

海胆早期神经发育及有机磷农药对其神经毒性作用的研究进展

汝少国, 许磊

中国海洋大学海洋生命学院, 山东青岛 266003

摘要 早期发育阶段是有机磷农药神经毒性作用最敏感的时期, 海胆的胚胎和幼虫为研究有机磷农药对早期发育阶段的神经毒性作用提供了一种理想的模型。本文介绍了海胆的早期神经发育过程, 综述了神经系统对海胆早期发育的调控作用, 结合近年来国内外的研究, 阐述了有机磷农药对海胆早期发育的影响及其神经毒性作用机制, 并展望了该领域的研究方向。

关键词 海胆; 神经系统发育; 有机磷农药; 神经毒性

中图分类号 X503.225

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.15.011

Early Neurodevelopment of Sea Urchin and Neurotoxic Effects of Organophosphate Pesticides on It

RU Shaoguo, XU Lei

Marine Life Science College, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Abstract Despite their widespread use, organophosphate pesticides cause developmental neurotoxicity through a mechanism based on their function as an acetylcholinesterase inhibitor. Animals in early developmental stages are especially vulnerable to developmental neurotoxicity induced by organophosphate pesticides. The embryos and larvae of sea urchin provide a promising invertebrate model system for evaluating developmental neurotoxicity induced by organophosphate pesticides, as they develop quickly with well-characterized morphological and biochemical features, possess similar processes of neurogenesis and signaling cascades to chordates, and are vulnerable to pollutants. Both the neurodevelopment of sea urchin during early development stage and the regulation on the early development were included. Particularly, the neurotoxic effects of organophosphate pesticides on the early development and its potential neurotoxicity mechanism for sea urchin are discussed, and future prospects of this field are provided.

Keywords sea urchin; neurodevelopment; organophosphate pesticide; neurotoxicity

0 引言

有机磷农药是使用量较大和使用范围较广泛的一类农药^[1], 能够抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE, EC: 3.1.1.7)活性, 具有神经毒性作用。生物早期发育阶段是有机磷农药神经毒性作用最敏感的时期^[2-3], 海胆早期发育时间短, 对污染物敏感, 具有与脊索动物类似的神经递质系统和信号传导途径, 是研究有机磷农药对早期发育阶段神经毒性作用的理想模型^[4-6]。

1 海胆早期神经发育

1.1 血清素能神经系统的发育

血清素能神经系统是目前在海胆早期发育过程中研究较为透彻的神经系统之一^[7-12]。血清素细胞在原肠胚后期到棱柱幼虫早期最先出现在顶端神经节^[8], 血清素合成限速酶色氨酸羟化酶(HpTPH)的转录也是从原肠胚后期开始, 特异性的在血清素顶端神经节发生^[9]。血清素细胞的数目在棱柱幼虫期到二腕幼虫期快速增长, 其后增加变缓慢。例如马粪海

收稿日期: 2012-03-13; 修回日期: 2012-05-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31101905)

作者简介: 汝少国, 教授, 研究方向为污染生态学, 电子邮箱: rusg@ouc.edu.cn

胆 (*Hemicentrotus pulcherrimus*) 的血清素细胞在 24hpf (受精后 24h, hour post fertilization, hpf) 原肠胚晚期最早出现在动物极外胚层, 其数目到棱柱幼虫增加到 2—3 个, 二腕幼虫期达到 5—7 个, 在长腕幼虫晚期, 血清素细胞的数目根据个体间顶端神经节大小的不同也不尽相同, 大部分达到 8—10 个^[6]。至长腕幼虫期, 血清素能顶端神经节的基本结构形成^[7-8,13]。马粪海胆的血清素能顶系神经节细胞呈梨形, 血清素细胞沿着顶系神经节的结构呈线性排列^[8]。在长腕幼虫期, 不同品种海胆血清素细胞的数目不同, 例如紫球海胆 (*Strongylocentrotus purpuratus*) 在 86—90hpf 长腕幼虫期有 8 个血清素细胞^[13], 北方球海胆 (*Strongylocentrotus Droebachiensis*) 在 92hpf 长腕幼虫期有 24 个血清素细胞^[7], 马粪海胆在 72hpf 长腕幼虫期有 8—10 个血清素细胞^[8]。

