赏过程等, 下面就促食欲素及其受体系统在睡眠-觉醒、进食行为与胃肠功能、学习记忆与空间认知等方面的作用展开详细讨论。

2.1 睡眠-觉醒

促食欲素能神经元在促进觉醒过程中发挥重要作用, 而促食欲素信号通路的阻断会使睡眠-觉醒过程失调^[17]。研究表明, 促食欲素能神经元可激活结节乳头核组胺能神经元、基底前脑胆碱能神经元、腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA) 多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元和 LC 去甲肾上腺素能神经元等来调节睡眠-觉醒过程^[18]。

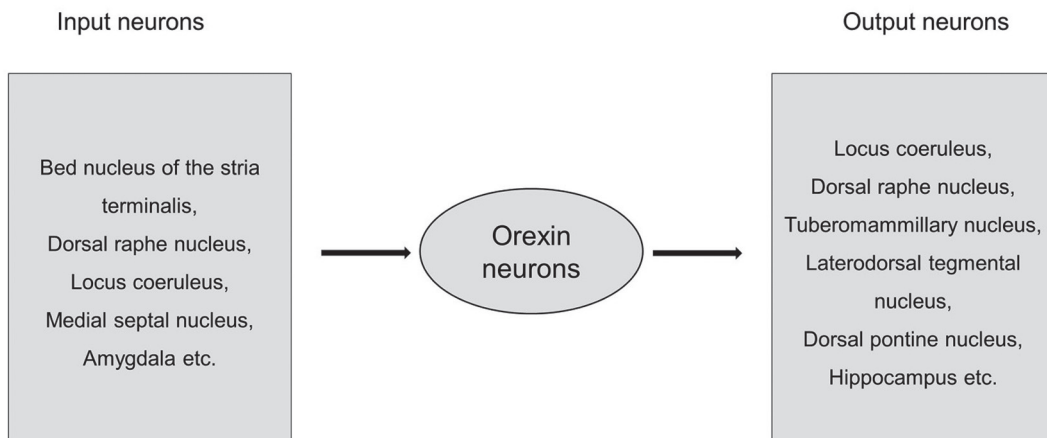


图 1. 促食欲素能神经元的输入与输出

Fig. 1. Neuronal network of orexin neurons in brain. Orexin neurons receive the input of some brain nuclei such as dorsal raphe nucleus and locus coeruleus. And some regions such as hippocampus and locus coeruleus also receive the input from the orexin neurons.

目前关于促食欲素系统与睡眠-觉醒的研究较为深入,但关于全身麻醉状态下的促食欲素的功能研究尚不深入。早期研究表明,激活促食欲素能神经元有助于动物从全身麻醉中恢复,并且接受促食欲素能神经元投射的5-羟色胺能神经元也参与睡眠-觉醒的调节。通过神经药理学、脑电图和免疫组化等技术证明促食欲素通过刺激DRN中的5-羟色胺能神经元来促进异氟醚麻醉的产生^[19]。体内记录显示,与安静的清醒状态相比,促食欲素激活在活跃的清静状态时较快,且促食欲素能神经元的激活水平在快速眼动(rapid eye movement, REM)睡眠和非快速眼动(non-rapid eye movement, NREM)睡眠时显著降低^[20]。进一步研究表明,相比于静息状态,急性睡眠剥夺显著增加了大鼠促食欲素能神经元的激活水平^[21]。此外,实验证实促食欲素能神经元的活性与小鼠的清静状态有因果关系,且直接影响丘脑室旁核(paraventricular thalamus, PVT)中控制清醒的神经元的活性^[20]。利用体内纤维光度法或多通道电生理记录进一步研究显示,PVT的谷氨酸能神经元在小鼠清醒时表现出高度的活跃状态。PVT神经元活动的抑制导致清醒状态的降低,而PVT神经元的激活诱导机体从睡眠到清醒的转变,并加速全身麻醉的苏醒。此外,研究者发现伏隔核(nucleus accumbens, NAc)投射和LH中的促食欲素能神经元对PVT谷氨酸能神经元的投射是清醒控制的效应通路。这些结果说明,PVT也是一个重要的觉醒控制区^[22]。

Ikeno和Yan利用原位杂交技术检测昼行性尼罗河食草大鼠和实验室夜行小鼠中OX1R与OX2R mRNA的表达水平。结果显示,OX1R与OX2R在大多数脑区表现出表达相似性,然而,在一些主要涉及睡眠-觉醒、情绪和认知调节的区域中发现了特定的物种表达,如,OX1R表达在昼行性尼罗河食草大鼠尾状核和腹侧结节乳头核中,而在夜行小鼠中,OX1R则在尾纹、内侧分裂、后内侧核中表达^[23]。上述结果表明,中枢促食欲素系统在睡眠-觉醒及昼夜节律调控中起着关键作用。进一步深入研究促食欲素及其受体系统的神经通路及其作用机制和受体拮抗剂及激动剂将有助于更好地了解和治疗促食欲素相关疾病。

2.2 进食行为与胃肠功能

早期实验证实,促食欲素参与了进食的短期调控,该过程受血糖下降信号的刺激,并受胃肠道饱

腹信号的抑制^[24]。饱腹信号可能通过抑制葡萄糖敏感神经细胞和促食欲素能神经元来帮助终止进食^[24]。现已证实,促食欲素能神经元属于葡萄糖敏感神经元^[25]。Sheng等研究显示,空腹和胃饥饿素都能增强低糖状态下的促食欲素能神经元的活化,而在葡萄糖浓度降低的过程中,瘦素则可间接减少LH中促食欲素-葡萄糖抑制神经元的激活。促食欲素能神经元的葡萄糖感应功能在代谢需求与食物获取所需的动机行为联系中发挥重要作用,此过程可能是通过改变中脑VTA内DA能神经元信号实现的。VTA中的DA能神经元是进食行为和药物成瘾的经典奖赏神经回路的重要组成部分^[26]。实验显示,降低葡萄糖浓度会增加VTA内DA能神经元上的谷氨酸能兴奋性突触后电位,并且这种作用可以被OX1R受体拮抗剂阻断。实验结果支持了促食欲素能神经元在低糖状态下的激活可能是通过改变VTA内DA能神经元的兴奋性增强食物驱动行为的假说,禁食状态下此强化过程更为显著^[26]。代谢状态通过这种方式调节LH中促食欲素-葡萄糖抑制神经元对葡萄糖的敏感性,从而在空腹或者体重降低的状态下,葡萄糖不足可增强VTA中DA能神经元的活化,这可能是节食后难以维持减肥的一大机制。此外,有研究显示,一定时间的禁食处理对大鼠的再进食行为无显著影响,若在恢复进食前给予大鼠VTA内注射OA,一段时间后可发现大鼠的进食行为显著增强,提示OA在一定程度上可增强进食行为^[27]。

据报道,促食欲素及其受体在大鼠肠神经系统、胃肠道、内分泌细胞和平滑肌内均有表达^[28],提示促食欲素及其受体在消化系统中的潜在作用。研究显示,中枢OA主要是通过迷走神经通路刺激胃酸的分泌,而其对十二指肠碳酸氢盐分泌的影响则主要是通过外周系统发挥作用,可能与迷走神经控制无关。上述报道表明,促食欲素通过中枢和外周途径影响胃肠功能,这与促食欲素及其受体在中枢神经系统和胃肠系统中的表达情况基本一致^[29]。另外也有研究证实了促食欲素对胃肠分泌功能和胃运动具有调控作用。Takahashi等研究显示,在大鼠脑室内注射OA使胃酸分泌量呈持续性显著增加态势,且胃酸分泌量与OA呈剂量依赖关系^[30]。Wang等研究显示,给予大鼠室旁核(paraventricular nucleus, PVN)注射OA能够显著增强胃运动及胃酸的分泌,并且这种效应在一定程度上随着OA的剂量增加而

增强,进一步的实验显示,OX1R受体的拮抗剂能够部分抑制OA引起的效应。上述结果说明,OA是通过OX1R介导胃运动的过程。此外,神经肽Y Y₁受体拮抗剂也能部分减弱OA引起的效应,提示Y₁受体也参与OA调控胃运动过程。上述实验表明OA及其受体介导的胃运动的复杂性^[31]。

