

# 多巴胺 (DA) 和去甲肾上腺素 (NE) 在文昌鱼 神经系统和性腺中的免疫细胞化学定位\*

翁幼竹 方永强\*\* 胡晓霞 周 晶

(国家海洋局第三海洋研究所, 福建厦门 361005)

**摘 要** 用免疫细胞化学 ABC 法对多巴胺(DA)和去甲肾上腺素(NE)在文昌鱼神经系统和性腺中进行定位研究。免疫反应结果显示: DA 和 NE 免疫阳性神经细胞广泛分布在文昌鱼端脑后部、中脑前部和中部以及脊髓。我们还观察到, 在文昌鱼漏斗部也有 DA 免疫阳性神经细胞及其纤维; 在中脑中部, NE 免疫阳性神经细胞及其纤维与另一个神经细胞相接触。此外, 文昌鱼精巢和卵巢中也存在 DA 和 NE 免疫阳性物。研究结果表明, DA 和 NE 可能像在鱼类中那样, 参与调节文昌鱼哈氏窝上皮细胞的分泌活动以及性腺发育。

**关键词** 文昌鱼 多巴胺 去甲肾上腺素 神经系统 性腺

一些学者研究证实, 去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 参与调节硬骨鱼促性腺激素 (gonadotropin, GtH) 的分泌 (Peter *et al.*, 1986; Chang *et al.*, 1984), 而多巴胺 (dopamine, DA) 则直接抑制鱼脑垂体 GtH 细胞的分泌 (Chang *et al.*, 1983; Change *et al.*, 1984)。文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*) 体内神经递质和神经肽在调控文昌鱼哈氏窝分泌活动和性腺发育中的作用已有一些报道 (方永强等, 1989; 1991a; 1991b; 黄威权等, 1990; 徐天乐等, 1993), 但有关 DA 和 NE 在文昌鱼性腺发育成熟中的作用, 惟有张崇理等 (1991) 报道了用高压液相层析法发现性成熟文昌鱼脑内存在 DA 和 NE。然而, 这两种神经递质在文昌鱼体内的分布情况, 迄今在国内外都未见报道。另外, 文昌鱼哈氏窝上皮细胞的分泌活动是否像鱼类那样, 受 DA 和 NE 的调节也尚未弄清。因此, 本文采用多巴胺和去甲肾上腺素特异性抗体, 对这两种递质在文昌鱼体内的分布进行免疫细胞化学研究, 结果发现它们在脑和性腺中有特异性分布, 为两种递质可能参与调节哈氏窝上皮细胞的分泌活动和性腺发育提供直接的形态学证据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

文昌鱼取自厦门市同安琼头海区。选取幼小至

成年文昌鱼, 体长分别为 18、21、23、27、40.5 ~ 52.4 mm, 总数 24 尾, 雌、雄不等。按文昌鱼性腺发育周期 (方永强等, 1990), 它们分别属于性腺尚未形成期、性腺发育早期、小生长期、大生长期和成熟期。

### 1.2 样品制备

所有雌、雄文昌鱼都分为三段, 头 (吻端至第一对性腺之前)、中 (第一对性腺至肛门) 和尾。头段和中段用不含醋酸的 Bouin 液固定 8 ~ 12 hr, paraplast 包埋, 连续横切或纵切, 切片厚 6  $\mu$ m。在低倍显微镜下, 从头段中挑选含有脑和神经管的切片, 中段挑选含有不同发育时期卵巢和精巢的切片, 用这些切片进行免疫细胞化学定位。

### 1.3 免疫细胞化学反应程序

参照方永强等 (1999) 方法, 进行常规 ABC (avidin-biotin complex) 免疫细胞化学方法反应。兔抗多巴胺抗体 (第四军医大学组织胚胎教研室制备, 黄威权教授惠赠) 的稀释度为 1 1 000; 兔抗去甲肾上腺素抗体 (中国科学院动物研究所制备, 张崇理教授惠赠) 的稀释度为 1 600; 生物素标记的羊抗兔抗体 (武汉博士德公司出品) 的稀释度为 1 100; ABC 复合物 (武汉博士德公司出品) 的稀释度为 1 100。阴性对照用正常兔血清替代第一抗体进行孵育, 结果为阴性。

1999-11-08 收稿, 2000-04-29 修回

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39870120)

\*\* 通讯联系人 E-mail: fant98 @public.xm.fj.cn

第一作者简介 翁幼竹, 女, 31 岁, 博士, 副研究员。研究方向: 海洋动物生殖内分泌生理学。E-mail: yzweng63 @public.xm.fj.cn

## 2 结 果

为叙述方便,将文昌鱼划分为幼鱼(全长 18 ~ 23 mm,性腺尚未发育)和成鱼(全长 27 ~ 52.4 mm,性腺已发育至成熟)。我们观察对比从幼鱼至成鱼,多巴胺和去甲肾上腺素免疫阳性细胞在神经系统(脑和脊髓)以及性腺(卵巢和精巢)中的分布。以免疫反应着色深浅作为阳性反应强弱的指标。