随着数目的增加, 血清素细胞开始长出突起并不断延伸, 与相邻的神经细胞彼此相连。海胆血清素能轴突的延伸受到神经导向因子 netrin 及其受体的调控。在早期发育过程中, 马粪海胆 netrin (HpNetrin, netrin of *H. pulcherrimus*) 最初均匀地分布在囊胚表面, 随着发育的进程, HpNetrin 分布发生变化, 在动物极的表达量增加, 植物极的表达量减少, 至长腕幼虫期 HpNetrin 的表达呈现规律的梯度分布, 表达量在背部反口面外胚层和后端腹部外胚层较高, 在口面外胚层和前端腹部反口面外胚层表达量较低^[13]。血清素细胞在棱柱幼虫早期出现在上述两个区域之间 HpNetrin 表达量适中的区域, 在发育进程中, 位于中线左侧和右侧的血清素细胞先朝富 HpNetrin 的中脊延伸处延伸轴突, 在穿过中脊后, 又延续原来的方向朝远离富 HpNetrin 的区域延伸, 直至到达靶组织^[12]。

海胆的血清素能神经系统由位于外胚层顶端的顶端神经节和位于囊胚腔的受体网络组成^[8-11]。马粪海胆血清素受体细胞最先出现在棱柱幼虫的原肠消化道顶端附近, 至 48hpf 长腕幼虫早期形成完整的血清素受体细胞网络, 血清素能受体细胞网络由 7 个主要部分组成: 4 个与骨针系统相连的部分和 3 个与骨针系统独立的部分, 包括左、右口杆纤维束, 左、右体杆纤维束, 口突横向纤维束, 背胃神经丛, 背食管神经丛。血清素能受体细胞网络通过外胚层向幼虫表面延伸短纤维, 接受并传递外部信号^[10]。

1.2 多巴胺能神经系统的发育

多巴胺在血清素能神经系统出现之前就开始表达, 对海胆早期胚胎发育具有重要的调控作用。Bisgrove 和 Burke^[7,13] 用免疫组织化学的方法研究发现, 多巴胺能神经系统只在幼虫期表达, 多巴胺能细胞在四腕幼虫早期分别在下唇神经节和后口腕基部出现, 八腕幼虫期细胞数目最多。Anitole-Misleh 等^[14] 用高效液相色谱的方法检测到绿海胆 (*Lytechinus Variegates*) 的多巴胺从 18hpf 的游动囊胚期开始表达, 在 28hpf 的间叶囊胚到 42hpf 的原肠胚晚期不表达, 从 49hpf 棱柱幼虫期开始又开始表达。Katow 等^[15] 的研究表明, 马粪海胆的多巴胺聚集成 1 μ m 直径多巴胺颗粒 (Dopaminergic Granules, DAGs), 在即将孵化之前的 9.5hpf 游动囊胚期至变态阶段在

胚胎和幼虫的表面表达。DAGs 最先出现在外胚层顶端表面, 在 48hpf 长腕幼虫期, DAGs 的数目显著上升, 在口周围纤毛带区域形成一个宽带; 在 67hpf 长腕幼虫期, 口周纤毛带区域的 DAGs 聚集形成一个边缘锋利的围口条纹; 至 34dpf (受精后 34d, day post fertilization, dpf) 的八腕幼虫期, DAGs 在每条腕和前后肩处集中成一个狭小的条带。多巴胺 DRD1 受体在未受精的卵中就有表达, 其在海胆早期发育过程中的表达模式与 DAGs 的表达模式相同^[15]。

