

食欲素系统与物质成瘾

叶红明 舒奇钢 杨红卫 李自成*

(三峡大学医学院, 宜昌 443002)

摘要 成瘾是物质使用障碍的严重形式, 是一种以奖励、动机、记忆等功能紊乱为特征的慢性脑部疾病, 给个人和社会造成严重后果。食欲素是下丘脑食欲素能神经元分泌的一类神经肽, 不仅参与多种神经系统的正常生理功能, 也与多种神经系统疾病的发生有着密切关系。其中, 食欲素在物质成瘾中的作用研究正逐步得到重视, 现已证实食欲素在多种物质成瘾中发挥着重要作用, 但其机制尚未被充分阐明, 仍需进一步探索和研究。因此, 该文对食欲素系统在物质成瘾中作用的研究进展进行综述, 以期对物质成瘾的研究以及相关治疗提供新的思路。

关键词 下丘脑; 食欲素; 物质成瘾

Orexinergic System and Substances Addiction

YE Hongming, SHU Qigang, YANG Hongwei, LI Zicheng*

(Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract Addiction, a serious form of substance use disorder, is a chronic brain disease characterized by the dysfunction of reward, motivation, memory and other functions and induces serious individual and social problems. Orexins are neuropeptides secreted by hypothalamic orexinergic neurons, which are not only involved in regulation of physiological functions of the nervous system, but also closely related to many nervous diseases. Furthermore, the roles of orexins in substances addiction are getting more and more attention, and it has been proved that orexins play important roles in a variety of substances addiction. However, the underlying mechanisms have not been fully elucidated and are needed to be further explored. Therefore, this paper reviews the research progress on orexinergic system in substances addiction, in order to provide new ideas for the researches and treatments of substances addiction.

Keywords hypothalamus; orexin; substances addiction

物质成瘾是一种慢性复发性疾病, 其特征是成瘾物质长期作用于机体, 使机体在生理机能、生化过程, 甚至形态学上发生改变, 停止使用该物质则会导致机体的不适和/或心理上对其的渴求, 从而使使用动机增强、不顾负面后果强迫使用该物质, 最终导致成瘾的发生^[1]。由于物质成瘾的生物学机制尚未被研究清楚, 临床干预手段和药物治疗效果

有限, 物质成瘾成为脑科学与公共卫生的难题之一, 给个人、家庭及社会发展造成巨大负担。探索物质成瘾机制, 寻求治疗新通路和靶点, 是目前物质成瘾干预的重要方向。1998年, 食欲素(orexin)能神经元在下丘脑中被首次发现, 后来陆续有研究发现食欲素能神经元广泛投射到与成瘾有关的脑区^[2]。而且越来越多的研究表明, 食欲素在阿片类药物、

收稿日期: 2021-09-06 接受日期: 2021-10-19

国家自然科学基金(批准号: 81971248)资助的课题

*通讯作者: Tel: 13872471482, E-mail: zichengli@ctgu.edu.cn

Received: September 6, 2021 Accepted: October 19, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81971248)

*Corresponding author. Tel: +86-13872471482, E-mail: zichengli@ctgu.edu.cn

可卡因类、烟碱类、苯丙胺类等物质成瘾中发挥着重要作用^[3-6]。因此食欲素系统有望作为治疗物质成瘾的潜在靶点。现就近年来食欲素系统及其在各类精神活性物质成瘾中的研究进展予以综述。

