

Orexin 系统与学习记忆

池恒^{1,2}, 黄伟伟¹ 综述 唐吉友¹ 审校

1. 山东省千佛山医院, 山东省济南市 250013

2. 泰山医学院, 山东省泰安市 271000

摘要: Orexin 系统在学习记忆以及睡眠-觉醒中具有重要的作用。Orexin 与其受体结合后通过多种途径, 如 Gq 蛋白/PLC/PKC 途径, 乙酰胆碱能、谷氨酸能、GABA 能途径, 离子途径等影响海马的学习记忆功能。睡眠剥夺可影响脑内 Orexin-A 水平, 而睡眠剥夺本身同时又可影响海马的学习记忆功能。因此, 研究 Orexin-A 及其受体对睡眠-觉醒的调节并参与学习记忆的作用机制, 对寻找新靶点防治睡眠障碍以及所造成的学习记忆功能损害具有重要的临床意义。

关键词: Orexin-A; OX1R/OX2R; 学习记忆; 海马; 皮质

1998 年, 美国科学家分别在两个独立的实验室同时发现了一种由下丘脑外侧区合成和分泌的兴奋性神经肽, 并命名为 Orexin, 包括 Orexin-A 和 Orexin-B。Orexin 通过神经纤维投射到广泛脑区, 参与摄食、能量代谢、学习记忆以及睡眠-觉醒的调节。其中, 在学习记忆以及睡眠-觉醒中发挥尤为重要的作用。海马和皮质是与学习记忆有关的重要脑区, 任何原因导致海马和皮质的损害都会引起学习记忆能力下降。研究显示, Orexin 通过作用于海马和皮质内 OX1R 和 OX2R 直接或间接参与学习记忆的形成过程。睡眠缺乏、睡眠片段化等睡眠障碍可引起脑内 Orexin-A 浓度改变, 影响海马和皮质上的胆碱能神经元、去甲肾上腺素能神经元以及其他神经递质引起长时程电位 (long-term potentiation, LTP) 的变化, 从而影响海马和皮质的功能。现就 Orexin-A 与学习记忆的信号转导机制做一综述。

1 Orexin 分布及其受体

Orexin 神经元仅分布在下丘脑的背外侧核和穹隆周区核团, 但其神经纤维广泛投射到多个脑区。Orexin-A 和 Orexin-B 通过激活二个 G 蛋白偶联受体, Orexin1 受体 (Orexin1 receptor, OX1R) 和 Orexin2 受体 (Orexin2 receptor, OX2R) 发挥其生物作用。Orexin-A 主要作用于 OX1R, Orexin-B 作用于 OX1R 和 OX2R。OX1R 和 OX2R 的分布与 Orexin 神经纤维的投射区域是一致的, 并广泛表达。但

OX1R 和 OX2R 的分布并不一致, OX1R 主要分布在海马、下丘脑前区、腹内侧区、蓝斑区、背中缝核; OX2R 主要分布在大脑皮质、下丘脑背内侧核、丘脑室周核、顶盖前核、中缝核。这种分布特点说明 Orexin 具有不同的生理功能。

2 Orexin 与学习记忆

Orexin 在睡眠自稳调节过程中起决定性作用, Orexin 神经元在睡眠状态下是基本静止的, 在觉醒活动期被点燃并最大激活^[1]。而睡眠对海马依赖性记忆 (hippocampus-dependent memory) 的形成是必不可少的。有实验室采用电生理技术发现^[2], 海马神经元在睡眠的快速眼动 (REM) 和慢波 (SWS) 期的某些再激活过程有利于神经网络中神经元间连接加强, 有利于海马和皮质间的信息转移, 有利于新经历转变为长时记忆。相反, 削弱或阻断海马神经元在 REM 和 SWS 期的再激活过程, 记忆将会受到损害。目前普遍认为记忆信息获得后是暂时储存于海马, 然后逐渐转移至新皮质长期储存^[3]。学习记忆的大多数过程, 如信息获得、编码、短时储存、记忆的提取等发生在觉醒期间, 所以作为觉醒枢纽的 Orexin 系统在学习记忆过程中可能发挥重要作用。

3 Orexin-A 参与学习记忆的信号转导机制

3.1 Gq 蛋白/PLC/PKC 途径

OX1R 和 OX2R 被 Orexin 激活后, 通过与多种 G 蛋白 (如 Gq、Gs 和 Gi) 结合启动细胞内的多条信

基金项目: 国家自然科学基金 (81471345)

