
オレキシン作動系と
情動行動の発現・選択のメカニズム

研究課題番号 17500197

平成 17～18 年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））

研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 高草木 薫

（旭川医科大学・医学部・助教授）

はしがき

平成17年度から文部省化学研究費補助金（基盤C）の助成のもとに行われました「オレキシン作動系と情動行動の発現・選択のメカニズム」は2年間の研究期間を終了し、ここに研究成果報告書をまとめることになりました。研究計画の全てが達成できたわけではありませんが、幾つかの新しい知見が得られたと考えております。報告書をまとめるにあたりまして各分野の専門家の先生方から率直なご批判を頂ければ幸いです。

研究組織

研究代表者； 高草木 薫（旭川医科大学生理学神経機能分野 助教授）
共同研究者； 奥村 利勝（旭川医科大学総合診療部 教授）
柏柳 誠（旭川医科大学生理学神経機能分野 教授）
富田 望（東北大学電気通信研究所 産学官連携研究員）

研究協力者； 原田 広文（旭川医科大学口腔外科学講座 助手）
小山 純正（福島大学共生システム理工学類 教授）
高橋 和己（福島医科大学生理学第二講座 助手）

研究経費

平成15年度	2,500 千円
平成16年度	1,000 千円

研究発表

1. 学会誌等

A : 英文雑誌

高草木 薫

1. Harada H, Takakusaki K, Kita S, Matsuda M, Nonaka S, Sakamoto T, (2005). Effects of injecting GABAergic agents into the medullary reticular formation upon swallowing induced by the superior laryngeal nerve stimulation in decerebrate cats. *Neurosci Res*, 51; 395-404.
2. Takakusaki K, Takahashi K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Kayama Y, Koyama Y, (2005). Orexinergic projections to the cat midbrain mediate alternation of emotional behavioural states from locomotion to cataplexy. *J Physiol*, 568; 1003– 1020.
3. Yamada H, Takahashi N, Tanno S, Nagamine M, Takakusaki K, Okumura T, (2005). A selective orexin-1 receptor antagonist, SB-334867, blocks 2-DG -induced gastric acid secretion in rats. *Neurosci Lett*, 376; 137-142.
4. Takakusaki K, Saitoh, K, Kashiwayanagi M, (2006). The pedunculopontine nucleus and the basal ganglia in locomotion. *In: Recent Breakthroughs in Basal Ganglia Research*, (ed by E. Bezard), Nova Science Publishing Co. New York, pp133-149.
5. Takakusaki K, Saitoh K, Nonaka S, Okumura T, Miyokawa N, Koyama Y (2006). Neurobiological basis of state-dependent control of motor behavior. *Sleep Biol Rhyth*, 4; 87-104.
6. Takakusaki K, (in press). Forebrain control of locomotor behaviors. *Brain Res Rev*.
7. Yamada H, Tanno S, Takakusaki K, Okumura, T, (in press). Intracisternal injection of orexin-A prevents ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *J Gastroenterol*.
8. Adachi M, Nonaka S, Katada A, Arakawa A, Ota R, Harada H, Takakusaki K, Harabuchi Y, (in press). Laryngeal muscle activity and airway reflexes during a carbachol-induced REM sleep in decerebrate cats. *Neurosci Res*.
9. Takakusaki K, (in press). What are the Neurophysiologic Substrates of Normal and Abnormal Gait? *J Neurol*.

奥村 利勝

10. Inoue M, Ohtake T, Motomura W, Takahashi N, Hosoki Y, Miyoshi S, Suzuki Y, Saito H, Kohgo Y, Okumura T, (2005). Increased expression of PPAR γ in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochem Biophys Res Com*, 336, 215-222.
11. Takakusaki K, Takahashi K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Koyama Y, (2005). Orexinergic projections to the midbrain mediate alternation of emotional behavioral states from locomotion to cataplexy. *J Physiol*, 568: 1003-1020.
12. Koizumi K, Tanno S, Nakano Y, Habiro A, Izawa T, Mizukami Y, Okumura T, Kohgo Y, (2005). Activation of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase is Necessary for Gemcitabine-Induced Cytotoxicity in Human Pancreatic Cancer Cells. *Anticancer Res*, 25:3347-53.
13. Okumura T, (2005). Brain or gut? : Site of action of adrenomedullin to regulate gut motility. *J Gastroenterol*, 40: 1161-1162.
14. Motomura W, Tanno S, Takahashi N, Nagamine M, Fukuda M, Kohgo Y, Okumura T, (2005). Involvement of MEK-ERK signaling pathway in the inhibition of cell growth by troglitazone in human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Com*, 332 :89-94.
15. Tanno S, Nakano Y, Osanai M, Koizumi K, Izawa T, Habiro A, Mizukami Y, Yanagawa N, Fujii T,

Okumura T and Kohgo Y, (2006). A Phase I study of oral UFT prior to weekly intravenous gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Chemotherapy*, 52: 98-102.

16. Motomura W, Inoue M, Ohtake T, Takahashi N, Nagamine M, Tanno S, Kohgo Y, Okumura T, (2006). Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochem Biophys Res Com*, 340, 1111-1118.

17. Yamada H, Tanno S, Takakausaki K, Okumura, T, (in press). Intracisternal injection of orexin-A prevents ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *J Gastroenterol*.

柏柳 誠

18. Tomioka M, Murayama T, Kashiwayanagi M, (2005). Increases in plasma concentration of progesterone by protease-sensitive urinary pheromones in female rats. *Biol Pharm Bull*, 28(9):1770-1772

19. Murakami M, Matsui H, Shiraiwa T, Suzuki T, Sasano H, Takahashi E, Kashiwayanagi M, (2006). Decreases in pheromonal responses at the accessory olfactory bulb of mice with a deficiency of the alpha1B or beta3 subunits of voltage-dependent Ca²⁺-channels. *Biol Pharm Bull*, 29(3):437-442.

20. Takakusaki K, Saitoh, K, Kashiwayanagi M, (2006). The pedunculopontine nucleus and the basal ganglia in locomotion. *In: Recent Breakthroughs in Basal Ganglia Research*, (ed by E. Bezdard), Nova Science Publishing Co. New York, pp133-149.

21. Shiraiwa T, Kamiyama N, Kashiwayanagi M, (2007). Decreases in urinary pheromonal activities in male mice after exposure to 3-methylchoranthrene. *Toxicol Lett*, 2007 Mar 8;169(2):137-144.

22. Shiraiwa T, Kashiwayanagi M, Iijima T, Murakami M, (in press). Involvement of the calcium channel beta3 subunit in olfactory signal transduction. *Biochem Biophys Res Com*.

富田 望

23. Tomita N, Yano M, (2006). Real-time Control of Bipedal Movement based on Basal ganglia and Brainstem Systems. *Proc. of SICE-ICASE International Joint Conference 2006*. pp 4499-4502.

24. Yoshihara Y, Tomita N, Asano T, Makino Y, Yano M, (2006). Control of Reaching Movement in Unpredictably Changing Environment by Constraints Emergence and Satisfaction. *Proc. of SICE-ICASE International Joint Conference 2006*. pp 5067-5072.

B : 邦文雑誌など

高草木 薫

1. 高草木 薫 (2005) 大脳基底核による運動制御機構 日本ロボット学会雑誌, 23; 2-5.

2. 高草木 薫・浅間 一 (2006) 移動知: 行動からの知能理解 - 構成論的観点と生物学的観点から - 計測と制御, 44; 580-589.

3. 野中聡, 太田亮, 片田彰博, 原田広文, 高草木薫, 原渕保明 (2006) 音刺激による喉頭フィードバック機構 日本気管食道学会会報 57(2); 73-79

4. 高草木 薫 (2006) ヒトの脳と運動制御 - 脳の理解とリハビリテーションのために - 長崎理学療法雑誌 7, 1-10.

5. 小山純正, 高草木薫 (2007) オレキシンによる筋緊張の調節 医学のあゆみ 220(9); 5442-5448

6. 高草木 薫・富田 望・矢野 雅文・土屋 和雄 (2006) 移動知研究の可能性 - 医療応用の観点から - 文部科学省・特定領域研究: 身体・脳・環境の相互作用による適応的運動機能の発現. 第一回一般公開シンポジウム講演資料集 pp9-16.

