DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.02.009

大鼠附睾r-谷氨酰转肽酶和三种水解酶的活性及分布

杨淑珍 郑世彬

（组胚教研室）

提 要 应用光镜组化方法，观察了大鼠附睾各段γ-谷氨酰转肽酶（γ-GT）、非特异性酯酶、碱性磷酸酶（AKP）和葡萄糖-6-磷酸酶（G-6-P）的活性及其定位。

γ-GT在附睾Ⅰ段上皮内活性最强，后续各段活性逐渐下降，至第Ⅵ段转为阴性。该酶主要位于附睾管上皮细胞的核上区和静纤毛。

非特异性酯酶在附睾Ⅱ、Ⅴ和Ⅵ段的上皮活性最高，Ⅰ、Ⅲ和Ⅳ段活性最低。该酶在Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ和Ⅵ段位于附睾管上皮整个细胞质内，而在Ⅱ、Ⅳ段位于上皮细胞基底部。

AKP均位于附睾管上皮基底膜及附睾管之间结缔组织的血管壁。此酶活性在各段无显著差异。

G-6-P均匀地分布在附睾上皮细胞质内，各段间无明显差异。

本文对大鼠附睾各段四种酶活性存在差异的意义作了粗浅的讨论。

关键词 大鼠；附睾；组织化学

哺乳动物的附睾是精子生理性成熟的场所。附睾管上皮细胞通过从腔内吸收一些物质以及分泌另一些物质到管腔来调节管腔液的成分，以此影响精子的成熟。因此，附睾对精子的生理性成熟造成了适宜的环境。

Reid和Cleland根据附睾管上皮细胞形态结构的不同将大鼠的附睾从头至尾分为六段[1]。随后许多学者应用组化方法对哺乳动物附睾的多种酶进行了研究[2][3][4]，但对大鼠附睾六段酶的活性及分布情况均未见到详细地描述，也未见到有关γ-GT组化研究的报导。我们应用光镜组化方法详细观察了大鼠附睾六段γ-GT、非特性酯酶、AKP和G-6-P的活性及其定位，为研究附睾的生理功能提供参考。

材料与方法

雄性成年大鼠10只，3%戊巴比妥腹腔麻醉。取出双侧附睾置于液氮骤冷，10分钟后取出用恒冷箱切片机做整体纵行切片（头至尾均需切全），切片厚度为8μm，自然干燥后分别做四种酶的组化染色。γ-GT用Albert等（1961）方法[5]，不加底物作对照，光镜观察组化染色反应照前文方法分为五级[6]。

非特异性酯酶(ANAE)染色是用α-醋酸萘酯作为底物，六偶氮品红为结合染料。染色反应分为五级：(－)染成均匀黄色；(＋)反应物为红色颗粒；(＋＋)反应物为棕红色颗粒；(＋＋＋)反应物为棕褐色颗粒，(＋＋＋)反应物为棕黑色颗粒。免去底物作为对照。

G-6-P用Wachstein和Meisel(1956)方法[7]，免底物作为对照。染色反应分为四级：(－)无色；(＋)反应物棕黄色；(＋＋)反应物为棕褐色；(＋＋＋)反应物为棕黑色。

AKP用同时偶联法，α-磷酸萘酚为底物，重氮盐用坚牢兰B。去底物作对照。染色反应分为三级：(－)无色；(＋)反应物为兰色；(＋＋)反应物为兰紫色。

同时对大鼠肾进行四种酶组化染色作为对照，

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

结　　果

附睾按Reid和Cleland[1]分段描述。

1. γ-GT　在大鼠附睾Ⅰ段γ-GT活性主要分布于附睾管上皮细胞的静纤毛，染成棕黄色（++）（图1）；在Ⅱ段主要分布于上皮细胞的核上区及静纤毛，此段γ-GT活性最高，染成棕褐色，呈强阳性反应（+++）（图1）；在Ⅲ段分布于上皮细胞的游离端及静纤毛，染成棕红色（+++）；在Ⅳ段主要分布于静纤毛，染成棕黄色（++）（图2）；Ⅴ段始端少量静纤毛见有γ-GT阳性反应物，Ⅴ段远端及Ⅵ段γ-GT均为阴性（图3、4）。所有各段附睾管腔内含物（精子）均呈阳性反应（++）。

