弹力纤维维多利亚蓝染色法改良及应用

郑灿桦[1] 葛丰恺[1] 杨尚康[1] 吴日旭[1] 胡爱华[2*]

（1.海南医科大学儿科学院 571199；2*.海南医科大学基础医学与生命科学学院形态学实验室 571199）

【摘 要】目的 对弹力纤维维多利亚蓝染色方法进行改良。方法 采用改良弹力纤维维多利亚蓝染色法与传统试剂盒染色法和HE（苏木精-伊红）染色法进行染色对比。结果 改良弹力纤维维多利亚蓝染色法切片背景较为试剂盒方法好，弹性纤维染色清晰。结论 采用改良弹力纤维维多利亚蓝染色法效果，能更好的显示出组织中蓝绿色的弹力纤维成分。

【关键词】弹力纤维；维多利亚蓝；染色

Improvement and application of Victoria blue staining method for elastic fibers

Zheng Canhua[1] Ge Fengkai[1] Yang Shangkang[1] Wu Rixu[1] Hu Aihua[2*]

（1.School of Pediatrics，Hainan Medical University 571199；

2*. Morphology Laboratory，School of Basic Medicine and Life Sciences，Hainan Medical University 571199）

[Abstract] Objective To improve the elastic fiber Victoria blue staining method. Methods The modified elastic fiber Victoria blue staining method was compared with the traditional kit staining method and HE（hematoxylin-eosin）staining method. Results The modified elastic fiber Victoria blue staining section background is better kit method，the elastic fiber staining is clear. Conclusion The improved Victoria Blue staining method for elastic fibers is more effective in highlighting the blue-green elastic fiber components in tissues.

[Key words] elastic fibers；Victoria blue；staining

弹性在人体内分布很广，存在于皮肤、气管、肺、动静脉等组织中，属于结缔组织的一种纤维，弹性纤维较细，直径 0.2–1.0μm，表面光滑，末端经常会卷曲[1]。弹力纤维染色技术对于辅助诊断，特别是对肺癌临床分期具有重要意义，因此在日常病理诊断中，弹力纤维染色尤为重要[2]。在 HE 染色下弹性纤维不易于其他纤维区别，在特殊染色下可以清晰的把它显示出来。笔者对弹力纤维进行了三种不同的染色方法观察，根据染色过后的颜色进行对比，在三种染色方法中选出一种颜色区分明显，成本相对较低的染色方法。

1.材料与方法

1.1 材料

选取海南医科大学实验动物中心一只 2.1 公斤成年家兔，空气栓塞法处死兔子后取肺组织和主动脉进行石蜡切片。

1.2 方法

1.2.1 HE 染色法

所需试剂：二甲苯、不同浓度的乙醇溶液、苏木素、1%碳酸锂溶液、分化液、伊红染

染色：切片 4μm 脱蜡至水。①使用二甲苯脱去切片上的蜡，然后用乙醇（包括无水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇）逐级水化。②将去蜡的切片放入苏木素染液中染色，时间一般为 5 min。染色后，用蒸馏水冲洗以去除多余的染料。③将切片置于酸性酒精或酸性溶液中进行酸洗，以去除过多的苏木素染料。酸洗时间和酸洗的选择根据实验需要进行调整。④3%碳酸锂返蓝，流水冲洗。⑤将切片置于醇性伊红染料溶液中染色，时间通常为 2~5 秒。⑧酒精脱水⑨二甲苯透明封片；最后中性树胶封片。

1.2.2 试剂盒染色法

所需试剂：高锰酸钾溶液、1%草酸溶液、维多利亚蓝染液、VG 复染液

染色：切片 4μm，在 65℃烤箱 3h，或在 80℃烤箱 20min；

（以切片石蜡烤融为准）脱蜡至水，蒸馏水洗 3 遍进行染色：①高锰酸钾溶液氧化 5min，流水冲洗 30s，蒸馏水洗 3 遍；②草酸溶液漂白 2min，流水冲洗；③95%乙醇稍洗；④维多利蓝染液滴染后放入黑色湿盒加盖，染 16h；⑤95%乙醇快速分化，浸洗至无多余的染液脱下；⑥细流水冲洗 3–5 分钟；⑦VG 染液复染 1min，倾取染液；⑧95%乙醇快速分化速秒，无水乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.2.3 改良后维多利亚蓝染色法