7. 高草木 薫 (印刷中) 睡眠時の筋緊張制御機構「睡眠学」朝倉書店
8. 高草木 薫 (印刷中) 脚橋被蓋核—網様体脊髄路系と筋緊張の制御 **Clinical Neuroscience**
9. 矢野 雅文, 富田 望 (2005) 実環境における 2 足歩行の創発的リアルタイム制御 日本ロボット学会誌, 23 (1); 11-16
10. 矢野 雅文, 富田 望, 牧野 悌也 (2006) 随意運動のための「見なし情報」の創発 計測と制御, 44; 590-595

2. 口頭発表

A; 国内学会一般演題

- 1) Takakusaki K.
A new category of spinal interneurons that mediate muscular atonia
第 82 回 日本生理学会
2005 年 5 月 18-20 日 (仙台)
- 2) 高草木 薫, 富田 望, 矢野 雅文
歩行・筋緊張と大脳基底核
第 20 回日本大脳基底核研究会
2005 年 7 月 9-10 日 (豊橋)
- 3) Bando Y, Takakusaki K, Terayama R, Kashiwayanagi M and Yoshida S
Conduction properties of corpus callosum in mice in vivo
第 28 回日本神経科学学会
2005 年 7 月 26-28 日 (横浜)
- 4) 高草木 薫
筋緊張抑制を誘発する脊髄内介在細胞の神経生理学的同定
第 86 回北海道医学大会
2005 年 9 月 3 日 (札幌)
- 5) Takakusaki K, Saitoh K.
Synaptic mechanisms acting on motoneurons with reference to the basal ganglia control of locomotion.
第 83 回 日本生理学会
2006 年 3 月 28-30 日 (前橋)
- 6) 高草木 薫, 齋藤 和也
大脳基底核による歩行運動制御のメカニズム
第 87 回 北海道医学大会
2006 年 9 月 9 日 (札幌)
- 7) 富田 望, 矢野 雅文
筋緊張調節系による身体力学特性のリアルタイム制御
計測自動制御学会第 6 回システムインテグレーション部門学術講演会 SI2005
2005 年 12 月 16-18 日 (熊本)

B; 国内学会・シンポジウムおよび招待講演

- 1) Takakusaki K
Neurobiological Basis of Sleep Regulation with reference to the Motor Control
第 30 回 日本睡眠学会定期学術集会
2005 年 6 月 30 日 - 7 月 1 日 (宇都宮)
- 2) Takakusaki K
Basal ganglia control of brain function Symposium on "Update on research in basal ganglia; aim at clinical application"
第 28 回 日本神経科学学会

2005年7月26日-28日(横浜)

- 3) 高草木 薫
随意運動に伴う姿勢や筋緊張の調節
第14回 脳生理研修会
2005年10月22日(福岡)
- 4) 高草木 薫
行動発現の神経基盤
計測自動制御学会第18回自律分散システム・シンポジウム
2006年1月26-27日(福井)
- 5) 高草木 薫
運動制御と理学療法
第17回 長崎県理学療法士会学会
2006年2月18-19日(長崎)
- 6) 高草木 薫
歩行における基底核の役割
第21回 日本大脳基底核研究会
2006年6月24-25日(湘南)
- 7) Takakusaki K
The Basal ganglia and gait control
第29回 日本神経科学学会
2006年7月19-21日(京都)
- 8) 高草木 薫
ヒトは何故眠るのか
平成18年度北海道精神神経学会学術研究会
2006年10月16日(札幌)
- 9) 高草木 薫
筋緊張の制御機構とその異常
第5回 ジストニア研究会
2007年1月21日(東京)
- 10) 富田 望, 矢野 雅文
実時間筋緊張制御によるヒト歩行特性の創発的獲得
計測自動制御学会第18回自律分散システム・シンポジウム
2006年1月26-27日(福井)
- 11) 吉原佑器, 富田 望, 浅野智孝, 牧野悌也, 矢野雅文
拘束条件生成充足による実環境下の随意運動制御 -制御パラメータのリアルタイム調節-
2006年1月26-27日(福井)
計測自動制御学会第18回自律分散システム・シンポジウム
- 12) 富田 望, 浅野 智孝, 矢野 雅文
拘束条件生成充足による随意運動の制御スキーム
計測自動制御学会第19回自律分散システム・シンポジウム
2007年1月29-30日(大岡山)
- 13) 吉原佑器, 富田 望, 牧野悌也, 矢野雅文
拘束条件生成充足による実環境下の随意運動制御 -動力学パラメータ推定による制御則の自律的遷移-
計測自動制御学会第19回自律分散システム・シンポジウム
2007年1月29-30日(大岡山)
- 14) 富田 望, 矢野 雅文
実環境における2足歩行の創発的リアルタイム制御
第21回 日本大脳基底核研究会

2006年6月24-25日(湘南)

C ; 国際学会・一般演題

- 1) Takakusaki K, Saitoh K
A new category of spinal interneurons that mediate atonia in cats
35th Society for Neuroscience
2005, November 12-16, Washington DC, USA
- 2) Harada H, Takakusaki K, Bando Y, Nonaka S, Matsuda M.
GABAergic control of swallowing in cats
35th Society for Neuroscience
2005, November 12-16, Washington DC, USA
- 3) Takakusaki K
Functional organization of spinal interneuronal systems involved in the control of postural muscle tone
36th Society for Neuroscience
2006, October 14-18, Atlanta, USA.
- 4) Tomita N, Yano M, (2006). Real-time Control of Bipedal Movement based on Basal ganglia and Brainstem Systems.
SICE-ICASE International Joint Conference 2006.
Oct. 18-21, 2006 in Bexco, Busan, Korea
- 5) Yoshihara Y, Tomita N, Asano T, Makino Y, Yano M, (2006). Control of Reaching Movement in Unpredictably Changing Environment by Constraints Emergence and Satisfaction.
SICE-ICASE International Joint Conference 2006
Oct. 18-21, 2006 in Bexco, Busan, Korea

D ; 国際シンポジウム招待講演

- 1) Takakusaki K
The control of basal ganglia on postural muscle tone and locomotion. A symposium on "The Neural Control of Locomotion: From Genes to Behavior Track".
Congress of International Union of Physiological Science (IUPS)
2005, March 31-April 5, San-Diego, USA.
- 2) Takakusaki K.
Forebrain control of locomotor behaviors
Wenner-Gren Foundations International Symposium: "Networks in Motion"
2006, August 30- September 2, Stockholm, Sweden

研 究 成 績 · 研 究 成 果

オレキシン作動系と情動行動の発現・選択のメカニズム

研究結果要約

逃走か？カタプレキシーか？オレキシン作動系は情動行動の選択に寄与する

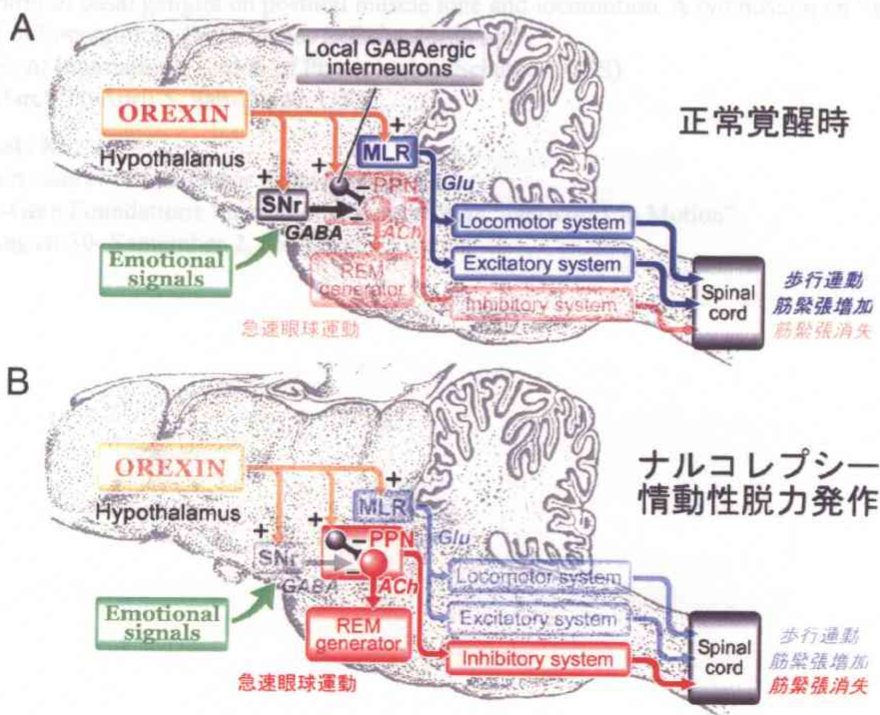
サイエンストピックス-34

掲載:2006/3/13, 更新:2006/03/13 11:47:19, 旭川医科大学 生理学第二講座 高草木 薫

日本生理学会 ホームページ ; サイエンストピック <http://physiology.jp/exec/page/stopics34/>

喜びや驚愕、恐怖など情動刺激は、辺縁系や視床下部から脳幹への投射系を介して情動行動を誘発します。通常、情動刺激は筋緊張の亢進や逃走・逃避(歩行)行動などを誘発しますが、ナルコレプシーでは「レム睡眠様の筋緊張消失(情動性脱力発作;カタプレキシー)」を誘発します。この疾患では脳内神経ペプチドの一つであるオレキシンが減少しています。しかし、オレキシンの減少がどのようなメカニズムで情動性脱力発作を誘発するのか?については未だ説明されていません。

