参考文献：

[1] Spratt J S, Adcock R A, Muskovin M, *et al*. Clinical delivery system for intraperitoneal hyperthermic chemotherapy[J]. Cancer Res, 1980, 40(2): 256-260.

[2] Zanon C, Clara R, Bortolini M, *et al*. Chemohyperthermia for advanced abdominal malignancies: a new procedure with closed abdomen and previously performed anastomoses[J]. Int J Hyperthermia, 2001, 17(5): 456-464.

[3] 吴承堂，黄祥成，卿三华. 直肠癌术式和热灌注化疗与预后的关系[J]. 中华胃肠外科杂志，2001，4(2)：88-90.

[4] Yonemura Y, de Aretxabala X, Fujimura T, *et al*. Intraoperative chemohyperthermic peritoneal perfusion as an adjuvant to gastric cancer: final results of a randomized controlled study[J]. Hepatogastroenterology, 2001, 48(42): 1776-1782.

[5] 傅庆国，郭仁宣，孟凡东. 大肠癌术后腹腔内温热化疗合并免疫治疗的临床研究[J]. 中华医学杂志，2002，82(11)：786-787.

[6] Koga S, Hamazoe R, Matea M, *et al*. Prophylactic therapy for peritoneal recurrence of gastric cancer by continuous hyperthermic peritoneal perfusion with mitomycin C[J]. Cancer, 1988, 61(2): 232-237.

[7] Okada M, Bothin C, Kanazawa K, *et al*. Experimental study of the influence of intestinal flora on the healing of intestinal anastomoses[J]. Br J Surg, 1999, 86(7): 961-965.

[8] 谭 广，吴功保，李 琪，等. 腹腔热化疗对防治胃肠道癌术后复发的临床意义[J]. 中国实用外科杂志，2000，20(3)：165-166.

[9] 陈峻青，王舒宏，徐惠绵，等. 胃癌根治切除并腹腔温热、低渗液灌洗治疗的远期疗效[J]. 中国实用外科杂志，2000，20(7)：415-416.

[10] Kunisaki C, Shimada H, Nomura M, *et al*. Lack of efficacy of prophylactic continuous hyperthermic peritoneal perfusion on subsequent peritoneal recurrence and survival in patients with advanced gastric cancer[J]. Surgery, 2002, 131(5): 521-528.

[11] Glehen O, Mithieux F, Osinsky D, *et al*. Surgery combined with peritonectomy procedures and intraperitoneal chemohyperthermia in abdominal cancers with peritoneal carcinomatosis: a phase II study[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(5): 799-806.

[12] Jacquet P, Averbach A, Stephens AD, *et al*. Heated intraoperative intraperitoneal mitomycin C and early postoperative intraperitoneal 5-fluorouracil: pharmacokinetic studies[J]. Oncology, 1998, 55(2): 130-138.

[13] 张 森，高 枫，陈利生，等. 丝裂霉素C在腹腔内温热灌注化疗的药代动力学[J]. 中华实验外科杂志，1999，16(4)：315-316.

[14] Daly J M, Kemeny N, Sigmulson E, *et al*. Regional infusion for colorectal hepatic metastases. A randomized trial comparing the hepatic artery with the portal vein[J]. Arch Surg, 1987, 122(11): 1273-1277.

[15] Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice[J]. Ann R Coll Surg Engl, 1993, 75(3): 147-153.

[16] Gidaikoi V, Alponat A, Gomatha NN. Mitomycin-C prevents reformation of intra-abdominal adhesions after adhesiolysis[J]. Surgery, 2002, 131(1): 81-84.

[17] Shimizu T, Maeta M, Koga S. Influence of local hyperthermia on the healing of small intestinal anastomoses in the rat[J]. Br J Surg, 1991, 78(1): 57-59.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2005)03-0226-01

