DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.04.015

大鼠心肌细胞葡萄糖-6-磷酸酶活性的超微结构定位

王仁鹏 孙 榆（组胚教研室）

提 要 本实验对大鼠心房及心室的心肌细胞葡萄糖-6-磷酸酶（G-6-Pase）活性进行了电镜观察，G-6-Pase反应产物见于肌浆网(SR)和核被膜内。我们发现心肌细胞内G-6-Pase活性呈现异质性分布，周围连接肌浆网（PJ-SR）和内部连接肌浆网(IJ-SR)内的G-6-Pase反应产物较多，核被膜内含量较少，而网状肌浆网(N-SR)则含量稀少，或者缺乏。本文对心肌细胞内G-6-Pase的可能功能意义进行了讨论。

关键词 葡萄糖磷酸酶；心肌；肌浆网，酶活性

G-6-Pase作为内质网的标志酶已广泛地应用于对机体各种器官组织的细胞化学研究之中[1]-[4]。Borgers等[1]和韩氏等[5]曾对心肌细胞G-6-Pase进行了电镜观察，证实了G-6-Pase活性定位于SR及核被膜内，前者包括PJ-SR、IJ-SR以及N-SR内。本实验使用电镜细胞化学技术，对大鼠心肌细胞G-6-Pase的超微结构定位作了观察，发现心肌细胞G-6-Pase的分布存在异质性。

1 材料与方法

本实验显示G-6-Pase方法是依据Watanabe等[2]、Kanai等[3]及Teutsch[7]等作者的实验方法综合改良而成的。具体步骤如下：5只健康Wistar系大鼠，雌雄皆有，体重205～229g。1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后取出右心房和右心室前壁组织，并切成大小约0.5～1.0mm³的组织块，固定于2%戊二醛0.1mol二甲胂酸钠（pH7.4）固定液中10～15min；其后用5%蔗糖0.1mol二甲胂酸钠（pH7.4）漂洗1h。上述过程均在4℃下进行。尔后，酶反应组置于预温37℃的孵育液[7]内1h，其对照组则在孵育前用0.1mol醋酸缓冲液(pH5.0)处理30min，37℃，以抑制G-6-Pase的活性[3]，然后再置入与酶反应组相同的孵育液中孵育1h。此后，两组都用5%蔗糖0.1mol二甲胂酸钠（pH7.4）洗涤30min，4℃。铁氰化钾还原锇酸后固定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

本实验结果证实，无论是心房还是心室的心肌细胞，G-6-Pase都定位于SR和核被膜内，其中PJ-SR及IJ-SR内G-6-Pase反应产物较多，排列也较致密；其次是核被膜内显示散在的酶反应产物的颗粒，N-SR内仅见少量的酶反应颗粒，或者见不到酶反应颗粒（图1、2）。PJ-SR与闰盘或者IJ-SR与横小管之间均可形成心肌偶联装置（图1、2）。此外，用电镜细胞化学G-6-Pase来标志SR，可清楚地显示出PJ-SR或IJ-SR与N-SR是相互连续的。心肌细胞间毛细血管内皮细胞的内质网和核被膜内均可见到G-6-Pase活性反应产物。

心肌细胞内的线粒体、高尔基复合体、横小管、肌原纤维以及心房特殊颗粒均未见到酶反应产物（图1、2）。用0.1mol醋酸缓冲液（pH5.0）处理心肌组织块后，所有的SR及核被膜内皆为G-6-Pase反应阴性。

3 讨论

目前，关于心肌细胞G-6-Pase酶细胞化学研究的报道尚不多见[1][5]，从G-6-Pase的超微结构定位上看，本实验结果与Borgers等[1]和韩氏等[5]报道的一致，然而，在G-6-Pase反应产物

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

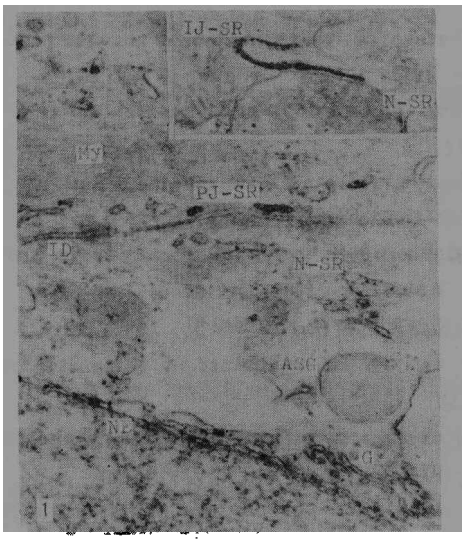


图1 右房心肌细胞G-6-Pase的分布。心房特殊颗粒(ASG)、高尔基氏器(G)、线粒体(M)、横小管(T)以及肌原纤维(My)未见酶反应产物，PJ-SR与闰盘(ID)形成偶联，NE：核被膜。×45 000 插图示IJ-SR与N-SR相连，并与T形成偶联。×34 000

