维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2007)09-0956-03

大鼠腓肠肌的肌纤维型组成及分布

张 潜[1],章 涛[2],王正义[3],薛 黔[1],陈代雄[2]

(1. 遵义医学院解剖学教研室,遵义 563003;2. 遵义医学院贵州省细胞工程重点实验室,遵义 563003;
3. 重庆医科大学基础医学研究所,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨 SD 大鼠腓肠肌的肌纤维型组成和分布,借以了解该肌功能。方法:采用 Guth-Samaha 肌球蛋白 ATP 酶组织化学染色法并稍做改良,对成年 SD 大鼠腓肠肌冰冻切片进行肌纤维分型研究。结果:SD 大鼠腓肠肌经肌球蛋白 ATP 酶组织化学染色后可明确分出 2 型肌纤维,即明亮色白的Ⅰ型纤维(慢缩纤维)和幽暗深褐的Ⅱ型纤维(快缩纤维),并且,2 种纤维在肌内呈棋盘样均匀分布;图像分析仪计数Ⅱ型纤维比例达 (72.2 ± 6.8)%,而Ⅰ纤维仅占(27.8 ± 2.4)%,前者占绝对优势($P<0.01$)。结论:SD 大鼠腓肠肌以Ⅱ型纤维为主,属于力量兼速度型肌。

【关键词】腓肠肌;肌纤维型;肌球蛋白 ATP 酶;SD 大鼠
【中国图书分类法分类号】Q954.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-16

Composition and distribution of muscle fiber types in the rat gastrocnemius muscle

ZHANG Qian, et al

(*Department of Anatomy, Zunyi Medical College*)

【Abstract】*Objective*: To study the composition and distribution of two muscle fiber types in SD rat gastrocnemius muscle in order to learn its function. *Methods*: Gastrocnemius muscles of both sides of hind limbs were collected from 10 adult SD rats. 8-μm-thick cryostat sections were transected and then stained with the method of myosin-ATPase following a procesure modified partially from one that Guth & Samaha reported before. *Results*: Gastrocnemius muscle from SD rats can be clearly identified with two different fiber types which are type Ⅰ (slow twitch fiber)and type Ⅱ (fast twitch fiber) by the myosin-ATPase staining method. Fibers of type Ⅰ are stained white while fibers of type Ⅱ are stained brown. The distribution pattern of two types of muscle fibers in gastrocnemius muscles is uniform and chessboard-like. The proportion of type Ⅱ muscle fibers contained in the muscle is(72.2 ± 6.8)%, much higher than that of type Ⅰ fibers which is (27.8 ± 2.4)%($P<0.01$). *Conclusion*: Fast-twitch glycolytic (FG) fibers are dominant in SD rat gastrocnemius muscles, which implies that gastrocnemius muscles participate more in fast stepping movement.

【Key words】 Gastrocnemius muscle; Muscle fiber types; Myosin ATPase; SD rat

骨骼肌肌纤维构成与肌的功能密切相关,肌纤维型组成分布是阐明骨骼肌功能的重要依据之一。人腓肠肌肌纤维型的研究国内外已有一些报道[1,2],本室对家兔腓肠肌也做过系统研究[3],但有关 SD 大鼠腓肠肌肌纤维型的研究还未见报道。本文采用肌球蛋白 ATP 酶染色对成年 SD 大鼠腓肠肌的肌纤维型组成及其分布进行了研究,以帮助阐明此肌功能。

作者介绍:张 潜(1969-),女,副教授,硕士,
主要研究方向:骨骼肌应用解剖学。

基金项目:贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 J 字[2005]2058 号)。

1 材料和方法

1.1 实验动物与试剂

成年 SD 大鼠 10 只,雌雄不拘,体重 250 ~ 300g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。Tris-Base、二甲胂酸钠为进口分装产品,其它试剂均为国产分析纯。