因此,深入了解促食欲素及其受体系统调节食物摄入及影响胃肠功能的机制可能有助于发现新的治疗饮食和代谢失调及肥胖的方法。

2.3 学习记忆和空间认知

海马作为大脑边缘系统的重要组成部分,在学习记忆和认知等方面起着重要作用,根据不同区域的细胞形态和神经纤维的形成过程,将海马分为CA1、CA2、CA3及CA4区域^[32]。OA通过与OX1R结合显著增强海马CA1区的神经元放电频率^[32]。研究显示,促食欲素及其受体系统可直接调控海马锥体神经元的电活动,促进海马神经元的突触可塑性^[33]。此外,研究显示,加速衰老的小鼠成长至6个月后表现出显著的学习记忆缺陷现象,而给予4月龄和12月龄的小鼠OA注射后发现两个年龄组小鼠的学习记忆能力均显著增强^[34]。早期研究显示,辣椒素引起的牙髓炎性疼痛导致大鼠的学习记忆能力显著下降,实时定量PCR及蛋白印迹实验均显示辣椒素引起的疼痛显著下调海马区域OX1R的表达水平^[35]。进一步的水迷宫实验显示,海马区域定位注射OA能明显改善辣椒素引起的大鼠学习记忆能力损伤,而海马注射OX1R受体拮抗剂SB-334867对辣椒素引起的大鼠学习记忆损伤没有明显影响^[35](图2)。

Wayner等也报道了在麻醉大鼠的齿状回(dentate

gyrus, DG)局部注射OA可引起长时程增强(long-term potentiation, LTP)现象,有趣的是,OX1R拮抗剂能明显降低LTP的产生。给予大鼠DG内注射OX1R拮抗剂SB-334867能显著降低OA引起的LTP,进一步表明促食欲素及其受体系统促进海马神经元的突触可塑性^[36]。此外,海马内注射OX1R拮抗剂可损害回避反射、空间学习等多种记忆过程^[37](图2)。研究表明,OA可以影响近期恐惧记忆消退的记忆巩固和保留,表明促食欲素及其受体系统参与调节恐惧记忆过程^[38]。实验显示,OA能明显增强癫痫大鼠的学习记忆能力,并且能显著增强海马DG的新生神经元数量,说明OA可通过引起海马的神经再生来增强学习记忆过程(图2),而给予OX1R拮抗剂或ERK的抑制剂能显著降低OA引起的效应,说明OA增强癫痫大鼠的学习记忆能力和海马神经再生是通过结合OX1R引起下游ERK通路改变而实现的^[39](图2)。研究表明,在大鼠侧脑中注射OA能显著增强大鼠学习、巩固学习以及被动回避测试中的检索过程^[40]。此外,给予大鼠侧脑室注射OB,能显著改善其学习、记忆巩固和检索能力,提示OB也可改善记忆过程^[41]。上述研究一方面说明促食欲素及其受体系统在调节学习记忆方面的重要性,另一方面也说明促食欲素及其受体系统在调节学习记忆方面的复杂性。

Dang等研究发现促食欲素缺失的小鼠不能识别熟悉对象的空间变化,提示促食欲素系统在处理空间信息处理方面发挥重要作用^[42]。早期研究表明,CA1内给予促食欲素受体拮抗剂会显著影响水迷宫测试任务中空间记忆的获取、巩固和检索,进一步实验显示,DG内给予促食欲素受体拮抗剂可显著

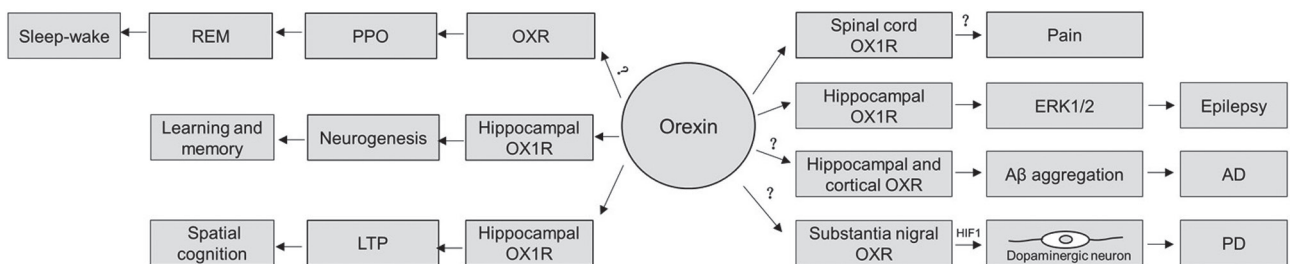


图 2. 促食欲素及其受体系统的生理及病理功能

Fig. 2. The physiological and pathological function of orexin and its receptors. Studies have demonstrated that the orexin and its receptors were involved in the physiological process such as sleep-wake, learning and memory, and cognition. Also, emerging evidence indicated that the orexin and its receptors were involved in the pathological processes of diseases including pain, epilepsy, AD and PD. Abbreviation: OXR: orexin receptors; OX1R: orexin-1 receptor; PPO: pre-pro-orexin; LTP: long-term potentiation; REM: rapid eye movement; ERK1/2: extracellular regulated protein kinases 1/2; A β : Amyloid- β ; AD: Alzheimer's disease; PD: Parkinson's disease.

影响大鼠在水迷宫测试中的空间记忆能力，但不影响其空间记忆的检索能力^[43]。目前的研究显示，海马和内侧前额叶皮层在空间工作记忆的编码和检索中发挥重要作用。这两个区域都能够直接接受促食欲素能神经元的投射，并且表达促食欲素受体^[42]。上述研究说明促食欲素及其受体系统在海马及内侧前额叶皮层调节认知过程中发挥重要作用。

3 促食欲素及其受体与神经系统疾病

3.1 睡眠异常

生理情况下，促食欲素在维持睡眠-觉醒中发挥重要作用，然而促食欲素表达水平过多或过少都会导致睡眠异常，进而促进多种疾病的发生和发展。

发作性睡病是一种以睡眠麻痹、睡眠过多、催眠性幻觉及清醒到眼球快速转动的异常转变为特征的睡眠异常现象^[44]。目前的研究显示，发作性睡病的发生和发展主要与下丘脑的异常有关。越来越多的证据表明促食欲素及其受体系统参与发作性睡病的发生和发展过程^[45]。促食欲素通过与其受体结合能抑制 REM 睡眠，进而防止出现发作性睡病特征，如觉醒期明显缩短、向 REM 睡眠转换频繁以及 REM 睡眠在睡眠-觉醒周期的异常分布等^[46]。进一步研究显示，敲除促食欲素基因的小鼠存在严重的嗜睡现象，且在活动期内不能长时间维持清醒状态^[47]。此外，在促食欲素能神经元受损的小鼠大脑内异位表达 PPO 基因后猝倒症状消失，REM 睡眠恢复正常^[46,47]，提示促食欲素系统可能通过调控 PPO 的表达进而调控 REM 睡眠过程(图 2)。嗜睡症患者存在慢性且严重的嗜睡现象，患者脑中除了脑脊液(cerebro-spinal fluid, CSF)中 OA 水平明显减少外，约有 90% 的促食欲素能神经元受损^[48]，而相邻的神经元正常^[47]。原位杂交实验结果显示，与对照组相比，发作性睡病患者的海马区域没有明显的促食欲素信号。进一步的实验显示，发作性睡病患者的皮层和脑桥中的促食欲素浓度显著降低，提示发作性睡病患者中枢神经系统的促食欲素表达水平显著下降^[49]。

研究表明，严重的嗜睡症患者可能会出现猝倒症状。早先有研究者通过建立缺乏促食欲素的小鼠模型，观察到一种睡眠失调综合征，与人类和犬类嗜睡症非常相似。进一步研究显示，缺促食欲素小鼠正常安静的白天未表现出任何明显异常。通过红外摄像评估小鼠夜间的行为发现，缺促食欲素小鼠

