

神经细胞尼氏体和神经髓鞘的 双重组合染色法与应用

龚志锦 朱明华 郑建明 王建军 陶文照

(第二军医大学附属长海医院病理科 上海 200433)

摘要: 探讨了显示实验动物脊髓组织中的神经尼氏体和神经髓鞘等组织成分的双重组合染色法,通过分别选用孔雀石绿(Malachite green)和橙黄 G、磷钨酸(Orange G, Phosphotungstic acid)组合染色(简称 MG-OP 法)。已能够显示狗脊髓神经尼氏体呈绿色,细胞核呈黄色。神经纤维髓鞘轴突呈黄色,神经膜和结缔组织纤维呈绿色,背景呈淡黄色。MG-OP 法克服了原法成分单一,色彩效果差,所建立的双重组合染色法,对比清晰,色彩鲜艳,方法简便的较好染色方法。

关键词: 双重组合染色法;神经细胞尼氏体;神经纤维髓鞘

中图分类号: Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)04-53-02

Application for a Double-compound Staining Method Showing Nissl Bodies and Medullary Sheath

GONG Zhi-Jin ZHU Ming-Hua ZHENG Jian-Ming WANG Jian-Jun TAO Wen-Zhao

(Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: To develop a method for staining Nissl bodies and medullary sheath in dog spinal cord tissues, the double-compound staining dyes composed of Malachite green, Orange G and Phosphotungstic acid (MG-OP) were used. The Nissl bodies, nerve membrane and connective tissue were stained green, the medullary sheath and cell nuclei were stained yellow, and the background showed light yellow. MG-OP double-compound staining method possess more vivid color and more striking contrast than the original method, so it is an ideal compound staining method for morphological study.

Key words: Double-compound staining method (MG-OP staining method); Nissl bodies; Medullary sheath

在人体和实验动物神经组织的染色中,为了同时显示神经细胞的尼氏体和神经髓鞘的组织成分,进行了反复实验,结果证明所选用的孔雀石绿(Malachite green)和橙黄 G、磷钨酸(Orange G, Phosphotungstic acid)染色剂组合后,能够较好地分别显示神经细胞尼氏体呈绿色,细胞核呈黄色;神经纤维髓鞘轴突呈黄色,神经膜和结缔组织纤维呈绿色。对比清晰、色彩鲜艳的组合染色法,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 实验动物狗脊髓神经组织,经中性甲醛磷酸缓冲液混合固定液^[1]进行及时固定,得到较好的效果。

常规组织乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸透和组织包埋与切片。

1.2 试剂配制

1.2.1 孔雀石绿染色液 孔雀石绿(Malachite green, 由上海标本模型厂生产)0.5 g,蒸馏水 100 ml。

1.2.2 橙黄 G 磷钨酸染色液 橙黄 G(Orange G, 由上海试剂三厂生产)1 g,蒸馏水 100 ml,磷钨酸(Phosphotungstic acid, 由上海试剂三厂生产)3 g,先将橙黄 G 溶

