

# 海胆早期多巴胺能神经系统的发育 及功能研究进展\*

汝少国<sup>①</sup> 王翠翠

(中国海洋大学海洋生命学院 青岛 266003)

**摘要** 早期发育阶段的海胆是海洋生态毒理学研究的重要模式生物。海胆多巴胺(DA)能神经系统发育较胆碱能系统早,也比5-羟色胺能系统更早地调控海胆早期形态发生和游泳行为,因此,以早期发育阶段海胆为模式生物,对DA能神经系统发育及功能进行综述。DA递质及其受体是DA能系统发育的重要基础,DA及其受体合成后,DA能神经元发育进入DA能神经元前体细胞期,该时期DA及1型DA受体(DRD<sub>1</sub>)均以直径1-2 μm大小颗粒形式(DA/DRD<sub>1</sub>-Gs)存在,且从旋转囊胚期至变态阶段在胚胎和幼虫表面均有表达;DA/DRD<sub>1</sub>-Gs聚集后,四腕幼虫早期,DA能细胞开始在下唇神经节和后口腕基部形成且具有轴突联系,八腕幼虫期其数量增至最大;此后,DA能系统逐步发育直至成熟。海胆早期发育阶段形态发生受多种递质系统共同调控,而游泳行为则在不同时期由DA能神经系统单独或联合其他系统共同调控。最后,展望海胆DA能系统发育影响因子、DA受体发育调控功能及其功能通路、海胆早期三大递质系统在形态发生和游泳行为调控过程中的主次关系及其上/下调机制、神经毒物对DA能系统发育影响等领域的研究前景。

**关键词** 海胆;早期发育阶段;多巴胺能神经系统

**中图分类号** Q426 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2015)01-0132-07

1995年,美国环境保护局(EPA)将海胆胚胎毒性试验方法列为标准的生态毒理学试验方法(US EPA 600R95136)。海胆与脊索动物亲缘关系较近(Burke *et al*, 2006; Sodergren *et al*, 2006),其神经递质系统和信号传导途径与脊椎动物类似(Morale *et al*, 1998; Angelini *et al*, 2005; Buznikov *et al*, 2007);海胆对污染物敏感,尤其早期发育阶段对有机污染物更敏感(Graillet *et al*, 1993);而且海胆具有生命力强、适应性广、易饲养、繁殖周期短、产卵量大、胚胎或幼虫通体透明、研究较透彻等优势,近年来海胆已日益成为海洋生态毒理学研究的重要模式生物(Berdyshev *et al*, 1995; Semenova *et al*, 2006; Falugi *et al*, 2008)。

其中,较多研究通过观察毒物对海胆胚胎和幼虫发育的影响,来探讨毒物作用机制及靶标(Pagano *et al*, 2002; Pesando *et al*, 2003; Aluigi *et al*, 2008)。作为海胆胚胎发育调控信号(Buznikov *et al*, 2007),神经递质及相应系统的发育研究(Katow *et al*, 2010、2013),特别是神经毒物对递质系统发育影响相关研究逐渐增多(Buznikov *et al*, 2001a、b; Yao *et al*, 2010; 许磊, 2012<sup>1)</sup>)。此外,受递质系统调控的海胆早期发育阶段游泳行为相关研究也不断受到关注(Yaguchi *et al*, 2003),调控游泳行为的纤毛结构及其作用机理等基础研究也逐步展开(Wada *et al*, 1997; Doran *et al*, 2004)。

\* 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题(20120132110011)资助

① 通讯作者:汝少国,教授, E-mail: rusg@ouc.edu.cn

收稿日期:2014-03-21, 收修修改稿日期:2014-05-13

1) 许磊. 久效磷农药扰乱马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*) 5-羟色胺能神经系统发育的机制研究. 中国海洋大学硕士学位论文, 2012, 1-67

海胆早期发育阶段形态发生受多种递质系统共同调控,而游泳行为则在不同时期由 DA 能神经系统单独或联合其他系统共同调控。海胆递质系统中研究较多且重要的主要有胆碱能系统(Cholinergic System)、5-羟色胺(5-Hydroxytryptamine, 5-HT)能系统和多巴胺(Dopamine, DA)能神经系统三大关键递质系统,其中,DA 能系统发育较胆碱能系统早(Falugi *et al.*, 2002; Katow *et al.*, 2010),而且,在最早发育成熟的递质系统——5-HT 能系统发育前,DA 递质及其受体就已开始表达,并对海胆早期形态发生和游泳行为具有重要调控作用(Buznikov *et al.*, 2001b、2007; Katow *et al.*, 2010)。因此,本文以早期发育阶段海胆为模式生物,对 DA 能神经系统的发育及其功能进行综述。

