

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號： NSC90-2313-B-002-307-

執行期限： 90年8月 1日至91年7月31日

主持人： 郭宗甫 國立臺灣大學獸醫學研究所

一、中文摘要

本計畫針對馬、豬、水鹿、貓、大鼠、山羌等動物之大小腦進行軟性塑化標本之研究與製作，並且計其重量與測量其大小。成熟動物腦之重量以 Mean \pm S. D. 表示，得知兔子是 $10.55 \pm 0.74\text{g}$ ，豬是 $89.93 \pm 13.92\text{g}$ ，水鹿是： $118.38 \pm 16.57\text{g}$ ；公大鼠是 $2.12 \pm 0.23\text{g}$ ，母大鼠是： $1.90 \pm 0.74\text{g}$ ；馬是 280.5g 。有關腦部之計量以下列英文大寫字母來表示腦之各部位的長度，A：大腦從前頭極至大腦半球後頭極之縱長；B：左右大腦半球之最寬的橫徑長；C：小腦之最長縱徑長；D：左右小腦半球之最寬的橫徑長；E：從大腦前頭極至小腦虫狀部之最長縱徑長；F：嗅葉之縱徑長；G：由大腦之頂極至腦下垂體之高度。結果兔子之 A： 2.78 ± 0.13 公分，B： 3.94 ± 0.30 公分，C： 2.89 ± 0.08 公分，D： 2.11 ± 0.10 公分，E： 1.04 ± 0.18 公分。貓之 A： 2.82 ± 0.47 公分，B： 3.73 ± 0.11 公分，C： 1.60 ± 0.22 公分，D： 2.30 ± 0.29 公分，E： 4.21 ± 0.54 公分，F： 1.03 ± 0.11 公分，G： 2.68 ± 0.30 公分。水鹿之：A： 7.54 ± 1.40 公分，B： 7.40 ± 0.29 公分，C： 3.36 ± 0.62 公分，D： 4.03 ± 0.68 公分，E： 10.49 ± 1.28 公分，F： \pm 公分，G： 6.15 ± 0.26 公分。山羌：A： 4.98 ± 0.25 公分，B： 4.68 ± 0.08 公分，C： 1.90 ± 0.27 公分，D： 3.13 ± 0.22 公分，E： 6.80 ± 0.21 公分，G： 3.35 ± 0.18 公分。豬之：A： 6.00 ± 0.69 公分，B： 5.66 ± 0.75 公分，C： 3.06 ± 0.57 公分，D： 3.01 ± 0.38 公分，E： 6.91 ± 0.73 公分。公大鼠之 A： 1.56 ± 0.11 公分，B： 1.55 ± 0.06 公分，C： 0.61 ± 0.10 公分，D： 1.24 ± 0.06 公分，E： 2.14 ± 0.12 公分，F： 0.33 ± 0.11 公分。母大鼠之 A： 1.49 ± 0.08 公分，B： 1.39 ± 0.18 公分，C： 0.64 ± 0.06 公分，D： 1.15 ± 0.06 公分，E： 2.18 ± 0.20 公分，F： 0.35 ± 0.10 公分。馬之 A： 11 公

