

甲壳动物高血糖激素家族生理功能研究进展

杨济芬 朱冬发* 沈建明 苏青

(宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室 宁波 315211)

摘要: 甲壳动物高血糖激素家族是甲壳动物特有的神经多肽激素家族,主要由眼柄的 X-器窦腺复合体(XO-SG)合成与分泌,包括高血糖激素(CHH)、蜕皮抑制激素(MIH)、性腺抑制激素(GIH)和大颚器抑制激素(MOIH),协同调控着甲壳动物的生长、繁殖与蜕皮等生理生化过程。本文就目前 CHH 家族神经肽的功能研究,包括功能研究的方法、各个激素的功能以及分泌调控等研究进展作一综述。

关键词: 甲壳动物;激素;神经肽

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)01-151-08

Physiological Significance of Crustacean Hyperglycemic Hormone Family

YANG Ji-Fen ZHU Dong-Fa* SHEN Jian-Ming SU Qing

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The crustacean hyperglycemic hormone family, including crustacean hyperglycemic hormone (CHH), molt-inhibiting hormone (MIH), gonad-inhibiting hormone (GIH) and mandibular organ-inhibiting hormone, is found only in crustacean and mostly secreted in the X-organ sinus gland complex of the eyestalk (MOIH). These hormones cooperate to regulate the complicated physiological and biochemical processes, such as growth, reproduction and molt. This review updates the functional properties of CHH family, including the research methods, the functional aspects of each peptide and the regulation of hormone secretion in crustacean.

Key words: Crustacean; Peptide; Neuropeptide

甲壳动物神经内分泌调控研究在过去几十年来一直是一个热点课题^[1],其中功能方面的研究则是核心问题。位于甲壳动物眼柄的 X-器窦腺复合体(X-organ-sinus gland, XO-SG)是神经内分泌的主要调控中心,合成与分泌高血糖激素家族(crustacean hyperglycemic hormone family, CHH 家族)激素,包括高血糖激素(crustacean hyperglycemic hormone, CHH)、蜕皮抑制激素(molt-inhibiting hormone, MIH)、性腺抑制激素(gonad-inhibiting hormone, GIH)和大颚器抑制激素(mandibular organ-inhibiting hormone, MOIH)^[2~4]。由于 CHH/MIH/GIH/MOIH 一级结构序列的高度相似性^[4,5],它们被称作高血糖激素家族,在甲壳动物的生理生活过程中发挥重要的调节作用,如生长、繁殖、蜕皮^[6~8]等。但

是,比较不同激素的 cDNA 序列发现,只有在 CHH 的 cDNA 序列中发现在信号肽与成熟肽之间存在着一段 CHH 序列相关前导肽(CHH precursor-related peptide, CPRP),而 MIH/GIH/MOIH 的 cDNA 序列中信号肽则直接与成熟肽相连^[6]。因此,根据基因结构可以将 CHH 家族神经肽分为 CHH 与 MIH/GIH/MOIH 两个亚族,或者称 CHH 族与 CHH 族^[4]。

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 40576068),浙江省科技计划项目(No. 2008C22048);

* 通讯作者, E-mail: zhudongfa@nbu.edu.cn;

第一作者介绍 杨济芬,男,硕士研究生;研究方向:甲壳动物内分泌学;E-mail: jifenyang@126.com。

收稿日期:2008-07-01,修回日期:2008-09-18

随着生物技术的快速发展,甲壳动物 CHH 家族神经肽功能研究的实验技术不断进步,CHH 家族神经肽的生理功能得到进一步的阐明。本文将重点介绍这些实验研究方法和 CHH 家族神经肽的生理功能,并就 CHH 家族神经肽的分泌调控机制作一概述。

1 研究方法

1.1 眼柄切除术 甲壳动物的生长需要周期性地蜕去坚硬的外骨骼,并长出新的外壳从而得以生长。在传统研究过程中,研究人员切除即将进入蜕皮期的螃蟹单侧或双侧眼柄,并与未经处理的螃蟹进行对照实验,发现切除双侧眼柄的螃蟹蜕皮期明显变短。同时,经过研究发现,眼柄的切除对甲壳动物的生长、繁殖以及其他代谢活动也会产生影响^[9]。虽然对多数种类的甲壳动物来说,单侧或是双侧切除眼柄都能有效促进其卵黄蛋白合成^[10],但是 Okumura 对日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 的研究却发现,经过双侧眼柄切除的对虾,卵巢发育速度明显加快,并且卵巢重量、血淋巴中的卵黄原蛋白 mRNA 水平与卵黄原蛋白含量显著增加;然而,经单侧眼柄切除的日本囊对虾卵巢发育速度变化不显著,卵巢重量、血淋巴中的卵黄原蛋白 mRNA 水平与卵黄原蛋白含量变化亦不显著^[11]。