第一作者介绍 龚志锦,男,55岁,高级实验师;研究方向:人体和实验动物的特殊染色和组织与细胞化学。

收稿日期:2003-11-20,修回日期:2004-03-06

解于蒸馏水中后,再加入磷酸反复摇动多次,使之沉淀后使用,宜在室温下保存,使用时吸取饱和清液。

1.2.3 冰醋酸分化液 冰醋酸 0.5 ml,蒸馏水 100 ml。

1.3 染色方法

(1)石蜡组织连续切片 5 μm ,用涂白胶的载玻片贴片,常规脱蜡至水。

(2)蒸馏水洗 2 次,孔雀石绿染色液 5 min,自来水浸洗 1 min。

(3)冰醋酸分化液 30 s,自来水浸洗 1 min。

(4)蒸馏水洗 2 次,滴染橙黄 G 磷钨酸染色液 1 min 左右。

(5)蒸馏水浸洗 2 次,无水乙醇快速脱水,过滤纸吸干。

(6)二甲苯透明和中性树脂胶封固。

2 结果

通过实验动物狗脊髓神经组织实验,进行连续组织切片,选用双重复合染色法,能够显示脊髓灰质中神经元细胞体的细胞核呈黄色,核周围的细胞质含有密集小块及点状尼氏体物质呈绿色,胞体外一端或另一端有明显较长的突起呈淡绿色(图版 I:1,2,见图版页)。在脊髓白质中神经纤维束的有髓神经纤维,由于神经生长特点和组织切片角度关系,而形状不一样,横段面的每条神经纤维轴突位于中间的圆形状呈黄色,轴突周围的管状髓鞘呈网状结构,髓鞘外周的神经结缔组织纤维呈绿色,血管中的红细胞呈淡黄色(图版 I:3,4)。脊髓纵段面的神经纤维波弯形排列整齐,神经纤维轴突呈黄色,连结髓鞘呈竹节状结构,鞘外膜及其之间有伴随的结缔组织纤维呈绿色(图版 I:5,6)。

3 讨论

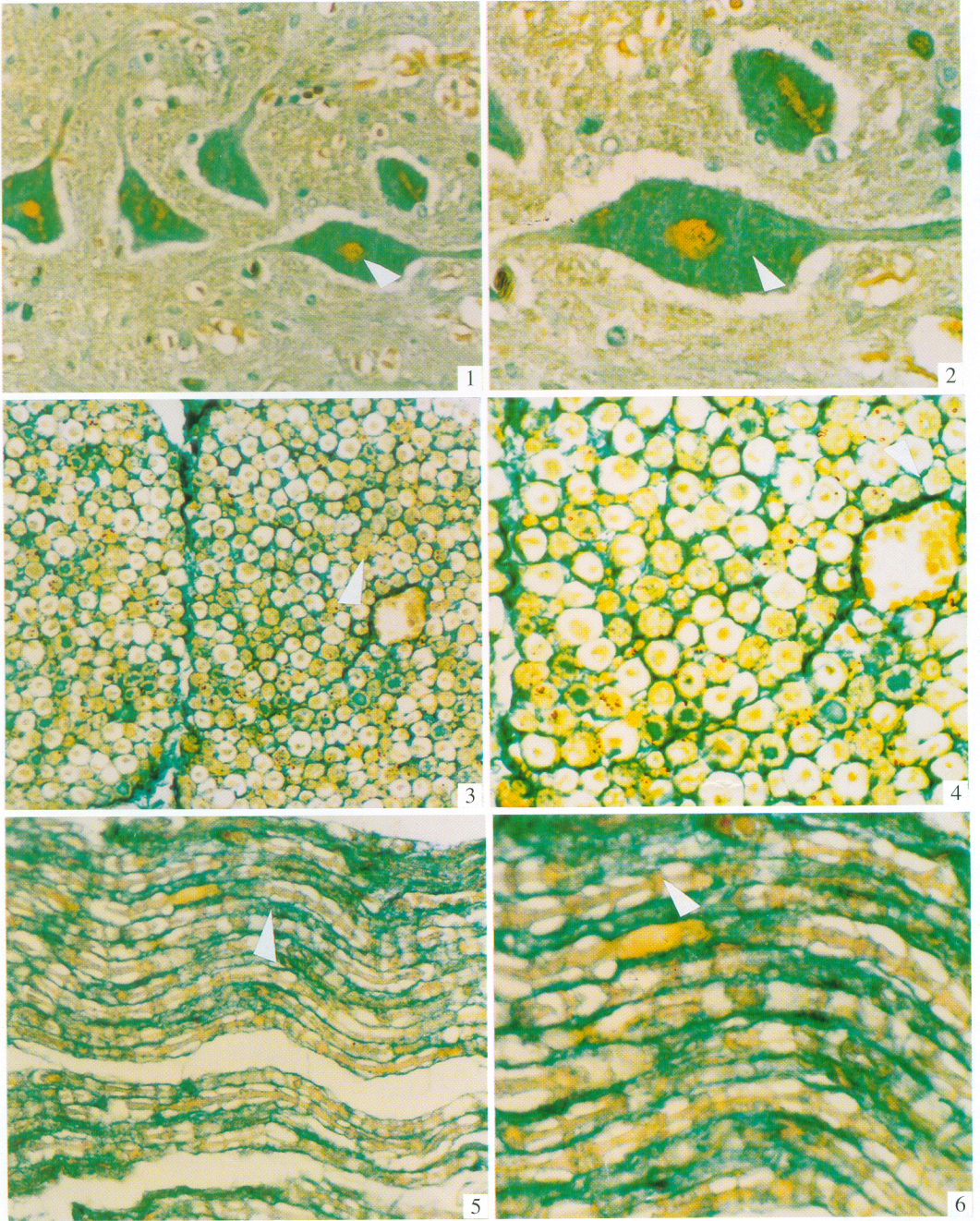
在人体和实验动物神经组织细胞核周围中,含有颗粒状嗜碱性物质,通常被称为尼氏体(Nissl body),为了能够更清楚的显示这种成分,通过反复实验,所选用的孔雀石绿(Malachite green)属于苯甲烷类染料,极易溶于水呈蓝绿色^[2],能够与神经细胞浆中的蛋白质、各种盐类和糖物质进行结合,但着色较深,并不能区分尼

