

徐 晟,贾胜军,熊喜龙. 不同甲苯胺蓝染液对显示鸡肠管肥大细胞的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):225-226.

# 不同甲苯胺蓝染液对显示鸡肠管肥大细胞的影响

徐 晟,贾胜军,熊喜龙

(扬州大学兽医学院,江苏扬州 225009)

**摘要:**采用 4% 多聚甲醛固定鸡小肠组织,用 1% 甲苯胺蓝、0.5% 甲苯胺蓝-乙醇、甲苯胺蓝-高锰酸钾 3 种染液分别进行染色。结果表明,1% 甲苯胺蓝染色,肥大细胞为淡紫色,但染色淡易受周围结构干扰,不利肥大细胞观察;甲苯胺蓝-高锰酸钾染色,切片均呈深蓝色,不能区分出肥大细胞;用 0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染色,MC 呈蓝紫色,轮廓清晰,胞质深染、核淡染,可与周围结构明显区分。0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染液是显示鸡肠管肥大细胞的较好染液,能清楚显示肥大细胞。

**关键词:**鸡;甲苯胺蓝;肥大细胞

**中图分类号:** S831.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0225-02

肥大细胞(mast cell, MC)能分泌多种生物活性物质,在许多生理、病理过程中起重要作用。自人们首次在大鼠体内发现并命名肥大细胞以来,关于哺乳类及啮齿类动物肥大细胞的染色方法研究较多,证实了不同种属、同一种属的不同个体、同一个体的不同部位、甚至同一部位的不同肥大细胞在形态大小、化学组分、染色特性、超微结构、功能等方面存在差异<sup>[1-3]</sup>。张高英等认为,不同的固定液以及染色方法对显示肥大细胞影响较大<sup>[4]</sup>。可见肥大细胞的染色效果与动物种类、固定液以及染色方法等诸多因素有关。笔者就不同配方甲苯胺蓝染液对鸡小肠 MC 的染色效果进行了比较,寻找显示家禽肠管肥大细胞简便可行的染色方法,旨在为研究家禽肥大细胞提供参考。

## 1 材料与方法

健康蛋鸡 4 羽,颈动脉放血致死,立即取肠组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中 24 h。常规脱水、透明、浸蜡、包埋处理,

收稿日期:2013-05-16

基金项目:江苏省高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

作者简介:徐 晟(1992—),男,江苏宜兴人,从事组织学研究。

E-mail:18762329896@163.com。

通信作者:熊喜龙,硕士,副教授,从事神经解剖及组织学研究。

E-mail:xxl.321@163.com。

## 2.3 经济效益

从表 3 可见,由于蛋价和鸡体出栏体质量的差异,苏禽青壳蛋的鸡蛋收益、鸡体收益、总收益略高于盐城地方鸡和苏禽

**表 3 沿海林间生态养殖模式下养殖鸡的效益(1 个产蛋周期)**

| 品种     | 鸡蛋收益<br>(元) | 鸡体收益<br>(元) | 总收益<br>(元) | 纯收益<br>(元) |
|--------|-------------|-------------|------------|------------|
| 盐城地方鸡  | 956 350     | 301 864     | 1 258 214  | 305 393    |
| 苏禽黄羽鸡  | 934 823     | 309 075     | 1 243 898  | 274 902    |
| 苏禽青壳蛋鸡 | 959 160     | 314 058     | 1 273 218  | 276 669    |

注:红壳鸡蛋 0.5 元/枚,青壳鸡蛋 0.55 元/枚,破损鸡蛋 8 元/kg,出栏母鸡 26 元/kg。

5  $\mu\text{m}$  连续切片,取邻片分 3 组进行染色。第 1 组用 1% 甲苯胺蓝染色:称取 1 g 甲苯胺蓝溶于 100 mL 蒸馏水中,搅拌均匀后过滤。第 2 组用 0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染色:称取 0.5 g 甲苯胺蓝溶于 100 mL 50% 乙醇中,搅拌均匀,密封存放。第 3 组用甲苯胺蓝-高锰酸钾溶液染色:A 液:称取 0.8 g 甲苯胺蓝溶于 80 mL 蒸馏水中,搅拌均匀;B 液:称取 0.6 g 高锰酸钾溶于 20 mL 水中,搅拌均匀;将 A 液加热至沸腾后,边搅拌边逐滴加入 B 液,待 A、B 液完全混合后,静置冷却,定容至 100 mL 并过滤。3 组染色时间均为 1 min,第 1 组、第 3 组用 95% 乙醇分色(边分色边在显微镜下观察),二甲苯透明并封片。第 2 组染色后直接二甲苯透明并封片观察。

