

## 三种固定剂制作小肠潘氏细胞切片效果比较<sup>\*</sup>

臧贵勇<sup>1\*</sup>, 陈腾祥<sup>2</sup>, 张祥令<sup>3</sup>, 杨燕萍<sup>3</sup>

(1. 贵州省黔南民族医学高等专科学校 解剖学教研室, 贵州 都匀 558000; 2. 贵阳医学院 生理学教研室, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵阳医学院 组织与胚胎学教研室, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 观察改良 Helly 氏固定液、Bouin 液和 Carnoy 液制作小鼠空肠切片对潘氏细胞的显示效果。

方法: 取小鼠空肠, 采用改良 Helly 氏固定液、Bouin 液和 Carnoy 液固定, 对小肠组织 HE 染色, 光学显微镜下观察染色效果。结果: 改良 Helly 氏固定液能清晰显示小肠的潘氏细胞及细胞核轮廓, 染色简单, 而 Bouin 液和 Carnoy 液制片未见潘氏细胞。结论: 改良 Helly 氏固定液制作切片能更清楚显示潘氏细胞及细胞核轮廓。

**[关键词]** 小肠; 潘氏细胞; 固定剂; HE 染色

**[中图分类号]** R329-33; R329.24 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2015)05-0542-02

潘氏细胞(Paneth cell)位于小肠腺基底部, 三五成群, 细胞呈锥体形, 顶部胞质充满粗大嗜酸性分泌颗粒, 染成红色<sup>[1]</sup>。经电镜观察, 细胞有细胞膜, 胞质内含有大量粗面内质网, 高尔基复合体较大, 分泌颗粒内含有糖蛋白<sup>[2]</sup>。潘氏细胞是构成肠黏膜屏障的重要细胞成分, 能促进食物消化, 调控肠道菌群聚集及释放无机盐<sup>[3-4]</sup>。本实验观察改良 Helly 氏固定液、Bouin 液和 Carnoy 液制作小鼠空肠切片对潘氏细胞的显示效果, 报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

健康小鼠由贵阳医学院实验动物中心提供, 30~40 g, 雌雄兼用。切片机、贴片机和显微镜均为 Leica 公司产品, 苏木素、伊红、重铬酸钾、升汞、甲醛水溶液(40%)、铬酸等试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 取材固定** 小鼠饥饿 24 h 后拉断脊柱法处死取空肠, 分别采用改良 Helly 液(2.5 g 重铬酸钾 + 5 g 升汞 + 5 mL 40% 甲醛水溶液 + 1% 铬酸 + 1 g 硫酸钠 + 1 000 mL 蒸馏水), Bouin 液和 Carnoy 液固定 18 h。

**1.2.2 脱水透明** 乙醇梯度脱水: 70% 乙醇和

80% 乙醇各 2 h, 90% 乙醇和 95% 乙醇各 1 h, 100% 乙醇液体和半乙醇半氯仿中各 1 h, 在透明剂氯仿中过夜直至包埋; 脱水时, 严格控制不同梯度乙醇的浓度, 进入下一步时用滤纸吸干, 使组织脱水更彻底。

**1.2.3 浸蜡包埋** 石蜡和氯仿按 1:1 比例混合浸蜡 40 min, 纯蜡(1)20 min, 纯蜡(2)20 min, 包埋成蜡块, 室温冷却待切。包埋时, 石蜡要处于半溶状态, 严格控制包埋机温度 56~60 ℃, 有利于标本浸蜡。

**1.2.4 切片及染色** 用徕卡轮转式切片机切片 6 μm, 用徕卡贴片机 40 ℃ 展片, 40 ℃ 温箱烤片 4 d。小肠组织 HE 染色: 石蜡切片常规化蜡, 下行, 苏木精染色, 分色, 兰化, 伊红上色, 显微镜下镜检, 染色明显, 95% 乙醇分色, 上行, 冬青油和二甲苯透明, 中性树胶封片<sup>[5]</sup>。