眼柄切除术的研究结果表明,眼柄中含有控制甲壳动物复杂生理过程的活性物质。但是这一实验方法同时存在着几个明显的缺陷,如眼柄切除之后实验动物血淋巴的流失及实验室胁迫环境带来的实验动物的高死亡率都给实验的进行以及实验结果准确性带来一定的影响^[12]。

1.2 活体注射法 活体注射法作为一种直接并且行之有效的方法,在甲壳动物 CHH 家族神经肽的功能研究过程中被广泛采用。注射的物质可以是虾蟹的眼柄粗提物、原核表达蛋白、抗体、dsRNA 或者是外源化学物质等。如对罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的研究发现,经注射眼柄粗提物,血糖水平迅速升高并在 1 h

之后达到最高值^[13]。对斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 的研究发现,由 Penr-CHH1 重组蛋白制备的小鼠多克隆抗体可以识别 3 种构型的 CHH 蛋白 (Penr-CHH1/Penr-CHH2/Penr-CHH3),但是并不识别 MIH 或是人类生长激素等。将抗体注射入活体对虾体内,经检测发现,淋巴中血糖水平下降 30%~50%。结果表明,通过注射抗体可以使得 CHH 活性下降,从而也为调控斑节对虾的生长和繁殖提供一种策略^[14]。

1.3 原核表达技术 随着反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 的发展成熟,分离 CHH 家族神经肽已成为可能^[15]。然而由于其天然蛋白存在量微少,很难从活体甲壳动物体内分离出足够的蛋白用于进一步的实验研究。基因工程技术的快速发展、原核表达载体构建技术的成熟解决了这一难题。经原核表达的重组蛋白,纯化复性折叠之后,其中的一部分蛋白可以形成天然构象,从而具有生物学活性。如将斑节对虾的双侧眼柄切除,暂养于盛有海水的放养槽中饥饿 18 h 之后,注射经提纯的重组表达蛋白 CHH,阴性对照和阳性对照组则分别注射 PBS 与眼柄粗提物。数据显示,经注射重组蛋白 CHH 的对虾与注射 PBS 的对照组相比,血糖含量明显偏高。这一结果表明,重组蛋白 CHH 具有血糖水平调节活性^[16]。通过对刀额新对虾 (*Metapenaeus ensis*) 的研究表明,经原核表达的重组 MIH/CHH 蛋白与它们的天然蛋白一样具有蜕皮过程调控和血糖水平调节的生物学活性^[17,18]。处于蜕皮期的刀额新对虾注射重组表达蛋白 MIH 之后,其蜕皮周期显著变长^[19];同样,在蜕皮间期注射重组 MIH 蛋白的研究则显示,注射重组蛋白之后的日本囊对虾蜕皮间期显著变长,并且血液中蜕皮素水平显著下降^[20]。

1.4 免疫组化法 原核表达蛋白在纯化之后,免疫实验动物如 ICR 小鼠或 BALB/c 小鼠制备多克隆抗体,可进一步用于免疫印迹与免疫细胞化学研究。这也将为我们提供更多的关于 CHH 家族的有用信息。如 CHH 家族神经肽各个成员在各个物种不同组织器官中的分布情

况。从而为各激素的功能研究与协同调控研究奠定基础。如对刀额新对虾研究发现,经由家兔制备的 MIH 多克隆抗体,western 杂交结果显示具有特异性。免疫组织化学分析之后发现,在眼柄中具有 3 种特异的并且含有 MIH 的细胞簇,分别是 X-器、窦腺和轴突细胞^[19]。

1.5 RNAi 技术 RNAi 作为一种高效的序列特异性基因剔除技术,近年开始在甲壳动物 CHH 家族功能研究中使用。Lugo 将 CHH dsRNA 通过腹部淋巴腺注射进入活体虾中,24 h 之内没有检测到 CHH mRNA,相应的血糖水平发生了下降。这是第一次将 dsRNA 技术应用在甲壳动物神经内分泌调控研究,实验结果也表明,这一技术在 CHH 家族功能的研究上将发挥重要的作用^[21]。Tiu 对刀额新对虾研究发现,注射重组 MIH 蛋白的雌虾肝胰腺中卵黄原蛋白基因的表达得到增强,并且相应地在这些雌虾的血淋巴和卵巢中检测到具有类似卵黄原