1.2 取材和组织切片

1%戊巴比妥钠(40mg/kg 体重)麻醉大鼠后,取 10 例 SD 大鼠 2 侧共 20 块腓肠肌,在其中部肌腹切取约 5mm 长的组织块,迅速将新鲜肌块放入恒冷切片机内(Leica CM3050S),

维普资讯 http://www.cqvip.com

-20℃下切片，厚度为 8μm，切片于室温下干燥后，及时进入下述肌球蛋白 ATP 酶组织化学染色流程。

1.3 肌球蛋白 ATP 酶组织化学染色

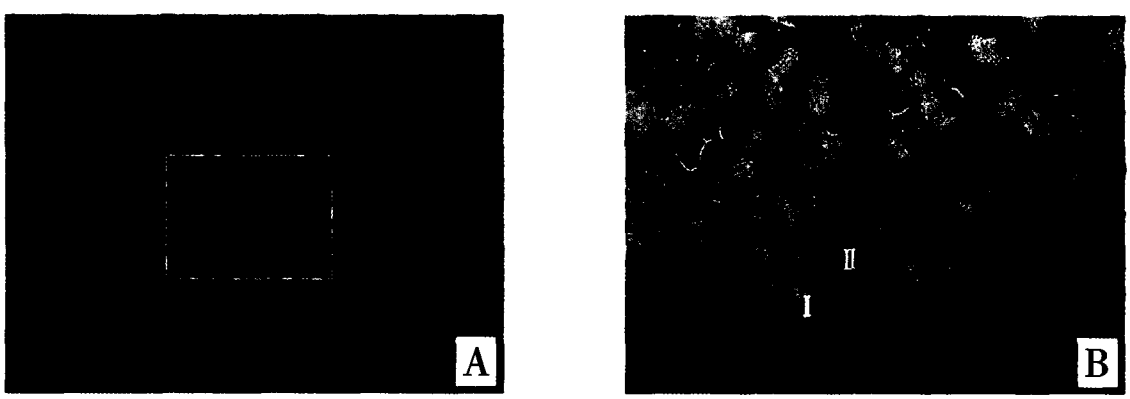
以 Guth-Samaha[4]方案为基础稍经改良后进行，全部试剂均新鲜配制。实验大致流程为：取上述干燥的冰冻切片于固定液中(多聚甲醛 10g，二甲胂酸钠 8g，无水 $CaCl_2$ 2.5g，蔗糖 28.8g，加水 250ml)固定 5min；Tris 洗液(Tris-base12.1g，0.18mol/L $CaCl_2$ 100ml，加水 900ml)漂洗 1 次；预孵育液中(Tris-base 6.150g，0.18mol/L $CaCl_2$ 25ml，加水 225ml，调 pH 至 10.4)孵育 15min；再经 Tris 洗液中漂洗 2 次，并在滤纸上将多余液体沾干；37℃下孵育液中 (Tris-base 7.420g，0.18 mol/L $CaCl_2$ 30ml，KCl 1.110g，18mmol/L ATPDisodium 46ml，加水 225ml，调 pH 至 9.4)孵育 60min；1%$CaCl_2$ 洗液洗 3 次，沾干后置 2%氯化钴($CoCl_2$)液中 3min；蒸馏水漂洗 4 次，置 1%硫化铵[$(NH_4)_2S$]液中 3min；自来水冲洗 3min，镜检后常规梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。待树胶凝固后显微镜下观察，并经图象分析仪计数 2 型骨骼肌纤维数，计算 2 型纤维组成比例。

1.4 统计学分析

结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，采用 SPSS 13 软件包对实验数据进行 t 检验。

2 结 果

SD 大鼠腓肠肌切片经肌球蛋白 ATP 酶组织化学染色后的可明确区分 2 型肌纤维，Ⅰ型纤维(慢缩纤维)明亮色白，Ⅱ型纤维(快缩纤维)则呈深褐色，并且，2 型纤维在肌内呈棋盘样均匀分布 (图 1)。图象分析仪计数结果表明，SD 大鼠腓肠肌以Ⅱ型纤维占绝对优势，达到 (72.2±6.8)%，而Ⅰ纤维仅占(27.8±2.4)%($P<0.01$)。