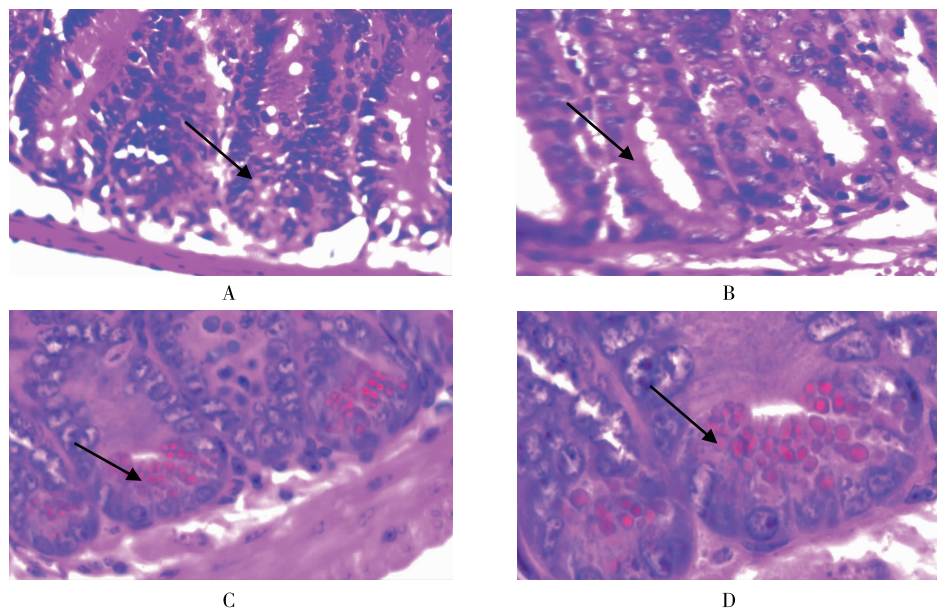
## 2 结果

镜下观察, 采用 Bouin 液和 Carnoy 液固定未见潘氏细胞, 而改良的 Helly 液, 潘氏细胞又鲜又艳, 形态结构清晰, 胞质内充满粗大嗜酸性分泌颗粒, 染成红色。见图 1。

\*[基金项目] 贵州省科技厅联合基金项目(M2011-28)

\*通信作者 E-mail: gzctxin@qq.com

网络出版时间: 2015-05-21 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150521.1244.014.html>



A、B 分别采用 Bouin 液和 Carnoy 液固定(×400),C、D 采用改良 Helly 氏液固定(C×400,D×1 000)

图 1 小鼠空肠潘氏细胞(HE 染色)

Fig. 1 Staining of Paneth cells of rat jejunum

### 3 讨论

潘氏细胞制作是在动物饥饿时取材,这样肠腔干净,利于取材,肠腔不受损,能使潘氏颗粒集聚。组织切片制作时,固定剂是关键,Helly 液固定剂对细胞固定较好,特别适用于细胞特殊颗粒固定<sup>[6]</sup>。本技术对 Helly 液进行改良,加入 1% 的铬酸,铬酸穿透力较慢,不会使组织收缩。Bouin 氏固定液、冰醋酸-福尔马林-酒精液(AFA)液、Carnoy 液等固定液易破坏细胞,使细胞不易显示。组织脱水和包埋时,严格控制好时间,时间过短或过长,都不利于切片的制作;染色时,分色时间是关键<sup>[7]</sup>;透明时,最好放入冬青油至切片透明,冬青油浸入速度较慢,可浸数小时,临时镜检也不易干。此法可制作大量的、细胞典型的潘氏细胞,供医学生使用。

### 4 参考文献

- [1] 邹仲之,李继承. 组织学与胚胎学[M]. 人民卫生出版社, 2013: 149.
- [2] 闫爱华,任知春,任秀花. 潘氏细胞固定和染色探讨[J]. 四川解剖学报, 2001(2):90.
- [3] 陶凯忠,唐庆娟,郑萍. 潘氏细胞研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009(4):794-799.
- [4] 杨玉荣,焦喜兰,梁宏德. 潘氏细胞及防御素的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2010(6):971-975.
- [5] 郑燕璇,王晓鸿,苟新敏. 石蜡切片脱蜡方式比较[J]. 中国实用医学, 2009(2):211.
- [6] 杜卓民. 实用组织学技术[M]. 人民卫生出版社, 1998:30.
- [7] 梁燕清. 常规 HE 染色过程中分色方法的比较[J]. 解剖学研究, 2010(5):封三.

(2015-02-28 收稿,2015-04-03 修回)

中文编辑:周 凌