### 2.1 多巴胺在文昌鱼神经系统中的分布

**2.1.1 多巴胺在脑的分布** 研究结果表明:文昌鱼幼鱼至成鱼的脑中都有多巴胺免疫阳性神经细胞分布。在幼鱼头部横切面上,可见 DA 免疫阳性细胞分布在脑泡背面和腹面,为中型和小型神经细胞。阳性物分布在胞质,染深褐色,核不着色(图版 : 1)。当幼鱼长至 27 mm 时,性腺开始发育并进入成鱼期。在成鱼头部横切面上,DA 免疫阳性细胞的分布与幼鱼有所不同,成鱼 DA 免疫阳性细胞分布在脑泡背面和中部,为大型、中型和小型神经细胞;在腹面除 DA 免疫阳性神经细胞外,还有免疫阳性神经纤维。阳性物分布在胞质,核不着色(图版 : 2, 3)。从头部纵切面可见,文昌鱼端脑后部、中脑(相当于脊椎动物间脑)前部和中部(与哈氏窝相对的脑组织,相当于上述文昌鱼头部横切面脑泡部位)的背面也有大型和小型 DA 免疫阳性神经细胞显强免疫阳性反应,阳性物分布在胞质,核不着色(图版 : 4),与头部横切面的观察结果相类似。但中脑后部和后脑的神经细胞显示免疫阴性反应。另外,在头部横切和纵切面上,在脑泡左侧和中脑中部都有延伸的神经组织,紧靠哈氏窝,这部分神经组织相当于鱼类下丘脑与脑垂体相联系的漏斗部,也发现有小型神经细胞及其神经纤维对 DA 抗体发生免疫阳性反应,阳性物沿胞膜分布,核不着色(图版 : 5)。

**2.1.2 多巴胺在脊髓的分布** 在文昌鱼神经管横切面上,可见神经管脊髓背面有小型 DA 免疫阳性神经细胞,阳性物沿胞膜分布,核不着色;在背面和腹面有免疫阳性神经纤维(图版 : 6)。同时,在神经管纵切面上也可见在脊髓背面和中部有小型 DA 免疫阳性细胞,阳性物分布在胞质中,显棕褐色,核不着色,与神经管横切面所见类同。

### 2.2 去甲肾上腺素在文昌鱼神经系统中的分布

**2.2.1 去甲肾上腺素在脑的分布** 研究结果表明:在幼鱼头部横切面上,可见 NE 免疫阳性神经细胞

分布在脑泡中线背面偏左侧和右侧以及中部和腹面。左侧的阳性细胞数量多,为小型神经细胞;右侧数量少,为中型神经细胞;中部和腹面都是小型神经细胞。阳性物分布在胞质,显棕褐色,核不着色(图版 : 7)。在成鱼头部横切面上,NE 免疫阳性神经细胞的分布与幼鱼有所不同,在脑泡背面和腹面除有小型和中型神经细胞及其纤维外,还有大型神经细胞及其神经细胞体的突起(可能是树突)也显免疫阳性反应,阳性物也是分布在胞质,核不着色(图版 : 8)。在头部纵切面上,NE 免疫阳性神经细胞定位在端脑后部背面,为一种大型神经细胞,对 NE 抗体显中等强度免疫阳性反应,胞质染浅棕褐色,核不着色。另外,在与哈氏窝相对的中脑中部,可见小型神经细胞胞体突起及其纤维与另一个神经细胞相接触,显示免疫阳性反应(图版 : 9, 10)。

**2.2.2 去甲肾上腺素在脊髓中的分布** 在文昌鱼中段神经管横切面上,可见在脊髓背部左侧和中部有一些神经细胞对 NE 抗体发生免疫阳性反应,阳性物沿胞膜分布,核不着色;在腹面可见长的神经纤维显示免疫阳性反应(图版 : 11, 12)。另外,在神经管纵切面上也有类似的分布。

### 2.3 多巴胺在文昌鱼性腺中的分布

不同发育时期的性腺中都有 DA 阳性物分布。在 ~ 期精巢,可见精巢基膜、精原细胞和初级精母细胞以及精子细胞都对 DA 抗体发生强免疫阳性反应,阳性物沿细胞膜分布,核不着色(图版 : 13);而在成熟期,则对 DA 抗体显免疫阴性反应。在卵巢,可见卵巢(期卵原细胞胞质、核膜和卵黄生成期( ~ 期)卵母细胞胞质和核膜以及成熟期卵母细胞核和胞质均显免疫阳性反应(图版 : 14)。

### 2.4 去甲肾上腺素在性腺中分布

在精巢 ~ 期,可见早期生精细胞(可能是精原细胞和初级精母细胞)对 NE 抗体发生免疫阳性反应;在精子形成期,精巢中精子细胞也显免疫阳性反应(图版 : 15);成熟期精巢则显免疫阴性反应。在卵巢 ~ 期,卵原细胞胞质、核仁、卵黄生成期( ~ 期)卵母细胞质膜、胞质和核仁膜以及成熟期卵母细胞质膜和胞质均显免疫阳性反应,核不着色(图版 : 16)。

