

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.08.002

创伤后应激障碍大鼠海马与前额叶皮质中 OREXIN 受体的失调*

刘 燕[#] 高俊巧[#] 李 峰 周 芹 宋月晗[△]

(北京中医药大学中医诊断系 北京 100029)

摘要 目的:从食欲素(Orexin, ORX)系统挖掘创伤后应激障碍的神经生物学机制。**方法:**以单次延长刺激(single prolonged stimulation, SPS)法复制创伤后应激障碍(post traumatic stress disorder, PTSD)大鼠模型,以行为学结合血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶进行模型评价,通过酶联免疫吸附试验(Elisa)分析大鼠血清与脑脊液中 OREXIN 水平,以实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测海马与前额叶皮质中的 Orexin 受体基因表达。**结果:**实验成功的复制了 PTSD 模型,与对照组相比,模型组大鼠血清中皮质酮和神经元特异性烯醇化酶的含量均极显著升高($P<0.01$),脑脊液中 Orexin A、Orexin B 的含量均显著升高($P<0.01$),海马和皮质中 ORX1R 与 ORX2R 均极显著下降($P<0.01$)。**结论:**PTSD 大鼠的应激损伤与 Orexin 及其受体表达水平的变化密切相关。

关键词:创伤后应激障碍;海马;前额叶皮质;食欲素

中图分类号:R-33;R641;R338.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)08-1406-04

Imbalance of OREXIN Receptor in Hippocampus and Prefrontal Cortex of Rats with PTSD*

LIU Yan[#], GAO Jun-qiao[#], LI Feng, ZHOU Qin, SONG Yue-han[△]

(Diagnostics of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: To study the changes of serum corticosterone and neuron-specific enolase in rats with post-traumatic stress disorder, as well as disorders of orexin (Orexin, ORX) receptors in cerebrospinal fluid, hippocampus and prefrontal cortex. **Methods:** The rat model of PTSD was established by single prolonged stimulation (SPS). Analysis of corticosterone and neuron-specific enolase in rat serum and changes of Orexin receptor in cerebrospinal fluid by enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa). The expression of orexin receptor gene in the two brain regions was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results:** The contents of corticosterone and neuron-specific enolase in serum were significantly increased ($P<0.01$). The levels of Orexin A and Orexin B in the cerebrospinal fluid of the model group were increased, which was significantly different from the normal group($P<0.01$). And the ORX1R and ORX2R in the hippocampus and cortex of the model group were significantly decreased, which was significantly different from the normal group ($P<0.01$). **Conclusion:** PTSD resulted in the increase of corticosterone and neuron-specific enolase in serum, and its mechanism may be related to the level of orexin receptor.

Key words: PTSD; Hippocampus; Prefrontal cortex; Orexin

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R641; R338.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)08-1406-04

前言

创伤后应激障碍(Posttraumatic stress disorder, PTSD)是一种严重应激障碍,其发生与战争、地震、暴力犯罪、童年期创伤等重大创伤性事件息息相关。PTSD 严重影响生活质量,可显著增加抑郁、药物滥用等多种身心疾病的患病风险,其自杀危险性亦高于普通人群,可达 19%^[1]。然而,PTSD 发生的确切机制尚不明确,有效的医学防护措施更为缺乏,因此,阐释 PTSD 发生的生物学机制,寻求防护措施,以减轻患者的身心损害,降低其造成的社会资源巨大消耗,是亟待解决的重大课题。研究显

示 PTSD 患者出现大脑边缘系统记忆的紊乱,甚至出现海马和前额叶皮质的体积缩小^[2,3]。随着对机制的深入分析,现代科研多采用单次延长应激建立 PTSD 大鼠模型,课题组前期已完成了对模型大鼠的行为学评价,本次实验将进一步结合神经内分泌和病理学的两个指标 -- 皮质酮和血神经元特异性烯醇化酶两个指标进行综合评价。在此基础上从食欲素的角度进行机制挖掘。食欲素(Orexin, ORX)是 1998 年发现的一对兴奋性神经肽,包括食欲素 A(orexinA)和食欲素 B(orexinB)两种,其神经元主要分布下丘脑、与海马、前额叶皮层、中央杏仁核等区域有丰富的神经往来。ORX 在神经系统的广泛投射决定了其在调

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(8187150712)

[#] 为共同第一作者

作者简介:高俊巧(1989-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经精神疾病病证结合研究, E-mail: 18800105199@163.com