## 1 海胆早期多巴胺能神经系统的发育

Bisgrove 等(1987)研究发现,海胆 DA 能神经系统包括口部下唇神经节和一对后口腕基底神经节。通常,DA 能神经元发育大致经历 4 个阶段,即前体细胞期—DA 能神经元前体细胞期—DA 能神经元早期—DA 能神经元成熟期。前体细胞是一类只能向特定终末分化细胞分化、比祖细胞的增殖能力更有限的成体细胞。前体细胞期,DA 递质及其受体等 DA 能神经系统中发挥作用的主成分均尚未合成。DA 递质和多巴胺受体(Dopamine receptor, DR)是 DA 能系统发育的基础。

### 1.1 多巴胺递质代谢过程及多巴胺受体

DA 递质代谢主要包括 DA 的合成、转运和降解 3 个重要过程(图 1),代谢所需合成酶、转运体及降解酶对 DA 代谢过程至关重要。

**1.1.1 合成、储存与释放** DA 属于非肽类小分子神经递质,在轴突末梢合成并贮存于突触囊泡中,当神经冲动到来时,突触囊泡即与突触前膜融合释放 DA 递质至突触间隙。

DA 合成原料为来自于血液中的酪氨酸(Tyrosine, Tyr),Tyr 首先在酪氨酸羟化酶(Tyrosine hydroxylase, TH)作用下合成左旋多巴(L-DOPA),再经多巴脱羧酶(Dopa Decarboxylase, DDC)催化合成 DA(Rang *et al.*, 2010),这两步反应均在胞浆中进行,TH 含量少、活性低,为 DA 合成限速酶。DA 合成后即被囊泡单胺转运体(Vesicular Monoamine Transporter, VMAT)快速摄入囊泡中储存。当囊泡中含有多巴胺  $\beta$  羟化酶(Dopamine  $\beta$ -Hydroxylase, DBH)时,DA 则会被进一步催化合成去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)储存于囊泡中,NE 还可

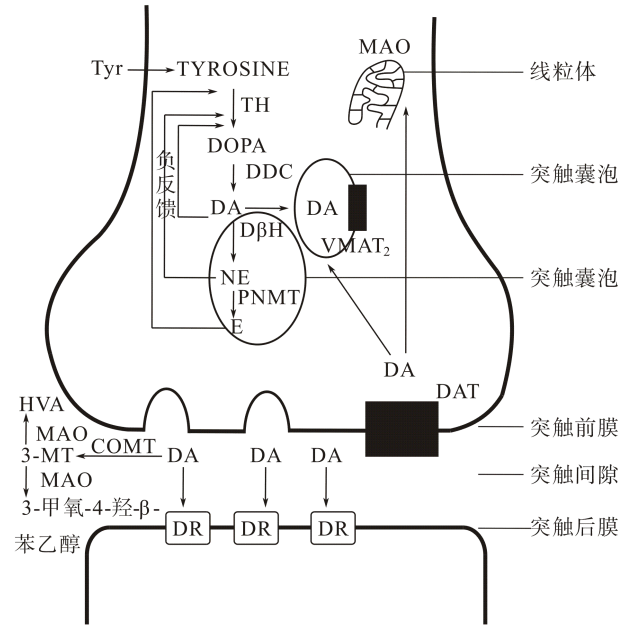


图 1 突触部位 DA 递质代谢

Fig.1 DA neurotransmitter metabolism in synapsis

线粒体: Mitochondria; 突触囊泡: Synaptic Vesicles; 突触前膜: Presynaptic membrane; 突触间隙: Synaptic cleft; 突触后膜: Postsynaptic membrane; DA: Dopamine

以在苯乙醇胺-N-甲基转移酶(Phenylethanolamin N-Methyl Transferase, PNMT)作用下生成肾上腺素(Epinephrine, E),所以 DA 为 NE 和 E 合成的前体物质,三者均属于儿茶酚胺(Catecholamine, CA)类。由于 CA 合成速率调控机制为负反馈抑制作用,即通过终产物来抑制合成途径中的限速步骤,因而,当神经末梢胞浆中游离 DA、NE 或 E 浓度过高时,限速酶 TH 则会受到负反馈抑制,从而减少 CA 合成。

此外,囊泡除了具有储存作用外,还可参与递质释放。当神经冲动到达突触前膜时, $Ca^{2+}$ 通道开放, $Ca^{2+}$ 内流,细胞内  $Ca^{2+}$ 浓度增加,促使囊泡与前膜融合,DA 从而以胞吐形式释放至突触间隙。由于 DA 释放是  $Ca^{2+}$ 依赖性的,因此,由膜外进入膜内的  $Ca^{2+}$ 数量可以直接影响 DA 释放量。递质释放后,囊泡膜会在突触前膜经内吞作用形成新囊泡,从而实现囊泡再循环。