分，B： 8.5 公分，C： 4.9 公分，D： 6.1 公分，E： 14.2 公分。

關鍵詞：腦銀行，動物，塑化標本，厚切片包埋標本，計量比較

Abstract

The main focus of this project is to study and manufacture the plastinated samples of brains of the animals such as horses, pigs, deer, cats, rats and *Muntiacus reevesi micrurus* (Sclater 1875), in spite of this field, we also to study the brain metric analysis of some kinds of animals. To express the brain weight with mean \pm standard deviation, we get rabbit is $10.55 \pm 0.74\text{g}$, pig is $89.93 \pm 13.92\text{g}$, water deer is $118.38 \pm 16.57\text{g}$, male rat is $2.12 \pm 0.23\text{g}$, female rat is $1.90 \pm 0.74\text{g}$, horse is 280.5g . For the brain metric study, we describe the length with great alphabetical word, A represents the length from the anterior pole to posterior pole of cerebrum, B represents the length of the widest of cerebrum, C represents the length from the anterior pole to posterior pole of cerebellum, D represents the length of the widest of cerebellum, E represents the length from the anterior pole of cerebrum to the posterior pole of cerebellum. So the results for the rabbit, A is 2.78 ± 0.13 cm, B is 3.94 ± 0.30 cm, C is 2.89 ± 0.08 cm, D is 2.11 ± 0.10 cm, E is 1.04 ± 0.18 cm. Feline A is 2.82 ± 0.47 cm, B is 3.73 ± 0.11 cm, C is 1.60 ± 0.22 cm, D is 2.30 ± 0.29 cm, E is 4.21 ± 0.54 cm, F: 1.03 ± 0.11 cm, G is 2.68 ± 0.30 cm, for the water deer, A is 7.54 ± 1.40 cm, B is 7.40 ± 0.29 cm, C is 3.36 ± 0.62 cm, D is 4.03 ± 0.68 cm, E is 10.49 ± 1.28 cm, G is 6.15 ± 0.26 cm, for the *Muntiacus reevesi micrurus* (Sclater 1875), A is 4.98 ± 0.25 cm, B is 4.68 ± 0.08 cm, C is 1.90 ± 0.27 cm, D is 3.13 ± 0.22 cm, E is 6.80 ± 0.21 cm, G is 3.35 ± 0.18 cm; for the pig, A is 6.00 ± 0.69 cm, B is $5.66 \pm$

0.75 cm, C is 3.06 ± 0.57 cm, D is 3.01 ± 0.38 cm, E is 6.91 ± 0.73 cm; for the male rat, A is 1.56 ± 0.11 cm, B is 1.55 ± 0.06 cm, C is 0.61 ± 0.10 cm, D is 1.24 ± 0.06 cm, E is 2.14 ± 0.12 cm, F is 0.33 ± 0.11 cm; for the female rat, A is 1.49 ± 0.08 cm, B is 1.39 ± 0.18 cm, C is 0.64 ± 0.06 cm, D is 1.15 ± 0.06 cm, E is 2.18 ± 0.20 cm, F is 0.35 ± 0.10 cm, for the horse, A is 11 cm, B is 8.5 cm, C is 4.9 cm, D is 6.1 cm, E is 14.2 cm. We also complete the good thick brain section embedding plastic sample for teaching, researching and reservoir.

Keywords: animal, brain bank, plastinated thick section samples, metric analysis

二、計畫緣由與目的

動物之大小腦是很柔軟且很脆弱的器官，動物死後之腦的死後變化很快，換言之很易腐敗，應該要很新鮮的屍體才能用於做腦標本。浸漬福馬林的標本每次使用亦需水洗，福馬林則造成氣體的揮發，刺激眼鼻及吸入性肺炎，更亦造成致癌，所以需要另外開發保存的方法。以往解剖學實習課程需要將這些動物之腦浸漬於福馬林固定液中以備使用，但因為福馬林是致癌物質，又是揮發性氣體，具有強烈之刺激性，對學習之師生傷害很大。有鑑及此，申請人曾成功地開發室溫下生物體塑膠化標本之製作技術，它對動物實體之截塊與器官可製作得堅固耐用，對整顆腦或大腦半球亦可以稀釋矽膠來完整製作而不發生皺縮。但遺憾的是對腦之數毫米厚片易造成斷裂，無法實際觀察時之操作，為了解決此點，申請人利用腦厚片封膠法，當膠體進入組織中，隨即外圍以無稀釋之原膠包埋組織，待凝固後可以整片拿著觀察。因此整顆腦可以完成多片的整合。此種動物的腦銀行塑化標本能開發成功，將帶給人醫學及獸醫學之基礎課程：人體解剖學及獸醫解剖學莫大的實用價值。又各種動物之腦的大小容量重量很缺乏計量學上的數據，因此本研究僅以一年的時間盡可能的收集各種動物的腦，來研究不同角度測量

