

SR-G-AB 显示胶原、网状纤维和粘液的复合染色法

龚志锦 朱明华 郑建明 詹榕洲 陶文照

(第二军医大学附属长海医院病理科 上海 200433)

摘要: 在组织细胞的染色中,为了证明双重纤维和粘液物质,通过分别选用和组合的天狼星红(Sirius red)苦味酸、Gomori 和阿尔辛蓝(Alcian blue)醋酸染色试剂,已能够显示鼠肺组织中胶原纤维呈红色,网状纤维呈黑色,粘液物质呈绿蓝色,背景呈黄色。对比清晰,色彩鲜艳,是较为理想的复合染色方法。

关键词: 胶原;网状纤维;粘液复合染色法

中图分类号:Q952 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2003)03-50-02

The SR-G-AB Staining Method for Showing Collagenous and Reticular Fibres and Mucous

GONG Zhi-Jin ZHU Ming-Hua ZHENG Jian-Ming ZHAN Rong-Zhou TAO Wen-Zhao

(Department of Pathology, The First Affiliated Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: To show collagenous and reticular fibres and mucous substance better in tissues. Methods: a compound staining dye composed of sirius red picric acid-Gomori-Alcian blue acetic acid was used to stain mouse lung tissues. Results: collagenous fibres, reticular fibres and mucous substance showed red; black and blue-green on a yellow background, respectively. Conclusion: the SR-G-AB compound staining method is an ideal and nice color contrast compound staining method.

Key words: SR-G-AB compound (Sirius red picric aci-Gomori-Alcian blue acetic acid compound staining method); Collagenous fibres; Reticular fibres

为了能够显示实验动物体组织双重纤维和粘液物质成分,经过反复实验后,选用天狼星红苦味酸(SR-PC)酸性染料与 Gomori 法进行组合,克服了 Van Gieson 法的胶原纤维易褪色和网状纤维单一染色对比差与鉴别难的缺点。在较好地显示纤维的同时,需要观察粘液物质,再与阿尔辛蓝(AB)进行染色,而形成了胶原、网状纤维和粘液的复合染色方法。

1 材料与方 法

1.1 材料 本学校实验动物中心的大鼠断头处死后,取肺组织用 15% 中性甲醛固定^[1],进行常规组织脱水、透明和浸蜡与包埋,再进行切片 4 μm 和组合染色。

1.2 试剂配制

1.2.1 Sirius red 苦味酸染色液 0.5% Sirius red(天狼星红)水溶液 10 ml,饱和苦味酸(1.22%) 90 ml。

1.2.2 Gomori 氨性银染色液 10% 硝酸银水溶液 10 ml 中逐滴加氨水摇动,使溶液变清为止,再加入 3% 氢氧化钠 10 ml,混合后变黑色,再逐滴加氨水不停摇动至清亮为止,最后补加 10 滴氨水和补足蒸馏水 100 ml。

1.2.3 高锰酸钾氧化液 高锰酸钾 0.5 g,蒸馏水 100 ml,3% 硫酸 5 ml。

1.2.4 Alcian blue 染色液 Alcian blue 8GS(阿尔辛蓝 8GS)1 g,冰醋酸 3 ml,蒸馏水 97 ml。

第一作者介绍 龚志锦,男,54岁,高级实验师。

收稿日期:2002-10-15,修回日期:2003-01-20

1.3 染色方法

- (1) 石蜡组织切片 4 μm , 常规脱蜡至水。
- (2) 高锰酸钾氧化液 5 min, 水洗后用 2% 草酸漂白液 1 min。
- (3) 蒸馏水 2 次, 2% 硫酸铁铵水溶液 2 ml, 蒸馏水洗 2 次。
- (4) Gomori 氨性银染色液 1 ml, 蒸馏水洗 2 次。
- (5) 20% 甲醛液 3 min, 蒸馏水 2 次, 0.2% 氯化金水溶液 1 min。
- (6) 蒸馏水洗 2 次, Alcian blue 染色液 5 min, 3% 醋酸水溶液 2 min。
- (7) 蒸馏水洗 2 次, Sirius red 苦味酸染色液 5 min。
- (8) 无水乙醇脱水 2 次, 二甲苯透明和中性树脂胶封固。

