



普通高等医学院校规划教材

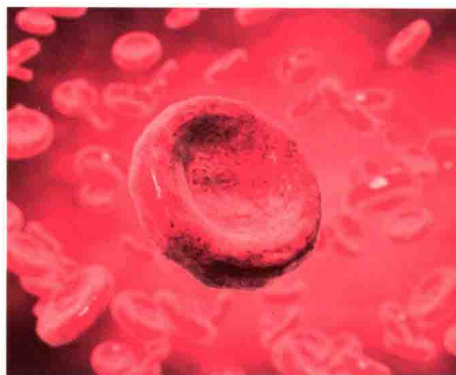
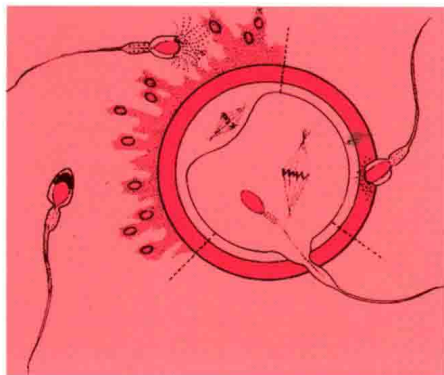
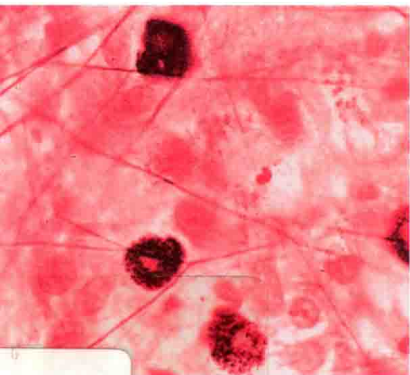
ZUZHIXUE YU PEITAIXUE

组织学与胚胎学

(第3版)

主 编 钟树志 彭彦霄

副主编 伍雪芳 李玉磊 王健君



中国科学技术大学出版社



普通高等医学院校规划教材

供基础、临床、预防、口腔、法医、麻醉、影像、护理检验等医学类专业用

组织学与胚胎学

(第3版)

主 编 钟树志 彭彦霄

副主编 伍雪芳 李玉磊 王健君

主 审 金晓梅

编 委 (以姓氏笔画为序)

王健君 (皖南医学院) 伍雪芳 (皖南医学院)

李玉磊 (皖南医学院) 李晓敏 (皖南医学院)

吴 敏 (皖南医学院) 汪全海 (皖南医学院)

陈 晴 (皖南医学院) 金晓梅 (皖南医学院)

胡天寒 (皖南医学院) 钟树志 (皖南医学院)

彭彦霄 (皖南医学院)

中国科学技术大学出版社

内 容 简 介

本教材可供高等医学院校基础、临床、护理、预防、口腔等医学专业使用,全书分为组织学、胚胎学两大部分,共 26 章。其中组织学部分 19 章,主要包括:组织学绪论;上皮组织;结缔组织;血液和淋巴;软骨和骨;肌组织;神经组织;神经系统;眼和耳;循环系统;皮肤;免疫系统;内分泌系统;消化管;消化腺;呼吸系统;泌尿系统;男性生殖系统;女性生殖系统。胚胎学部分 7 章,主要包括:胚胎学绪论;胚胎发生总论;颜面和四肢的发生;消化系统和呼吸系统的发生;泌尿系统和生殖系统的发生;心血管系统的发生;神经系统的发生。

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学/钟树志,彭彦霄主编. —3 版. —合肥:中国科学技术大学出版社,2015. 8
ISBN 978-7-312-03835-8

I. 组… II. ①钟… ②彭… III. ①人体组织学—医学院校—教材 ②人体胚胎学—医学院校—教材 IV. R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 188729 号

出版 中国科学技术大学出版社

安徽省合肥市金寨路 96 号,230026

<http://press.ustc.edu.cn>

印刷 合肥华星印务有限责任公司

发行 中国科学技术大学出版社

经销 全国新华书店

开本 787 mm×1092 mm 1/16

印张 16.75

字数 420 千

版次 2010 年 9 月第 1 版 2015 年 8 月第 3 版

印次 2015 年 8 月第 4 次印刷

印数 12 001—17 000 册

定价 55.00 元

前言

为适应我国当前医学教育的发展趋势以及本学科的新进展,我们根据“创新、实用、简明、内容先进”的宗旨,在秉承皖南医学院组织学与胚胎学教研室几代优秀教师的教学经验和编写心得的基础上,编写了此书。

在编写过程中,根据国家卫生部颁发的组织学与胚胎学教学大纲的要求,参考国内外本专业最新权威教科书及相关文献,结合对以往教材编写中存在的问题与不足的认识,力求做到概念准确,简明扼要,淡化专业,突出与其他相关课程接轨的知识,同时,尽可能反映学科的新进展。

