DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.13.037
第25卷第13期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 13
2003年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2003

文章编号:1000-5404(2003)13-1207-03

综述

Orexin:觉醒通路中一种重要的下丘脑神经肽

Orexin: an important neuropeptide of arousal pathway from hypothalamus

宋承辉,胡志安 (第三军医大学基础医学部神经生物学教研室,重庆 400038)

1998年有两组研究人员[1,2]各自发现了一种由大鼠下丘脑外侧区(Lateral hypothalamic area, LHA)合成和分泌的具有促进动物摄食作用的小分子肽,并分别命名为Hypocretin和Orexin。因为已知LHA是重要的摄食调节区,起初对orexin(为方便阐述,文中主要采用"orexin"的命名)生理活性的研究集中于对摄食行为的调节。对orexin能纤维的投射及其受体分布的研究结果也提示orexin信号区包括食欲、饱腹感和能量平衡[3,4]。脑室内注射证实orexin确有促进动物摄食的作用[5]。然而,后来的神经解剖和分子生物学证据表明orexin系统还参与睡眠与觉醒状态的调控:orexin能神经元密集地投向参与睡眠调控的脑区[3,4];orexin基因敲除小鼠导致发作性睡病样表型包括猝倒和病态快速动眼(Rapid eye movement, REM)睡眠[6],orexin受体基因自发突变后也导致类似的发作性睡病样表型[7]。另外,人发作性睡病患者脑脊液及血浆中orexin水平也有低下[8]。在蓝斑(Locus ceruleus, LC)、背外侧被盖核(Lateral dorsal tegmental, LDT)、脑室或侧脑室内等局部注射orexin都可引起睡眠减少、觉醒增加[9]。因此,可以确定中枢orexin系统对睡眠-觉醒周期的调控起关键作用。

下丘脑在哺乳动物大脑的系统发生上是一个古老的区域,其中有些核团与自律调节和内分泌的自我平衡有关,在这些核团都有orexin纤维及其受体的分布。实验证明除促进摄食和觉醒外,脑室内应用orexin还可引起动脉压、心率及耗氧量升高;体温升高;饮水增加,并可刺激胃酸分泌[9]。鉴于orexin系统在觉醒通路中的重要作用,现对orexin系统参与睡眠与觉醒调节的主要证据及作用机制加以综述。

1 Orexin及其受体

Orexin(Hypocretin)有二个C-末端乙酰化的单体:orexin A和orexin B(Hypocretin-1和hypocretin-2),它们均来自同一基因转录产物—前orexin原(含130个氨基酸残基)的酶解而来。Orexin A含33个氨基酸残基,hypocretin-1含orexin A序列并在NH_2末端多5个、COOH端多1个氨基酸残基,但活性相同;orexin B含28个氨基酸残基,hypocretin-2比orexin B在COOH端多一个氨基酸残基,活性相同[1,2]。

前orexin原基因定位于染色体的17q21[1,2]。Orexin系统有两个G蛋白偶联受体:OX1R和OX2R。这两种受体对两个肽有不同的亲和力:OX2R对A和B有相似的亲和力,而OX1R对orexin A的亲和力是B的30~100倍。因此一般认为OX1R是orxin A的选择性受体,OX2R是orexin A和orexin B的非选择性受体[2]。Orexin受体与G_q偶联,与orexin结合后可激活磷脂酶C(PLC),产生1,4,5-三磷酸肌醇和甘油二酯等第二信使物质,进而使胞浆中Ca^{2+}浓度和蛋白激酶C(PKC)活性升高[10]。

2 Orexin系统的分布和表达

Orexin神经元胞体位于侧下及穹窿周围的下丘脑区核团,数量仅约数千个。但其纤维及受体分布却十分广泛[1,3]:Hcrt神经元直接接受来自产生生物节律的视交叉上核的投射,又有明显的投射投向穹窿周围区和后侧丘脑;还有更明显的投射投向基底前脑的中隔、视前区,下丘脑的室旁核、中央灰质、蓝斑、脑桥脚被盖核及脊髓;在视上联合中有大的阳性纤维,大脑皮质和海马中有单个纤维穿过;室旁丘脑中也有阳性纤维集中分布。人的orexin投射范围与啮齿动物相似[11]。大鼠在胚胎18 d有低浓度orexin mRNA表达,出生时表达仍较低,生后20 d时表达最高至成年保持在较高的水平,雌雄差异不显著;orexin受体在生后1~20 d表达较高,成年后逐渐下降[1]。在动物的运动期下丘脑中ovexin含量高于静止期,REM睡眠期高于慢波睡眠(Slow wave sleep, SWS)期[12]。