**1.1.2 转运** 释放到突触间隙的 DA 与突触后膜上的 DR 结合产生生理效应后,大部分被转运回突触前膜以备再次利用。

与受体结合后,DA 即被突触前膜的多巴胺转运体(Dopamine transporter, DAT)重摄取至突触前膜胞浆中,然后在 VMAT 作用下被快速转入囊泡中贮存,当神经冲动到达前膜时,DA 被再次释放至突触间隙。

因此, DAT 和 VMAT 相互配合, 可以一定程度调控 DA 递质的空间分布。海胆中 DA 摄取量取决于胚胎发育时间和 DA 浓度, 海胆未受精卵中 DA 摄取量较高, 但受精后 20–30 min 开始下降, 卵裂期又有所增加(Carginale *et al.*, 1995)。目前, 尚未有海胆 DAT 和 VMAT 相关研究。

**1.1.3 降解** 与受体结合后, 突触间隙的 DA 除被重摄取回前膜再次利用外, 剩余大部分都被酶促降解而最终失活。

广泛分布的单胺氧化酶(Monoamine oxidase, MAO)和儿茶酚氧位甲基转移酶(Catechol-O-Methyl Transferase, COMT, EC.2.1.1.6)是催化 DA 分解的两种重要酶类(Charles, 2006), COMT 主要存在于突触间隙, 而 MAO 则在突触前膜和间隙中均有分布。

神经元内的 DA 首先经 MAO 氧化脱氨生成醛再转化为 3,4-二羟- $\beta$ -苯乙酸或 3,4-二羟苯乙酸(3,4-hydroxyphenylacetic acid, DOPAC), 然后, 在  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  存在下, 由 S-腺苷蛋氨酸提供甲基, 经神经元外的 COMT 进一步甲基化生成醇或酸, DA 的主要终产物在中枢神经元中为 3-甲氧-4-羟- $\beta$ -苯乙醇, 而在外周神经元中则为高香草酸(Homovanillic Acid, HVA); 突触间隙的 DA 首先由 COMT 转化为 3-甲氧基酪氨(3-MT), 再由 MAO 最终转化为 3-甲氧-4-羟- $\beta$ -苯乙醇和 HVA。作为 DA 的重要终代谢物, HVA 可被用作间接判断 DA 含量。

总之, DA 递质代谢各个过程协同作用才能确保 DA 代谢保持动态平衡。

**1.1.4 多巴胺受体** 突触间隙中含有粘多糖、糖蛋白和唾液酸等化学成分, DA 与其结合后才能由前膜移至后膜进而与受体结合发挥生理作用。海胆共有  $\text{D}_1$ - $\text{D}_5$  五种 DR, 它们均属于 7 个跨膜区域(7-GM)组成的 G 蛋白偶联受体(G Protein Coupled Receptor, GPCR)(Gingrich *et al.*, 1993), 根据生物化学和药理学性质, 可分为促进型  $\text{D}_1$  类( $\text{D}_1$ 、 $\text{D}_5$ )和抑制型  $\text{D}_2$  类( $\text{D}_2$ 、 $\text{D}_3$ 、 $\text{D}_4$ )两大受体家族(Missale *et al.*, 1998)。海胆  $\text{D}_1$  和  $\text{D}_2$  受体家族对腺苷酸环化酶(AC)的调控作用与哺乳动物脑类似(Kebabian *et al.*, 1979; Stoof *et al.*, 1981)。 $\text{D}_1$  受体家族与刺激型 G 蛋白( $\text{G}_{\text{os}}$ )偶联, 激活 AC 第二信使系统, 调控细胞代谢包括离子通道功能。相反,  $\text{D}_2$  受体家族与抑制型 G 蛋白( $\text{G}_{\text{oi}}$ )偶联, 直接调控偶联  $\text{G}_{\text{oi}}$  亚单元的效应因子, 抑制 AC 活性(Enjalbert *et al.*, 1983)。

贮存于海胆未受精卵表面的 DR, 在受精后仅可发挥作用数分钟或数秒钟, 但在整个胚胎发育阶段 DR 均可再生(Carginale *et al.*, 1995)。DR 不可逆失活

时, 早期胚胎发育受损。马粪海胆(*H. pulcherrimus*)的 DR 中 1 型多巴胺受体(Dopamine receptor 1,  $\text{DRD}_1$ )分布较广、表达水平最高, 而且在 9.5-hpf 旋转囊胚期即开始表达, 它可以结合 DA 递质来共同调控海胆胚胎和幼虫的形态发生和游泳行为(Katow *et al.*, 2010)。至于海胆其他各型 DR 的作用及信号转导途径相关研究则尚未有报道。

