

Hypocretin 的研究新进展

高文文¹△, 秦升¹△*, 孔令超¹△, 金百翰¹△(综述), 任安经²(审校)

(第二军医大学¹研究生管理大队, ²病理生理学教研室, 上海 200433)

中图分类号: Q51

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2010)16-2425-03

摘要: Hypocretin 是由外侧下丘脑数千个神经元产生的一种神经肽, 外侧下丘脑接受来自边缘系统、皮质下区域等脑区的下行投射和脑干觉醒中枢等上行投射。当产 Hypocretin 神经元接受信号传入并激活时, 合成并释放 Hypocretin 神经肽。Hypocretin 神经肽与其受体结合, 可以产生不同的认知和生理功能。目前认为, Hypocretin 系统除了与进食有关之外, 在维持睡眠觉醒的平衡、奖赏系统和认知功能方面也起着重要的调控作用。

关键词: Hypocretin; 外侧下丘脑; 觉醒; 奖赏系统; 认知

Recent Advances in the Study of Hypocretin GAO Wen-wen¹, QIN Sheng¹, KONG Ling-chao¹, JIN Bai-han¹, REN An-jing². (1. Graduate Management Brigade, 2. Department of Pathophysiology, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: The hypocretins/orexins are neuropeptides secreted by a few thousand neurons restricted to the lateral hypothalamus, which receives inputs from the descending projections including the limbic system and subcortical area, and ascending projections from the brainstem arousal centers. The hypocretin-producing neurons synthesize and release hypocretin on receiving inputs, and become activated. Hypocretin binds to its receptors and contributes to diverse physiological functions. So far, it has been evidenced that the functions of hypocretin extend far beyond the role in food consumption, which also acts as an important modulator in maintaining the balance of sleeping and arousal, rewarding system and cognition.

Key words: Hypocretin; Hypothalamus; Arousal; Rewarding system; Cognition

同; 这两种肽的非酰胺化形式没有电生理活性。

下丘脑产 Hypocretin 神经元在形态上表现为多极、梭形、有 2~5 个初级突起。这些突起或光滑, 或被少量树突嵴所包埋^[3,4]。在大鼠和人类, 免疫反应技术显示 Hypocretin mRNA 和 Hypocretin 肽定位于外侧下丘脑的后部^[1,4], 而产 Hypocretin 神经元定位于外侧下丘脑^[5]。

Hypocretin 又称 Orexin, 于 1998 年首次被发现, 当时认为它在动物的进食行为和能量平衡中有着调控作用。目前, 随着科技水平的提高, 人们已经克隆出它的两种受体, 并对其在脑内的神经联系有了一定的认识。已经发现了它有许多其他重要的生物学功能, 包括对睡眠的调节, 在奖赏系统中的作用和在认知功能等方面的作用。另外, 人们已开始尝试阐述它与其他神经肽之间的相互作用, 这会是一个艰难的过程, 但必将有所突破。现对 Hypocretin 的研究进展予以综述。

1 Hypocretin 系统

Hypocretin 是下丘脑神经元产生的一种兴奋性神经肽^[1,2]。其位于下丘脑, 而且与肠降血糖素家族成员在序列上有许多相似之处, 所以称之为 Hypocretin; 大鼠脑室内给药有促食欲效应^[2], 所以又称之为 Orexin。但越来越多的证据表明, Hypocretin 的主要功能可能不仅仅是促进食欲作用。

Hypocretin 由含有 130 个氨基酸的前 Hypocretin 原产生, 它有两种亚型: Hypocretin-1 (orexin-A) 和 Hypocretin-2 (orexin-B)。它们有 13 个氨基酸相同, 提示这两种肽在结构和功能上有相关性^[1]。Hypocretin-1 含有 2 个链内二硫键, 而 Hypocretin-2 有 7 个氨基酸与促胰液素相同; 人类 Hypocretin-1 与啮齿类相同, 而人类 Hypocretin-2 与啮齿类有 2 个氨基酸不

2 Hypocretin 受体

Hypocretin 受体(Hypocretin-R)是一种 G 蛋白耦联受体, 它有两种亚型: Hypocretin-R-1 和 Hypocretin-R-2, 它们在不同物种间有着高度的保守性, 其中 Hypocretin-R-1 与 Hypocretin-1 之间亲和力很高, 是其与 Hypocretin-2 亲和力的 100~1000 倍^[2], 而 Hypocretin-R-2 与这两种配体均有很高的亲和力。免疫组化技术显示, 编码这两种受体的 mRNA 以及这两种受体蛋白本身, 在中枢内的含量都很丰富, Hypocretin-R 的分布与产 Hypocretin 神经元所发出轴突的分布范围也非常一致^[6]。