A. 肌球蛋白 ATP 酶染色显微镜下所见(×40)；B. 显示 2 型肌纤维呈棋盘样均匀分布(×200)

图 1 SD 大鼠腓肠肌肌纤维型分布

3 讨 论

骨骼肌是能量代谢的重要器官和场所，机体每日摄取的营养成分特别是碳水化合物很大一部分是提供给骨骼肌运动的能量需求。葡萄糖分解代谢释放的能量转移到三磷酸腺苷(ATP)的高能磷酸键中，由于骨骼肌纤维肌球蛋白重链具有 ATP 酶的活性，可分解 ATP 为骨骼肌收缩提供能量来源。

目前为止，用于确定肌纤维型的方法主要包括肌球蛋白 ATP 酶染色[5]和肌球蛋白重链免疫组织化学亚型分类法[6]。肌球蛋白 ATP 酶染色方法因不需要专用抗体，肌纤维染色结果清晰直观，因而一直被研究者广泛采用，并几经改良使其趋于完善。Guth 和 Samaha 为此做出重要贡献，提出了肌球蛋白 ATP 酶酸碱孵育法[4]，也既在孵育前分别将冰冻切片置于碱性(pH10.4)或酸性溶液(pH4.35)中预孵育，由于Ⅰ型纤维的 ATP 酶活性小、遇碱易变，Ⅱ型纤维活性大、遇酸易变，以此可将高 ATP 酶活性的Ⅱ型纤维和低 ATP 酶活性的Ⅰ型纤维染成不同的颜色 (Ⅰ型纤维明亮色白，Ⅱ型纤维则染成深褐色)，将其清楚地区分开来。

从生物化学和骨骼肌生理学的角度可解释 2 种骨骼肌纤维差异的内在原因：Ⅰ型纤维以有氧代谢为主要获能方式，主要参与耐力运动和肢体姿势的维持，也称为慢缩纤维；而Ⅱ型纤维主要靠无氧酵解提供能量，为快速而有力的运动提供保障，也称快缩纤维。Ⅱ型纤维主要参与快速有力活动，使其可因锻炼伴随功能需要而增多增粗，或因不活动、少活动而

维普资讯 http://www.cqvip.com

减少并缩小，比Ⅰ型纤维适应性更大[7, 8]。

研究表明，个体内不同骨骼肌的肌纤维型构成比例不同，肌纤维构成与肌的功能密切相关。本研究表明，2 种肌纤维在大鼠腓肠肌内呈棋盘样均匀分布，并以Ⅱ型肌纤维占优势，其比例达到 72.2%，这表明，大鼠腓肠肌为速度力量型肌。我们曾经报道的家兔腓肠肌肌纤维型组成也以Ⅱ型纤维占绝对优势，达 91%[3]，而以往我们对人腓肠肌的肌纤维型分布研究表明，其Ⅱ型纤维仅占 40%[1]，远不及家兔和大鼠的比例，这或许是四足动物后肢适应其速度力量要求而选择的必然结果。与大鼠比较，家兔的后肢明显比其前肢粗壮，运动时后肢必然要分担更多的力量和速度，家兔腓肠肌有比大鼠更高的Ⅱ型纤维比例的特点恰好可以满足这种功能上的要求。

当然，仅凭肌纤维型组成和分布尚不能揭示骨骼肌功能的全部信息，在全面阐明大鼠腓肠肌功能之前，还需对其肌构筑、肌纤维横切面积、亚部化等加以研究，这对全面阐明该肌功能具有重要意义。

（通讯作者：张 潜，遵义医学院解剖学教研室，zmczq@163.com.cn）

参 考 文 献

[1] 李名扬，薛 黔，朱道立，等.人类腓肠肌外侧头的肌纤维型分布[J]. 解剖学杂志，1986；9(1)：20-24.