## 1.2 前多巴胺能神经系统中 DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 的形成

DA 递质及 DR 合成后, DA 能神经元发育即进入 DA 能神经元前体细胞期, 该时期递质具有一定的功能活性(Buznikov, 1990)。

Katow 等(2010)发现, 在 DA 能系统发育成熟之前(即前多巴胺能神经系统), 马粪海胆(*H. pulcherrimus*) DA 递质及  $\text{DRD}_1$  受体蛋白在即将孵化前的 9.5 hpf 旋转囊胚期开始表达。DA 形成直径 1–2  $\mu\text{m}$  大小 DA 颗粒(Dopaminergic granules, DAGs), 从旋转囊胚期至变态阶段在胚胎和幼虫表面均有表达, 且最先出现于外胚层顶端表面。在 48 hpf 二腕幼虫期, DAGs 数目显著上升并开始发生聚集, 从最初胚胎期的均匀分布模式发展为有序的纤毛环模式, 而在 34 dpf 八腕幼虫期, DAGs 则在各腕及前、后毛肩片上聚集并形成一条较窄的条带。多巴胺受体  $\text{D}_1$  颗粒(Dopaminergic receptor  $\text{D}_1$  granules,  $\text{DRD}_1$ -Gs)的形成时间、分布模式及位置均与 DAGs 非常相似, 并可在跨膜区域与 DAGs 紧密结合(DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs), 每个 DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 还包含多种 DA/ $\text{DRD}_1$  信号通路的异质共聚物。DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 与纤毛基体相连, 且密集填充于纤毛环中。二腕幼虫至八腕幼虫阶段(48–34 dpf), 幼虫腕纤毛环中 DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 均为典型的 5 列条带类型, 但 34 dpf 顶簇区 DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 的列数大约增至 7。

## 1.3 DA 能神经细胞形成

DA/ $\text{DRD}_1$ -Gs 聚集后, 四腕幼虫早期, DA 能神经细胞开始在下唇神经节和后口腕基部形成且具有轴突联系, 八腕幼虫期其数量增至最大(Bisgrove *et al.*, 1987)。原肠胚期及其之前阶段, DA 仅在未分化细胞中合成; 而长腕幼虫期, DA 还可在分化神经元中合成。虽然分化和未分化细胞均可合成 DA, 但相比之下, DA 能神经元的递质储存系统更有效, 因此, DA 能细胞形成对 DA 含量增加非常重要(Toneby, 1980)。

DA 能细胞形成后, 在长腕幼虫发育过程中, 神经元逐步生长、迁移, 轴突不断延伸、联系, DA 阳性纤维也不断生长、延伸, DA 能神经元逐渐成熟,

DA 能神经系统最终发育成熟。目前关于海胆 DA 能神经系统具体发育过程及时期相关研究很少, 亟待补充。

## 2 海胆早期多巴胺能神经系统的功能

### 2.1 形态发生调控

以马粪海胆(*H. pulcherrimus*)为例, 通常海胆早期发育过程大致可分为以下阶段: 5-6 hpf 桑椹胚期, 8 hpf 未孵化非旋转囊胚期, 9.5 hpf 未孵化旋转囊胚期, 14-15 hpf 浮游囊胚期, 16 hpf 间质囊胚期, 20 hpf 原肠胚早期, 24-29 hpf 棱柱幼虫期, 48 hpf 二腕幼虫期, 67-72 hpf 二腕幼虫晚期以及 34 dpf 八腕幼虫期(Katow *et al.*, 2010)。

研究表明, 海胆早期发育过程中的一系列形态特征变化, 受到包括胆碱能系统、5-HT 能系统和 DA 能系统在内的多种递质系统共同调控(Buznikov *et al.*, 2001a; Pesando *et al.*, 2003; Qiao *et al.*, 2003; Aluigi *et al.*, 2005)。5-HT 受体和 DR 拮抗剂可以阻断海胆胚胎卵裂(Buznikov *et al.*, 2001b)。DA 递质及其受体在 5-HT 能系统发育成熟之前就开始表达, 对海胆早期胚胎和幼虫形态发生具有重要调控作用。有研究表明, DA 能信号通路能够通过其 D<sub>2</sub> 受体调节腕长, 进而控制幼虫发育可塑性(Adams *et al.*, 2011)。单胺转运体阻断剂利血平能够引起海胆早期发育畸形, 而 5-HT 和 DA 的类似物则能够缓解或消除利血平的影响(Buznikov *et al.*, 2007)。