## 2 结果与分析

光镜下观察到鸡小肠黏膜层、黏膜下层、肌层以及浆膜下有数量不等的 MC,弥散或成团簇分布,胞质深染,核核淡染,偶见深染核仁,细胞呈现圆形、椭圆形、梭形或多边形,着色深浅不一。黏膜层中肠绒毛固有层微细血管周围以及肠腺间结缔组织中有大量 MC 弥散或成团簇分布;黏膜下层有较多 MC 围绕血管弥散分布;肌层间血管周围及浆膜下有少量 MC 单个或弥散分布。经 1% 甲苯胺蓝染色:MC 呈淡紫色,与周围结构对比度不明显(图 1);经甲苯胺蓝-高锰酸钾染色:肠组织及 MC 均被染成深蓝色,MC 难与周围结构区分,分色后也

黄羽鸡。但盐城地方鸡的纯收益明显高于苏禽黄羽鸡和苏禽青壳蛋鸡。

## 参考文献:

- [1] 秦俊法. 鸡蛋,胆固醇与动脉硬化[J]. 广东微量元素科学,2006,13(8):1-17.
- [2] 张春飞,何爱民,杨 宏. 蛋鸡“153”标准化养殖模式与开放式养殖模式效益对比分析[J]. 家禽生产,2010(9):27-28.
- [3] 彭文栋,张秀红,杨 刚. 6 个鸡品种引进及效益对比试验[J]. 现代农业科技,2008(10):145-146,150.
- [4] 顾永芬,陶宇航,吴启进. 林下种草放养鸡效果分析[J]. 中国草食动物,2004,24(2):20-21.

不易区别(图 3);经 0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染色:MC 呈蓝紫色,即使在不分色的情况下,也能较好显示 MC(图 2、图 4),且有沿血管分布趋势。

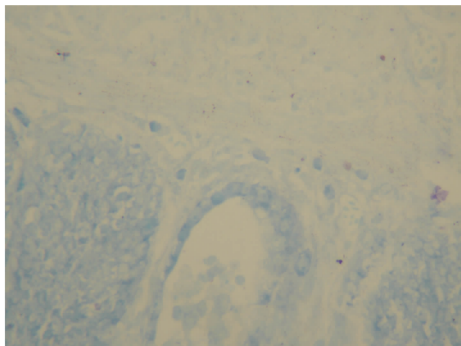


图1 1%甲苯胺蓝染色后的黏膜下层(400×)

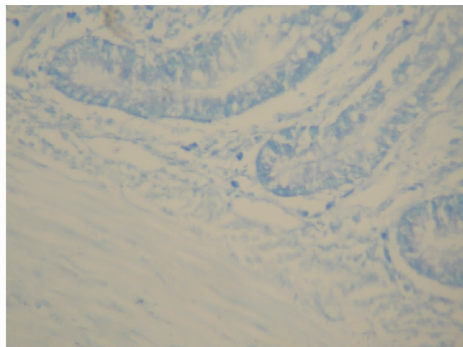


图2 0.5%甲苯胺蓝-乙醇染色后的黏膜下层(400×)

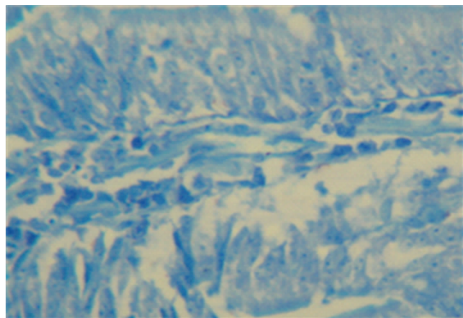


图3 甲苯胺蓝-高锰酸钾染色后的肠绒毛(400×)