外側視床下部に存在するオレキシンニューロンは中枢神経系全体に投射していますが、私共は、「中脳へ投射するオレキシン作動系が歩行と筋緊張レベルを調節する」ことを見出しました(*Journal of Physiology*, 568, 1003-1020, 2005)。オレキシン存在下(正常・覚醒時)では、脳幹から脊髄に下行する歩行運動系や筋緊張促進系の興奮性が高く維持され、筋緊張抑制系の活動は抑制されています。この抑制には脚橋被蓋核(PPN)や黒質網様部(SNr)のGABA作動性ニューロンが関与します。その結果、脳幹に到達する情動刺激の信号は筋緊張亢進や歩行を誘発します(A)。一方、オレキシンが減少すると、歩行運動系や筋緊張促進系の興奮性は低下し、筋緊張抑制系の興奮性が上昇します。従って、ナルコレプシーでは、情動刺激が筋緊張抑制系を駆動して情動性脱力発作を誘発すると考えられます(B)。



研究の背景と目的

歩行と行動の選択

外界と動物内部との環境との相互関係から、我々の随意行動と情動行動は無意識のうちに選択されている。大脳皮質からの出力は随意運動の発現に、辺縁系や視床下部の出力は情動や感情を起点とする行動発現に関与する(図1)。特に強い情動変化を喚起する感覚刺激は自律神経反応を伴う情動行動を誘発する。

歩行の開始や停止、そして障害物を回避する歩行動作には、随意的なコントロールが必要である。この随意的な歩行の発現や制御には、大脳皮質から大脳基底核、脳幹・脊髄への投射系が重要な役割を担う。一方、危険からの逃避や逃避などの歩行動作は情動行動の一つである。この情動行動としての歩行には、大脳辺縁系・視床下部から脳幹・脊髄への投射が関与する(図1A)。

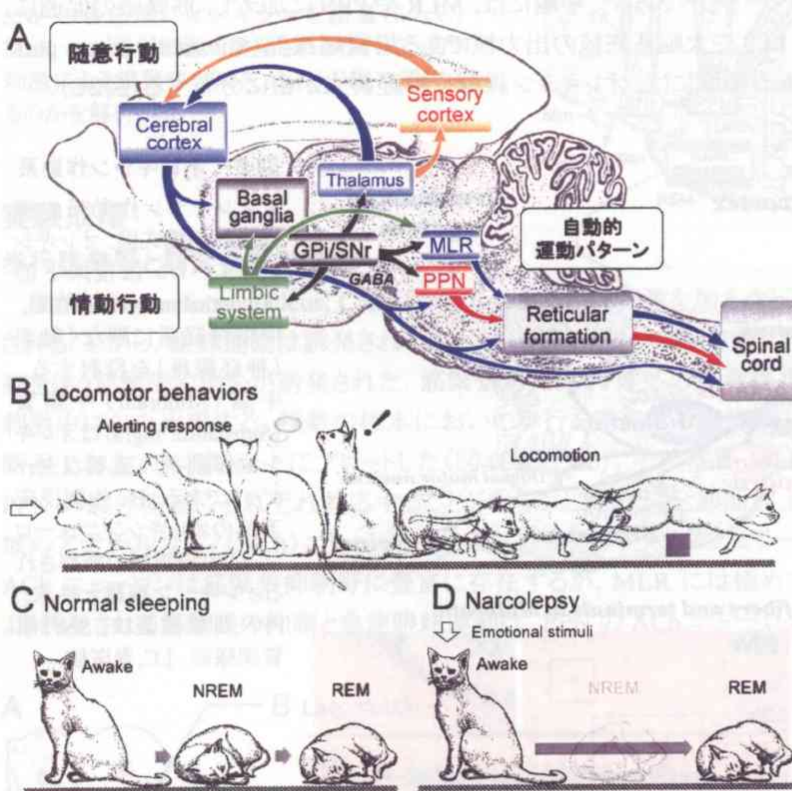


図1 随意行動と情動行動

A. 随意行動の発現には、大脳皮質(Cerebral cortex)から大脳基底核(Basal ganglia)や脳幹・脊髄(Spinal cord)への投射系が関与する。基底核の出力(淡蒼球内節/黒質網様部; GPI/SNr)は中脳歩行誘発野(MLR)や脚橋被蓋核(PPN)の筋緊張調節領域に働く。MLRやPPNの信号は脳幹網様体(Reticular formation)を介して脊髄に伝達される。B. ネコの歩行行動。危険などの感覚刺激により、覚醒反応(Alerting response)と引き続く回避(歩行)行動が出現する。強力な刺激では覚醒反応なしにネコは逃避行動に移る。C. 正常の睡眠。覚醒(Wakefulness)、ノンレム睡眠(NREM)を経てレム(REM)が出現する。D. しかし、ナルコレプシーでは、情動刺激により覚醒から突如レム睡眠様の筋緊張消失が出現する。

脳幹と脊髄には歩行運動の基本的システムが存在する。中脳には、歩行や筋緊張の制御に関与する領域が存在する。前者は中脳歩行誘発野(Midbrain locomotor region; MLR)、後者は脚橋被蓋核(Pedunculopontine tegmental nucleus; PPN)に存在する筋緊張抑制野である。除脳ネコ標本において、MLRに加えた微小連続電気刺激は歩行運動を誘発し、PPNに加えた電気刺激は、レム睡眠と同様の筋緊張消失を誘発する¹。双方の領域から脳幹網様体(Reticular formation)を経由して脊髄に投射するシステムは、歩行におけるリズムカルな四肢(上下肢)の動作や自動的な筋緊張レベルの設定など、自動的な歩行運動に関与すると考えられている(図1A)。従って、大脳皮質や大脳辺縁系から脳幹に至る投射系のどちらが、歩行運動の基本システムを駆動するのか?によって随意的な歩行と情動行動との“切換え”や“選択”が行われると推定される。

情動行動とナルコレプシー

通常、情動刺激は筋緊張の亢進や歩逃避行動を誘発する(図1B)。しかし、ナルコレプシーでは情動刺激がレム睡眠様の筋緊張消失を誘発する(図1D)。これはどのような様なメカニズムによるのであろうか?ナルコ

レプシーは、①情動性脱力発作(カタプレキシー; Cataplexy)、②昼間の傾眠③レム(REM)睡眠関連症状、などを主症状とする疾患である²。

上に示した様に、情動行動は大脳辺縁系・視床下部から中脳への投射系により誘発されること、そして、中脳には、歩行誘発野や筋緊張抑制野が存在することを考慮すると、情動刺激は“歩行行動”か“筋緊張の消失”のどちらかを誘発すると考えられる。

オレキシン作動系と中脳

近年、摂食調節物質として注目されていたオレキシン(Orexin)がナルコレプシーの発現に関与することも解明された。イヌのナルコレプシーではオレキシン受容体が欠如しており³、ヒトのナルコレプシー患者では脳内オレキシンの低下が報告されている⁴。オレキシン作動性ニューロンは、傍弓脳外側視床下部(Perifornical lateral hypothalamus)に豊富に存在し(図2B)、中枢神経系に限らず神経線維を投射する(図2A)⁵。特に、中脳はオレキシン系のターゲットである⁶。中脳には、MLRやPPNに加えて、筋緊張の促進に関与する青斑核(Locus coeruleus; LC)や大脳基底核の出力核である黒質網様部(Substantia nigra pars reticulata; SNr)なども存在する。各々の領域には、オレキシン線維や神経終末が密に分布する(図2C)。

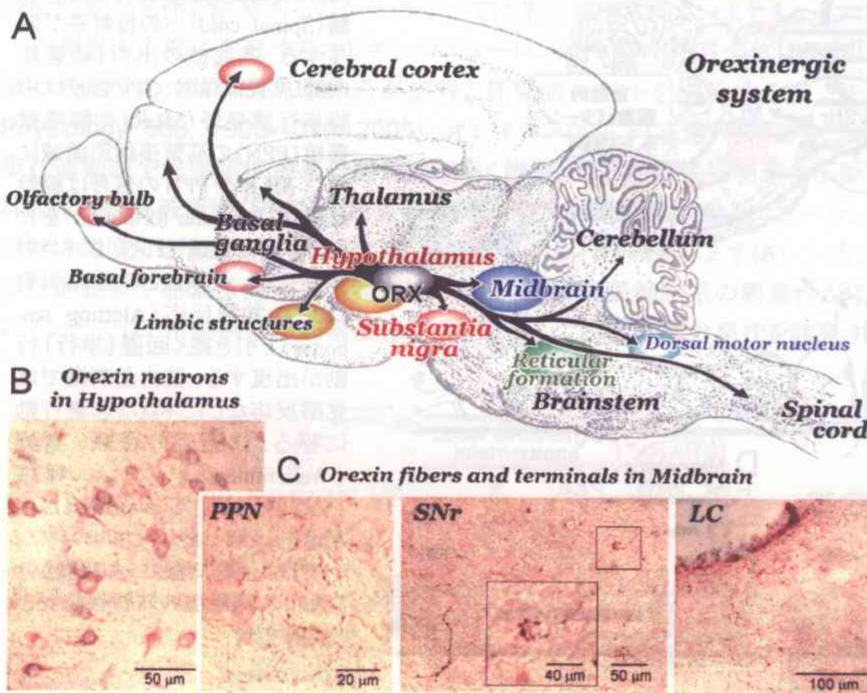


図2 オレキシン作動系

A. オレキシン作動系の線維投射の模式図。オレキシンニューロンは視床下部(Hypothalamus)に存在し、中枢神経系に限らず軸索(神経線維)を投射する。中脳(Midbrain)や黒質(Substantia nigra)はオレキシン作動系の重要なターゲットである。B. 外側視床下部のオレキシンニューロン。C. 中脳領域で観察されるオレキシン線維と終末。PPN;脚橋被蓋核, SNr;黒質網様部, LC;青斑核。

