

# 冬眠蟾蜍骨骼肌再生过程中 肌核形成的初步研究\*

朱逸仁

(大连师范学院)

骨骼肌在再生过程中肌核增多的问题，曾被许多学者们所证实，但其来源问题尚没有一致的意見。Казанцев<sup>[1]</sup>认为肌核数量所以增多，是由于肌核向肌束移动的结果。Студитский<sup>[2-3]</sup>、Юсфина<sup>[4]</sup>、Балакин<sup>[5]</sup>等在研究报告中指出，骨骼肌在再生过程中，生活物质——肌浆可以重新演变成核。而Жанкин<sup>[6-7]</sup>、Михайлов<sup>[7]</sup>、Дмитриева<sup>[8]</sup>与Манина<sup>[9]</sup>等认为核数量的增多主要依靠无丝分裂，生活物质——肌浆演变成核的结论有些为时过早，至于Студитский、Юсфина与Балакин所观察的小核、染色球与核影等现象，则是吞噬细胞与核的遗留产物。朱潤<sup>[10]</sup>在研究大白鼠横纹肌纤维的再生方法的论文中，也曾提到形状不等与大小不同的核，似系吞噬细胞所遗留的。

Самсонко<sup>[11]</sup>在研究蛙的腓肠肌(m. gastrocnemius)再生时，也得出肌核增多是由于无丝分裂与有丝分裂，而以前者为主的结论。

综合以上所述，不难看出关于肌肉组织再生过程中，肌核增多的问题尚存有分歧的意见。从进化与机体及其生活环境相互作用的观点来看，要想正确的阐明这个问题，必须从各种不同的动物与它所处的不同环境的生理变化，加以详细的探讨。本实验的目的就在于探讨处于冬眠时期蟾蜍骨骼肌再生中肌核增多的问题，同时，还企图寻找神经系统对肌核形成的影响。

## 实验方法

实验是在冬季室内进行的，室温8—10°C。实验动物为北京产的蟾蜍(*Bufo bufo asiaticus*) 68只，每只体重80—90克，共分甲乙两组进行。

甲组实验是在蟾蜍的腓肠肌上切割长约0.3—0.5厘米的伤口，然后将皮肤缝合。乙组的实验手术与甲组相同，只不过先切除支配腓肠肌的胫神经(n. tibialis)后再进行上述的手术。

经过手术后的甲乙两组，分别在3、5、8、11、15、20与30天后杀死，固定于Susa溶液中。为了保持创伤部分的自然状态，使肌肉组织不发生萎缩，采取了肢体固定的方法。用此方法固定24小时之后，再从创伤

部分沿着肌纤维的纵行方向，切割长宽各约0.6—0.7厘米、厚0.2—0.25厘米的方形组织材料。该材料再经过Susa溶液固定1—2小时，然后经过95%的碘酒精、酒精及纯酒精脱汞与脱水，香柏油透明，石蜡包埋，按着一般的组织学的方法沿着肌纤维的纵行方向而制成厚达7微米( $\mu$ )的连续切片。用苏木精与伊红(H, E)的对比染色法着色以资区别。此外，在制片过程中还用二甲苯补充透明，最后经过二甲苯石碳酸(3:2)处理而用中性树脂胶封片。

## 实验结果

### 一、一般的观察

处于冬眠时期的蟾蜍，肌肉组织显出一定的变化：肌肉松弛，弹性较弱，纤维间空隙增大，个别部分肌纤维横纹表现不清，尤以割断胫神经的腓肠肌表现更为明显。

### 二、标本的观察

#### (一) 保留胫神经创伤腓肠肌的再生实验。

受创伤的肌肉组织，在其恢复反应的前阶段呈现显著的退化状态。尤以手术后8天以前的标本更为明显。

在手术后3—5天的标本中，其大部分的肌纤维断端呈现膨胀与溶解的现象，横纹消失，肌原纤维溶解于肌浆中而成为着色均匀的收缩物质，其中有少部分的坏死。肌膜虽因切割而有局部的破损，但大部分的肌膜还没有消失。因此肌纤维虽处溶解的状态，其外形尚清晰可辨(图1)。肌核大部分溶解消失，只有个别核位于肌膜附近。收缩物质中显出为数很少的白血球浸润与单核吞噬细胞(mononuclear phagocyte)的分布。受创伤较重的部分，如断口的肌肉组织，退化状态显得更为剧烈，大部分的收缩物质呈现坏死，形成着色较深的块状堆积物。其中除了白血球与单核吞噬细胞进行清除坏死的收缩物质之外，尚有多核巨细胞(multinu-