## 3 讨 论

Peter 等(1978)用电极大面积损伤雌性金鱼

下丘脑侧结节核 (nucleus lateralis tuberis, NL T), 发现下丘脑存在一种抑制促性腺激素 (gonadotropin, GtH) 释放的因子, 即促性腺激素释放抑制激素 (gonadotropin release inhibitory hormone, GRIH)。随后, Peter 等 (1980) 对雌雄金鱼下丘脑进行一系列损伤实验, 表明 GRIH 可能来源于视前区的前部, 经过侧核前区、前侧下丘脑区和垂体柄而到达脑垂体。后来, Crim (1981) 也报道了一些儿茶酚胺类可抑制离体孵育的虹鳟脑垂体释放 GtH, 还能减弱脑垂体 GtH 分泌细胞对 GnRH 应答的敏感性。现已证实, Peter 等人发现的促性腺激素释放抑制激素就是 DA。Chang 等 (1983) 进一步证明 DA 具有强的抑制促性腺激素释放以及刺激促生长激素分泌的作用 (Chang *et al.*, 1985)。Kah 等 (1986) 用电镜免疫细胞化学技术发现金鱼缸垂体有多巴胺能神经支配, 为多巴胺抑制脑垂体释放 GtH 提供直接的形态学证据。在文昌鱼, 张崇理等 (1991) 用高压液相层析技术分析了文昌鱼排卵 (精) 前后 DA 和 NE 含量的变化, 结果发现, 在排卵前这两种递质含量明显升高, 排卵后下降, 表明这两种递质可能对促性腺激素和生殖细胞的释放起着促进作用。然而, 有关 DA 和 NE 在文昌鱼体内的确切分布, 至今仍未见报道。

本文研究发现, DA 广泛分布在文昌鱼端脑后部和中脑前部及中部, 尤其是发现在中脑中部延伸的神经组织 (图版 : 5) (相当于鱼类下丘脑与脑垂体相连系的漏斗部, 我们认为是文昌鱼原始的漏斗) 中也存在 DA 免疫阳性神经细胞及其纤维。这与 Peter 等 (1980) 和 Kah 等 (1986) 发现 DA 在金鱼脑中的分布情况相类似。说明 DA 很有可能像在鱼类中那样, 对文昌鱼哈氏窝 (相当于鱼类的脑垂体) 上皮细胞的分泌活动起抑制作用。这些结果首次为发现 DA 直接参与调节哈氏窝上皮细胞的分泌活动提供形态学证据, 因而具有重要的理论和学术意义。至于哈氏窝是否也像鱼类脑垂体那样, 受多巴胺能神经支配, 尚有待进一步研究。

新近, 一些学者在哺乳类研究中发现, DA 具有多种功能, 如控制运动、动物情绪、心血管活动的调节、血管弹性、激素分泌、肾功能和胃肠道运动等 (Missale *et al.*, 1998)。在低等动物, DA 可

诱发蓝蟹 (*Callinectes sapidus*) 的求偶行为 (Wood *et al.*, 1993)。DA 在高等和低等动物中的多种生理作用, 对于了解在文昌鱼神经系统, 尤其是脊髓中存在的 DA 免疫阳性神经细胞及其纤维的生理作用, 将有一定的启迪。据此推测, 在文昌鱼繁殖季节, DA 可能也有调节雄性求偶行为, 或诱发雄性文昌鱼释放某种物质, 使雌性动物同步排卵的作用。我们在研究文昌鱼人工繁殖时, 曾观察到雄性文昌鱼先跃出水面游动后排精, 接着雌鱼排卵 (方永强等, 1989)。

文昌鱼幼鱼 (长 21 mm) 和成鱼的头部横、纵切面均发现有 NE 免疫阳性神经细胞及其纤维, 说明文昌鱼幼鱼时就能够分泌 NE 这种神经递质。在成鱼时期, 有三种神经细胞显示强的免疫阳性反应, 表明随着动物体生长, NE 的分泌活动逐渐增强。Yu 等 (1991a, 1991b) 发现, NE 可刺激离体孵育的视前 - 前下丘脑薄片 (preoptic-anterior hypothalamum slices) 中的 GnRH 神经元释放 GnRH, 为 NE 刺激脑垂体分泌 GtH 的作用机制提供证据。由此我们推测, 文昌鱼脑内的 NE 免疫阳性神经细胞及其纤维可能具有相似的作用机制。