1.3 胆碱能神经系统的发育

海胆的早期发育过程中, 可以检测到乙酰胆碱酯酶、胆碱乙酰转移酶、烟碱型受体和毒蕈碱型受体等胆碱能系统组成部分的表达^[16], 但直至变态阶段都未检测到胆碱能系统的形成^[17]。胆碱乙酰转移酶是乙酰胆碱递质合成的限速酶, 在海胆精子中就已经能够检测到胆碱乙酰转移酶的表达^[18]。胆碱乙酰转移酶主要分布在海胆幼虫的内脏团上^[17]。在马粪海胆的早期发育过程中, 胆碱乙酰转移酶活性在原肠胚期较高, 随着发育的进行, 其活性逐渐降低^[19]。乙酰胆碱酯酶是乙酰胆碱的降解酶, 在海胆的精子、卵子以及早期分裂球中均能检测到乙酰胆碱酯酶的活性^[20-22]。乙酰胆碱酯酶活性在原肠胚后期之前很低, 从原肠胚期开始其活性迅速升高^[23-24]。至二腕幼虫期, 乙酰胆碱酯酶沿着骨针分布在口和腕足边缘和围口纤毛带^[23,25], 至六腕幼虫期, 沿着腕足分布在幼虫运动结构中^[17]。Angelini 等^[26] 和 Ivonnet 等^[27] 还分别在海胆的卵子和精子中发现烟碱型受体和毒蕈碱型受体。

2 海胆早期发育的神经调控

2.1 形态发生的神经调控

在海胆的早期发育过程中, 伴随着一系列特定形态特征的改变, 受到包括胆碱能神经系统、血清素能神经系统和多巴胺能神经系统在内的多种神经递质系统的调控^[5-6,28-29]。

乙酰胆碱酯酶具有形态发生素的作用^[30], 能够调控海胆早期发育过程中的细胞迁移、细胞增殖以及胚胎和幼虫的发育等^[21,31]。Aluigi 等^[32] 发现, 乙酰胆碱合成的抑制剂能够导致海胆胚胎层粘连蛋白运动减慢, 影响其骨针延长。Pesando 等^[28] 的研究表明, 乙酰胆碱酯酶能够调控海胆原肠胚分化过程初级间叶细胞的迁移, 从而影响海胆原肠消化道的形成。乙酰胆碱烟碱型受体的兴奋剂尼古丁导致海胆胚胎发育畸形^[5,33], 而乙酰胆碱烟碱型受体的拮抗剂能够减轻甚至消除尼古丁产生的这种致畸效应^[5]。可见, 胆碱能受体对海胆早期的形态发生也具有调控作用。

海胆早期发育阶段的形态发生也受到血清素和其他的一元胺类神经递质的调控。研究表明, 血清素和其他一些神经递质能够调控海胆早期发育阶段的卵裂^[34], 5HT_{2A/2B/2C} 受体和多巴胺受体的拮抗剂可以阻断海胆胚胎的卵裂^[35]。此外, 一元胺类神经递质血清素和多巴胺的类似物能够缓解或者消除利血平对海胆胚胎产生畸形效应^[5]。Buznikov 等^[16] 认为, 在海胆

的早期发育过程中,所有的递质都作用于一个相同的下游信号通路,共同调控胚胎的正常发育,当其中一个递质系统受到外界影响导致发育畸形时,外源的其他神经递质类似物可以缓解这种畸形效应。这说明,海胆早期发育阶段的形态发生受到多种神经递质系统的共同调控。

2.2 游泳行为的神经调控

海胆发育至囊胚后期,其表面遍生纤毛,在卵膜内转动不已,最终破开受精膜,孵化而出,在水中营浮游生活。纤毛是海胆胚胎和幼虫的主要运动器官,海胆的胚胎及幼虫通过纤毛摆动获得游泳能力。纤毛着生于纤毛环上,其摆动受多种神经系统的调控^[36-37]。