通常同一轴突含有多种递质, 如下唇神经节最初只包含 DA 能细胞, 但 7 d 后, 5-HT 能细胞也出现(Bisgrove *et al.*, 1987)。Buznikov 等(2007)认为, 在海胆早期发育过程中, 所有递质都作用于一个相同的下游信号通路, 共同调控胚胎发育, 当某递质系统受影响导致发育畸形时, 任一递质的外源类似物均可以缓解这种畸形效应, 这进一步说明, 海胆早期发育阶段形态发生受多种神经递质系统共同调控。

### 2.2 游泳行为调控

海胆幼虫生长发育伴随着其游泳行为复杂性的增加, 游泳行为对摄食、逃逸反应以及光敏垂直迁移等活动都相当重要, 海洋幼虫的游泳行为依靠纤毛推动作用。纤毛是海胆等海洋无脊椎动物幼虫的主要运动器官(Kinukawa *et al.*, 2007), Nakajima(1986a、b)首先观察到了位于海胆幼虫前口区的纤毛结构, 并且证明了纤毛由具有轴突结构的细胞长出。幼虫游泳的首要效应器为纤毛环(Strathmann, 1971、1975), 纤毛着生其上, 纤毛摆动频率、周期乃至方向等均受多种递

质系统调控(Wikramanayake *et al.*, 1997)。除了前、后泳动之外, 随着海胆幼虫发育, 幼虫在以动、植物极为轴线进行逆时针方向自转的同时, 其动物极在驱动力牵引下可以向前运动, 从而使每个幼虫在保持自转的同时还能上、下游动。

CA 能神经元和肽能神经元可能参与调控纤毛摆动(Nakajima, 1987; Beer *et al.*, 2001)。DA 和 5-HT 均可调控幼虫游泳的速度和方向, 二者首要调控纤毛摆动方向, 其次调控摆动频率。Mogami 等(1992)发现, 5-HT 增加了马粪海胆(*H. pulcherrimus*)和红海胆(*Pseudocentrotus depressus*)长腕幼虫游泳速率; DA 降低了红海胆(*P. depressus*)长腕幼虫的向前泳动速率, 却增加了其向后泳动速率。

研究认为, 5-HT 能系统、多巴胺能系统和  $\gamma$ -氨基丁酸(Gamma Amino Acid Butyric Acid, GABA)能神经系统均可参与调控海胆幼虫期游泳行为(Bisgrove *et al.*, 1987; Yaguchi *et al.*, 2003; Katow *et al.*, 2007、2013), 但囊胚期游泳行为很可能受前多巴胺能神经系统调控(Katow *et al.*, 2010)。Katow 等(2010)发现, DAGs 和 DRD<sub>1</sub>-Gs 从 9.5 hpf 未孵化旋转囊胚期一直到变态阶段, 在胚胎和幼虫表面均有表达。DA/DRD<sub>1</sub>-Gs 最先出现在外胚层顶端表面, 与纤毛基体相连, 直至八腕幼虫阶段均密集填充于纤毛环中。研究发现, DA 合成抑制剂以及 DR 拮抗剂均能够抑制马粪海胆(*H. pulcherrimus*)囊胚期游泳行为。认为 DA/DRD<sub>1</sub>-Gs 是 DA 能神经系统调控胚胎和幼虫游泳行为的形态学基础, 囊胚期游泳行为受前多巴胺能神经系统调节。因此, 在 DA 能细胞出现之前, 甚至 5-HT 能细胞出现之前, 前 DA 能系统中就存在可以调控海胆形态发生和游泳行为的重要因子, 即 DA 递质及其受体 DRD<sub>1</sub>。

总之, DA 能神经系统可以单独或与其他系统共同调控海胆早期发育阶段游泳行为。在 5-HT 能神经系统开始发育之前即胚胎期的游泳行为主要由前多巴胺能神经系统调控; 而 5-HT 能神经系统开始发育之后即幼虫期的游泳行为, 则可能主要由包括 5-HT 能系统、前多巴胺能神经系统和 GABA 能神经系统等在内的多种递质系统协同调控。

## 3 展望

### 3.1 进一步探究海胆多巴胺能系统发育影响因子、多巴胺受体作用及机制

目前, DA 能系统相关研究多以大鼠、小鼠为对象, 而且远较海胆透彻。首先, 对海胆 DA 能系统发

育的关键成分 DR 了解较少,但在大鼠中,各受体的信号转导途径及作用已较明确。介导大鼠 DR 功能的通路以 AC/cAMP/PKA 为主, MAPK、Akt/NF- $\kappa$ B 及 PLC $\beta$ /IP $_3$  等为辅(Neve *et al*, 2004)。大鼠 DR 活化可以调控轴突导向活动,改变神经元迁移、细胞周期活动和细胞形态,也可能会影响其发育过程。因此,可以运用生化方法和分子生物学方法,对几种海胆 DR 的功能、相互关系及其信号转导途径进一步研究,以深入了解 DR 并为其对海胆形态发生和游泳行为的调控机制研究奠定基础。其次,对海胆 DA 能神经系统发育影响因子了解较少,但已明确的是小鼠 DA 能神经元发育受包括 Pitx3、Nurr1、Lmx 1b、神经营养因子、醛脱氢酶(Aldehyde Dehydrogenase, AHD $_2$ )及维 A 酸(RA)等多种转录和生长因子调控,而且各因子间具有相互作用,因此,今后可以着重探究海胆中以上基因对 DA 能系统发育的影响。