作業仮説

そこで本研究では、中脳被蓋に投射するオレキシン作動系が作用する際には情動刺激が歩行を誘発するが、オレキシン作動系が働かない状況では、情動刺激がレム睡眠様の筋緊張消失を誘発するという作業仮説を立て、これを動物実験により検証することとした。そして、得られた成績から、情動行動の制御におけるオレキシン作動系の機能的意義をナルコレプシーにおける情動性脱力発作のメカニズムを考察した。

研究を遂行する上における重要なポイントは、1) 情動刺激の信号は辺縁系・視床下部から直接脳幹へ伝達される。2) 中脳には歩行誘発野(MLR)とレム睡眠様の筋緊張消失と急速眼球運動を誘発する領域(PPN)とが隣接する。3) PPNは黒質網様部(SNr)からのGABA作動性投射を受けている。4) MLR, PPN, SNrはオレキシン作動性投射を受けている。の4点である。

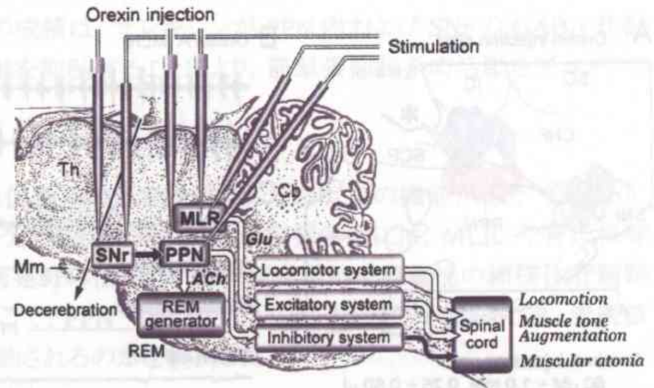
実験方法

実験は旭川医科大学動物実験指針および、NIH Guideに従った。実験には成ネコ24匹(体重2.1~

3.4kg) を用いた。笑気・ハロセン麻酔下において、上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶ面上において上位脳を中脳から外科的に離断した。両側の前頭洞に記録電極を装着し眼球運動 (Electro-oculogram; EOG) を導出・記録した。また、50 μ m のステンレスワイヤー一対を左右のヒラメ筋に刺入し、筋電図 (Electro-myogram; EMG) を導出・記録した。MLR 或は PPN に連続微小電気刺激 (10-60 μ A, 40-100Hz) を加え、各々歩行運動や急速眼球運動を伴う筋緊張の消失 (REM with atonia) を誘発した。次に MLR, PPN, SNr に Orexin A を微量注入し (60 μ M -1.0 mM, 0.25 μ l), MLR や PPN への刺激の効果がどの様に修飾されるのかを解析した。

図3 実験の Framework

中脳に投射するオレキシン作動性投射の役割を解析するため、中脳に存在する MLR, PPN, SNr の各領域にオレキシンを微量注入し、MLR への電気刺激で誘発される歩行や、PPN 刺激による筋緊張の消失が、どの様に変わっていくのかを解析した。



実験成績

歩行誘発野と筋緊張抑制領域

楔状核 (Cuneiform nucleus; CNF) に 40 μ A, 50 Hz の刺激を加えると、トレッドミル上における歩行が誘発される。しかし、眼球運動は誘発されなかった。一方、PPN の腹側部に同様の刺激を加えると、急速眼球運動を伴う筋緊張の消失が誘発された。筋緊張消失は PPN への刺激停止後も持続したが、急速眼球運動は刺激中のみ出現する。複数の標本において歩行を誘発する部位と筋緊張消失を誘発する部位とを前額断面上および矢状断面上にプロットした (図4Da と Db)。その結果 MLR は楔状核に、筋緊張抑制部位は PPN の腹外側部にそれぞれ対応することが明らかとなった。全額断面上において PPN と楔状核を含む領域のアセチルコリン (ACh) ニューロンをコリンアセチルトランスフェラーゼを用いて染色した。その結果、ACh ニューロンは筋緊張抑制野に豊富に存在するが、MLR には極めて少なかった。従って、PPN 刺激により誘発される筋緊張の抑制と急速眼球運動は、PPN の ACh ニューロンの活動によるものと考えられる。

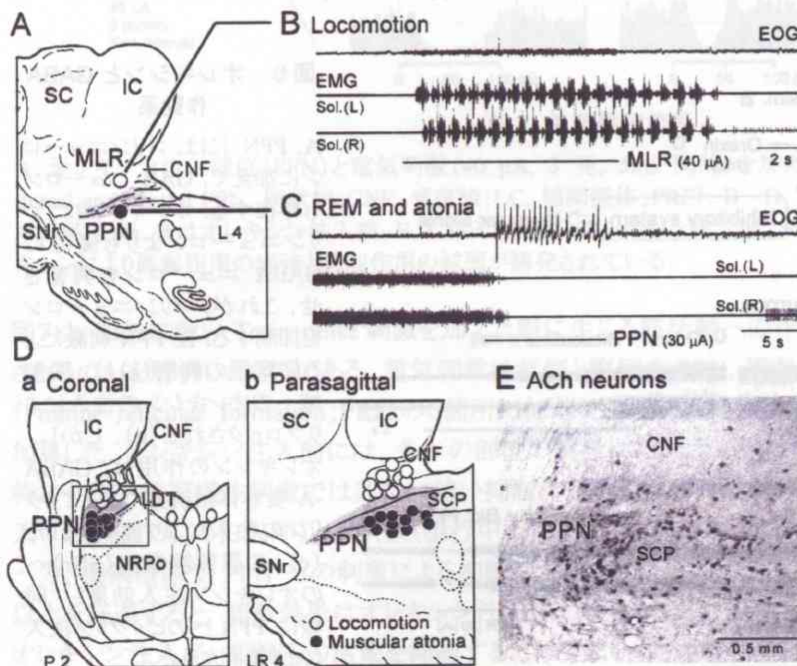


図4 歩行と筋緊張の抑制

A. 中脳矢状断面における刺激部位。 B. MLR の刺激によるトレッドミル歩行。 C. PPN 刺激による筋緊張消失と急速眼球運動。急速眼球運動は PPN 刺激中のみ観察されるが、筋緊張の消失は刺激停止後も持続していた。 B, C は、上段から、眼球運動 (EOG)、左右のヒラメ筋 (Sol) 筋電図 (EMG) を示している。 D. 歩行誘発野 (○) と筋緊張抑制領域 (●)。 a と b は、各々前額断面と矢状断面。 MLR は楔状核 (CNF) に、筋緊張抑制野は PPN の腹外側部に相当する。 E. コリンアセチルトランスフェラーゼにより同定したコリン (ACh) ニューロン。写真の領域は Da の枠の領域に相当する。 ACh ニューロンは PPN に分布するが、楔状核には存在しない。

オレキシンによる歩行と筋緊張の調節

24頭のネコで合計 29 箇所におレキシンの注入を試みた。注入領域を図5A に示した。MLR におレキシンを注入する (n=10) と歩行を誘発するのに必要な電気刺激の閾値が低下した (図5E)。一部のネコでは、電気刺激を必要とせず、トレッドミルを動かすだけで自発的な歩行運動が誘発された (図5B)。

PPN におレキシンを注入する (n=11) と PPN 刺激で誘発される REM with atonia の発現がブロックされた (図5C)。また、SNr におレキシンを注入しても (n=8)、同様に PPN 刺激で誘発される REM with atonia の発現がブロックされた (図5D)。筋緊張抑制に必要な PPN 刺激の強度は、PPN や SNr へのオレキシン注入により有意に増加した (図5E)。