收稿日期: 2015-10-29; 修回日期: 2015-12-25

作者简介: 池恒 (1990-), 女, 在读硕士研究生, 主要研究方向是睡眠与学习记忆。

通讯作者: 唐吉友 (1963-), 男, 主任医师, 医学博士, 主要研究方向是睡眠与学习记忆。

号转导途径: 如 Gq 蛋白/PLC/PKC、Gs 蛋白/cAMP/PKA 以及 Ca^{2+} 等信号转导途径。其中, Gq 蛋白/PLC/PKC 是 Orexin-A 的关键信号途径, 可通过调控 ERK1/2 的激活促进细胞增殖^[4]。PLC 是谷氨酸(Glu)诱导未成熟的皮质神经细胞和海马神经细胞凋亡所必需的, 分为 PLC β (1-4)、PLC δ (1-2)、PLC δ (1-4) 和 PLCE(1) 四类。PLC β 的激活依赖于 G 蛋白的 GAq(Aq、A11、A14、A16) 家族, 是 G 蛋白的直接效应器, 分为 PLC β 1、PLC β 2、PLC β 3、PLC β 4 四型, 其中, PLC β 1 主要表达于端脑, 包括大脑皮质、海马、杏仁核、侧间隔和嗅球, PLC β 1 在海马神经元中的作用尤为显著。研究发现, Gq/PLC β 1 信号介导的齿状回颗粒细胞正常发生和迁移与海马依赖性认知功能密切相关^[5]。在海马齿状回 PLC β 1 基因敲除小鼠身上, 表现出神经形成异常表达, 成年新生的齿状回颗粒神经元细胞数量和密度增加并伴随着迁移增加, 以及明显的海马特定定位的认知损害。至于过多的成年新生颗粒细胞打乱了齿状回的编码功能, 或许与成年新生颗粒细胞同成熟颗粒细胞直接竞争外周传入有关^[6]。另有证据表明, Orexin-A 通过激活 OX1R 介导的细胞外信号调节激酶 ERK1/2, 可促进海马齿状回颗粒细胞的发生, 实现逆转癫痫所致学习记忆损害^[7]。

3.2 乙酰胆碱能、谷氨酸能、GABA 能途径

神经元的兴奋性是与学习记忆功能直接相关的, 其通过影响长时程增强作用、谷氨酸等兴奋性递质的释放等一系列途径, 在癫痫、阿尔茨海默病中均有体现。近年来研究发现, Orexin-A 可通过调节乙酰胆碱能、谷氨酸能、GABA 能和肾上腺素能系统诱导海马神经元兴奋性和突触可塑性的形成, 是 Orexin 系统参与学习记忆的分子基础, 并参与海马多个亚区的兴奋传递及突触可塑性过程^[8]。Orexin-A 可引发突触前神经元谷氨酸和 GABA 的释放, 且谷氨酸和 GABA 释放神经元都可能有 Orexin 受体表达。一方面, Orexin-A 与谷氨酸相互作用, 产生协同效应, 明显地增强神经元的去极化和动作电位发放; 另一方面, 在 GABA 存在的情况下, Orexin-A 通过逆转 GABA 的抑制效应, 仍能兴奋神经元。研究人员发现, 在大鼠脑内微注射胆碱能兴奋剂刺激海马, 可产生剂量依赖性条件性位置偏爱, 并且尤其与 OX1R 有关^[9]。另有研究人员采用大鼠颅内埋植电极观察记录到, 侧脑室注射 Orexin-A

能增加海马 CA1 区锥体神经元的点燃率^[10]。而注射 OX1R 拮抗剂能明显降低点燃率, 说明 Orexin-A 是通过 OX1R 维持海马神经元的持续的自发的点燃。由于胆碱能能够使海马中的 Orexin-A 局部释放, 注射胆碱能兴奋剂亦能够增加神经元的点燃率。Orexin-A 对海马神经元的条件性位置偏爱和点燃作用, 均表现出剂量依赖性, 这或许与 Orexin-A 受体的分布数量有关。但是, 因为侧脑室注射 Orexin-A 是会影响整个脑部的, 不确定其对海马神经元是直接作用还是通过神经网络突触间的相互作用, 其具体机制还有待研究。