蛋白免疫原性的蛋白。而在注射 MIH dsRNA 后,这些雌虾胸腺神经和卵巢中 MIH 水平发生了下降,并且相应地肝胰腺和卵巢中卵黄原蛋白表达量下降。这一结果表明,刀额新对虾 MIH 对性腺发育具有促进作用^[22]。Treerattrakool 应用 RNAi 研究 GIH 对斑节对虾卵黄发生的影响,结果显示,经注射与 GIH 配对的 dsRNA,眼柄与腹神经索中 GIH 蛋白含量显著变少,而卵巢中卵黄原蛋白含量显著上升。这一结果表明 GIH 对斑节对虾的卵黄发生具有强烈的抑制作用^[23]。

2 生理功能

眼柄是甲壳动物神经内分泌最重要的器官,但是在甲壳动物的其他组织器官中同样检测到 CHH 家族神经肽的存在,协同调控着甲壳动物各种复杂的生理过程^[1],如图 1 所示。

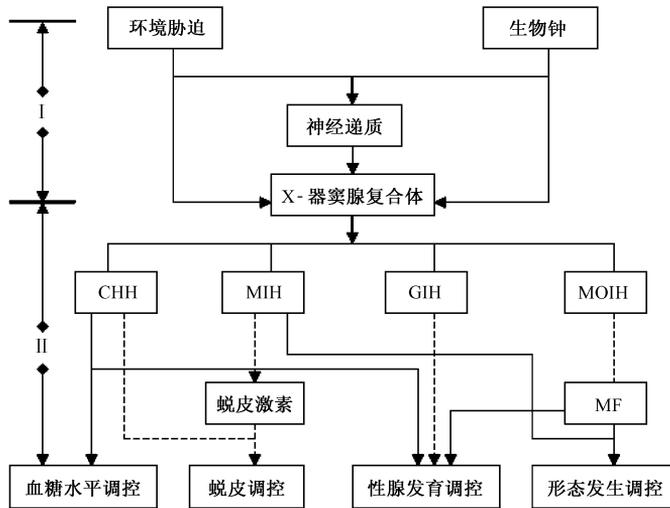


图 1 甲壳动物 CHH 家族神经肽分泌调控与生理功能模式图

Fig. 1 Illustration of secretion regulation and physiological function of CHH family neuropeptides
 :分泌调控; :生理功能; 中:实线表示促进作用,虚线表示抑制作用。(仿 Fanjul-Moles^[1]和 De Kleijn^[4])
 : regulation of secretion; : physiological function; In part : 'real line' stimulation, 'broken line'
 inhibition. (From Fanjul-Moles^[1] and De Kleijn^[4])

2.1 蜕皮调控 甲壳动物的蜕皮主要由眼柄分泌的蜕皮抑制激素(MIH)与 Y 器分泌的蜕皮激素拮抗调控。MIH 抑制 Y 器合成与分泌蜕皮激素,从而抑制虾蟹的蜕皮过程。Okumura

等对日本囊对虾的研究表明,通过在蜕皮间期注射具有生物活性的重组 MIH 蛋白之后,日本囊对虾的蜕皮间期由(9.0 ±0.4) d 延长到(9.5 ±0.5) d,并且血淋巴中蜕皮激素的含量从

(1.94 ± 1.09) ng 下降至 (1.28 ± 0.39) ng。这一结果表明,MIH 可以延长日本囊对虾的蜕皮间期并且抑制 Y 器蜕皮激素的分泌,从而对日本囊对虾的蜕皮调控产生抑制作用^[8]。Lee 对红陆蟹 (*Gecarcinus lateralis*) 的研究同样表明,经原核表达的 MIH 蛋白能对 Y 器蜕皮激素的分泌产生显著的抑制作用,从而对其蜕皮调控产生影响^[24]。

2.2 形态发生调控 甲壳动物的甲基法尼酯 (methyl farnesoate, MF) 类似昆虫的保幼激素,由甲壳动物的大颚器合成与分泌,并且受 MOIH 的负反馈调控^[25]。

甲壳动物形态发生过程中最显著的特征是部分肢体的异速生长。如蜘蛛蟹 (*Libinia emarginata*) 在蜕皮晚期,其掌节异速生长变大,可以长到比其外壳长 35 %^[26]。Laufer 对即将进入蜕皮期的蜘蛛蟹进行双侧眼柄切除试验,即去除眼柄中的 MIH 及 MOIH 两种神经激素,并对螃蟹体内的蜕皮激素进行测定。眼柄切除加速了螃蟹的蜕皮进程,并且在蜕皮之前血淋巴中蜕皮激素的含量达到 150 ng/ml,而未切除双侧眼柄的对照组其蜕皮激素在蜕皮前 3 d 的含量仅为 90 ng/ml,且 MF 含量少于 0.5 ng/ml。这些对照组的雄螃蟹蜕皮之后外壳变大,并且具有异速生长变大的足。然而,经双侧眼柄切除的雄螃蟹,在蜕皮之前其 MF 含量达到 1 ~ 1.5 ng/ml,蜕皮之后其外壳变大,但是其足未经异速生长变大,并且其长度比外壳短。即蜕皮激素与较低浓度的 MF 可以刺激螃蟹的异速生长,而蜕皮激素与相对较高浓度的 MF 则抑制螃蟹的异速生长。这一结果表明蜕皮激素和 MF 对甲壳动物足的形态发生起着决定作用^[26]。