本文研究首次发现文昌鱼性腺 (卵巢和精巢) 中存在 DA 和 NE 免疫阳性物质。但这些物质是在性腺中合成还是由脊髓中 DA 和 NE 免疫阳性神经细胞合成后转运至性腺并储存于其中, 至今仍不清楚。另外, 这两种递质在文昌鱼性腺发育和成熟过程中将起何种作用, 也尚未了解。对于鱼类排卵的激素调节, 有的学者认为肾上腺素可以激活卵泡细胞肾上腺素能受体而引起排卵 (Jalabert, 1976)。NE 是否有这种作用, 有待研究。根据卵原细胞和早期卵母细胞以及精巢中精原细胞、精母细胞和精子细胞都存在 NE 和 DA, 同时参照张崇理等 (1991) 测定文昌鱼排卵 (精) 前后这两种递质含量的变化, 我们认为这两种递质有可能参与调节文昌鱼性腺的发育。这个十分有趣的问题, 仍有待进一步深入研究。

总之, 本研究首次对 DA 和 NE 在文昌鱼神经系统和性腺中的分布提供形态学方面的新资料, 并可望为证明文昌鱼哈氏窝的生殖神经内分泌调节与鱼类相类似提供新的证据。

#### 参 考 文 献 (References)

- Chang, J. P. and R. E. Peter 1983 Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* **36**:351~357.  
Chang, J. P. and R. E. Peter 1984 Influence of norepinephrine and  $\alpha$ -adrenergic mechanisms on gonadotropin secretion in female goldfish,

- Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **55**: 89~95.
- Chang, J. P., R. E. Peter, C. S. Nahorniak and M. Sokolowska 1984 Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentrations and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition of gonadotropin secretion. *Gen. Comp. Endocrinol.* **55**: 351~360.
- Chang, J. P., T. A. Marchant, A. F. Cook, C. S. Nahorniak and R. E. Peter 1985 Influence of catecholamines on growth hormone release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* **40**: 463~470.
- Crim, L. W. 1981 Control of gonadotropic hormone secretion (GtH) by the Rainbow trout pituitary gland. Evidence of GtH inhibition by catecholamine and stimulation of GtH release by some other neuroregulatory factors. In: Farner, D. S. and K. Lederis ed. *Neurosecretion*. New York: Plenum, 442.
- Fang, Y. Q., W. Q. Huang, X. Qi and H. C. Su 1991a Immunohistochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide in Amphioxus. *Acta Zool. Sin.* **37** (4): 371~374. [方永强, 黄威权, 齐襄, 苏慧慈 1991a 血管活性肽(VIP)在文昌鱼体内免疫组织化学定位的研究. *动物学报* **37** (4): 371~374.]
- Fang, Y. Q., W. Q. Huang, X. Qi and H. C. Su 1991b Distribution of somatostatin in Amphioxus—a study of immunohistochemistry. *Chinese Sci. Bull. (English edition)* **37** (14): 1203~1207. [方永强, 黄威权, 齐襄, 苏慧慈 1991b 生长抑素在文昌鱼体内的分布——免疫组织化学的研究. *科学通报* **36** (23): 1817~1819.]
- Fang, Y. Q. and H. Kobayashi 1990 Distribution of FMRFamide in nervous system of Amphioxus—a study of the immunohistochemistry. *Chinese Sci. Bull. (English edition)* **35** (7): 580~582. [方永强, 小林英司 1989 心兴奋肽在文昌鱼神经系统中的分布: 免疫组织化学的研究. *科学通报* **34** (17): 1346~1348.]
- Fang, Y. Q., X. Qi and G. Y. Hong 1989 Study of gonadotropin releasing hormone analogue induced spawning of Amphioxus. *J. of Oceanography in Taiwan Strait* **8** (3): 278~280. [方永强, 齐襄, 洪桂英 1989 促性腺激素释放激素类似物诱导文昌鱼产卵的初步研究. *台湾海峡* **8** (3): 278~280.]
- Fang, Y. Q., X. Qi, P. Liang and G. Y. Hong 1990 Annual change of the gonadal development of the Amphioxus in Xiamen. *Acta Oceanologica Sinica (English edition)* **10** (3): 477~479. [方永强, 齐襄, 梁萍, 洪桂英 1990 厦门文昌鱼性腺发育的周年变化. *海洋学报* **12** (5): 631~637.]
- Fang, Y. Q., Y. Z. Weng and L. Chen 1999 Distribution of luteinizing (LH) and human chorionic gonadotropin (hCG) in the nervous system, Hatschek's pit and gonads of protochordata. *Acta Biol. Exp. Sin.* **32** (2): 113~119. [方永强, 翁幼竹, 陈蕾 1999 促黄体素(LH)和人绒毛膜促性腺激素(hCG)在原索动物神经系统、哈氏窝和性腺中的分布. *实验生物学报* **32** (2): 113~119.]
- Huang, W. Q., Y. Q. Fang, H. C. Su and X. Qi 1991 Immunohistochemical localization of 5-HT in Amphioxus. *Chinese Sci. Bull. (English edition)* **36** (4): 329~332. [黄威权, 方永强, 苏慧慈, 齐襄 1990 文昌鱼体内5-羟色胺免疫组织化学定位的研究. *科学通报* **35** (15): 1187~1189.]
- Jalabert, B. 1976 *In vitro* oocyte maturation and ovulation in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Board Can.* **33**: 974~988.
- Kah, O., P. Dubourg, B. Onteniente, M. Geffard and A. Calas 1986 The dopaminergic innervation of the goldfish pituitary: an immunocytochemical study at the electronmicroscope level using antibodies to dopamine. *Cell Tissue Res.* **244**: 577~582.
- Missale, C., S. R. Nash, S. W. Robinson 1998 Dopamine receptor: from structure to function. *Am. Physiol. Soc.* **78**: 189~225.
- Peter, R. E., J. P. Chang, C. S. Nahorniak, R. J. Omeljaniuk, M. Sokolowska, S. H. Shih and R. Billard 1986 Interactions of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. *Recent Prog. Horm. Res.* **42**: 513~548.
- Peter, R. E. and L. W. Crim 1978 Hypothalamic lesions of goldfish: effects on gonadal recrudescence and gonadotropin secretion. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* **18**: 819~823.
- Peter, R. E. and C. R. Paulencu 1980 Involvement of the preoptic region in gonadotropin release-inhibition in goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* **31**: 133~141.
- Wood, D. E. and C. D. Derby 1996 Distribution of dopamine-like immunoreactivity suggests a role for dopamine in the courtship display behavior of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Cell Tissue Res.* **285**: 321~330.
- Xu, T. L., W. Q. Huang, X. Qi and Y. Q. Fang 1993 Distribution of calmodulin in the nervous system of Amphioxus. *Chinese Sci. Bull.* **38** (7): 650~652. [徐天乐, 黄威权, 齐襄, 方永强 1993 钙调素在文昌鱼神经系统中的分布. *科学通报* **38** (7): 650~652.]
- Yu, K. L. and R. E. Peter 1991a Adrenergic and dopaminergic regulation of brain gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **85**: 138~146.
- Yu, K. L., P. M. Rosenblum and R. E. Peter 1991b *In vitro* release of gonadotropin-releasing hormone from the brain preoptic-anterior hypothalamic region and pituitary of female goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* **81**: 256~267.
- Zhang, C. L., H. Yin, H. Wang 1991 The change of Amphioxus neurotransmitter during breeding season. *Chinese Science Bulletin* **36** (9): 694~696. [张崇理, 殷红, 王红 1991 文昌鱼排卵(精)过程中神经递质的变化. *科学通报* **36** (9): 694~696.]

