doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.32.010

Orexin-A 通路对胃运动的调控研究 *

赵志兵[1,2] 张孟玲[1] 柳 洋[3] 高胜利[1△]

（1 青岛大学医学院病理生理学教研室 山东 青岛 266021；
2 菏泽市中医医院 山东 菏泽 274031；3 青岛第九人民医院 山东 青岛 266000）

摘要 目的：探讨下丘脑外侧核（LHA）- 伏隔核（NAcc）orexin-A 神经和功能通路构成及该通路对胃运动的影响及潜在机制。**方法：**将健康成年雄性 Wistar 大鼠随机分为逆行追踪组和胃运动组：逆行追踪组大鼠采用逆行追踪技术结合免疫荧光组织化学染色法，观察下丘脑外侧核 - 伏隔核间是否存在 orexin-A 神经通路；胃运动组大鼠通过在体胃运动研究，观察伏隔核内微量注射不同浓度 orexin-A 对大鼠胃运动幅度和频率的影响，以及电刺激下丘脑外侧核后，大鼠胃运动的变化及机制。**结果：**荧光逆行追踪结合荧光免疫组织化学染色结果显示：下丘脑外侧核内有荧光金和 orexin-A 双重标记的神经元。胃运动研究结果显示：伏隔核内微量注射 orexin-A，大鼠胃运动幅度和频率显著增加，并呈现显著剂量依赖关系（P＜0.05），伏隔核预先微量注射 SB-334867，可反转该效应（P＜0.05）。电刺激下丘脑外侧核，大鼠胃运动幅度和频率显著增强（P＜0.05）。同样，伏隔核内微量注射 SB-334867，再电刺激下丘脑外侧核，电刺激导致的胃运动增强效应显著减弱（P<0.05）。**结论：**下丘脑外侧核 - 伏隔核存在 orexin-A 神经和功能通路，该通路可能通过 orexin-A 受体介导参与胃动力和能量代谢调控。

关键词：orexin-A；外侧核；伏隔核；胃运动

中图分类号：R-33; R333; R338 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2017)32-6252-05

Effect of Orexin-A Pathway on the Gastric Motility in Rats*

ZHAO Zhi-bing[1,2], ZHANG Meng-ling[1], LIU Yang[3], GAO Sheng-li[1△]

(1 Dept. of Pathophysiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China; 2 Heze Hospital of Tranitional Chinese Medicine, Heze, Shandong, 274031, China; 3 Qingdao NO.9 people's hospital, Qingdao, Shandong, 266000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects and the potential regulation mechanisms of orexin-A and the neural pathways between lateral nucleus (LHA) and nucleus accumbens (NAcc) on gastric motility. **Methods:** Adult male wiatar rats were used, and randomly divided into two parts. We used retrograde tracing and fluorescent -immunohistochemistry staining method to observe the neural pathways between lateral nucleus (LHA) and nucleus accumbens (NAcc) in the first part of rats. We used gastric motility recording in vivo to observe the change of the amplitude and frequency of gastric constriction following by nucleus accumbens micinject differents levels of orexin-A, and the change of gastric motility after electrical stimulated lateral nucleus in the two part of rats. **Results:** Retrograde tracing and fluorescent immunohistochemistry study shown that orexin-A/ fluorogold (FG) dual labelled neurons were found in the lateral nucleus. Gastric motility study illustrated that orexin-A microinject to the nucleus accumbens, the amplitude and frequency of gastric motility in rats were dose-dependently increased significantly (P < 0.05). SB-334867 microinject to the nucleus accumbens could block the effect on gastric contraction (P < 0.05). The amplitude and frequency of gastric motility were significantly enhanced after electrical stimulation of LHA in rats (P < 0.05). The effect on gastric motility included by orexin-A was disappeared or weaken following by SB-334867 microinject to the nucleus accumbens(P < 0.05). **Conclusions:** There exist the neural pathways between lateral nucleus and nucleus accumbens, it can regulate the gastric motility, and this way maybe mediated by the orexin-A receptor signaling pathway.