刘燕(1974-),女,硕士研究生,高级实验师,主要研究方向:神经精神疾病病证结合研究, E-mail: liuy806@163.com

[△] 通讯作者:宋月晗,女,博士研究生,副教授,研究方向:神经精神疾病病证结合研究,电话:13426250071, E-mail: songyuehan1981@126.com

(收稿日期:2019-11-20 接受日期:2019-12-16)

节睡眠/觉醒周期、能量代谢、奖赏与应激、呼吸多方面的生理功能,近年来关于 ORX 调节应激反应的研究越来越多,对该系统与 PTSD 关系的研究成为热点^[4,5]。因此,本研究拟对 PTSD 中海马、前额叶皮质进行病理学观察,并对其 Orexin 系统的相关改变进行研究。

1 材料

1.1 实验动物及分组

健康 SPF 级雄性 wistar 大鼠 50 只,体重 180 ± 10 g,(北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SYXK(京)2006-0012)。大鼠适应性饲养 7d,按照体重大小排序后采用随机数字表随机分为 2 组,选取正常大鼠 10 只,造模成功大鼠 10 只饲养于清洁级动物房,室内温度:22.0℃—24.0℃,相对湿度:60%—70%,40W 日光灯照射,光照节律 12L:12D(8:00—20:00)。以颗粒饲料喂养,自由饮水。

1.2 实验仪器设备

① 大鼠固定器:圆柱形可调节大鼠固定器。② SV Total RNA Isolation System: Promega Corporation USA。③ TaqTM Universal SYBR Green Supermix。④ Step one PCR 仪:ABI, USA。

1.3 模型复制

采用单次延长刺激(single-prolonged stress, SPS)方法建立 PTSD 大鼠模型^[6],将大鼠四肢和躯干紧密束缚 2h,随后将大鼠置于水深 40 cm、水温 25℃的水箱中进行强迫游泳 20 min,将大鼠吹干,休息 15 min 后,放于密闭的容器内进行乙醚麻醉至大鼠意识丧失,将其放回鼠笼静养。

1.4 酶联免疫吸附试验检测(Elisa)

麻醉大鼠,腹主动脉取血,离心取血清 -80℃保存。检测时将被测血清放置室温 2 小时后离心,试剂放置室温 30 分钟离心,按照预实验倍数用双蒸水进行稀释。取出酶标板,设置三个空白对照孔,不加任何液体。每个标准点分别依次设三个复孔,每孔加入相应标准品,浓度依次为 0 ng/mL、0.2 ng/mL、0.8 ng/mL、3.2 ng/mL、10 ng/mL、40 ng/mL。其余孔依次加入待测样品 50 μ L。除去空白孔外,每孔加入酶结合物 50 μ L,再依次加入抗体 50 μ L,混匀,贴上板贴,37℃孵育 1h。弃去孔内的液体,将洗涤液注满各孔,每次浸泡 10 s,甩干,重复三次,拍干。各孔依次加入 50 μ L 显色剂 A 液,50 μ L 显色液 B 液,混匀,37℃避光显色 15 min,随后加入 50 μ L 终止液。在反应终止后的 10 min 之内,用酶标仪在 450 nm 波长下,测各孔的 OD 值。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测

麻醉大鼠,分别取大鼠不同脑区按照试剂盒步骤提取不同脑组织 RNA,反转录后,用 SYBR Green I 荧光染料进行实时荧光定量 PCR 实验,PCR 反应体系为 20 μ L: 其中 SYBR Green Supermix 10 μ L、上游、下游引物(10 μ M)各 1 μ L, cDNA 稀释液 2 μ L(2 μ g RNA 的反转录原液,用 DEPC 处理过的蒸馏水稀释), ddH₂O 6 μ L。PCR 反应条件如下:95℃预变性 30 s,然后 95℃变性 5 s,60℃退火 30 s(读取荧光数值),共 39 个循环。溶解曲线:扩增循环结束后,从 65℃至 95℃,每增加 0.5℃,读取一次吸光值。读取 Ct 值,计算 Δ Ct 值(Ct 目的基因 - Ct 内参 actin)、 $\Delta\Delta$ Ct 值(Δ Ct 处理 - Δ Ct 对照)、 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值(相对表达量 RQ, Relative Qualification),并进行数据统计分析。