在黑暗期经常出现明显的行为停滞^[50]。Zhang 等人作为研究促食欲素和运动调节的关系，从分子、细胞和行为水平上研究了促食欲素对运动系统的影响及其机制，结果显示，促食欲素通过激活 OX1R 或 OX2R，以及激活 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 交换器和封闭内向整流 K^+ 通道的双离子机制来激活前庭外侧核(lateral vestibular nucleus, LVN)神经元，促进前庭神经介导的运动行为，表明促食欲素可能通过调控躯体运动行为介导嗜睡-昏厥的发生^[51]。OX1R 基因敲除对小鼠的睡眠没有显著影响^[52]，而 OX2R 基因缺失的小鼠呈现适度的睡意但并不引起猝倒症状^[52,53]。提示相对于 OX1R，OX2R 更主要地介导了发作性睡眠的发生过程。OX1R 和 OX2R 基因双敲除的小鼠一方面呈现与促食欲素缺失引起的相似的睡意，另一方面呈现出猝倒的症状^[52,54]，说明 OX1R 参与到 OX2R 引发的发作性睡病的发生过程中。进一步的研究显示，侧脑室注射 OX2R 受体拮抗剂 TCS-OX2-29 能显著增强大鼠的 REM 睡眠，降低大鼠的觉醒状态的稳定，而对慢波睡眠没有显著影响^[55]。

综上所述，促食欲素及其受体系统的功能异常是睡眠异常症状的重要调控机制(图 2)。

3.2 抑郁、焦虑和应激

睡眠-觉醒周期的异常如缩短 REM 睡眠的潜伏期、增加 REM 睡眠的持续时间和 REM 睡眠期快速眼动的频率等是抑郁症患者的重要表征^[56]。促食欲素及其受体系统在睡眠-觉醒过程中发挥重要作用^[49,54]，因此越来越多的研究集中探讨促食欲素及其受体系统在抑郁中的作用^[57-62]。2003 年，Salomon 等通过连续收集健康受试者和抑郁症患者 CSF 进而检测 OA 的含量，结果显示，与健康受试者相比，抑郁症患者 CSF 中促食欲素平均含量有上升趋势，说明促食欲素及其受体系统在抑郁症中具有潜在作用^[58]。2007 年，Brundin 等检测了有自杀倾向的重度抑郁症患者、适应性障碍患者及恶劣心境障碍患者 CSF 中的 OA 含量，发现与适应性障碍患者或恶劣心境障碍患者相比，有自杀倾向的重度抑郁症患者 CSF 中的 OA 水平显著降低，但由于正常个体的促食欲素水平范围很大且缺乏对照组，实验无法证明有自杀倾向的抑郁症患者和健康人群的促食欲素水平是否存在差异^[59]。此外，研究表明，OX1R 敲除能够显著降低大鼠的抑郁行为，而 OX2R 敲除则明显增强大鼠的抑郁行为，表明 OX1R 和 OX2R 在抑郁的发生和发展中可能产生拮抗作

用^[60]。近来的一项研究采用行为学实验如强迫游泳及糖水偏好实验发现,利用抑制剂或病毒定位注射的方法降低腹侧苍白球的OX1R或者OX2R的表达水平能导致大鼠抑郁症状的出现^[61]。进一步的形态学、免疫组化及电生理的实验结果显示,下丘脑促食欲素能直接激活腹侧苍白球的GABA能神经元,进而抑制大鼠的抑郁表征^[61]。Grafe等利用免疫染色的方法发现束缚应激显著增加大鼠脑内促食欲素能神经元的激活程度及CSF中OA的含量^[62]。上述研究一方面显示,促食欲素及其受体系统在抑郁中的潜在作用,另一方面表明OX1R与OX2R在抑郁发病过程中发挥作用的特异性。

研究显示,社交失败激活促食欲素能神经元并且产生被动的应对表型^[63]。此外,抑郁症和恐慌症患者的CSF中促食欲素的水平已经发生变化,如,带有自杀倾向的抑郁症患者的CSF中OA含量显著降低^[63],而恐慌症患者CSF中OXR的含量显著增高^[64],表明促食欲素参与抑郁症、恐慌症等疾病的发生和发展。OA水平的不一致变化提示促食欲素及其受体系统在不同精神障碍疾病中发挥不同作用。在社交失败的情况下,反复应激刺激引起促食欲素能神经元持续激活,导致随后的社交互动活动显著降低,进而出现被动的应对策略;而在没有社交失败的情况下,促食欲素作用对后续的焦虑行为和记忆表现影响不大,提示促食欲素只在压力增加时促进焦虑、抑郁等被动应对社交失败的行为^[63]。降低体内促食欲素的含量可以促进对社交失败的适应能力,并可能成为治疗压力相关疾病的重要靶点^[65]。Grafe等利用原位放射性标定法和qPCR法发现,积极应对(以战斗或逃跑反应为特征)社会挫败的大鼠与消极应对(以高度静止为特征)的大鼠相比,LH中的PPO mRNA水平显著降低,且这种低促食欲素水平表达的表型是稳定的。此外,表现消极应对策略的大鼠呈现出更为明显的焦虑和抑郁样行为^[65]。因此,降低促食欲素的表达有助于产生增加互动时间等积极行为,以应对反复的社会挫败压力,然而,在非应激条件下,抑制促食欲素会增加抑郁的行为^[65]。

Sakata等通过插入外源基因的方法制备脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达缺失的突变小鼠模型,行为学实验结果表明,突变小鼠表现出类似抑郁的行为,提示BDNF具有抗抑郁的作用^[66]。此外,Yamada等将OA和OB

加入到皮质神经元的培养基中,结果显示OB显著增加神经元内BDNF mRNA表达水平^[67],提示OB有可能通过上调BDNF的表达水平进而发挥抗抑郁的作用。综上,促食欲素可作为一种生物标志物预测抗压能力,从而有助于降低抑郁症的发病率^[66]。

此外,创伤后应激障碍作为一种较为严重的心理精神疾病,需要深入研究其中的生物学机制以寻求治疗方法。恐惧回避、警觉性增高是创伤后应激障碍的主要表现^[68]。据报道,情绪显著性信息可激活LH中的促食欲素能神经元,进而增加交感神经的激活及机体的警觉性水平^[69]。投射到外侧杏仁核(lateral amygdala, LA)的蓝斑去甲肾上腺素能(locus coeruleus-noradrenergic, NA^{LC})神经元接受来自促食欲素能神经元的突触输入,Soya等利用药物遗传/光遗传沉默及阻断OX1R等方法可减少条件性恐惧反应,且研究证实促食欲素能神经元与NA^{LC-LA}神经元有直接突触接触,提示NA^{LC-LA}通路在此过程中发挥重要作用,且增强促食欲素^{LH}至NA^{LC}通路可增强僵住行为^[69]。此外,促食欲素能神经元对使用不同突触后受体和信号复合物的目标具有广泛的投射,因此在调节恐惧反应的其他方面如僵住行为、心血管功能和应激反应等具有调节作用。这些结果表明,促食欲素^{LH-LC}NA^{LC-LA}回路参与恐惧相关的情绪相关行为的调节,且回路的不适当性兴奋可能导致恐惧泛化^[69]。

此外,研究显示,在精神障碍疾病如抑郁症中,女性患者是男性患者的近两倍^[70]。Grafe等利用原位杂交实验发现,雌性大鼠体内PPO mRNA的表达水平显著高于雄性大鼠,cFos和OA的共标免疫染色结果显示雌性大鼠促食欲素能神经元的激活明显高于雄性大鼠。进一步的研究显示,相对于雄性大鼠,雌性大鼠对重复束缚刺激的适应性显著降低^[70]。这提示促食欲素及其受体系统很可能参与调控抑郁等相关精神障碍中的性别差异。综上所述,促食欲素及其受体系统参与抑郁症病理过程,然而其具体的分子机制及作用没有得到完全阐释,因此更好地了解促食欲素及其受体系统在抑郁症等相关精神障碍病理过程的作用可以为临床上治疗这些相关疾病提供更为准确的靶点。

