

# 視床下部による防衛反射発現の遠心機構

(課題番号：14570037)

平成14年度～平成15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16年3月

研究代表者：桑木 共之

(千葉大学・大学院医学研究院・教授)

はしがき

本研究課題「視床下部による防衛反射発現の遠心機構」は平成14-15年度にわたる文部科学省科学研究費補助金（基盤研究（C）（2）、課題番号14570037）を受けて行われた。

#### 研究組織

研究代表者： 桑木 共之（千葉大学・大学院医学研究院・教授）  
研究分担者： 福田康一郎（千葉大学・大学院医学研究院・教授）  
                  中村 晃（千葉大学・大学院医学研究院・助手）  
海外共同研究者：柳沢 正史（テキサス大学・医学部・教授）  
研究協力者： 萱場祐司

交付決定額（配分額）（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成14年度	1,400	0	1,400
平成15年度	1,300	0	1,300
総計	2,700	0	2,700

## 研究成果の概要：

本研究の目的は、生体が危険などのストレスに曝された時の闘争または闘争反応—いわゆる防衛反射—の出力機構を構成する神経回路ならびに神経伝達物質の候補として、オレキシン含有神経系の役割を検証する事であった。

実験には、オレキシンノックアウトマウスと正常対照マウスを用いて、各種の刺激によって防衛反射を惹起させた時の、循環・呼吸・覚醒レベル（脳波）・行動に対する効果を比較検討した。まず、麻酔したマウスを用いて、オレキシン神経細胞体の存在部位である視床下部脳弓周囲領域を薬物の微量注入によって刺激したところ、観察される血圧・心拍数・呼吸数の増加と脳波の活性化（速波化）が、オレキシン欠損マウスにおいて有意に減弱していることが明らかになった。次に、無麻酔無拘束のマウスを用いて、縄張り（自分のケージ）内への別の雄マウスの侵入という社会心理的ストレスを与えることによって防衛反射を惹起した。この場合にも、血圧・心拍数・行動量の増加反応が、オレキシン欠損マウスにおいて有意に減弱していた。さらに、オレキシン欠損マウスは無刺激の安静状態においても低血圧を呈し、各種薬物の投与実験から、この低血圧は血管支配交感神経の活動低下によるものと結論された。

以上の結果から、オレキシンは防衛反射の遠心機構の一翼を担い、さらに基礎血圧の決定にも関与していることが明らかになった。

今後の課題としては、以下の項目が挙げられる。

1. オレキシンノックアウトマウスでは確かに防衛反応が減弱していたが、完全に消失しなかった。残りの成分を担う伝達物質は何か？
2. オレキシンによる交感神経調節の脳内神経経路と、そこで用いられている受容体（オレキシン-1 受容体、-2 受容体のいずれか、または両方？）の詳細。
3. オレキシン受容体阻害剤を開発すれば、白衣高血圧のようなストレス性高血圧の発症をコントロールすることができるか？
4. 呼吸調節系・痛覚調節系におけるオレキシンの役割の詳細。

なお、この研究成果を *American Journal of Physiology* 誌に発表したところ高い評価を得、雑誌冒頭の「編集者のコメント」欄においてその内容が紹介された。

The orexins: linking circulatory control with behavior. Editorial focus by Heimo Ehmke and Armin Just; *Am. J. Physiol Regul Integ Comp Physiol* **285(3)**:R519-R521, 2003.

また、International Symposium on the Study of Brain Function (2002 年)での発表におい

て、Distinguished Poster Award 賞を受賞した。さらに、第 89 回つくばブレインサイエンス協会セミナー（2002 年）、第 1 回九州脳と高血圧研究会（2002 年）、第 3 回環境生理シンポジウム（2003 年）、第 56 回日本自律神経学会総会シンポジウム（2003 年）における招待講演を要請された。ニューヨーク州立大学におけるセミナー講演にも招待された（2003 年）。

研究発表：

ア. 学会誌等

1. T. Kuwaki, Y. Kayaba, A. Nakamura, M. Yanagisawa, I. Komuro, Y. Fukuda: Role of orexin in defense response and regulation of basal blood pressure. *Exp. Neurobiol.* **11(2) (suppl)**: 73, 2002.
2. Y. Kayaba, Y. Fukuda, I. Komuro, M. Yanagisawa, T. Kuwaki: Role of orexin as an efferent transmitter of defense reaction. *Jpn J Physiol.* **52 (suppl)**: S81, 2002.
3. Y. Kayaba, Y. Fukuda, I. Komuro, M. Yanagisawa, T. Kuwaki: Involvement of orexin as a modulator of defence reaction and blood pressure. *Neurosci Res suppl* **26**: S121, 2002.
4. Y. Kayaba, A. Nakamura, Y. Kasuya, T. Ohuchi, M. Yanagisawa, I. Komuro, Y. Fukuda, T. Kuwaki: Attenuated defense response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. *Am. J. Physiol Regul Integ Comp Physiol* **285(3)**:R581-R593, 2003. First Published May 15, 2003; 10.1152/ajpregu.00671.2002. PMID: 12750151 (全文を添付)
5. T. Kuwaki, Y. Kayaba, I. Issei, T. Ohuchi, M. Yanagisawa, Y. Fukuda: Hypotension and attenuated defense response in orexin knockout mice. *Neurosci Res* **46 (suppl 1)** S39, 2003.
6. Y. Kayaba, Y. Fukuda, I. Komuro, M. Yanagisawa, T. Kuwaki: Involvement of orexin in defense response and cardiovascular regulation. *Jpn J Physiol* **53(supl)**: S268, 2003.
7. 桑木共之：ストレス防衛反応時の自律神経出力調節におけるオレキシンの役割. *日本自律神経学会雑誌* (印刷中) (原稿全文を添付)