## 外 文 摘 要 ( Abstract)

**IMMUNOCYTOCHEMICAL LOCALIZATION OF DOPAMINE  
AND NOREPINEPHRINE IN THE NERVOUS SYSTEM  
AND GONADS OF AMPHIOXUS ( BRANCHIOSTOMA BELCHERI ) \***

WENG You-Zhu FANG Yong-Qiang HU Xiao-Xia ZHOU Jing

( Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005, Fujian, China)

It is well documented that dopamine (DA) and norepinephrine (NE) can regulate gonadotropin secretion in fishes. The presence of DA and NE in the brain of mature *Amphioxus* [*Branchiostoma belcheri* Gray] has been demonstrated by high performance liquid chromatography (HPLC), however, whether these two neurotransmitters are involved in the regulation of the secretion of epithelial cell (primitive gonadotropic cell) of Hatschek's pit (homologous to pituitary in vertebrates) remains unknown. In the present study, the immunocytochemical localization of DA and NE in the nervous system and gonads of *Amphioxus* was investigated with (avidin-biotin complex ABC) method.

*Amphioxus* (18 ~ 52.4mm in total length) were collected from the Tong'an-Qiongtou sea area near Xiamen). Each animal was divided into three segments, rostral (from tentaculum peristomial to the first pair of gonads), medial (from the first pair of gonads to the anus) and caudal. They were fixed in Bouin's fixative without acetic acid, and embedded in paraplast. Longitudinal or cross sections of 6  $\mu\text{m}$  thickness were cut. Sections with the structure of the brain, neural tube and gonads were identified under a light microscope and selected for immunostaining.

Medium and small types of DA and NE immunopositive nerve cells were found in the posterior part of telencephalon, anterior and middle part of midbrain, and the positive substance occurred in the cytoplasm of nerve cells. No immunoreactivity for DA and NE in this study was detected in the posterior of midbrain and hindbrain of *Amphioxus*. We found for the first time that DA immunopositive nerve cells and fibers also located in the infundibular part of *Amphioxus*, a region extending from the middle region of midbrain to the Hatschek's pit and corresponding to the fish infundibular which connected hypothalamus with pituitary. Large type of NE immunopositive nerve cells were showed in the posterior part of telencephalon. NE immunopositive nerve cells and fiber connecting with another nerve cells was observed in the middle part of midbrain. On the other hand, DA and NE immunopositive nerve cells were identified on the dorsal side and middle part of spinal cord, and the immunopositive nerve fibers could be found on the ventral side. The distribution pattern of DA and NE in the nervous system of adult *Amphioxus* was different from that in larvae. Additionally, we observed for the first time that the immunoreactivity of DA and NE also located in the ovary and testis of *Amphioxus* in various development stages except in the mature testis.