1.6 统计学分析

采用 "Curve Expert1.3" 专业软件绘制标准曲线,根据样品的 OD 值,由标准曲线得出相应的浓度,再乘以稀释的倍数,即为样品的浓度。

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析处理实验数据。实验结果使用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)进行表示。若数据正态分布且方差齐,采用单因素方差分析(ANOVA)进行分析;否则采用秩和检验进行分析。

2 结果

2.1 大鼠一般表现

正常组大鼠食欲正常,活泼好动,体重增加,模型组大鼠出现饮水、摄食减少,不爱活动,易激惹、撕打等想象。

2.2 Elisa 结果

由表 1 可知,经 SPS 造模 7d 后,模型组大鼠血清皮质酮和神经元特异性烯醇化酶浓度明显升高,与正常组相比有极显著差异($P < 0.01$)。说明此次 SPS 应激造模成功复制 PTSD 模型。

由表 2 可知,经 SPS 造模 7d 后,模型组大鼠脑脊液 Orexin A、Orexin B 的含量均升高,与正常组相比有极显著差异($P < 0.01$),说明 SPS 应激后,大鼠的脑脊液中 Orexin A、Orexin B 的含量均升高,PTSD 模型可造成大鼠脑脊液 Orexin A、Orexin B 的含量均升高。

表 1 血清皮质酮和神经元特异性烯醇化酶的含量 (ng/mL) ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Contents of serum corticosterone and NSE (ng/mL) ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Corticosterone (ng/mL)	NSE (ng/mL)
The normal group	13.43 $\pm$ 0.40	8.69 $\pm$ 0.15
The model group	17.9 $\pm$ 0.38**	11.05 $\pm$ 0.74**

Note: *compared with the normal group $P < 0.05$, **compared with the normal group $P < 0.01$.

表 2 脑脊液 Orexin A 与 Orexin B 的含量 (ng/mL) ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Contents of Orexin A and Orexin B in cerebrospinal fluid (ng/mL)

Groups	Orexin A (ng/mL)	Orexin B (ng/mL)
The normal group	0.11 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.003
The model group	0.18 $\pm$ 0.01**	0.18 $\pm$ 0.02**

Note: *compared with the normal group $P < 0.05$, **compared with the normal group $P < 0.01$.

2.3 RT-PCR 结果

前面加由表 3、表 4 可知,大鼠经 SPS 造模后,食欲素的两个受体 OX1R 及 OX2R 基因在海马、皮质中都表现出明显异常表达。模型组大鼠 OX1R 及 OX2R 在海马、皮质中均有不同程度

表 3 海马 Orexin1R 及 Orexin2R 基因表达变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes of Orexin 1 R and Orexin 2 R gene expression in

Groups	Orexin1R	Orexin 2R
The normal group	1.14 $\pm$ 0.13	1.09 $\pm$ 0.14
The model group	0.28 $\pm$ 0.09**	0.56 $\pm$ 0.01**

Note: *compared with the normal group $P < 0.05$, **compared with the normal group $P < 0.01$.

度地下降,与正常组相比均有极显著差异 ($P<0.01$),说明 PTSD 导致大鼠海马、前额叶皮质中 ORX 系统发生的病理形态改变。

表 4 皮质 Orexin 1R 及 Orexin 2R 基因表达变化($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Changes of Orexin 1R and Orexin 2R gene expression in cortex ($\bar{x}\pm s$)

Groups	Orexin 1R	Orexin 2R
The normal group	1.1 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.19
The model group	0.52 $\pm$ 0.11**	0.41 $\pm$ 0.07**

Note:*compared with the normal group $P<0.05$,**compared with the normal group $P<0.01$.

3 讨论

PTSD 是指个体遭遇战争、死亡威胁、各种身心创伤、暴力犯罪等灾难性事件导致的严重应激疾病,该病最主要的症状为患者脑中不由自主地涌现与创伤有关的情境和内容,因此患者会长期极力地回避与创伤经历相关的地点或者人和事,同时也会伴随过度警觉、焦虑、注意力不集中等症状。临床研究显示 PTSD 一旦形成就很难治愈,部分患者可能终生患病,因此找到 PTSD 的形成机制或行为表征的变化,在应激后早期对个体反应进行干预或治疗,将有助于预防该疾病的发生,形成积极的 PTSD 应对方案。然而由于 PTSD 症状的复杂性、患者个体的差异性与研究条件的限制性,从临床角度难以深入解析 PTSD 的神经生物学机制、阐释药物的作用机制,而动物模型则能够帮助进一步探寻疾病机制,找到防治靶点。