3.3 离子途径

Xia 等^[11,12]发现, 在原代培养的前额叶皮质神经元中, Orexin-A 引起了显著的细胞内 Ca^{2+} 升高。这是 Orexin-A 引起的主要的细胞效应之一。 Ca^{2+} 来源于细胞外的 Ca^{2+} 内流而非细胞内 Ca^{2+} 库释放。前额叶皮质神经元中 Ca^{2+} 升高的具体信号机制: OX1R 是 Orexin-A 的主要结合受体, 激活 PLC-PKC 途径, 最终开放细胞膜上的 L-型 Ca^{2+} 通道, 介导细胞外的 Ca^{2+} 内流, 从而升高细胞内 Ca^{2+} 。Orexin 可能通过促进 Ca^{2+} 释放, 进而激活 MAPK/ERK 信号系统来促进学习记忆。

Yan 等^[13]对大鼠前额叶皮质层的神经元做了研究发现, Orexin-A 对神经元有直接兴奋作用, 而相同剂量的 Orexin-B 对神经元没有明显兴奋作用。给予 OX1R 和 OX2R 拮抗剂后, Orexin-A 对神经元的兴奋作用几乎完全被 OX1R 拮抗剂阻滞, 说明了 OX1R 是 Orexin-A 的主要受体。因 Orexin-B 只选择性地作用于 OX2R, 进而说明是 OX1R 介导了 Orexin-A 兴奋神经元的信号转导途径, 是参与突触后膜去极化的主要受体。同时, Orexin-A 对神经元的电兴奋作用也表现出剂量依赖性。运用膜片钳技术发现其机制: ①在低 Na^+ 的人工脑脊液中, Orexin-A 诱发的电流在 E_K 附近有逆转电位。把电极内液中的 K^+ 替换成 Cs^+ (Cs^+ 阻挡了大部分 K^+ 通道, 却能够通过非选择性阳离子通道。且 Cs^+ 不影响非选择性阳离子通道和 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换的活性) 后 Orexin-A 在 -60 mV 诱发的电流减少。但与 Ca^{2+} 内流无关。②电流被低 Na^+ 的人工脑脊液和非选择性阳离子通道拮抗剂所降低, 但不被 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换的拮抗剂所影响。以上表明, Orexin-A 对神经元的兴奋作用是通过抑制 K^+ 通道并激活非选择性阳离子通道实现的。至于 OX1R 和 OX2R

表现出的作用差别,或许与其在皮质中的分布差异有关。

通过以上研究发现,在海马和皮质中,OX1R 发挥介导 Orexin-A 的主要作用;由于与皮质相比 OX1R 在海马中分布的数量更是占多数,所以可以推测,Orexin-A 兴奋海马神经元是通过与皮质神经元相似的机制,即升高神经元的细胞内 Ca^{2+} ,抑制 K^+ 通道并激活非选择性阳离子通道。

学习记忆长期巩固的一个必需条件是编码的记忆有暂存的海马区向存储长期记忆的皮质的转移,即海马-皮质“对话”模式的建立。这一模式认为觉醒状态下,皮质通过内嗅皮质浅层将外部信息转移至海马齿状回进行进一步的编码和形成短时记忆。随着觉醒程度的下降,皮质下兴奋减弱,进入 NREM 期,海马锥体神经元自放电倾向增加,通过电振荡的方式依次从海马 CA3、CA1 区向海马下托和内嗅皮质深层锥体神经元同步放电,将储存于海马的信息转移到广泛的皮质区域并长期储存于皮质。在 SWS 期,低胆碱能活性使信息从海马转移至皮质网络。另外,SWS 期低胆碱能活性和低皮质醇水平为海马-皮质间的信息转移创造了有利条件^[3]。反之,在觉醒状态下,高胆碱能活性抑制海马 CA3 区内的反馈突触以及 CA3 到 CA1、内嗅皮质、新皮质的传出投射,此时信息是从皮质转移到海马。Orexin-A 对海马和皮质本身的作用,可直接影响到海马-皮质之间的对话联系,进一步影响学习记忆功能。

4 Orexin 与睡眠障碍

Orexin 神经元对睡眠剥夺(sleep disruption, SD)高度敏感,睡眠剥夺可增加 Orexin 的合成、释放和受体表达^[14],增加脑脊液中的 Orexin-A 含量^[15]。长期睡眠剥夺不仅能降低海马神经元的活性,而且能抑制海马神经元的再生^[16],从而导致记忆功能减退。睡眠剥夺导致海马学习记忆功能损害的主要机制:①睡眠剥夺干扰了齿状回 CA3 区长时程增强作用(long-term potentiation, LTP)诱导阶段和维持阶段的分子信号通路(cAMP/PKA 途径),进而破坏海马突触的可塑性^[17,18]。②长期睡眠剥夺减少 NMDA 受体表达,造成海马区 NMDA/AMPA 受体比例降低,同时抑制钙调素依赖性蛋白激酶(CaMK II)的磷酸化,损害 LTP 的形成^[18-21]。③通过增加 GABA 能活性来抑制海马乙酰胆碱(Ach)信号通路,导致学习记忆功能减退^[18]。④睡眠剥