In conclusion, the results suggested a direct action of DA and an indirect action of NE on the secretion of Hatschek's pit through the brain GnRH neuronal system in *Amphioxus*, as has been shown in fishes.

**Key words** *Amphioxus* (*Branchiostoma belcheri*), Dopamine, Norepinephrine, Nervous system, Gonads

\* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 39870120)

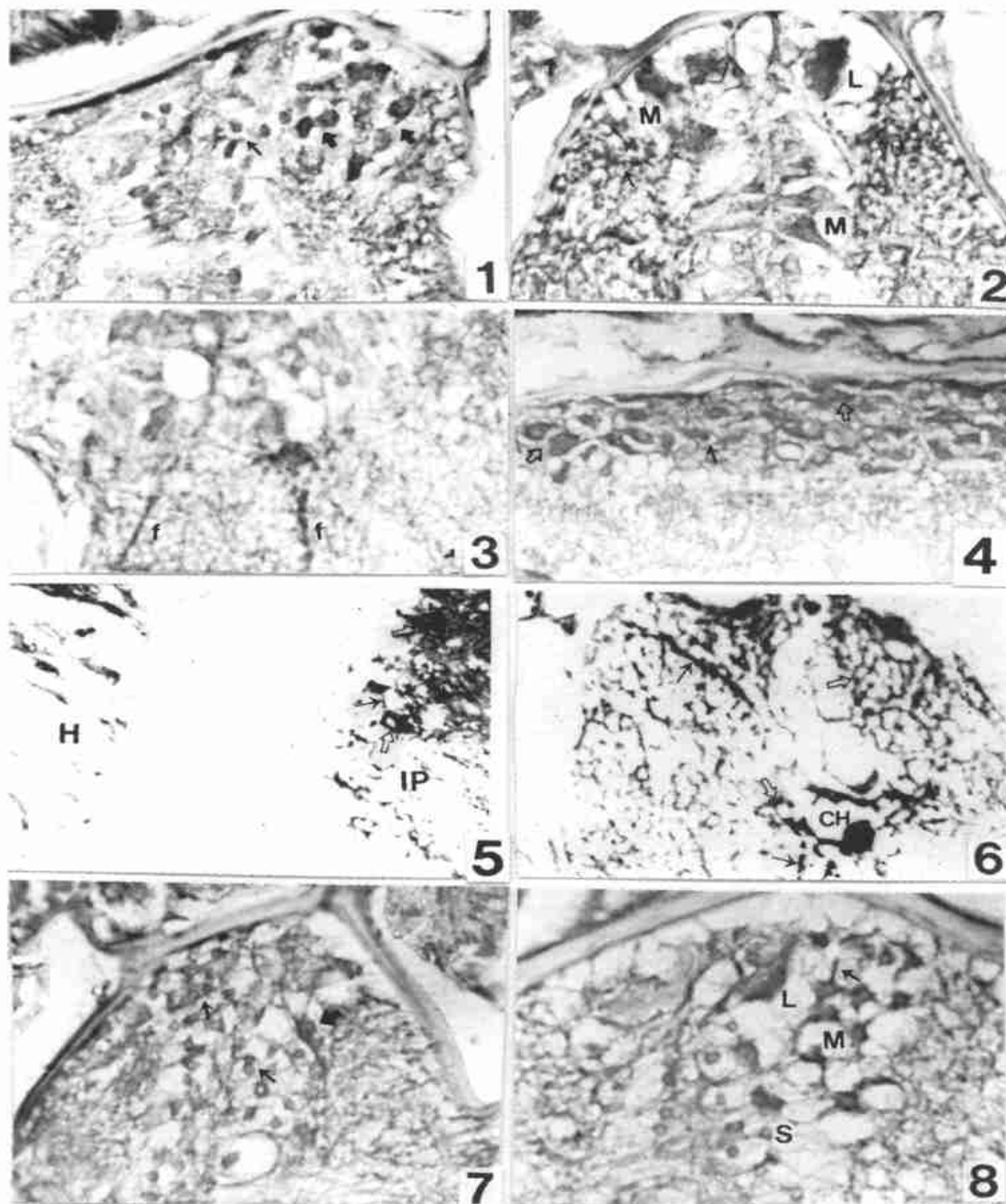
## 图 版 说 明 (Explanation of Plate)