1 食欲素系统概述

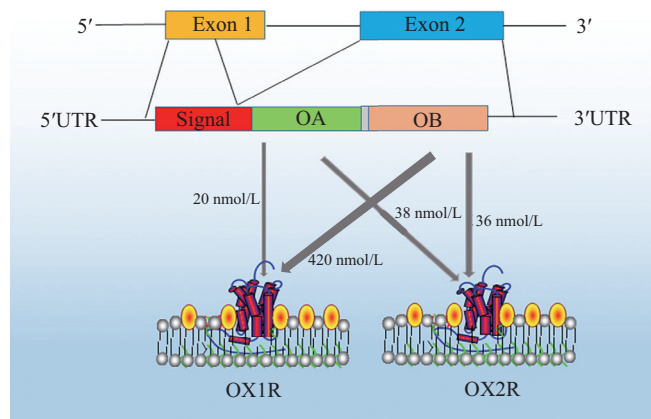
食欲素是下丘脑分泌的一种神经肽^[2]。DE LECEA等^[7]从Wistar大鼠的下丘脑中鉴定和克隆了由569个核苷酸组成的转录物,该转录物编码由130个氨基酸组成的前肽,由于其在大脑中的表达局限于下丘脑背侧区域的大细胞,且其蛋白序列与肽激素的肠降血糖素家族相似,因此被称为下丘脑泌素(Hypocretin, *Hcrt*)。因为该转录物在外侧下丘脑(lateral hypothalamus, LH)中表达,脑室内给予该转录物编码的肽可以诱发进食欲望,食物的摄取量跟注射的肽呈现明显的剂量依赖性,因此这种肽被命名为食欲素^[2,8]。

食欲素有两种亚型:食欲素-A(orexin-A, OA)和食欲素-B(orexin-B, OB)。它们均是从同一前体通过蛋白水解衍生而来,同属于G蛋白偶联受体的内源性配体^[9]。关于食欲素,研究发现编码人类食欲素前体蛋白的DNA序列包含1 432个碱基对(base pair, bp),由2个外显子和1个内含子组成,第一个外显子包括5'非翻译区(untranslated region, UTR)和编码分泌信号序列的前7个残基的编码区,第二个外显

子包含开放阅读框(open reading frame, ORF)的剩余部分和3'UTR^[10]。关于食欲素的氨基酸组成,通过MALDI质谱分析发现,OA是由33个氨基酸构成的信号肽,OB包含28个氨基酸,OB序列与OA的同源性为46%^[2]。关于食欲素的种属差异,研究发现OA和OB高度保守,其中,对于OA而言,人的OA序列与啮齿动物、牛和猪的OA完全相同;对于OB而言,人的OB与啮齿动物序列相比有2个氨基酸替换,与猪序列相比有1个氨基酸替换^[10](图1)。这表明食欲素具有重要的生理作用。

OA和OB均可作用于两种不同的G蛋白偶联受体:食欲素受体1(orexin 1 receptor, OX1R)和食欲素受体2(orexin 2 receptor, OX2R)。OA对两种受体具有几乎相等的亲和力,其对OX1R、OX2R的 IC_{50} 值分别为20 nmol/L和38 nmol/L,但是OB对OX1R的亲和力显著低于OX2R,其对OX1R、OX2R的 IC_{50} 值分别为420 nmol/L和36 nmol/L^[2,11](图1)。

虽然合成食欲素的神经元位于下丘脑,但食欲素神经元在整个中枢神经系统包括前额叶皮层(medial prefrontal cortex, mPFC)、丘脑室旁核(paraventricular nucleus of thalamus, PVT)、伏隔核(nucleus accumbens, NAc)、中脑腹侧背盖区(ventral tegmental area, VTA)、中央杏仁核(central amygdala nucleus, CeA)、海马(hippocampus, Hip)、蓝斑(locus coeruleus, LC)等脑区投射十分广泛^[12-16]。食欲素通过调



人的食欲素前体基因由2个外显子和1个内含子构成。人源食欲素mRNA包含5'非翻译区、信号肽、编码OA或OB的开放阅读框和3'非翻译区。OA对OX1R、OX2R的 IC_{50} 值分别为20 nmol/L和38 nmol/L, OB对OX1R、OX2R的 IC_{50} 值分别为420 nmol/L和36 nmol/L。

DNA of human prepro-orexin contains two exons and one intron. The mRNA of human orexin, including the 5'UTR, signal peptide, ORF (open reading frame) encoding OA or OB, and 3'UTR. The IC_{50} of OA combined with OX1R and OX2R were 20 nmol/L and 38 nmol/L, respectively. The IC_{50} of OB combined with OX1R and OX2R were 420 nmol/L and 36 nmol/L, respectively.