3.3 疼痛

随着研究的不断深入,有更多的研究证据支持促食欲素在痛觉的调节过程中发挥着重要作用^[71-78]。在解剖学基础上,有研究证实,促食欲素能神经元

在痛觉调节的各水平均有广泛投射，包括延髓头端腹内侧网状结构、脊髓背角与背根神经节、中脑导水管周围灰质均有促食欲素能纤维的直接投射，提示促食欲素具有参与痛觉调节的可能性^[71]。此外，从下丘脑到脊髓第一层的强有力的投射是一个与痛觉传递相关的区域^[72]。在脊髓水平，促食欲素受体的存在提示了促食欲素在脊髓水平疼痛调节中的潜在作用。研究证实，OX1R、OX2R参与兴奋性突触传递的长期抑制过程，并且降低突触效能。OA通过OX1R增加背根神经节和脊髓背角神经元的钙内流，从而参与痛觉调节。OXR在长期抑制兴奋性突触的传递过程中的作用提示，促食欲素可能通过降低中枢敏化作用来调节痛觉^[73]。早先研究表明，脑内不同位点和核团给予OA可以产生镇痛作用^[74]。研究者早期实验发现，在持续性疼痛模型中，脊髓OX1R参与大鼠炎症性疼痛的调节，且阻断受体可以逆转化学刺激LH的镇痛作用，但不能逆转促食欲素强化剂释放的镇痛作用。关于OX2R对脊髓水平上的疼痛调节很少，为验证OX2R在脊髓水平上调节炎症性疼痛的作用，研究者采用福尔马林实验，结果表明，阻断脊髓OX2R可以减少LH刺激引起的镇痛，并且在不刺激LH的情况下，OX2R受体拮抗剂对疼痛相关行为无任何的显著影响，这说明在无LH刺激的情况下，脊髓水平的促食欲素受体不能发挥重要的作用^[74]。这些发现为我们提供了一个治疗疼痛的可能潜在靶点^[74]。上述研究进一步说明促食欲素及其受体系统在痛觉调控过程中的复杂性(图2)。

在中脑水平，正中神经刺激(median nerve stimulation, MNS)通过促食欲素启动的内源性大麻素的去抑制作用诱导镇痛。研究已证实，OX1R介导的中脑导水管周围灰质腹外侧区(ventrolateral periaqueductal gray, vIPAG)中2-花生酰基甘油(2-arachidonoylglycerol, 2-AG)信号通路介导了阿片类镇痛机制^[75]。低频MNS信号通过电刺激内关穴(Neiguan, PC6)可产生抗伤害作用。通过电刺激小鼠PC6建立MNS动物模型，行为学实验和免疫实验等结果表明，PC6靶向低频MNS激活下丘脑促食欲素能神经元，释放促食欲素，通过由OX1R启动的2-AG逆行去抑制vIPAG介导的大麻素受体依赖性级联效应，进而诱导镇痛^[75]，这提示MNS-PC6诱导镇痛的过程与阿片类药物无关的特点可能为阿片类药物耐受患者提供新的疼痛治疗靶点。最

新的研究报告指出，中脑边缘奖赏系统也参与疼痛的调节。中脑边缘奖赏系统在慢性疼痛发生过程中起重要作用，特别是VTA-DA能神经元的激活可能参与改善和预防慢性疼痛的发生。特异性抑制VTA-DA能神经元能显著降低神经性疼痛小鼠由运动诱导的痛觉迟钝(exercise-induced hypoalgesia, EIH)效应。据报道，VTA-DA能神经元接受来自背外侧被盖核(laterodorsal tegmental nucleus, LDT)中胆碱能和谷氨酸能神经元以及LH的促食欲素能神经元的兴奋性输入^[76]。因此，研究者通过小鼠实验证实运动可激活投射到VTA中的LDT和LH神经元，增强DA的释放，进一步激活中脑边缘奖赏系统，从而引起EIH效应，因而使机体产生积极情绪，且痛觉的减弱进一步增强了运动能力，因此可进一步增强EIH效应^[76]，提示运动及奖赏系统可能是一种治疗疼痛的潜在机制。

应激性镇痛(stress-induced analgesia, SIA)在神经系统对威胁的适应中起着重要作用，是防御反应行为中“战斗或逃跑”准备阶段的重要组成部分^[77]。有动物研究表明，内源性促食欲素可能在炎症疼痛状态或某些应激条件下释放，这可能与SIA有关^[78]。Gerashchenko等研究者提出，促食欲素和痛敏肽/孤啡肽FQ(N/OFQ)系统协同调节SIA小鼠模型中的痛觉感受，但是N/OFQ对SIA调节的作用位点暂不明确。因此，研究者通过免疫组化实验，观察到含有N/OFQ的神经元定位于LH和背侧促食欲素的核心分布部位，但未与促食欲素能神经元共定位，提示N/OFQ和促食欲素能神经元连接有形成局部回路的可能性。采用足热痛实验测量SIA程度，Fos免疫组化法检测促食欲素能神经元活性，下丘脑外侧穹窿区局部微注射N/OFQ可抑制促食欲素能神经元中Fos的表达水平，并且清除了SIA，证明了N/OFQ在LH可以通过直接与促食欲素能神经元相互作用来调节SIA，特别是穹窿内侧区^[77]。

综上，尽管目前关于促食欲素系统与痛觉调节的具体分子机制尚不清楚，但其在痛觉传导与调控中发挥的作用不可忽视。深入研究其中的作用机制及信号转导途径，不断揭示促食欲素系统在痛觉调节中的作用将有助于加深我们对疼痛机制和镇痛概念的理解，进而为临床治疗和新药物的研发提供更准确的靶点。

3.4 癫痫

癫痫是由大脑神经元异常放电导致的中枢神经

系统功能失常的脑部疾病, 具有突然发生、反复发作的特点^[79], 可导致认知功能障碍^[80]。研究显示, 海马的癫痫活动主要由与 DG 异常神经元增殖和迁移相关的 CA3 区域的神经元破裂引起^[81, 82]。近年来越来越多的实验证据支持促食欲素及其受体系统在癫痫发作过程中的作用^[79, 83-86]。

Erken 等在大鼠大脑皮层内分别给予 OA 和 OB 成功制备癫痫大鼠模型, 并且首次记录到促食欲素诱导癫痫发作的脑电图, 而且促食欲素可明显增加癫痫脑电图的功率谱, 由此得出促食欲素诱导癫痫发作的结论^[83]。研究显示, 全面性癫痫发作后, 患者的 CSF 中 OA 水平显著降低, 且复发性全面癫痫患者 CSF 中的 OA 水平下降更为显著^[84]。此外, Ni 等研究证实, 睡眠剥夺能增加大鼠 CSF 中 OA 的表达水平, 给予受体抑制剂 SB-334867 或 TCS-OX2-29 治疗可显著延长戊四氮所致睡眠剥夺大鼠的癫痫发作潜伏期并缩短发作时间, 同时降低了死亡率, 说明促食欲素诱导癫痫发作, 且 OA 与癫痫发作密切相关^[85], 提示 CSF 中 OA 浓度可作为癫痫的重要标志物。癫痫患者常伴有不同程度的认知障碍, 可能与癫痫发作引起的血清 OA 浓度降低有关。此外, 癫痫常引起大鼠学习记忆能力显著下降。研究显示, 相较于对照组, 癫痫大鼠 CSF 中 OA 的水平显著下降, 提示 OA 可能参与癫痫发生过程中的学习记忆的调控过程^[39], 但癫痫引起认知障碍的机制复杂, 目前关于 OA 如何引起癫痫患者的认知障碍仍有待深入研究 (图 2)。

谷氨酸和 GABA 分别是主要的兴奋性和抑制性神经递质^[86]。癫痫的发生被认为是中枢内 GABA 抑制作用减弱或缺乏导致的^[79]。有实验证实, 促食欲素增强 GABA 电流^[79]。早先研究表明, 海马 CA3 区 OX2R 浓度较高, 提示海马 OXR 的表达可能是促食欲素促癫痫作用的核心^[86]。Goudarzi 等为了研究海马 OXR 与癫痫的关系, 在大鼠海马内同时注射 OX1R 和 OX2R 受体抑制剂后静脉注射戊四氮, 结果显示, 戊四氮诱导的大鼠的癫痫行为显著减少, 且海马谷氨酸含量显著降低、GABA 含量显著升高^[86]。进一步研究两种受体抑制剂的单独效应, 结果显示, 不同剂量的 OX1R 和 OX2R 受体抑制剂对谷氨酸和 GABA 的含量有不同的效应, 表明谷氨酸和 GABA 的含量有剂量依赖性^[86]。