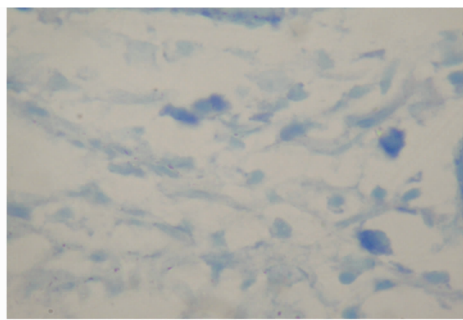


图4 0.5%甲苯胺蓝-乙醇染色后的黏膜下层(1 000×)

### 3 结论与讨论

显示肥大细胞的染色方法较多,李玉谷等在对鸡淋巴器官肥大细胞研究发现,经 4% 中性甲醛固定的组织,用常规甲苯胺蓝染液不能显示肥大细胞;用甲苯胺蓝长时间染液,染色时间长达 30 min 甚至 5 d 也只能显示少量 MC<sup>[5]</sup>。本试验用 4% 多聚甲醛固定,0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染液染色,能较好显示肥大细胞,与上述方法相比,具有染色时间短、不需要分色、操作简单等特点。可见经 4% 多聚甲醛固定的鸡小肠,用 0.5% 甲苯胺蓝-乙醇染液显示肥大细胞是一种行之有效的方法。

在哺乳动物的肥大细胞研究中,根据其胞浆中中性蛋白酶的成分不同,将其分为 T 肥大细胞、TC 肥大细胞以及 C 肥大细胞等<sup>[6]</sup>。Wang 对鸡胚消化道中肥大细胞的发生进行了研究,发现鸡胚 13 日龄时在食道、嗉囊、小肠可见肥大细胞,其胞浆颗粒的生化性质及超微结构随鸡胚发育呈现一定变化<sup>[7]</sup>。Ribatti 等对鸡胚胎肺中的肥大细胞进行了观察,发现孵化后 15 d 出现 MMC 类型肥大细胞(黏膜型肥大细胞),18 d 出现 CTMC 类型肥大细胞(结缔组织型肥大细胞)<sup>[8]</sup>。Ribatti 等的研究似乎进一步丰富了 Wang 的研究结果:胞浆颗粒的生化性质及超微结构随鸡胚发育而变化,因此将鸡 MC 分为 MMC、CTMC。本研究发现,同一张切片内不同的组织层次中 MC 染色深浅不一,在黏膜层、黏膜下层的 MC 着色较深,肌层、浆膜中的 MC 着色浅,这一结果是否与胞浆组分存在差异有关,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Xu L R, Carr M M, Bland A P, et al. Histochemistry and morphology of porcine mast cells[J]. The Histochemical Journal, 1993, 25 (7): 516 - 522.
- [2] 江 萍, 许乐仁. 绵羊肥大细胞中类胰蛋白酶的证实[J]. 解剖学报, 1996, 27(1): 92 - 95.
- [3] 高登慧, 许乐仁, 姚红艳. 山羊肥大细胞组织化学及形态学研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(1): 88 - 93.
- [4] 张高英, 杨 宇, 罗广生, 等. 不同固定液及染色方法对显示肥大细胞的影响[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(2): 199 - 202.
- [5] 李玉谷, 曾文宗. 鸡淋巴器官中肥大细胞异质性的研究[J]. 广西农业大学学报, 1997, 16(1): 27 - 32.
- [6] 呼格吉乐图, 苏布达, 王 志, 等. 肥大细胞的组织化学与超微结构异质性[J]. 细胞生物学杂志, 2007, 29(6): 840 - 844.
- [7] Wang T. Mast cells in the chick digestive tract. I. Development[J]. The Tokai Journal of Experimental and Clinical Medicine, 1991, 16(1): 21 - 26.
- [8] Ribatti D, Contino R, Quondamatteo F, et al. Mast cell populations in the chick embryo lung and their response to compound 48/80 and dexamethasone[J]. Anatomy and Embryology, 1992, 186 (3): 241 - 244.