DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.12.038
第22卷第12期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 12
1210 2000年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2000

技术方法

文章编号:1000-5404(2000)12-1210-02

肾基底膜六胺银染色方法的改进

Improvement of argentum hexamethy lenamine staining method for renal basement membrane

辛 榕,卞修武,张树辉 (第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 改进基底膜染色效果,提高肾小球疾病的正确诊断水平。方法 运用改良六胺银染色方法。结果 以高温低浓度下之切片,肾基底膜结构层次清晰,染色效果最好。结论 本方法染色效果优于传统的六胺银染色法,改进了基底膜染色效果,值得推广应用。

本实验对传统六胺银染色条件进行了摸索,旨在改进基底膜染色效果。现报告如下。

1 材料与方法

组织来源于临床送检的肾穿刺组织,免疫组化冰冻切片后,进行特染的组织均经10%甲醛固定,常规脱水包埋,石蜡切片厚4μm。

试剂配制:将5 ml 5% $AgNO_3$ 加入到3%六亚甲基四胺(又称乌洛托品)100 ml中制成Gomori六亚甲基四胺银原液。染液分为传统组和稀释组两组。传统组以3 ml的5%硼砂液加入到25 ml的胺银原液和25 ml蒸馏水内配制染液;稀释组以3 ml的5%硼砂液加入到15 ml胺银原液和35 ml蒸馏水内配制染液。

染色方法:①切片脱蜡至水;②蒸馏水洗后入1%过碘酸15 min;③蒸馏水洗3 min×3;④分别放入两组染液中,不同温度(37℃、50℃和60℃)和时间(0.5、1、1.5和2~3 h)取出(每种染色条件染色3张切片);⑤蒸馏水洗3 min×3;⑥0.2%氯化金调色;⑦蒸馏水洗3 min×3;⑧2%硫代硫酸钠固定3 min;⑨水洗行浅HE复染;⑩脱水、透明和封固。

2 结果

以稀释组中60℃烤箱染1.5 h和50℃中染3 h之切片中肾小球、肾小管基底膜结构层次清晰,着色均匀,无深浅不一现象,染色效果最好,见图1。其它各组染色结果见表1。

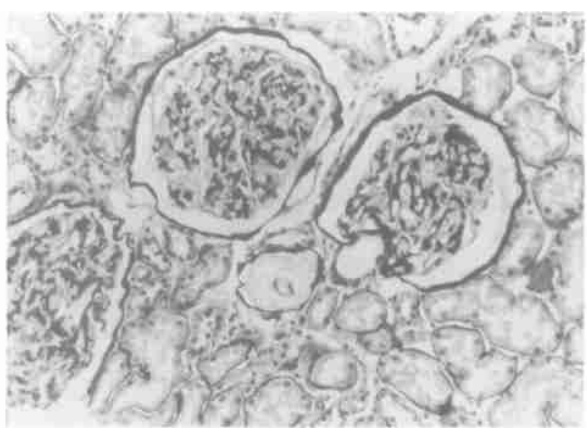


图1 稀释组肾血管球、小管和球囊壁层基底膜染色呈黑色,着色清晰 (六胺银染色 60℃ 1.5 h,×200)

表1 传统组和稀释组的染色结果

时间	传统组			稀释组		
	37℃	50℃	60℃	37℃	50℃	60℃
0.5 h	不着色	不着色	色浅	不着色	不着色	不着色
1 h	不着色	色浅	色稍深	不着色	色浅	色稍深
1.5 h	色浅	色稍深	过染	不着色	色稍深	色好
2~3 h	色稍深	稍过染	严重过染	色浅	色好	过染

3 讨论

构成肾小球毛细血管、球囊壁以及肾小管的基底膜是一层高度含水性凝胶体的衬膜,具有通透性,常与纤细的结缔组织纤维密切结合。在肾小球疾病中,常出现肾小球基底膜的改变,这对病理诊断具有一定的