因此, 深入研究促食欲素系统在癫痫发生过程中生物学机制将有助于加深我们对癫痫发生机制的

理解及寻找疾病治疗靶点。

3.5 阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)

研究表明, 促食欲素与 AD 的病理过程密切相关。睡眠稳态是海马依赖性记忆形成和巩固的关键, 而睡眠稳态的破坏会加剧 AD 病情^[87]。

利用酶联免疫试剂盒检测有睡眠障碍的轻度认知障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 患者和无睡眠障碍的 MCI 患者 CSF 中促食欲素的水平, 结果显示, 有主观睡眠问题的 MCI 患者的 CSF 中促食欲素的含量更高。进一步实验发现, 与对照组相比, MCI 患者的 REM 睡眠显著降低, 且通过多重回归分析发现, MCI 患者的 REM 睡眠降低程度与 CSF 中促食欲素水平呈负相关, 表明 AD 引起的 MCI 患者的 REM 睡眠中断和睡眠破碎化与 CSF 中促食欲素水平升高有关, 提示促食欲素系统失调可能会导致 MCI 患者伴有睡眠障碍, 进而促进 AD 的发生, 表明促食欲素系统参与 AD 病理过程^[87] (图 2)。然而, 关于 AD 患者 CSF 中 OA 水平的研究仍有不同的结果, 如在死后尸检分析中, AD 患者下丘脑中促食欲素能神经元阳性数量和 CSF 中促食欲素的浓度较对照组减少; 但另有实验结果表明, CSF 中 OA 水平具有性别依赖性, 女性高于男性, 而 AD 和对照组间无明显差异; 也有实验结果显示 AD 患者 CSF 中的 OA 水平高于对照组, 这些不一致的结果可能与睡眠恶化和神经退行性病变有关^[88]。

AD 的主要病理特征是 β -淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 沉积斑块和神经元纤维缠结的形成^[89]。Kang 等通过微透析技术, 发现小鼠脑组织间液中 A β 的水平与觉醒有关, 急性睡眠剥夺和注射促食欲素后, 脑组织间液中的 A β 含量也显著增加, 给予促食欲素双受体拮抗剂 *almorexant* 后, 小鼠脑组织间液中的 A β 含量减少^[90]。通过转基因技术制备过表达淀粉样前体蛋白的小鼠模型, 并且敲除促食欲素基因, 结果显示此模型可显著降低小鼠海马和皮质中的 A β 沉积。这些结果表明促食欲素在 AD 的发生和发展过程中有重要作用^[91] (图 2)。此外, 进一步的研究表明, 小鼠脑组织间液中的 A β 含量变化与睡眠-觉醒周期有关, 而与光照或黑暗照射无关^[90]。睡眠障碍除了在神经退行性疾病中表现突出外, 还可能加重神经退行性病变的基本发展过程, 因此, 优化睡眠时间可能会抑制毒性蛋白的聚集, 进而延缓 AD 的进展。Davies 等利用体外细胞模型发现, 随着分化程度的增加, SH-SY5Y 细胞内 OX1R 和

OX2R 在神经元生长分化过程中具有重要作用, 进一步的实验发现, A β 处理能下调 SH-SY5Y 细胞内 OX1R 和 OX2R 的表达水平^[92]。

因此, 更好地了解促食欲素及其受体系统在 AD 发生过程中的分子机制能够为 AD 的预防和治疗提供新的理论基础。

3.6 帕金森病(Parkinson's disease, PD)

PD 是世界第二大神经退行性疾病^[93], 其重要病理特征是中脑黑质 DA 能神经元的减少及脑内路易小体的形成, 路易小体中含有突触核蛋白^[94, 95]。然而迄今尚不清楚 DA 能神经元退行性病变的分子机制^[96]。

Feng 等采用神经毒素 1-甲基-4-苯基吡啶 (1-methyl-4-phenylpyridium, MPP⁺) 诱导的 DA 能神经元细胞系 SH-SY5Y 细胞为体外 PD 模型, 给予细胞 OA 处理, 发现 OA 能够显著上调 SH-SY5Y 细胞内低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 的表达水平, 进而减轻由 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞的死亡及突触核蛋白聚集体的形成, 即 OA 通过诱导 HIF-1 α 来保护 MPP⁺ 诱导的神经损伤^[95]。Pasbanaliabadi 等采用 6-羟基多巴胺诱导的 SH-SY5Y 细胞为体外 PD 模型, 同样发现 OA 能显著降低细胞的神经损伤程度^[97]。此外, 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 也是一种强有力的神经毒素。Liu 等采用 MPTP 诱导的小鼠 PD 模型, 给予 OA 注射, 通过免疫荧光、免疫组化、蛋白印迹等实验表明 OA 可以减少黑质 DA 能神经元的丢失, 降低酪氨酸羟化酶的表达水平, 使纹状体 DA 能纤维正常化, 防止 DA 及其代谢物在纹状体中的损耗, 且这种保护作用可被 OX1R 特异性受体拮抗剂 SB-334867 抑制。进一步实验表明, OX1R 介导的 PI3K 和 PKC 通路参与促食欲素诱导的 BDNF 表达过程^[98] (图 2)。

此外, Guerreiro 等发现原代培养的中脑 DA 能神经元表达 OX1R 和 OX2R。在培养基中加入 OB 能促进原代培养的中脑 DA 能神经元的存活及对 [³H]DA 的摄取作用^[99]。在培养基中加入 OX1R 特异性抑制剂 SB-408124 对 DA 能神经元的数量没有显著影响, 而给予两受体的抑制剂 TCS1102 或 OX2R 特异性抑制剂 EMPA 则能显著降低 OB 引起的效应^[99]。上述结果表明, OB 促进 DA 能神经元存活是由 OX2R 介导的。进一步的研究显示, 阻断内质

网的 1,4,5-三磷酸肌醇 (inositol-1,4,5-triphosphate, IP₃) 受体能够抑制 OB 的神经保护作用^[99]。前人的研究显示, G 蛋白耦联受体 OX2R 与 Gq 结合引起下游 IP₃ 通路的激活^[100, 101]。上述研究说明, OB 通过激活 OX2R 进而激活 IP₃ 通路, 从而促进 DA 能神经元的存活^[99]。

综上, 促食欲素通过与其受体相互作用引起 DA 能神经元内下游通路的改变, 从而参与到 PD 的发生和发展过程中。

4 总结与展望

促食欲素及其受体自被发现以来的 20 年间, 因其与多种生理过程和疾病发生和发展密切相关, 一直备受关注和研究。现在有更多的实验证实促食欲素及其受体参与到多种疾病的发生和发展中, 如嗜睡症、抑郁症、癫痫、PD、AD 等, 且目前的研究提示, 促食欲素通过结合其受体引起下游信号通路的改变进而参与到各种神经系统疾病中。随着研究的不断深入, 促食欲素及其受体在某些疾病中的表达水平的改变有望作为疾病的生物标记物。然而关于该系统的研究不足之处也日渐明显, 例如 OA/OB 及 OX1R/OX2R 在不同神经系统中功能的特异性, 外周组织中的促食欲素的来源及其在各种疾病中的具体分子机制尚不明确。此外, 不同脑区的促食欲素及其受体在各种神经系统疾病中的功能尚未得到完全阐释。因此, 进一步地深入研究促食欲素及其受体在各种疾病中的特异性作用机制是接下来研究的重要方向和目标, 为以促食欲素及其受体为靶点的治疗方法提供更为全面的理论基础。