图1 食欲素的分子结构(根据参考文献[10]修改)

Fig.1 Molecular structures of orexins (modified from the reference [10])

节这些脑区的活动对睡眠、食物摄取、新陈代谢、奖励和物质成瘾等行为进行调控^[17]。在这里,我们将重点关注食欲素系统在物质成瘾中的作用。

2 食欲素在物质成瘾中的作用

成瘾物质的奖赏效应、戒断效应和戒断后的复吸一直是成瘾研究的重点和难点。到目前为止,关于食欲素系统在物质成瘾中的作用研究主要集中在成瘾物质的奖赏效应以及成瘾物质的复吸2个方面^[18-19]。接下来将对食欲素在阿片类、可卡因类、烟碱类、甲基苯丙胺类等物质成瘾中发挥的作用进行综述。

2.1 阿片类

阿片类药物成瘾是一个重要的全球问题,其主要代表性药物就是吗啡^[20]。

中脑边缘多巴胺系统是物质成瘾的结构基础,该系统涵盖了VTA、NAc、Hip区以及与之形成突触联系的mPFC等脑区,这些脑区接受大量来自于外侧下丘脑的神经纤维投射并且表达大量的OX1R和OX2R^[21-22]。同时,有研究表明,外侧下丘脑表达大量的阿片受体,并且这些受体可以调控外侧下丘脑食欲素能神经元的活动,这就提示这些脑区的食欲素能系统可能跟阿片成瘾密切相关^[23]。

LUPINA等^[24]的研究发现,雄性瑞士小鼠吗啡成瘾后,一方面,其中脑边缘通路上的mPFC、Hip等脑区食欲素的mRNA表达水平上升;另一方面,在给予非选择性食欲素受体拮抗剂Almorexant后,吗啡诱导的行为敏化得到抑制,说明食欲素系统在吗啡奖赏效应中发挥着重要作用,并且这种作用跟吗啡引起的食欲素表达上调有关系。

为了搞清楚食欲素介导吗啡奖赏效应的受体和脑区机制,FARAHIMANESH等^[25]研究发现,在雄性Wistar大鼠的VTA内注射有效剂量的选择性OX1R拮抗剂SB-334867或选择性OX2R拮抗剂TC-SOX229皆可显著抑制吗啡诱导的条件性位置偏爱(conditioned place preference, CPP)的获取和表达。另外,在雄性Wistar大鼠双侧NAc注射OX1R拮抗剂SB-334867或选择性OX2R拮抗剂TC-SOX229均可抑制吗啡诱导的CPP和行为敏化^[26]。这些结果表明,食欲素系统在吗啡引起的奖赏效应中可以通过VTA和NAc中的OX1R和OX2R发挥作用。

除了VTA和NAc脑区外,Hip也是大脑奖赏环路

的一个重要组成部分^[27]。ALIJANPOUR等^[28]通过Morris水迷宫装置观察雄性Wistar大鼠CA1区OX1R在吗啡奖赏记忆过程中的作用,发现在吗啡奖赏记忆的表达阶段,在雄性Wistar大鼠CA1区注射OX1R的特异性拮抗剂,吗啡引起的奖赏记忆会被破坏。另外,FARAHIMANESH等^[16]评估了在Hip的CA1区注射OX1R拮抗剂SB-334867对吗啡诱导的Wistar大鼠CPP的影响,他们发现,连续3天皮下注射吗啡可诱导出CPP,而在CA1区注射低浓度OX1R拮抗剂SB-334867可减弱吗啡诱导的CPP。上述两项研究表明,CA1区的OX1R也在吗啡引起的奖赏效应中发挥重要作用。

由前述研究可知,食欲素系统在吗啡引起的奖赏效应中发挥重要作用,目前发现其作用的脑区涵盖VTA和NAc以及Hip的CA1区,涉及到的受体包括OX1R和OX2R,但是其具体调控机制尚不清楚。

2.2 可卡因类

可卡因成瘾是一种慢性精神性疾病^[15]。食欲素是调节可卡因摄取的关键分子之一,研究发现,食欲素系统正是通过作用于中脑边缘多巴胺系统参与可卡因的奖赏和强化过程的^[29]。