\* 本实验承蒙纪维与刘绍侠二位同志的协助；初稿并经朱潤先生仔细审阅，提出指导性的意见，在此致以衷心的感谢。

cleated giant cell) 的分布 (图 2)。

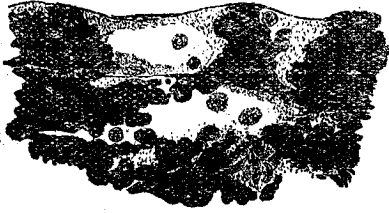


图 1 示手术 3 天后肌纤维的变化。

肌纤维溶解成为收缩物质, 其中大部分坏死, 肌膜尚清晰可辨, 肌核消失, 吞噬细胞侵入。

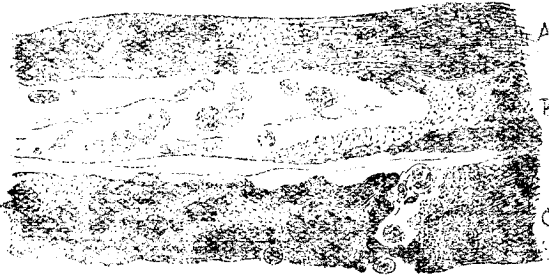


图 2 手术 3 天后肌纤维的变化。

A, C 显示肌纤维的退化, 收缩物质坏死的现象。  
 B, 部分的收缩物质被吞噬细胞所清除, 残留部分退化的肌核与吞噬细胞。

大多数的标本中坏死的收缩物质呈现为与正常肌纤维部分逐渐脱离而聚积成堆(图 2)。正常肌纤维的本身也因受创伤的影响而呈现不同的退化过渡区域; 肌原纤维排列紊乱, 横纹消失或模糊不清, 肌核常常位于肌膜附近, 个别的尚有位于肌纤维之中。离创口较远的肌纤维, 退化现象较轻, 肌核常位于肌纤维中, 肌原纤维排列整齐, 唯横纹稍为不清。但离创口近的肌纤维, 退化现象较重, 肌核消失, 肌原纤维溶解, 部分的收缩物质坏死, 其中也有白血球与吞噬细胞的侵入。

以上是这一阶段标本观察的一般现象。但也有少数的标本与上不同: 肌纤维没有表现出退化现象, 其断端没有膨胀与溶解, 横纹与肌原纤维尚清楚可见, 有为数较多的大小不同的核(图 3, A)。这些核除了椭圆形与圆形之外, 就是一些形态不同的小核, 其中还参有断片。部分的肌核呈现溶解状态: 先是边缘不清, 核质逐渐溶解, 核仁随后消失不见。核的附近尚有吞噬细胞与它解体的残片和遗留的核。核的无丝分裂只有个别可见(图 3, B)。