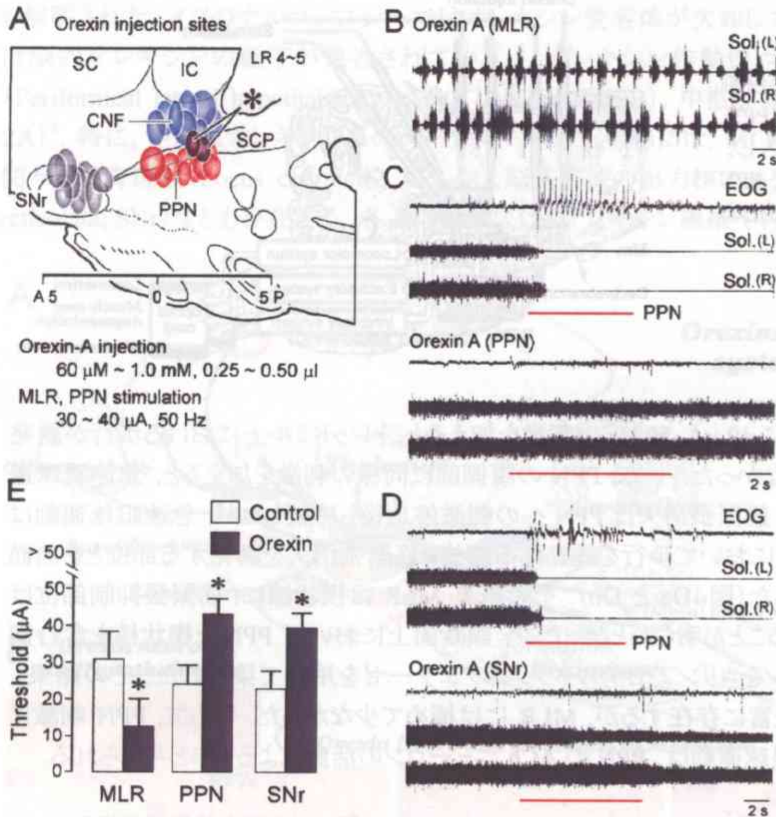


図5 オレキシンによる歩行と筋緊張の調節

A. 中脳矢状断面におけるオレキシンの注入領域。*で示した領域への注入は、歩行と筋緊張の双方へ影響を及ぼした。B. MLR へのオレキシン注入により、MLR への電気刺激を加えずとも歩行が誘発された。記録は左右のヒラメ筋の筋電図。C. PPN 刺激により誘発される REM and atonia (上段) は PPN へのオレキシンによりブロックされた (下段)。D. PPN 刺激の効果 (上段) は SNr へのオレキシンによってもブロックされた (下段)。C, D の記録は上から眼球運動、左右のヒラメ筋の筋電図。E. MLR, PPN, SNr へのオレキシン注入の効果。MLR へのオレキシン注入により歩行を誘発するために必要な電気刺激の刺激強度は有意に減少した (n=10, *p<0.005)。一方、PPN や SNr へのオレキシン注入により、筋緊張の抑制に必要な PPN への電気刺激強度は有意に増加した (n=11, *p<0.003; PPN, *n=8, p<0.011; SNr)。

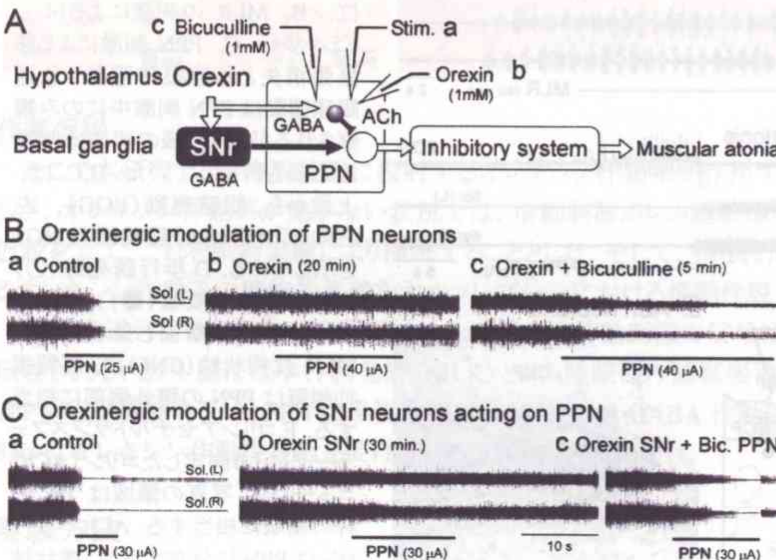


図6 オレキシンと GABA 作動系

A. PPN には、コリンニューロンに加えて、GAB ニューロンも存在する。オレキシンは、コリンニューロンよりも優位に GABA ニューロンを興奮させ、これが、コリンニューロンを抑制する。B. PPN 刺激による筋緊張の抑制 (a) は、同領域へのオレキシンの注入によりブロックされる (b)。しかし、オレキシンの作用は、GABA-A 受容体拮抗薬であるビククリンの注入により抑制された (c)。C. 黒質網様部 (SNr) へのオレキシン注入効果も、同様に PPN へのビククリン注入により抑制された。

一般的にオレキシンは、神経細胞を興奮させる作用があり⁷、アセチルコリン細胞もオレキシンにより興奮することが知られている⁸。そこで、PPNへのオレキシン注入の作用は、この領域に存在するGABAニューロンを介して誘発される可能性がある。そこで、PPN内のGABAニューロンがこのプロセスに関与するか否かを検討した(図6)。

PPNに電気刺激を加えると筋緊張が消失する(図6Ba)。そして、PPNにオレキシンを注入すると、PPNの効果はブロックされた(図6Bb)。しかし、GABA-A受容体の拮抗薬である、ビククリン(Bicuculline)をPPNに注入すると、PPNの電気刺激の効果が回復した(図6Bc)。同様に、PPNへのビククリン注入は、SNrへのオレキシンの効果もブロックした(図6C)。これらの成績は、オレキシンがPPN内およびSNrのGABA作動性細胞を賦活し、これがコリン作動性細胞の活動を抑制することにより、筋緊張抑制系の活動をブロックすることを示唆するものである。

筋緊張抑制系と筋緊張促通系のバランス

これまでの研究により、オレキシンは筋緊張の促通系の活動を維持しており、この機能が低下することによりナルコレプシーでは、筋緊張が消失するという作業仮説がある⁹。筋緊張促通には、MLRや青斑核脊髄路・縫線核脊髄路などが関与しており、歩行誘発野の信号は、縫線核脊髄路や興奮性の網様体脊髄路を介して脊髄に作用すると考えられている¹⁰。そこで、PPNへのオレキシン注入によりPPN、MLR、青斑核(Locus coeruleus; LC)からの出力がどのように修飾されるのかを検討した。

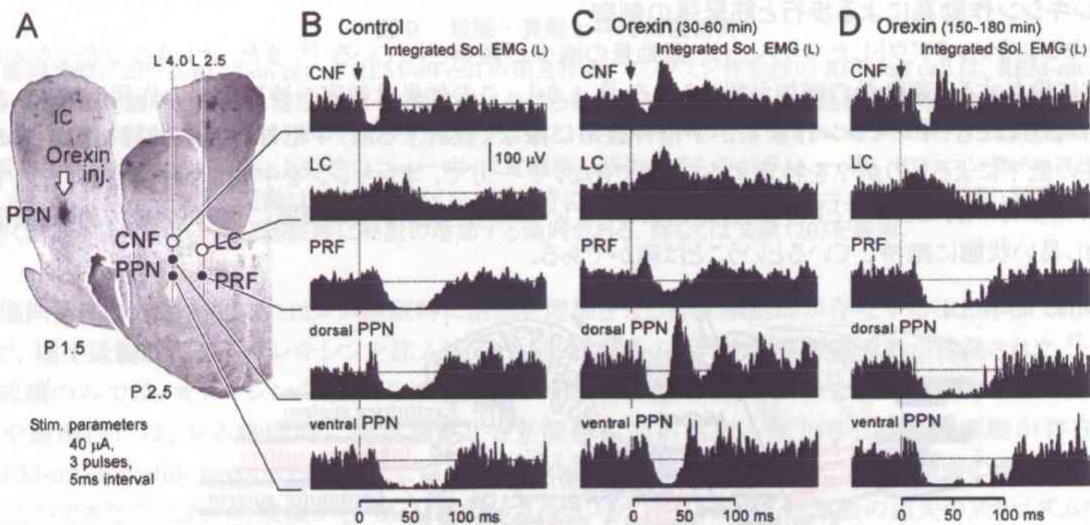


図7 筋緊張調節系

A. オレキシン注入部位(PPN)と電気刺激(40 μ A, 3発, 5ms 間隔)を加えた領域(背側と腹側の脚橋被蓋核; dorsal and ventral PPN, 楔状核; CNF, 青斑核; LC, 橋網様体; PRF)。B-D. 左ヒラメ筋の筋電図を整流し加算した(20回)記録。Bはオレキシン注入前, B, Cはそれぞれ, オレキシン注入後, 30-40分後と150-180分後の記録。オレキシンにより興奮作用の増強と抑制作用の減弱が誘発されている。