作者简介:辛 榕(1966—),女,重庆市人,实验师,主要从事病理技术方面的研究。电话:(023)68752246

收稿日期:2000-04-02;修回日期:2000-10-30

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

意义。为了达到诊断上的准确性，常需用特殊染色方法把基底膜清楚地显示出来。六胺银染色依靠 1∶2 乙醇基团氧化，产生游离醛这一化学反应，进而醛再还原银溶液，在肾小球毛细血管和肾小管的基底膜上产生银沉淀物。我们用六胺银染色时，常遇到染色时间、染色温度、染液浓度等不好掌握，染出来的切片常有染色浅淡或过染，更因为肾小管基底膜着色比肾小球毛细血管丛基底膜着色要早，出现小球内基底膜着色浅或不着色，而肾小管和球囊壁的基底膜色深或过染等现象。本实验通过对六胺银显示肾组织基底膜病理改变方法的研究发现，将胺银原液稀释后，在 60 ℃烤箱中染 1.5 h 和 50 ℃中染 2～3 h 之切片，肾小球毛细血管丛和肾小管基底膜结构层次清晰，染色均匀无深浅不一现象，染色效果好。胺银原液稀释后使用，更利于镜下控制，即使染色时间稍长也不会出现过染现象。这说明只要染液浓度、染色温度和时间掌握得当，能很好地显示肾基底膜病理改变。本方法克服了传统方法中因胺银原液浓度高造成的必须镜下控制染色，且稍不注意就会出现过染以及肾小球毛细血管丛基底膜不易着色的缺点[1,2]。我们虽降低了胺银原液在染液中的浓度，但并不影响基底膜的着色，且不需镜下控制染色即可使肾小球毛细血管丛基底膜着色更清晰，同时也能免除一旦过染又需重染的麻烦。在实际工作中可根据自己的工作日程从时间和温度上灵活选择，既可选择 60 ℃烤箱中染 1.5 h，也可选择 50 ℃温箱中染 2～3 h。本法简便易行，染色效果佳，值得推广应用。

关键词：肾；基底膜；银染
中图法分类号：R446 文献标识码：B

参考文献：

[1] 龚志锦，詹熔洲. 病理组织制片和染色技术[M]. 上海：上海科学技术出版社，1994. 360－361.
[2] 张 哲，陈 辉. 实用病理组织染色技术[M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1988. 183.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2000)12-1211-02

技术方法

一种适用于流式细胞术的简便红细胞裂解法

A simple method of erythrocyte fragmentation for flow cytometer examination

汪志文，王 华，周学武 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心，重庆 400042）

提 要：目的 探讨一种简便、快捷的红细胞列解法，以适宜应用流式细胞仪对白细胞亚群进行检测和分选。方法 采用常规试剂配置不同浓度应用液，按步骤完成红细胞裂解过程，上机检测。同时采用密度梯度离心法提取单核细胞和粒细胞，比较两者上机检测的结果。结果 在流式细胞仪检测的细胞点图上，可见采用红细胞裂解法处理的标本白细胞成簇分布，淋巴细胞、单核细胞、粒细胞群清晰可辨，通过测定各群细胞上标记的特异性荧光，可进一步分离出淋巴、单核和粒细胞的亚群，细胞纯化程度高。采用密度梯度离心法纯化的粒细胞或单核细胞，在细胞点图上可见细胞散在分布，不成群，纯化程度低。其原因可能是该方法中长时间离心、改变血液渗透压、反复离心洗涤等步骤影响了白细胞的形态结构有关。结论 本实验介绍的红细胞裂解法满足了白细胞流式细胞仪检测分选要求，价格低廉，是一种简便快捷、经济实用的白细胞纯化分选方法。

作者简介：汪志文(1963－)，女，贵州省贵阳市人，实验师，主要从事生化实验方面的研究，发表论文 6 篇。电话：(023)68757465

收稿日期：2000-05-15；修回日期：2000-10-10

用流式细胞技术检测白细胞亚群中某一特定抗原的方法，已越来越多地被科研工作者采用。目前大多数科研人员均采用梯度离心法，纯化某一亚群白细胞，

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