Key words: Orexin-A; LHA; NAcc; Stomach motility

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R333; R338 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)32-6252-05

前言

Orexins 分为 orexin-A 和 orexin-B[1,2]，均能与 orexin 受体 1（OX1R）和 orexin 受体 2（OX2R）结合[1]。Orexins 阳性神经元主要分布于下丘脑外侧区（LHA）和穹窿周区（PeF），在胃肠道、胰腺等部位也有分布[3]。Orexins 阳性神经纤维和受体广泛分布于整个中枢神经系统，如室旁核（PVN）、伏隔核（NACC）和海马（Hi）等区域[3]。Orexin-A 和 orexin-B 具有促食效应[4]，并且 orexins 系统参与机体内的多种生理过程，如能量平衡稳态、奖赏系统、情感、心血管系统等[5-12]。还有研究表明，orexin-A 能够

* 基金项目：山东省优秀中青年科学基金项目（BS2014YY009）

作者简介：赵志兵（1982-），硕士研究生，主要研究方向：能量代谢障碍基础与临床，电话：0532-82991713，E-mail: 391002047@qq.com

△ 通讯作者：高胜利，E-mail: xu.luo@163.com

（收稿日期：2017-04-20 接受日期：2017-05-12）

参与机体对大鼠体内胃扩张敏感神经元和胃运动的调节[13,14]。

下丘脑外侧区参与摄食和能量平衡的调控，是摄食调节的重要核团之一[1,15]，损伤大鼠的这个区域会诱发大鼠厌食，而电刺激则会引起过度摄食和肥胖症[16]。电刺激未禁食的大鼠下丘脑外侧区依然能够引起强烈的摄食行为[17]。伏隔核是基底神经节的主要传入结构之一，能够接收来自大脑皮层和边缘结构的信息，参与调节机体内多种生理性活动，如情感、精神紊乱、主动和被动学习等[18,19]。此外，伏隔核微量注射 orexin-A 能够增加大鼠对食物和酒精的摄入量[20]。

本研究通过逆行追踪结合荧光免疫组织化学染色以及在体胃运动，探讨下丘脑外侧核与伏隔核间 orexin-A 神经功能通路构成，阐述下丘脑外侧核 - 伏隔核 orexin-A 神经功能通路对胃运动的调控及其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康成年雄性 Wistar 大鼠 260 只，体质量约 250-300 g，由青岛市药品检验所提供。全部大鼠均饲养于室温 24± 2 ℃条件下，昼夜循环光照(07:00 至 19:00)，并给予实验室标准饮食，自由摄取食物和水分。所有动物实验均严格按《青岛大学实验动物保护和使用管理办法》执行。

1.2 实验方法

1.2.1 逆行追踪和免疫组织化学染色实验 本组实验共用 6 只大鼠，结合荧光金逆行追踪和免疫组织化学染色法，观察下丘脑外侧核 - 伏隔核 orexin-A 神经通路。

6 只大鼠，腹腔注射 10%的水合氯醛麻醉后俯卧位固定于脑立体定位仪，大鼠头部去毛行正中行矢状切口，3% H_2O_2 腐蚀组织和颅骨膜，暴露前囟和后囟。根据 Paxinos & Watson 大鼠脑图谱[32]定位伏隔核(前囟前 2.2 mm，旁开 1.5 mm，深度 7.5 mm)后牙科钻钻孔，微量进样器给予 FG 0.2 μL 3% (w/v)，注射停留 10 min 后缝合切口，每只大鼠单笼饲养 7 日，饮食自由术后连续 3 天给予 8 万单位青霉素腹腔注射以预防术后感染。注射荧光金 7 日后，给予大鼠灌注固定，并断头取脑，将取下的组织放置于 4%多聚甲醛溶液中进行后固定 4-6 h，30%蔗糖脱水 4℃保存，冰冻切片机连续冠状切片，切片厚度为 14 μm，弃去位置不准确者。切片 -40℃冰箱避光冻存。