2.3 性腺发育调控 性腺抑制激素 (GIH) 是甲壳动物体内调控性腺发育与成熟最主要的激素,并且与 CHH 家族其他成员存在着协同调控作用。Panouse 研究发现,经过眼柄切除的雌性锯齿长臂虾 (*Palaemon serratus*),卵巢发育速度明显加快,从而推测 GIH 为一种卵黄生成的抑制因子^[27]。通过测定雌性美洲龙螯虾

(*Homarus americanus*) 体内 CHH-A、CHH-B 与 GIH 在卵黄发生各个时期 X-器中各个激素的 mRNA 水平、激素积累浓度及血淋巴中各个激素的浓度,发现卵黄发生前期 CHH-A 与 CHH-B 的 mRNA 水平及眼柄中 CHH 的浓度显著变高。在卵成熟过程中,血淋巴中的 CHH-A 与 CHH-B 浓度亦变高。而 GIH 浓度变高的阶段则出现在卵黄发生前期及未成熟期。这一结果表明,CHH-A 与 CHH-B 对卵黄发生起着激发作用,GIH 则对卵黄发生起着抑制作用^[28]。De Kleijn 通过免疫细胞化学与原位杂交技术研究发现,美洲龙螯虾 GIH 的神经内分泌细胞在雌虾与雄虾体内并没有明显的区别,因而 GIH 对雄性美洲龙螯虾的性腺发育与繁殖可能也能发挥作用^[29]。并且发现雌性美洲龙螯虾 GIH 在卵黄形成前期的含量达到最高值^[28]。Laufer 发现用含有 MF 的食物饲喂的克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*),卵巢发育速度较对照组快,并且更早到达性成熟阶段,这表明 MF 具有类促性腺激素的作用^[30]。

2.4 血糖水平调控 高血糖激素 (CHH) 无论在甲壳动物的发育阶段还是整个生活史阶段都是一个不容忽视的激素,调控着甲壳动物体内的血糖水平,维持着各个组织与器官的能量供应。CHH 是甲壳动物眼柄中含量最丰富且被研究的最多的激素。除了眼柄中有 CHH 的表达之外,在围心腔、视网膜、胸神经节、腹神经索等均检测到 CHH 的存在^[1]。并且发现 CHH 在同一个物种中亦存在多种构型现象^[31-34]。这些不同构型的 CHH 往往在甲壳动物体内发挥不同的生理功能。Ohira 对罗氏沼虾的研究发现,眼柄的 CHH 重组表达蛋白具有血糖水平调节活性,而心、腮等器官的重组蛋白则不具备血糖水平调节活性^[33]。Mettulio 等对挪威海螯虾 (*Nephrops norvegicus*) 的研究发现,注射野生型 CHH 重组蛋白的螯虾其血糖水平的波动与注射眼柄初提物的结果一致,变化显著;而注射经过点突变的 CHH 重组蛋白,螯虾血糖水平变化不显著。这一结果表明野生型 CHH 重组蛋白具有血糖水平调节活性,而经过点突变的 CHH 重组蛋白则不具备血糖水平调节活性^[7]。

3 CHH 家族神经肽分泌调控

甲壳动物 CHH 家族神经肽的分泌受多种因素的调控,如图 1 所示,除了甲壳动物自身的调控作用外,外界环境条件,如温度、光照、盐度等均能对其产生影响,并且多种神经递质能对 CHH 家族神经肽的分泌产生作用。

3.1 自身调控 在克氏原螯虾中,通过测定各个不同时期 CHH 水平后发现,CHH 的含量在一天当中呈现周期性的变化^[35]。一般情况下,CHH 含量在白天相对较低,而在夜晚的头几个小时其含量不断增加,并且伴随着血糖水平的变化^[36]。实验研究表明,X-器(XO)细胞在进入人工黑暗期之后,将 CHH 蛋白颗粒从 X-器转移到窦腺(SG),导致 CHH 释放到血淋巴中,使得血糖水平升高^[37]。昼夜变化使得 CHH 含量出现周期性的变化,并在晚上的某一时段达到了最高值。

当接受外部环境信息时,不同种类甲壳动物由于自身应激条件的不同和对环境的适应程度的不同而做出不同程度的响应。虽然在螯虾中发现 CHH 存在明显的生理周期调控模式,但是其生理学机理的研究存在争议。目前研究主要集中在甲壳动物的运动性活动与视网膜敏感性对 CHH 生理周期变化的影响^[38]。