BAIMEL等^[30]发现,OA可以使投射到NAc的VTA区的DA神经元的放电活动增加,以此调整DA信号的输出来促进奖赏效应,并且证明了OA是通过OX1R发挥作用的。可卡因成瘾的Sprague-Dawley大鼠在可卡因戒断150天之后,下丘脑中食欲素的表达量显著增加,而选择性敲低下丘脑的OX1R,可显著降低Sprague-Dawley大鼠获取可卡因的动机^[5]。SHAW等^[31]发现跟野生型小鼠相比,在食欲素基因敲除的C57BL/6J中,通过腹腔注射可卡因,未能形成CPP;而且,通过微透析法和在体快速扫描循环伏安法检测发现,食欲素基因敲除的C57BL/6J小鼠,其NAc中DA的基础释放水平明显降低,更重要的是,其接受腹腔注射可卡因后,NAc中DA的释放也明显减少。LEVY等^[32]的研究也发现,新型OX1R拮抗剂RTIOX-276可以降低Sprague-Dawley大鼠可卡因自我给药的动机,减弱可卡因诱导的DA神经元的放电信号,并降低奖励线索诱导的DA信号。另外,BERNSTEIN等^[33]通过将腺相关病毒注射到Sprague-Dawley大鼠的VTA脑区中,检查敲低的Hcrtr1(hypocretin receptor 1)基因对NAc的DA信号转导和可卡因自我给药的影

响,发现在敲低食欲素基因的雄性Sprague-Dawley大鼠中,NAc脑区中DA释放减少、吸收速率减慢以及可卡因的摄取动机减弱。上述研究说明,可卡因可以激活下丘脑的食欲素能神经元,使得在VTA区释放的食欲素增多,食欲素作用于VTA脑区的OX1R,进而激活VTA区的DA神经元,使得NAc脑区中DA信号增强,从而引起强烈的奖赏效应和强化效应,最终导致可卡因成瘾。

除了奖赏效应和强化效应外,复吸风险是可卡因成瘾中无法回避的另一个重要问题。研究发现,在成瘾物质复吸的分子机制中,食欲素就是一个重要的分子。MARTIN-FARDON等^[34]发现处于可卡因戒断后复吸期的Wistar大鼠,其下丘脑中表达c-Fos的食欲素细胞的百分比显著增加(c-Fos是神经元激活的标志物^[35])。这就提示食欲素在可卡因复吸中发挥着潜在作用。为了进一步明确食欲素系统在可卡因复吸中的作用, MATZEU等^[36]通过训练雄性Wistar大鼠每天自我注射可卡因6 h,连续21天,使Wistar大鼠对可卡因产生依赖。然后,大鼠接受可卡因戒断训练。戒断后,在大鼠的PVT后部(the posterior section of the PVT, pPVT)微注射OA可恢复大鼠的可卡因寻觅行为。关于pPVT内OA诱导可卡因复吸的受体机制的研究表明, pPVT内注射SB-334867对OA诱导的可卡因复吸没有任何影响,而pPVT内注射TCSOX229可阻止OA诱导的可卡因寻觅行为^[37]。因此, pPVT脑区的OX2R而不是OX1R在介导可卡因复吸中发挥着重要作用。

上述研究表明,在可卡因成瘾中,下丘脑-VTA-NAc环路中的OX1R在可卡因的奖赏效应和强化效应中发挥着重要作用, pPVT脑区的OX2R在可卡因复吸中发挥着重要作用,说明在可卡因成瘾的不同阶段,食欲素发挥作用的脑区和作用的受体类型不同。然而,关于食欲素介导这些成瘾行为的更深入的机制尚不清楚,仍需要进一步探究。

2.3 烟碱类

烟碱类主要代表性物质是烟草。吸烟是与全球数百万人死亡相关的主要成瘾行为,尼古丁是一种作用于烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)的天然精神活性激动剂,其在香烟中含量很高,并且是导致成瘾的主要精神活性成分^[38]。有研究发现,食欲素与尼古丁成瘾有着密切的关系^[39]。DEHKORDI等^[40]使用免疫组织化学