参考文献

- 1 Xu TR, Yang Y, Ward R, Gao L, Liu Y. Orexin receptors: Multi-functional therapeutic targets for sleeping disorders, eating disorders, drug addiction, cancers and other physiological disorders. *Cell Signal* 2013; 25(12): 2413–2423.
- 2 Zhang R (张蓉), Su WT, An N, Liu J, Teng QF, Li XM, Bai FH, Hu SJ. The mechanism of apoptosis of colon cancer cells induced by orexin. *J Mod Oncol (现代肿瘤医学)* 2017; 25(21): 3537–3540 (in Chinese with English abstract).
- 3 Yang M (杨妙), Deng K. Research progress of orexin receptor antagonists. *Tianjin Pharm (天津药学)* 2017; 29: 69–73 (in Chinese with English abstract).
- 4 Mochizuki T, Arrigoni E, Marcus JN, Clark EL, Yamamoto M, Honer M, Borroni E, Lowell BB, Elmquist JK, Scam-

- mell TE. Orexin receptor 2 expression in the posterior hypothalamus rescues sleepiness in narcoleptic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(11): 4471–4476.
- 5 Liu ZB (刘自兵), Shen LL. The role of orexin neurons in the hypothalamus in regulating respiratory activity. *Prog Physiol Sci (生理科学进展)* 2010; 41(3): 201–204 (in Chinese).
- 6 Messina A, De Fusco C, Monda V, Esposito M, Moscatelli F, Valenzano A, Carotenuto M, Viggiano E, Chieffi S, De Luca V, Cibelli G, Monda M, Messina G. Role of the orexin system on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Front Neural Circuits* 2016; 10: 66.
- 7 Alvarez CE, Sutcliffe JG. Hypocretin is an early member of the incretin gene family. *Neurosci Lett* 2002; 324(3): 169–172.
- 8 Wu HY (伍鸿鹰), Tang CF, He H. Orexin, orexin receptor and sports. *J Clin Rehabil Tis Eng Res (中国组织工程研究)* 2007; 11(39): 7966–7969 (in Chinese with English abstract).
- 9 Sakurai T, Mieda M. Connectomics of orexin-producing neurons: Interface of systems of emotion, energy homeostasis and arousal. *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32(8): 451–462.
- 10 Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron* 2001; 30(2): 345–354.
- 11 Du XN (杜肖南), Zhang TY, Dong HL. Regulation of orexin in learning and memory. *Int J Anesth Resus (国际麻醉学与复苏杂志)* 2016; 37(3): 284–288 (in Chinese with English abstract).
- 12 Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol* 2001; 435(1): 6–25.
- 13 Yu L, Zhang XY, Zhang J, Zhu JN, Wang JJ. Orexins excite neurons of the rat cerebellar nucleus interpositus via orexin 2 receptors *in vitro*. *Cerebellum* 2010; 9(1): 88–95.
- 14 Yang WX (杨位霞), Zhao J, Shi FJ, Kan L, Yang WF. The role of Orexin in pathogenesis of epilepsy and treatment of epilepsy. *Chin J Behav Med Brain Sci (中华行为医学与脑科学杂志)* 2015; 24(7): 669–671 (in Chinese with English abstract).
- 15 Guo Y, Feng P. OX2R activation induces PKC-mediated ERK and CREB phosphorylation. *Exp Cell Res* 2012; 318(16): 2004–2013.
- 16 Chi H (池恒), Huang WW. Orexin system and learning memory. *J Int Neurol Neurosurg (国际神经病学神经外科学杂志)* 2016; 43(1): 69–72 (in Chinese).
- 17 Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC, Richardson JA, Kozlowski GP, Wilson S, Arch JR, Buckingham RE, Haynes AC, Carr SA, Annan RS, McNulty DE, Liu WS, Terrett JA, Elshourbagy NA, Bergsma DJ, Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92(4): 573–585.
- 18 Zhou W, Cheung K, Kyu S, Wang L, Guan Z, Kurien PA, Bickler PE, Jan LY. Activation of orexin system facilitates anesthesia emergence and pain control. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115(45): E10740–E10747.
- 19 Yang C, Zhang L, Hao H, Ran M, Li J, Dong H. Serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus mediate the arousal-promoting effect of orexin during isoflurane anesthesia in male rats. *Neuropeptides* 2019; 75: 25–33.
- 20 Beuckmann CT, Ueno T, Nakagawa M, Suzuki M, Akasofu S. Preclinical *in vivo* characterization of lemborexant (E2006), a novel dual orexin receptor antagonist for sleep/wake regulation. *Sleep* 2019; pii: zsz076. doi: 10.1093/sleep/zsz076.
- 21 Briggs C, Bowes SC, Semba K, Hirasawa M. Sleep deprivation-induced pre- and postsynaptic modulation of orexin neurons. *Neuropharmacology* 2018; pii: S0028-3908(18)30914-6. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.12.025.
- 22 Ren SC, Wang YL, Yue FG, Cheng XF, Dang RZ, Qiao QC, Sun XQ, Li X, Jiang Q, Yao JW, Qin H, Wang GZ, Liao X, Gao D, Xia JX, Zhang J, Hu B, Yan JN, Wang YJ, Xu M, Han YY, Tang XD, Chen XW, He C, Hu ZA. The paraventricular thalamus is a critical thalamic area for wakefulness. *Science* 2018; 362(6413): 429–434.
- 23 Ikeno T, Yan L. A comparison of the orexin receptor distribution in the brain between diurnal Nile grass rats (*Arvicanthis niloticus*) and nocturnal mice (*Mus musculus*). *Brain Res* 2018; 1690: 89–95.
- 24 Cai XJ, Liu XH, Evans M, Clapham, JC, Wilson S, Arch JRS, Morris R, Williams G. Orexins and feeding: special occasions or everyday occurrence? *Regul Pept* 2002; 104(1–3): 1–9.
- 25 Ferrario CR, Labouèbe G, Liu S, Nieh EH, Routh VH, Xu S, O'Connor EC. Homeostasis meets motivation in the battle to control food intake. *J Neurosci* 2016; 36(45): 11469–11481.
- 26 Sheng Z, Santiago AM, Thomas MP, Routh VH. Metabolic regulation of lateral hypothalamic glucose-inhibited orexin neurons may influence midbrain reward neurocircuitry. *Mol Cell Neurosci* 2014; 62: 30–41.
- 27 Terrill SJ, Hyde KM, Kay KE, Greene HE, Maske CB, Knierim AE, Davis JF, Williams DL. Ventral tegmental