図7は、脳幹に短い Train pulse 刺激を加えた際に生じる筋活動への作用がオレキシンによりどのように修飾されるのかを解析したものである。電気刺激は背側と腹側の PPN, 楔状核(CNF), 青斑核(LC), 橋網様体(Pontine reticular formation; PRF)の5箇所に加えた(図7A)。そして、左ヒラメ筋の筋電図を整流し、20回加算した。オレキシン注入前には、各々の部位の刺激によりヒラメ筋には興奮と抑制の双方が見受けられた。特に PPN と橋網様体刺激では非常に強い抑制作用が観察された(図7B)。しかし、オレキシンを PPN に注入すると(図7Aの白矢印)、楔状核(歩行中枢に相当)の刺激や青斑核の刺激による興奮作用が増強した。一方、橋網様体や PPN への刺激による抑制作用が減弱したのが分る(図7C)。オレキシン注入から150分以上を経過すると、刺激効果はオレキシン注入前の状態にほぼ戻った(図7D)。これらの成績は、PPN へのオレキシン注入が、抑制系の活動を抑制するだけでなく、促通系の活動を賦活することを示している。

考察

1. オレキシン作動系

オレキシンニューロンは中枢神経系に限らず線維を投射し、覚醒時に発射活動高く、レム睡眠時には発射活動が低い¹¹。この活動状態はセロトニンやノルアドレナリンなどモノアミン系のニューロンの活動を極めて良く似ている。また、オレキシンは神経細胞に対して基本的には興奮作用をもたらすため、オレキシン作動系は覚醒系としての意味合いを持つと考えられている。一方、オレキシンは中枢神経系において摂食調節物質としても働き、消化管における胃酸の分泌にも関与することから¹²、動物の代謝系や覚醒・睡眠など生存に必要な脳機能の一端を担う重要な物質と考えられるようになってきた¹³。

近年になり、オレキシン系の障害がナルコレプシーの背景にあるということが分ってきた。特に、ヒトナルコレプシーでは、オレキシンニューロンの数が正常に比べて極めて減少していること⁴、そしてマウスのナルコレプシーでは、オレキシン受容体の異常が存在すること¹⁴も明らかとなった。しかし、①オレキシンの異常により、どのようなメカニズムでレム睡眠と同様の筋緊張消失を伴う情動性脱力発作(Cataplexy)が誘発されるのか？また、その際、②患者に現実感を伴った意識状態があること、言い換えれば、筋骨格系はレム睡眠様の状態であるにも関わらず“夢”を見ている状態ではないこと、さらに、③覚醒時からノンレム睡眠を経過せずレム睡眠様の状態に移行するメカニズムなどについては、未だ解明されていない。そこで本研究での成績と過去の研究から、上記の疑問点について考察を試みたい。

2. オレキシン作動系による歩行と筋緊張の制御

オレキシンをノックアウトしたマウスでは、運動量の減少が観察されている¹⁵。また、オレキシンをマウスの脳室内に投与すると運動量の増加が認められる¹⁶。しかし、この効果は特定の神経核への作用が減少したものなか、それとも(オレキシン作動系が中枢神経系に限らず投射する故)中枢神経系の神経細胞全体の興奮性の低下によるものか？を特定することはできない。一方で、オレキシンを中脳歩行誘発野に注入すると、自発歩行が誘発されたという事実は(図5A)、オレキシン作動系がこの領域に働いて歩行の神経機構を駆動し易い状態に維持しているということは確かである。

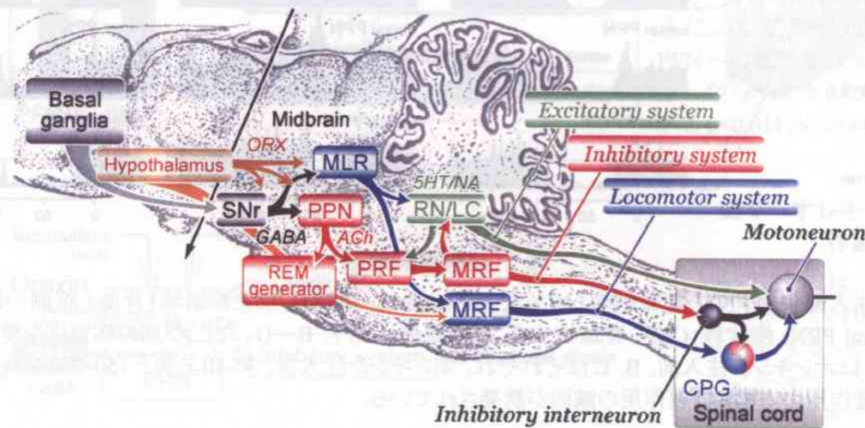


図8 歩行運動系と筋緊張制御系

中脳歩行誘発野(MLR)の信号は、歩行運動系(Locomotor system)と筋緊張促進系(Excitatory system)の双方に働き。歩行運動系は延髄網様体(MRF)の網様体脊髄路細胞を介して脊髄の歩行リズム生成機構(Central pattern generator; CPG)を駆動し歩行リズムを生成する。MLRにはオレキシン作動系(ORX)が投射する。外側視床下部には視床下部歩行誘発野が存在し、その出力はMLRと延髄網様体に投射し、歩行を駆動する。PPNのコリン細胞から橋網様体(PRF)と延髄網様体(MRF)を経由して脊髄の抑制性介在細胞(inhibitory interneuron)を駆動し運動細胞の活動を抑制するシステムは筋緊張の抑制系(Inhibitory system)である。縫線核(RN)や青斑核(LC)のセロトニン(5-HT)やノルアドレナリン(NA)を伝達物質として脊髄に下行する投射系はモノアミン作動性下行路と呼ばれ筋緊張の促進系(Excitatory system)を構成する。抑制系と促進系との間には相互抑制作用がある。大脳基底核(Basal ganglia)からの出力は黒質網様部(SNr)を介して脳幹に至り、MLRやPPNの活動をかいして歩行や筋緊張を制御する。

脳幹に複数の筋緊張の抑制領域や促通領域が存在する。脚橋被蓋核のみならず、橋網様体や延髄網様体も筋緊張を抑制する領域と考えられている。この抑制系はレム睡眠時の筋緊張消失に関与する。また、青斑核や縫線核は筋緊張の促通領域と考えられている。そして、歩行誘発野からの情報の一部はこれらの下行路の活動を介して筋緊張を上昇させることも知られている¹。ナルコレプシーでは、オレキシンが減少していることから、オレキシンを各々の筋緊張抑制領域に注入し、筋緊張がどの様に変化するのかを解析するのは非常に興味深い。図8に筋緊張の抑制系と促通系とを模式的にまとめた。

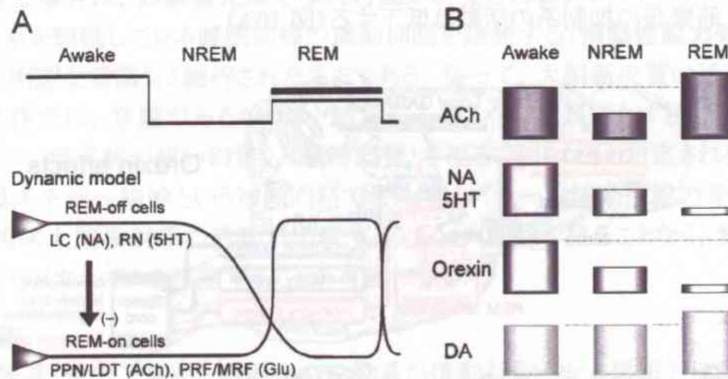


図9 睡眠・覚醒と神経伝達物質

A. 睡眠覚醒におけるREM-on cell とREM-off cell の相互作用。モノアミン作動性のREM-off cell は、REM-on cell を抑制する。B. 覚醒時、ノンレム睡眠時、レム睡眠時における神経伝達物質を持つ神経細胞群の相対的な活動変化。ACh; アセチルコリン, 5-HT/NA; セロトニン・ノルアドレナリン, DA; ドーパミン。アセチルコリンニューロンは覚醒時とレム睡眠時に活動するものがある。上行性のニューロンは覚醒時に活動するものが多い。一方、セロトニンやノルアドレナリン、オレキシンニューロンの活動は覚醒時に高くレム睡眠時に極めて低い。ドーパミンニューロンは睡眠・覚醒において大きく活動が変化しない。レム睡眠時に発射の増加する傾向がある。詳しくは文献(20)を参照。

橋網様体や延髄網様体にはレム睡眠時に活動を増加させる神経細胞群が存在する(REM-on cells)。そこで、橋や延髄網様体へオレキシンを注入したところ、筋緊張の低下と急速眼球運動が誘発された^{17, 18}。この成績のみでは、オレキシンの減少による筋緊張の消失(情動性脱力発作)を説明できない。一方、青斑核や縫線核には、レム睡眠時に発射を停止し覚醒時に発射活動を増加させる神経細胞が存在する(REM-off, wakefulness-on cells)。そこで、オレキシンを青斑核に注入したところ、筋緊張の増加を観察することができた¹⁹。これらの成績から、Siegelらは、ナルコレプシーにおける筋緊張の消失のメカニズムは、オレキシンの減少に伴う筋緊張促通系の活動低下であると主張している⁹。筋緊張の促通系と抑制系には相互抑制作用がある⁷。従って、Siegelらの主張に基づくと、促通系の活動低下に伴い、抑制系が駆動されることになる。

