

Kluver and Barrera 染色法のアセトン変法

村山 晴喜, 佐藤 真一, 湯田 浩司
長沼 廣

はじめに

中枢神経の髄鞘および神経細胞の染色に Kluver and Barrera (以下 K, B) 法が広く用いられている^{1,2)}。しかし、神経細胞を染めるクレシルエヒトバイオレットの色調が近年、あまり良くないために標本全体としての仕上がりが良いとはいえない。

今回、我々はクレシルエヒトバイオレット染色の後に行うアルコールでの分別、脱水の代わりにアセトンを用いることで良い結果を得たので報告する。

材料と方法

材料は解剖例の脳を用い、1週間丸ごと固定後、スライスし、1週間再固定、切り出し、脱水、透徹、パラフィン包埋を行い4 μ のパラフィン切片を作製した。

アセトンを用いた染色方法は以下の通りである。

- 1) 脱パラフィン
- 2) 0.1% ルクソールファストブルー液で16~24時間染色。
(95% エタノール 1,000 ml に 1 g のルクソールファストブルーを溶かし、10% 酢酸を 5 ml 加える。)
- 3) 蒸留水にて水洗
- 4) 灰白質と白質の区別がつくまで、0.05~0.1% 炭酸リチウムにて分別
- 5) 灰白質が透明になるまで、70% アルコールにて分別 4槽
- 6) 蒸留水にて水洗

7) 0.1% クレシルエヒトバイオレット液 37°Cにて、30間染色

(蒸留水 100 ml に 0.1 g のクレシルエヒトバイオレットを溶かし、この溶液 30 ml に対し 10% 酢酸を 5 滴加える。)

8) アセトンにて脱水 2槽

9) キシレンにて透徹、封入

通常法では、8) で用いるアセトンの代わりに95% アルコールを用い9) ではアルコールも使用される。

結 果

K, B 染色では神経細胞がクレシルエヒトバイオレットで赤紫色に染色され、髄鞘がルクソールファストブルーにて青色に染まるが従来の方法では、クレシルエヒトバイオレットの赤紫色の赤味が95% アルコールを通すと無くなり青紫色に仕上がる(図1)。

アセトン変法でもアルコールほどではないが、クレシルエヒトバイオレットの赤味が落ちる。しかし、その赤味が残るためにルクソールファスト

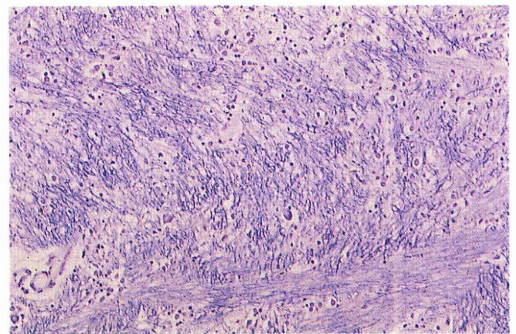


図1. 従来法
青色と青紫色の対比のため髄鞘と神経細胞
の観察が困難である。

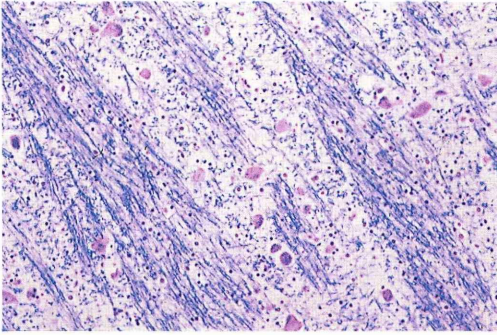


図2. アセトン変法
青色と赤紫色の対比で髄鞘と神経細胞の観察が容易である。

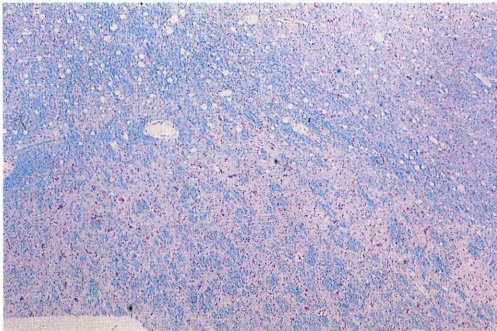


図3. アセトン変法による染色の低倍率
神経細胞と髄鞘の対比がし易い。

ブルーの青色と対比できる良い仕上がりであった(図2)。

アセトン変法は従来法と比べるとクレシルエヒトバイオレットが本来の赤紫色であるために低倍率での神経細胞と髄鞘の観察が容易であった(図3)。

考 察

K, B 染色では神経細胞と髄鞘が同時に観察できることで優れている染色である。この染色は脱髄疾患における神経細胞と髄鞘の観察、特に低倍率での観察には良い。このためには、神経細胞と髄鞘をはっきり区別する必要があり、今回の変法はこの点で優れている。

今回、アセトンを使うことでなぜクレシルエヒトバイオレットの赤紫色がアルコールを用いた時よりも保たれているのは不明であるが、アセトンの脱水力がアルコールよりも強い³⁾ことが関係しているのではないと思われる。

アルコールをアセトンに変える簡単な方法であるが、染色性にすぐれた変法と思える。

おわりに

染色後のアルコールによる分別、脱水をアセトンに変えることによって、良好なクレシルエヒトバイオレット染色の得られる Kluver and Barrera 変法を報告した。

文 献

- 1) Kluver, H. et al.: A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J. Neuropath. exp. Neurol* **12**, 400-403, 1953
- 2) 石川喜美男 他: 染色のすべて (Medical Technology 別冊). P 119-122, 医歯薬出版, 東京, 1988.
- 3) 今堀和友 他: 生化学事典. P 29, 東京化学同人, 東京, 1984.