DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.01.008

大鼠骨骼肌细胞葡萄糖-6-磷酸酶活性的细胞化学研究

王仁鹏 孙 愉△ 李国荣●（第三军医大学训练部 电镜室）630038

提 要 本文用酶细胞化学葡萄糖-6-磷酸酶（G6Pase）技术对大鼠骨骼肌细胞进行了超微结构研究，结果证实，骨骼肌细胞内含有G6Pase。G6Pase活性反应产物定位于肌浆网与核被膜内，在肌浆网内，该酶活性反应产物呈异质性分布。根据肌浆网与肌膜系统之间的位置关系，骨骼肌偶联有以下3种类型：（1）终池与横小管之间的偶联，如三联体；（2）周围肌浆网与表面肌膜之间的偶联，即周围偶联；（3）肌膜下肌浆网与肌膜下横小管之间的偶联，即肌膜下偶联。对本实验结果进行了讨论。

关键词 葡萄糖磷酸酶类；肌/超微结构；肌浆网；大鼠

G6Pase存在于许多动物的不同组织器官内[1-4]，但是，认为骨骼肌细胞内缺乏此酶[5]。近来，国外已从细胞化学及生物化学等方面证实了小鼠的骨骼肌细胞内含有G6Pase[6]，并探讨了其功能。国内未尚见有关文献报道。

本实验对大鼠骨骼肌细胞进行了电镜细胞化学G6Pase的观察，证实了大鼠骨骼肌细胞内含有G6Pase，并对肌浆网与肌膜系统之间的关系作了研究，以期为其在骨骼肌细胞内的功能提供形态学依据。

1 材料与方法

健康Wistar大鼠5只，体重215～240g，1%戊巴比妥钠腹腔麻醉后取右后肢内收大肌组织，切成小块，放入2%戊二醛0.1mol/L二甲胂酸钠缓冲液（pH7.4）内固定10min，4℃；5%蔗糖0.1mol/L二甲胂酸钠缓冲液（pH7.4）漂洗后，酶反应组置于预温37℃的孵育液内1h，孵育液内含0.1mol/L葡萄糖-6-磷酸钠盐、0.2mol/L Tris-maleate缓冲液（pH6.5）、36mmol/L硝酸铅及1 mol/L蔗糖等，对照组则在孵育前用0.1mol/L醋酸缓冲液（pH5.0）处理30min，以抑制G6Pase活性[7]；漂洗后，1%OsO_4后固定1h，丙酮系列脱水，环氧树酯$_{618}$包埋，LKBV型超薄切片机切片，柠檬酸铅染色，JEM-2000EX型透射电镜观察。

2 结 果

骨骼肌细胞的肌膜系统由表面肌膜及横小管组成。其表面肌膜向细胞内凹陷形成横小管或T小管，它位于每一个肌节的A带与I带的交界处。除此之外，本实验还观察到在紧靠表面肌膜的胞质侧有许多长管状或泡状结构（图1），这些结构不仅与肌原纤维的长轴相平行，而且与表面肌膜相延续，故称此结构为肌膜下横小管（subsarcolemmal transverse tubule）。