しかし、本研究ではPPNの筋緊張抑制領域に投射するオレキシン作動系が、筋緊張の抑制と急速眼球運動をブロックすることを示した(図5B)。加えて、PPNにオレキシンが働くことにより、筋緊張の促通系の活動が亢進することも示された(図7)。

これらの成績は、歩行誘発領域や脚橋被蓋核、そして青斑核などが存在する中脳へのオレキシン作動性投射が働くと、筋緊張促通系や歩行運動系が駆動され、筋緊張抑制系の活動が抑制されることになる。一方、オレキシンレベルの低下するレム睡眠時には、歩行運動系や筋緊張促通系の活動が低下し筋緊張抑制系の活動が亢進することになる。これによりレム睡眠時の筋緊張消失が誘発されると想定される。

一般的にオレキシンは神経細胞を興奮させると言われている。背外側被蓋核のコリン細胞もオレキシンで興奮することが知られている。しかし、本研究では、オレキシンの作用によりPPNのコリン細胞の活動が抑制されたと考えられる。そして実験結果は、GABA作動性ニューロンがオレキシンで興奮し、これがコリン細胞を抑制したことを示している。

最近、研究協力者の Koyama らはオレキシンは直接的には PPN のコリン細胞を興奮させるが、オレキシンにより興奮した GABA ニューロンの活動が PPN のコリン細胞を間接的に抑制することを証明した。

3. 睡眠・覚醒とナルコレプシー

本研究の成績をもとに、睡眠覚醒のメカニズムとナルコレプシーの病態を考察してみたい。本研究の成績を図 10 にまとめた。オレキシン作動系は、①歩行誘発野に働き、歩行運動系と筋緊張促通系の活動を亢進させる。一方、②PPN や SNr の GABA 作動性細胞の活動を亢進させ、これを介して PPN のコリン細胞を抑制する。その結果、筋緊張の抑制系の活動は低下する(図 10A)。

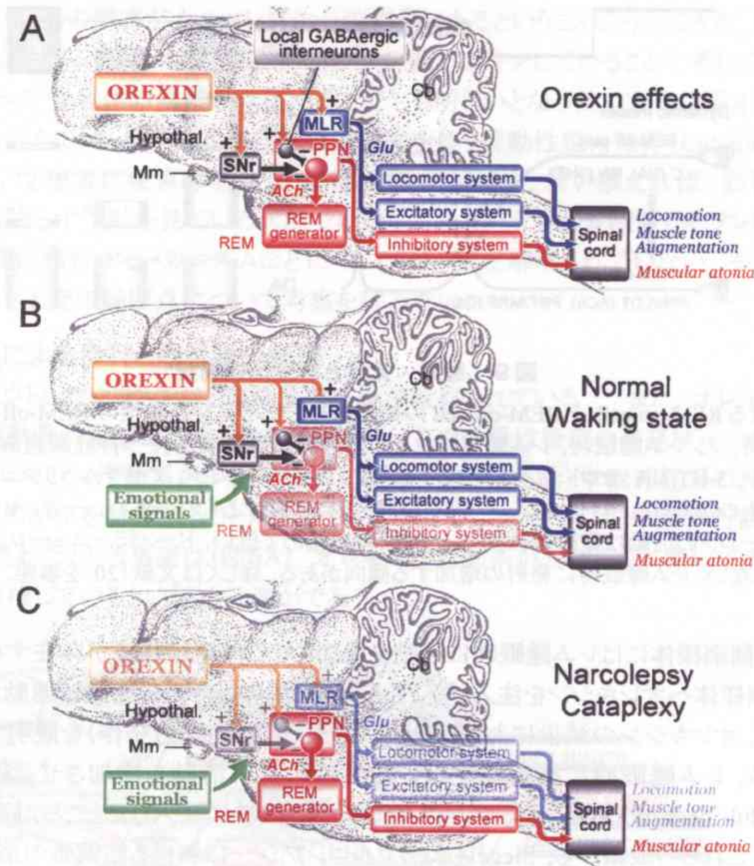


図 10 オレキシンの作用とナルコレプシーのメカニズム

正常覚醒時には、オレキシン作動系が活動し、モノアミン系の活動も高く維持されている(図9B)。従って、筋緊張促通系や歩行運動系の background excitability は高いレベルで維持される。大脳辺縁系の一部である扁桃体や、視床下部から中脳被蓋には内側前脳束を通過する強い線維投射が存在する。そこで、情動刺激の信号が大脳辺縁系・視床下部から中脳に作用すると、筋緊張の亢進や歩行運動が誘発されるであろう(図 10B)。

即ち、図1に示した様に、情動刺激により、情動行動としての筋緊張亢進(固まる)や歩行行動が誘発されると考えられる。一方、ナルコレプシーでは、オレキシンの減少により、モノアミン系の活動も低下する。その結果、歩行運動系のみならず筋緊張促通系の活動も低下する。反対に、SNr や PPN の GABA 抑制から開放された PPN のコリン細胞の活動が筋緊張抑制系の background excitability を上昇させることになる。この state で、同様の情動刺激の信号が中脳に働くと、その刺激は歩行運動系ではなく、閾値の低い筋緊張抑制系を駆動するであろう。このメカニズムにより、オレキシンの減少が情動性脱力発作を誘発すると我々は推定している。

この様なメカニズムが働いていると、ナルコレプシーは睡眠の異常というよりも、むしろ情動刺激に対する歩行運動や筋緊張制御系の駆動障害と考えることができる。また、考察の最初で提起した問題点なども無理なく説明することが可能になる。例えば、

- ① レム睡眠の実行系(抑制系)の興奮性が高いので、日頃から耐え難い眠気に襲われる(睡眠発作)。
- ② 意識が明瞭な(見当識のある)覚醒状態においては、情動刺激により大脳辺縁系や視床下部が過剰な活動をした場合、大脳皮質の活動に関らず、情動刺激の信号は脳幹の運動システムを駆動するであろう。オレキシンの存在する場合は、筋緊張亢進や歩行行動が誘発されるがオレキシンの欠如したナルコレプシーでは筋緊張抑制系を駆動してレム睡眠同様の運動抑制を誘発する(情動性脱力発作)。従って、大脳皮質の活動に基づく“明瞭な意識”は維持されたままである。従って、大脳新皮質の活動低下を伴うレム睡眠とは異なり、睡眠発作では、意識があるものの、随意筋を動かすことができず所謂金縛りの状態(睡眠麻痺)が出現すると共に、現実感の強い幻覚(入眠時幻覚)を見ることになる想定される。
- ③ 大脳辺縁系・視床下部～脳幹という神経回路でナルコレプシーの情動性脱力発作や睡眠発作が誘発されると考えると、視床大脳投射系の活動が出現するノンレム睡眠を経ることなく、覚醒からレム睡眠様の状態に移行するというメカニズムを推定することが可能になる。

4. 睡眠と運動機能

本研究では、辺縁系・視床下部から脳幹への投射系が情動行動やレム睡眠の制御にも関与すること、また、この投射系の異常がナルコレプシーの病態機序にも関与する可能性のあることを示すことができた。