给予切片双蒸水和 PBS 分别洗涤 3 次，每次 5 min，随后置于柠檬酸修复液中，微波修复 5 分钟。采用正常羊血清封闭非特异性抗原，孵育 1 h，甩干，加一抗(Orexin-A，1:200 稀释)，4℃下孵育过夜(避光)，再次 PBS 洗涤 3 次，每次 5 min，后二抗孵育 2 h(Cy3，1:500 稀释)，仍给予 PBS 洗涤，防淬灭油封片，于荧光显微镜下观察。在 LHA 处拍摄荧光金标记的脑细胞，并拍摄同一部位的 cy3 标记的脑细胞。

1.2.2 胃运动实验 54 只大鼠随机分为 6 组，每组 9 只：(a) 0.05 μg/0.5 μL orexin-A 组；(b) 0.5 μg/0.5 μL orexin-A 组；(c) 5.0 μg/0.5 μL orexin-A 组；(d) 5.0 μg/0.5 μL SB334867 组；(e) (0.5 μg orexin-A+5.0 μg SB334867)/0.5 μL 组；(f) 0.5 μL 生理盐水(NS)组。

60 只大鼠随机分 6 组每组 10 只：(g) LHA 假刺激组；(h) LHA 电刺激组；(i) 0.5 μL NS+LHA 假刺激组；(j) 0.5 μL NS+LHA 电刺激组；(k) 5.0 μg/0.5μL SB334867 + LHA 假刺激组；(l) 5.0 μg/0.5 μL SB334867 + LHA 电刺激组。以此来观察大鼠在体胃运动改变。

大鼠禁食 24 h 后，腹腔注射 10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉。行腹部切口，充分暴露胃部组织。在距幽门 0.5 cm 处的胃窦浆膜面沿环形肌的方向缝一应力传感器，经皮下将导线引至颈部固定，并暴露 3 cm 导线，缝合腹部切口。术后 4 天内，饮食自由。

将麻醉大鼠俯卧位置于脑立体定位仪上，定位至伏隔核和下丘脑外侧核，并将不锈钢套管置入伏隔核(前囟前 2.2 mm，旁开 1.5 mm，深度 7.5 mm)或下丘脑外侧核(前囟后 2.5 mm，旁开 2 mm，深度 8.5 mm)，采用 502 胶和自凝牙托粉固定套管，并将针灸内芯置入套管内，以避免套管阻塞。通过硅胶管将不锈钢内套管外与微量注射器用相连接，各类药物通过微量注射器注射至伏隔核。

胃运动实验开始前，给予大鼠禁食 24 小时，记录期间自由活动，并且自由摄取水分。实验开始时，为了降低环境因素的影响，先将大鼠喂养于特制鼠笼内 20 分钟以适应记录环境。将胃部压力传感器和外部桥式放大器相连，待大鼠稳定后，通过台式生理记录仪记录大鼠胃收缩波幅度与频率。各组在每次给药前，稳定记录胃运动 30 min，注射药物后再记录 60 min。通过胃收缩波幅度或频率的变化率来表示胃运动的变化。

胃收缩幅度或频率变化率 =

$$\frac{\text{注药后幅度或频率} - \text{注药前幅度或频率}}{\text{注药后幅度或频率}} \times 100\%$$

1.2.3 组织学检查 在每次细胞放电记录结束后，直流电通电使电极内的滂胺天蓝微电泳入脑组织内，以检验记录电极的位置。大鼠经心脏灌注固定，并断头取脑，随后制作冠状冰冻切片，镜下观察电极准确位置，并将不准确者弃去。

1.3 统计血分析

所有实验数据采用 SPSS20 软件分析，计量资料以 $\bar{X}$± SD 表示，两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析，以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 下丘脑外侧核 - 伏隔核 orexin-A 神经纤维投射