近年来,研究者对 PTSD 模型进行了大量的研究,主要包括单次延长应激、足底电击、社会应激等模型,或在此基础上的组合模型,其中应用最广泛的即单次延长应激模型(single prolonging stress, SPS)。SPS 模型造模过程为:束缚大鼠 2h,立即强制游泳 20 min,休息 15 min,给予乙醚麻醉至大鼠失去意识,然后笼中不经任何打扰持续 7 天。SPS 模拟了突然的、威胁生命的重大创伤事件造成的应激,代表了窒息的最初恐怖,多项研究表明在经历系列创伤后的 1 天、7 天、14 天,大鼠的惊吓反射、回避反应显著增加、空间记忆明显受损^[7,8]。课题组一直来应用 SPS 模型研究 PTSD 的机制,前期通过旷场实验、僵立实验对 SPS 进行了模型评价:旷场行为显示,大鼠的中央格停留时间显著缩短,总运动距离显著减少,成功的模拟了 PTSD 大鼠的焦虑行为;僵立行为显示,模型组大鼠的僵立时间极显著增长,成功的模拟了 PTSD 的核心病理机制--恐惧^[9]。这与对大鼠的一般状态表现一致,大鼠皮毛失去光泽,精神状态烦躁。在通过行为学评价模型之后,又从神经内分泌和病理学两个层面选择了皮质酮和血神经元特异性烯醇化酶两个指标进行了评价。

PTSD 是一种严重的应激疾病,血清中的皮质酮水平可以作为 PTSD 模型复制是否成功的指标之一。下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)轴是神经内分泌系统的重要组成部分,调节着机体对外界应激的反映。目前研究确证 PTSD 会造成 HPA 轴的异常激活并进一步引起皮质酮等糖皮质激素的增多^[10]。应激状态下,由于 HPA 轴的激活,血清中皮质酮为主的糖皮质激素

素进入大脑,通过负反馈调节 PTSD 的焦虑症状^[11,12]。刘敏祥研究发现 PTSD 大鼠血清皮质酮升高,并可进一步造成内分泌的损伤,成为生理状态的变化生物学基础之一。本研究表明,经 SPS 造模 7 天后,模型组大鼠的血清皮质酮水平极显著升高,因此从“应激激素”升高这一生理状态的改变较好的模拟了创伤后应激的病理状态。血神经元特异性烯醇化酶(neon-specific enolase, NSE)是糖酵解途径中的一种关键酶,主要存在神经元、神经内分泌细胞和神经纤维中,在应激状态下, NSE 可透过血脑屏障进入血液循环中,从而血清水平增高,因此,常被作为应激时大脑神经元是否损伤的重要检测指标,用于评价应激的损伤程度^[13]。血液中的 NSE 的含量可以敏感地体现脑组织的损伤,特别是神经元细胞的损伤^[14]。大鼠恐惧应激以模拟 PTSD 状态后,血清中 NSE 的浓度也显著升高^[15]。本实验显示 SPS 造模后,大鼠 NSE 的血清水平明显升高,说明本实验从大脑损伤的层面,特别是神经元细胞损伤的层面,较好的模拟了 PTSD 的病理状态。因此,从行为学、神经内分泌和神经细胞损伤各个层面,本研究结果均成功的复制了 PTSD 模型,也为进一步从神经损伤的角度进行机制挖掘提供了依据。

ORX 神经元位于下丘脑,可广泛的投射于前额叶皮质、海马等不同脑区,通过调节神经回路参与恐惧记忆的消退和表达^[16]。目前的研究表明 ORX 系统广泛参与了神经系统疾病、睡眠障碍、心肺功能等多个方面的调控^[17]。Orexin 可分为 OrexinA 和 OrexinB 两类,皆可通过 Orexin1R 及 Orexin2R 这两种受体,发挥调节作用^[18]。本实验从脑脊液中 OrexinA(ORXA)、Orexin B(ORXB)的水平与 OrexinR-1(OX1R)、OrexinR-2(OX2R)基因表达两个方面进行研究。