作为形态学教科书,插图质量是至关重要的。本书所有章节都配有数量不等的彩色图片,能用实物照片的尽可能用实物照片,模式图也尽可能采用加色的彩色图片,力求使知识图谱化,便于学生理解和记忆。

各位编者在编写过程中,广泛参阅了多种相关教科书,受到许多启发,借鉴了它们成功的经验和先进的做法。姚建设老师在本书编写之初曾传授过许多宝贵的经验和提出过很多有益的建议;汤美蓉教授和吴学平博士虽然没有参与本版教材的编写,但是为本书的顺利出版做出了许多前期贡献;中国科学技术大学出版社为本书的出版提供了全方位的合作;本版教材的编写也得到了皖南医学院院校以及教务处各级领导的一贯支持,在此一并表示感谢!

由于水平所限,谬误疏漏在所难免。恳请广大师生及读者批评指正,以便再版修正,并预致谢意。

编者

2015年5月

目 录

■ 前言 / i

组 织 学

■ 第一章 组织学绪论 / 3

- 第一节 组织学的定义及研究内容 / 3
- 第二节 组织学在医学中的地位和意义 / 4
- 第三节 组织学的学习方法 / 4
- 第四节 组织学的发展简史 / 5
- 第五节 组织学技术简介 / 6

■ 第二章 上皮组织 / 11

- 第二节 腺上皮和腺 / 15
- 第三节 细胞表面的特化结构 / 16

■ 第三章 结缔组织 / 21

- 第一节 疏松结缔组织 / 22
- 第二节 致密结缔组织 / 28
- 第三节 脂肪组织 / 28
- 第四节 网状组织 / 29

■ 第四章 血液和淋巴 / 31

- 第一节 血液 / 31
- 第二节 淋巴 / 37
- 第三节 血液有形成分的发生 / 37

■ 第五章 软骨和骨 / 42

- 第一节 软骨 / 42
- 第二节 骨 / 44
- 第三节 骨的发生 / 47

■ 第六章 肌组织 / 52

- 第一节 骨骼肌 / 52
- 第二节 心肌 / 57
- 第三节 平滑肌 / 59

■ 第七章 神经组织 / 61

- 第一节 神经元 / 61
- 第二节 神经胶质细胞 / 66
- 第三节 神经纤维 / 69
- 第四节 神经末梢 / 71

■ 第八章 神经系统 / 75

- 第一节 周围神经系统 / 75
- 第二节 中枢神经系统 / 76

■ 第九章 眼和耳 / 85

- 第一节 眼 / 85
- 第二节 耳 / 88

■ 第十章 循环系统 / 92

- 第一节 毛细血管 / 92
- 第二节 动脉 / 94
- 第三节 静脉 / 96
- 第四节 微循环 / 97
- 第五节 心脏 / 98
- 第六节 淋巴管系统 / 101

■ 第十一章 皮肤 / 102

- 第一节 皮肤的结构 / 102

- 第二节 皮下组织 / 106
 第三节 皮肤的附属器 / 106
- 第十二章 免疫系统 / 110
 第一节 免疫细胞 / 110
 第二节 淋巴组织 / 111
 第三节 淋巴器官 / 112
- 第十三章 内分泌系统 / 121
 第一节 甲状腺 / 121
 第二节 甲状旁腺 / 123
 第三节 肾上腺 / 124
 第四节 垂体 / 125
 第五节 松果体 / 128
 第六节 弥散神经内分泌系统 / 128
- 第十四章 消化管 / 130
 第一节 消化管壁的一般结构 / 130
 第二节 口腔与咽 / 131
 第三节 食管 / 134
 第四节 胃 / 136
 第五节 小肠 / 139
 第六节 大肠 / 141
 第七节 消化管的淋巴组织 / 142
 第八节 胃肠的内分泌细胞 / 143
- 第十五章 消化腺 / 145
 第一节 大唾液腺 / 145
 第二节 胰腺 / 147
 第三节 肝 / 149
 第四节 胆囊和胆管 / 152
- 第十六章 呼吸系统 / 154
 第一节 鼻腔 / 154
 第二节 气管和主支气管 / 155
 第三节 肺 / 157
- 第十七章 泌尿系统 / 161
 第一节 肾 / 161
 第二节 排尿管道 / 168
- 第十八章 男性生殖系统 / 170
 第一节 睾丸 / 170
 第二节 生殖管道 / 174
 第三节 附属腺 / 175
 第四节 阴茎 / 176
- 第十九章 女性生殖系统 / 177
 第一节 卵巢 / 177
 第二节 输卵管 / 180
 第三节 子宫 / 181
 第四节 阴道 / 183
 第五节 乳腺 / 184