大鼠左侧伏隔核微量注射荧光金 (FG)0.2 μL，7 天后，荧光显微镜下可见双侧下丘脑外侧核内均有荧光金标记的神经元，并同侧居多(图 2.1A)，提示下丘脑外侧核(LHA)到伏隔核存在神经纤维投射。同一张切片荧光免疫组织化学染色，在荧光显微镜下可见下丘脑外侧核有 orexin-A 免疫阳性神经元表达(图 2.1B)，并镜下可见有部分荧光金和 orexin-A 双重染色的神经元(图 2.1C)，提示，下丘脑外侧核部分 orexin-A 免疫阳性神经元可发出纤维投射至伏隔核。

2.2 伏隔核微量注射 orexin-A 对大鼠胃运动的影响

给药前先记录 30-60 min 清醒大鼠胃运动曲线。待曲线稳定后，向伏隔核内注射不同浓度的 orexin-A。由表中数据显示，与注射生理盐水组相比，伏隔核微量注射不同浓度 orexin-A，大鼠胃运动幅度及运动频率均显著升高，且呈剂量依赖关系(P< 0.05，表 1)。在伏隔核微量注射 orexin-A 约 5 分钟后，胃运

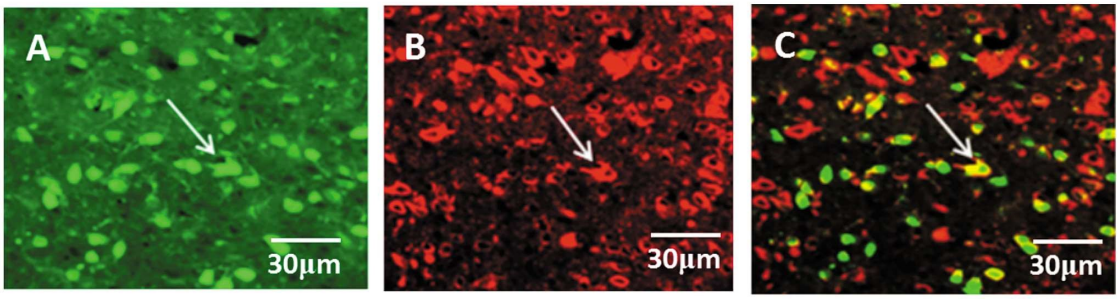

图 1 LHAFG/orexin-A 双标神经元

A:荧光金标记神经元;B:orexin-A 标记神经元;C:荧光金 /orexin-A 双标记神经元。

Fig. 1 FG/orexin-A dual labelled neurons in the lateral nucleus

A: FG labelled neurons; B:orexin-A labelled neurons; C: FG/orexin-A dual labelled neurons.

动幅度即呈现不同程度的增加，且注射不同浓度的 orexin-A，胃运动增加的持续时间也有所不同，分别持续约 10 min、15 min 和 20 min(表 1)。在给药约 10-15 min 后,与 0.05 μg orexin-A 组相比,伏隔核微量注射 0.5 μg 或 5.0 μg orexin-A,大鼠胃收缩幅度和频率均显著增加($p < 0.05$~0.01);伏隔核微量注射 orexin-A(0.5 μg)和拮抗剂 SB334867(5.0 μg)的混合液,orexin-A 引起的促胃运动效应减弱或消失(P<0.01,表 1)。与注射生理盐水对照组相比,伏隔核单独微量注射 orexin-A 拮抗剂 SB334867,大鼠胃运动幅度及运动频率均无显著变化(P>0.05,表 1)。

2.3 伏隔核微量注射 SB-334867 对电刺激下丘脑外侧核诱导的大鼠胃运动的影响

表 1 orexin-A 对大鼠胃运动的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 The effects of orexin - A on the gastric motility in rats