夺(72 h 以上的完全性睡眠剥夺、睡眠片段化或 REM 期睡眠剥夺)能抑制成年大鼠海马齿状回颗粒细胞的发生,导致双侧海马神经元膜兴奋性和突触可塑性降低,进而引起学习记忆能力下降^[22,23]。最近研究发现,REM 期睡眠剥夺诱导的 Orexin-A 过度表达可导致大鼠双侧海马神经元损害,给予 Orexin-A 受体拮抗剂则能减轻睡眠剥夺的不利影响^[24]。

5 展望

近年来有研究报道,尼古丁、咖啡因、莫达非尼能预防睡眠剥夺诱导的海马依赖性记忆的损害,这种作用是通过增加 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)、抑制睡眠剥夺所致的 CaMK II 磷酸化、减少脑源性神经生长因子(BDNF),防止睡眠剥夺诱导的海马齿状回 LTP 和突触可塑性损害实现的^[20,21,25-27]。但是,这些药物在干预睡眠剥夺与记忆损害之间的作用靶点不明确,而且这些药物会干扰睡眠结构,长期应用会引起睡眠紊乱,反而加重记忆损害。另有人利用 GABA_A 受体激动剂(唑吡坦)研究其对正常睡眠者记忆功能的影响,结果显示,增加睡眠纺锤波和减少 REM 期睡眠能提高海马依赖性记忆功能,提示 GABA_A 受体是潜在的治疗靶点^[28]。鉴于 PLC β 1 在海马神经元信号转导通路中的作用,PLC β 1 有望成为新的靶点,其功能和效果值得研究。许多研究已经表明,目前基于 Orexin 系统开发的药,既有 Orexin-A 拟似剂用来治疗发作性睡病,也有 Orexin-A 拮抗剂用来治疗失眠。例如:莫达非尼(modafinil)是一种非苯丙胺促醒剂,主要作用于突触后 α -肾上腺素能受体,对减少日间过度睡眠有较好的作用;羟丁酸钠(Gamma hydroxybutyrate, GHB)是被美国 FDA 批准的用于治疗发作性睡病的一种药,它通过刺激 GABA_B 受体或 GHB 特异性受体而发挥作用,能减少白天猝倒性发作、改善昼夜睡眠和 REM 睡眠时的其他症状。

因此,进一步探讨其神经元与学习记忆相关的分子与细胞机制和特异性靶点,将为开发 Orexin-A 拟似剂及受体拮抗剂来治疗失眠和发作性睡病等睡眠障碍造成的学习记忆损害提供新靶点具有重要的临床意义,前景颇为广阔。

参 考 文 献

- [1] Postnova S, Voigt K, Braun HA. A Mathematical Model of Homeostatic Regulation of Sleep-Wake Cycles by Hypocretin/Orexin. *Biol Rhythms*, 2009, 24: 523.