所需试剂：酸化高锰酸钾溶液、1%草酸溶液、维多利亚蓝染液，三氯化铁，核固红染液。

试剂准备

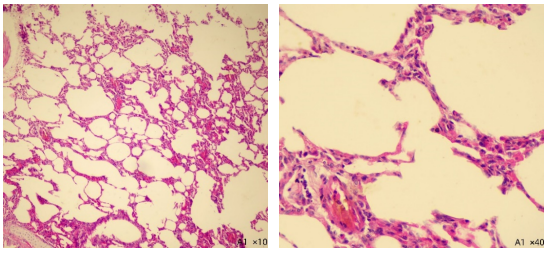
①酸化高锰酸钾：0.5%高锰酸钾水溶液 47.5ml，3%硫酸水溶液 2.5ml。

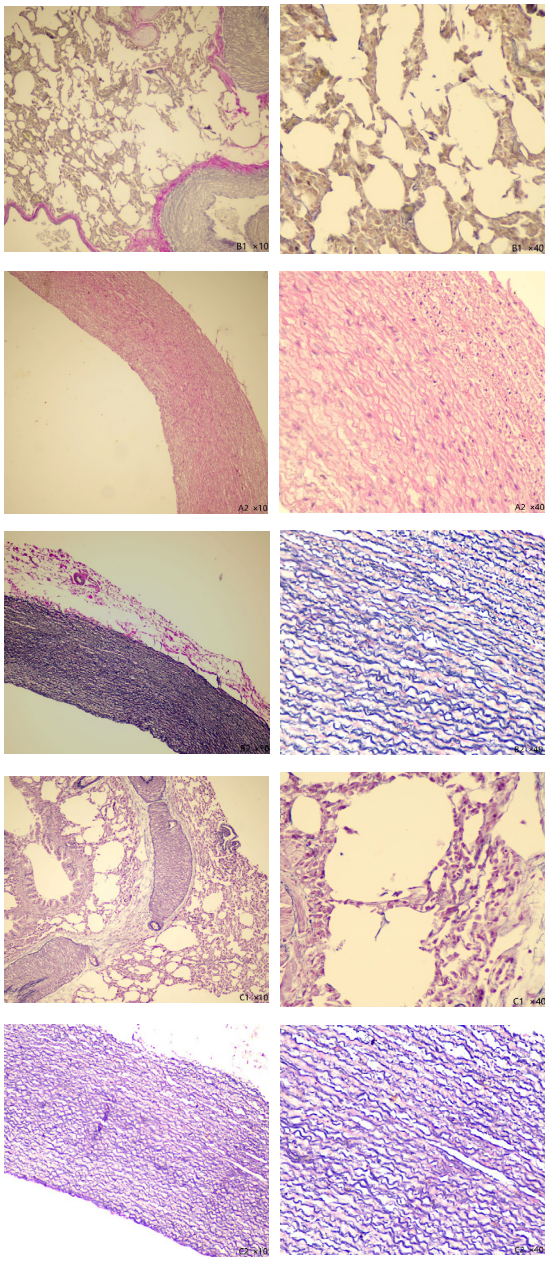
②30%三氯化铁溶液：3g 三氯化铁，7ml 蒸馏水。

③维多利亚蓝染液：维多利亚蓝 2g，糊精 0.5g，间苯二酚 4g，蒸馏水 200ml。将上述物质混合后一边加热煮沸一边搅拌，沸腾后调小火煮 5min；另一容器取 30%三氯化铁溶液 25ml，另行煮沸后缓慢倒入前液，继续小火煮沸 3min，不断搅拌至溶液呈胶体状。冷却至室温后过滤，将残渣和滤纸置入 60℃烤箱内过夜烤干，该沉渣应为蓝绿色。

④取另一容器将烤干后的所有沉渣溶于 200ml75%乙醇，完全溶解后，加入 4ml 盐酸，5g 间苯二酚。

染色：切片 4μm，免疫组化挂胶白片捞片，65℃烤箱 3h；（以切片石蜡烤融为准）蒸馏水洗 3 遍进行染色：①酸化的高锰酸钾滴染 5min，流水冲洗 30S，蒸馏水洗 3 遍；②95%乙醇 5min；③维多利蓝浸染 16h，常温黑色湿盒加盖；④流水冲洗 1min；⑤75%乙醇分化至弹力纤维清晰；⑥核固红 10min；⑦脱水透明封片。