原位杂交表明OX1R存在于许多脑区包括前额叶和边缘下皮质、海马、室旁丘脑核、下丘脑腹内侧核、背缝核、蓝斑。OX2R在互补区域表达较高,包括大脑皮质、中膈核、海马、中间丘脑群、缝核及下丘脑核团包括结节状乳头体核、背内侧核、室旁核、乳状体前核腹侧。OX1R和OX2R mRNA的分布模式大致呈互补分布。在皮质,OX1R mRNA主要局限于边缘前和边缘下皮质,基本在2~3层,而OX2R mRNA在深层(5和6层)有较高的密度,并在新皮质中其它各层中分布较广泛。OX1R mRNA在海马CA2区显示最密集的特异性分布,在齿状回较低;相反,OX2R mRNA在CA3区密度最高[4]。

3 Orexin的神经兴奋作用及其机制

电镜检查表明orexin阳性免疫反应集中于神经元轴突末端的致密核心小泡[1,3],提示它们可能具有传递细胞间信号的活性。

Orexin对突触前和突触后神经元都有较强的活性。在培养的下丘脑神经元,orexin既可增加谷氨酸介导的自发兴奋性突

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270443)
作者简介:宋承辉(1972—),男,辽宁省大连市人,硕士,助理研究员,主要从事睡眠神经生物学方面的研究。电话:(023)68752232
收稿日期:2003-03-10;修回日期:2003-04-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

触后电流(Spontaneous excitatory postsynaptic currents, sEPSC)的发放频率,又可增加γ-氨基丁酸(GABA)介导的自发抑制性突触后电流(Spontaneous inhibitory postsynaptic currents, sIPSC)的发放频率,表明谷氨酸和GABA释放神经元都可有orxin受体的表达;orexin还可使微小兴奋性突触后电流(Miniature EPSC, mEPSC)和微小抑制性突触后电流(Miniature IPSC, mIPSC)频率都增加,表明orexin可引发突触前神经元谷氨酸和GABA的释放[10]。

Orexin通过突触后作用使细胞膜产生内向电流,Fura-2成像检测表明orexin A和orexin B都能引起胞内Ca^{2+}增加,在无Ca^{2+}环境中这种增加则显著减小[10]。在急性分离的最后区(Area postrema, AP)神经元,orexin则通过调节非选择性阳离子(包括Na^{+}、K^{+}、Ca^{2+})通透(其中K^{+}不受影响),使胞膜去极化[13]。

4 Orexin参与睡眠-觉醒的调控

4.1 Orexin与发作性睡病

发作性睡病是一种无法治愈的睡眠障碍性疾病,主要临床表现有:日间发作性不可抗拒的睡眠;肌张力突然丧失(猝倒症);睡瘫症;入睡性幻觉症或半觉醒状态表象。在美国该病的发病率为0.02%~0.06%,在我国由于没有受到足够的重视因而发病率不祥。以前认为基因和环境因素是发病的主要原因,可能是一种自身免疫性疾病,并与人白细胞抗原(HLA)DR2/DQB1*0602密切相关[8]。现在已确定orexin系统与发作性睡病直接相关。

Orexin基因敲除小鼠可产生与人发作性睡病极为相似的症状和脑电图表现[6]。实验表明发作性睡病犬主要是由于OX2R基因突变后产生了无活性的受体蛋白[7]。Hara等[14]用转基因方法选择性地使orexin神经元发生凋亡。大鼠出生后,orexin细胞数目逐渐减少,到第15周时orexin神经元几乎全部消失,并有发作性睡病样行为障碍及少食、肥胖。特异性损伤下丘脑外侧区表达orexin受体的神经元同样产生发作性睡病样表现[15]。Orexin信号异常导致严重的睡眠障碍性疾病-发作性睡病说明orexin系统对正常睡-醒周期的调控起着关键的作用。

Orexin的发现对人发作性睡病的诊断和治疗有重要意义。目前发作性睡病的诊断主要依靠临床表现辅以睡眠记录及人白细胞抗原检测。夜间多导睡眠扫描检查有助于该病与呼吸暂停和其它睡眠障碍性疾病的鉴别诊断,但比较费时且假阳性和假阴性均较高。人白细胞表型DQB1*0602是较有用的辅助诊断指标,但在发作性睡病患者中阳性率只有62%。Nishino等[8]报道84.2%的发作性睡病患者脑脊液中orexin A水平明显降低。正常人脑脊液中均有orexin A检出,浓度在169~376 pg/ml。而大多数有其它神经病理性症状的患者如头痛、肌无力及疼痛患者脑脊液orexin A均在正常水平。因此,脑脊液orexin阴性将可能成为发作性睡病高特异性、高敏感性的一项指标。