2. 非特异性酯酶　附睾Ⅰ段，非特异性酯酶反应物在细胞质内呈细小密集的红色颗粒状(++)(图5)；Ⅱ段此酶阳性反应物呈较粗大、疏松分散的红色颗粒，分布于细胞基部（+）（图5）；Ⅲ段该酶活性最强（+++）（图6），反应物呈细小密集的棕褐色颗粒，分布在上皮细胞质内，在细胞基底部反应颗粒较粗大、密集，呈棕黑色；在Ⅳ段分布于细胞基部，呈粗大的棕红色颗粒(++)(图7)；Ⅴ和Ⅵ段的上皮细胞中仍有较强的该酶阳性反应物（+++）（图8）；各段管腔的内含物（精子）均呈阳性反应(+)。

3. AKP　位于附睾管上皮基膜及附睾管之间结缔组织的血管壁，各段活性无明显差异（++）（图9）。

大鼠附睾各段四种酶活性比较表

附睾分段	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ
γ—GT	(++)	(+++)	(+++)	(++)	(+～-)	(-)
ANAE	(++)	(+)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)
AKP	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
G-6-P	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)

4. G-6-P　均匀地分布在各段附睾管上皮细胞质内，染成棕褐色(++)（图10）。

讨　　论

以往已有作者用组化方法观察了哺乳动物多种器官内γ-GT的活性及其定位[5][8]，肾和小肠尤为丰富，主要位于肾小管刷状缘和小肠的纹状缘[6]。此酶与组织中的氨基酸和肽的调节、分泌、吸收、转运以及合成有关。从我们的实验中观察到附睾内也具有丰富的γ-GT酶，定位于附睾管上皮细胞的游离端和静纤毛，因而推测附睾管上皮细胞的γ-GT酶有调节某些氨基酸从腔内吸收和分泌入腔的作用，从而改变腔液的成份以影响精子的成熟。值得注意的是附睾Ⅰ到Ⅵ各段γ-GT的活性不同，Ⅱ段最高，继而依次下降，Ⅵ段转为阴性。提示这一调节功能主要发生在Ⅰ至Ⅳ段，而以Ⅱ段最为活跃。

在附睾各段管腔中精子均呈γ-GT阳性反应（++），Rosalki只是用生化方法测定人精液中含有γ-GT[9]。

为探讨附睾生理功能，已有许多学者对哺乳动物包括人的附睾多种水解酶进行了组化观察[10]，从我们的实验中观察到非特异性酯酶不但在大鼠附睾各段的活性不同，而且各段在细胞内的定位也不尽相同。Ⅲ段该酶活性最高（+++），细胞质内均有丰富的酶反应物，但在细胞基部活性明显较高，其它各段该酶或仅在细胞基部，或在整个细胞质内。

非特异性酯酶广泛分布于动物组织内。在肝、肾和小肠的活性最高。此酶主要位于内质网、溶酶体、线粒体和胞浆基质中，然而这种酶在细胞中的作用仍不清楚。附睾中具有这样高的非特异性酯酶活性，以及具有这种特异性的分布，其意义何在有待进一步研究。

AKP　在大鼠附睾内具有较高的活性，定位于上皮基底膜以及附睾管之间结缔组织

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

的血管壁上。这种酶参与细胞与细胞外环境之间的物质转运[11]，它在大鼠附睾各段的活性差异不大，说明各段均有活跃的物质转运功能。在兔、仓鼠和羊的附睾的静纤毛也有较高的AKP活性，而大鼠的则无，这有可能存在种属差异[3]。

G-6-P 水解葡萄糖-6-磷酸酯，释放葡萄糖入血循环[12]。G-6-P均匀分布在大鼠附睾上皮细胞内，有参与碳水化合物分泌入腔的作用。

比较上述四种酶在大鼠附睾的活性和定位（比较表），发现它们的活性和定位均不完全相同，γ-GT从Ⅰ到Ⅵ段是有逐渐下降的趋势，而非特异性酯酶却趋向增高，AKP和G-6-P在各段差异不明显。Glover根据哺乳动物附睾的结构不同，提出附睾的吸收功能主要是在附睾中段[13]。从我们的实验结果推测，根据Reid等对大鼠附睾的分段，在Ⅰ、Ⅱ段是吸收、分泌和转运较为活跃的区段，但也不可忽视其它各段上皮的作用，各段上皮有选择地从腔内吸收某些物质以及分泌另一些物质来调节附睾管腔液的成分，从而影响精子的成熟。