### 3.2 以早期海胆为模式生物,探究三大神经系统在调控过程中的相互关系

由于海胆早期发育阶段形态发生和游泳行为受多种递质系统共同调控,而且主要是胆碱能系统、5-HT 能系统和 DA 能系统三大神经系统共同作用的结果,但具体调控机理并无定论。为了进一步明确海胆早期发育阶段各时期三大递质系统是怎样协同调控形态发生和游泳行为的,主要作用系统和次要作用系统是如何发挥上调或下调作用的,可以借助各系统的特异性拮抗剂进行干扰处理,首先排除其他系统的影响,然后再在分子水平进行研究并结合形态学观察,来逐步探究各个系统的作用机制。

### 3.3 以早期海胆为模式生物,进一步探究神经毒物对 DA 能系统发育的影响

研究发现,神经毒物可以通过影响 DA 能系统各因子(DAT、VMAT $_2$ 、MAO 或 DRD $_1$  等),进而造成动物形态发生和运动行为异常而表现神经毒性作用(Cadet *et al*, 1998; Gluck *et al*, 2001; Bradner *et al*, 2013; 姚丹, 2010<sup>1)</sup>)。因此,可以运用实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR)和酶联免疫吸附法(ELISA)等方法,分析神经毒物对海胆 DA 递质、DR 和 DA 递质代谢过程关键因子(如 TH、DAT、MAO 等)的影响,为进一步探讨海胆 DA 能系统发育影响因子及神经毒物的作用机制提供理论依据。

## 参 考 文 献

- Adams DK, Sewell MA, Angerer RC, *et al*. Rapid adaptation to food availability by a dopamine-mediated morphogenetic response. *Nat Commun*, 2011, 2: 592
- Aluigi MG, Angelini C, Corte G, *et al*. The sea urchin, *Paracentrotus lividus*, embryo as a "bioethical" model for neurodevelopmental toxicity testing: Effects of diazinon on the intracellular distribution of OTX2-like proteins. *Cell Biol Toxicol*, 2008, 24(6): 587-601
- Aluigi MG, Angelini C, Falugi C, *et al*. Interaction between organophosphate compounds and cholinergic functions during development. *Chem-Biol Interact*, 2005, 157-158: 305-316
- Angelini C, Aluigi MG, Sgro M, *et al*. Cell signaling during sea urchin development: a model for assessing toxicity of environmental contaminants. *Prog Mol Subcell Biol*, 2005, 39: 45-70
- Beer AJ, Moss C, Thorndyke M. Development of serotonin-like and SALMF amide-like immunoreactivity in the nervous system of the sea urchin *Psammechinus miliaris*. *Biol Bull*, 2001, 200(3): 268-280
- Berdyshev EV, Vaskovsky VE, Vaschenko MA. Sea urchins-a new model for PAF research in embryology. *Comp Biochem Phys B*, 1995, 110(3): 629-632
- Bisgrove BW, Burke RD. Development of the nervous system of the pluteus larva of *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Cell Tissue Res*, 1987, 248(2): 335-343
- Bradner JM, Suragh TA, Wilson WW, *et al*. Exposure to the polybrominated diphenyl ether mixture DE-71 damages the nigrostriatal dopamine system: Role of dopamine handling in neurotoxicity. *Exp Neurol*, 2013, 241: 138-147
- Burke RD, Angerer LM, Elphick MR, *et al*. A genomic view of the sea urchin nervous system. *Dev Biol*, 2006, 300(1): 434-460
- Buznikov GA, Nikitina LA, Bezuglov VV, *et al*. An invertebrate model of the developmental neurotoxicity of insecticides: effects of chlorpyrifos and dieldrin in sea urchin embryos and larvae. *Environ Health Perspect*, 2001a, 109(7): 651-661
- Buznikov GA. Neurotransmitters in Embryogenesis. Chur, Switzerland Harwood Academic Publishers, 1990:1-526
- Buznikov GA, Nikitina LA, Rakić LM, *et al*. The sea urchin embryo, an invertebrate model for mammalian developmental neurotoxicity, reveals multiple neurotransmitter mechanisms for effects of chlorpyrifos: therapeutic interventions and a comparison with the monoamine deplete, reserpine. *Brain Res Bull*, 2007, 74 (4): 221-231
- Buznikov GA, Lambert HW, Lauder JM. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. *Cell Tissue Res*, 2001b, 305(2): 177-186