本实验结果证实，G6Pase活性反应产物定位于骨骼肌细胞的肌浆网及核被膜内（图1～4），就其肌浆网内G6Pase活性反应产物的密度而言，

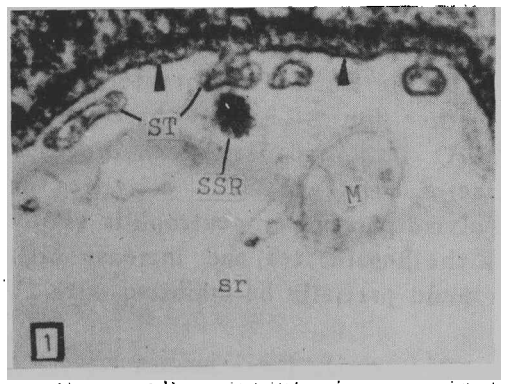


图1 G6Pase反应产物定位于肌膜下肌浆网（SSR），表面肌膜（▲）与肌膜下横小管（ST）相连接，sr：肌原纤维间肌浆网，M：线粒体 ×80 000

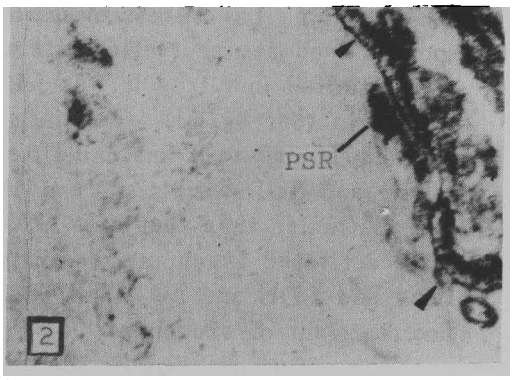


图2 G6Pase反应产物定位于周围肌浆网（PSR），它与表面肌膜（▲）形成周围偶联。×75 000

△ 组胚教研室；● 山东师范大学进修生

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

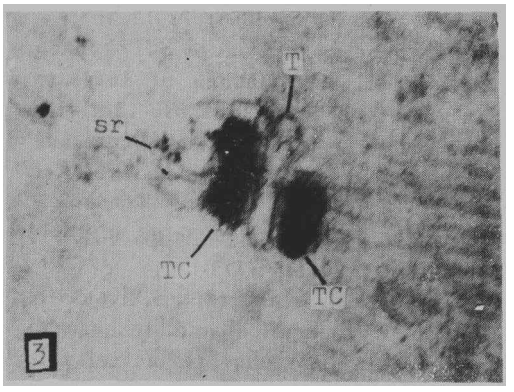


图3 G6Pase反应产物见于三联体的终池内，T：横小管；sr：肌原纤维间肌浆网。×85 000

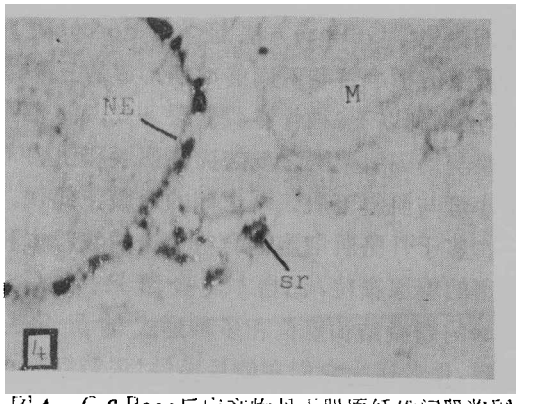


图4 G6Pase反应产物见于肌原纤维间肌浆网（sr）和核被膜（NE）内。×80 000

肌原纤维间肌浆网较少，且疏，而与肌膜系统紧密起置的肌浆网内的含量较多、较密，后者除终池外（图3），还有周围肌浆网（图2）和肌膜下肌浆网（图1）等2种肌浆网。

骨骼肌细胞内肌浆网与肌膜系统之间形成的特殊结构称为骨骼肌偶联（skeletal coupling）[8]，除横小管与两侧终池形成的三联体（triad）外（图3），还有周围偶联（图2）和肌膜下偶联（图1）等2种偶联装置，前者是表面肌膜与周围肌浆网间的偶联，后者则为肌膜下横小管与肌膜下肌浆网间的偶联。

骨骼肌细胞的横小管、线粒体、Golgi复合体等结构未见酶活性反应产物，对照组的肌浆网及核被膜内皆为G6Pase活性反应阴性。

3 讨 论

人们普遍认为，G6Pase主要存在于动物的肝、肾、小肠等组织内，肌组织中缺乏此酶[6]。然而，近年来作为内质网标志酶的G6Pase广泛地应用于机体各种器官组织的酶细胞化学研究之中[1-4]，现已证实平滑肌、心肌以及骨骼肌细胞内都含有G6Pase[6][7][9]。本实验结果表明，大鼠骨骼肌细胞内含有G6Pase，国内尚属首次报道。此结果与国外对小鼠骨骼肌细胞的报道结果一致[6]。