Group (n=9)	Amplitude (g)						
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
NS	6.97± 2.03	6.68± 1.73	7.14± 0.93	7.14± 0.85	7.16± 1.98	7.16± 2.04	7.15± 2.15
0.05 μg orexin-A	7.03± 1.87	6.59± 1.79	8.01± 0.53	7.03± 1.31	7.19± 2.21	7.22± 2.23	7.23± 2.14
0.5 μg orexin-A	6.83± 2.15	6.64± 2.01	10.25± 1.32*	10.17± 2.19*	7.52± 1.29	7.19± 2.15	7.42± 0.98
5.0 μg orexin-A	6.94± 1.68	6.72± 1.81	12.01± 2.91*#	11.86± 2.24*#	9.41± 2.53	7.85± 1.63	7.09± 1.59
5.0 μg SB-334867	7.01± 2.04	6.37± 1.65	6.85± 1.73	7.05± 0.78	7.24± 2.14	7.36± 2.01	7.21± 2.18
0.5 μg orexin-A+ 5 μg SB-334867	6.89± 1.76	6.63± 2.12	7.91± 2.68	7.69± 1.35	7.46± 1.38	7.24± 1.55	7.03± 1.43

Group (n=9)	Frequency (Hz)						
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min
NS	3.15± 0.97	3.07± 0.85	3.11± 0.24	3.15± 0.33	3.18± 0.62	3.21± 0.59	3.19± 0.75
0.05 μg orexin-A	3.23± 1.01	3.14± 1.02	3.08± 0.68	3.17± 0.77	3.29± 0.47	3.18± 0.71	3.24± 0.88
0.5 μg orexin-A	3.03± 0.74	2.97± 0.81	4.38± 0.56*	4.52± 0.61*#	3.31± 0.38	3.09± 0.82	3.15± 0.46
5.0 μg orexin-A	2.98± 0.76	3.04± 0.92	5.24± 0.41*△	5.39± 0.81*#	4.12± 0.59*#△	3.28± 0.41	3.20± 0.53
5.0 μg SB-334867	2.87± 0.83	3.10± 0.91	2.99± 0.51	3.02± 0.71	3.11± 0.93	3.22± 0.46	3.13± 0.68
0.5 μg orexin-A+ 5 μg SB-334867	3.05± 1.00	2.96± 0.69	3.47± 0.55△	3.36± 0.49△	3.30± 1.01	3.17± 0.69	2.99± 0.73

Note: *$p < 0.05$ vs. NS group; #$p < 0.05$ vs. 0.05 μg orexin-A group; △ $p < 0.05$ vs. 0.5 μg orexin-A group.

我们还通过电刺激下丘脑外侧核和核团注射药物对大鼠胃运动的影响,来探讨下丘脑外侧核 - 伏隔核 orexin-A 通路是否参与胃运动的调控。

表 4 数据显示,与假电刺激组相比,电刺激下丘脑外侧核后,经过 3-4 分钟的潜伏期,大鼠胃运动呈现明显增强效应,其收缩振幅和频率在电刺激约 14 min 后达到高峰(表 2)。与生理盐水或 SB334867+ 假刺激组相比,电刺激下丘脑外侧核,大鼠胃运动幅度和频率明显增强(P<0.05,表 2);与电刺激组相比,伏隔核预先微量注射 SB-334867,电刺激下丘脑外侧核对胃运动的刺激效应减弱(P<0.05,表 2)。

3 讨论

正常情况下,机体摄食、能量调控都处于一个动态平衡的状态,从而使机体得以维持自身的能量平衡稳定状态。在机体

表 2 SB-334867 对电刺激 LHA 诱导的大鼠胃运动的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 The effece of SB-334867 on gastric motility after electrical stimulation of LHA in rats

Group(n=10)	Amplitude (g)						
	0 min	4 min	9 min	14 min	19 min	24 min	29 min
SS	6.831.21	6.571.82	6.511.33	6.941.28	6.800.62	6.771.65	6.751.96
ES	7.132.11	6.901.61	9.242.16*	11.762.31*	11.211.47*	7.542.12	7.212.01
NS+SS	6.861.45	6.531.49	6.421.68	6.711.06	6.650.51	6.441.37	6.541.81
NS+ES	6.941.50	6.571.76	7.822.01	10.981.14△	9.911.28	6.611.39	6.581.74
SB-334867+SS	6.731.39	6.481.52	6.210.91	6.530.74	6.321.56	6.371.78	6.631.89
SB-334867+ES	7.151.92	7.041.99	8.031.25	9.431.18#	8.161.73	7.222.05	7.172.13