1) 姚丹. 久效磷对马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)胚胎发育神经毒性效应研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 2010, 1-94

- Cadet JL, Brannock C. Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochem Int*, 1998, 32(2): 117–131
- Carginale V, Borrelli L, Capasso A, *et al.* Changes in Dopamine Uptake and Developmental Effects of Dopamine Receptor Inactivation in the Sea Urchin. *Mol Reprod Dev*, 1995, 40(3): 379–385
- Charles AM. Dopamine: the rewarding years. *Brit J Pharmacol*, 2006, 147(Suppl 1): 136–144
- Doran SA, Koss R, Tran CH, *et al.* Effect of serotonin on ciliary beating and intracellular calcium concentration in identified populations of embryonic ciliary cells. *J Exp Biol*, 2004, 207(8): 1415–1429
- Enjalbert A, Bockaert J. Pharmacological characterization of the D<sub>2</sub> dopamine receptor negatively coupled with adenylate cyclase in rat anterior pituitary. *Mol Pharmacol*, 1983, 23 (3): 576–660
- Falugi C, Diaspro A, Angelini C, *et al.* Three-dimensional mapping of cholinergic molecules by confocal laser scanning microscopy in sea urchin larvae. *Micron*, 2002, 33(3): 233–239
- Falugi C, Lammerding-Koppel M, Aluigi MG. Sea Urchin Development: An Alternative Model for Mechanistic Understanding of Neurodevelopment and Neurotoxicity. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2008, 84(3): 188–203
- Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptor. *Annu Rev Neurosci*, 1993, 16: 299–321
- Gluck MR, Moy LY, Jayatilleke E, *et al.* Parallel increases in lipid and protein oxidative markers in several mouse brain regions after methamphetamine treatment. *J Neurochem*, 2001, 79(1): 152–160
- Graillet C, Pagano G, Girard JP. Stage-specific effects of teratogens on sea urchin embryogenesis. *Teratogen Carcinogen Mutagen*, 1993, 13(1): 1–14
- Katow H, Abe K, Katow T, *et al.* Development of the GABA-ergic signaling system and its role in larval swimming in sea urchin. *J Exp Biol*, 2013, 216 (Part 9): 1704–1716
- Katow H, Suyemitsu T, Ooka S, *et al.* Development of a dopaminergic system in sea urchin embryos and larvae. *J Exp Biol*, 2010, 213(16): 2808–2819
- Katow H, Yaguchi S, Kyojuka K. Serotonin stimulates [Ca<sup>2+</sup>] elevation in ciliary ectodermal cells of echinoplutei through a serotonin receptor cell network in the blastocoels. *J Exp Biol*, 2007, 210(Pt 3): 403–412
- Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 1979, 277: 93–96
- Kinukawa M, Vacquier VD. Adenylate kinase in sea urchin embryonic cilia. *Cell Motil Cytoskel*, 2007, 64(4): 310–319
- Missale C, Nash SR, Robinson SW, *et al.* Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiol Rev*, 1998, 78(1): 189–225
- Mogami Y, Watanabe K, Ooshima C, *et al.* Regulation of ciliary movement in sea urchin embryos: dopamine and 5-HT change the swimming behavior. *Comp Biochem Physiol*, 1992, 101(2): 251–254
- Morale A, Conigiio L, Angelini C, *et al.* Biological effects of a neurotoxic pesticide at low concentrations on sea urchin early development. *Chemosphere*, 1998, 37(14): 3001–3010
- Nakajima Y. Presence of ciliary patch in preoral epithelium of sea urchin plutei. *Dev Growth Differ*, 1986a, 28(3): 243–249
- Nakajima Y. Development of the nervous system of sea urchin embryos: Formation of the ciliary bands and the appearance of two types of ectoneural cells in the pluteus. *Dev Growth Differ*, 1986b, 28(6): 531–542
- Nakajima Y. Localization of catecholaminergic nerves in larval echinoderms. *Zool Sci*, 1987, 4(2): 293–299
- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res*, 2004, 24(3): 165–205
- Pagano G, Biase A, Iaccarino M, *et al.* Bauxite manufacturing residues from Gardanne (France) and Portovesme (Italy) exert different patterns of pollution and toxicity to sea urchin embryos. *Environ Toxicol Chem*, 2002, 21: 1272–1278
- Pesando D, Huitorel P, Dolcini V, *et al.* Biological targets of neurotoxic pesticides analysed by alteration of developmental events in the Mediterranean sea urchin, *Paracentrotus lividus*. *Mar Environ Res*, 2003, 55(1): 39–57
- Qiao D, Nikitina LA, Buznikov GA, *et al.* The sea urchin embryo as a model for mammalian developmental neurotoxicity: ontogenesis of the high-affinity choline transporter and its role in cholinergic trophic activity. *Environ Health Persp*, 2003, 111(14): 1730–1735
- Rang HP, Dale MM, Pitter JM, *et al.* Rang and Dale's Pharmacology. Sixth Edition. Beijing: Peking University Medical Press, 2010, 526
- Semenova MN, Kiselyov A, Semenov VV. Sea urchin embryo as a model organism for the rapid functional screening of tubulin modulators. *BioTechniques*, 2006, 40(6): 765–774
- Sodergren E, Weinstock GM, Davidson EH, *et al.* The Genome of the Sea Urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Science*, 2006, 314: 941–952
- Stoof JC, Kebabian JW. Opposing roles for the D-1 and the D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature*, 1981, 294: 366–368
- Strathmann RR. Larval feeding in echinoderms. *Amer Zool*, 1975, 15: 717–730
- Strathmann RR. The feeding behavior of planktotrophic echinoderm larvae: mechanisms, regulation and rates of suspension-feeding. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1971, 6(2): 109–160
- Toneby M. Dopamine in developing larvae of the sea urchin *Psammechinus Miliaris* Gmelin. *Comp Biochem Phys*, 1980,