イ. 口頭発表

1. 萱場祐司、福田康一郎、小室一成、柳沢正史、桑木共之：防衛反射におけるオレキシン神経の役割. 第13回循環器基礎研究会 2002/03/02
2. 萱場祐司、福田康一郎、小室一成、柳沢正史、桑木共之：防衛反射出力経路としてのオレキシン神経の役割. 第79回日本生理学会 2002/03/28-30

3. Y. Kayaba, Y. Fukuda, I. Komuro, M. Yanagisawa, T. Kuwaki: Role of Orexin in the Central Cardiorespiratory Regulation. The Third International Symposium on the Study of Brain Function 2002/05/9-10 (Distinguished poster award 受賞)
4. 桑木共之：中枢性循環呼吸調節に関与する神経ペプチド—エンドセリン、CGRP、オレキシンノックアウトマウスを用いた研究. 第 89 回つくばブレインサイエンス協会セミナー 2002/05/21 (招待講演)
5. 萱場祐司、福田康一郎、小室一成、柳沢正史、桑木共之：防衛反射および血圧の調節因子としてのオレキシンの関与. 第 25 回日本神経科学学会 2002/07/07-09
6. 桑木共之：中枢性循環調節に関与する神経ペプチド：ノックアウトマウスを用いた研究. 第 1 回九州脳と高血圧研究会「血圧を調節する脳～遺伝子から病態生理機能システムの解明へ～」 2002/07/13 (招待講演)
7. T. Kuwaki, Y. Kayaba, A. Nakamura, M. Yanagisawa, I. Komuro, Y. Fukuda: Role of orexin in defense response and regulation of basal blood pressure. 3rd FAONS (Federation of Asia and Oceania Neuroscience Societies) Congress 2002/09/28-10/01
8. 萱場祐司、小室一成、桑木共之：オレキシンによる中枢性血圧調節の機序. 第 25 回日本高血圧学会 2002/10/11-13
9. 桑木共之：睡眠調節物質オレキシンと睡眠時無呼吸・循環調節の分子機序. 病態代謝研究会報告会 2002/10/19
10. 萱場祐司、中村晃、柳沢正史、小室一成、福田康一郎、桑木共之：防衛反応および基礎血圧の調節要因としてのオレキシン. 第 30 回自律神経生理研究会 2002/12/07
11. 桑木共之：神経性循環調節に関与するペプチド：ノックアウトマウスを用いた研究から. 防衛医大バイオの会 2003/01/07 (招待講演)
12. 萱場祐司、福田康一郎、小室一成、柳沢正史、桑木共之：防衛反応および血圧調節に対するオレキシンの関与. 第 13 回病態生理学会 2003/01/25-26

13. Y. Kayaba, A. Nakamura, T. Ohuchi, M. Yanagisawa, I. Komuro, Y. Fukuda, & T. Kuwaki: Involvement of orexin in defense response and determination of basal blood pressure. 第5回オレキシン研究会 2003/3/17
14. 桑木共之、萱場祐司、中村晃、小室一成、柳沢正史、福田康一郎：ストレス防衛反応の表出におけるオレキシン神経系の役割。第3回環境生理シンポジウム 2003/3/23 (招待講演)
15. 萱場祐司、福田康一郎、小室一成、柳沢正史、桑木共之：防衛反応および循環調節におけるオレキシンの役割。第80回日本生理・薬理合同学会 2003/03/24-26
16. 萱場祐司、小室一成、桑木共之：Central blood pressure regulation by orexin. 第67回日本循環器学会総会・学術集会 Featured topic session 2003/03/28-30
17. Y. Kayaba, Y. Fukuda, I. Komuro, M. Yanagisawa, T. Kuwaki: Role of orexin in defense reaction and blood pressure regulation. Experimental Biology '03 (FASEB) 2003/04/11-15
18. T. Kuwaki: Cardiorespiratory phenotyping in orexin and endothelin knockout mice. Invited Seminar at State University of New York 2003/04/18
19. T. Kuwaki, Y. Kayaba, A. Nakamura, M. Yanagisawa, Y. Fukuda: Diminished defense response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. 6<sup>th</sup> IBRO World Congress of Neuroscience 2003/7/10-15
20. 桑木共之、萱場祐司、小室一成、大内崇史、柳沢正史、福田康一郎：オレキシンノックアウトマウスは低血圧と防衛反応の減弱を示す。第26回日本神経科学学会 2003/07/23-25
21. 桑木共之：遺伝子改変マウスの血圧と呼吸、脳波と呼吸の同時・無麻酔無拘束計測。第7回実験動物総合支援システム&テレメトリー特別研究会 2003/9/4-5
22. 桑木共之、萱場祐司、中村晃、小室一成、柳沢正史、福田康一郎：ストレス防衛反応時の自律神経出力調節におけるオレキシンの役割。第56回日本自律神経学会総会シンポジウム3「新規ペプチドによる自律神経系調節の新展開」 2003/10/30-31 (招待講演)

