

簡介組織切片製造法及自動組織切片包埋機

最近由於綠杏第四期出版在即，總編輯及其他各幹事催稿甚緊，我被迫得無奈，只好杜撰此文，以杜塞之。

幾個月以前，總編輯沈同學曾要求我寫一篇稿，我以為時間還久，曾做允諾。奈學期一開始，準備教材、解剖、組織切片檢查等日常工作之外，單說上課一個星期就有十九小時之多，況且醫學之進步日新月異，我本人在醫學界也僅能算是一個小學徒，委實須要充實自己，希望看的書籍還很多，平時就感到沒時間，所以我一再向幹事同學求救，可是各位同學鐵石心腸，非但沒赦免，反而催稿更緊，使我懷疑是否由於去年緊促同學們的病理課，以致被捉住把柄報復。最後沈總編輯提議要我介紹本科最近啓用的自動組織切片包埋機。

這個題目，顯而與綠杏的發刊宗旨不大配襯，可是再詳細的想想，組織切片在近代醫學應用甚廣，切片工作在醫學院之刊物介紹，並不可說全無關係，而且普通醫事學校的課程，都無正式介紹過切片技術上的問題，故決定順水行舟，也好和各位讀者共同研究，並非作者存心替Autotechnicon Company做義務宣傳，請各位讀者諒之！

在提到自動組織切片包埋機 (Auto-technicon) 之前，首先我們須談到普通現行組織切片製造方法。如說病理學為近代醫學之基礎的話，很顯然組織切片更是病理學之基礎，病理學的工作是離不了組織切片，因此，我們對組織切片也須有概要的認識。通常組織切片之製造方法，可分為三種：1. 冰凍法 (Frozen method) 2. Celloidin method 3. 石蠟法 (Paraffine method)。現在讓我們逐一介紹：

一、冰凍法：利用乾冰 (Dry ice) 等在汽化時，會吸收大量的汽化熱的性質，使 formalin 固定後的組織小塊冰凍，再用顯微切片機 (microtome) 切成小片、染色製成組織切片，此法只需十幾分鐘即可製成切片，這種方法簡單，所須時間也最短，但所做出來的標本最差，它不但不適合於研究工作，而且所下的診斷，也極不可靠，通常都不被採用為日常工作 (Routine Work) 僅在特殊的場合，如

在病人開刀，從病變部取出一小塊做切片，得到病理報告後，才繼續開刀等緊急需要作成切片時方利用到這種方法。

二、Celloidin method：利用 Celloidin 慢慢滲透到組織，使組織硬化之法。此種方法所做出來的標本最佳，細胞及組織受到人為的變化 (Artificial) 甚微，只是利用這種方法，所須時間甚久，往往做一個標本，須要一個月以上，故近代醫院很少採用此法。

三、石蠟法 (Paraffine method)：是以石蠟代替 Celloidin 之法。用這種方法製造切片，平均只需三、四天即可，做出來的標本，雖沒有 Celloidin method 的好，但比冰凍法 (frozen method) 正確，故石蠟法乃為最通行，廣為被採用的方法。下面讓我們對此法再做詳細的研討。

通常石蠟法 (Paraffine method)，又可分為三種步驟：(一) 固定 (Fixation) (二) 包埋 (Embedding) (三) 切片及染色。

(一) 固定 (Fixation)：

乃利用 formalin 等藥液滲入組織或細胞，破壞細胞內之自溶酵素 (Autolytic enzymes)，以防止細胞之死後變化，所利用的藥液，以 formalin 及 Alcohol 為最多，(普通書上所寫的 formalin solution 之濃度，大多數為 4% 左右，但在台灣，尤其夏天，因受溫度增高的影響，固定大標本時，常使內部組織仍然發生自溶現象，故在夏天，宜用較濃的 formalin solution (5—10%)。使用 formalin 固定標本所需要的時間，依標本的大小而不同，普通 1cm in diameter 的標本，一小時即可，更小的標本，僅須幾個小時，大的標本所須的時間較長，如大的子宮肌瘤，固定幾天後，有時還沒能固定的。通常用 formalin solution 固定標本時，常有 formalin Pigment 出現，尤其使用高濃度的 formalin solution 更常見到，但 formalin 的市價甚為便宜，故 formalin fixation 仍廣被採用。