3.2 外界因子调控

3.2.1 环境条件调控 多种胁迫条件也能对 CHH 的释放产生影响,如组织缺氧、温度胁迫、盐度胁迫、重金属胁迫与动物自身疾病等。

Webster 对普通黄道蟹(*Cancer pagurus*)的研究表明,在无水的胁迫环境中,CHH 含量水平在组织缺氧的前几个小时明显增加,从无法检出升高至 17 pmol/L,并且在 4 h 之后达到 30 pmol/L。短期的组织缺氧实验同样表明,在实验开始的 15 min 内,CHH 水平显著上升到 3.5 pmol/L。这一实验结果表明,组织缺氧导致 CHH 从眼柄迅速释放到血淋巴中,从而导致血糖水平的上升^[39]。Chang 对美洲龙螯虾的研究发现,组织缺氧、高温以及高盐浓度均能导致血淋巴中 CHH 含量水平显著上升,并且伴随着血

糖水平的提高^[40]。

甲壳动物对水中的重金属污染具有敏感性,但其影响机制到目前为止尚不得知。Lorenzon 研究了广盐性岩虾(*Palaemon elegans*)对多种重金属如汞、镉、铜、锌和铅等的毒性反应。实验结果发现,经双侧眼柄切除的岩虾较未经切除的完整岩虾对重金属的敏感性更强。亚致死量的 Hg、Cd、Pb 导致岩虾在 3 h 之内产生高血糖反应。在高浓度的 Hg、Cd、Pb 条件下 24 h 没有出现高血糖反应,但是在高浓度的 Cu 和 Zn 海水中则出现高血糖反应。这一结果可能是由于 Cu 和 Zn 在甲壳动物体内发挥的生理学功能以及适应机制导致^[41]。

Stentiford 研究了血卵涡鞭虫(*Hematodinium* sp.)对挪威海螯虾(*Nephrops norvegicus*)碳水化合物代谢的影响,发现感染血卵涡鞭虫的螯虾血淋巴中 CHH 含量上升,但是血糖水平与组织糖原含量下降,并且经血卵涡鞭虫亚感染的螯虾其血淋巴中 CHH 浓度显著上升。这一结果表明,血卵涡鞭虫病害可以导致螯虾眼柄中 CHH 释放到血淋巴中,对螯虾的新陈代谢产生影响^[42]。

3.2.2 神经递质调控 多种神经递质和神经肽能对 CHH 的分泌产生影响。如 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺和阿片肽等,可以对 XO-SG 的 CHH 分泌活动产生调控作用。5-HT 是甲壳动物的一种神经递质,它与甲壳动物血糖水平偏高存在联系,且多个物种神经系统中 5-HT 的含量已经测定^[43~46]。在格鲁西东欧螯虾(*Astacus leptodactylus*)与克氏原螯虾中,注射 5-HT 会导致眼柄中 CHH 的释放,使得血糖水平升高^[47,48]。

多巴胺在甲壳动物的神经系统中存在^[43]。Zou 等发现多巴胺能刺激克氏原螯虾眼柄中 CHH 的释放,从而导致血糖水平上升^[49]。Komali 等研究发现,注射 5-HT 与多巴胺之后,正常马氏沼虾(*Macrobrachium malcolmsonii*)肝胰腺与肌肉中的糖原含量下降,但磷酸化酶活性与血糖水平增加,而对切除双侧眼柄的马氏沼虾影响不显著。这一结果表明,5-HT 与多巴胺

可能通过刺激眼柄 X-器窦腺复合体中 CHH 的释放从而导致血糖水平的上升^[50]。

阿片肽的调控作用则存在争议。它能抑制利莫斯螯虾 (*Orconectes limosus*) 与克氏原螯虾眼柄中 CHH 的释放并使得血糖水平下降^[51,52], 却使得格鲁西东欧螯虾的血糖水平上升^[48]。

4 展 望

随着实验手段的不断进步, 甲壳动物神经内分泌调控与功能研究取得了很大进步。如免疫细胞化学技术的采用可以阐明 CHH 家族神经肽在组织中的分布情况, RNAi 技术的采用为甲壳动物神经内分泌调控与功能研究开辟了又一途径等。因此, 对一些具有重要经济价值的甲壳动物种类, 通过分子生物学、功能基因组学等研究方法与传统生理学研究方法相结合, 可对 CHH 家族神经肽在不同组织器官中的分布情况、对靶器官的作用模式以及 CHH 家族成员之间所存在的协同调控机制问题作出准确的解答, 进而缩小实验室研究与实际养殖生产存在的差距, 为重要经济种类的科学合理养殖创造条件。