Group(n=10)	Frequency (Hz)						
	0 min	4 min	9 min	14 min	19 min	24 min	29 min
SS	3.351.04	3.390.89	3.410.76	3.410.41	3.370.35	3.280.64	3.400.81
ES	3.621.15	3.580.71	4.121.01	5.691.27*	4.650.85*	3.540.81	3.580.61
NS+SS	3.410.70	3.380.52	3.420.27	3.530.62	3.610.28	3.460.35	3.311.02
NS+ES	3.670.86	3.611.03	4.380.46△	5.060.74△	4.970.56△	3.710.62	3.290.74
SB-334867+SS	3.450.72	3.260.67	3.150.64	3.270.50	3.350.27	3.120.40	3.180.92
SB-334867+ES	3.581.02	3.510.73	3.540.49	4.410.82#	4.010.29#△	3.480.96	3.520.39

Note: *p < 0.05, vs. SSgroup; #p < 0.05 vs. SB-334867 + SS group; △ p < 0.05 vs. NS + SS group; ^p < 0.05 vs. NS + ES group.

对能量平衡的调控过程中,许多肽类都参与其中,如 orexins、神经肽 Y、刺鼠相关蛋白、leptin、黑色素刺激激素(MCH)及 nesfatin-1 等[20]。

目前研究发现,orexins 免疫阳性神经元胞体主要存在于下丘脑外侧区和穹窿周区,在其他区域内暂未发现其阳性神经元[3]。但是,orexins 的两个受体则广泛分布于整个中枢神经系统,诸如隔核、蓝斑核、海马和下丘脑等[21]。orexins 阳性神经纤维更是投射至整个脑区,其中在伏隔核、蓝斑和丘脑等区域分布密度较高[3,22]。本文采用逆行追踪和荧光金免疫组织化学染色技术研究发现,伏隔核微量注射荧光金 7 日后,在下丘脑外侧核区域发现了 orexin-A/ 荧光金双重标记的神经元, 这说明下丘脑外侧核中 orexin-A 神经元可直接纤维投射至伏隔核,两者之间可能存在 orexin-A 神经纤维通路。这一现象与之前的研究结果一致。

先前有报道指出,侧脑室微量注射 orexin-A 能够使大鼠胃运动活动增强[23,24]。本文通过在体胃运动实验,观察了 orexin-A 对大鼠胃运动的影响。伏隔核内微量注射 orexin-A 能够剂量依赖性地刺激大鼠胃运动的幅度和频率,预先微量注射 orexin-A 拮抗剂 SB-334867 可阻断此兴奋效应, 这说明, 外源性 orexin-A 可在伏隔核内对大鼠胃运动进行调控, 并且可能由 OX1 受体介导而完成的。此外,我们还研究发现,电刺激下丘脑外侧核,也能使大鼠胃运动活动增强,预先微量注射 orexin-A 拮抗剂 SB-334867 也可使此兴奋效应明显减弱,这说明,下丘脑外侧核在接受电刺激后,神经元内可能释放了内源性的 orexin-A 来调控大鼠胃运动,这一过程可能由 OX1R 介导。