另外一種是用酒精固定 (Alcohol fixation)，這種方法是利用 80—100% 等高濃度的酒精固定

，使用酒精固定時，有幾種優點：(一)固定快。(二)沒有formalin Pigment出現。(三)酒精滲入細胞質後，有脫去細胞質的水份而取代之作用，這種作用可以節省下面所要講的包埋時間。但是利用酒精固定也有其缺點，通常被固定的標本收縮很厲害，而市價也比較昂貴。可是利多於弊，這種方法也常被採用。

最近也有人用 formalin-alcohol solution 固定，這種方法是利用40%的formalin (即市面上的 saturated formalin solution) 與95%的酒精，以一比九之比例配成固定液，這種固定液兼有上述二種固定液的好處，如固定快，標本也不腫。

總之，上述的固定液，為目前醫學界廣為採用，但有些特殊的檢體，則須要特殊的固定液，例如：(A) 皮膚的固定，須要用Bouine Solution，骨髓穿刺 (Marrow puncture) 的標本，須用Zenker's solution 固定等等。(B) 對於欲驗出的物質，也得選擇適合的固定液，譬如欲驗出組織中的脂肪，則固定液僅能用 formalin；欲在組織中證明 glycogen，則固定液只能用無水酒精 (Absolute alcohol)，而不能利用其他含有水的固定液；對某些固定時，容易收縮的組織，如淋巴組織、肌肉、皮膚、乳腺等的固定，避免用酒精也是一種常識。(D) 還有一點須要注意的，凡是利用 Alcohol 固定過的組織，則不能利用 frozen section。(E) 所有固定液與被固定物質之比例，必須前者為後者之廿倍以上，才能在短時間內得到完滿的固定作用。

(二)包埋 (Embedding)：

包埋的目的，為利用溶解狀的 Paraffine 滲進組織細胞內，待其冷却凝固後，成為硬度適合于作顯微切片的組織，經過前述固定的標本，其組織細胞，仍然有多量水份，而水與Paraffine 是絕對不能相溶，所以包埋的頭一個步驟，須從組織細胞中脫水。在Paraffine method 之脫水方法，是將組織按次由低濃度酒精溶液，一直換到純酒精，其目的在利用absolute alcohol 脫水。同時，我們須要注意的，酒精對於蛋白質的凝固性質強，假如驟然將組織放進純酒精內，組織表面的細胞，雖然可能脫

水得很完全，但由於這些細胞的細胞質都凝固，故內部的細胞就不能與酒精接觸，脫水必不完全。所以脫水階段為整個製片過程中，最要緊，最長時間，而必須耐心住低濃度開始。普通的製片室所用的方法為70% Alcohol 2—4小時，80% Alcohol 2—4小時，95% Alcohol 2—4小時100% NO：1. 4—8小時，100% NO：2. 4—8小時。最後的100% Alcohol，要經過二次的原因：第一個 Absolute alcohol 所接到標本是直接由95% Alcohol 轉來的，來到這裡的標本裡面仍然含有少量的水份，這些少量的水份被第一個 absolute alcohol 吸出來，因此第一個 absolute alcohol 的水份增加，其濃度也就不能保持 100%，久而久之，此種濃度之減低是相當可觀，尤其考慮到組織裡面的酒精濃度，問題更大所以必須利用第二個 absolute alcohol 脫水，比較保險。在脫水階段所花的時間，按照上述的計劃，總合為十四小時至廿八小時，初看，好像一天或一天多一點就能完成，實際上，因為工作人員的工作時間，僅為白天的一段時間，雖然每一個實驗室的工作人員都比較負責，加班工作，也很少能夠作到一年到頭，每天在實驗室裡工作到十四小時，或以上的可能，所以在脫水過程中，必須在一個或二個地方讓標本過夜，也就是記已經可以移動或進行到下一個較高濃度的酒精，而不移動，不但浪費時間，同時也增加組織的收縮，但為要配合工作時間，不得不如此，所以在本階段，經常要花費二、三天的時間。經過這個步驟以後，則進到脫酒精的階段。因為酒精與Paraffine 仍然不能相溶，必須經過對酒精與Paraffine 都有親和性，與不溶性的中間物質，普通都利用 Chloroform Benzene 或 xylol，經過二個或三個這種中間物，(每一個中間物所須的時間，約為20—30分鐘) 以後就可進行使Paraffine 滲到標本了。這個步驟是把 Paraffine 放在保持60°C 左右的定溫箱 (Incubator or Paraffine oven) 使其溶解，把標本放在其中，(也跟 absolute alcohol 一樣，通常換三個 Paraffine，每一個卅分鐘左右。) 使Paraffine 充分滲入到細胞內後取出，使其在室溫冷却凝固，包埋則告完成。