参 考 文 献

- [1] Fanjul-Moles M L. Biochemical and functional aspects of crustacean hyperglycemic hormone in decapod crustaceans: review and update. *Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol*, 2006, **142**(3~4): 390~400.
- [2] Beltz B A. Crustacean neurohormones. In: Laufer H, Dower R G H eds. *Endocrinology of Selected Invertebrate Types*. New York: Alan R Liss Inc, 1988, 235~258.
- [3] Keller R. Crustacean neuropeptides: structure, functions and comparative aspects. *Experientia*, 1992, **48**: 439~448.
- [4] De Kleijn D, Van Herp F. Molecular biology of neurohormone precursors in the eyestalk of Crustacea. *Comp Biochem Physiol*, 1995, **112**(2): 573~579.
- [5] García U, Arehiga H. Regulation of crustacean neurosecretory cell activity. *Cell Mol Neurobiol*, 1998, **18**: 81~99.
- [6] Lacombe C, Greve P, Martin G, et al. Overview on the sub-grouping of the crustacean hyperglycemic hormone family. *Neuropeptides*, 1999, **33**(1): 71~80.
- [7] Mettullo R, Gulianini P G. Functional analysis of crustacean hyperglycemic hormone by *in vivo* assay with wild-type and mutant recombinant proteins. *Regul Pept*, 2004, **119**(3): 189~197.
- [8] Okumura T, Ohira T, Katayama H, et al. *In vivo* effects of a recombinant molt-inhibiting hormone on molt interval and hemolymph ecdysteroid level in the Kuruma Prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Zoological Science*, 2005, **22**: 317~320.
- [9] Chang E S. Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapod crustaceans: an overview. *Exp Mar Biol Ecol*, 1995, **193**: 1~14.
- [10] Tsutsui N, Katayama H. The effects of crustacean hyperglycemic hormone-family peptides on vitellogenin gene expression in the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Gen Comp Endocrinol*, 2005, **144**(3): 232~239.
- [11] Okumura T. Effects of bilateral and unilateral eyestalk ablation on vitellogenin synthesis in immature female kuruma prawns, *Marsupenaeus japonicus*. *Zoolog Sci*, 2007, **24**(3): 233~240.
- [12] Devaraj H, Natarajan A. Molecular mechanism regulating molting in a crustacean. *FEBS Journal*, 2006, **273**(4): 839~846.
- [13] Lin C Y, Chen S H. Identification and characterization of a hyperglycemic hormone from freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp Biochem Physiol A: Mol Integr Physiol*, 1998, **121**(4): 315~321.
- [14] Treeratrakool S, Udomkitl A, Panyim S, et al. Anti-CHH antibody causes impaired hyperglycemia in *Penaeus monodon*. *Biochem Mol Biol*, 2006, **39**(4): 371~376.
- [15] Tsutsui N, Ohira T. Purification of sinus gland peptides having vitellogenesis-inhibiting activity from the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Mar Biotechnol*, 2007, **9**(3): 360~369.
- [16] Udomkit A, Treeratrakool S, Panyim S. Crustacean hyperglycemic hormones of *Penaeus monodon*: cloning, production of active recombinant hormones and their expression in various shrimp tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, **298**: 79~91.
- [17] Gu P L, Yu K L, Chan S M, et al. Molecular characterization of an additional shrimp hyperglycemic hormone: cDNA cloning, gene organization, expression and biological assay of recombinant proteins. *The FEBS Journal*, 2000, **472**(1): 122~128.
- [18] Gu P L, Chu K H, Chan S M, et al. Bacterial expression of the shrimp molt-inhibiting hormone (MIH): antibody production, immunocytochemical study and biological assay. *Cell Tissue Res*, 2001, **303**: 129~136.
- [19] Gu P L, Chu K H, Chan S M. Bacterial expression of the