高碘酸硝酸银六甲基四胺马休黄染色改良法

Modified periodic acid silver nitrate methenamine-martius yellow staining

陶彩云 （三峡大学医学院病理解剖学教研室，宜昌 443003）

在病理检验技术中，显示尿酸盐的染色方法不多，有 Oestricher 苏木精法、Mallory 法、Cromori-Burtner 六胺银法及 Sohultze-Schmidt 甲烯蓝法。这些技术方法显示尿酸盐结晶沉积在结缔组织中效果较好，但显示肾脏组织中尿酸盐的沉积有如下缺点：显微镜下不能清晰地观察尿酸盐结晶沉积在肾脏组织中刺激肾基膜增厚等现象；不能清晰地观察尿酸盐沉积在肾小管上皮细胞的现象。为此，作者做了一些有关更好地显示尿酸盐和肾小球基底膜及肾小管基膜三者之间的染色工作，肾脏组织中尿酸盐沉积部位与组织关系显示的非常清晰，使得该法优于上述染色法。经多次实验获得满意结果。此法操作简单、结果稳定、易于掌握。

1 材料与方法

1.1 材料

成年健康 Wistar 大鼠 20 只（华中科技大学同济医学院实验动物中心提供），体质量 160～200 g，用含有黄嘌呤的饲料喂养，每日 4 g/kg，1 周后血尿酸升高，第 10 天出现肾功能衰竭。将模型鼠肾沿肾门剖开，不水洗，直接投入 95% 乙醇中固定。

1.2 方法

用 95% 乙醇固定肾组织 72 h（更换 2～3 次固定液），无水乙醇强化脱水 20 min；正丁醇（Ⅰ）2 h；正丁醇（Ⅱ）4 h；置 60 ℃ 温箱浸蜡 4 h 左右，包埋。切片 4 μm，常规脱蜡水洗。1% 高碘

（下转 233 页）

作者简介：陶彩云（1962－），女，安徽省当涂县人，实验师，主要从事病理技术方面的研究。电话：(0717)6397198

收稿日期：2004-08-30；修回日期：2004-12-05

响机制仍不是十分清楚，有待进一步的研究。

参考文献：

[1] 汪洋厚，崔志刚，朱锡华，等. 合成组织相容性抗原肽生肽延长小鼠移植心肌存活时间的实验研究[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，2002，11(4)：333－336.

[2] Nisco S, Vriens P, Hoyt G, *et al*. Induction of allograft tolerance in rats by an HLA class-I-derived peptide and cyclosporine A[J]. J Immunol, 1994, 152(8): 3786－3792.

[3] Hanaway M J, Geissler E K, Wang J, *et al*. Immunosuppressive effects of an HLA class I-derived peptide in a rat cardiac allograft model[J]. Transplantation, 1996, 61(8): 1222－1228.

[4] Cituni M C, Christoph F, Woo J, *et al*. RDP1258: a new rationally designed immunosuppressive peptide, prolongs allograft survival in rats analysis of its mechanism of action[J]. Mol Med, 1999, 5(12): 820－832.

[5] Parham P, Clayberger C, Zum S L, *et al*. Inhibition of alloreactive cytotoxic T lymphocytes by peptides from the α2 domain of HLA-A2[J]. Nature, 1987, 325(6105): 625－628.

[6] Giral M, Cituni M C, Nguyen J M, *et al*. Decreased cytotoxic activity of natural killer cells in kidney allograft recipients treated with human HLA-derived peptide[J]. Transplantation, 1997, 63(7): 1004－1011.

[7] Grassy G, Calas B, Yasri A, *et al*. Computer-assisted rational design of immunosuppressive compounds[J]. Nat Biotechnol, 1998, 16(8): 748－752.

[8] 易善红，宋　波，汪洋厚，等. HLA 肽生肽对大鼠脾细胞增殖功能及 HO-1 活性的影响[J]. 第三军医大学学报，2004，26(4)：314－316.

[9] Iyer S, Woo J, Cornejo M C, *et al*. Characterization and biological significance of immunosuppressive peptide ID2702.75-84(E→V) binding protein: Isolation of heme oxygenase-1[J]. J Biol Chem, 1998, 273(5): 2692－2697.

[10] Goto A, Shaw G, Li J, *et al*. Selectin-mediated interactions regulate cytokine networks and macrophage heme oxygenase-1 induction in cardiac allograft recipients[J]. Lab Invest, 2002, 82(1): 61－70.

[11] Katori M, Busuttil R W, Kupiec-Weglinski J W. Heme oxygenase-1 system in organ transplantation[J]. Transplantation, 2002, 74(7): 905－912.

[12] Haga Y, Temprero M A, Zetterman R K. Unconjugated bilirubin inhibits *in vitro* major histocompatibility complex-unrestricted cytotoxicity of human lymphocytes[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1316(1): 29－34.