的數據，提供學術性之參考。

三、材料與方法

一. 動物的犧牲和固定(Fixation)：

1. 本研究所採用之放棄之流浪動物，如狗、貓，於安樂死後焚燒前，取其大小腦，隨後用 10% Formalin 注入固定，固定約一週至完全固定為止。
2. 如果是經濟動物之鹿、豬、兔子，則到屠宰場去採購，並取出其大小腦，隨即用 10% Formalin 注入固定，固定約十天至完全固定為止。
3. 如果是野生動物則是來自台北縣政府委託飼養死亡的動物如山羌，取出其大小腦，隨即用 10% Formalin 注入固定，固定約十天至完全固定為止。

4. 每種動物先稱其大小腦之重量，

二. 脫水(Dehydration)：

1. 水和脂肪不能直接和聚合體 (polymers) 互換。
2. 去除及取代組織液及脂肪可使用能與水混合的有機溶劑。
3. 可以同時除去脂肪及脫水。
4. 本實驗使用 70%、80%、90%、95%、98%、99% 及三次 100% 之丙酮 (Acetone) 來脫脂與脫水，每桶丙酮之水份達穩定才更換，每桶次約為 1 週，最後需用丙酮計測量得丙酮濃度 100% 方達完全脫水。
5. 保持標本浸漬於丙酮溶液中，不可有部份浮於液面。
6. 浸漬比率 (標本組織：丙酮溶液) 應是 1：10。
7. 使用丙酮計每天測其含水份之百分比。至含水份穩定才更換至高一階濃度之丙酮浴中。
8. 至達於 100% 丙酮中穩定時需要 5-10 天或更長，才能獲得完全之脫水及脫脂。
9. 皺縮必須盡可能地減到最小。

三. 逆向減壓灌(Forced Impregnation)：

1. 脫水及脫脂之後的標本，浸漬於以二氯甲烷一份與三份之聚合體 (S10) 混合中，並置放於塑化鍋 (真空腔) 中。

2. 稀釋之 S10 / S3 之混合比率是 1000 : 1。
 3. 保持標本完全浸到聚合體混合物，浮起之標本，其表面會乾燥應特別小心。
 4. 先將標本和稀釋之 S10 聚合體混合物(S10/S3)浸漬混合，在室溫下達 1-2 天，讓聚合體混合物和標本維持平衡狀態。
 5. 之後再開始用真空馬達抽氣，降低絕對壓力，亦即增加真空，但宜緩慢，時間約 2-4 週。
 6. 監視真空應經：壓力計、真空閥及丙酮氣泡三者來監測及調整，丙酮氣泡應該慢慢地由聚合體之表面產生冒出。因為丙酮如由組織中揮發出來太快，此時聚合體進入組織太慢反而會造成深層組織中的聚合體不夠，則組織內部容易變形或脆掉，因為畢竟聚合體跑的速度是比氣體的丙酮慢。
 7. 要一步步降低壓力，使壓力達 1-3 mmHg，保持此腔壓達 2-3 天，直到不再有丙酮氣泡冒出為止。
 8. 關掉真空馬達，慢慢增加壓力，然後打開真空腔，每天翻動標本數次，讓標本得到鬆弛，並與聚合體維持均衡。
 9. 在均衡之後，再一次開起真空馬達，保持真空壓力達 1-3 mmHg 達 2-3 天，直到無丙酮氣泡冒出，然後才關掉真空馬達，並進入第二次之兩者平衡。
 10. 如此真空與平衡反復操作 3-4 次後，最後確定不再有丙酮留在標本的內部為止。
 11. 此 Forced impregnation 的操作過程，在早期 von Hagens 是在 -25 °C 下用 冷凍取代法來進行，經過去研究改在室溫下進行，只有將 S3 抽出，最後再噴上，利用上述步驟即可塑化得很好，換言之已可改進得較方便且節省冷凍下之設備。
- 四. 煙熏(Curing)：
1. 煙熏(Curing)是處理標本組織內部的聚合體混合物進行聚合作用及使標本硬化乾燥的過程。
 2. 當最後標本以 S3 噴上，聚合體 S10 和 S3 混合同時進行硬化工作的進行。
 3. 煙熏標本意思是將從灌輸浴中的標本取出後，可加速標本組織的聚合化作用。
 4. 氣體煙熏(Gas curing)可分成兩種基本煙熏程序：亦即快速煙熏與緩慢煙熏。
 5. 本研究採用快速煙熏(48-72 小時)，用於切面的標本、腦及神經組織，薄薄的胃、腸壁，必需使膨漲的中空器官，如肺。
 6. S3(硬化劑)引起 S10 分子形成加長的鏈，使分子可以彼此以端邊互接。
 7. 分子的鏈越長，標本則越具有彎曲度。
 8. S6(是弱酸)是一種氣體硬化劑，能使 S10 聚合體開始邊對邊的鏈接，使產生堅固體，但標本會更容易脆碎。
 9. 氣體硬化應在密閉的容器內進行，一般皆使用有蓋的四方體塑膠桶。
 10. 進行氣體煙熏時需要些濕氣，但是過高濕度將引起白色矽膠的沉澱，必需使用除濕劑(氯化鈣)來降低濕度。使用水族馬達可以增加 S6 的蒸發。
 11. 標本表面的聚合體應使其盡量滴掉，如此置於高濃度的 S6 下才能加速氣體煙熏，並使標本表面不致因硬化後變得光亮。
- 五. 快速氣體煙熏(Fast gas curing)：
1. 使用水族馬達可使 S6 加快揮發，促進煙熏。
 2. 標本表面的聚合體將在 24-48 小時硬化，因此以過多留在表面的聚合體封閉器官，更使表面因硬化而發亮，故需先盡亮滴除表面流動的聚合體 S10，才能進行煙熏。
 3. 對於中空的器官如胃、腸或肺，當用打氣機打氣於中空的標本使其膨脹，此時可以加入少量的 S6，使器官內部加快煙熏。
 4. 可用棉紙塞入中空器官的內部吸收過多的聚合體。
 5. 快速氣體煙熏(1-3 個月)之後，將標