手术 5 天后的标本中, 多核巨细胞与白血球逐渐增加, 坏死的收缩物质减少, 核的数量有所增加, 特别

表现在手术后 8—11 天的标本中。

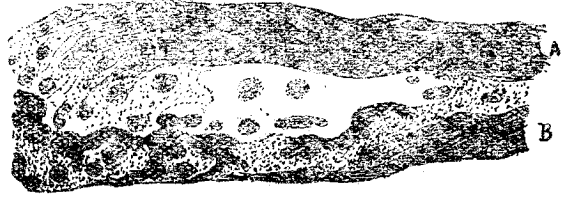


图 3 示手术 5 天后肌纤维的变化。

A, 肌纤维的断端呈多核现象。  
 B, 肌纤维正处于退化过程, 有少数核进行无丝分裂。

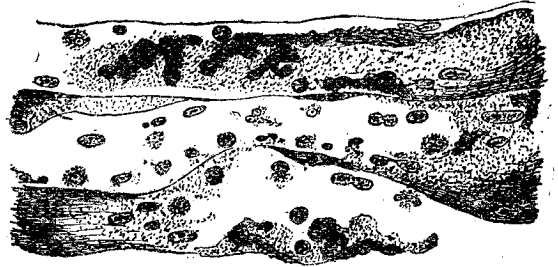


图 4 手术 8 天后肌纤维的变化。

坏死的收缩物质逐渐被吞噬细胞所清除, 同时在肌纤维的断端呈现大小不同的多核状态。成肌细胞成单独的存在。

成肌细胞 (myoblast) 的出现是比较晚的, 只在手术后 8 天(图 4)的标本中才发现个别孤立的成肌细胞; 到手术后的 11 天也没有显出增多与结合的现象。此外, 在伤口表面复有一层较薄的结缔组织, 其内有为数很多的组织细胞。在创伤处尚分布有破裂与完整的微血管; 前者附近有聚积成堆的白血球, 而后者则含有成串状的白血球。

手术 11 天以后为恢复反应的后阶段。这个时期的特点是细胞核激增的增加, 15—30 天的标本中表现得特别明显(图 5、图 6)。从肌核的变化来看, 这个时期又可分为两个阶段: 手术后 11—20 天的标本, 核数量增加, 且形态也渐趋正常, 大部分为椭圆形或圆形的, 而小核、断片等大大的减少; 多核巨细胞、白血球与坏死的收缩物质有显著的减少, 而核的无丝分裂比较普遍(图 6)。手术 20 天以后则多核现象逐渐开始退化(图 6)。核呈萎缩、解体与溶解的现象。溶解过程先是核膜与核质逐渐消失, 核仁随后才消失不见; 但是, 也有的核仁先表现消失, 核膜与核质随后不见。同时核质在退化过程中有的表现为凝集, 故在标本中现出着色较浅而内含核仁或不含核仁的泡状结构(图 7)。萎缩与解体的核, 形成不同形态的小块与断片分布于肌核间。核的退化过程直到手术后 30 天的标本中尚

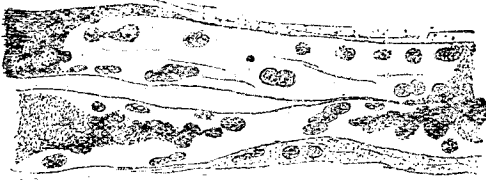


图 5 示手术后 15 天的肌纤维的变化。核借无丝分裂而激烈的增加，形态也趋正常，收缩物质、小核与断片减少。

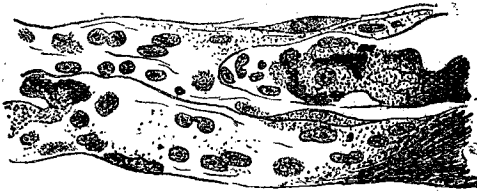


图 6 手术后 20 天的肌纤维变化的标本。肌纤维呈恢复反应，多余的肌核开始退化，出现了泡状结构，无丝分裂较多。

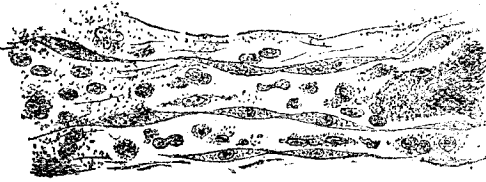


图 7 手术后 30 天肌纤维的恢复反应，多余的肌核进行激烈的退化，泡状结构增多，但核数没有恢复正常。成肌细胞进行初步的结合。

未停止，肌肉组织恢复反应的肌核仍未恢复正常的数目。

多核巨细胞与白血球参于肌核之间，尤其退化肌核的附近。

此期成肌细胞得到进一步的发展。它从手术后 8 天标本中出现之后，直到手术后的 20 天的标本中才发现增多，而在手术后 30 天的标本中发现初步结合(图 7)。

(二)切断神经后创伤腓肠肌的再生实验通过我们的观察，发现去掉神经创伤腓肠肌的恢复反应与保留神经创伤腓肠肌的恢复反应，其核的变化是有区别的。

本组的实验标本，多核现象更为明显。在恢复反应前阶段(手术 11 天前)受创伤的肌肉组织退化非常激烈，涉及的范围广泛；收缩物质的分解与坏死的较多，形成着色较深的乌云状；大部分肌核溶解与破裂，只有离创伤较远的肌纤维处有核的分布。

