

# 三种脱钙液对免疫组化染色效果的比较

孙庆妹 刘军 金岩 董绍忠 赵宇

对牙齿和骨组织进行组织学研究和免疫组化观察时,关键在于组织切片的制作,切片不但要保持组织结构的完整,而且也要尽量保存组织和细胞内的抗原成分。通过免疫组化染色,能达到定性、定位乃至定量研究的目的。由于牙齿和骨组织都是钙化的硬组织,特别是牙釉质是高度钙化的硬组织,因此组织制片前必须先经过脱钙处理,选择合适的脱钙液就显得尤为必要。为此本文对目前常用的3种硬组织脱钙液进行了比较研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 标本来源及制备

狗牙颌组织、鼠牙颌组织在取材前用4%多聚甲醛内固定,新鲜拔除的第三磨牙经4%多聚甲醛固定24小时。

用金刚砂外圆分割器去除不必要组织。狗牙颌组织大小约为2cm×1.5cm×0.2cm,人牙1.5cm×1.5cm×0.2cm,鼠的牙颌组织各分为3组,每组标本15个,采用下列3种不同脱钙液,在室温中进行脱钙。

### 1.2 脱钙

甲酸组 8mol/L 甲酸和1mol/L 甲酸钠等量混合<sup>1</sup>。

EDTA(乙二胺四醋酸二钠盐)组 EDTA 10g+0.1mol/L Tris 缓冲液 100ml<sup>2</sup>。

混合酸组 10% 甲醛生理盐水 85ml+ 盐酸 7ml+ 甲酸 8ml+ 氯化铝 4g。

脱钙程度和效果用X线照相测定和评价。脱钙完成后标本直接入梯度酒精脱水,透明,石蜡包埋。切片厚6μm。行常规HE染色和各种常规免疫组化染色。采用美国Vector公司产试剂盒,一抗选用TGFβ TNF, L-6, L-8, 神经肽选用SP和CGRP。神经肽染色用冰冻切片。

## 2 结果

### 2.1 脱钙时间

采用相同脱钙液处理的不同组织(如骨和牙齿)所需时间基本相同,不同脱钙液脱钙时间相比:EDTA组脱钙时间最长,需3周左右。其余2组脱钙速度未见明显差异,约为46~72小时。

### 2.2 HE染色

甲酸组和EDTA组切片染色均匀,牙体组织(包括牙本质及其中的牙小管及牙骨质)骨的形态结构清晰、完整,而且其中的牙髓组织、成牙本质细胞、牙髓细胞、骨和成骨细胞以及牙周组织中各种组织细胞结构均清晰,色泽鲜艳,

红蓝反差好,核染色质显示清楚(图1)。

混合酸组结构和以上基本一样,但颜色欠鲜艳,核不易着色,对比度较差,组织细胞结构欠清晰(图2)。

### 2.3 免疫组化染色

甲酸组和EDTA组可见牙髓组织、牙髓细胞、牙槽骨及牙周组织中各种组织细胞结构清晰,抗原活性保存好,细胞形态定位优良,背景染色时核易着色。混合酸组背景深,组织细胞结构及胞核轮廓纤维等欠清晰,复染时苏木精不易着色。

## 3 讨论

在口腔组织病理工作中,涉及牙和骨组织的研究颇多,多数情况下需通过切片观察组织结构。牙和骨组织一般不能直接切片,必须先脱去组织内钙盐。在脱钙的同时酸必然对组织的有机物质产生一定的损害。选择脱钙液的优与劣对组织结构观察及病理诊断影响较大。作者在实践工作中体会到好的脱钙液必须具备以下条件:标本脱钙完全,如脱钙不全则切片易撕开或碎裂并损伤刀刃,染色时易脱片。

脱钙速度快。不损伤组织细胞或纤维。不影响染色效果。

目前临床常用混合酸作为脱钙液,优点是时间快,但易使组织酸化,染色时核不易着色,颜色欠鲜艳,对比度差,免疫组化染色背景深,组织细胞结构及胞核等欠清晰。

EDTA能够结合钙盐,是用于脱钙的螯合剂。它的脱钙作用要比酸多,pH中性时可以起螯合作用。组织在完全脱钙前在EDTA中放几个月,所受损害很小。微加热(37℃)可使脱钙速度加快,不致引起组织的破坏,并可保持某些酶的活性,组织制片后染色佳,分化结果良好。因其脱钙周期较长,故适用于科研工作,不太适合于常规速检工作。