(三) 切片與染色：

切片為利用顯微切片機 (microtome)，把包埋好的標本，切成 5—10 μ 的厚度。染色為切過的組織薄片，利用其細胞內的各種成分，對各種色素有不同的親和性 (或可染性) 之特點，用各種染色液染色，以增加對細胞內，或組織內各種成分鑑別之謂。此兩步驟，因目的不同，而有很多煩雜的方法，因屬於特種技術，與各位同學的本行很少發生關係，也不是本文之目的，故不贅述。

Auto-technicon 的優點：

Auto-technicon (我把它翻譯成自動切片包埋機) 是一種定時計 (Auto-timer) 的機械，裝上很多容器，可容納包埋過程所需的各種藥液，使用時，可以事前把 auto-timer 的時間，和各種藥液的秩序配合好，使其能在我們所預定的每一種藥液裡，停留我們所預定的時間，並且能自動地把標本移動到下一個藥液。這樣能節省包埋步驟，及晚間無人看管而浪費時間。同時此種機器，停留在每一個藥液期間，能夠把標本慢慢上下移動，這樣能使組織標本時常與新鮮藥液，或高濃度的藥液接觸，使藥品滲入到組織的機會增加，而使每一步驟所需的時間減少很多。我們在包埋那一段裡，提過單就脫水，用普通人工移動方法即需 4—8 小時，再加上 Chloroform 等的 1—1.5 小時，Paraffine 的 1.5 小時，總共需要 16—30 小時的包埋過程，利用此機

器，僅需 12 小時即可，如午後五點下班時，把所有當天接到的標本，放進 Auto-technicon 後，次日上午八點鐘一上班就能夠立即開始切片及染色工作，所以 Auto-technicon 的惟一最重要的好處，就是節省時間，提高製片速度。廿世紀的社會是最講求速度，尤其行醫治病的此一部門，速度的快慢，可能直接影響到病人的生命。

Auto-technicon 的缺點：

為了要避免瓜田李下的嫌疑，下面提一提 Auto-technicon 的缺點。它的第一缺點，就是所有的藥品的蒸發度太快，用普通方法，所有藥品都用緊密的蓋子蓋住，僅在要移動時才打開，蒸發比較少。Auto-technicon 在每一次移動任何一個藥液的步驟，所有的蓋子都會打開，同時 Paraffine oven 與其他藥品容器距離很近，溫度高，蒸發率也高，藥品的消耗比普通方法多，標本的製造成本也就比較高，但是此一缺點，或犧牲，與其所節省的時間比較起來，還是值得的。第二種缺點為容量比較小，大約一天能夠包埋 20—30 個標本；用普通方法，只要人手與時間配合好，可以使每一個酒精容器放滿標本，同時進行脫水及其他包埋工作也無不可，但因為 Auto-technicon 僅有一個定時計，要把幾個 group 的標本一次進行包埋，在定時計的配合計劃上就有點困難了。