下丘脑是参与机体能量平衡调节的重要区域,如摄食行为和胃肠功能[25,26]。有报道指出,伏隔核作为边缘系统的重要组成部分,也参与调控机体的多种生理功能,如学习记忆、药物成瘾和摄食行为等[27-29]。下丘脑外侧核中存在 orexin-A 神经元胞体,而其受体及阳性神经纤维则在下丘脑外侧核和伏隔核中都有分布和投射。可能肯定的是,在下丘脑外侧核对摄食行为的调控过程中,orexin-A 发挥着不容忽视的作用[30]。研究发现中枢性 orexin-A 可促进胃运动,这一过程与迷走神经通路有关[31],并且中枢性 orexin-A 也可在对功能性胃肠病的调节过程中发挥病理生理作用[32,33]。免疫荧光组织化学染色实验结果显示,下丘脑外侧核中存在 orexin-A 神经元纤维投射至伏隔核。在体胃运动研究显示,伏隔核内注射 orexin-A 能够刺激大鼠胃运动,微量注射 SB-334867 能够阻断此兴奋效应,而电刺激下丘脑外侧核同样能够使大鼠胃运动增强,微量注射 SB-334867 同样能够使此效应减弱或消失。

综上所述,下丘脑外侧核 - 伏隔核之间存在 orexin-A 神经功能通路,该通路可能参与机体对胃运动的调控,这一效应可能是通过 orexins 受体 1 信号通路介导完成的。

参 考 文 献(References)

[1] 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(8): 573-585

[2] Garcí a-Cá ceres C, Quarta C, Varela L, et al. Astrocytic Insulin Signaling Couples Brain Glucose Uptake with Nutrient Availability [J]. Cell, 2016, 166(4): 867-880

[3] Peyron C, Kilduff TS. Mapping the Hypocretin/Orexin Neuronal System: An Unexpectedly Productive Journey [J]. J Neurosci, 2017, 37(9): 2268-2272

[4] Pan S, Cabral CS, Ashley EA, et al. Orexin: a Missing Link Between Sleep Disorders and Heart Failure?[J]. Curr Heart Fail Rep, 2017, 14

(2): 100-105

[5] Perez-Leighton C, Little MR, Grace M, et al. Orexin signaling in rostral lateral hypothalamus and nucleus accumbens shell in the control of spontaneous physical activity in high- and low-activity rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2017, 312 (3): R338-R346

[6] Samson WK, Gosnell B, Chang JK, et al. Cardiovascular regulatory actions of the hypocretins in brain[J]. Brain Res, 1999, 831: 248-253

[7] Sengupta A, Bocchio M, Bannerman DM, et al. Control of Amygdala Circuits by 5-HT Neurons via 5-HT and Glutamate Cotransmission [J]. J Neurosci, 2017, 37(7): 1785-1796

[8] Mahler SV, Smith RJ, Moorman, DE, et al. Multiple roles for orexin/hypocretin in addiction[J]. Prog Brain Res, 2012, 198: 79-121

[9] Alexander N, Klucken T, Koppe G, et al. Interaction of the serotonin transporter-linked polymorphic region and environmental adversity: increased amygdala-hypothalamus connectivity as a potential mechanism linking neural and endocrine hyperreactivity [J]. Biol Psychiatry, 2012, 72(1): 49-56

[10] Blouin AM. Human hypocretin and melaninconcentrating hormone levels are linked to emotion and social interaction [J]. Nature Commun, 2013, 4: 1547

[11] Perez-Leighton CE, Boland K, Billington CJ, et al. High and low activity rats: elevated intrinsic physical activity drives resistance to dietinduced obesity in non-bred rats[J]. Obesity, 2013, 21: 353-360

[12] Petrovich GD, Hobin MP, Reppucci CJ. Selective Fos induction in hypothalamic orexin/ hypocretin, but not melanin-concentrating hormone neurons, by a learned food-cue that stimulates feeding in sated rats[J]. Neuroscience, 2012, 224: 70-80

[13] Mayannavar S, Rashmi KS, Rao YD, et al. Effect of Orexin-A infusion in to the Nucleus Accumbens on consummatory behaviour and alcohol preference in male Wistar rats [J]. Indian J Physiol Pharmacol, 2014, 58(4): 319-326

[14] Sun S, Xu L, Sun X, et al. Orexin-A affects gastric distention sensitive neurons in the hippocampus and gastric motilityand regulation by the perifornical area in rats[J]. Neurosci Res, 2016, 110: 59-67

