## 歯髄神経の鍍銀染色－尿素渡銀法

歯学部口腔解剖学第２講座　竹内亀一

古くから神経の染色方法として鍍銀法は用いられてきており，代表的なものにアンモニア銀法やプロテイン銀法がある．歯髄神経は”歯の痛み”という観点から歯科分野で重要な研究テーマの一つであった．しかしながら歯髄は，象牙質に囲まれた組織であるので，その固定，染色法は難しく，また神経の染色は困難であった．

1950年，Ungewittterは歯髄神経の染色法として尿素鍍銀法を発表した．その後powerがこれを改良してパラフィン切片上での歯髄神経の染色に応用した．

我々の研究室ではPowersの方法に準じた尿素鍍銀法を用い，末梢神経線維を染色しているのでその方法について述べる．

### 材料と切片作成法

矯正治療等で抜去された新鮮な歯を直ちにブアン液に入れて固定する．この時タービン等で歯根部を切り落とし歯髄の一部を露出させ，固定液ができるだけ充分に歯髄に浸透するよう注意する．

固定液：ブアン液

ピクリン酸飽和水溶液　75ml

中性ホルマリン　25ml

トリクロール酢酸　1g

浸漬固定は1W程するのが望ましい．固定後，流水にて充分洗浄(24h)する．

歯の硬組織はリン酸カルシウム等のミネラルで形成されているのでこのままでは薄切が不可能なため，ミネラルの除去，すなわち脱灰を行う．脱灰の方法はいろいろな方法が知られているが，我々は以下のような処方の脱灰液を用いている．

脱灰液：ギ酸・クエン酸ナトリウム

50%ギ酸水溶液

20%クエン酸ナトリウム水溶液

これらを使用直前に等量混合する．

脱灰液は１日おきに新しく交換し2W～3W脱灰を行う．

脱灰が完了した後，脱灰液を充分除去するために24h流水で洗浄する．水洗後通常の組織標本作製法に従い，エタノール脱水からパラフィン包埋を行う．

切片は，15～20μmの厚さで作製し，スライドガラス上に貼り付け，一昼夜恒温器(30℃)で充分乾燥させる．染色の際，通常通り脱パラフィンを行うが，水洗せずに普通アルコール(80%アルコール)から80%アルコールに入れて以後の鍍銀染色の準備を行う．

尿素鍍銀法に用いる処方は以下の通りである.

| | | |
|---|---|---|
| 鍍銀液： | 1%$AgNO_3$水溶液 | 100ml |
| | 尿素 | 22g |
| | ピクリン酸 | 1g |
| | ※ シアン化第２銀 | 1g |
| | 蒸留水 | 100ml　※2mlのピペットで3～5滴加える |

切片を入れた容器をアルミホイル等で遮光し，45℃恒温器中で15～20h染色を行う.
鍍銀後，切片は鍍銀液により薄いレモン色程度の染まるが，これを蒸留水で素早く２回洗浄し，銀の反応産物を可視化するために還元液に入れる．還元液を入れた容器を３個用意し．その中に入れる．この洗浄は重要である．余分な銀の反応物を洗い流す操作であるが，これには経験と勘，それにある程度の運が必要である.
還元時間は10分程度で，その結果切片は黄褐色調になる.

還元液(20～25℃)

| | |
|---|---|
| 蒸留水 | 100ml |
| 無水亜硫酸ナトリウム | 10g |
| ハイドロキノン | 2g |
| 尿素 | 22g |

その後，蒸留水中で４回(各1～2分)洗浄する.
洗浄後，脱水操作を95%アルコールから始め，クレオソートキシロールで透明化した後，エンテランニューで封入する.

染色結果は，神経線維は黒，back groundは黄白色～明褐色になると良い.
以上のように尿素鍍銀法は鍍銀液の調整，染色操作が他の渡銀法より容易である.

近年では，様々な種類の抗体を用いた免疫細胞化学的手法が，歯髄神経の染色法にも用いられるようになってきているが，この方法は，通常パラフィン切片には不適であることが多い．今回紹介した神経渡銀法はパラフィン切片上で神経線維の存在，その構築，ならびに終末の形態を知る方法として非常に有効な染色法である.

稿を終えるにあたり新潟大学歯学部口腔解剖学第２講座前田健康教授の御助言をいただき，また星野正明技官の御協力に深く感謝申し上げます.