Bisgrove 等^[7]认为,多巴胺能神经系统和 γ -氨基丁酸能神经系统参与调控北方球海胆幼虫的游泳行为,而血清素能神经系统则不参与。Mogami 等^[38]提出,多巴胺和血清素共同调控海胆 (*Pseudocentrotus depressus* 和 *H. pukherrimus*) 幼虫的游泳行为,且在调控机制上起相反的作用,即多巴胺促进幼虫的向后泳动抑制向前泳动,而血清素却能促进向前泳动抑制向后泳动,Shiba 等^[39]的研究结果也与之一致。Yaguch 等^[9]的研究进一步证实了血清素对游泳行为的调控作用。对氯苯丙氨酸是血清素合成限速酶色氨酸羟化酶的特异性抑制剂,能够抑制马粪海胆长腕幼虫的游泳行为,而血清素能够缓解这种抑制效应,说明血清素对长腕幼虫的游泳行为起着至关重要的作用^[9,11]。Katow 等^[13]的研究表明,多巴胺合成的抑制剂以及多巴胺受体的拮抗剂均能够抑制马粪海胆囊胚期的游泳行为,说明这一时期海胆的游泳行为受到多巴胺能神经系统的调控。综上,海胆胚胎期的游泳行为主要由多巴胺能神经系统调控,而幼虫期的游泳行为则主要由血清素能神经系统调控。

3 有机磷农药对海胆早期发育的影响及作用机制

3.1 有机磷农药对海胆早期发育的影响

有机磷农药能抑制海胆的胚胎发育,导致发育畸形,发育迟缓,甚至死亡。毒死蜱暴露使绿海胆、北方球海胆、紫海胆 (*Sphaerechinus Granularis*) 和海胆 (*Dendraster excentricus*) 在囊胚腔积聚有色细胞,产生畸形幼虫^[5,30]。二嗪农能够干扰地中海海胆 (*Paracentrotus lividus*) 原肠化过程中原间质细胞的迁移和长腕幼虫腕的生长^[29],导致发育畸形。草甘膦能够延长紫海胆胚胎发育中的囊胚孵化时间^[40],造成发育迟缓。有机磷农药除了能够导致海胆发育畸形外,还能够影响海胆的游泳行为。Yao 等^[41]的研究表明,久效磷能够抑制马粪海胆二腕幼虫的向上游泳行为。

有机磷农药对海胆早期发育的影响与海胆的发育时期有关,一般来说,随着发育的进行,海胆胚胎和幼虫对有机磷农药的敏感性增强。将北方球海胆和紫球海胆受精后 30min 的胚胎暴露于不同浓度的毒死蜱中,至中囊胚期,高达 160 $\mu\text{mol/L}$ 的毒死蜱暴露对胚胎发育仍没有影响;而至囊胚

后期,1 $\mu\text{mol/L}$ 的毒死蜱就能够导致胚胎发育畸形,并且随着毒死蜱浓度的升高,畸形胚胎数目增加,20—40 $\mu\text{mol/L}$ 的毒死蜱能够导致 90% 细胞产生畸形^[5]。草甘膦对马粪海胆二细胞期的半数作用浓度为 20.52mg/L,囊胚期为 7.03mg/L,原肠胚期为 5.02mg/L,棱柱幼虫期为 4.72mg/L,四腕幼虫期为 3.99mg/L,可见,随着发育的进行,海胆胚胎和幼虫的敏感性增强,草甘膦的半数作用浓度降低^[42]。