参 考 文 献

1. Reid BL and Cleland KW. The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. Austral J Zoology 1957; 5:223

2. Scott TE, et al. Phospholipid interrelationships in the rat epididymal tissue and spermatozoa. Biochem J 1963; 87:507

3. Moniem KA. Comparative histochemical localization of some hydrolytic enzymes in mammalian epididymides. Acta Anat 1980; 108:301

4. Moniem KA and Glover TD. Comparative histochemical localization of lysosomal enzymes in mammalian epididymides. J Anat 1972; 111:437

5. Albert Z, et al. Histochemical demonstration of gamma-glutamyl transpeptidase. Nature 1961; 191:767

6. 杨淑珍，等。发育中大鼠肾和空肠γ-谷氨酰转肽酶的变化—组织化学和生物化学的观察。第三军医大学学报 1985; 7 (2) :61

7. 陈啸梅，等。组织化学手册。人民卫生出版社 1982; pp.105

8. Vanderlaan M and Phares W. γ-Glutamyl transpeptidase. A tumor cell with a pharmacological function. Histochem J 1981; 13:865

9. 杨淑珍。羊水内的γ-谷氨酰转肽酶及其在产前诊断中的应用。国外医学 遗传学分册 1985; 8(4):184

10. 王一飞，等。人类睾丸及附睾的组织化学观察。细胞生物学杂志，1983; 5(4):7

11. Adams CS. Localization of AKP and NADH diaphorase in the principal cells of the guinea pig epididymis. Acta Anat 1983; 116:146

12. Nordlie RC. Some properties and possible phosphotransferase activities of microsomal glucose-6-phosphatase. Ann NY Acad Sci 1969; 166:699

13. Glover TD and Nicander L. Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. J Reprod Fertil Suppl 1971; 13:39

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

Activity and Localization of γ-GT, ANAE, AKP and G-6-P in the Epididymis of the Rat

Yang Shuzhen, Zheng Shibin

(Department of Histology and Embryology, Third Millitary Medical College)

Activity and localization of γ-glutamyl transpeptidase (γ-GT), α-Naphthyl acetate esterase (ANAE), alkaline phosphatase (AKP) and glucose-6-phosphatase (G-6-P) in the epididymis of the rat has been investigated histochemically by light microscopy.

γ-GT activity was mainly localized on the supranuclear region and the stereocilia of the epithelial cells. The intensity in the epithelium of the segment Ⅱ is the highest of the rat epididymis. There was a gradual decrease in the intensity of this enzyme from segment Ⅲ through Ⅳ and it was absent from the segment Ⅵ. Activity of ANAE in the segment Ⅵ, Ⅴ and Ⅵ was higher, but that in the segment Ⅰ, Ⅱ and Ⅳ was less. ANAE activity was localized throughout the cytoplasm of the epithelial cells in the segment Ⅰ, Ⅲ, Ⅴ and Ⅵ. Whereas the activity in the segment Ⅱ and Ⅳ was localized on the basal region of the epithelial cells. AKP activity was present in the basement membrane of the epididymal epithelium and the blood vessel wall of subepithelial connective tissue of the epididymal duct. G-6-P was distributed homogenously in the cytoplasm of the epithelial cells throughout the epididymal duct.

The possible function of these enzymes in the rat epididymis are briefly discussed.