23. 桑木共之：遺伝子改変マウスを用いた呼吸調節機能研究. 第 16 回千葉呼吸カンファランス特別講演 2003/11/15

24. T. Kuwaki, Y. Kayaba, A. Nakamura, M. Yanagisawa, Y. Fukuda: Involvement of Orexin in Defense Response and Central Determination of Sympathetic Outflow. 20<sup>th</sup> Scientific Meeting of International Society of Hypertension 2004/02/15-19



# 発表論文

第 56 回自律神経学会総会

シンポジウム 2：新規ペプチドによる自律神経系調節の新展開

ストレス防衛反応時の自律神経出力調節におけるオレキシンの役割

桑木共之

千葉大学大学院医学研究院・分子統合生理学、自律機能生理学

〒260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1

キーワード：視床下部、血圧、呼吸、交感神経、ノックアウトマウス

hypothalamus, blood pressure, respiration, sympathetic nervous system, knockout mice

**Abstract****Role of orexin in the regulation of autonomic outflow during defense response against stress**

Tomoyuki Kuwaki

Departments of Molecular & Integrative Physiology and Autonomic Physiology, Chiba University Graduate School of Medicine, Inohana 1-8-1, Chuo-ku, Chiba 260-8670, Japan

The perifornical area of the hypothalamus has been known as the center for defense response, or “fight or flight” response, which is characterized by concomitant rise in arterial blood pressure (AP), heart rate (HR), and respiratory frequency (Rf). We examined whether orexin, a recently identified hypothalamic neuropeptide, contributes to the defense response and basal cardiovascular regulation using prepro-orexin knockout mice (ORX-KO). Microinjection of a GABA-A receptor antagonist, bicuculline, to the perifornical area in the posterior hypothalamus, where orexin-neuronal cell bodies are abundant in the wild-type mice, resulted in attenuated rise in AP, HR, Rf, and EEG arousal in urethane-anesthetized ORX-KO. Moreover, socio-emotional stress induced by resident-intruder test resulted in attenuated behavioral and cardiovascular responses in awake and freely moving ORX-KO. We also found that basal AP in orexin knockout mice was significantly lower in both anesthetized and conscious conditions. Alpha-adrenergic blockade with prazosin or ganglion blockade with hexamethonium cancelled the difference in basal AP, indicating lower sympathetic tone in knockout mice. The present study suggests that orexin-containing neurons in the perifornical area play a role as one of the efferent pathways of defense response and also operate as a regulator of AP at basal condition by activating sympathetic outflow.

**抄録：**防衛反応の表出におけるオレキシン（ORX）の役割を、プレプロ ORX ノックアウトマウス（KO）を用いて検証した。

まず、ウレタン麻酔下に脳弓周囲領域を刺激したところ、血圧・心拍数・呼吸数の上昇と脳波の速波化が KO では有意に減弱していた。次にテレメーターを埋め込んだ無麻酔無拘束マウスを用いて、より生理的な刺激として縄張り侵入者試験を行ったところ、血圧・心拍数・行動量の増加はいずれも KO において有意に減弱していた。これらの実験の過程で KO は安静時血圧の低値も示した。その原因を薬理学的に検討したところ、血管収縮性交感神経活動の減弱が観察された。

以上の結果から ORX は、循環・呼吸・行動という複数の出力系を一斉に変化させるマスタースイッチとしても機能していると考えられた。さらに、ORX は、交感神経活動の活性化を介して血圧の基礎値の決定にも関与していると結論された。

## 緒言

今から 50 年近く前、後部視床下部を電気刺激する事によって動物が怒った時のような行動と複数の交感神経系の同時活性化を発見したヘスは、これを防衛反応と名付けた<sup>3)</sup>。敵に対面するなどのストレスに能動的に対処する際に、血圧・心拍数・呼吸数を上昇させ、筋血流を増やして当面不必要な内臓血流は減少させるという反応と解釈されている。その後、防衛反応という概念自体に大きな変更の必要はなかったが、その責任部位に関しては見解が混乱した時期があった。すなわち、80 年代になって、電気刺激ではなくてグルタミン酸の微量注入による化学刺激ではうまく反応が再現できないという報告や、視床下部前方の室傍核からの下行性軸索が後部視床下部を通過しているので、電気刺激はその軸索を刺激してしまっているのではないか？という疑問が呈され、研究者の興味は室傍核に移った。しかし、80 年代後半になると、グルタミン酸による興奮ではなくて GABA アンタゴニストによる脱抑制ならばうまく行く、という報告や、興奮性アミノ酸を用いる場合でも後部視床下部の中の脳弓周囲領域に限局した刺激だとうまく行く、さらには、心拍数が変化するまでの潜時は室傍核刺激よりも脳弓周囲領域刺激の方が短い、等の報告が出てきて、後部視床下部責任説は再び息を吹き返した。脳弓周囲領域を GABA アゴニストによって不活性化しておくともストレスによる血圧や心拍数の上昇が起こらなくなるという報告が出るに至って、後部視床下部は防衛反応における主役の座を確固たるものにした<sup>2)</sup>。