胚胎学

- 第二十章 胚胎学绪论 / 189
 第一节 胚胎学的内容和意义 / 189
 第二节 学习方法 / 189
- 第二十一章 胚胎发生总论 / 191
 第一节 生殖细胞和受精 / 191
 第二节 胚泡形成和植入 / 193
 第三节 胚层的形成 / 196
 第四节 三胚层的分化 / 198
 第五节 胚体形成及其外形的变化 / 202
- 第六节 胎膜和胎盘 / 203
 第七节 胚胎各期外形特征和胚胎龄的推算 / 207
 第八节 双胎、多胎和联胎 / 208
- 第二十二章 颜面和四肢的发生 / 211
 第一节 颜面、腭和颈的发生 / 211
 第二节 四肢的发生 / 216

■ 第二十三章 消化系统和呼吸系统的
发生 / 218

第一节 消化系统的发生 / 218

第二节 呼吸系统的发生 / 225

■ 第二十四章 泌尿系统和生殖系统的
发生 / 228

第一节 泌尿系统的发生 / 228

第二节 生殖系统的发生 / 232

■ 第二十五章 心血管系统的发生
/ 239

第一节 原始血液循环的建立 / 239

第二节 心脏的发生 / 241

第三节 胎儿血液循环及出生后的变
化 / 246

第四节 常见畸形 / 248

■ 第二十六章 神经系统的发生 / 251

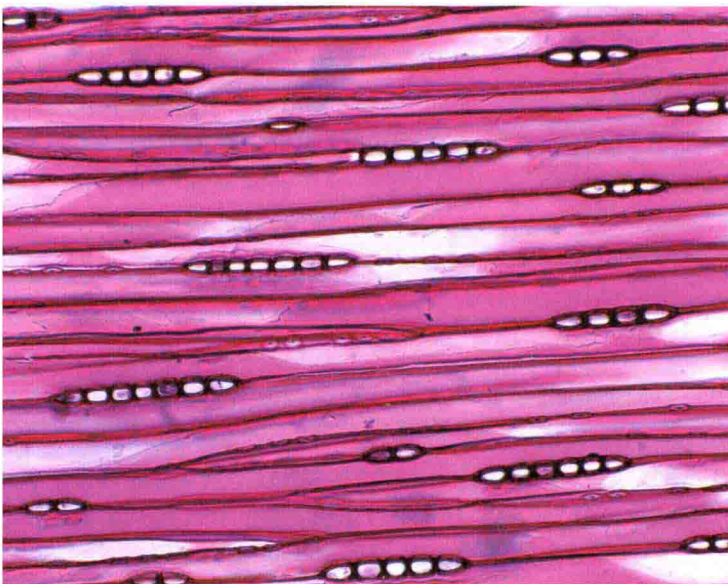
第一节 中枢神经系统的发生 / 251

第二节 周围神经系统的发生 / 254

第三节 垂体、松果体和肾上腺的发
生 / 255

第四节 常见畸形 / 256

组 织 学



第一章

组织学绪论

第一节 组织学的定义及研究内容

组织学(histology)是研究机体微细结构及其相关功能的科学。组织学与解剖学同属形态科学。解剖学用肉眼观察机体,在系统和器官水平上研究其形态结构;而组织学是在解剖学的基础上,从宏观向微观发展,进一步用光学显微镜(light microscope,简称光镜)及电子显微镜(electron microscope,简称电镜)从组织、细胞、亚细胞和分子水平上对机体进行研究,故又称**显微解剖学**(microscopical anatomy)。光镜下所见的结构称为**光镜结构**,电镜下可辨认的结构称为**电镜结构**或**超微结构**。

细胞(cell)是人体结构和功能的基本单位,是组织和器官的结构基础。人体内有为数繁多的细胞,一个成人约有 1×10^{15} 个细胞,形态和功能也千差万别。细胞是由细胞膜、细胞质和细胞核三部分构成的,不同的细胞有各自的亚细胞结构特点。所有的亚细胞结构又是由各种分子构成的,其中的生物大分子特别是核酸与蛋白质是决定细胞的形态和功能的主要因素。关于普通细胞学的内容,在医学细胞生物学中会详细介绍。

组织(tissue)是由细胞群和细胞外基质构成的。细胞外基质是位于细胞之间的生活物质,是细胞在生命活动过程中分泌产生的,包括纤维、基质及其体液成分(组织液、血浆、淋巴液),构成细胞生存的微环境,对细胞具有支持、营养和保护等作用,同时也是维持细胞增殖分化和功能活动的重要场所。根据细胞和细胞外基质的特点,人体组织可归纳为四大类型,即**上皮组织**、**结缔组织**、**肌组织**和**神经组织**,它们在胚胎时期的发生来源、细胞构成、形态特点及功能等方面各有明显特征,在机体中有一定的分布规律,执行着一定的功能。这四种组织是构成各种器官的基本成分,故又称它们为**基本组织**。