[15] Martin-Fardon R, Weiss F. Blockade of hypocretin receptor-1 preferentially prevents cocaine seeking: comparison with natural reward seeking[J]. Neuroreport, 2014, 25(22): 485-493

[16] Anand BK, Brobeck JR. Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1951, 77: 323-324

[17] Anand BK, Brobeck JR. Localization of a 'feeding center' in the hypothalamus of the rat [J]. Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N, 1951, 77: 323-324

[18] Mavridis. The role of the nucleus accumbens in psychiatric disorders [J]. Psychiatrik, 2015, 25(4): 282-294

[19] Hikida T, Morita M, Macpherson T. Neural mechanisms of the nucleus accumbens circuit in reward and aversive learning [J]. Neurosci Res, 2016, 108: 1-5

[20] Hu B, Yang N, Qiao QC, et al. Roles of the orexin system incentral motor control[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2015, 49: 43-54

[21] Stricher-krongrad A, Richy S, Beck B. Orexins/hypocretins in the ob/ob mouse: hypothalamic gene expression, peptide content and metabolic effects[J]. Regul Pept, 2002, 104: 11-20

[22] 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]. J Physiol Pharmacol, 2016, 67(5): 643-652

[23] Shu Q, Zhang J, Ma W, et al. Orexin-A promotes Glu uptake by OX1R/PKCα/ERK1/2/GLT-1 pathway in astrocytes and protects co-cultured astrocytes and neurons against apoptosis in anoxia/ hypoglycemic injury in vitro [J]. Mol Cell Biochem, 2017, 425(1-2): 103-112

[24] Hao H, Luan X, Guo F, et al. Lateral hypothalamic area orexin-A influence the firing activity of gastric distension-sensitive neurons and gastric motility in rats[J]. Neuropeptides, 2016, 57: 45-52

[25] Sheng Z, Santiago AM, Thomas MP, et al. Metabolic regulation of lateral hypothalamic glucose-inhibited orexin neurons may influence midbrain reward neurocircuitry [J]. Mol Cell Neurosci, 2014, 62(16): 30-41

[26] Goforth P.B, Leinninger GM, Patterson CM, et al. Leptin acts via lateral hypothalamic area neurotensin neurons to inhibit orexin neurons by multiple GABA-independent mechanisms [J]. Neurosci, 2014, 34(8): 11405-11415

[27] FIoresco SB, Seamans JK, PiIIips AG. A seIective roIe for dopamine in the nucIeus accumbens of the rat in radome foraging but not deIayed spaciaI win-shift-based foragin [J]. Behav Brain Res, 1996, 80: 161-168

[28] Huda A, Meng F, Devine DF, et al. MoIecuIar and neuroanatomicaI properties of endogenous opiate system: impIications for treatment of opiate addiction[J]. Seminars in Neuroscience, 1997, 9: 70-83

[29] Wang J, Chang CC, Geng N, et al. Treatment of intractable anorexia nervosa with inactivation of the nucleus accumbens using stereotactic surgery[J]. Stereotact Funct Neurosurg, 2013, 91(6): 364-372

[30] Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, et al. Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: a new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function [J]. Neurosci, 2014, 34(14): 6495-6509

[31] Nozu T, Tuchiya Y, Kumei S, et al. Endogenous orexin-A in the brain mediates 2-deoxy-D-glucose-induced stimulation of gastric motility in freely moving conscious rats [J]. Gastroenterol, 2012, 47 (6): 404-411

[32] Okumura T, Nozu T. Role of brain orexin in the pathophysiology of functional gastrointestinal disorders [J]. J. Gastroenterol. Hepatol, 2011, 26(3): 61-66

[33] Chaleek N, Kermani M, Eliassi A, et al. Effects of orexin and glucose microinjected into the hypothalamic paraventricular nucleus on gastric acid secretion in conscious rats [J]. Neurogastroenterol. Motil, 2012, 24(5): e94-e102