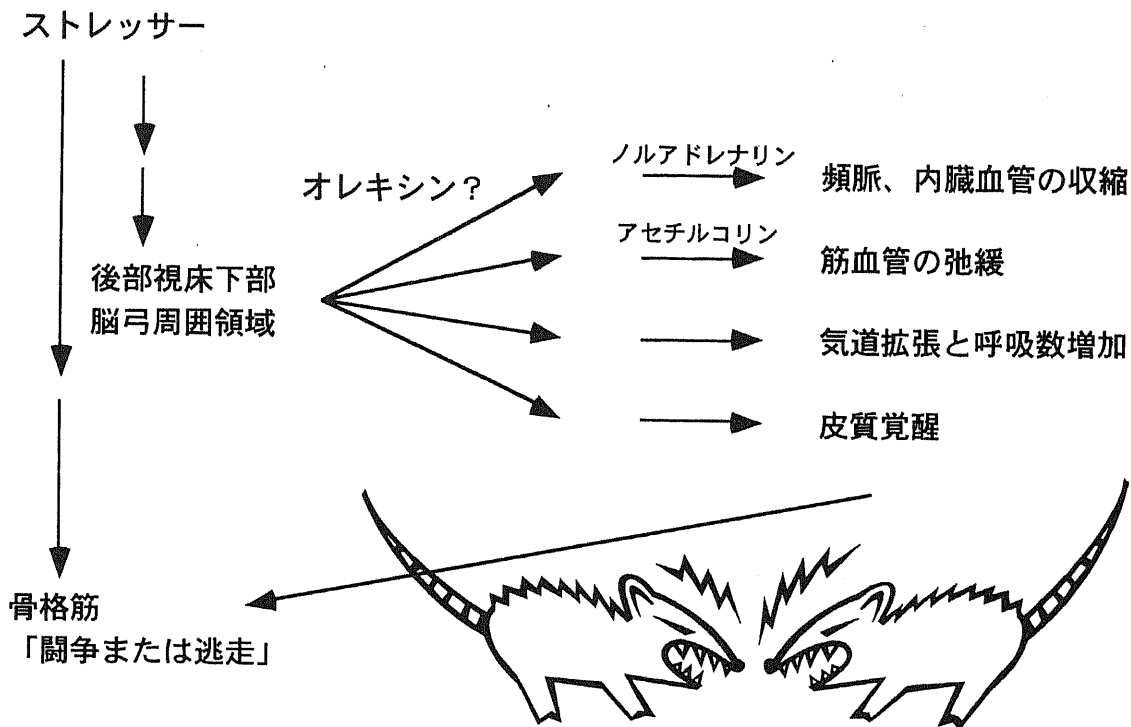


図1 防衛反応に関する神経伝達物質。

しかしながら、防衛反応の表出を仲介する神経伝達物質に関してはほとんど研究が進んでいなかった。その理由は、防衛反応が複数の反応の複合体であるからだと思われる（図1）。ストレス刺激によって心拍数上昇、内臓血管の収縮、骨格筋血管の拡張、呼吸の促進、気道の拡張、注意力の増加などの助けがあっ  
てはじめて「闘争または逃走」という行動が効果的に行われると考えられ、それぞれの出力を最終的に担う神経回路と伝達物質はかなり明らかになっている。しかし、脳弓周囲領域を経由して、これらを一齐に変化させるという脳内の情報伝達のメカニズムがわかっていなかった。

一方、98年に発見された神経ペプチドであるオレキシンを含有する神経細胞は後部視床下部脳弓周囲領域に局限して存在し<sup>5)</sup>、しかも、軸索を広範な脳部位に投射するという、複数の神経系を一齐にコントロールするのに都合の良い形態をしていた。さらに、外来性にオレキシンを脳内に投与すると血圧や交感神経活動が上昇するという報告も既に提出されていた<sup>6)</sup>。

以上の背景から我々は、オレキシンが防衛反応の出力系を担う神経伝達物質候補なのではないかという仮説を立て、これをノックアウトマウスを用いて検証しようと計画した。研究の過程で、オレキシン欠損マウスは防衛反応がおかしいだけでなく、基礎血圧も低いという事が明らかになったので、その理由の解明を第2の目的とした。

## 対象・方法

詳細は既報に記した<sup>4)</sup>。実験動物の取り扱い、日本生理学会の指針に従った。オレキシンはプレプロオレキシンという一つの前駆体が2つに切られてオレキシン-A とオレキシン-B という2つの活性物質になるが、この両方を完全に欠損させたプレプロオレキシンノックアウトマウス（雄性）を用い、以下の3種の実験を行った。対照には同腹野生型マウスを用いた。

### 実験1：後部視床下部脳弓周囲領域への刺激によって惹起される防衛反応の比較

マウスをウレタン（1.1 g/kg, ip）で麻酔し、脳定位固定装置に固定した。大腿動脈に留置したカテーテルから血圧と心拍数を、気管に挿入したチューブから呼吸数を、頭蓋骨に刺入したネジ電極から脳波を記録した。予備実験において同定した後部視床下部脳弓周囲領域（Bregma から 2 mm 後方、中心線から 0.65 mm 側方、Bregma から 5 mm 腹側）にガラスピペットを刺入した。GABA 拮抗薬の bicuculline (0, 0.1, 0.3, 1.0 mM) を 20 nl 投与した時の、血圧、心拍数、呼吸数、脳波に占める速波の割合（別名  $\beta$  波、13-50 Hz：大脳皮質活性化の指標）の経時変化を観察した。

### 実験2：ストレス刺激によって惹起される防衛反応の比較

血圧測定用テレメーター（Data Science）を予め埋込んだマウスを用い、無麻酔無拘束状態で実験を行った。情動ストレス刺激として、飼育用の個別ケージに他の雄性マウスを一時的に同居させるという「縄張り侵入者試験」を行った。また、物理ストレス刺激として、尻尾をクリップでつまむ痛覚試験を行った。刺激によって惹起される血圧、心拍数、行動量の変化を比較した。