Hypocretin-R 在外周组织中也广泛表达, 尤其在内分泌组织, 如垂体、肾上腺、睾丸、胃肠道、胰腺和松果体等^[6]。

Hypocretin-1 和 Hypocretin-2 通过与三磷酸鸟苷结合蛋白相结合, 激活蛋白激酶 C, 促进胞内钙离子活化而发挥其生物学功能^[7]。三磷酸鸟苷结合蛋白介导的级联放大效应使钙离子通道磷酸化, 增加了钙离子的通透性和神经元的兴奋性。

3 Hypocretin 系统的神经联系

虽然产 Hypocretin 神经元定位于外侧下丘脑, 但在哺乳动物, 它发出神经投射到广泛的区域, 包括皮质、海马、杏仁核、伏核、下丘脑、丘脑、腹侧背盖区和蓝斑等^[1,3]。而外侧下丘脑也是接受多种神经元信

号输入的中枢:它接受来自边缘系统、前脑、弓状核、背下丘脑、室旁核、丘脑和皮质下区域等脑区的下行投射;由脑干觉醒中枢等所组成的上行投射;另外,一些神经纤维束,包括穹隆、乳头丘脑束、内侧前脑束也经过 Hypocretin 区域。因此,产 Hypocretin 神经元与谷氨酸能、氨酪酸能、多巴胺能和胆碱能神经元之间有着高度的联系。谷氨酸、促肾上腺皮质激素释放因子、ATP、去甲肾上腺素、卡巴胆碱、胆囊收缩素、加压素和催产素可以兴奋产 Hypocretin 神经元。而氨酪酸、葡萄糖、5-羟色胺 1a、去甲肾上腺素、多巴胺、神经肽 Y、瘦素可以抑制产 Hypocretin 神经元^[8-10]。同样,在产 Hypocretin 神经元内检测到的蛋白质,包括强啡肽、氨酪酸能 A 受体 V 亚单位、5-羟色胺 1a 受体、 μ 阿片受体、腺苷 A₁ 受体、腺苷 A₂ 受体、瘦素受体、转录因子 STAT-3 都与离子型谷氨酸通道有关^[11,12]。另外,脑脊液 pH 降低可增加产 Hypocretin 神经元的兴奋性,而 pH 升高可降低产 Hypocretin 神经元的兴奋性^[13]。

产 Hypocretin 神经元是有关觉醒的脑干上行投射和前脑下行投射的作用靶点^[3,4],因此,它处于整合输入信号和调控输出信号的重要地位。Harris 等^[14]认为它有两种亚群:一种与觉醒有关,即下丘脑背内侧亚群;一种与奖赏行为有关,即外侧下丘脑亚群。Hypocretin-R 通过与 Hypocretin-1 或 Hypocretin-2 结合,并与不同的 G 蛋白或者其他跨膜蛋白结合,可产生多种级联放大效应。这些特点提示,Hypocretin 在觉醒和目标-定向行为方面都有调控作用。另外,有研究认为^[15],Hypocretin 在学习记忆和阿尔茨海默病发病中也起重要的作用。

4 Hypocretin 与觉醒

连续记录前 Hypocretin 基因缺损小鼠的行为,可观察到周期性共济失调,尤其在黑暗/活跃过渡时期频繁发生,脑电图/肌电图记录显示,小鼠呈现猝倒样发作,同时脑电图显示它们直接从觉醒状态进入快速动眼睡眠状态,伴有肌紧张消失,这些特点与发作性睡病十分相似^[16]。Hypocretin-R-2 剔除的小鼠与 Hypocretin 剔除的动物相比,发作性睡病表现不明显^[17]。Mochizuki 等^[18]认为,Hypocretin 剔除的动物行为状态不稳定并不是睡眠平衡紊乱、昼夜节律失常或基本觉醒系统缺陷的结果。转基因大鼠和 Hypocretin 神经元删除的小鼠有发作性睡病样表现伴禁食后运动行为减少^[8],提示 Hypocretin 系统对于依赖代谢的觉醒水平的维持是必需的。另外,有研究表明,在觉醒状态活跃的时期(强烈的运动行为时期和快速动眼睡眠向觉醒转换时期),Hypocretin 神经细胞的代谢率会增加^[19]。

在健康人脑脊液中 Hypocretin 的浓度受到精密的调控,但多数发作性睡病患者既没有产 Hypocretin 的神经元,在脑脊液中也探测不到 Hypocretin 的存在^[20]。

5 Hypocretin 与目标-定向行为

目标-定向行为是建立在适当的觉醒水平基础上的,这种行为可以由自然的(食物、饮水、性)或人工的(药物)刺激所引起。

脑室内给予 Hypocretin-1 或 Hypocretin-2 可以增加大鼠等短期内的摄食量,禁食 48 h 的大鼠下丘脑内 Hypocretin mRNA 和 Hypocretin 的浓度有所增加^[2]。