3.2 有机磷农药对海胆早期发育的神经毒性机制

目前认为有机磷农药神经毒性作用的主要制毒机制是抑制了动物体内乙酰胆碱酯酶的活性,造成胆碱递质在神经突触处的过量积聚,使胆碱能受体过度兴奋,造成一系列中毒症状。乙酰胆碱酯酶在海胆的早期发育阶段具有重要的调控作用。久效磷农药可以抑制马粪海胆二腕幼虫期乙酰胆碱酯酶活性,扰乱其活性分布^[19]。Pesando 等^[20]的研究表明,二嗪农能够影响地中海海胆长腕幼虫期乙酰胆碱酯酶的活性分布,并且认为二嗪农暴露引起的乙酰胆碱酯酶抑制导致了初级间叶细胞迁移的延迟。胆碱能系统由乙酰胆碱酯酶、胆碱乙酰转移酶、烟碱型受体和毒蕈碱型受体等部分组成^[16]。有研究表明,毒死蜱能够降低新生大鼠不同脑区胆碱乙酰转移酶的活性^[43],笔者所在实验室的前期研究也表明,久效磷农药能够影响马粪海胆早期发育阶段胆碱乙酰转移酶的活性和分布^[19]。此外,有机磷农药还能对胆碱能受体产生影响,乙酰胆碱烟碱型受体的拮抗剂能够减轻甚至消除毒死蜱对海胆胚胎的致畸效应^[5],说明有机磷农药对海胆胚胎和幼虫形态发生的扰乱与乙酰胆碱受体的过度激活有关。胆碱能系统对海胆精子运动能力、精卵融合、体轴形成、形态发生等方面都具有重要作用^[31,44],因此,有机磷农药对胆碱能系统的影响,是有机磷农药对海胆早期发育阶段神经毒性作用的机制之一。

以其他生物为实验对象的研究表明,有机磷农药能够扰乱血清素能神经系统,影响血清素递质的含量、血清素递质的更新率、血清素转运体和受体的表达、血清素的正常代谢等^[45-48]。血清素是海胆早期发育阶段一种重要的神经递质,调控海胆早期发育过程中的形态发生和游泳行为^[7,9,13]。毒死蜱暴露能够导致海胆早期发育畸形,发育迟缓^[5],血清素递质的类似物能够缓解甚至消除毒死蜱产生的畸形效应^[6],说明有机磷农药对海胆早期发育的影响与血清素能神经系统有关。Yao 等^[41]的研究表明,久效磷能够导致血清素能神经系统发育延迟,减少血清素细胞数量,抑制血清素能轴突生长,扰乱血清素受体网络的形成。由此可见,有机磷农药对海胆早期发育阶段血清素能神经系统的扰乱,是其神经毒性作用的又一机制。

除了上述胆碱能神经系统和血清素能神经系统外,有机磷农药还能够影响海胆早期发育过程中的其他神经递质系统,例如多巴胺能神经系统^[6]。此外,有机磷农药还能够通过影响信号传导途径、DNA 合成、有丝分裂、钙离子稳态等引起神经发育毒性,但尚未有对海胆这些方面的研究。

4 展望

4.1 以海胆胚胎和幼虫为模式生物的神经发育毒性研究

早期发育阶段是神经毒性作用的敏感时期,海胆胚胎和幼虫为研究生物发育早期的神经毒性提供了一种较为理想的模型。首先,海胆的配子容易获得,体腔注射 KCl 或乙酰胆碱以及电刺激等多种方法均可诱导成熟海胆排卵,一次诱导可以获得大量的精子和卵子,符合国际环保组织所倡导的 3Rs 目标 (Reduction, Replacement, Refinement)^[49]。第二,海胆早期发育过程较短,胚胎及幼虫个体小,通体透明,便于观察,结构简单,比复杂的脊椎动物更容易分析外源物质的干扰作用^[4]。第三,海胆的胚胎及幼虫对污染物敏感,低剂量的污染物就会对海胆胚胎及幼虫发育产生影响,且对外源性污染物具有剂量依赖效应^[50]。第四,多种研究手段可以用于海胆胚胎和幼虫的发育神经毒性研究,比如形态学观察、泳动实验、免疫组织化学以及分子生物学技术手段等。最后,与其他无脊椎动物相比,海胆与脊索动物基因组的相似度较高^[9],所得研究结论更具应用价值。