4.2 Orexin对各睡眠调节区的作用

从脑电图(Electroencephalogram, EEG)记录可以发现睡眠主要由慢波睡眠(SWS)和快速眼动(REM)睡眠两种状态交替所构成的周期组成的,在人类SWS又常称为非REM睡眠(NREM睡眠)。目前研究表明,睡眠期中NREM/REM周期的形成实际上是在大脑皮质、前脑基底部和脑干各个层次之间,由参与NREM睡眠的单胺能(REM-off)神经元与参与REM睡眠的胆碱能(REM-on)神经元之间,相互作用并维持一种动态平衡所完成的。睡眠与觉醒不同的电生理表现则是由于皮质丘脑回路的神经元同步化和去同步化放电的结果[16]。

LC的去甲肾上腺素(NA)能神经元,背缝核的5-羟色胺(5-HT)能神经元和结节状乳头体核的组胺能神经元都是所谓的REM-off细胞。这些神经元在清醒时放电较快,SWS时较慢,REM睡眠时几乎没有放电。它们在前脑都有各自的投射靶区群,放电时引起皮质活动增加,产生清醒。LC中局部应用orexin A(orexin B无作用)呈剂量依赖方式抑制REM睡眠、增加觉醒,并使LC的NA能神经元放电频率增加及这些细胞c-Fos的表达升高[17]。体外ORX-A对背缝核5-HT能神经元有很强的兴奋作用[18]。Orexin A和orexin B对结节状乳头体核组胺能神经元也有直接的兴奋作用,并能引起组胺释放,觉醒增加[19]。所以,现在认为orexin促觉醒作用的一种方式就是兴奋脑干REM-off神经元。对这些单胺能神经元群的兴奋直接导致清醒。

Orexin神经元向脑干REM-on的胆碱能神经元也有投射,包括LDT和脑桥网状结构。REM-off的单胺能神经元对这些胆碱能神经元有很强的抑制作用,但在清醒时仍有许多LDT神经元发放频率很快,而在SWS睡眠时则只有很少LDT神经元活动。在REM睡眠,单胺能神经元停止活动,LDT从单胺能系统的抑制作用中解放出来因而发放频率加快[20]。有1/3的LDT神经元只在清醒时放电,另有1/3在清醒和REM睡眠时都有放电。实验表明orexin对这两种神经元都有兴奋作用[21]。自由活动的猫LDT中局部注射ORX-A后觉醒增加,REM睡眠发生的数量减少,但其长度不受影响。这种作用与LDT神经元的活动规律一致,表明orexin通过LDT胆碱能神经元影响REM睡眠的开关。

另外,orexin A和orxin B对侧腹视前核中GABA睡眠启动神经元没有作用,但对邻近的胆碱神经元则有很强的兴奋作用[22]。Orexin A和orexin B都可通过OX2R引起这些神经元的兴奋,使皮质产生由乙酰胆碱介导的EEG去同步化,这种去同步化与清醒和REM睡眠有关。基底前脑中直接注入orexin A和orexin B也使觉醒增加。Orexin参与睡-醒状态的调控可归纳为以下几点:①清醒时,orexin激活NA、HIST、和5-HT能神经元,增加皮质活动抑制胆碱能神经元,维持清醒;②SWS时皮质活动形成同步化,大多皮质传入活动(包括orexin信号)减少。胆碱能神经元受到的抑制作用大于活化作用,活动降到最低;③REM睡眠时,orexin活动进一步降低,使REM-on的胆碱神经元从单胺能的抑制中解放出来,活动最强。

5 展望

睡眠对人类的健康生活至关重要。据美国国家睡眠基金会(NSF)的调查显示,美国约有60%成年人即4 000万人遭受各种睡眠障碍的痛苦,还有多于40%的人因严重白天嗜睡倾向而妨碍日常工作和生活,并且发病率有升高的趋势。在美国,睡眠研究中心和有资格的睡眠执业医师自1996年以来已成倍增

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

长。近年对睡眠的神经生物学研究加速了睡眠药物的开发, 但目前的治疗仍然是针对症状而不是基于对睡眠障碍的病理发生机制, 因此迫切需要加强对睡眠进行基础研究。

Orexin 的发现使我们第一次对觉醒通路有了较清楚的认识, 把脑干中参与睡眠调控的各个核团有机地联系起来。但 orexin 系统与其它信号如何整合, 其它信号又如何调控 orexin 的分泌与活性, 还需大量的工作, 这些问题的阐明将为人类了解睡眠-觉醒的确切机制提供很大帮助。在临床上, orexin 系统的激动剂或抑制剂将有可能成为发作性睡病和失眠等睡眠障碍性疾病的治疗性药物, 具有良好的潜在临床应用前景。

关键词: orexin; 觉醒; 睡眠; 下丘脑

中图法分类号: R338.63　　文献标识码: A

参考文献:

[1] de Lecea L, Kilduff T S, Peyron C, *et al*. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(1): 322—327.