## 图 版 (Plate )

1. 年幼文昌鱼(全长 2.1 cm)头部横切面,可见中型(粗箭头)和小型(细箭头)DA 免疫阳性神经细胞分布在脑泡背面和腹面[ Transverse section through head region in young Amphioxus(length:21 mm) , medium (thick arrow) and small (thin arrow) types of DA immunopositive nerve cells were found on the dorsal and ventral sides of brain vesicle] ×660
2. 成年文昌鱼头部横切面,大型(L)、中型(M)和小型(箭头)DA 免疫阳性神经细胞定位在脑泡背面和中部[ Transverse section through head region in adult Amphioxus, large(L) , middle(M) and small (arrow) types of DA immunopositive nerve cells were located in the dorsal side and middle part of brain vesicle] ×660
3. 成年文昌鱼头部横切面,脑泡腹面有 DA 免疫阳性神经纤维(f) [ Transverse section through head region in adult Amphioxus, showing DA immunopositive nerve fiber(f) on the ventral side of brain vesicle] ×660
4. 卵巢 ~ 期文昌鱼的头部纵切面,在中脑前部可见中型(粗箭头)和小型(细箭头)神经细胞显示强的 DA 免疫阳性反应[Longitudinal section through head region in Amphioxus at ovary ~ stage. Medium(thick arrow)and small(thin arrow)types of nerve cells in the front region of midbrain showed strong immunopositive reaction to DA antibody] ×260
5. 在成年文昌鱼头部纵切面上,可见中脑中部靠近哈氏窝的漏斗部有 DA 免疫阳性神经细胞(粗箭头)及其纤维(细箭头) [Longitudinal section through head region in adult Amphioxus, DA immunopositive nerve cells(thick arrow) and nerve fibers(thin arrow) were showed in the infundibular part (IP) of the middle region of midbrainnear Hatschek 's pit (H) ] ×660
6. 在成年文昌鱼神经管横切面上,可见靠近脊髓背面和腹面有小型神经细胞(粗箭头)及其纤维(细箭头)显示 DA 免疫阳性反应 [ Transverse section through nerve tube in the adult Amphioxus, small type of nerve cells (thick arrow)and fibers (thin arrow) near the dorsal and ventral sides of spinal cord showed immunopositive reaction to DA antibody] ×660 CH:色素细胞(Chromatophore)
7. 在年幼文昌鱼(全长 2.1 cm)头部横切面上,可见脑泡背面有小型(细箭头)和中型(粗箭头)神经细胞显示 NE 免疫阳性反应[ In the transverse section through head region in young Amphioxus(2.1 cm in total length) , small(thin arrow) and medium(thick arrow) types of nerve cells showed immunopositive reaction to NE antibody] ×660
8. 在成年文昌鱼头部横切面上,有大型(L)、中型(M)和小型(S)神经细胞及其胞体突起(可能树突,箭头)显示 NE 免疫阳性反应[ Transverse section through head region in the adult Amphioxus, large(L) , medium(M) and small(S) types of nerve cells and body protrusions(dendrite possibly, arrow) showed immunopositive reaction to NE antibody] ×660