等方法在尼古丁的成瘾回路如VTA、NAc等脑区中发现了食欲素纤维的投射,并且用神经活动标记物c-Fos来标记食欲素细胞,发现了尼古丁能够激活VTA脑区中由食欲素支配的DA能细胞和非DA能细胞。这些结果表明,尼古丁可以显著激活食欲素能神经元,提示食欲素能神经元激活是介导尼古丁成瘾的重要机制之一。为了进一步明确食欲素系统在尼古丁成瘾中的作用, AZIZI等^[41]通过给雄性Wistar大鼠皮下注射尼古丁成功诱导出CPP,然后在双侧VTA分别或者同时微注射CB1R拮抗剂AM251和OX2R拮抗剂TCOX229,发现其抑制了尼古丁诱导的CPP和尼古丁的摄取,说明食欲素系统确实介导了尼古丁的奖赏效应,并且这种奖赏效应是通过CB1R和OX2R实现的。

为了进一步明确食欲素介导尼古丁成瘾的机制, AZIZI等^[42]通过体细胞记录发现,雄性Wistar大鼠皮下注射尼古丁,增加了VTA的非DA神经元活动;将CB1R拮抗剂AM251和OX2R拮抗剂TCOX229同时微注射到VTA,抑制了尼古丁引起的非DA神经元活动。另外,在NAc脑区,通过单细胞膜片钳记录发现,尼古丁使NAc神经元兴奋性增强,且给予OX2R拮抗剂TCOX229,可以显著抑制由尼古丁诱导的NAc神经元兴奋性增强^[43]。另有研究发现,NAc脑区表达OX2R和CB1R,在NAc脑区微注射OX2R拮抗剂TCOX229和CB1R拮抗剂AM251,可以显著抑制由尼古丁诱导的NAc神经元兴奋性的增强^[44]。因此,VTA和NAc中的OX2R和CB1R在尼古丁成瘾中可能存在潜在的相互作用,这种相互作用可能是导致尼古丁成瘾的重要机制。

目前的研究成果表明,食欲素主要通过作用于OX2R激活中脑边缘系统的非DA能神经元进而介导尼古丁成瘾。更重要的是,前述结果表明,VTA和NAc中的OX2R和CB1R在尼古丁成瘾中存在某种相互作用,需要进一步通过细胞信号转导的研究来确定它们之间的联系。

2.4 苯丙胺类

苯丙胺类主要代表性物质是甲基苯丙胺(methamphetamine, METH), METH是一种高度成瘾的精神兴奋剂^[45]。CHEN等^[46]发现, METH成瘾者的血清OA表达水平升高,提示食欲素与METH成瘾有着密切关系。为了明确食欲素系统在METH成瘾中的作用, KHOSROWABADI等^[47]研究发现在NAc中微

量注射OX1R拮抗剂SB-334867或OX2R拮抗剂TC-SOX229, 均可减少METH诱导的CPP的获得, OX1R拮抗剂可以抑制METH诱导的CPP表达, 但OX2R拮抗剂对METH诱导的CPP表达没有影响。上述结果表明, OX1R和OX2R在METH成瘾中的作用存在明显差异, 这可能成为对METH成瘾机制进行研究的一个重要切入点。

上述结果表明, 食欲素系统在METH成瘾中发挥着重要作用。但是, 食欲素调节METH成瘾的具体机制尚不清楚。

2.5 酒精类

酒精是世界上最常被滥用的物质, 有研究发现食欲素系统在酒精成瘾中发挥着重要作用。LEI等^[48]研究发现, 在NAc内侧壳区(medial NAc Shell, mNAsh)中微量注射选择性OX1R拮抗剂SB-334867, 显著地减少了C57BL/6J小鼠尤其是重度饮酒小鼠的酒精摄入量, 表明OX1R是介导酗酒的重要分子。为了进一步探明食欲素系统介导酗酒的神经机制, LEI等^[49]开展了离体电生理实验, 研究发现OA通过作用于OX1R增强了C57BL/6J小鼠mNAsh神经元的放电活动。因此, OX1R是介导酒精成瘾的重要分子, 酒精可能通过改变mNAsh中的OA-OX1R信号转导, 增加mNAsh神经元的放电活动, 进而介导酒精成瘾的发生, 但OA-OX1R信号通路通过何种机制增加mNAsh神经元的放电活动仍不清楚。