器官(organ)是由四大基本组织以不同的种类、数量和方式组合形成的相对独立的结构,如心、肝、脾、肺、肾等。每一器官在机体内执行特定的功能。

根据结构的不同,人体器官主要可分**中空性器官**和**实质性器官**两大类。中空性器官中央有管腔,管壁分层。腔面衬有上皮,周围有结缔组织及成层排列的肌组织,最外层为外膜。如循环系统的心脏、血管;消化系统的胃、肠等。实质性器官表面通常有致密结缔组织的被膜包裹,器官内的体现功能活动的主要结构形成实质,如肾脏的肾单位,淋巴结的实质等。

系统(system)是由一系列功能相关的器官联合在一起构成的。如消化系统、呼吸系统、泌尿系统、生殖系统等。每个系统在机体内执行一定的相对独立的生理功能。各个系统密切联系,共同构成一个完整而复杂的机体。

因此,在机体内有系统、器官、组织、细胞、亚细胞及分子等不同水平的各级结构。这些结构彼此相互影响,相互依存,既有一定的独立性,又有严密而完整的统一性。它们在神经内分泌系统的支配和协调下,有条不紊地进行着各种生命活动。

第二节 组织学在医学中的地位和意义

组织学和人体解剖学、生理学、生物化学、病理学一样,是医学中最重要的基础学科之一。只有深入了解机体的结构才能透彻阐明其功能。组织学的发展促进了生理学和生物化学的进步,同时组织学也是病理学的基础,不掌握正常的组织结构,也就无法鉴别病理学中形态结构的变化特点,因此对于医科学生而言,掌握组织学的基本知识和读片技能,是学好生理学、生物化学和病理学的前提和必要条件。

组织学在临床医学各课程的学习中也是必要的,没有掌握正常人体微细结构及功能知识,就难以深入地了解发病的机制。如临床上常见的糖尿病,其发病机制和治疗原则就涉及胰岛细胞的类型、结构和功能等组织学理论。临床上的诊断、检查等也越来越多地采用组织学的方法,如观察血液和骨髓的涂片有助于诊断某些疾病,这只有在掌握血液及骨髓细胞的正常形态结构的基础上才有可能进行。随着科学技术的进步,各门学科的飞跃发展,各学科之间互相渗透和联系更加密切,出现了不少边缘科学,如组织化学、分子生物学、分子遗传学等,都渗透着组织学的理论和知识。因此,组织学是一门重要的基础科学。

第三节 组织学的学习方法

组织学是一门医学基础课,学好组织学,就能为学习其他基础医学和临床医学学科创造条件。要想学好组织学,除了勤奋学习之外,如能掌握该学科的特点,注意学习方法,将收到事半功倍的效果。现将学习组织学时应注意的一些方法介绍如下。

一、形态与功能相结合

组织学是以研究形态为主,兼顾功能的学科,在学习时应以掌握形态结构为主。但学习形态结构时,不应忽视它的功能。结构是功能的基础,功能的变化也会对结构产生影响。没有结构的功能和没有功能的结构都是不存在的。因此,联系功能才能深入地理解结构的特点及规律,也才能学得灵活、主动。所以,形态与功能相结合,是学习组织学的基本方法。

二、理论与实践相结合

组织学理论来源于无数学者的实践,一旦理论建立之后,又反过来指导实践。在学习时既要重视理论知识,又要重视实际的操作和观察,二者不可偏废。在课堂上学习理论知识时,应结合图片、模型等,以帮助理解;在上实验课时,更应仔细观察每一张组织切片标本,结合图谱及书本理论,反复思考,使切片上的感性认识和课堂理论结合起来。这样,不但可以加深理解,增强记忆,而且还可培养现代医学生独立思考和实际工作能力。

三、局部与整体相结合

学习组织学时,把人体分为细胞、组织、器官和系统等不同层次。它们是人体不可分割的组成部分。因此,决不可孤立地去理解它们的结构和功能,而应从整体的观念去分析。如心、肝、脾、肺、肾等器官是人体的不同局部,没有这些功能活动多样的局部,难以想象会有复

杂而统一的整体。它们之间既有内在的联系,又受整体的调节与控制,明确局部与整体的关系,将两者结合起来,才能避免片面性。

四、平面与立体相结合

细胞、组织和器官都是立体的,而插图、切片等多是平面图像。由于切片的部位和方向不同以及染色方法的差异,同一结构可以出现不同的图像。因此,在学习时要求观察者发挥自己的想象力,将所看到的二维图像还原为事物本身的三维构象。这样,才能掌握完整的结构并培养其空间思维。

五、横向与纵向相结合

组织学分为**基本组织和器官、系统**两部分来学习。学习基本组织是为掌握器官、系统打基础,而学习器官、系统时,必需联系运用基本组织的知识,从而可巩固和加深基本组织的内容。在学习时应找出细胞、组织、器官、系统之间的个性和共性,将纵向知识与横向知识相结合,进行分析、对比,就能抓住事物的本质,对各种结构融会贯通。如三种肌组织之间,动脉静脉之间,各段消化管器官之间,既有本身的结构特点,又有一定的共同结构基础。注意横向和纵向的联系对比,就能理解透彻,更能加深记忆。