- [2] Diekelmann S , Born J. The memory function of sleep. *Nat RevNeurosci* , 2010 , 11(2) : 114-126.
- [3] Marshall L , Born J. The contribution of sleep to hippocampus-dependent memoryconsolidation. *Trends Cogn Sci* , 2007 , 11(10) : 442-450.
- [4] Tang J , Chen J , Ramanjaneya M , et al. The signalling profile of recombinant human orexin-2 receptor. *Cell Signal* , 2008 , 20(9) : 1651-1661.
- [5] Manning EE , Ransome MI , Burrows EL , et al. Increased Adult Hippocampal Neurogenesis and Abnormal Migration of Adult-Born Granule Neurons is Associated With Hippocampal-Specific Cognitive Deficits in Phospholipase C- β 1 Knockout Mice. *Hippocampus* , 2012 , 22(2) : 309-319.
- [6] Toni N , Teng EM , Bushong EA , et al. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat Neurosci* , 2007 , 10 : 727-734.
- [7] Zhao X , Zhang RX , Tang S , et al. Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazolkindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides* , 2014 , 54 : 140-147.
- [8] Akbari E , Motamedi F , Davoodi FG , et al. Orexin-1 receptor mediates long-term potentiation in the dentate gyrus area of freely moving rats. *Behav Brain Res* , 2011 , 216(1) : 375-380.
- [9] Taslimi Z , Haghparast A , Hassanpour-Ezatti M , et al. Chemical stimulation of the lateral hypothalamus induces conditioned place preference in rats: Involvement of OX1 and CB1 receptors in the ventral tegmental area. *Behav Brain Res* , 2011 , 217 : 41-46.
- [10] Riahi E , Arezoomandan R , Fatahi Z , et al. 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.
- [11] Xia JX , Chen XW , Cheng SY , et al. Mechanisms of orexin A-evoked changes of intracellular calcium in primary cultured cortical neuron. *Neuroreport* , 2005 , 16(7) : 783-786.
- [12] Xia JX , Fan SY , Yan J , et al. Orexin A-induced extracellular calcium influx in prefrontal cortex neurons involves L-type calcium channels. *Physiol Biochem* , 2009 , 65(2) : 125-136.
- [13] Yan J , He C , Xia JX , et al. Orexin-A excites pyramidal neurons in layer 2/3 of the rat prefrontal cortex. *Neurosci Lett* , 2012 , 520(1) : 92-97.
- [14] Longordo F , Kopp C , Luthi A. Consequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function. *Neurosci* , 2009 , 29 : 1810.
- [15] Mehta R , Khabday MA , Mallick BN. REM sleep loss associated changes in orexin-A levels in discrete brain areas in rats. *Neurosci Lett* , 2015 , 590 : 62-67.
- [16] Meerlo P , Mistlberger RE , Jacobs BL , et al. New neurons in the adult brain: The role of sleep and consequences of sleep loss. *Sleep Med Rev* , 2009 , 13(3) : 187-194.
- [17] Vecsey CG , Baillie GS , Jaganath D , et al. Sleep deprivation impairs cAMP signalling in the hippocampus. *Nature* , 2009 , 461(7267) : 1122-1125.
- [18] Havekes R , Vecsey CG , Abel T. The impact of sleep deprivation on neuronal and glial signaling pathways important for memory and synaptic plasticity. *Cell Signal* , 2012 , 24(6) : 1251-1260.
- [19] Dubiela FP , Queiroz CM , Moreira KD , et al. AMPA receptors mediate passive avoidance deficits induced by sleep deprivation. *Behav Brain Res* , 2013 , 257 : 189-196.
- [20] Alhaider IA , Aleisa AM , Tran TT , et al. Caffeine prevents sleep loss-induced deficits in long-term potentiation and related signaling molecules in the dentate gyrus. *Neuroscience* , 2010 , 31(8) : 1368-1376.
- [21] Alhaider IA , Aleisa AM , Tran TT , et al. Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity. *Sleep* , 2010 , 33(4) : 437-444.
- [22] Guzman-Marin R , Suntsova N , Bashir T , et al. Rapid eye movement sleep deprivation contributes to reduction of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of the adult rat. *Sleep* , 2008 , 31(2) : 167-175.
- [23] Guzman-Marin R , Bashir T , Suntsova N , et al. Hippocampal neurogenesis is reduced by sleep fragmentation in the adult rat. *Neuroscience* , 2007 , 148(1) : 325-333.
- [24] Ni LY , Zhu MJ , Song Y , et al. Pentylenetetrazol-induced seizures are exacerbated by sleep deprivation through orexin receptor-mediated hippocampal cell proliferation. *Neurol Sci* , 2014 , 35(2) : 245-252.
- [25] Alhaider IA , Aleisa AM , Tran TT , et al. Sleep deprivation prevents stimulation-induced increases of levels of P-CREB and BDNF: protection by caffeine. *Mol Cell Neurosci* , 2011 , 46(4) : 742-751.
- [26] Moreira KM , Ferreira TL , Hipolide DC , et al. Modafinil prevents inhibitory avoidance memory deficit induced by sleep deprivation in rats. *Sleep* , 2010 , 33(7) : 990-993.
- [27] Aleisa AM , Helal G , Alhaider IA , et al. Acute nicotine treatment prevents REM sleep deprivation-induced learning and memory impairment in rat. *Hippocampus* , 2011 , 21(8) : 899-909.
- [28] Mednick SC , McDevitt EA , Walsh JK , et al. The critical role of sleep spindles in hippocampal-dependent memory: a pharmacology study. *Neurosci* , 2013 , 33(10) : 4494-4504.