Hypocretin 系统与初级的能量稳定回路相互影响^[21]。例如,产 Hypocretin 神经元对葡萄糖、瘦素、三酰甘油的浓度很敏感^[8]。但有其他研究^[22]认为,在摄食行为中,Hypocretin 不是重要的调控因素,而是通过增加觉醒水平和动作水平,来引起摄食行为的发生。连续 7 d 给予大鼠 Hypocretin-1,不会明显改变其日摄食量、体质量、血糖浓度、总胆固醇和游离脂肪酸的水平^[22],表明 Hypocretin 系统的许多效应是短时程的,而摄食行为的直接刺激可以增加觉醒或运动行为的持续时间。另外,在禁食期间,脑脊液内 Hypocretin-1 含量没有超过觉醒期水平^[23]。所有这些资料表明,摄食行为效应的发生有一部分源于觉醒,而不是对食物的直接需求。

产 Hypocretin 神经元接受边缘系统的信息传入,表达 μ 阿片受体,并投射至脑内奖赏系统,包括腹侧背盖区、伏核以及额叶前皮质,提示产 Hypocretin 神经元的作用可能与吗啡和纳洛酮有关;而它们的激活与偏爱形成有关,这又提示其与食物和药物奖赏以及纳洛酮戒断有关。戒断后 Hypocretin 和 μ 阿片受体 mRNA 水平增加,向腹侧背盖区内注射 Hypocretin-1 和 Hypocretin-2 后伏核内多巴胺及其代谢产物的水平显著增加,注入 Hypocretin 可以使已消失的觅药行为重新恢复,而封闭 Hypocretin-R-1、去甲肾上腺素受体和促皮质素释放因子受体等可以阻断觅药行为。在 Hypocretin 剔除的小鼠,可以观察到吗啡戒断症状明显减轻、吗啡介导的位置偏爱行为减轻、过度运动减少等现象^[24]。离体情况下,在腹侧背盖区的多巴胺能神经突触中插入 N-甲基-D-天冬氨酸受体,再应用 Hypocretin-1 会引起 N-甲基-D-天冬氨酸受体介导的神经传递增强,这种效应可以被 Hypocretin-R-1 拮抗剂阻断^[25]。

6 Hypocretin 与认知功能

最近有研究表明,氯胺酮麻醉后老年大鼠 Morris 水迷宫成绩明显下降,一定剂量 Hypocretin-1 可明显改善氯胺酮麻醉后老年大鼠学习记忆功能^[26]。而另

外一项实验^[27]认为,对睡眠剥夺幼鼠脑室内注射 Hypocretin-1 后,其 Morris 水迷宫学习记忆成绩显著降低,表明 Hypocretin-1 可加重睡眠剥夺幼鼠空间学习记忆能力的破坏。向睡眠剥夺幼鼠脑室内注射 Hypocretin-1 mRNA 反义寡核苷酸,可明显改善睡眠剥夺幼鼠的 Morris 水迷宫学习记忆成绩^[27]。此外, Kang 等^[28]证实,长期睡眠限制会明显增高淀粉样蛋白 β 斑块的形成,而 Hypocretin-R 拮抗剂会降低淀粉样蛋白 β 斑块的形成(淀粉样蛋白 β 斑块的形成是阿尔茨海默病发病的重要标志)。此外,在光照初期,脑室内注入 Hypocretin-1 连续 6 h,在啮齿类可以诱导觉醒,而脑间液中淀粉样蛋白 β 水平与之前光照期所测量的相比明显升高。这提示 Hypocretin 可能在阿尔茨海默病的发病中起到重要的作用。

7 展望

Hypocretin 神经肽在觉醒、目标-定向行为以及认知功能方面起重要的调控作用,并参与发作性嗜睡病、阿尔茨海默病等疾病的发病。另外,人们已将视野拓宽到 Hypocretin 神经肽与其他肽类物质之间相互作用的研究中去,这无疑将是一个新的突破,也将为阐明觉醒机制和神经紊乱甚至神经退行性病变的发病等提供新思路。

