

显示弹性、胶原纤维的双重组合染色法

龚志锦 阮 静 陶文照

(第二军医大学病理解剖学教研室, 上海 200433)

摘要 在特殊染色中, 分别显示胶原纤维和弹性纤维的方法较多, 但是这二种染色效果较差, 多年来为了使动物和人体组织中能同时可靠的显示胶原和弹性纤维成分, 并在较长时间内不褪色。为此我们进行了反复的实验性研究, 在选用多种染料中, 发现酸性染料 Ponceau S (丽春红 S), 碱性染料 Victoria blue (维多利亚蓝) 等试剂, 经过重新组合后, 能更好的显示胶原纤维呈红色, 弹性纤维呈蓝绿色, 肌肉等呈黄色, 染色色彩鲜艳, 对比清晰。其方法简单, 容易掌握, 这是一种较为理想的双重组合染色方法。

显示动物和人体组织中的弹性纤维染色方法已有报道, 但同时又要更好地显示胶原纤维, 并且经过一定时间又不褪色, 在目前还未见报道。我们在实验中发现维多利亚蓝和丽春红等主要染料, 分别在不同的染色法中, 经过改进和重新组合后, 能鲜明地显示出弹性纤维和胶原纤维。其优点是染色方法简单, 容易掌握, 染色结果使两种纤维对比色彩鲜艳和清晰, 并在较长的时间内不褪色等。这是一种较好的双重组合染色法。

(一) 方法和结果 组织固定于 10% 中性甲醛液, 石蜡包埋切片。

试剂配制

1. 维多利亚蓝染色液 维多利亚蓝 (Victoria blue) 2 克, 糊精 (Dextrin) 0.5 克, 间苯二酚 (Resorcin) 4 克, 蒸馏水 200 毫升。

将上述物质混合后加热煮沸, 边煮边搅拌, 约 5 分钟。然后用另一容器取 30% 三氯化铁水溶液 25 毫升, 另行加热煮沸后慢慢倒入上述混合液中, 继续煮沸 3 分钟, 不断搅拌溶液呈胶体状, 去火冷却过滤, 将滤纸上的残渣连同滤纸一起放在 60℃ 恒温箱中烤干, 残渣呈深蓝色细颗粒状粉末, 将其溶于 400 毫升的 70% 酒精液中, 然后加浓盐酸 4 毫升和苯酚 5 克, 放置一周后成熟使用。

2. 丽春红 S 染色液 0.5% 丽春红 (Ponceau S) 15 毫升加苦味酸饱和水溶液 (1.22%) 85 毫升。

染色方法

- (1) 组织切片脱蜡至水。
- (2) 切片入 70% 酒精中洗 2 分钟。
- (3) 将切片浸入盛有维多利亚蓝染色液缸中 30 分钟至 2 小时。
- (4) 直接入 95% 酒精中分色数秒钟。(可根据组织厚薄和深浅的要求进行)。
- (5) 用蒸馏水洗 2 分钟。
- (6) 入丽春红 S 染色液滴染切片 2 分钟。
- (7) 直接用无水酒精冲洗多余染色液二次。
- (8) 切片在空气或冷风中稍干燥。
- (9) 二甲苯透明, 中性树胶封固。

结果 弹性纤维呈蓝绿色, 胶原纤维呈红色, 背景呈淡黄色 (图 1, 2 见封 2)。

(二) 小结 本文选用显示弹性纤维成分的维多利亚蓝为主要染料, 它是一种碱性染料, 原染色于病毒原生小体和神经组织及血液中的螺旋体^[1], 1981 年由 Tanaka^[2] 报道用于显示乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 染色法。在本实验中发现不但较好的显示 HBsAg, 同时也可见到结缔组织成分被着色, 因此就引起了极大的

兴趣, 并设想将结缔组织中有选择的区分属何
种纤维成分, 首先使用了 Van Gieson 氏苦味
酸酸性复红液^[1]显示胶原纤维, 但在较短时间
内易褪色, 并且对比清晰度也较差, 结果不理
想。因而选用了 Little 法中的丽春红 S^[2], 经
过改进后可将胶原纤维成分清楚的显示出来。