- 65(2), 139–142
- US EPA 600R95136. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to West Coast marine and estuarine organisms
- Wada Y, Mogami Y, Baba SA. Modification of ciliary beating in sea urchin larvae induced by neurotransmitters: Beat-plane rotation and control of frequency fluctuation. *J Exp Biol*, 1997, 200(1): 9–18
- Wikramanayake AH, Klein WH. Multiple signaling events specify ectoderm and pattern the oral-aboral axis in the sea urchin embryo. *Development*, 1997, 124(1): 13–20
- Yaguchi S, Katow H. Expression of tryptophan 5-hydroxylase gene during sea urchin neurogenesis and role of serotonergic nervous system in larval behavior. *J Comp Neurol*, 2003, 466(2): 219–229
- Yao D, Ru SG, Katow H. The neurotoxic effects of monocrotophos on the formation of the serotonergic nervous system and swimming activity in the larvae of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Environ Toxicol Pharm*, 2010, 30(2): 181–187

(编辑 冯小花)

## Progress on the Research of the Development and Function of the Dopaminergic Nervous System of Sea Urchin in the Early Developmental Stage

RU Shaoguo<sup>①</sup>, WANG Cuicui

(Marine Life Science College, Ocean University of China, Qingdao 266003)

**Abstract** Sea urchin embryo and larvae in the early developmental stages is an important model for research on marine ecological toxicology. Sea urchin dopaminergic (DA) nervous system develops earlier than the cholinergic system, and it starts to regulate the morphogenesis and swimming behaviors much earlier than the serotonergic system. Here we used sea urchin in the early developmental stages as a model and reviewed the development and the functions of the dopaminergic nervous system. The synthesis of dopamine and the receptors precedes the development of the dopaminergic nervous system. The dopaminergic neuron precursor cell period starts after the synthesis of DA and the receptors. In this period DA and DA receptor 1 (DRD<sub>1</sub>) appears in the form of granules of which the diameter is 1-2 μm (DA/DRD<sub>1</sub>-Gs), and they are also expressed on the surface of the embryo and larvae from the rotational blastula stage to the metamorphosis stage. After the aggregation of DA/DRD<sub>1</sub>-Gs, dopaminergic cells with the axon contacts begin to develop in the labial ganglion and the base of the back oral arms in the early four-wrist larval stage. The number of dopaminergic cells reached the maximum in the eight-wrist larval stage. Then the dopaminergic nervous system continues to develop until the maturity. The morphogenesis in the early developmental stage is regulated by several neurotransmitter systems together, and the swimming behaviors in different early periods can be regulated by either the dopaminergic nervous system alone or together with other systems. In the end, we assessed the prospective studies on issues, such as the factors affecting the development of the dopaminergic nervous system in the early developmental stages of sea urchin, the functions and the signaling pathway of DA receptors, the primary-secondary relationship and the mechanisms of the up-/down-regulation of the three important neurotransmitter systems in early morphogenesis and swimming behaviors, and the influences of neurotoxic substances on the development of the dopaminergic nervous system.

**Key words** Sea urchin; Early developmental stages; Dopaminergic nervous system

① Corresponding author: RU Shaoguo, E-mail: rusg@ouc.edu.cn