第四节 组织学的发展简史

组织学的发展与科学技术发展密切相关。光学显微镜(LM)是16世纪末于荷兰发明。1665年英国人**虎克**(R. Hooke)用最简单的显微镜观察软木塞薄片,发现一些蜂房状的空腔结构,他将这些空腔命名为细胞(cell)。实际上,这些空腔仅是植物的细胞壁,但却从此开创了用显微镜研究生物构造的先河。此后由于显微镜的改进以及切片、染色方法的建立,人们对细胞结构的认识不断完善。1838年植物学家**施莱登**(M. J. Schleiden)及1839年动物学家**施万**(T. Schwann)分别发现植物和动物都是由细胞组成的,细胞是动物和植物共同的结构基础。于是,建立了“**细胞学说**”的理论,揭开了机体结构的奥秘,推动了组织学的发展。1856年德国病理学家**微尔啸**(R. L. K. Virchow)发表了《细胞病理学》,认为有机体是由许多细胞组成的,细胞是机体的结构和功能单位。这就大大地丰富了“细胞学说”的理论,对生物学和医学的发展起到了很大作用。

1932年德国人**卢斯卡**(E. Ruska)和**科诺尔**(M. Knoll)发明了电子显微镜(EM)。虽然当时只能放大12倍,但却打开了电子光学的大门。由于电镜性能的逐步提高、**超薄切片机**和**包埋技术**的改进,陆续发现了许多新的超微结构,澄清了许多光镜所不能解决的遗留问题,大大更新和丰富了组织学的内容。目前,**透射电镜**可将物像放大几十万倍,同时又研制出扫描电镜,创造了冰冻蚀刻等新技术,使组织学的发展进入一个新的纪元。

20世纪30年代以后,随着科学的不断进步,新的技术方法不断出现,如组织化学技术、免疫细胞化学技术、组织培养术、细胞融合术、显微放射自显影术、荧光标记和激光技术、形态计量法等。组织学运用这些技术方法后,内容不断充实,研究领域不断扩大,于是形成了许多互相渗透的新兴的边缘科学,如**机能组织学**、**免疫组织化学**、**分子生物学**、**细胞遗传学**、**神经内分泌学**、**生物体视学**等,它们丰富了组织学的内容,促进了医学科学的进一步发展。

新中国成立后,我国的组织学也取得了很大的进步,这与老一辈组织学家的辛勤工作有关。如马文昭教授(1886~1965)在卵磷脂方面的工作,鲍鉴清教授(1893~1982)在组织培养及细胞解剖术等方面的研究,王有琪教授(1889~1995)在神经系统结构及其联系方面的工作,张作干教授(1907~1969)在组织化学方面的研究,郑国章教授(1920~1979)在神经组织方面的工作都作出了显著的贡献。老一辈组织学家为学科建设、科学研究和人才培养打下了坚实的工作基础,现在又有一批年富力强的组织学工作者,正在各自的岗位上从事组织学的教学和科研工作,新的成果不断涌现,必将推动组织学更进一步地向前发展。

第五节 组织学技术简介

在组织学的学习和研究中,主要用显微镜进行观察。在光镜下组织结构长度的常用单位为微米(μm),电镜常用单位为纳米(nm)。

$$1\ \mu\text{m} = 1/1\ 000\ \text{mm}, \quad 1\ \text{nm} = 1/1\ 000\ \mu\text{m}$$

组织学与解剖学原是一门学科,因显微镜的发明、人体微细结构的知识越来越丰富,于是组织学便脱离解剖学而成为独立的学科。由于科学技术不断发展,新的研究方法不断出现,组织学的发展呈突飞猛进的趋势。现将组织学常用的研究技术,简要地介绍如下。

一、普通光学显微镜术

光学显微镜(LM)仍是目前观察人体微细结构的主要工具,是用于光镜观察的标本制作方法,也是研究组织学最基本的方法。石蜡切片术(paraffin sectioning)是经典而最常用的技术。其基本程序为:

1. 取材和固定

用蛋白质凝固剂(常用甲醛)固定新鲜的组织块(多不超过 $1.0\ \text{cm}^3$ 大小),可以在很大程度上保存组织的原本结构。

2. 脱水和包埋

把固定好的组织块用酒精脱尽其中的水分。由于酒精不溶于石蜡,故再用二甲苯置换出组织块中的酒精,然后将组织块置于融化的石蜡中,让蜡液浸入组织细胞,待冷却后组织便具有了石蜡的硬度。