这种维多利亚蓝染色液, 可长期保存于室
温下备用, 组织切片必须在染色缸中进行, 每
次用后染液应盛入试剂瓶内保存, 以便反复
使用都可得到较好的结果。

经对不同的组织进行了实验性对照研究,
完全证实了在各种组织切片染色中, 能够清楚

的观察到弹性纤维为蓝绿色, 胶原纤维为红
色, 背景淡黄色。这是一种较为理想的, 有
一定诊断意义的弹性纤维和胶原纤维的
双重组合染色方法。

参 考 文 献

- 1 中国医学公司上海化学试剂采购供应站 1963 药物试剂手
册 844 页 上海科技出版社, 第 1 版。
- 2 张哲 陈辉 万发义等 1988 实用病理组织染色技术
205 页辽宁科学技术出版社, 第 1 版。
- 3 杜卓民编 1982 实用组织学技术 100 页 北京人民出版
社, 第 1 版。
- 4 [美]G. 克拉克编, 陆怀南译 1985 生物学染色程序 39 页
北京科学出版社, 第 1 版。

DOUBLE DYEING PROCESS FOR THE ELASTIC AND COLLAGEN FIBRILS

GONG Zhijin RUAN Jing TAO Wenzhao

(Department of Pathology, The Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT In order to show both the collagen and fibrin at the same tissue in
the meantime for human beings or animals, we made numerous treatments by different
combinations of dyestuff. We found that the suitable combination of acid dyestuff ponce-
acis and alkalized dyestuff victoriablue etc. Could give good results than over the other
dyestuff.

The results of dyeing were that the collagen presented red colour and fibrin bluish-
green and had a good contrast.

We consider this dyeing process is simple and easy to handle.

《动物学杂志》1990年度优秀论文评选揭晓

现将评选结果公布如下(以刊出时间为序):

论文题目	首名作者	发表时间
遗鸥繁殖群在鄂尔多斯的新发现	张荫荪	26(3): 32—33
雄麝的香腺和香囊在麝香分泌及形成中的作用	尹淑媛	26(4): 23—25
鳊亚科鱼类地理分布的研究	李思忠	26(4): 40—44
陕西太白山地区鸟类三十年变化情况的调查	姚建初	26(5): 19—29
西藏高原蜘蛛区系的研究	李爱华	26(6): 1—7
淤泥湖团头鲂的生长与繁殖——兼谈资源的保护	李思发	26(6): 7—11

《显示弹性、胶原纤维的双重组合染色法》

一文之附图(正文见第29页)

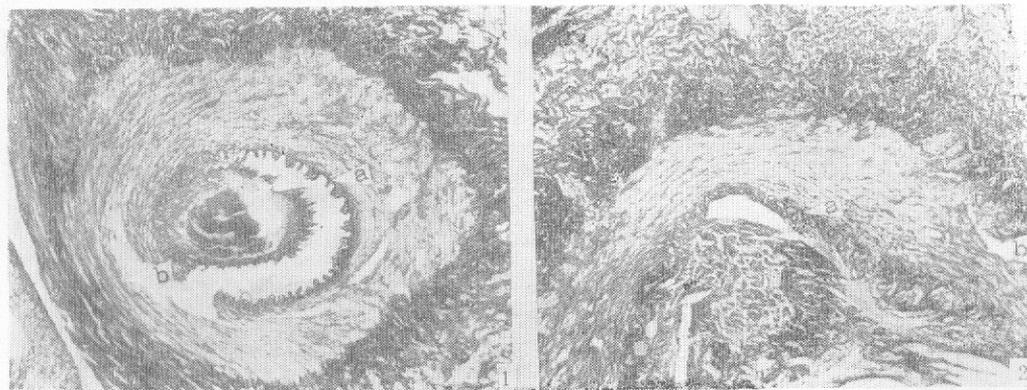


图1 狗膈动脉的外膜中的营养动脉 a: 弹性纤维呈蓝绿色; b: 胶原纤维呈红色; 图2 狗的肾动脉内弹性纤维(内弹性膜断裂)a: 弹性纤维呈蓝绿色; b: 胶原纤维呈红色。