3 小结与展望

物质成瘾是一种慢性脑部疾病, 容易复发, 其病因和发病机制较复杂, 尚未被完全了解。虽然目前研究证实了食欲素在吗啡、可卡因、尼古丁、甲基苯丙胺等物质成瘾中都发挥着重要作用, 但是这些研究还存在一些局限性: 首先, 目前的研究主要从宏观层面关注食欲素系统在动物成瘾行为中的作用, 缺乏从神经环路、脑区、细胞、分子各个层面的系统深入研究, 尤其缺乏对食欲素介导物质成瘾的分子机制的探讨; 其次, 成瘾物质可以导致一系列情绪和精神状态的变化如焦虑和抑郁, 目前食欲素系统在这方面的研究还相对薄弱; 最后, 从对食欲素系统的研究手段看, 目前的研究方法主要局限于经典的行为学、生化、药理等手段, 这些方法的特异性相对较弱, 导致人们对食欲素系统的认识不足, 因此可以在以后的研究中引入更加精确的调控手段如

光遗传学、化学遗传学、基因编辑等手段。尽管如此, 现有的研究已经表明, 食欲素系统对成瘾行为的调控具有重要作用, 随着研究的深入, 食欲素系统有可能成为治疗物质成瘾的重要靶点。

参考文献 (References)

- [1] KOOB G F, VOLKOW N D. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis [J]. *Lancet Psychiatry*, 2016, 3(8): 760-73.
- [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): 573-85.
- [3] RAYATSANATI K, JAMALI S, HASSANLOU A A, et al. Blockade of orexin receptors in the hippocampal dentate gyrus reduced the extinction latency of morphine-induced place preference in male rats [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 756: 135946-51.
- [4] ZLEBNIK N E, HOLTZ N A, LEPAK V C, et al. Age-specific treatment effects of orexin/hypocretin-receptor antagonism on methamphetamine-seeking behavior [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2021, 224: 108719-28.
- [5] JAMES M H, STOPPER C M, ZIMMER B A, et al. Increased number and activity of a lateral subpopulation of hypothalamic orexin/hypocretin neurons underlies the expression of an addicted state in rats [J]. *Biol Psychiatry*, 2019, 85(11): 925-35.
- [6] FARTOOTZADEH R, AZIZI F, ALAEI H, et al. Functional crosstalk of nucleus accumbens CB1 and OX2 receptors in response to nicotine-induced place preference [J]. *Neurosci Lett*, 2019, 698: 160-4.
- [7] 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): 322-7.
- [8] BERNARDIS L L, BELLINGER L L. The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1996, 20(2): 189-287.
- [9] JANOCKOVA J, DOLEZAL R, NEPOVIMOVA E, et al. Investigation of new orexin 2 receptor modulators using *in silico* and *in vitro* methods [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2926-39.
- [10] WANG C, WANG Q, JI B, et al. The orexin/receptor system: molecular mechanism and therapeutic potential for neurological diseases [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 220-35.
- [11] GOTTER A L, WEBBER A L, COLEMAN P J, et al. International union of basic and clinical pharmacology. LXXXVI. orexin receptor function, nomenclature and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 389-420.
- [12] MORALES-MULIA S, MAGDALENO-MADRIGAL V M, NICOLINI H, et al. Orexin-A up-regulates dopamine D2 receptor and mRNA in the nucleus accumbens Shell [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(12): 9689-97.
- [13] REN S, WANG Y, YUE F, et al. The paraventricular thalamus is a critical thalamic area for wakefulness [J]. *Science*, 2018, 362(6413): 429-34.
- [14] AGHAJANI N, POURHAMZEH M, AZIZI H, et al. Central blockade of orexin type 1 receptors reduces naloxone induced activation of locus coeruleus neurons in morphine dependent rats [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 755: 135909-16.