[2] Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, *et al*. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior[J]. Cell, 1998, 92(4): 573—585.

[3] Peyron C, Tighe D K, van den Pol A N, *et al*. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems[J]. J Neurosci, 1998, 18(23): 9996—10015.

[4] Marcus J N, Aschkenasi C J, Lee C E, *et al*. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain[J]. J Comp Neurol, 2001, 435(1): 6—25.

[5] Sweet D C, Levine A S, Billington C J, *et al*. Feeding response to central orexins[J]. Brain Res, 1999, 821(2): 535—538.

[6] Chemelli R M, Willie J T, Sinton C M, *et al*. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation[J]. Cell, 1999, 98(4): 437—451.

[7] Lin L, Faraco J, Li R, *et al*. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene[J]. Cell, 1999, 98(3): 365—376.

[8] Nishino S, Ripley B, Overeem S, *et al*. Low cerebrospinal fluid hypocretin (Orexin) and altered energy homeostasis in human narcolepsy[J]. Ann Neurol, 2001, 50(3): 381—388.

[9] Sakurai T. Roles of orexins in regulation of feeding and wakefulness[J]. Neuroreport, 2002, 13(8): 987—995.

[10] van den Pol A N, Gao X B, Obrietan K, *et al*. Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin/orexin[J]. J Neurosci, 1998, 18(19): 7962—7971.

[11] Moore R Y, Abrahamson E A, van den Pol A N. The hypocretin neuron system: an arousal system in the human brain[J]. Arch Ital Biol, 2001, 139(3): 195—205.

[12] Kiyashchenko L I, Mileykovskiy B Y, Maidment N, *et al*. Release of hypocretin (orexin) during waking and sleep states[J]. J Neurosci, 2002, 22(13): 5282—5286.

[13] Kastin A J, Akerstrom V. Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 289(1): 219—223.

[13] Yang B, Ferguson A V. Orexin-A depolarizes dissociated rat area postrema neurons through activation of a nonselective cationic conductance[J]. J Neurosci, 2002, 22(15): 6303—6308.

[14] Hara J, Beuckmann C T, Nambu T, *et al*. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity[J]. Neuron, 2001, 30(2): 345—354.

[15] Gerashchenko D, Kohls M D, Greco M, *et al*. Hypocretin-2-saporin lesions of the lateral hypothalamus produce narcoleptic-like sleep behavior in the rat[J]. J Neurosci, 2001, 21(18): 7273—7283.

[16] Pace-Schott E F, Hobson J A. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks[J]. Nat Rev Neurosci, 2002, 3(8): 591—605.

[17] Bourgin P, Huitron-Resendiz S, Spier A D, *et al*. Hypocretin-1 modulates rapid eye movement sleep through activation of locus coeruleus neurons[J]. J Neurosci, 2000, 20(20): 7760—7765.

[18] Brown R E, Sergeeva O, Eriksson K S, *et al*. Orexin A excites serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat[J]. Neuropharmacology, 2001, 40(3): 457—459.

[19] Bayer L, Eggermann E, Serafin M, *et al*. Orexins (hypocretins) directly excite tuberomammillary neurons[J]. Eur J Neurosci, 2001, 14(9): 1571—1575.

[20] Sutcliffe J G, De Lecea L. The hypocretins: setting the arousal threshold[J]. Nat Rev Neurosci, 2002, 3(5): 339—349.

[21] Takahashi K, Koyama Y, Kayama Y, *et al*. Effects of orexin on the laterodorsal tegmental neurones[J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2002, 56(3): 335—336.

[22] Eggermann E, Serafin M, Bayer L, *et al*. Orexins/hypocretins excite basal forebrain cholinergic neurones[J]. Neuroscience, 2001, 108(2): 177—181.

(编辑　薛国文)

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》, 本刊实行三位分节法(即从小数点算起, 向左向右每 3 位分一节, 节间留出一定空隙), 废除千分撇分节法(如 2,431 改为 2 431)。但年份、页数、部队著号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字, 凡属计数数值, 一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net