### 実験3：基礎血圧の比較とオレキシン欠損マウスにおける低血圧の原因解明

まず、血圧測定用テレメーター埋込んだマウスを用いて血圧、心拍数と行動量の概日リズムを記録した。次に、血圧測定ならびに薬物投与用のカテーテル



を埋込んだ無麻酔無拘束状態のマウスを用い、各種薬剤投与による血圧・心拍数の反応を観察した。別のマウスを用い、心エコーによる心機能の測定も行った。

## 結果と考察

### 実験 1：後部視床下部脳弓周囲領域への刺激によって惹起される防衛反応の比較

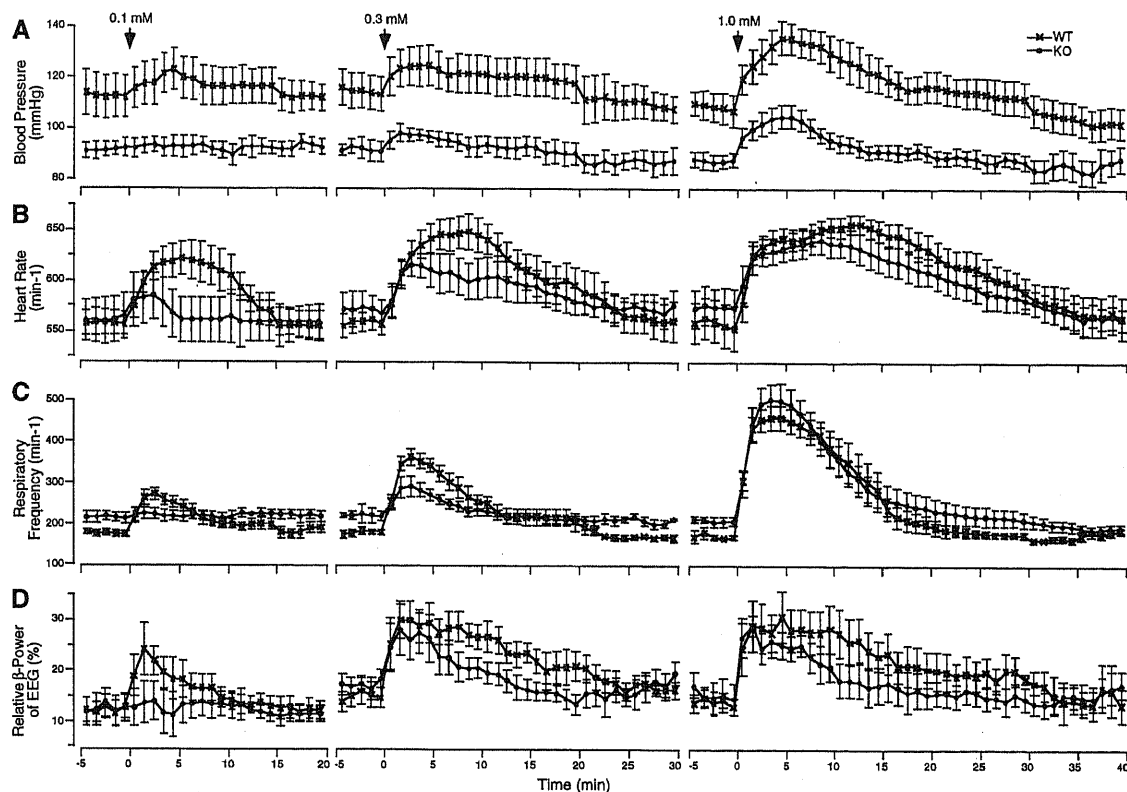


図2 後部視床下部脳弓周囲領域へのピキュキュリン微量局所投与によって惹起される防衛反応の、オレキシン欠損マウス (KO) と対照マウス (WT) との比較。

図2に示したごとく、オレキシン欠損マウスは低濃度のピキュキュリンにほとんど反応せず、高濃度でも反応の持続が短かった。血圧、心拍数、呼吸数、 $\beta$ 波、いずれの指標においても、オレキシン欠損マウスの反応は統計学的に有意に減弱していた。複数の出力システムが揃って減弱していたことから、防衛反応という複合反応を、オレキシンがまとめてコントロールしている可能性が示された。また、オレキシン欠損マウスでは刺激前の基礎血圧の低値も明らかとなった。なお、実験に用いた全例で、正しく薬剤が脳弓周囲領域に投与されていたことを組織学的に確認した。