## 图 版 (Plate )

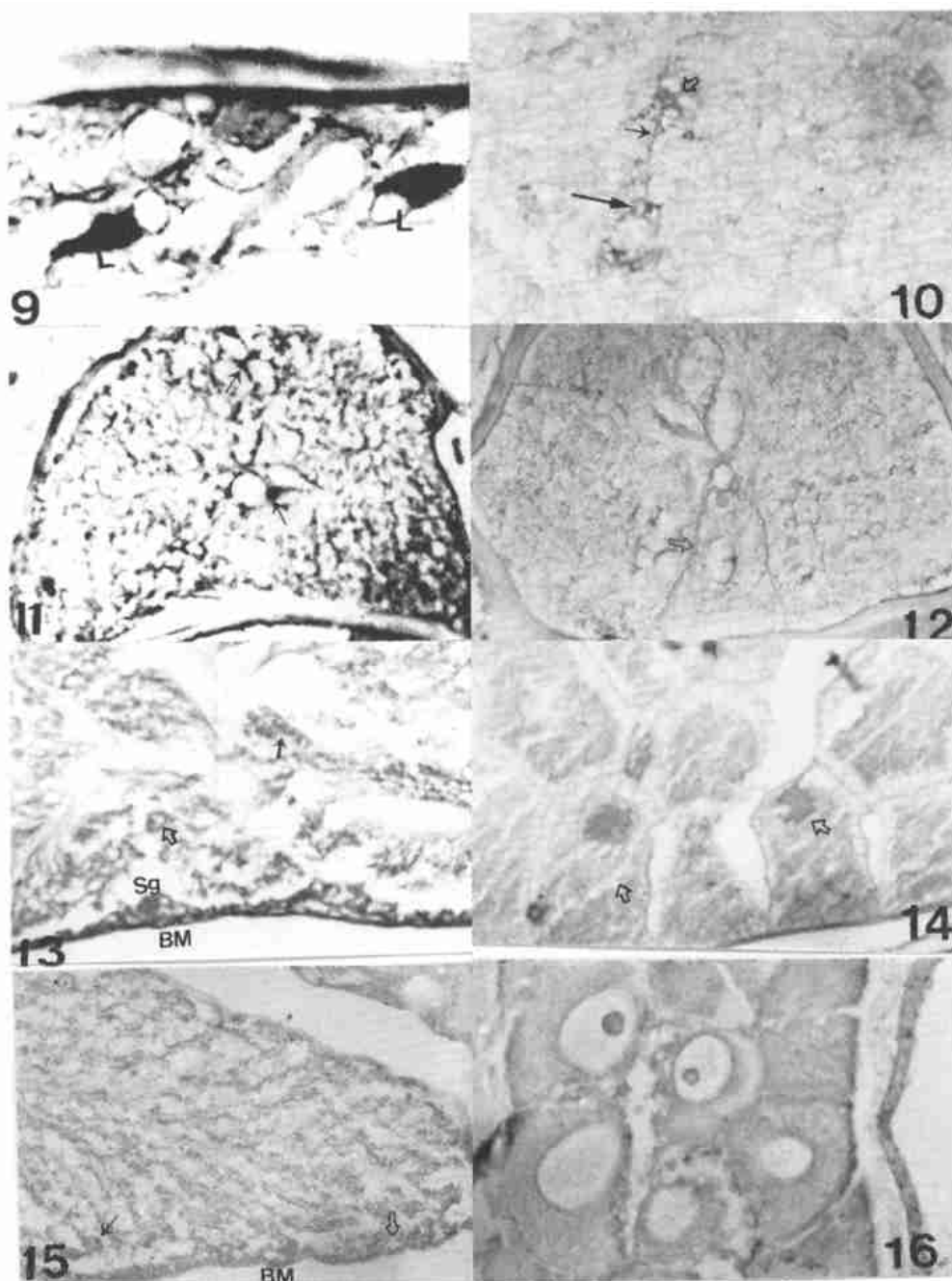
9. 在成年文昌鱼头部纵切面上,可见 NE 免疫阳性大型神经细胞(L)分布在端脑后部背面[ In the longitudinal section through head region in adult Amphioxus, large type of NE immunopositive nerve cells(L) were observed on the dorsal side of posterior part of telencephalon] ×660
10. 在文昌鱼头部纵切面上,可见中脑中部有 NE 免疫阳性神经细胞(粗箭头)及其纤维(细箭头)与另一个 NE 免疫阳性神经细胞相接触(长箭头) [ In the longitudinal section through head region in Amphioxus, NE immunopositive nerve cell (thick arrow) and fiber (thin arrow) connecting with another NE immunopositive nerve cell (long arrow) were found in the middle region of midbrain] ×660
11. 在文昌鱼神经管横切面上,可见 NE 免疫阳性神经细胞(箭头)分布在脊髓背面和中部 [ Transverse section through nerve tube in Amphioxus, NE immunopositive nerve cells (arrow) were located in the dorsal side and middle region of spinal cord ] ×260
12. 在文昌鱼神经管横切面上,可见在脊髓腹面有 NE 免疫阳性神经纤维(箭头) [ Transverse section through nerve tube in Amphioxus, NE immunopositive nerve fibers (arrow) were found on the ventral side of spinal cord] ×260
13. 文昌鱼 ~ 期精巢中,精巢基膜(BM)、精原细胞(Sg)、初级精母细胞(粗箭头)和精子细胞(细箭头)对 DA 抗体显示免疫阳性反应[ Testicular basement membrane (BM) , spermatogonia (Sg) , primary spermatocyte (thick arrow) and spermatids (thin arrow) in the Amphioxus testis of ~ stages showed immunopositive reaction to DA antibody] ×260
14. 文昌鱼成熟期卵巢中的卵母细胞核(箭头)和胞质对 DA 抗体显示免疫阳性反应[ Nucleus (arrow) and cytoplasm of mature oocytes in the Amphioxus mature ovary showed immunopositive reaction to DA antibody] ×120
15. 在文昌鱼 ~ 期精巢中,精巢基膜(BM)、精原细胞(粗箭头)和初级精母细胞(细箭头)对 NE 抗体显示免疫阳性反应[ In the Amphioxus testis of ~ stage, testis basement membrane (BM) , spermatogonia (thick arrow) and primary spermatocyte (thin arrow) showed immunopositive reaction to NE antibody] ×260
16. 在文昌鱼 ~ 期卵巢中,卵原细胞胞质和核仁(箭头)对 NE 抗体显示免疫阳性反应[ Amphioxus ovary of ~ stages, cytoplasm and nucleole (arrow) of oogonia showed immunopositive reaction to NE antibody] ×260



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)

翁幼竹等:多巴胺(DA)和去甲肾上腺素(NE)在文昌鱼神经系统和性腺中的免疫细胞化学定位  
WENG You-Zhu *et al.* : Immunocytochemical localization of dopamine and norepinephrine in the  
nervous system and gonads of *Amphioxus (Branchiostoma belcheri)*

图版  
Plate



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)