甲酸组脱钙时间与混合酸一样快,但甲酸破坏组织的程度较轻,因而脱钙时间范围较宽,即使脱钙完成后在脱钙液内多放2天仍不致破坏组织。染色结果与EDTA相似。HE染色牙体组织、牙周组织、骨的形态结构清晰完整,核染色质清楚。红蓝对比度好,颜色鲜艳,免疫组化染色牙体牙周组织和牙髓细胞结构清晰,抗原活性保存好,定位优良。本研究结果表明甲酸是一种良好的常规脱钙剂,适合于常规速检工作,可以在临床上推广使用。由于尚未对更多种抗体进行免疫组化染色测试,也未进行电镜等观察,所以尚待

进一步的研究。

(本文图见中心插页 4)

4 参考文献

1 Khayat B, Byers M, Taylor P, et al Responses of nerves fibers to pupal inflammation and periapical lesions in rat mo-

lars demonstrated by calcitonin gene\_ related peptide immunocytochemistry. J Endod, 1988, 14: 577

2 李琼英, 全毅, 肖邦良 EDTA 脱钙法在硬组织酶组织化学中的应用 华西口腔医学杂志, 1988, 6(1): 68 (1996- 07- 04 收稿)

(上接第 79 页)

关节囊、关节盘等组织内被波及时应选用常规的关节开放性手术治疗。

3 参考文献

1 Wise DP, Ruskin JD. Arthroscopic diagnosis and treatment of temporomandibular joint synovial chondromatosis: report of a case. J Oral Maxillofac Surg, 1994, 52(1): 90  
 2 过邦辅, 凌励立, 葛宝丰编著 骨关节肿瘤 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 199~ 202  
 3 刘子君主编 骨关节病理学 北京: 人民卫生出版社, 1992: 432~ 435  
 4 Carls FR, von-Hochstetter A, Engelke W, et al Loose bodies in the temporomandibular joint: The advantages of arthroscopy. J Craniomaxillofac Surg, 1995, 23(4): 215  
 5 Holmlund A, Reinholdt F, Beigstedt H. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint Report of a case Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1992, 73(3): 266

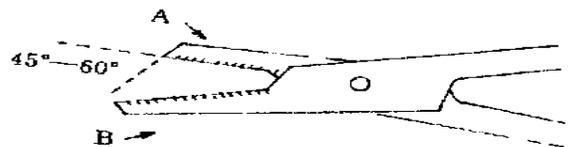
6 Carls FR, von-Hochstetter A, Makek M, et al Diagnostic accuracy of TMJ arthroscopy in correlation to histological findings. J Craniomaxillofac Surg, 1995, 23(2): 75  
 7 Moses JJ, Hosaka H. Arthroscopic punch for definitive diagnosis of synovial chondromatosis of the temporomandibular joint Case report and pathology review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1993, 75(1): 12  
 8 Mendonca-Caridad JJ, Schwartz HC. Synovial chondromatosis of the temporomandibular joint: arthroscopic diagnosis and treatment of a case. J Oral Maxillofac Surg, 1994, 52(6): 624  
 9 McCain JP, de-la-Rua H. Arthroscopic observation and treatment of synovial chondromatosis of the temporomandibular joint Report of a case and review of the literature. Int J Oral Maxillofac Surg, 1989, 18(4): 233 (1996- 07- 11 收稿)

自制托槽去除器

王学侠

笔者自制一种固定矫治器托槽去除器, 经临床使用效果良好, 现介绍如下。

取旧中号持针器 1 把, 用磨头将其一端头部磨去 3~ 4 mm (A 头), 成一斜面, 夹角 45°~ 60°(附图), 另一头 (B 头) 可套一橡皮管以缓冲压力。去除托槽时, 将 A 头置于托槽龈方, B 头置于牙齿切缘或𪙇面, 与牙体长轴垂直, 顺牙体长轴方向施力, 即可顺利将托槽完整取下。亦可应用此去除器去除带环。



附图 自制托槽去除器示意图

(1996- 04- 01 收稿)