[2] Houmard JA，Weidner ML，Gavigan KE，et al. Fiber type and citrate synthase activity in the human gastrocnemius and vastus lateralis with aging[J]. J Appl Physiol，1998；85(4)：1337-1341.

[3] 张 潜，薛 黔.家兔小腿三头肌亚部化研究[J]. 解剖学杂志，2003；26(4)：377-380.

[4] Guth L，Samaha FJ. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase[J]. Exp Neurol，1970；28(2)：365-367.

[5] Gollnick PD，Parsons D，Oakley CR.Differentiation of fiber types in skeletal muscle from the sequential inactivation of myofibrillar actomyosin ATPase during acid preincubation[J]. Histochemistry，1983；77(4)：543-555.

[6] Korfage JA，Van Wessel T，Langenbach GE，et al. Heterogeneous postnatal transitions in myosin heavy chain isoforms within the rabbit temporalis muscle[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol，2006；288(10)：1095-1104.

[7] 王 煜，周 里，叶 鸣，等.不同强度的跳跃训练对大鼠骨骼肌纤维类型影响的实验研究[J]. 西安体育学院学报，2005；22(5)：47-49.

[8] Vikne H，Refsnes PE，Ekmark M，et al. Muscular performance after concentric and eccentric exercise in trained men[J]. Med Sci Sports Exerc，2006；38(10)：1770-1781.

（上接第 921 页）

基因治疗中可能是一种较佳的侯选基因。研究表明，抑制端粒和 TERT 的表达能增强化疗药物的抗癌效果[10]。因此，即使不能完全有效逆转膀胱肿瘤的恶性表型，Mad1 的转染也可能是一种改变 TERT 基因的表达的有效方法，为膀胱肿瘤的基因治疗开辟了一条新的途径。

参 考 文 献

[1] De Kok JB，Schalken JA，Aalders TW，et al.Quantitative measurement of telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA in urothelial cell carcinomas[J]. Int-J-Cancer，2000；87(2)：217-220.

[2] yer DE，Eisenman RN. A switch from Myc：Max to Mad：Max heterocomplexes accompanies monocyte/macrophage differentiation [J]. Genes Dev，1993；7(11)：2110-2119.

[3] Gunes C，Lichtsteiner S，Vasserot AP，et al. Expression of the hTERT gene is regulated at the level of transcriptional initiation and repressed by Mad1[J]. Cancer Res，2000；60(8)：2116-2121.

[4] Zou L，Zhang PH，Luo CL，et al.Transcript regulation of human telomerase reverse transcriptase by c-myc and mad1[J]. Acta Biochim Biophys Sin，2005；37(1)：32-38.

[5] 佟 锦，米振国，李春华，等.N-甲基亚硝基脲诱发大白鼠膀胱肿瘤病理学动态观察[J]. 山西医药杂志，2000；29(1)：28-30.

[6] Wong SC，Ong LL，Er CP，et al. Cloning of rat telomerase catalytic subunit functional domains，reconstitution of telomerase activity and enzymatic profile of pig and chicken tissues[J]. Life Sci，2003；73(21)：2749-2760.

[7] 邹 琳，罗春丽，吴小侯，等.膀胱肿瘤组织中端粒酶催化亚基和 c-myc 的表达[J]. 中华实验外科杂志，2003；20(12)：1073-1074.

[8] Luscher B. Function and regulation of the transcription factors of the Myc/Max/Mad network[J]. Gene，2001；277(1-2)：1-14.

[9] Foley KP，McArthur GA，Queva C，et al. Targeted disruption of the MYC antagonist MAD1 inhibits cell cycle exit during granulocyte differentiation[J]. EMBO J，1998；17(3)：774-785.

[10] Sumi M，Tauchi T，Sashida G，Nakajima A，et al. A G-quadruplex-interactive agent，telomestatin (SOT-095)，induces telomer shortening with apoptosis and enhances chemosensitivity in acute myeloid leukemia[J]. Int J Oncol，2004；24(6)：1481-1487.