- [15] SCHMEICHEL B E, HERMAN M A, ROBERTO M, et al. Hypocretin neurotransmission within the central amygdala mediates escalated cocaine self-administration and stress-induced reinstatement in rats [J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 81(7): 606-15.
- [16] FARAHIMANESH S, KARIMI S, HAGHPARAST A. Role of orexin-1 receptors in the dorsal hippocampus (CA1 region) in expression and extinction of the morphine-induced conditioned place preference in the rats [J]. *Peptides*, 2018, 101: 25-31.
- [17] LIU J J, MIRABELLA V R, PANG Z P. Cell type- and pathway-specific synaptic regulation of orexin neurocircuitry [J]. *Brain Res*, 2020, 1731: 145974-97.
- [18] VOLKOW N D, MICHAELIDES M, BALER R. The neuroscience of drug reward and addiction [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 2115-40.
- [19] MOZAFARI R, JAMALI S, POURHAMZEH M, et al. The blockade of D1- and D2-like dopamine receptors within the dentate gyrus attenuates food deprivation stress-induced reinstatement of morphine-extinguished conditioned place preference in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2020, 196: 172967-76.
- [20] NOROZPOUR Y, ZARRABIAN S, REZAAE L, et al. D1- and D2-like receptors in the dentate gyrus region of the hippocampus are involved in the reinstatement induced by a subthreshold dose of morphine and forced swim stress in extinguished morphine-CPP in rats [J]. *Behav Neurosci*, 2019, 133(6): 545-55.
- [21] NAGHAVI F S, NAMVAR P, SADEGHZADEH F, et al. The involvement of intra-hippocampal dopamine receptors in the conditioned place preference induced by orexin administration into the rat ventral tegmental area [J]. *Iran J Pharm Res*, 2019, 18(1): 328-38.
- [22] LI J, LI H, WANG D, et al. Orexin activated emergence from isoflurane anaesthesia involves excitation of ventral tegmental area dopaminergic neurones in rats [J]. *Br J Anaesth*, 2019, 123(4): 497-505.
- [23] ZARRABIAN S, RIAHI E, KARIMI S, et al. The potential role of the orexin reward system in future treatments for opioid drug abuse [J]. *Brain Res*, 2020, 1731: 146028-80.
- [24] LUPINA M, TARNOWSKI M, BARANOWSKA-BOSIACKA I, et al. SB-334867 (an orexin-1 receptor antagonist) effects on morphine-induced sensitization in mice—a view on receptor mechanisms [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(11): 8473-85.
- [25] FARAHIMANESH S, ZARRABIAN S, HAGHPARAST A. Role of orexin receptors in the ventral tegmental area on acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in the rats [J]. *Neuropeptides*, 2017, 66: 45-51.
- [26] ASSAR N, MAHMOUDI D, MOUSAVI Z, et al. Role of orexin-1 and -2 receptors within the nucleus accumbens in the acquisition of sensitization to morphine in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 373: 112090.
- [27] TROUCHE S, KOREN V, DOIG N M, et al. A hippocampus-accumbens tripartite neuronal motif guides appetitive memory in space [J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1393-406.
- [28] ALIJANPOUR S, TIRGAR F, ZARRINDAST M R. Role of dorsal hippocampal orexin-1 receptors in memory restoration induced by morphine sensitization phenomenon [J]. *Neuroscience*, 2016, 312: 215-26.
- [29] SHAW J K, FERRIS M J, LOCKE J L, et al. Hypocretin/orexin knock-out mice display disrupted behavioral and dopamine responses to cocaine [J]. *Addict Biol*, 2017, 22(6): 1695-705.
- [30] BAIMEL C, LAU B K, QIAO M, et al. Projection-target-defined effects of orexin and dynorphin on VTA dopamine neurons [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(6): 1346-55.
- [31] SHAW J K, FERRIS M J, LOCKE J L, et al. Hypocretin/orexin knock-out mice display disrupted behavioral and dopamine responses to cocaine [J]. *Addict Biol*, 2017, 22(6): 1695-705.
- [32] LEVY K A, BRODNIK Z D, SHAW J K, et al. Hypocretin receptor 1 blockade produces bimodal modulation of cocaine-associated mesolimbic dopamine signaling [J]. *Psychopharmacology*, 2017, 234(18): 2761-76.
- [33] BERNSTEIN D L, BADVE P S, BARSON J R, et al. Hypocretin receptor 1 knockdown in the ventral tegmental area attenuates mesolimbic dopamine signaling and reduces motivation for cocaine [J]. *Addict Biol*, 2018, 23(5): 1032-45.
- [34] MARTIN-FARDON R, CAUVI G, KERR T M, et al. Differential role of hypothalamic orexin/hypocretin neurons in reward seeking motivated by cocaine versus palatable food [J]. *Addict Biol*, 2018, 23(1): 6-15.
- [35] HUDSON A E. Genetic reporters of neuronal activity: c-Fos and G-CaMP6 [J]. *Methods Enzymol*, 2018, 603: 197-220.
- [36] MATZEU A, MARTIN-FARDON R. Cocaine-seeking behavior induced by orexin A administration in the posterior paraventricular nucleus of the thalamus is not long-lasting: neuroadaptation of the orexin system during cocaine abstinence [J]. *Front Behav Neurosci*, 2021, 15: 620868-77.
- [37] MATZEU A, KERR T M, WEISS F, et al. Orexin-A/Hypocretin-1 mediates cocaine-seeking behavior in the posterior paraventricular nucleus of the thalamus via orexin/hypocretin Receptor-2 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 359(2): 273-9.
- [38] STOJANOVIC T, BENES H, AWAD A, et al. Nicotine abolishes memory-related synaptic strengthening and promotes synaptic depression in the neurogenic dentate gyrus of miR-132/212 knockout mice [J]. *Addict Biol*, 2021, 26(2): e12905-20.
- [39] KHOO S Y, MCNALLY G P, CLEMENS K J. The dual orexin receptor antagonist TCS1102 does not affect reinstatement of nicotine-seeking [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e173967-82.
- [40] DEHKORDI O, ROSE J E, DAVILA-GARCIA M I, et al. Neuroanatomical Relationships between orexin/hypocretin-containing neurons/nerve fibers and nicotine-induced c-Fos-activated cells of the reward-addiction neurocircuitry [J]. *J Alcohol Drug Depend*, 2017, 5(4): 273-89.
- [41] AZIZI F, FARTOOTZADEH R, ALAEI H, et al. Effects of concurrent blockade of OX2 and CB1 receptors in the ventral tegmental area on nicotine-induced place preference in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2018, 684: 121-6.
- [42] AZIZI F, FARTOOTZADEH R, ALAEI H, et al. Electrophysiological study of the response of ventral tegmental area non-dopaminergic neurons to nicotine after concurrent blockade of orexin receptor-2 and cannabinoid receptors-1 [J]. *Brain Res*, 2019, 1719: 176-82.
- [43] FARTOOTZADEH R, AZIZI F, ALAEI H, et al. Orexin type-2 receptor blockade prevents the nicotine-induced excitation of nucleus accumbens core neurons in rats: an electrophysiological perspective [J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 71(2): 361-6.
- [44] FARTOOTZADEH R, ALAEI H, REISI P. Mutual assistance of nucleus accumbens cannabinoid receptor-1 and orexin receptor-2