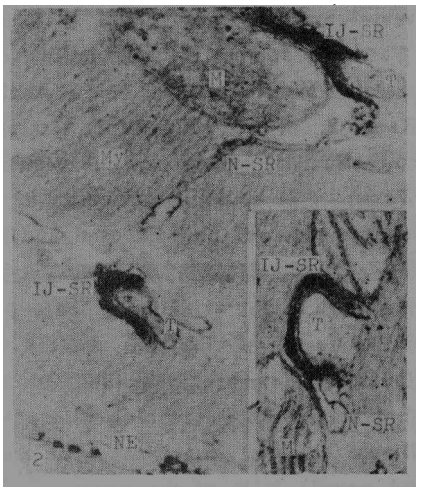


图2 左室心肌细胞G-6-Pase的分布。NE：核被膜，M：线粒体，T：横小管，My：肌原纤维，IJ-SR与N-SR相连，并与T形成偶联。×62 000，插图×58 000

分布的密度上与他们的观察结果不尽相同，导致此种差异的原因是由于实验方法的不同，还是别的因素，尚不清楚。本实验主要是根据Watanabe等[2]显示小鼠骨骼肌细胞G-6-Pase方法操作的，其结果与Hirose等[8]报道的完全一致。心肌细胞与骨骼肌细胞一样，G-6-Pase的的超微结构定位呈异质性分布，即密集分布的高电子密度的G-6-Pase反应产物见于PJ-SR和IJ-SR内，而N-SR内酶反应产物稀少，甚至缺乏，核被膜内酶反应产物则居于前两者之间。这种G-6-Pase反应产物在大鼠心肌细胞内分布的异质性尚未见文献报道。

本实验结果表明G-6-Pase在心肌细胞SR内分布是异质性的，这与文献报道的SR在心肌细胞内形态结构上的不同，以及SR腔内所含物质的不同是相吻合的[9][11]，这种差异性提示了SR功能的异质性。

如图1、2所示，连接SR不仅与横小管形成心肌偶联，而且与N-SR互相连通。事实上，它们在横小管与肌原纤维外面形成一种网络状结构[5][8]，SR这种既与肌膜系统形成偶联，又包绕在肌原纤维外面的特殊分布形式以及形态结构特点，与SR的调节细胞内钙离子[9]以及适应肌肉舒缩功能[6]密切相关。

G-6-Pase在葡萄糖代谢中起到关键性作用，虽然，它在某些器官组织中有特殊作用[2][4][6]，但是，人们普遍认为，在体内G-6-Pase的唯一作用是水解G-6-P，以调节细胞内G-6-P的浓度。根据目前的文献资料，我们认为心肌细胞内G-6-Pase的作用可能是与已糖激酶一起参与细胞内G-6-P浓度的调节。心肌细胞内糖原含量虽然不及骨骼肌细胞丰富，但是在正常生理情况下，心肌细胞内糖原含量稳定，而且是以有氧氧化为主。所以，在有氧氧化条件下，心肌细胞G-6-Pase作为唯一催化G-6-P生成葡萄糖的酶，无疑对稳定心肌细胞内糖原含量以及在心肌能量供应上都起到重要作用。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参 考 文 献

1. Borgers M, et al. Localization of specific phosphatase activities in canine coronary blood vessel and heart muscle. J Histochem Cytochem 1971; 19:526
2. Watanabe J, et al. Cytochemical and biochemical glucose 6-phosphatase activity in skeletal muscle cells of mice. Anat Rec 1986; 214:25
3. Kanai K, et al. High and testosterone-dependent glucose 6-phosphatase activity in epithelium of mouse seminal vesicle. J Histochem Cytochem 1986; 34:1207
4. Watanabe J, 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. 韩玉昇, 等。葡萄糖-6-磷酸酶在大白鼠心肌细胞超微结构的定位。解剖学报 1987; 18:418
6. Tokunaga H, et al. Hihg glucose-6-phosphatase activity in osteoblast in the metaphysis of femus of growing rats. Anat Rec 1988; 220:252
7. Teustch HF. Improved method for the histochemical demonstration of glucose-6-phosphatase activity: A methodological study. Histochem 1978; 57:107
8. Hirose K, et al. Significance of the increase in glucose 6-phosphatase activity in skeletal muscle cells of the mouse by starvation. Anat Rec 1987; 218:267
9. Forbes MS, et al. The sarcoplasmic reticulum of mouse heart:Its divisions, configurations, and distribution. J Ultrastruct Res 1986; 93:1
10. Jorgensen AO, Jones LR. Immunoelectron microscopical localization of phospholamban in adult canine ventricular muscle. J Cell Biol 1987; 104:1343

(收稿: 1989.03.13; 修回: 1989.11.22)

Ultrastructural Localization of Glucose-6-Phosphatase Activity in Myocardial Cells of the Rats

Wang Renpeng and Sun Yu(Department of Histology and Embryology, Third Military Medical College

Glucose-6-phosphatase(G-6-Pase) activity in the atrial and ventricular muscle cells of the rats is examined by electron microscopy. The reaction product of G-6-Pase activity is present in the sarcoplasmic reticulum (SR) and the nuclear envelope of the myocardial cells. A heterogenous distribution of G-6-Pase activity in the cardial muscle cells is detected. In the myocardial cells the cytochemical reaction product for G-6-Pase activity is observed in a larger amount in the peripheral junctional sarcoplasmic reticulum(PJ-SR)and interior junctional SR(IJ-SR), and in smaller amounts in the nuclear envelope, is rarely present or absent in the network SR(N-SR). The possible functional significance of G-6-Pase in cardial muscle cells is discussed.

Key works: glucosephosphatase; myocardium/UL; sarcoplasmic reticulum; enzyme activity

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net