

Formalin 고정조직 및 Paraffin 포매조직의 전자현미경적 검색

김 영 호

계명대학교 의과대학 중앙전자현미경실

Formalin고정된 조직 및 paraffin포매된 조직을 이용하여 전자현미경적 검색을 시도하는 방법으로는 1960년대 이후부터 여러방법이 개발되어 있으며, 외과병리학적 진단의 보조 수단으로 보편화되어 있다.

이들 조직들은 종양학 분야에서 진단 목적의 형태학적 방법이며, 8% 내외에서는 전자현미경적 관찰이 진단에 기여하고 있다. 그중에서도 전자현미경적 관찰에 의해 비로서 결정되는 경우는 3%이고 나머지 5%는 광학현미경적으로 의심되었으나 전자현미경적으로 확진이 가능한 경우이다.

Formalin고정된 조직은 주로 진단을 위해 볼 수 있는 형태는 섬유성 조직, 세포질내 과립상 물질, 바이러스 입자, 균체, 세포체, 결정성 구조물, 세포 안팎의 미세섬유구조물, 세포접착장치 특히 desmosome(접착판), 핵내의 chromatin(염색질) 및 핵소체 등의 미세구조는 비교적 양호하게 보존되어 있다.

1. Formalin 고정된 조직의 처리요령

- ① 조직 절제 : formalin에 고정된 조직을 흐르는 수돗물에 넣어서 formalin을 흘려 버리고 희망하는 부위에서 2~3mm 크기의 조직편을 떼어낸다.
- ② 세절 : 소조직편을 면도날로 1mm³ 크기로 세절하고, 시료병에 넣어 증류수로 씻어낸다.
- ③ 수세 : 수세시간은 15분 간격으로 4회 교환해서 1시간 정도 하고, 전자현미경용 완충액으로 마지막 수세한다. 모든 과정은 진탕시켜주는 것이 좋다.
- ④ 고정 : 전(前)고정액(2.5% glutaraldehyde)에서 1~2시간, 완충액으로 수세하고, 후(後)고정액(1~2% OsO₄)를 1~2시간 고정후 50% ethanol을 같은양 첨가하여 5~10분후 검게된 다음 그 액을 버리고 같은 완충액으로 수세한다.

- ⑤ 탈수 : 50%, 70%, 80%, 95% ethanol 및 무수 ethanol에 탈수한다.
- ⑥ 포매 : propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법에 따라 epon에 포매한다.
실제로 종양의 감별 진단 또는 바이러스 입자의 확인에 기여한 증례는 과립근아세포종(흉부피하), 봉와성 연부육종(혀), 평활근육종(상악), 헤르페스 바이러스 감염(간), 전염성연속종(표피) 등이 보고되어 있다.

2. Paraffin 포매된 조직의 처리요령

- ① paraffin 포매조직을 예리한 칼로 도려낸다. (조직편을 면도날로 1mm² 크기로 세절해도 됨)
- ② Filter paper 위에서 paraffin포매 조직편을 60°C paraffin 항온기에 약30분 넣어둔다. 조직절편 속에 있는 paraffin과 주위 paraffin을 녹이게 된다.
- ③ Xylene이나 chloroform이 들어있는 시료병에 조직편을 넣어 15분, 다시 같은 용액을 넣어 15분간(합계 30분) 탈paraffin처리를 한다.
- ④ 무수ethanol에 15분씩 두 번(합계 30분) 넣고, 95%, 80%, 70%, 및 50% ethanol에 5분씩 2회 넣고, 증류수에 15분씩 2회 넣어 함수과정을 거친다. 5~10
- ⑤ 조직편을 면도날로 1mm² 크기로 세절하고, 시료병에 넣어 완충액으로 씻어낸다.
- ⑥ 전(前)고정액(2.5% glutaraldehyde)에서 1~2시간, 완충액으로 수세하고, 후(後)고정액(1~2% OsO₄)를 1~2시간 고정후 50% ethanol을 같은양 첨가하여 5~10분후 검게된 다음 그 액을 버리고 같은 완충액으로 수세한다.
- ⑦ 50%, 70%, 80%, 95% ethanol 및 무수 ethanol에 탈수한다.
- ⑧ 알콜 탈수후 propylene oxide로 치환한 후 Luft 방법에 따라 epon에 포매한다.

Paraffin 포매된 조직 재료로 관찰할 수 있는 증례는 횡문근육종(심장), 형질세포종(피하), 헤르페스 바이러스 감염(간), 전염성 연속종(표피) 등이 보고되어 있다.

장기간 formalin에 계속적으로 고정 보존된 조직보다는 형태의 보존상태가 우수한 paraffin포매된 조직도 적지 않다.