ORX 神经元位于下丘脑并广泛的投射到整个中枢系统,最初对该系统的认识始于摄食,认为其在摄食与能量平衡中发挥着关键作用,后来逐渐认识到该系统作用广泛,如对睡眠、情绪等的调节作用。如近期研究认为食欲素可参与恐惧记忆的消退和表达。又有研究认为,在大鼠脑区微量注射 Orexin A 和 Orexin B,可增加其焦虑行为^[19]。焦虑是 PTSD 的三大临床表现之一,恐惧则是 PTSD 的核心病理机制,本研究表明模型大鼠脑脊液中的 ORXA 与 ORXB 的含量均极显著升高,与临床研究中焦虑患者脑脊液 ORXA 水平升高的研究结果一致^[20],也有动物实验研究表明中枢注射 ORXA 可以增加动物洗脸、抖动、修饰等应激行为,也是对本实验结果的验证^[21]。ORXA、ORXB 均可通过 OX1R 与 OX2R 相结合发挥作用,本课题进一步对海马、前额叶皮质中的受体基因水平进行了检测。

OX1R 与 OX2R 是 ORX 的两个受体,在众多脑区都有表达,OX1R 主要分布在海马、下丘脑前区、腹内侧区、蓝斑区、背缝核,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。海马接受来自感觉系统和高级皮层的输入,在短时记忆向长时记忆转化中起重要作用。前额叶皮质是大脑功能的执行中枢,其病变会引起认知功能、情感及情绪的改变^[22]。海马-前额叶皮质是否协同活动与情绪记忆的正常与否关系密切^[23,24]。由于海马-前额叶皮质通路在学习记忆中发挥着重要作用,因此 PTSD 中 OX1R、OX2R 的水平与严重应激所造成的记忆受损关系密切。有细胞培养研究表明 OX1R 可以激活磷脂酶 C-蛋白激酶 C(PLC-PKC)途径,使细胞膜上的

L-型 Ca^{2+} 通道打开,细胞外的 Ca^{2+} 内流,从而使细胞内 Ca^{2+} 浓度增加^[25-28]。本研究表明海马和前额叶皮质中的 OX1R 和 OX2R 都发生了显著下降,根据细胞学研究可能是由于 PLC-PKC 途径失调造成的 Ca^{2+} 内流下降,从而出现了学习记忆的受损,根据 OX1R 与 OX2R 分布区域的不同,海马中主要是 OX1R 发挥主导作用,前额叶皮质中主要是 OX2R 发挥主导作用。另有研究认为 ORX 可能通过促进 Ca^{2+} 释放,从而激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) / 细胞外信号调节激酶 (ERK) 信号系统来增强学习记忆功能,因而 PTSD 模型中 ORX 系统的失调可能影响 MAPK/ERK^[29,30]。MAPK/ERK 系统又是神经凋亡的重要信号通路,因此 ORX-MAPK/ERK 的失调可能是海马、前额叶皮质的病理形态学变化的细胞学基础。

综上所述,本研究结果显示 PTSD 的严重应激会造成脑脊液 ORX 水平与海马--皮质等中枢脑区中 ORX 受体的失调,而 ORX 受体进一步引起信号通路的系列变化与 PTSD 出现的记忆损伤关系密切,相关的 PLC-PKC、MAPK/ERK 环节可以作为进一步研究的着眼点以深入挖掘 PTSD 的关键机制。

参考文献 (References)