- shrimp molt-inhibiting hormone (MIH): antibody production, immunocytochemical study and biological assay. *Cell Tissue Res*, 2001, **303**: 129 ~ 136.
- [20] Okumura T, Ohira T. *In vivo* effects of a recombinant molt-inhibiting hormone on molt interval and hemolymph ecdysteroid level in the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Zoological Science*, 2005, **22**(3): 317 ~ 320.
- [21] Lugo J M, Morera Y. Molecular cloning and characterization of the crustacean hyperglycemic hormone cDNA from *Litopenaeus schmitti*. Functional analysis by double-stranded RNA interference technique. *The FEBS Journal*, 2006, **273**(24): 5 669 ~ 5 677.
- [22] Tiu S H, Chan S M. The use of recombinant protein and RNA interference approaches to study the reproductive functions of a gonad-stimulating hormone from the shrimp *Metapenaeus ensis*. *The FEBS Journal*, 2007, **274**(17): 4 385 ~ 4 395.
- [23] Treerattrakool S, Panyim S. Molecular characterization of gonad-inhibiting hormone of *Penaeus monodon* and elucidation of its inhibitory role in vitellogenin expression by RNA interference. *The FEBS Journal*, 2008, **275**(5): 970 ~ 980.
- [24] Lee K J, Kim H W. Molt-inhibiting hormone from the tropical land crab, *Gecarcinus lateralis*: cloning, tissue expression, and expression of biologically active recombinant peptide in yeast. *Gen Comp Endocrinol*, 2007, **150**(3): 505 ~ 513.
- [25] Wainwright G, Webster S G, Wilkinson M C, *et al.* Structure and significance of mandibular organ-inhibiting hormone in the crab, *Cancer pagurus*. Involvement in multihormonal regulation of growth and reproduction. *Biol Chem*, 1996, **271**(22): 12 749 ~ 12 754.
- [26] Laufer H, Ahl J, Rotllant G, *et al.* Evidence that ecdysteroids and methyl farnesoate control allometric growth and differentiation in a crustacean. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, **32**(2): 205 ~ 210.
- [27] Panouse J B. Influence de l'ablation du p'õncule oculaire sur la croissance de l'ovaire chez la crevette *Leander serratus*. *C R Acad Sci*, 1943, **217**: 553 ~ 555.
- [28] de Kleijn D P, Janssen K P, Waddy S L, *et al.* Expression of the crustacean hyperglycemic hormones and the gonad-inhibiting hormone during the reproductive cycle of the female American lobster *Homarus americanus*. *Endocrinol*, 1998, **156**(2): 291 ~ 298.
- [29] de Kleijn D P V, Coenen T, Laverdure A M, *et al.* Localization of messenger RNAs encoding crustacean hyperglycemic hormone and gonad inhibiting hormone in the X-organ sinus gland complex of the lobster *Homarus americanus*. *Neuroscience*, 1992, **51**(1): 121 ~ 128.
- [30] Laufer H, Biggers W J. Stimulation of ovarian maturation in the crayfish *Procambarus clarkii* by methyl farnesoate. *Gen Comp Endocrinol*, 1998, **111**(2): 113 ~ 118.
- [31] Bulau P, Meisen I. Two genetic variants of the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) from the Australian crayfish, *Cherax destructor*: detection of chiral isoforms due to posttranslational modification. *Peptides*, 2003, **24**(12): 1 871 ~ 1 879.
- [32] Wiwegweaw A, Udomkit A. Molecular structure and organization of crustacean hyperglycemic hormone genes of *Penaeus monodon*. *Biochem Mol Biol*, 2004, **37**(2): 177 ~ 184.
- [33] Ohira T, Tsutsui N. Preparation of two recombinant crustacean hyperglycemic hormones from the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and their hyperglycemic activities. *Zoolog Sci*, 2006, **23**(4): 383 ~ 391.
- [34] Hsu Y W, Weller J R. Molecular cloning of four cDNAs encoding preprocrustacean hyperglycemic hormone (CHH) from the eyestalk of the red rock crab *Cancer productus*: identification of two genetically encoded CHH isoforms and two putative post-translationally derived CHH variants. *Gen Comp Endocrinol*, 2008, **155**(3): 517 ~ 525.
- [35] Escamilla-Chimal E G, Van Herp F, Fanjul-Moles M L. Daily variations in crustacean hyperglycaemic hormone and serotonin immunoreactivity during the development of crayfish. *Exp Biol*, 2001, **204**: 1 073 ~ 1 081.
- [36] Kallen J L. Quelques aspects de la r'egulation du systeme neuroendocrine produisant la CHH et de la relation entre le rythme circadien et la glyc'emie. In: Le Gal Y, Van Wormhoudt A eds. Aspects R'ecents de la Biologie des Crustac'és. Actes de Colloques, vol. 8. IFREMER, Plouzan'ée, 1988, 105 ~ 107.
- [37] Gørgels Kallen J L, Meij T A. Immunocytochemical study of the hyperglycemic hormone (CHH)-producing system in the eyestalk of the crayfish *Astacus leptodactylus* during larval and postlarval development. *Morph*, 1985, **183**: 155 ~ 163.
- [38] Fanjul-Moles M L, Prieto Sagredo J. The circadian system of crayfish: a developmental approach. *Microsc Res Tech*, 2003, **60**(3): 291 ~ 301.
- [39] Webster S. Measurement of crustacean hyperglycaemic hormone levels in the edible crab *Cancer pagurus* during emersion stress. *Exp Biol*, 1996, **199**(7): 1 579 ~ 1 585.
- [40] Chang E S, Keller R, Chang S A, *et al.* Quantification of crustacean hyperglycemic hormone by ELISA in hemolymph of the lobster, *Homarus americanus*, following various stresses. *Gen Comp Endocrinol*, 1998, **111**(3): 359 ~ 366.
- [41] Lorenzon S, Francese M. Heavy metal toxicity and differential effects on the hyperglycemic stress response in the shrimp