单核吞噬细胞、多核巨细胞与白血球多分布于创伤处，显出吞噬与清除坏死收缩物质的现象，同时也观察到有残留核与断片。

在恢复反应后阶段，坏死的收缩物质大部分被清除，核的数量有显著的增加，其数量超过甲组 1/3 左右，特别在手术后 15—30 天的标本中更为突出，且核的形态多属正常，而小核与断片甚为罕见。此时多余核的退化从手术后 30 天的标本中才初步发现，其退化过程如前相同，也是通过萎缩、解体与溶解的方法进行的。

在手术后的第 8 天的标本中也曾发现个别的孤立的成肌细胞。直到手术后 30 天的标本中，成肌细胞数量虽有增加，但并没有结合，同时成肌细胞尚有消失的痕迹。

核的无丝分裂极为常见。

从两组标本的观察，显然有一定的规律性：恢复反应前阶段主要表现为退化；恢复反应后阶段主要表现为发展与再生。

前 论

Балакин<sup>[12]</sup> 研究冬眠刺螈的肌肉组织改变的报告中曾提到冬眠刺螈的肌肉组织与正常生活的刺螈的肌肉组织有所不同。冬眠刺螈的肌肉组织表面变得松软，肌纤维的间隙增大，部分的肌纤维呈现溶解而变成白色的现象。

我们在冬眠蟾蜍的骨骼肌组织观察中也看到类似的现象。冬眠蟾蜍的肌肉组织所以表现出松软，弹性弱，肌纤维间隙加大，部分的肌纤维呈现溶解，横纹不清等是与冬眠蟾蜍本身所处的生活条件有关。

处于冬眠的蟾蜍由于受到生活条件(主要是气候条件)的影响，机体的生理过程发生很大的变化。首先是神经系统的机能显著的降低，代谢过程也随之改变，减少机体对营养与能量的消耗，而维持最低的生活过程，这是蟾蜍对适应环境作用的积极反应。肌肉组织是运动器官与营养器官之一。在这种神经系统机能降低与营养不良的影响下，其内部组织结构就显出上述适应的变化，这是它对环境作用的积极反应。如果改变了这样的生活条件，肌肉组织的内部变化是可以恢复正常的。

因此，不难理解，去掉神经的腓肠肌，可以在受创伤以后呈现出退化过程剧烈与核的显著增加。同时，神经系统本身不但具有感觉与运动的机能，它还有营养机能，因而去掉神经之后，腓肠肌失去了神经系统的影响，神经系统的机能就无法实现；在这种情况下腓肠肌组织内部发生改变，那是必然的。

1. 恢复反应前阶段的多核现象的问题

肌肉組織在再生的恢复反应前阶段，肌纖維由于受切割的影响而进行退化；肌核是其組成部分，当然也随之萎縮、解体与溶解而逐漸消失；以后随着坏死的收縮物质被清除，核才借着无絲分裂的繁殖方法而增加。但在个别肌纖維断端尚有多核的現象，这种現象是怎么产生的呢？我們願意根据我們的实验观察，发表个人的初步意見。