4.2 以血清素能神经系统各因子为指标筛选具有神经毒性的有机磷农药

乙酰胆碱酯酶是有机磷农药神经毒性作用的直接靶,其活性被广泛用作有机磷农药中毒的生物指标。然而,低浓度有机磷农药暴露虽然不引起胆碱酯酶活性的抑制和任何明显的中毒症状,但能够影响氧化应激、干扰神经细胞的增殖和分化、扰乱轴突分布和树突生长,并且抑制与特异性神经递质表现型有关的基因转录等^[47,51]。与有机磷农药作用靶的胆碱能系统相比,血清素能神经系统对低浓度的有机磷农药暴露更加敏感^[46-47,52-53]。低于乙酰胆碱酯酶抑制阈值的有机磷农药暴露,虽然不引起乙酰胆碱酯酶活性的抑制,却能够干扰血清素能神经系统的形成,影响其合成酶、转运体、降解酶以及受体的表达^[34,47-48,52-53],造成神经发育毒性。因此,研究有机磷农药对血清素能神经系统的影响及其作用,对于筛选具有神经毒性的有机磷农药具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] Costa L G. Current issues in organophosphate toxicology [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 366(1-2): 1-13.
- [2] Rodier P M. Developing brain as a target of toxicity [J]. *Environ Health Perspect*, 1995, 103(6): 73-76.
- [3] Weiss B. Vulnerability of children and the developing brain to neurotoxic hazards[J]. *Environ Health Perspect*, 2000, 108(3): 375-81.
- [4] Angelini C, Aluigi M G, Sgro M, et al. Cell signalling during sea urchin development: A model for assessing toxicity of environmental contaminants[J]. *Prog Mol Subcell Biol*, 2005, 39: 45-70.
- [5] Buznikov G A, Nikitina L A, Bezuglov V V, et al. An invertebrate model of the developmental neurotoxicity of insecticides: Effects of chlorpyrifos and dieldrin in sea urchin embryos and larvae [J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109(7): 651-661.
- [6] Buznikov G A, Nikitina L A, Rakic L M, 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 depletor, reserpine[J]. *Brain Res Bull*, 2007, 74(4): 221-231.
- [7] Bisgrove B W, Burke R D. Development of the nervous system of the pluteus larva of *Strongylocentrotus droebachiensis*[J]. *Cell Tissue Res*, 1987, 248(2): 335-343.
 - [8] Yaguchi S, Kanoh K, Amemiya S, et al. Initial analysis of immunochemical cell surface properties, location and formation of the serotonergic apical ganglion in sea urchin embryos[J]. *Dev Growth Differ*, 2000, 42(5): 479-488.
 - [9] Yaguchi S, Katow H. Expression of tryptophan 5-hydroxylase gene during sea urchin neurogenesis and role of serotonergic nervous system in larval behavior[J]. *J Comp Neurol*, 2003, 466(2): 219-229.
 - [10] Katow H, Yaguchi S, Kiyomoto M, et al. The 5-HT receptor cell is a new member of secondary mesenchyme cell descendants and forms a major blastocoelar network in sea urchin larvae[J]. *Mech Dev*, 2004, 121(4): 325-337.
 - [11] Katow H, Yaguchi S, Kyoizuka K. Serotonin stimulates $[Ca^{2+}]_i$ elevation in ciliary ectodermal cells of echinoplutei through a serotonin receptor cell network in the blastocoel[J]. *J Exp Biol*, 2007, 210(Pt 3): 403-412.