- Palaemon elegans*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2000, **39** (2) : 167 ~ 176.
- [42] Stentiford G D, Chang E S, Chang S A, *et al.* Carbohydrate dynamics and the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) : effects of parasitic infection in Norway lobsters (*Nephrops norvegicus*). *Gen Comp Endocrinol*, 2001, **121** : 13 ~ 22.
- [43] Fingerman M. Endocrine mechanisms in crayfish, with emphasis on reproduction and neurotransmitter regulation of hormone release. *Am Zool*, 1995, **35** : 68 ~ 78.
- [44] Rodríguez-Sosa L, Picones A, Rosete G C, *et al.* Localization and release of 5-hydroxytryptamine in the crayfish eyestalk. *Exp Biol*, 1997, **200** (23) : 3 067 ~ 3 077.
- [45] Castañón Cervantes O, Battelle B, Fanjul-Moles M L, *et al.* Rhythmic changes in the serotonin content of the brain and eyestalk of crayfish during development. *Exp Biol*, 1999, **202** (20) : 2 823 ~ 2 830.
- [46] Kravitz E A. Serotonin and aggression: insights gained from a lobster model system and speculations on the role of amine neurons in a complex behavior. *Comp Physiol A*, 2000, **186** (3) : 221 ~ 238.
- [47] Lee C Y, Yang P F. Serotonergic regulation of crustacean hyperglycemic hormone secretion in the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Physiol Biochem Zool*, 2001, **74** (3) : 376 ~ 382.
- [48] Lorenzon S, Brezovec S, Ferrero E A, *et al.* Species-specific effects on hemolymph glucose control by serotonin, dopamine, and L-enkephalin and their inhibitors in *Squilla mantis* and *Astacus leptodactylus* (crustacea). *Exp Zool A: Comp Exp Biol*, 2004, **301** (9) : 727 ~ 736.
- [49] Zou H S, Juan C C. Dopaminergic regulation of crustacean hyperglycemic hormone and glucose levels in the hemolymph of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Exp Zool A: Comp Exp Biol*, 2003, **298** (1) : 44 ~ 52.
- [50] Komali M, Kalarani V. Hyperglycaemic effects of 5-hydroxytryptamine and dopamine in the freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. *Exp Zool A: Comp Exp Biol*, 2005, **303** (6) : 448 ~ 455.
- [51] Sarojini R, Nagabhushanam R, Fingerman M. Dopaminergic and enkephalineric involvement in the regulation of blood-glucose in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. *Gen Comp Endocrinol*, 1995, **97** (1) : 160 ~ 170.
- [52] Ollivaux C, Dirksen H, Toullec J Y, *et al.* Enkephalineric control of the secretory activity of neurons producing stereoisomers of crustacean hyperglycemic hormone in the eyestalk of the crayfish *Orconectes limosus*. *Comp Neurol*, 2002, **444** (1) : 1 ~ 9.

欢迎订阅《动物学杂志》

《动物学杂志》是中国科学院动物研究所、中国动物学会主办的科技期刊,亦是中國自然科学核心期刊。主要报道动物学领域的最新研究成果,介绍有创见的新思想、新学说、新技术、新方法。报道范围既有宏观生态研究,又有微观实验技术。报道层次既有科学前沿性、资料性的,也有技术性、知识性的。稿件内容涉及范围广,实用性强,主要栏目有:研究报告、珍稀濒危动物、技术与方法、研究简报和快讯、科技动态等等。读者对象为动物科学领域的研究、教学、技术、管理人员及广大业余爱好者。

近年,《动物学杂志》各项统计指标有了很大的提高,是国内各大数据库及国外著名数据库英国《动物学记录》、美国《化学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》收录的源期刊。

《动物学杂志》双月刊,16开,112页,2009年每册定价35元,全年210元,国内外公开发行。国内邮发代号:2-422;国外发行代号(Code No.):BM58。全国各地邮局均可订阅。如未能在当地邮局订到,可与编辑部直接联系。本刊对在校学生及个人订户7折优惠(直接与编辑部联系订阅)。

地址:北京市朝阳区大屯路 中国科学院动物研究所内《动物学杂志》编辑部

邮编:100101;电话:(010)64807162;

E-mail: journal@ioz.ac.cn。网址:bird.chinajournal.net.cn; dwxzz.ioz.ac.cn。

欢迎投稿、欢迎订阅、欢迎刊登广告。