肌肉再生的恢复反应前阶段主要表现为退化过程，这是毫無疑問的。此时肌肉纖維进行剧烈的退化。在这个过程中由于核的萎縮、解体与溶解而不可避免的產生少数的含核仁或不含核仁的泡状結構与分布核間的断片。同时，吞噬細胞与多核巨細胞在清除坏死的收縮物质过程中，本身也不断的破坏与解体，而残留一些小核，它們分散在肌核与肌核借无絲分裂而形成不同发展阶段的核的中間，这种現象在手术后的 5—8 天的标本中呈現得特別明显。以后由于恢复反应的退化过程轉变为发展过程，核就得到了正常的发展，溶解、萎縮与解体的現象比較少見。同时，随着創伤組織的恢复反应轉为发展过程，而吞噬細胞、多核巨細胞与白血球的作用逐漸減弱，其数量也必然減少，这是适应肌肉組織再生过程的积极反应。因此，我們有理由认为在恢复反应前阶段的多核現象，如不同形态的中、小核，断片，含核仁或不含核仁的泡状結構等，都是核的退化与吞噬細胞的遺留产物，其中个别也可能有借无絲分裂而形成核的不同发展阶段，这里沒有由肌浆重新形成核的征象。

### 2. 恢复反应后阶段的多核現象

正如前文所述，手术 11 天后的标本中，肌核的变化突出：核的数量不但显著的增加，无絲分裂普遍可見；而形态也比較正常，大部分的核为椭圆形或圓形，小核与断片則极为罕見；且吞噬細胞与白血球特別減少。这些現象表面看起来好象无关紧要，实际則不然。为什么在这一阶段中細胞核激劇增加呢？为什么小核、断片、泡状結構減少呢？为什么肌核的形态比較正常呢？前后联系起来就可以証明核的增多不可能借着生活物质的演发，而是依靠无絲分裂(有絲分裂也是一种方式，但是次要的)。如果说增多的核是由生活物质——肌浆演发的，那么在核激劇增加情况下，所謂发展过程的小核、含核仁或不含核仁的泡状結構又为什么減少呢？显然，小核与各种泡状結構不是由生活物质演变为核的不同阶段，而是退化的产物，同时也說明核的增加不可能是生活物质重新形成的結果。

为了更进一步的討論核增多的問題，我們再从多余核的退化方面加以探討。一般的說，多余核的退化是从手术后 20 天开始的(也可能早一些)。此时核的

退化方式仍然如前，不过溶解的方式是主要的。在手术后 20 天的标本中，发现少量含核仁或不含核仁的泡状結構，以后随着天数增加，而这种結構也有增多的現象；小核与断片也有各別的存在，但肌核的数量逐漸的減少，吞噬細胞与多核巨細胞也出現很多。这一系列反应都說明在再生的后期，核的数量漸趋向于正常，所以多余的核才通过溶解、萎縮与解体等方式而退化，其退化产物被吞噬細胞所清除。

从整个恢复反应过程中核的变化来看，就可以得出这样結論：在恢复反应前阶段所观察到的小核、断片和泡状結構可能是核的退化与吞噬細胞的遺留产物；而反应后阶段核的增加是依靠无絲分裂而实现的，其中小核与泡状結構与反应前阶段相同，是多余核的退化与吞噬細胞的产物。

实验証明，冬眠蟾蜍骨骼肌再生反应中，生活物质的肌浆重新演变成核是不大可能的。

### 3. 神經系統对核形成与成肌細胞发展的影响

神經系統的营养作用已引起学者們普遍的重視。然而，神經系統对于細胞的重要代謝机能——核分裂的影响，尚很少研究。Козлов<sup>[13]</sup>利用刺激神經引起其兴奋过程的方法，研究了神經兴奋对核分裂作用的报告中，曾发现神經系統对核的分裂有抑制作用。我們在甲乙兩組标本对照观察中，也发现了这种現象。正如前面所述，去掉脛神經腓腸肌的再生标本中，除了退化剧烈之外，其特点就是核数量激烈的增多，无絲分裂更为突出，这个特点与神經系統有着直接的关系。

蟾蜍处于冬眠的条件下，随着神經系統机能与代謝过程降低，其肌肉組織內部必然发生适应的改变。当腓腸肌的脛神經失掉以后，其营养过程与代謝过程就会恶化。在这个过程中，做为細胞代謝器官的核，就必然因受刺激与脱离了神經系統的控制而加速的繁殖，以适应这个恶化环境的需要。