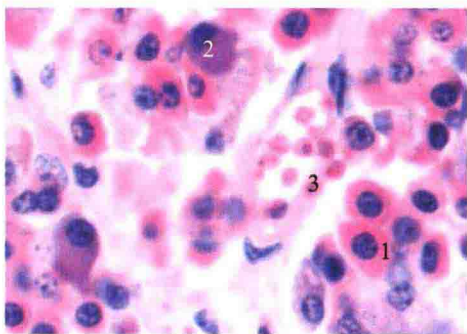


图 1-1 垂体远侧部光镜 HE 染色(皖医图)
1. 嗜酸性细胞 2. 嗜碱性细胞 3. 充满红细胞的血窦

3. 切片和染色

将包有组织的蜡块用切片机切为 $5\sim 10\ \mu\text{m}$ 的薄片,贴于载玻片上,脱蜡后进行染色,以提高组织成分的反差,利于观察。最常用的是苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining),简称 HE 染色法。苏木精染液为碱性,主要使细胞核内的染色质与胞质内的核糖体着紫蓝色;伊红为酸性染料,主要使细胞质和细胞外基质中的成分着红色。易于被碱性染料着色的性质称为嗜碱性(basophilia),易于被酸性染料着色的性质称为嗜酸性(acidophilia)(图 1-1)。

4. 封片

切片经脱水等处理后,滴加树胶,用盖玻片密封保存。

除石蜡切片外,在制作较大组织块(如眼球、脑)的切片时,常用火棉胶包埋。在要进行某些组织化学反应的标本,为保存蛋白质(包括酶)的结构和活性,常把组织块经液氮(-196°C)冷冻后,用恒冷箱切片机制片(冰冻切片)。此外,可将液体成分如血液(血细胞)、骨髓(骨髓细胞)及脱落细胞直接涂于玻片上(涂片);将疏松结缔组织或肠系膜等柔软组织撕成薄片铺在载玻片上(铺片);骨和牙等坚硬组织可磨为薄片(磨片)。经固定染色后即可在光镜下进行观察。

除 HE 染色法外,还有许多种染色方法,能特异性地显示某种细胞、或细胞外基质成分、或细胞内的某种结构。有时将组织用硝酸银浸润,有些细胞能将硝酸银还原,使银粒附于细胞上而呈现棕黑色,这些细胞称为**亲银细胞**(argentaffin cell)。有些细胞本身无还原硝酸银的能力,但在加入还原剂后,可使银粒沉淀于细胞上而呈棕黑色,这种细胞称为**嗜银细胞**(argyrophilic cell)。网状纤维也有这种嗜银性,故又称**嗜银纤维**(argyrophilic fiber)。

二、电子显微镜术

光镜的分辨率(指能够分辨两点之间的最小距离,分辨两点之间的距离越小,其分辨率越高)最高只能达到 $0.2\text{ }\mu\text{m}$,小于此限度的结构便不能辨认,这就阻碍了对组织结构的深入了解。电子显微镜问世后,组织学进入了一个新的领域。目前电镜的分辨率可达 0.2 nm ,可将组织放大几万倍到几十万倍。

1. 透射电子显微镜术

透射电子显微镜(transmission electron microscope,简称**透射电镜**,TEM)使用最为普遍,通常所说的电镜即指透射电镜。电镜标本一般用戊二醛或锇酸固定,合成树脂包埋,用超薄切片机进行超薄切片,用铅或铀等重金属的盐染色,在电镜下摄片观察。凡组织结构被重金属盐染色的部位,图像较暗,称为**电子密度高**(electron-dense);反之,则称为**电子密度低**(electron-lucent)。

石蜡中,蜡液浸入组织细胞,待冷却后组织便具有了石蜡的硬度。

2. 扫描电子显微镜术

扫描电子显微镜(scanning electron microscope,简称**扫描电镜**,SEM)观察的样品不需包埋和切片,标本经固定、脱水、干燥后,表面喷涂金属膜,即可进行观察。扫描电镜主要观察组织和细胞的表面立体结构,如微绒毛、纤毛以及细胞的分泌和吞噬活动等。其特点是视场大,景深长,图像富于立体感(图 1-2)。

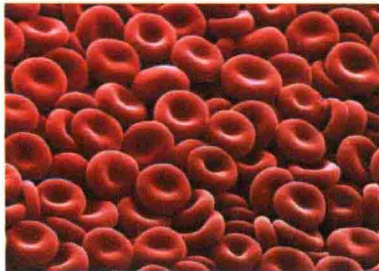


图 1-2 红细胞扫描电镜图

3. 冷冻蚀刻复型术

冷冻蚀刻复型术(freeze etch replica method)是在透射电镜下研究膜相结构的一种方法。标本经过骤冷、断裂、蚀刻、镀铂、复型、腐蚀等步骤,将生物膜的类脂双分子层的疏水层断开,制成铂碳复型膜。因此,本法所观察的不是标本本身,而是由标本断面制成的复制品,可以了解蛋白质在膜上的分布以及膜相结构和功能的变化。