参考文献

- [1] Lecea LD, Kilduff TS, Peyron C, *et al.* The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 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] Bittencourt JC, Presse F, Arias C, *et al.* The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization[J]. J Comp Neurol, 1992, 319(2):218-245.
- [4] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, *et al.* Neurons containing hypocretin(orexin) project to multiple neuronal systems[J]. J Neurosci, 1998, 18(23):9996-10015.
- [5] Broberger C, De-Lecea L, Sutcliffe JG, *et al.* Hypocretin/orexin- and melanin-concentrating hormone-expressing cells form distinct populations in the rodent lateral hypothalamus: relationship to the neuropeptide Y and agouti gene-related protein systems[J]. J Comp Neurol, 1998, 402(4):460-474.
- [6] Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, *et al.* Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain[J]. J Comp Neurol, 2001, 435(1):6-25.
- [7] Zhu Y, Miwa Y, Yada T, *et al.* Orexin receptor type-1 couples exclusively to pertussis toxin-insensitive G-proteins, while orexin receptor type-2 couples to both pertussis toxin-sensitive and-insensitive G-proteins[J]. J Pharmacol Sci, 2003, 92(3):259-266.
- [8] Yamanaka A, Beuckmann CT, Willie JT, *et al.* Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice[J]. Neuron, 2003, 38(5):701-713.
- [9] Tsujino N, Yamanaka A, Ichiki K, *et al.* Cholecystokinin activates orexin/hypocretin neurons through the cholecystokinin A receptor [J]. J Neurosci, 2005, 25(32):7459-7469.
- [10] Muraki Y, Yamanaka R, Tsujino N, *et al.* Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor[J]. J Neurosci, 2004, 24(32):7159-7166.
- [11] Moragues N, Ciofi P, Lafon P, *et al.* GABAA receptor epsilon subunit expression in identified peptidergic neurons of the rat hypothalamus[J]. Brain Res, 2003, 967(1/2):285-289.
- [12] Håkansson R, Lecea A, Sutcliffe P, *et al.* Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurons of the lateral hypothalamus[J]. J Neuroendocrinol, 1999, 11(8):653-663.
- [13] Williams RH, Jensen LT, Verkhatsky A, *et al.* Control of hypothalamic orexin neurons by acid and CO₂[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(25):10685-10690.
- [14] Harris GC, Aston-Jones C. Arousal and reward: a dichotomy in orexin function[J]. Trends Neurosci, 2006, 29(10):571-577.
- [15] Deadwyler SA, Porrino L, Siegel JM, *et al.* Systemic and nasal delivery of orexin-A (Hypocretin-1) reduces the effects of sleep deprivation on cognitive performance in nonhuman primates[J]. J Neurosci, 2007, 27(52):14239-14247.
- [16] Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, *et al.* Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation[J]. Cell, 1999, 98(4):437-451.
- [17] Willie JT, Chemelli RM, Tokita S, *et al.* Distinct narcolepsy syndromes in Orexin receptor-2 and Orexin null mice: molecular genetic dissection of non-REM and REM sleep regulatory processes[J]. Neuron, 2003, 38(5):715-730.
- [18] Mochizuki T, Crocker A, McCormack S, *et al.* Behavioral state instability in Orexin knock-out mice[J]. J Neurosci, 2004, 24(28):6291-6300.
- [19] Lee MC, Hassani OK, Jones BE. Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep/waking cycle[J]. J Neurosci, 2005, 25(28):6716-6720.
- [20] Thannickal T, Moore R, Nienhuis R, *et al.* Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy[J]. Neuron, 2000, 27(3):469-474.
- [21] Sakurai A, Takeshi R. Roles of orexins and orexin receptors in central regulation of feeding behavior and energy homeostasis[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2006, 5(3):313-325.
- [22] Yamanaka A, Sakurai T, Katsumoto T, *et al.* Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight[J]. Brain Res, 1999, 849(2):248-252.
- [23] Fujiki N, Yoshida A, Yasushi R, *et al.* Changes in CSF hypocretin-1(orexin A) levels in rats across 24 hours and in response to food deprivation[J]. Neuroreport, 2001, 12(5):993-997.
- [24] Georgescu D, Zachariou V, Barrot M, *et al.* Involvement of the lateral hypothalamic peptide orexin in morphine dependence and withdrawal[J]. J Neurosci, 2003, 23(8):3106-3111.
- [25] Borgland S, Taha S, Sarti F, *et al.* Orexin A in the VTA is critical for the induction of synaptic plasticity and behavioral sensitization to cocaine[J]. Neuron, 2006, 49(4):589-601.
- [26] 王东, 张旭, 杨天德, 等. Orexin-A 对氯胺酮麻醉老年大鼠学习记忆及基底前脑 ChAT 表达的影响[J]. 重庆医学, 2009, 38(15):1885-1889.
- [27] 梁振江, 陈旭红, 冼志雄, 等. Orexin-A 及其反义寡核苷酸对睡眠剥夺幼鼠空间学习记忆能力的影响[J]. 中国行为医学科学, 2007, 16(4):302-304.
- [28] Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, *et al.* Amyloid- β dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle[J]. Science, 2009, 326(5955):1005-1007.

收稿日期:2010-02-20 修回日期:2010-06-25