 - [12] Katow H. Spatio-temporal expression of a Netrin homolog in the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus* (HpNetrin) during serotonergic axon extension[J]. *Int J Dev Biol*, 2008, 52(8): 1077-1088.
 - [13] Bisgrove B W, Burke R D. Development of serotonergic neurons in embryos of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* [J]. *Develop. Growth Differ*, 1986, 28(6): 569-574.
 - [14] Anitole -Misleh K G, Brown K M. Developmental regulation of catecholamine levels during sea urchin embryo morphogenesis [J]. *Comp Biochem Physiol A Mol Inter Physiol*, 2004, 137(1): 39-50.
 - [15] Katow H, Suyemitsu T, Oka S, et al. Development of a dopaminergic system in sea urchin embryos and larvae [J]. *J Exp Biol*, 2010, 213(Pt 16): 2808-2819.
 - [16] Abreu-Villaça Y, Filgueiras C C, Manhães A C. Developmental aspects of the cholinergic system[J]. *Behav Brain Res*, 2011, 221(2): 367-378.
 - [17] Falugi C, Diaspro A, Angelini C, et al. Three-dimensional mapping of cholinergic molecules by confocal laser scanning microscopy in sea urchin larvae[J]. *Micron*, 2002, 33(3): 233-239.
 - [18] Piomboni P, Baccetti B, Moretti E, et al. Localization of molecules related to cholinergic signaling in eggs and zygotes of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* [J]. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 2001, 33 (1-2): 187-193.
 - [19] 李姝嫒. 久效磷对早期发育阶段马粪海胆 (*Hemicentrotus pulcherrimus*)胆碱能系统的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
 - [20] Li Shuman. The effect of monocrotophos on the cholinergic system in the early development of the Sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
 - [20] Barber M L, Foy J E. An enzymatic comparison of sea urchin egg ghost prepared before and after fertilization[J]. *Zool*, 1973, 184(2): 157-166.
 - [21] Falugi C, Grattarola M, Prestipino G. Effects of low-intensity pulsed electromagnetic fields on the early development of sea urchins [J]. *Biophys J*, 1987, 51(6): 999-1003.
 - [22] Nelson L. Pesticide perturbation of sperm cell function [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1990, 45(6): 876-882.
 - [23] Ozaki H. Localization and multiple forms of acetylcholinesterase in sea urchin embryos[J]. *Develop Growth Differ*, 1974, 16(4): 267-279.
 - [24] Jennings N A, Pezzementi L, Lawrence A L, et al. Acetylcholinesterase in the sea urchin *Lytechinus variegatus*: Characterization and developmental expression in larvae [J]. *Comp Biochem and Physiol B Biochem Mol Biol*, 2008, 149(3): 401-409.