成肌細胞在乙組的标本中始終成为单独游离的状态，而沒有进行結合。但是，在甲組的观察中則与此相反，成肌細胞不但随着天数增多而数量增加，并且彼此进行結合(图 6)，这是发展成为肌纖維的重要条件。

神經系統对于成肌細胞的发展有重要作用。当創伤肌肉組織缺乏神經支配之后，在恢复反应中，成肌細胞只停留在游离的状态，而不能进一步的发展成为肌纖維，这是創伤恢复的严重障碍。这点与 Игнатъева<sup>[14]</sup>的論点相符合。通过上述的事实，不难看出神經系統是創伤肌肉組織恢复的先决条件。当失去神經系統，尽管細胞核的数量有所增加，但成肌細胞不能結合，也不能使肌肉組織恢复正常。

## 結 論

(一) 冬眠蟾蜍的創伤肌肉再生过程中,核数量的增多主要是借无絲分裂的方式进行的。

(二) 冬眠蟾蜍骨骼肌在恢复反应中,小核、断片、含核仁或不含核仁的泡状結構等,乃是核的退化与吞噬細胞的遺留产物。其中不同大小的核可能是核借无絲分裂而形成的核的不同发展阶段。

(三) 神經系統是創伤肌肉組織恢复的先决条件,缺乏这个条件成肌細胞即不能結合形成新的肌纖維。

(四) 神經系統对肌肉組織可能借营养机能而对肌核分裂有抑制影响,故切断神經的肌肉組織,在恢复反应中核激劇增加。

## 参 考 文 献

- [1] Казанцев, В. П.: 1935. К вопросу о регенерации мускульной ткани у млекопитающих. *ДАН*, 1 (6): 407—410.
- [2] Студитский, А. Н.: 1949. Регенерация двигательной мускулатуры у птиц. *ДАН*, 64 (3): 391—394.
- [3] Студитский А. Н.: 1953. Проблемы новой клеточной теории. *Журнал общей биологии*, 14 (2): 177—197.
- [4] Юсфина, Э. З.: 1954. Об источниках новообразования ядер в регенерирующем мышечном волокне. Новые данные по проблеме развития клеточных и неклеточных форм живого вещества. Москва. 123—128. (科学文摘——解剖学 1: 38—39, 1955. 郑鎮恶譯)

- [5] Балакин, Ф. С.: 1952. Новообразование мышечных волокон в процессе регенерации мышц в свете учения О. Б. Лепешинской. *Усп. Совер. Биол.* 33 (1): 143—147.
- [6] Жинкин Л. Н.: 1954. Регенерация мышц у млекопитающих *ДАН*, 48, 706—708.
- [7] Жинкин, Л. Н. и В. П. Михайлов: 1955. Новая клеточная теория и ее фагическое обоснование. *Усп. Совер. Биол.* 39 (2): 228—244.
- [8] Дмитриева Е. В.: 1955. Об образовании ядер в волокнах скелетной мускулатуры при регенерации. *ДАН*. 100 (5): 993—996.
- [9] Манина, А. А.: 1955. Дегенерация мышечных ядер в тканевых культурах. *ДАН*, 100 (5): 997—999.
- [10] 朱潤: 1956. 創伤癒合和組織再生的研究. III. 橫紋肌纖維的再生方式, *实验生物学报* 5(2): 199—228.
- [11] Самсоненко, Р. В.: 1956. Развитие мышечной ткани в пересадках измельченных мышц на месте полностью удаленных мышечных органов у лягушки. *Арх. анат. гистол. и эмбриол.* 33 (2): 60—64.
- [12] Балакин, Ф. С.: 1955. Некоторые морфологические данные изменений строения соматических мышц млекопитающих при экспериментальном воздействии. *Арх. анат. Гистол. и Эмбриог.* 32 (1): 36—41.
- [13] Козлов, В. В.: 1954. Изменения в процессах клеточного деления при возбуждении нервной системы животных. *ДАН*, 99 (2): 317—320.
- [14] Игнатъева, З. П.: 1955. Дополнительная иннервация как фактор, способствующий восстановлению поврежденной мышцы у млекопитающих. *ДАН*, 100 (4): 817.