- in response to nicotine: a single-unit study [J]. *Res Pharm Sci*, 2021, 16(2): 173-81.
- [45] TU G, YING L, YE L, et al. Dopamine D1 and D2 receptors differentially regulate Rac1 and Cdc42 Signaling in the nucleus accumbens to modulate behavioral and structural plasticity after repeated methamphetamine treatment [J]. *Biol Psychiatry*, 2019, 86(11): 820-35.
- [46] CHEN W Y, KAO C F, CHEN P Y, et al. Orexin-A level elevation in recently abstinent male methamphetamine abusers [J]. *Psychiatry Res*, 2016, 239: 9-11.
- [47] KHOSROWABADI E, KARIMI-HAGHIGHI S, JAMALI S, et al. Differential roles of intra-accumbal orexin receptors in acquisition and expression of methamphetamine-induced conditioned place preference in the rats [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(9): 2230-41.
- [48] LEI K, KWOK C, DAREVSKY D, et al. Nucleus accumbens shell orexin-1 receptors are critical mediators of binge intake in excessive-drinking individuals [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 88-102.
- [49] LEI K, WEGNER S A, YU J H, et al. Nucleus accumbens shell and mPFC but not insula orexin-1 receptors promote excessive alcohol drinking [J]. *Front Neurosci*, 2016, 10: 400-13.