- [25] Ozaki H. Molecular Properties and differentiation of acetylcholinesterase in sea urchin embryos [J]. *Develop Growth Differ*, 1976, 18(3): 245–257.
- [26] Angelini C, Baccetti B, Pionboni P, *et al.* Acetylcholine synthesis and possible functions during sea urchin development [J]. *Eur J Histochem*, 2004, 48(3): 235–244.
- [27] Ivonnet P I, Chambers E L. Nicotinic acetylcholine receptors of the neuronal type occur in the plasma membrane of sea urchin eggs [J]. *Zygote*, 1997, 5(3): 277–287.
- [28] 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* [J]. *Mar Environ Res*, 2003, 55(1): 39–57.
- [29] Qiao D, Nikitina L A, Buznikov G A, *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 [J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111(14): 1730–1735.
- [30] Lauder J M, Schambra U B. Morphogenetic roles of acetylcholine [J]. *Environ Health Perspect*, 1999, 107(1): 65–69.
- [31] Drews U. Cholinesterase in embryonic development [J]. *Prog Histochem Cytochem*, 1975, 7(3): 1–52.
- [32] Aluigi M G, 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 [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2008, 24(6): 587–601.
- [33] Buznikov G A, Bezuglov V V. Polyenic 5-hydroxytryptamides and 3-hydroxytryptamides as tools for studying of the pre-nervous biogenic monoamines functions [J]. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2000, 86(9): 1093–1108.
- [34] Buznikov G A, Shmukler Y B, Lauder J M. From oocyte to neuron: Do neurotransmitters function in the same way throughout development? [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 1996, 16(5): 533–599.
- [35] Buznikov G A, Lambert H W, Lauder J M. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis [J]. *Cell Tissue Res*, 2001, 305(2): 177–186.
- [36] Nakajim Y. Localization of catecholaminergic nerves in larval echinoderms [J]. *Zoo Sci*, 1987, 4(2): 293–299.
- [37] Beer A J, Moss C, Thorndyke M. Development of serotonin-like and SALMFamide-like immunoreactivity in the nervous system of the sea urchin *Psammechinus miliaris* [J]. *Biol Bull*, 2001, 200(3): 268–280.
- [38] Mogami Y, Watanabe K, Ooshima C, *et al.* Regulation of ciliary movement in sea urchin embryos: Dopamine and 5-HT change the swimming behavior [J]. *Comp Biochem physiol*, 1992, 101(2): 251–254.
- [39] Shiba K, Mogami Y, Baba S A. Ciliary movement of sea-urchin embryos [J]. *Nat Sci Rep Ochanomizu Univ*, 2002, 53(1): 49–54.
- [40] Marc J, Le Breton M, Cormier P, *et al.* A glyphosate-based pesticide impinges on transcription [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 203(1): 1–8.
- [41] Yao D, Ru S, 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* [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2010, 30(2): 181–187.
- [42] 李娇, 王姮, 韩昭衡, 等. 8 种常见农药对海胆胚胎各发育期的急性毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2010, 2(5): 255–261.
- Li Jiao, Wang Huan, Han Zhaoheng, *et al.* *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 2(5): 255–261.
- [43] Slotkin T A, Cousins M M, Tate C A, *et al.* Persistent cholinergic presynaptic deficits after neonatal chlorpyrifos exposure [J]. *Brain Res*, 2001, 902(2): 229–243.
- [44] Falugi C, Pieroni M, Moretti E. Cholinergic molecules and sperm functions [J]. *Submicrosc Cytol Pathol*, 1993, 25(1): 63–69.
- [45] Aldridge J E, Meyer A, Seidler F J, *et al.* Alterations in central nervous system serotonergic and dopaminergic synaptic activity in adulthood after prenatal or neonatal chlorpyrifos exposure [J]. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(8): 1027–1031.
- [46] Slotkin T A, Seidler F J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates in vivo: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems [J]. *Brain Res Bull*, 2007, 72(4–6): 232–274.
- [47] Slotkin T A, Rydea I T, Levin E D, *et al.* Developmental neurotoxicity of low dose diazinon exposure of neonatal rats: Effects on serotonin systems in adolescence and adulthood [J]. *Brain Res Bull*, 2008, 75(5): 640–647.
- [48] Slotkin T A, Levin E D, Seidler F J. Developmental neurotoxicity of parathion: progressive effects on serotonergic systems in adolescence and adulthood [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2009, 31(1): 11–17.
- [49] Falugi C, Lammerding-Koppel M, Aluigi M G. Sea urchin development: An alternative model for mechanistic understanding of neurodevelopment and neurotoxicity [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2008, 84(3): 188–203.
- [50] Morale A, Coniglio L, Angelini C, *et al.* Biological effects of a neurotoxic pesticide at low concentrations on sea urchin early development [J]. *Chemosphere*, 1998, 37(14–15): 3001–3010.
- [51] Jameson R R, Seidler F J, Qiao D, *et al.* Chlorpyrifos affects phenotypic outcomes in a model of mammalian neurodevelopment: Critical stages targeting differentiation in PC12 cells [J]. *Environ Health Perspect*, 2006, 114(5): 667–672.
- [52] Raines K W, Seidler F J, Slotkin T A. Alterations in serotonin transporter expression in brain regions of rats exposed neonatally to chlorpyrifos [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2001, 130(1): 65–72.
- [53] Aldridge J E, Seidler F J, Meyer A, *et al.* Serotonergic systems targeted by developmental exposure to chlorpyrifos: Effects during different critical periods [J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111(14): 1736–1743.

(责任编辑 吴晓丽)

《科技导报》“综述文章”栏目征稿

“综述文章”栏目发表对当前自然科学有关学科领域的研究热点、前沿分支发展现状及动向的评述性文章。要求在所属学科领域从事比较深入研究的一线科研人员在研读相当数量文献资料的基础上,全面、深入、系统地论述该领域的问题,并对所综述的内容进行归纳、分析、评价,以反映作者的观点和见解。在线投稿: www.kjdb.org。