- [1] Davidson JR, Stein DJ, Shalev AY, et al. Posttraumatic stress disorder: acquisition, recognition, course, and treatment[J]. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience, 2004, 16(2): 135-147
- [2] De Quervain D, Schwabe L, Roozendaal B. Stress, glucocorticoids and memory: implications for treating fear-related disorders[J]. Nat Rev Neurosci, 2017, 18(1): 7-19
- [3] Shin L M, Rauch S L, Pitman R K. Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1071(1): 67-79
- [4] James M H, Campbell E J, Dayas C V. Role of the Orexin/Hypocretin System in Stress-Related Psychiatric Disorders[J]. Curr Top Behav Neurosci, 2017, 33(10): 197-219
- [5] Mieda M. The roles of orexins in sleep/wake regulation[J]. Neuroscience research, 2017, 118(03): 56-65
- [6] Yamamoto S, Morinobu S, Takei S, et al. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder[J]. Depress Anxiety, 2009, 26(12): 1110-1117
- [7] Liberzon I, Young E A. Effects of stress and glucocorticoids on CNS oxytocin receptor binding[J]. Psychoneuroendocrinology, 1997, 22(6): 411-422
- [8] Khan Samir, Liberzon Israel. Topiramate attenuates exaggerated acoustic startle in an animal model of PTSD[J]. Psychopharmacology, 2004, 172(2): 225-229
- [9] Wu Z, Tian Q, Li F, et al. Behavioral changes over time in post-traumatic stress disorder: Insights from a rat model of single prolonged stress[J]. Behav Processes, 2016, 124(01): 123-129
- [10] 刘雁峰,王天芳,杨维益,等.复合应激因素致大鼠肾上腺皮质激素和皮质酮含量变化的研究[J].中国医药学报, 2000, 15(01): 72-74
- [11] Dieleman GC, Huizink AC, Tulen JH, et al. Alterations in HPA-axis and autonomic nervous system functioning in childhood anxiety disorders point to a chronic stress hypothesis[J]. Psychoneuroendocrinology, 2015, 51(09): 135-150
- [12] 陈淑媛,贺薇,石玉秀.海马-HPA轴-PTSD的相关性[J].中外医疗, 2010, 25(2): 187-189
- [13] Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, et al. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke[J]. Stroke, 1997, 28(10): 1956-1960
- [14] Wunderlich M T, Ebert A D, Kratz T, et al. Early Neurobehavioral Outcome After Stroke Is Related to Release of Neurobiochemical Markers of Brain Damage[J]. Stroke, 1999, 30(6): 1190-1195
- [15] 刘佳佳,潘霄,严进,等.大鼠恐惧应激模型的建立及指标筛选[J].实用医药杂志, 2011, 28(05): 447-450
- [16] Flores, Africa, Saravia, Rocío, Maldonado R, et al. Orexins and fear: implications for the treatment of anxiety disorders[J]. Trends in Neurosciences, 2015, 38(9): 550-559
- [17] Barnett S, Li A. Orexin in Respiratory and Autonomic Regulation, Health and Diseases[J]. Compr Physiol, 2020, 10(2): 345-363
- [18] De Lecea L, Kilduff T S, Peyron C, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(1): 322-327
- [19] Li Y, Li S, Wei C, et al. Orexins in the paraventricular nucleus of the thalamus mediate anxiety-like responses in rats[J]. Psychopharmacology, 2010, 212(2): 251-265
- [20] Johnson, P, L. A key role for orexin in panic anxiety [J]. Nat. Med, 2010, (16): 111-115
- [21] Winsky-Sommerer R, Boutrel B, de Lecea L. Stress and arousal: the corticotrophin-releasing factor/hypocretin circuitry[J]. Mol Neurobiol, 2005, 32(3): 285-294
- [22] Gemer O, Uriev L. The significance of the degree of myometrial invasion in patients with stage IB endometrial cancer[J]. Eur J Gynecol Oncol, 2004, 25(3): 336-338
- [23] Li M, Long C, Yang L. Hippocampal-prefrontal circuit and disrupted functional connectivity in psychiatric and neurodegenerative disorders [J]. BioMed research international, 2015, 2015(3): 01-10
- [24] Liu Y, Liu D, Xu J, et al. Early adolescent stress-induced changes in prefrontal cortex miRNA-135a and hippocampal miRNA-16 in male rats[J]. Dev Psychobiol, 2017, 59(8): 958-969
- [25] 张景华,李慢,韩芳,等.凋亡相关基因在创伤后应激障碍大鼠内侧前额叶皮质神经元的表达[J].解剖科学进展, 2010, 16(04): 331-334
- [26] Chen XY, Chen L, Du YF. Orexin-A increases the firing activity of hippocampal CA1 neurons through orexin-1 receptors[J]. J Neurosci Res, 2017, 95(7): 1415-1426
- [27] Putula J, Pihlajamäe T, Kukkonen JP. Calcium affects OX1 orexin (hypocretin) receptor responses by modifying both orexin binding and the signal transduction machinery[J]. British Journal of Pharmacology, 2014, 171(24): 5816-5828
- [28] Zheng C, Deng QQ, Liu LL, et al. Orexin-A differentially modulates AMPA-preferring responses of ganglion cells and amacrine cells in rat retina[J]. Neuropharmacology, 2015, 93(1): 80-93
- [29] Skrzypski M, Khajavi N, Mergler S, et al. Orexin A modulates INS-1E cell proliferation and insulin secretion via extracellular signal-regulated kinase and transient receptor potential channels[J]. Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society, 2016, 67(5): 643-652
- [30] Zhao X, Zhang Rx, Tang S, et al. Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis[J]. Peptides, 2014, 54(10): 140-147