与心肌细胞一样[7]，骨骼肌细胞内G6-Pase活性反应产物呈异质性分布，即密集分布的G6Pase活性反应产物见于终池、周围肌浆网以及肌膜下肌浆网内，而肌原纤维间肌浆网内的酶活性反应产物较稀少，此结果与Hirose等[10]报道的一致。这种异质性分布可能与骨骼肌细胞内G6Pase在机体不同的生理状态下具有不同的作用有关。Hirose等[10]在研究处于饥饿状态的小鼠骨骼肌细胞时发现，肌原纤维间肌浆网内的G6Pase活性反应产物显著增多，与此同时，肌细胞内糖原含量降低。因此，他们认为骨骼肌细胞内肌糖原可能与维持饥饿状态下血糖水平有关。Surholt和Newsholme[2]发现昆虫类动物的飞翔肌（flight muscle）内G6Pase含量与哺乳类动物的肝、肾组织内的含量相似，其作用可能与肝和肾组织内的G6Pase作用相似。

哺乳类动物骨骼肌细胞的横小管位于肌节的A带与I带交界处，除构成三联体的横小管外，本实验结果表明，在表面肌膜附近存在一种纵向分布的管状或泡状结构，基于该结构在电子密度、超微结构以及与表面肌膜相连等特征，而确认它是由表面肌膜向细胞内凹陷所形成的一种管状结构，该结构若与表面肌膜相连，则常呈J字形或L形，为区别于构成三联体的横小管，按其分布、位置而称为肌膜下横小管。

骨骼肌偶联的超微结构特征与心肌偶联一样，都包括肌浆网、肌膜系统以及它们之间的连接足（或肌浆网足）[8]。本实验用电

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

镜细胞化学G6Pase方法证实了Forbes等[8]所报道的横小管与两侧终池所形成的三联体外，还见到以下2种骨骼肌偶联形式，即表面肌膜与周围肌浆网之间的周围偶联和肌膜下横小管与肌膜下肌浆网之间的肌膜下偶联。

鉴于骨骼肌细胞内含有大量的线粒体和丰富的糖原颗粒，结合本实验结果，即G6-Pase的超微结构定位和多种形式的骨骼肌偶联，作者认为它们在能量提供、调节细胞内G6P浓度以及兴奋-收缩偶联的生理活动中可能起重要的作用。目前已证实肌组织含有G6Pase，但其生理作用尚须进一步深入探讨。

参考文献

1. Surholt B, Newsholme EA. Maximum activities and properties of glucose 6-phosphatase in muscles from vertebrates and invertebrates. Biochem J 1981; 198:621
2. Watanabe M, Goto H, Matsushima M, et al. Distribution of glucose-6-phosphatase activity in mice studied by in vitro whole-body autoradiography. J Histochem Cytochem 1983; 31:1426
3. Tokunaga H, Kanamura S, Watanabe J, et al. High glucose-6-phasphatase activity in osteoblasts in the metaphysis of femur of grow rats. Anat Rec 1988; 220:252
4. Watanabe J, Kanamura S, Tokunaga H, et al. Significance of increase in glucose 6-phosphatase activity in brown adipose cells of cold-exposed and starved mice. Anat Rec 1987; 219:39
5. 林钧材，主编。生物化学纲要。学术书刊出版社 1990:116～119
6. Watanabe J, Kanamura S, Kanai K, et al. Cytochemical and biochemical glucose-6-phosphatase activity in skeletal muscle cells of mice. Anat Rec 1986; 214:25
7. 王仁鹏 孙 愉。大鼠心肌细胞葡萄糖-6-磷酸酶活性的超微结构定位。第三军医大学学报 1990; 12(4):316
8. Forbes MS, Sperelakis N. Myocardial couplings: their structural Variations in the mouse. J Ultrastruct Res 1977; 58:50
9. Borgers M, Schaper J, Schaper W. Localization of specific phosphatase activities in canine coronary blood vessels and heart muscle. J Histochem Cytochem 1971; 19:526
10. Hirose K, Watanabe L, Kanamura S, et al. Significance of the increase in glucose 6-phosphatase activity in skeletal muscle cells of the mouse by starvation. Anat Rec 1986; 216:133

(收稿：1991-03-01；修回：1991-09-21)

Cytochemical study on glucose-6-phosphatase activity in skeletal muscle cells in rats