注：A1：HE 染色肺组织 B1：试剂盒染色肺组织 C1：改良维多利亚蓝染色肺组织

A2：HE 染色主动脉 B2：试剂盒染色主动脉 C2：改良维多利亚蓝染色主动脉

2.结果

HE 染色结果：细胞核染成蓝色，细胞质和结缔组织呈不同程度的红色，但对弹力纤维无特殊着色，在该染色方法下难以区分弹力纤维。

在试剂盒染色方法中维多利亚蓝将弹力纤维染成蓝紫色，VG 复染液可以把胶原纤维染成红色可以区别弹力纤维和胶原纤维，但是红细胞和肌纤维会被染成黄色，对胶原纤维的判断有一定干扰（B2×40）。

改良后的维多利亚蓝染色利用核固红复染液将细胞核染成红色，弹力纤维染成蓝紫色，弹力纤维可以清楚辨认，同时对其他结构的辨认影响较小。

3.讨论

弹力纤维主要由弹力蛋白和微原纤维组成，在新鲜的标本呈黄色，是构成心脏和血管的主要成分之一，许多心脑血管方面疾病的发生，使弹力纤维起着明显的变化，根据弹力纤维着色的情况变化，临床上可以加以诊断或鉴别诊断[3]。

维多利亚蓝染色液保存或使用时间长等优点，可以保存 3–4 年，保存时要密封，是真正的长效染色液。在染色过程中，75%乙醇浸染时，时间一定要严格把握，同时需要随时在显微镜下观察控制染色的情况，随时终止乙醇浸染，防止切片被 75%乙醇分化过度或不足[4]。

目前 Wiegert 间苯二酚一碱性品红、Gomori 醛复红染色法、Verhoeff 铁苏木精弹力纤维染色法也是显示弹力纤维的常用方法[5]，Wiegert 间苯二酚一碱性品红会使胶原纤维着色，因此方法的特异性遭受一定质疑；Gomori 醛复红染色法对比稍差；Verhoeff 铁苏木精弹力纤维染色法操作简单，但灵敏度较低针对性差[6]。

相较而言，本研究工作中采用的维多利亚蓝染色法在显示组织内弹力纤维成分时表现优异，能够清晰呈现蓝绿色的弹力纤维。经实践检验，经笔者改良后的维多利亚蓝弹性纤维染色清晰度高，与背景形成鲜明对比，弹力纤维易判别，临床上可以作为肿瘤是否侵犯胸膜的辅助诊断，且染色液可长效保存特性显著。在此基础上，自行配制该染液的成本低于商业试剂盒采购成本，在保障染色效果的同时有效降低了经济成本，具有较高的科研与应用价值。

参考文献：

[1]李继承，曾园山.组织学与胚胎学[M].北京：人民卫生出版社，2018：25.

[2]王 敏，平国强，张炜明等. 弹力纤维及广谱型角蛋白双重染色与单纯弹力纤维染色在肺癌可疑胸膜侵犯病例中的比较[J].临床与实验病理学杂志，2018，34（6）：650–654.

[3]秦钢，邢杰，吴佳君，等. 弹力纤维染色在评估胸腺瘤对纵隔胸膜侵犯的应用[J]. 临床与实验病理学杂志，2020，36（1）：79—80.

[4]陈书媛，张彦宁. EVG 弹力纤维染色方法的改良和效果观察[J]. 临床与实验病理学杂志，2016，15（7）：716—718.

[5]施晓柯，何萍.顾霞，等 肺组织中弹力纤维染色方法的改良及比较[J].诊断病理学杂志，2024，31（7）：682–684.

[6]刘锦辉，孙璐，沈贵华. 弹力纤维染色方法优化后的比较与体会[J].诊断病理学杂志，2018，25（10）：730.

作者简介：第一作者，郑灿桦，2004.2.2，男，广东省，汉族，本科，学生，海南医科大学，研究方向：弹力纤维染色；

通讯作者：胡爱华，1979.1.20，女，广东省潮安县，汉，硕士，实验师，海南医科大学，研究方向：基础医学。

课题：校级大学生创新创业课题（X202411810049）