Key words: Rat; Epididymis; Histochemistry

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

大鼠附睾γ-谷氨酰转肽酶和三种水解酶的活性及分布 （正文见第144页）

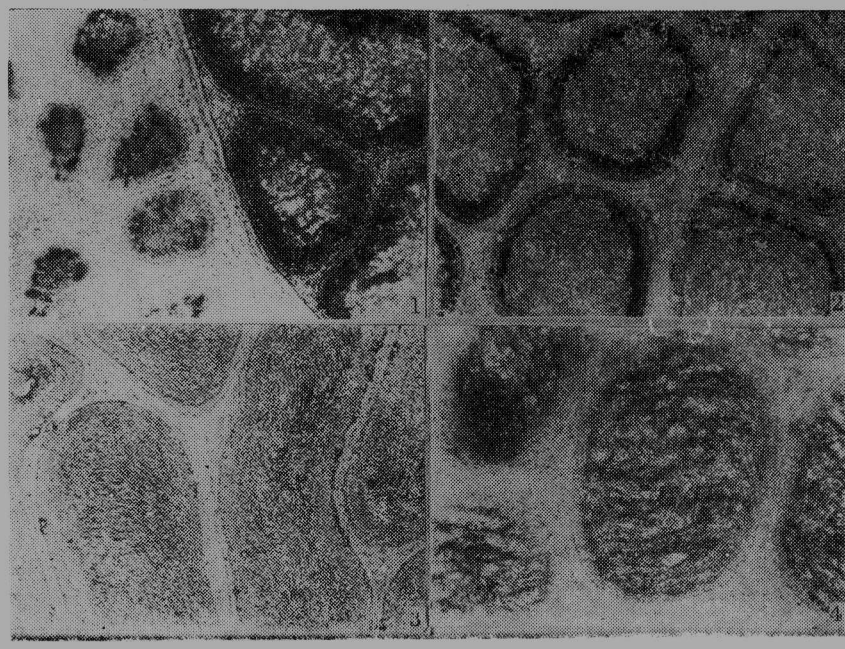


图1　左侧为大鼠附睾Ⅰ段，γ-GT主要位于附睾管上皮的静纤毛；右侧为附睾Ⅱ段，上皮细胞质内及静纤毛均具有很强的γ-GT阳性反应物。Ⅱ段γ-GT活性明显高于Ⅰ段。γ-GT 组化染色。×100

图2　左侧是大鼠附睾Ⅲ段，γ-GT位于上皮细胞的游离端及静纤毛；右侧为附睾Ⅳ段，γ-GT主要位于静纤毛，Ⅳ段γ-GT活性低于Ⅲ段。γ-GT组化染色。×100

图3　大鼠附睾Ⅴ段，γ-GT染色。上皮内少量细胞具有γ-GT活性。×100

图4　大鼠附睾Ⅵ段，γ-GT染色。附睾管上皮γ-GT为阴性，腔内精子γ-GT阳性。×100

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

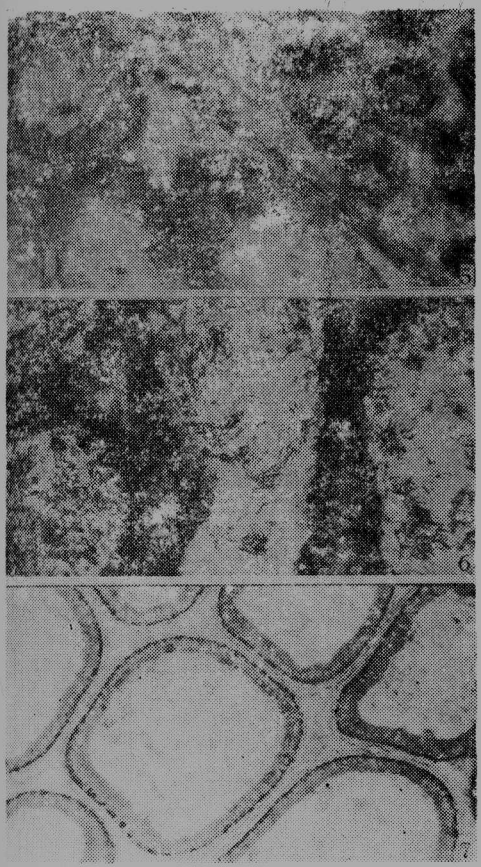




图 5　大鼠附睾非特异性酯酶组化染色。右上是附睾Ⅰ段，该酶阳性反应物位于上皮细胞质内；左下是附睾Ⅱ段，酶反应物主要位于上皮细胞基部。×100

图 6　大鼠附睾Ⅲ段，非特异性酯酶组化染色。上皮细胞质内含有很强的酶反应物，上皮细胞基部反应更强。×100

图 7　大鼠附睾Ⅳ段，非特异性酯酶组化染色。酶反应物主要位于上皮细胞基部。×100

图 8　大鼠附睾Ⅴ段，非特异性酯酶组化染色。酶反应物位于整个上皮细胞胞质内。×100

图 9　大鼠附睾Ⅴ段，AKP组化染色。AKP位于上皮细胞基底膜及附睾管之间的血管壁上。×100

图10　大鼠附睾Ⅳ段，G-6-P组化染色。G-6-P均匀地分布在上皮细胞胞质内。×100

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