- area orexin 1 receptors promote palatable food intake and oppose post-ingestive negative feedback. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2016; 311(3): R592–R595.
- 28 Näslund E, Ehrström M, Ma J, Hellström PM, Kirchgessner AL. Localization and effects of orexin on fasting motility, in the rat duodenum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282(3): G470–G479.
- 29 Baccari MC. Orexins and gastrointestinal functions. *Curr Protein Pept Sci* 2010; 11(2): 148–155.
- 30 Takahashi N, Okumura T, Yamada H, Kohgo Y. Stimulation of gastric acid secretion by centrally administered orexin-A in conscious rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254(3): 623–627.
- 31 Wang C, Han X, Sun X, Guo F, Luan X, Xu L. Orexin-A signaling in the paraventricular nucleus promote gastric acid secretion and gastric motility through the activation neuropeptide Y Y1 receptors and modulated by the hypothalamic lateral area. *Neuropeptides* 2019, 74: 24–33.
- 32 Chen XY, Chen L, Du YF. Orexin-A increases the firing activity of hippocampal CA1 neurons through orexin-1 receptors. *J Neurosci Res* 2017; 95(7): 1415–1426.
- 33 Riahi E, Arezoomandan R, Fatahi Z, Haghparast A. The electrical activity of hippocampal pyramidal neuron is subjected to descending control by the brain orexin/hypocretin system. *Neurobiol Learn Mem* 2015; 119: 93–101.
- 34 Jaeger LB, Farr SA, Banks WA, Morley JE. Effects of orexin-A on memory processing. *Peptides* 2002; 23(9): 1683–1688.
- 35 Raouf R, Esmaili-Mahani S, Abbasnejad M, Raouf M, Sheibani V, Kooshki R, Amirhosravi L, Rafie F. Changes in hippocampal orexin 1 receptor expression involved in tooth pain-induced learning and memory impairment in rats. *Neuropeptides* 2014; 50: 9–16.
- 36 Wayner MJ, Armstrong DL, Phelix CF, Oomura Y. Orexin-A (Hypocretin-1) and leptin enhance LTP in the dentate gyrus of rats *in vivo*. *Peptides* 2004; 25(6): 991–996.
- 37 Miao SY (苗素云), Ni LY, Song LM, Tang JY. Orexin, Gq/PLC/PKC pathway and learning memory. *J Int Neurol Neurosurg (国际神经病学神经外科学杂志)* 2017; 44(3): 340–344 (in Chinese).
- 38 Shi L, Chen WH, Deng JH, Chen SJ, Han Y, Khan MZ, Liu JJ, Que JY, Bao YP, Lu L, Shi J. Orexin a differentially influences the extinction retention of recent and remote fear memory. *Front Neurosci* 2018; 12: 1–9.
- 39 Zhao X, Zhang RX, Tang S, Ren YY, Yang WX, Liu XM, Tang JY. Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides* 2014; 54: 140–147.
- 40 Telegdy G, Adamik A. The action of orexin A on passive avoidance learning. Involvement of transmitters. *Regul Pept* 2002; 104(1–3): 105–110.
- 41 Chieffi S, Messina G, Villano I, Messina A, Esposito M, Monda V, Valenzano A, Moscatelli F, Esposito T, Carotenuto M, Viggiano A, Cibelli G, Monda M. Exercise influence on hippocampal function: Possible involvement of orexin-A. *Front Physiol* 2017; 8: 1–8.
- 42 Dang RZ, Chen QH, Song J, He C, Zhang J, Xia JX, Hu ZA. Orexin knockout mice exhibit impaired spatial working memory. *Neurosci Lett* 2018; 668(30): 92–97.
- 43 Akbari E, Naghdi N, Motamedi F. The selective orexin 1 receptor antagonist SB-334867-A impairs acquisition and consolidation but not retrieval of spatial memory in Morris water maze. *Peptides* 2007; 28(3): 650–656.
- 44 Wang CM, Wang QQ, Ji BY, Pan YY, Xu C, Cheng BH, Bai B, Chen J. The orexin/receptor system: molecular mechanism and therapeutic potential for neurological diseases. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 1–16.
- 45 Sperandio R, Maldonato MN, Messina A, Cozzolino P, Monda M, Cerroni F, Romano P, Salerno M, Maltese A, Roccella M, Parisi L, Tripi G, Moscatelli F, Sessa F, Salerno M, Cibelli G, Messina G, Monda V, Chieffi S, Villano I, Monda E, Ruberto M, Marasla G, Marotta R, Valenzano M. Orexin system: network multi-tasking. *Acta Medica Mediterr* 2018; 34(2): 349–356.
- 46 Tang LN (唐丽娜), Zhang JJ. Orexin and sleep-wake regulation. *J Int Pharm Res (国际药理学研究杂志)* 2015; 42(1): 85–90 (in Chinese with English abstract).
- 47 Diniz Behn CG, Klerman EB, Mochizuki T, Lin SC, Scammell TE. Abnormal sleep/wake dynamics in orexin knockout mice. *Sleep* 2010; 33(3): 297–306.
- 48 Han LW (韩璐薇), Zhang C, Wang ZQ, Zhou CL. Orexin receptor antagonists: a promising approach to the treatment of insomnia. *Prog Pharm Sci (药学进展)* 2014; 38(2): 120–124 (in Chinese with English abstract).
- 49 Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R, Li R, Hungs M, Pedrazzoli M, Padigaru M, Kucherlapati M, Fan J, Maki R, Lammers GJ, Bouras C, Kucherlapati R, Nishino S, Mignot E. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* 2000; 6(9): 991–997.
- 50 Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 1999; 98(4): 437–451.