[13] Woo J, Iyer S, Cornejo M C, *et al*. Stress protein-induced immunosuppression: inhibition of cellular immune effector functions following overexpression of haem oxygenase (HSP 32)[J]. Transpl Immunol, 1998, 6(2): 84－93.

[14] Ke B, Buelow R, Shen X D, *et al*. Heme oxygenase-1 gene transfer prevents CD95/Fas ligand-mediated apoptosis and improves liver allograft survival *via* carbon monoxide signaling pathway[J]. Hum Gene Ther, 2002, 13(4): 1189－1199.

（编辑　龙　亮）

（上接 226 页）

酸氧化 20 min。蒸馏水洗，浸入六胺银工作液 1.5 h 左右（恒温 62 ℃），显微镜下观察基底膜染成深棕色为止。迅速入蒸馏水洗 3 次，0.2% 氯化金调色 2 min。蒸馏水洗，核固红染色 15 min。1% 磷钨酸分色 2 min。无水乙醇快速脱水、透明、封片。

1.3　试剂配制

1.3.1　六胺银工作液　　3% 六次甲基四胺水溶液 20 ml，3% 硼砂（四硼酸钠）4 ml，将两液混合后依次加入 5% 硝酸银 10 ml，重蒸馏水 16 ml（用前配制，不重复使用）。

1.3.2　核固红溶液　　核固红 0.2 g，硫酸铝 5 g，蒸馏水 100 ml，将硫酸铝溶于蒸馏水加入核固红染料煮沸，冷却后，用前过滤。

1.3.3　磷钨酸试剂　　磷钨酸 1 g，溶于 95% 乙醇 100 ml。

2　结果

显微镜下可见肾小球和肾小管的基底膜呈清晰的黑色，胞核着红色，尿酸盐沉积于肾间质和肾小管内为团块或者放射状堆积呈黑色。可见肾小管上皮细胞有尿酸盐的沉积现象，表现为肾小管上皮细胞管腔面呈黑色，肾间质部分区域有嗜银纤维出现。

3　讨论

传统的尿酸盐显示法不能清晰地观察肾组织病变的细微变化，本法在显示尿酸盐沉积肾组织中的部位能够准确定位和定量比上述几种方法有优越性，显微镜下尿酸盐沉积在肾小管或肾间质中，一目了然。这是上述几种尿酸盐显示方法所不能达到的效果。

六胺银染色尿酸盐的作用机制：六胺银染色液化学性质比较稳定，硝酸银和硼酸盐都具有不被氧化亦不受还原的化学性质[1]，六次甲基四胺与硝酸银作用生成胺银络离子，加入硼酸盐后 H^+ 增加，胺银络离子被破坏使银离子又回到溶液中。肾组织经高碘酸氧化后暴露出肾基膜上的醛基吸附银沉淀使肾基膜呈黑色，肾组织中的尿酸钠盐的钠离子被六胺银溶液中的银离子所置换为金属银而呈黑色。尿酸盐为针或团块状易与肾组织其它成份区别。也可根据尿酸盐的特性判断，尿酸盐具有在强日光下还原硝酸银的能力（呈玫瑰红色）[2]。在六胺银溶液的配制中硼酸盐的浓度要适当，硝酸银与硼酸盐的稀溶液生成棕色氧化银沉淀[1]。染液中硼酸盐的浓度较低时形成的银沉淀少着色较慢，颜色较均匀。硼酸盐的浓度较高则形成的银沉淀较多着色较快，且不均匀。六胺银染色试剂中六次甲基四胺、四硼酸钠、硝酸银的比例要适当，否则产生过量的胺银颗粒在组织浸染中形成黑色颗粒，严重影响组织病变的观察。其次在配制试剂和染色过程中避免与金属物质接触，一般在染色缸外观察切片染成深棕色时，取出蒸馏水洗后显微镜下观察，不需更换新染色液。

关键词：肾脏；六胺银；尿酸盐

中图法分类号：R446　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] 陈寿椿，唐春元，于肇德. 重要无机化学反应[M]. 第 3 版. 上海：上海科学技术出版社，1994. 1455.

[2] 刘介眉，严庆汉，路英杰. 病理组织染色的理论方法和应用[M]. 北京：人民卫生出版社，1983. 125－126.

（编辑　薛国文）