三、组织化学和细胞化学

组织化学(histochemistry)和**细胞化学**(cytochemistry)是利用化学、物理、生物化学、免疫学或分子生物学的原理和技术,在不破坏组织、细胞结构的基础上,对组织和细胞内所含的物质进行定性、定位及定量的研究,以了解结构和功能的密切联系。

1. 一般组织化学与细胞化学

本技术是在切片上加某些化学试剂与组织、细胞中的某些物质发生化学反应,然后使其最终产物在原位形成有色沉淀或重金属沉淀,在镜下观察这些沉淀物色泽的深浅及颗粒的大小而判断此物质的数量及位置。这种方法可显示组织、细胞中的蛋白质、酶、糖类、脂肪及核酸等物质。

如用过碘酸希夫反应(periodic acid Schiff reaction, **PAS 反应**)可显示组织和细胞中的聚糖。过碘酸可将聚糖氧化形成醛基。醛基与无色的 Schiff 试剂结合,而形成紫红色沉淀。凡切片在反应后呈现紫红色产物的部位,即称 PAS 阳性,表示该部位有聚糖存在。颜色的深浅与组织中的醛基数量有关,由此断定聚糖的含量。

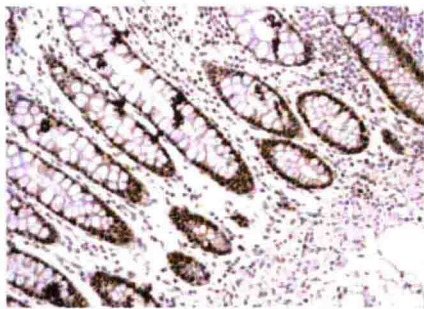


图 1-3 结肠光镜 免疫组织化学染色

2. 免疫组织化学(immunohistochemistry)

免疫组织化学是根据抗原与抗体特异性结合的原理,以检测组织、细胞中的多肽、蛋白质等具有抗原性的大分子物质的技术。先将被检测的物质作为抗原(antigen),注入不具备这种抗原的动物体内,将产生对抗该物质的抗体(antibody)。从动物的血液中提取这种抗体,用铁蛋白或辣根过氧化物酶等进行标记。以标记的抗体作用于被检组织切片,组织中的抗原与标记的抗体发生特异性结合,切片中标记物出现的部位,即为被检物质(抗原)的分布部位。

如用铁蛋白标记的可在电镜下观察,如用辣根过氧化物酶标记的,再经过组织化学显色后,可在光镜或电镜下观察。免疫组织化学是组织化学的组成部分,具有特异性强、灵敏度高、定位精确、不损害组织等优点,发展非常迅速。目前已广泛应用于基础医学和临床医学的研究,受到世界生物科学和医学界的重视(图 1-3)。

3. 原位杂交术(in situ hybridization)

原位杂交术即核酸分子杂交组织化学术。它是在免疫细胞化学的基础上,从分子水平探讨细胞功能的表达及其调节机制。其原理是根据核酸两条单核苷酸链碱基配对原则,应用带标记物的已知碱基顺序的核酸探针(probe)与细胞内待测核酸结合,即杂交。再通过对标记物的显示和检测,从而获知待测核酸的有无及相对量。目前常用标记物有 ^{35}S 、 ^{32}P 、 ^3H 等放射性核素和荧光素、生物素、地高辛(一种小分子药物,经免疫组织化学处理后观察)等非放射性物质。原位杂交的敏感性及其特异性很高,在分子生物学中已广泛应用于检测基因(DNA 片段)的有无,以及在转录水平检测基因的活性(mRNA)。

四、放射自显影术

放射自显影术(autoradiography)旨在通过活细胞对放射性物质的特异性摄入以显示该

细胞的功能状态或该物质在组织和细胞内的代谢过程。首先,将放射性核素或放射性核素标记的物质注入体内,间隔一定时间后取材、制备切片,并在其上涂以薄层感光乳胶,置暗处曝光,再显影、定影。这样,在放射性核素或其标记物存在的部位,溴化银被还原为黑色的微细银粒,可在光镜或电镜下观察,从而获知被检物质在组织和细胞中的分布及相对含量。在注入核素标记物后,如果有规律地在若干时间段取材,则可观察到被检物质的动态分布变化过程。例如将 ^3H 标记的胸腺嘧啶核苷注入体内,以研究细胞的 DNA 合成及其增殖状态。将 ^{125}I 注入人体内,观察碘在甲状腺滤泡内的碘化部位。近年来,鉴于放射性核素可能对环境的污染,此方法正逐渐被安全的体内标记和示踪法所取代。