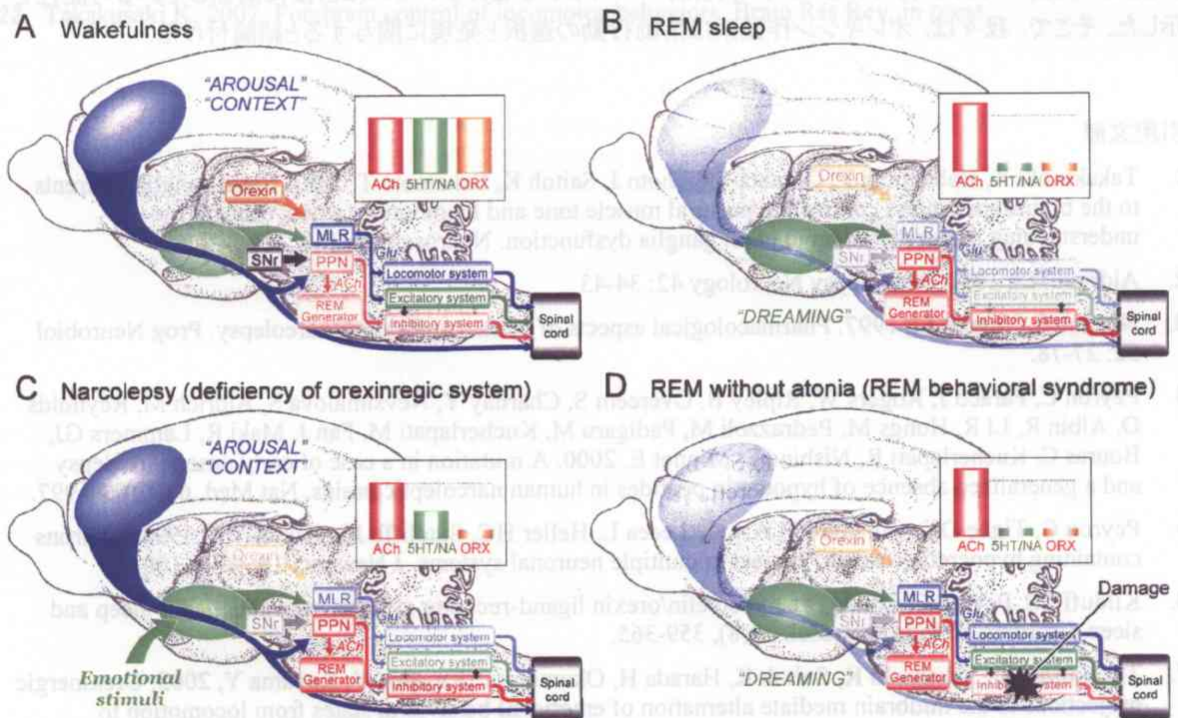


図 11 前脳の活動と脳幹の連結と睡眠覚醒に関連する運動機能とその障害

4-1: 覚醒時;既に記述した様に、覚醒時には、オレキシン作動系やモノアミン作動系の活動が高いため筋緊張促通系や歩行運動系の興奮性は高く、筋緊張抑制系の活動は低い(図9B)。覚醒時には大脳新皮質と大脳辺縁系の活動が適切に維持されているので、各々の領域から脳幹への投射系の活動は、状況や文脈に依存した運動行動が誘発される(図11A)。

4-2 レム睡眠;レム睡眠時には、大脳新皮質は低下しており、大脳辺縁系の活動は高い。これは、レム睡眠時の“夢”が、辺縁系や海馬における記憶情報の動きに対応するという考え方²¹に対応する。また、レ

ム睡眠時には PPN のコリンニューロンの活動が高く、モノアミン系やオレキシン系の活動が低い(図8B)。そのため、筋緊張抑制系の興奮性が高く維持されている。レム睡眠時に、この抑制系を駆動するのが、大脳辺縁系の活動である。夢を見ている際に急速眼球運動と筋緊張の抑制が強調される(Active REM)のは、辺縁系の活動亢進が抑制系と眼球運動系を強く駆動することによると考えられる、

4-3 ナルコレプシー;ナルコレプシーでは、レム睡眠時の神経機構が駆動されている。情動性脱力発作には、喜びや興奮などの情動刺激がトリガーとなるが、脱力発作の際には、大脳新皮質の活動はほぼ正常に保たれている。

4-4 睡眠時異常行動症候群;筋緊張の抑制系に機能異常があると、レム睡眠時における辺縁系の活動は、歩行運動系や筋緊張促進系を駆動することになる。これが睡眠時異常行動症候群の一つのメカニズムである。従って、患者は異常運動の記憶が無く、記憶素材が行動として再現される、所謂“夢行動”を誘発することになる。

まとめ

本研究の成績から、睡眠・覚醒時の運動機能は、前脳の運動指令系として働く大脳皮質(随意行動)と大脳辺縁系(情動行動)の活動と脳幹・脊髄に存在する運動誘発系と抑制系の組み合わせにより実現すると考えられる。そして、この前脳と脳幹・脊髄の活動をどの様に組み合わせるか?により行動の発現と選択・切り換えが皮質下で行われている²²。本研究は、オレキシンがこのプロセスに密接に関係している可能性を示した。そこで、我々は、オレキシン作動系は情動行動の選択と発現に関与すると結論付けた。

引用文献

1. Takakusaki K, Habaguchi T, Ohinata-Sugimoto J, Saitoh K, Sakamoto T, 2003. Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience* 119:293-308.
2. Aldrich MS. 1992. Narcolepsy *Neurology* 42: 34-43
3. Nishino S, Mignot E, 1997. Pharmacological aspects of human and canine narcolepsy. *Prog Neurobiol* 52: 27-78.
4. Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R, Li R, Hungs M, Pedrazzoli M, Padigaru M, Kucherlapati M, Fan J, Maki R, Lammers GJ, Bouras C, Kucherlapati R, Nishino S, Mignot E, 2000. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med*. 6 (9), 991-997.
5. Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS, 1998. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 18: 9996-10015.
6. Kilduff TS, Peyron C, 2000. The hypocretin/orexin ligand-receptor system: implications for sleep and sleep disorders. *Trends Neurosci*. 23(8), 359-365.
7. Takakusaki K, Takahashi K, Saitoh K, Harada H, Okumura T, Kayama Y, Koyama Y, 2005. Orexinergic projections to the midbrain mediate alternation of emotional behavioral states from locomotion to cataplexy. *J Physiol* 568, 1003-1020.
8. Takahashi K, Koyama Y, Kayama Y, Yamamoto M, 2002. Effects of orexin on the laterodorsal tegmental neurons. *Psychiatry Clin Neurosci* 56, 335-336.
9. Siegel JM, 2004. Hypocretin (orexin): Role in normal behavior and neuropathology. *Ann Rev Psychol* 55, 125-148.
10. Takakusaki K, Saitoh K, Harada H, Kashiwayanagi M, 2004. Role of basal ganglia – brainstem pathways in the control of motor behaviors. *Neurosci Res*, 50: 137-151.
11. Milevskiy BY, Kiyashchenko LI, Siegel JM, 2005. Behavioral correlates of activity in identified hypocretin/orexin neurons. *Neuron* 46, 787-798.
12. Yamada H, Takahashi N, Tanno S, Nagamine M, Takakusaki K, Okumura T, 2005. A selective orexin-1

receptor antagonist, SB-334867, blocks 2-DG -induced gastric acid secretion in rats. *Neurosci Lett*, 376, 137-142.

13. Nishino S, 2003. The hypocretin/orexin system in health and disease. *Biol Psychiatry* 54, 87-95.
14. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M, 1999. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98: 437-451.
15. Mochizuki T, Crocker A, McCormack S, Yanagisawa M, Sakurai T, Scammell TE, 2004. Behavioral state instability in orexin knock-out mice. *J Neurosci*. 24, 6291-6300
16. Matsuzaki I, Sakurai T, Kunii K, Nakamura T, Yanagisawa M, Goto K, 2002. Involvement of the serotonergic system in orexin-induced behavioral alterations in rats. *Regul Pept* 104, 119-123.
17. Milevskiy BY, Kiyashchenko LI, Siegel JM, 2002. Muscle tone facilitation and inhibition after orexin-a (hypocretin-1) microinjections into the medial medulla. *J Neurophysiol* 87, 2480-2489.
18. Xi MC, Fung SJ, Yamuy J, Morales FR, Chase MH, 2002. Induction of active (REM) sleep and motor inhibition by hypocretin in the nucleus pontis oralis of the cat. *J Neurophysiol* 87, 2880-2888.
19. Xi MC, Morales FR, Chase MH (2001) Effects on sleep and wakefulness of the injection of hypocretin-1 (orexin-A) into the laterodorsal tegmental nucleus of the cat. *Brain Res* 901, 259-264.
20. Taksakusaki K, Saitoh K, Nonaka S, Okumura T, Miyokawa N, Koyama Y, 2006. Neurobiological basis of state-dependent control of motor behavior. *Sleep Biol Rhyth*, 4, 87-104.
21. Morrison AR, 1983. A window on the sleeping brain. *Sci Am*, 248, 94-102.
22. Takakusaki K, 2007. Forebrain control of locomotor behaviors. *Brain Res Rev*, in press.

Orexinergic neurons are located in the perifornical and hypothalamic and project to most of the nervous system areas. In addition, the orexinergic projection to the brainstem monoaminergic and cholinergic neurons mediates sleep-wakefulness regulation (Peymon et al. 1998; Chemelli et al. 1999; Liu et al. 1999; Nishino et al. 1998; Saper et al. 2007; Liber et al. 2002). It has been reported that Fos (transcriptional chemical studies and neural recording studies) in rats that the orexinergic neurons increase their activity during waking (Estabrooke et al. 2001; Alam et al. 2002; Kiyama et al. 2003; Lee

et al. 2003; Miyakawa et al. 2003). When orexinergic neurons are lesioned or inactivated during period of increased motor activity, it was reported that the alert waking (Kiyashchenko et al. 2002). These findings indicate that the orexinergic system contributes to regulation of the state of vigilance and locomotor control (Liu et al. 2001; Nishino, 2003; Saper, 2007). It has also been considered that deficiency in the orexinergic system results in narcolepsy (Chemelli et al. 1999; Liu et al. 1999). However, the pathophysiological mechanism by which the orexinergic system suppresses narcolepsy remains unclear.