### 実験2：ストレス刺激によって惹起される防衛反応の比較

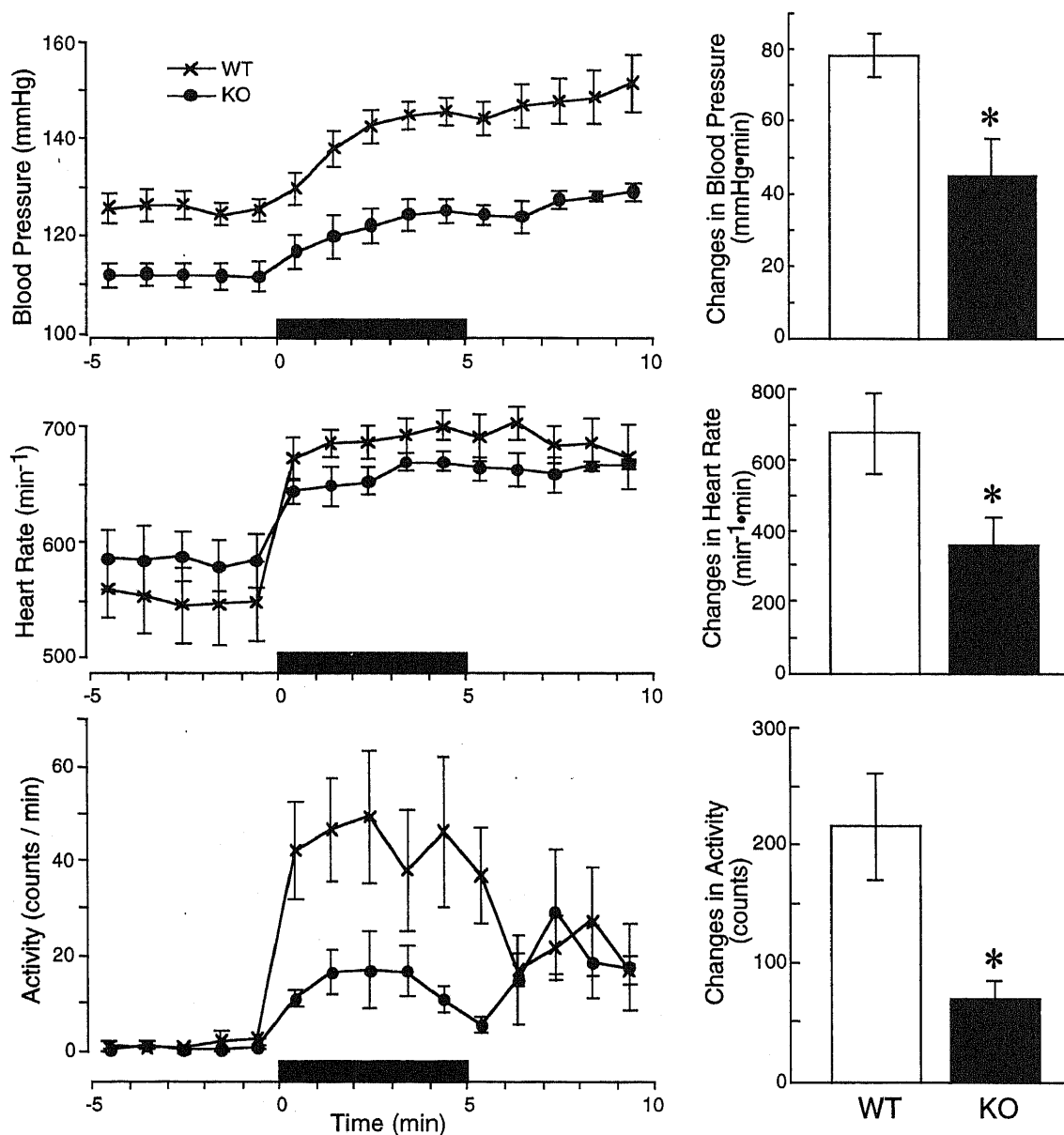


図3 縄張り侵入者によって惹起されるストレス反応の、オレキシン欠損マウス (KO) と対照マウス (WT) との比較。横軸に太線で示した5分間、侵入者を同居させた。右側の棒グラフは、5分間の反応の大きさを曲線下面積として計算したもの。\*:  $p < 0.05$  vs. WT。

より生理的な条件で防衛反応を比較するため、ラジオテレメトリーを用いた無麻酔無拘束状態での実験を行った。5分間の縄張り侵入者の同居によって惹

起される血圧・心拍数・行動量の増加が、オレキシン欠損マウスでは有意に減弱していた（図3）。一方、尻尾のピンチ刺激による血圧・心拍数の増加反応は対照野生型マウスと同程度であった。すなわち、オレキシン欠損マウスは全てのストレスに対する反応が減弱している訳ではなく、視床下部が重要な役割を果たす情動ストレスでのみ、その反応性の低下が示された。