五、图像分析术

图像分析术(image analysis)又称形态计量术(morphometry),是应用数学和统计学原理对组织切片提供的平面图像进行分析,从而获得立体的组织和细胞内各种有形成分的数量、体积、表面积等参数,如肺泡的数量和表面积、肾小体的数量和体积、胰岛的数量及其各类细胞的百分比等,这些数值从量的角度显示了结构与功能的关系。传统的方法是把规则的测试系统(点、线、方格等)投影或覆盖在切片或照片上,将平面的测量数据按数学公式推算出立体结构数值。目前广泛应用的图像分析仪可快速准确地测量组织切片和电镜照片中的微细结构,通过软件程序获得各项数据。也可以测量组织化学染色切片,根据染色深浅而提供该物质含量的相对数值。另外,根据连续的组织切片应用计算机进行三维重建,以获得可供研究的微细结构的立体模型,这部分内容称为**体视学**(stereology)。

六、细胞培养术和组织工程

1. 细胞培养术(cell culture)

细胞培养术是把从机体取得的细胞在体外模拟体内的条件下进行培养的技术。如果培养的是组织块、器官的较大部分或全部,则分别称为组织培养术和器官培养术。但组织块和器官难于长久培养,故以细胞培养开展得最为广泛。体外培养,及用体外培养物进行的实验常简称为 in vitro(在体外)。培养条件包括适宜的营养、生长因子、pH 值、渗透压、 O_2 和 CO_2 浓度、温度等,还须严防微生物污染。培养液用含有各种营养成分的人工合成培养基配制,内加 5%~10% 的胎牛血清,后者含多种生长因子。

培养的细胞除少数种类(如淋巴细胞)悬浮于培养液中,一般都贴在培养瓶壁上生长。首次从体内取出的细胞进行培养,称**原代培养**。当细胞增殖、长满瓶壁时,必须将其按一定比例分散到若干个瓶中继续培养,此称**传代培养**。经长期培养而成的细胞群体,称**细胞系**(cell line)。有的细胞系经一定传代次数培养后死亡,有的则可无限地传代培养,后者多为肿瘤细胞,或正常细胞发生了基因突变。从细胞系中选择单个细胞进行培养,所形成的细胞群体称**细胞株**(cell strain)。著名的 HeLa 细胞株便是 1952 年用一位美国非洲裔妇女的宫颈癌细胞培养形成的,目前仍在世界各地的实验室中被广泛应用(图 1-4)。

对贴壁培养的细胞需用相差显微镜观察,也可用显

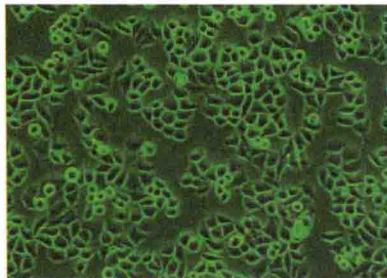


图 1-4 HeLa 细胞相差显微镜 荧光

微录像或显微摄影连续记录细胞的生长过程。前述各种组织学技术在此均有用武之地。体外培养的细胞、组织或器官不仅可用于研究其代谢、增殖、分化、形态和功能变化,还可研究各种理化因子(激素、药物、毒物、辐射等)对活细胞的直接影响,获得体内实验难以达到的简便、迅捷的效果。但是由于体外培养环境和体内环境的差异,体外实验结果不能简单地用于体内。



图 1-5 人工皮肤

2. 组织工程(tissue engineering)

组织工程是用细胞培养术在体外模拟构建机体组织或器官的技术,旨在为器官缺损患者提供移植替代物。目前正在研究构建的组织器官主要有皮肤、软骨、骨、肌腱、骨骼肌、血管、角膜等。其中以组织工程皮肤较为成功,已成为商品用于治疗烧伤、皮肤静脉性溃疡等疾病(图 1-5)。

组织工程技术包括四个方面:① 生长旺盛的细胞,也称种子细胞,多为各种组织的干细胞;② 细胞外基质,可用生物材料(如牛胶原)和无毒、可被机体吸收的人工合成高分子材料;③ 构建组织或器官,即把细胞置于细胞外基质中进行三维培养,并形成所需要的形状;④ 将构建物移植机体的方法。

临床知识与实验进展

随着社会的进步,科技的蓬勃发展,人类对生命质量和预期寿命也有了更高的期望。拥有一个健康、幸福、快乐的生命周期是每一个人的梦想。但传统的治疗手段对肿瘤等顽疾产生的副作用让很多的患者痛苦不堪。

细胞治疗是近几年兴起的疾病治疗新技术。细胞作为一个独立的生命体,它具有很强的生命力、增殖分化能力和功能的可塑性能力。利用某些具有特定功能的细胞的特性,采用生物工程方法获取,通过体外扩增、特殊培养等处理后,使这些细胞具有增强免疫、杀死病原体 and 肿瘤细胞、促进组织器官再生和机体康复等治疗功效,从而达到治疗疾病的目的。

细胞治疗以其疗效良好,副作用小,更个体化、个性化等独特的优势,为一些难治性疾病的治疗提供了一种选择,有时甚至是最后的选择。21 世纪将是细胞治疗发挥重要作用的时代。

(金晓梅)