- 51 Zhang J, Li B, Yu L, He YC, Li HZ, Zhu JN, Wang JJ. A role for orexin in central vestibular motor control. *Neuron* 2011; 69(4): 793–804.
- 52 Scammell TE, Winrow CJ. Orexin receptors: Pharmacology and therapeutic opportunities. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2011; 51(1): 243–266.
- 53 Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Tokita S, Williams SC, Kisanuki YY, Marcus JN, Lee C, Elmquist JK, Kohlmeier KA, Leonard CS, Richardson JA, Hammer RE, Yanagisawa M. Distinct narcolepsy syndromes in orexin receptor-2 and orexin null mice: Molecular genetic dissection of non-REM and REM sleep regulatory processes. *Neuron* 2003; 38(5): 715–730.
- 54 Hondo M, Nagai K, Ohno K, Kisanuki Y, Willie JT, Watanabe T, Yanagisawa M, Sakurai T. Histamine-1 receptor is not required as a downstream effector of orexin-2 receptor in maintenance of basal sleep/wake states. *Acta Physiol (Oxf)* 2010; 198(3): 287–294.
- 55 Kumangal BA, Kumar D, Mallick HN. Intracerebroventricular injection of orexin-2 receptor antagonist promotes REM sleep. *Behav Brain Res* 2013; 237(1): 59–62.
- 56 Palagini L, Baglioni C, Ciapparelli A, Gemignani A, Riemann D. REM sleep dysregulation in depression: State of the art. *Sleep Med Rev* 2013; 17(5): 377–390.
- 57 Nollet M, Leman S. Role of orexin in the pathophysiology of depression: Potential for pharmacological intervention. *CNS Drugs* 2013; 27(6): 411–422.
- 58 Salomon RM, Ripley B, Kennedy JS, Johnson B, Schmidt D, Zeitler JM, Nishino S, Mignot E. Diurnal variation of CSF hypocretin-1 (Orexin A) levels in control and depressed subjects. *Biol Psychiatry* 2003; 54(2): 96–104.
- 59 Brundin L, Björkqvist M, Petersén Å, Träskman-Bendz L. Reduced orexin levels in the cerebrospinal fluid of suicidal patients with major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17(9): 573–579.
- 60 Scott MM, Marcus JN, Pettersen A, Birnbaum SG, Mochizuki T, Scammell TE, Nestler EJ, Elmquist JK, Lutter M. *Hcrtr1* and 2 signaling differentially regulates depression-like behaviors. *Behav Brain Res* 2011; 222(2): 289–294.
- 61 Ji MJ, Zhang XY, Chen Z, Wang JJ, Zhu JN. Orexin prevents depressive-like behavior by promoting stress resilience. *Mol Psychiatry* 2019; 24(2): 282–293.
- 62 Grafe LA, Eacret D, Luz S, Gotter AL, Renger JJ, Winrow CJ, Bhatnagar S. Orexin 2 receptor regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) response to acute and repeated stress. *Neuroscience* 2017; 348: 313–323.
- 63 Eacret D, Grafe LA, Dobkin J, Gotter AL, Renger JJ, Winrow CJ, Bhatnagar S. Orexin signaling during social defeat stress influences subsequent social interaction behaviour and recognition memory. *Behav Brain Res* 2019; 356: 444–452.
- 64 Johnson PL, Truitt W, Fitz SD, Minick PE, Dietrich A, Sanghani S, Träskman-Bendz L, Goddard AW, Brundin L, Shekhar A. A key role for orexin in panic anxiety. *Nat Med* 2010; 16(1): 111–115.
- 65 Grafe LA, Eacret D, Dobkin J, Bhatnagar S. Reduced orexin system function contributes to resilience to repeated social stress. *eNeuro* 2018; 5(2). pii: ENEURO.0273-17.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0273-17.2018.
- 66 Sakata K, Jin L, Jha S. Lack of promoter IV-driven BDNF transcription results in depression-like behavior. *Genes Brain Behav* 2010; 9(7): 712–721.
- 67 Yamada N, Katsuura G, Tatsuno I, Kawahara S, Ebihara K, Saito Y, Nakao K. Orexins increase mRNA expressions of neurotrophin-3 in rat primary cortical neuron cultures. *Neurosci Lett* 2009; 450(2): 132–135.
- 68 Joyal M, Wensing T, Levasseur-Moreau J, Leblond J, T Sack A, Fecteau S. Characterizing emotional Stroop interference in posttraumatic stress disorder, major depression and anxiety disorders: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2019; 14(4): e0214998.
- 69 Soya S, Takahashi TM, McHugh TJ, Maejima T, Herlitze S, Abe M, Sakimura K, Sakurai T. Orexin modulates behavioral fear expression through the locus coeruleus. *Nat Commun* 2017; 8(1): 1606.
- 70 Grafe LA, Cornfeld A, Luz S, Valentino R, Bhatnagar S. Orexins mediate sex differences in the stress response and in cognitive flexibility. *Biol Psychiatry* 2017; 81(8): 683–692.
- 71 Guan JL, Wang QP, Shioda S. Immunoelectron microscopic examination of orexin-like immunoreactive fibers in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Brain Res* 2003; 987(1): 86–92.
- 72 van den Pol AN. Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord. *J Neurosci* 1999; 19(8): 3171–3182.
- 73 Park KB, Weon H. Orexin receptors mediate long-term depression of excitatory synaptic transmission in the spinal cord dorsal horn. *Neurosci Lett* 2017; 660: 12–16.
- 74 Rezaee L, Salehi S, Alizadeh AM, Fazli-Tabaei S, Haghparast A. Spinal orexin-2 receptors are involved in modulation of the lateral hypothalamic stimulation-induced analgesia. *Neurochem Res* 2019; 44(5): 1152–1158.
- 75 Chen YH, Lee HJ, Lee MT, Wu YT, Lee YH, Hwang LL, Hung MS, Zimmer A, Mackie K, Chiou LC. Median nerve stimulation induces analgesia via orexin-initiated endocannabinoid disinhibition in the periaqueductal gray. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A 2018; 115(45): E10720–E10729.
- 76 Katsuya K, Fumihito T, Emiko S. Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Sci Rep* 2018; 8(1): 11540.
- 77 Gerashchenko D, Horvath TL, Xie XS. Direct inhibition of hypocretin/orexin neurons in the lateral hypothalamus by nociceptin/orphanin FQ blocks stress-induced analgesia in rats. *Neuropharmacology* 2011; 60(4): 543–549.
- 78 Chiou LC, Lee HJ, Ho YC, Chen SP, Liao YY, Ma CH, Fan PC, Fuh JL, Wang SJ. Orexins/hypocretins: pain regulation and cellular actions. *Curr Pharm Des* 2010; 16(28): 3089–3100.
- 79 Chen FS (陈福顺), Wang Z, Wang XQ, Lang SY. Changes of orexin-B cells and their nerve fibers in rat epilepsy model at different time points and their significances. *J Jilin Univ (Med Ed)* (吉林大学学报医学版) 2012; 28(2): 207–210 (in Chinese with English abstract).
- 80 Yang WX (杨位霞), Wu WW, Xiao XZ, Kan L, Zhao J, Yang WF. Effect of orexin A on cognitive function of patients with epilepsy. *Chin J Clin Med* (中国临床医学) 2015; (4): 516–518 (in Chinese with English abstract).
- 81 Aniol VA, Stepanichev MY, Lazareva NA, Gulyaeva NV. An early decrease in cell proliferation after pentylentetrazole-induced seizures. *Epilepsy Behav* 2011; 22(3): 433–441.
- 82 Scharfman HE, Hen R. Is more neurogenesis always better? *Science* 2007; 315(5810): 336–338.
- 83 Erken HA, Erken G, Genç O, Kortunay S, Sahiner M, Turgut G, Turgut S. Orexins cause epileptic activity. *Peptides* 2012; 37(1): 161–164.
- 84 Rejdak K, Papuč E, Grieb P, Stelmasiak Z. Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) in patients after repetitive generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia* 2009; 50(6): 1641–1644.
- 85 Ni LY, Zhu MJ, Song Y, Liu XM, Tang JY. Pentylentetrazol-induced seizures are exacerbated by sleep deprivation through orexin receptor-mediated hippocampal cell proliferation. *Neurol Sci* 2014; 35(2): 245–252.
- 86 Goudarzi E, Elahdadi Salmani M, Lashkarbolouki T, Goudarzi I. Hippocampal orexin receptors inactivation reduces PTZ induced seizures of male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2015; 130: 77–83.
- 87 Liguori C, Nuccetelli M, Izzi F, Sancesario G, Romigi A, Martorana A, Amoroso C, Bernardini S, Marciani MG, Mercuri NB, Placidi F. Rapid eye movement sleep disruption and sleep fragmentation are associated with increased orexin-A cerebrospinal-fluid levels in mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2016; 40: 120–126.
- 88 Gabelle A, Jaussent I, Hirtz C, Vialaret J, Navucet S, Grasselli C, Robert P, Lehmann S, Dauvilliers Y. Cerebrospinal fluid levels of orexin-A and histamine, and sleep profile within the Alzheimer process. *Neurobiol Aging* 2017; 53: 59–66.
- 89 Ma ZX, Jiang WL, Zhang EE. Orexin signaling regulates both the hippocampal clock and the circadian oscillation of Alzheimer's disease-risk genes. *Sci Rep* 2016; 6: 36035.
- 90 Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, Lee JJ, Smyth LP, Cirrito JR, Fujiki N, Nishino S, Holtzman DM. Amyloid- β dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science* 2009; 326(5955): 1005–1007.
- 91 Roh JH, Jiang H, Finn MB, Stewart FR, Mahan TE, Cirrito JR, Heda A, Snider BJ, Li M, Yanagisawa M, de Lecea L, Holtzman DM. Potential role of orexin and sleep modulation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Exp Med* 2014; 211(13): 2487–2496.
- 92 Davies J, Chen J, Pink R, Carter D, Saunders N, Sotiriadis G, Bai B, Pan YY, Howlett D, Payne A, Randeve H, Karteris E. Orexin receptors exert a neuroprotective effect in Alzheimer's disease (AD) via heterodimerization with GPR103. *Sci Rep* 2015; 5: 1–12.
- 93 Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, Schrag AE, Lang AE. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3(1): 17013.
- 94 Takahashi Y, Kanbayashi T, Hoshikawa M, Imanishi M, Imanishi A, Sagawa Y, Tsutsui K, Takeda Y, Kusanagi H, Nishino S, Shimizu T. Relationship of orexin (hypocretin) system and astrocyte activation in Parkinson's disease with hypersomnolence. *Sleep Biol Rhythms* 2015; 13(3): 252–260.
- 95 Feng Y, Liu T, Li XQ, Liu Y, Zhu XY, Jankovic J, Pan TH, Wu YC. Neuroprotection by Orexin-A via HIF-1 α induction in a cellular model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2014; 579: 35–40.
- 96 Wang QQ, Zhou QB, Zhang SZ, Shao W, Yin YQ, Li YD, Hou JC, Zhang XH, Guo YS, Wang XM, Gu XS, Zhou JW. Elevated Hapln2 expression contributes to protein aggregation and neurodegeneration in an animal model of Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2016; 8: 197.
- 97 Pasban-Aliabadi H, Esmaeili-Mahani S, Abbasnejad M. Orexin-A protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity: Involvement of PKC and PI3K signaling pathways. *Rejuvenation Res* 2017; 20(2): 125–133.
- 98 Liu MF, Xue Y, Liu C, Liu YH, Diao HL, Wang Y, Pan YP, Chen L. Orexin-A exerts neuroprotective effects via OX1R in Parkinson's disease. *Front Neurosci* 2018; 12: 1–18.

- 99 Guerreiro S, Florence C, Rousseau E, Hamadat S, Hirsch EC, Michel PP. The sleep-modulating peptide orexin-B protects midbrain dopamine neurons from degeneration, alone or in cooperation with nicotine. *Mol Pharmacol* 2015; 87(3): 525–532.
- 100 Zawilska JB, Urbanska A, Sokolowska P. Orexins/hypocretins stimulate accumulation of inositol phosphate in primary cultures of rat cortical neurons. *Pharmacol Rep* 2013; 65(2): 513–516.
- 101 Tang J, Chen J, Ramanjaneya M, Punn A, Conner AC, Randeva HS. The signalling profile of recombinant human orexin-2 receptor. *Cell Signal* 2008; 20(9): 1651–1661.