2 结果

肺支气管上皮和透明软骨组织中, 含有粘液物质呈绿蓝色, 胶原纤维呈红色, 网状纤维呈黑色, 背景呈淡黄色(图版 I:1, 见封 3) 3.3 \times 20。

肺支气管组织中的粘液物质呈绿蓝色, 胶原纤维呈红色, 网状纤维呈黑色, 肌纤维和背景呈黄色(图版 I:2, 见封 3) 3.3 \times 20。

3 讨论

3.1 SR-PC 胶原纤维染色 在实验动物组织中, 为了能够同时观察到胶原纤维、网状纤维和粘液的分布情况, 而进行分别染色改进和组合染色的应用。因为在胶原纤维染色中, 常用的 Van Gieson 方法, 由于显示纤维不稳定, 色彩不鲜艳, 特别容易褪色的缺点, 经过多种染料的选用, 结果证明了 Sirius red 与 Picric acid 混合后, 能够较好地显示胶原纤维成分, 这是因为胶原纤维是纤维母细胞产生的一种胶原蛋白较链而成, 并含有碱性氨基酸, 能够与酸性染料进行结合^[2], 由于染料性质, 已决定胶原纤维成分的牢固结合。这种酸性染料试剂, 易溶于水, 所以在染色后将切片斜放, 用无水乙醇直接脱水, 防止切片上的水溶解染色液, 使胶原纤维

褪色。这种染色剂能够较好地与网状纤维进行组合, 把胶原纤维加以区别, 是理想的胶原纤维染色法。

3.2 SR-PC-G 胶原网状纤维染色 在显示结缔组织网状纤维的多种方法中, 经过改进的 Gomori 方法, 是比较可靠的染色法。这种纤维为排列纤细的纤维组成, 还有形成致密的网状结构特点, 也可以被称为网硬蛋白, 其主要成分由含有丰富蛋白的胶原蛋白组成, 经过氧化剂作用后, 能够与银化物结合, 再与甲醛还原成金属银, 而沉淀于组织内表面的物质^[3]。但胶原成分均被同时着色。为了区分二种成分, 依据胶原纤维结构疏松, 宽孔的粗纤维易与天狼星红、苦味酸的酸性染料进行结合的特点, 利用此种染色法将胶原纤维显示呈红色, 网状纤维呈黑色。

3.3 SR-PC-G-AB 双重纤维和粘液染色 在组织染色中, 为了同时观察粘液存在的情况, 所选用 Alcian blue 染色液的分子中, 带正电荷的盐键与组织的酸性物质中带负电荷的酸性基团进行结合^[4], 以较好地显示支气管上皮粘液成分。由于粘液物质中含有丰富的氨基已糖, 而对氧化剂和弱酸不会引起变化, 特别是对银试剂无反应作用, 充分说明粘液物质是能够与结缔组织的胶原和网硬蛋白进行相互间组合, 并不受任何排斥影响。因此在组织细胞中, 能够同时显示二种纤维和粘液成分。实验证明, SR-G-AB 显示胶原、网状纤维和粘液的复合染色法。对比清晰, 色彩鲜艳, 是理想的染色方法。

参 考 文 献

- [1] 龚志锦, 胡凤仙, 郑建明. 制作尸体解剖组织制片的质量控制. 解剖学杂志, 2000, 23(6): 584.
- [2] 王伯沅, 李玉松, 黄高昇等. 病理学技术. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 143.
- [3] 刘介眉, 严庆汉, 路英杰等. 病理组织染色的理论方法和应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 39.
- [4] 凌启波编著. 实用病理特殊染色和组织化学技术. 广州: 广东高等教育出版社, 1989. 224.