本擺入如塑膠袋之容器內。

6. 快速氣體煙熏標本的表面應使S6達到飽和，讓S6繼續向標本中心緩慢擴散。

六. 包埋與硬化

1. 將環氧樹脂主膠和硬化劑以3比1之比例調配，完成之後置放於壓克力板之圓盤中待用。
2. 將大小腦煙燻硬化即將完成的標本，用銳利的刀片切成所要的斷面。
3. 將切好斷面的大小腦置入混合好的環氧樹脂主膠中，要全面掩埋不要有氣泡。
4. 然後置於70°C的溫箱中使作用2-3小時，視其硬化的程度，可再加長時間，讓應化的效果更好。
5. 大小腦截斷厚片在硬的環氧樹脂中一起取出，再用最細的沙紙整修使光滑。
6. 最後可完成漂亮的作品標本，供研究或學生實習之用。

四、結果與討論

本研究結果成熟動物腦之重量以Mean ± S. D.表示，得知兔子是10.55 ± 0.74g，豬是89.93 ± 13.92g，水鹿是：118.38 ± 16.57g；公大鼠是2.12 ± 0.23g，母大鼠是：1.90 ± 0.74g；馬是280.5g。另外有關腦部之計量以下列英文大寫字母來表示腦之各部位的長度，A：大腦從前頭極至大腦半球後頭極之縱長；B：左右大腦半球之最寬的橫徑長；C：小腦之最長縱徑長；D：左右小腦半球之最寬的橫徑長；E：從大腦前頭極至小腦虫狀部之最長縱徑長；F：嗅葉之縱徑長；G：由大腦之頂極至腦下垂體之高度。其計量的結果如下，兔子之A：2.78 ± 0.13公分，B：3.94 ± 0.30公分，C：2.89 ± 0.08公分，D：2.11 ± 0.10公分，E：1.04 ± 0.18公分。貓之A：2.82 ± 0.47公分，B：3.73 ± 0.11公分，C：1.60 ± 0.22公分，D：2.30 ± 0.29公分，E：4.21 ± 0.54公分，F：1.03 ± 0.11公分，G：2.68 ± 0.30公分。水鹿之：A：7.54 ± 1.40公分，B：7.40 ± 0.29公分，C：3.36 ± 0.62公分，D：4.03 ± 0.68公分，E：10.49 ± 1.28公