### 実験3：基礎血圧の比較とオレキシン欠損マウスにおける低血圧の原因解明

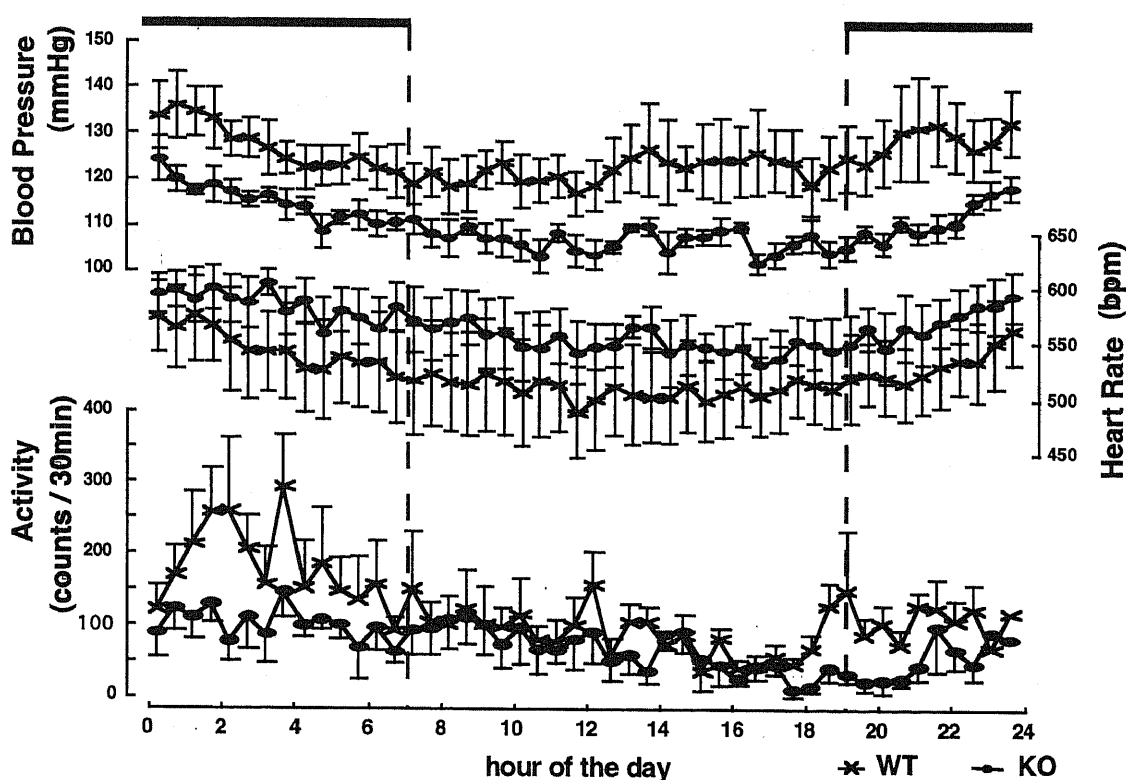


図4 オレキシン欠損マウス (KO) と対照マウス (WT) における、血圧、心拍数、行動量の概日リズム。図上方の横線は暗期を示す

血圧・心拍数・行動量の概日リズムを計測したところ、夜間に高値を示すという夜行性動物の特徴は、オレキシン欠損マウスにおいても維持されていた（図4）。しかしながら、その振幅は減少しており、特に夜間の行動量増加の減弱が顕著であった。この結果は、この期間の覚醒時間が少ないという以前の結果と

よく一致していた<sup>1)</sup>。心拍数には有意差がなかったが、注目すべきは、夜間はもちろん、行動量に差のない昼間においてもオレキシン欠損マウスの血圧が有意に低かったことである。安静時にものべつまくなしに防衛反応が働いていて野生型マウスの血圧を押し上げているとは考えにくいので、オレキシン欠損マウスでは防衛反応の減弱とは独立に、基礎血圧の低下が生じていると考えられた。

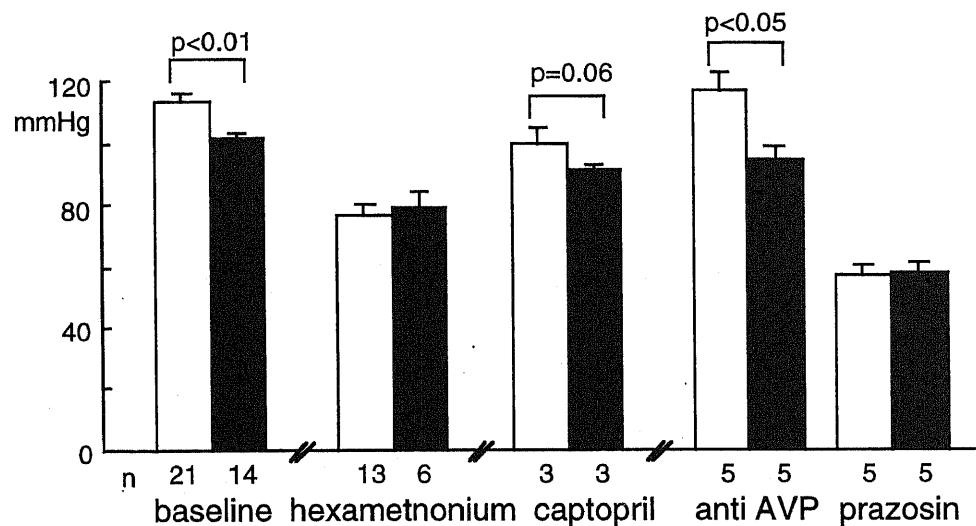


図5 各種薬剤がオレキシン欠損マウス (KO) と対照マウス (WT) の血圧に及ぼす影響。

次に、自律神経節遮断剤のヘキサメトニウム、アンジオテンシン変換酵素阻害剤のカプトプリル、バソプレッシン V1a 受容体アンタゴニスト、アルファアドレナリン受容体ブロッカーのプラゾシン、のそれぞれを投与したときの、血圧と心拍数の反応を観察した (図5)。血圧に関し、ベースラインで存在していた2群の差は、ヘキサメトニウムおよびプラゾシンの投与によって消失したが、カプトプリル、バソプレッシンアンタゴニストの投与では残存した。心拍数は薬物投与前でも、いずれの薬物投与後でも、2群に差はなかった。なお、心臓機能には2群に差がない事を心エコーによって確認した。これらの結果は、末梢血管収縮性交感神経の活動減少がノックアウトマウスにおける低血圧の原因であったことを示唆している。