氏体,只有经过酸的分色和酸性染料的增色作用后,才能清晰地观察到神经细胞尼氏体成分,在染色中,还应掌握冰醋酸分化剂时间,必要时经水洗后的切片,可在镜下观察尼氏体着色深浅情况,这种单纯性染色效果并不理想,还需寻找一种特异性较好的对比染色剂,经过多种染料的对比实验,结果证明橙黄 G 磷钨酸(Orange G, Phosphotungstic acid)混合液染色剂,能够较好的显示神经元细胞核和其它组织成分,同时也提高了神经细胞质中的尼氏体色彩效果,增强了背景对比清晰度,MG-OP 可作为神经细胞尼氏体的组合染色方法。

神经纤维(Nerve fiber)可分为有髓和无髓神经纤维,而有髓神经纤维的轴突、髓鞘和神经膜组织,在常规的 H.E 染色中不能清楚显示这些成分,经过多种试剂的作用后,而选用的上述孔雀石绿和橙黄 G 磷钨酸对神经纤维髓鞘等成分也有较好的着色效果。但镜下所见组织中含有较多空隙,是因为神经髓鞘中含有类脂和蛋白质成分,其类脂含量最高,约占 80% 左右,通过石蜡制片过程,由于乙醇和二甲苯有机溶剂将类脂溶解,而仅有残留的网状蛋白质^[3],这种神经纤维轴突与髓鞘分别能够与橙黄 G 磷钨酸染色剂进行结合呈黄色,而神经纤维的神经膜与髓鞘相间隔的郎氏结(node of Ranvier)及神经周围的结缔组织对孔雀石绿水溶液也具有一定的亲合力,经过醋酸分色和橙黄 G 磷钨酸染色液的增色作用,而得到较好的效果。实验结果证明,为更好地同时观察神经组织细胞的尼氏体和神经纤维髓鞘等物质成分,而提供了双重组合染色方法。

参 考 文 献

- [1] 龚志锦,詹谔洲编著.病理组织制片和染色技术.上海:上海科学技术出版社,1994,10.
- [2] 北京化学试剂公司编.化学试剂目录手册.北京:北京工业大学出版社,1993,428.
- [3] 王伯运,李玉松,黄高昇等.病理学技术.北京:人民卫生出版社,2000,59~60.



1. 脊髓组织的神经尼氏体呈绿色,细胞核呈黄色(箭头) $\times 230$; 2. 脊髓组织的神经尼氏体呈绿色(箭头),细胞核呈黄色 $\times 460$; 3. 脊髓组织横切面的神经纤维轴突和髓鞘呈黄色(箭头),神经膜与结缔组织纤维呈绿色 $\times 230$; 4. 脊髓组织横切面的神经纤维轴突和髓鞘呈黄色,神经膜与结缔组织纤维呈绿色(箭头) $\times 460$; 5. 脊髓组织纵切面的神经纤维轴突和髓鞘呈黄色,神经膜与结缔组织纤维呈绿色(箭头) $\times 230$; 6. 脊髓组织纵切面的神经纤维轴突和髓鞘呈黄色(箭头),神经膜与结缔组织纤维呈绿色 $\times 460$