分，F：±公分，G：6.15 ± 0.26公分。山羌：A：4.98 ± 0.25公分，B：4.68 ± 0.08公分，C：1.90 ± 0.27公分，D：3.13 ± 0.22公分，E：6.80 ± 0.21公分，G：3.35 ± 0.18公分。豬之：A：6.00 ± 0.69公分，B：5.66 ± 0.75公分，C：3.06 ± 0.57公分，D：3.01 ± 0.38公分，E：6.91 ± 0.73公分。公大鼠之A：1.56 ± 0.11公分，B：1.55 ± 0.06公分，C：0.61 ± 0.10公分，D：1.24 ± 0.06公分，E：2.14 ± 0.12公分，F：0.33 ± 0.11公分。母大鼠之A：1.49 ± 0.08公分，B：1.39 ± 0.18公分，C：0.64 ± 0.06公分，D：1.15 ± 0.06公分，E：2.18 ± 0.20公分，F：0.35 ± 0.10公分。

用塑化標本的技術所製作的腦厚片包埋標本除可永久保存之外，亦可用於教學、研究、展示，是一項很好的技術作品。

五、參考文獻

1. 郭宗甫，1998，動物體塑化標本製作技術之改良與應用，國立台灣大學教師研究成果展專輯。P. 22
2. Baptista C.A.C. and Conran P.B. 1989. Plastination of the heart: preparation for the study of the cardiac valves. J Int Soc Plastination. Vol.3(1):3-7.
3. Cannas M. & Fuda P. 1991. Plastination of old formalin-fixed specimens. J Int Soc Plastination. Vol.5(1):11-15.
4. de Boer-van Huizen R.T., Cornelissen C.J. and ten Donke laar H.J. 1992. Sheet plastination of the human head. J Int Soc Plastination. Vol.6(1):20-24.
5. Holladay S.D. 1988. Experiments in dehydration technique. J Int Soc Plastination. Vol.2(2):17-24.
6. Holladay S.D. 1989. Plastination of inflated hollow gastrointestinal organs from large animals. J Int Soc Plastination. Vol.3(1):34-37.
7. Kuo, T. F., D. M. Wu and M. H. Chang. 1998. The Improvements and teaching Applications for the canine specimens created with plastination. J Chin Soc Vet Sci. Vol. 24. Suppl. P63
8. Kuo, T. F. and M. H. Chang. 1998. Plastinated feline transverse and sagittal

plane prepared at room temperature. The 5-2nd Congress and Symposium of the Chinese Society of Laboratory Animal Sciences. O-09, P50

9. KUO, T.F. and Chen, Y.P., 1997, Plastination of fishes at room temperature, The Taiwan Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, Vol.67. Sup 1., P.28
10. Lane A. 1990. Sectional anatomy: standardized Methodology. J Int Soc Plastination, Vol.4:16-22.
11. Lischka M. and M. Prohoda. 1987. Plastination of whole-body slices with polymerizing emulsion. J Int Soc Plastination. Vol1(1):17-22.
12. Nicaise M., P. Simoens and H. Lauwers. 1990. On the production of plastinated specimens for teaching veterinary morphology. J Int Soc Plastination. Vol.4:10.
13. Oostrom K. and M. Cand. 1987. Plastination of the heart. J Int Soc Plastination. Vol.1(2):12-19.
14. Ootrom K. and von Hagens G. 1988. Plastination of the human placenta. J Int Soc Plastination. Vol.2(1):18-23.
15. Oostrom K. and von Hagens G. 1989. Platination of the human kidney. J Int Soc Plastination. Vol.2(2):21-24.
16. Tiedemann K. 1987. Tools for the infiltration of dehydrated specimens with silicone rubber. J Int Soc Plastination. Vol.1(2):25-29.
17. Ripani M., Bassi A., Perracchio L., Pannebianco V., Perez M., Boccia M.L. and Marinozzi G. 1994. Monitoring and enhancement of fixation, dehydration, forced impregnation and cure in the standard S-10 technique. J Int Soc Plastination. Vol.8(1):3-5.