Wang Renpeng, Sun Yu, Li Guorong (Department of Electron Microscopy, Thidr Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract Glucose-6-phosphatase (G6Pase) activity in the skeletal muscle cells was observed with electron microscope in rats. It was found that the reaction product of G6Pase activity was localized in the sarcoplasmic reticulum (SR) and nuclear envelope and a heterogenous distribution of G6Pase activity in the SR was shown. On the basis of the position relationship between SR and sarcolemmal system, the skeletal couplings can be classified as follows:

1. The coupling between the terminal cisternae and the transverse tubules such as a triad.
2. The peripheral coupling between the peripheral SR and the surface

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

sarcolemma.

3. The coupling between the subsarcolemmal SR and the subsarcolemmal transverse tubules.

The significance of the findings was discussed.

Key words glucosephosphatase; muscle/UL; sarcoplasmic reticulum; rat

---

（上接14页）

例3，女，48岁，上腹部隐痛30余年，加重月余入院。查体：右上腹轻度压痛。手术所见，空肠距屈氏韧带25cm处发现包块切除。

病理检查：巨检：灰白色组织3cm×3cm，表面为肠粘膜。镜检：组织学形态改变与例2相同。

例4 男，10岁。因腹痛、腹胀入院。查体：腹部压痛。手术所见：术中发现肠系膜淋巴结肿大，空肠包块切除。

病理检查：巨检：切除肠组织1段，3.5cm×2.5cm，粘膜下见瘤组织2cm×2.5cm。镜检：组织学形态改变与例2相同。

讨　论

小肠腺肌瘤性错构瘤是一种少见的小肠良性肿瘤，Silberman等报告小肠良性肿瘤34例中，腺肌瘤性错构瘤仅有3例[1]，国内近年文献仅有少数个案报告[2]。我院14年内有小肠良性肿瘤9例，其中腺肌瘤性错构瘤4例。

该肿瘤临床主要表现腹胀及消化道出血等非特征性症状，故临床诊断较困难。本组4例临床上分别诊断为平滑肌瘤，肠憩室，十二指肠术后粘连及空肠包块待查。文献上有时误认为其它肿瘤而手术。因此肿瘤主要依靠病理检查确诊。根据本组观察和结合文献[3]，胃肠道腺肌瘤性错构瘤的病理诊断依据是肿瘤部位及组织成份，即肿瘤组织位于粘膜下层及肌层，内有已分化的或尚未分化的腺组织，腺上皮多为柱状上皮，构成腺管或大的囊腔状结构，有的为低柱状或立方形，分化好的Brunner型上皮，构成小圆形腺体，腺体内或腺体周围组织均为平滑肌束构成。本组4例均符合上述诊断标准。一般情况下根据此标准诊断并不困难，但在冰冻切片诊断时应与高分化腺癌相区别，后者腺管上皮有异形性，其腺管周围无成束的平滑肌组织包绕，而为增生的纤维组织。

关于腺肌瘤性错构瘤的组织发生，目前尚未完全明确，Stewart等认为发生于胃的腺肌瘤是胚胎发育时，上皮芽迷走在胃壁内，分化成胃的腺肌瘤，由增生Brunner's腺和迷走胰腺[3]构成。Ulich等[4]认为小肠腺肌瘤性错构瘤是胰腺管异位伴平滑肌组织增生。根据本组4例组织学改变，我们认为小肠腺肌瘤性错构瘤符合上皮芽迷走在肠壁分化成腺肌瘤。

关键词 错构瘤；肠肿瘤

参 考 文 献

1. Silberman H, Crlrhlow RW, Caplan HS. Neoplasm of the small bowell. Annal Surgery 1974;2(180):157
2. 俞和济。十二指肠错构瘤一例报告。中华外科杂志 1981;3(19):172
3. Goldberg HI, Margulis AR. Adenomyoma of the stomach: Report of a case. Am J Roentgenology 1966;96:382
4. Ulich TR, Kollin M, Simmons GE. Adenomyoma of the papill of vater. Arch Pathol Lab Med 1987;111:388

（收稿：1991-06-29；修回：1991-11-28）

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net