## まとめ

- 1) 麻酔下のオレキシン欠損マウスでは、ピキュキュリンの局所投与による防衛反応が減弱していた。
- 2) 自由行動下のオレキシン欠損マウスでは、侵入者に対する防衛反応は減弱していたが、痛覚刺激による循環反応は正常であった。
- 3) オレキシン欠損マウスは、暗期でも明期でも低血圧を呈した。
- 4) 2群における血圧の差は、アルファアドレナリン受容体阻害剤の投与によって消失した。

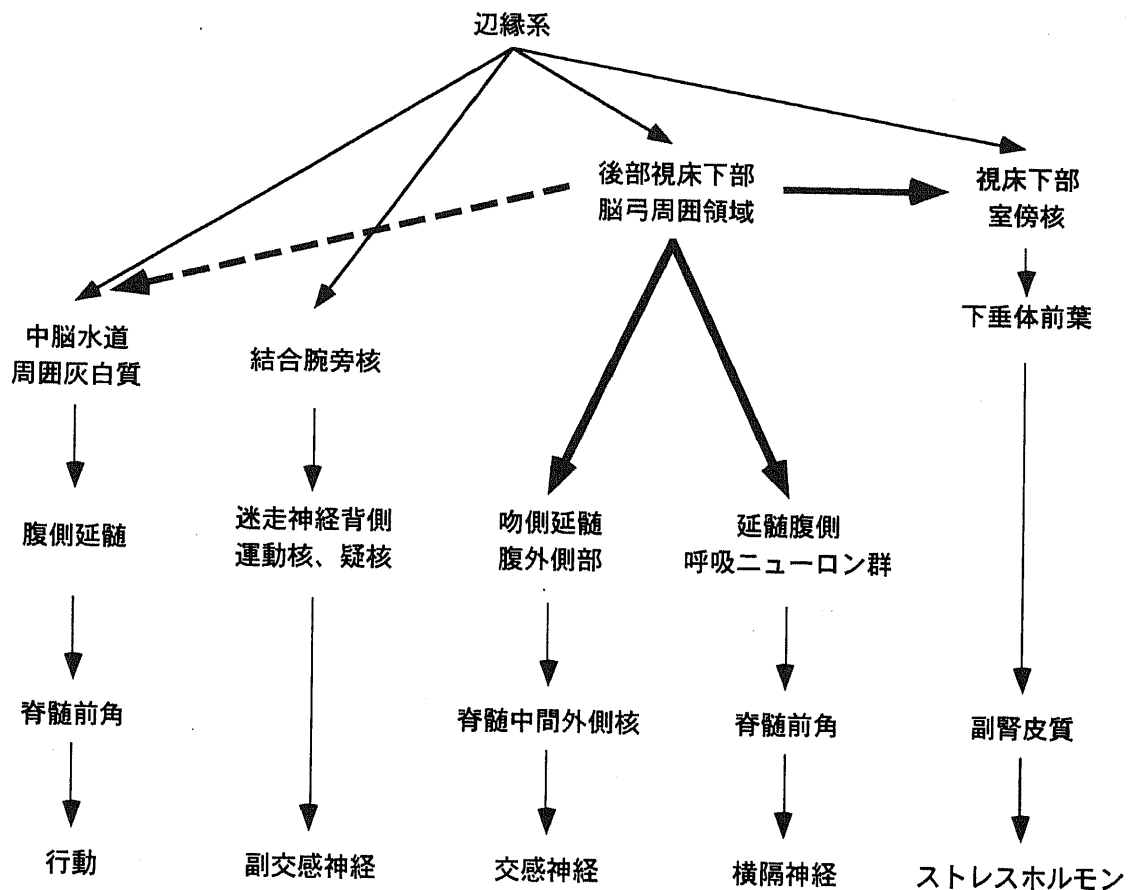


図6 ストレス防衛反応の脳内回路と伝達物質に関する仮説。太線はオレキシンを伝達物質とすると考えられる経路。

以上の結果から、脳弓周囲領域に存在するオレキシン含有神経は、ストレスに対する防衛反応の出力系の少なくとも一部を担っていると考えられた。オレキシンはストレスホルモンの放出にも関与しているという報告があるので、複数の調節系を一斉に変化させるという防衛反応の特徴にもよく一致した結果であると考えられた（図6）。さらにオレキシンは、交感神経の活性化を介して安静時基礎血圧の決定にも関与していると結論された。

謝辞：本研究は以下の各研究室の先生方との共同で行われた。千葉大学大学院医学研究院自律機能生理学：萱場祐司、中村晃、福田康一郎、同循環病態医科学：小室一成、同分子生体制御学：粕谷善俊、テキサス大学分子遺伝学：大内崇史、柳沢正史。

## § 文献

- 1) Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, et al.: Narcolepsy in orexin knockout mice: Molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98: 437-451, 1999.
- 2) DiMicco JA, Samuels BC, Zaretskaia MV, et al.: The dorsomedial hypothalamus and the response to stress. Part renaissance, part revolution. *Pharmacol Biochem Behav* 71:469-480, 2002.
- 3) Hess WR: *The Diencephalon*. Grune & Stratton, New York, 1954.
- 4) Kayaba Y, Nakamura A, Kasuya Y, et al.: Attenuated defense response and low basal blood pressure in orexin knockout mice. *Am J Physiol Regul Integ Comp Physiol* 285:R581-R593, 2003.
- 5) 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. *Cell* 92: 573-585, 1998.
- 6) Shirasaka T, Nakazato M, Matsukura S, et al.: Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol* 277: R1780-R1785, 1999.