



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材
供临床、基础、预防、检验、药学、口腔、护理等专业用

组织学与胚胎学 第6版

主编 邵淑娟



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



国家卫生和计划生育委员会“十二五”规划教材

供临床、基础、预防、检验、药学、口腔、护理等专业用

组织学与胚胎学

第6版

主 编 邵淑娟

副主编 陈 东 李 和 周德山 张际绯 胡 军

主 审 金连弘 杨佩满

编 委 (以姓氏笔画为序)

于丽君 (大连医科大学)

王世鄂 (福建医科大学)

王景霞 (佳木斯医学院)

文建国 (中南大学)

朱永红 (中山大学)

刘 霞 (辽宁医学院)

刘佳梅 (吉林大学)

刘厚奇 (第二军医大学)

刘慧雯 (哈尔滨医科大学)

孙丽慧 (齐齐哈尔医学院)

李 和 (华中科技大学)

李 臻 (第四军医大学)

李淑波 (北华大学)

张 琳 (南方医科大学)

张 雷 (河北医科大学)

张际绯 (牡丹江医学院)

陈 东 (广东医学院)

陈 伟 (遵义医学院)

邵淑娟 (大连医科大学)

周国民 (复旦大学)

周德山 (首都医科大学)

郝立宏 (大连医科大学)

胡 军 (大连医科大学)

程 欣 (暨南大学)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

组织学与胚胎学 / 邵淑娟主编. —6 版. —北京: 人民卫生出版社, 2015

ISBN 978-7-117-21199-4

I. ①组… II. ①邵… 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. ①R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 189515 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

组织学与胚胎学

第 6 版

主 编: 邵淑娟

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 22

字 数: 549 千字

版 次: 1997 年 7 月第 1 版 2015 年 11 月第 6 版

2015 年 11 月第 6 版第 1 次印刷 (总第 24 次印刷)

标准书号: ISBN 978-7-117-21199-4/R · 21200

定 价: 76.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前言

本版教材是在第5版“十一五”规划教材的基础上,进一步扩大编写队伍,组织全国组织学与胚胎学领域有丰富教学经验的专家教授编写而成的,其影响力日趋扩大。

本教材的编写可追溯到30年前,在东北三省组织学与胚胎学界前辈尹昕教授、王彦教授、刘强教授和郑怀组教授等积极倡导下,由东北三省组织学与胚胎学界同仁精诚合作编写而成。此后经过5届主编和编委的共同努力,教材形成了自己的特色和风格,成为东北三省高等医药院校组织学与胚胎学专业的的主要教材。特别是第4版教材,因其在精炼教材内容、突出基本理论、重视图片质量等方面表现突出而备受国内同行、出版界和医学生的青睐,为第5版教材被原卫生部教材办公室遴选为“十一五”规划教材奠定了坚实的基础。

在医学教育综合改革的今天,承接第6版教材的编写工作,我们深感责任的重大,这里也特别感谢出版社领导给予我们的高度信任。怀着强烈的使命感,我们反复斟酌,特别关注这部教材的4个特性:①追求教材内容的凝练性:严格界定本部教材为本科教材,适用于临床医学及相关专业的学生。紧紧围绕五年制医学生的培养目标,进一步精炼教学内容,着重基本理论的介绍,适当地联系医学实践和本学科的研究进展,为课程的整合奠定基础。②追求教材内容的先进性:注意胚胎学与发育生物学新进展的衔接,适当增加胚胎发育分子机制的内容。③追求教材的直观性:尽可能地使用实物图,使形态学内容更直观,更实际,优化图片质量。④追求编写团队优秀性。为保证教材的先进性,本教材吸收了活跃在教学一线的名师名家参与教材的编写,优秀的团队保证了教材内容的高水准完成。

本教材从组织编写到出版得到了参编院校领导,特别是大连医科大学及其教务处领导的大力支持和帮助,在此深表谢意。这里也特别感谢两位主审金连弘教授和杨佩满教授对我本人的大力支持、帮助和指导。在本书编写和出版过程中,大连医科大学组织学与胚胎学教研室同事们付出了辛勤劳动,在此一并致谢。

本书定稿之际,充满了对各位编委的感激之情,大家凭着对教育的满腔热忱和对学生的无比挚爱,热心地投入到本部教材的编写之中。同时,为了再版时进一步提高本书质量,恳请各位读者多多指教。

邵淑娟

大连医科大学

2015年4月

目 录

第1章 绪论	1
一、组织学的研究内容与意义	1
二、组织学发展简史	2
三、组织学的研究方法	3
四、组织学的学习方法	9
第2章 上皮组织	11
一、被覆上皮	11
二、腺上皮与腺	18
三、上皮组织的更新与再生	20
第3章 固有结缔组织	22
一、疏松结缔组织	22
二、致密结缔组织	28
三、脂肪组织	29
四、网状组织	30
第4章 软骨和骨	31
一、软骨	31
二、骨	33
第5章 血液、淋巴与血细胞发生	39
一、血液	39
二、血细胞的发生	44
三、淋巴	47
第6章 肌组织	48
一、骨骼肌	48
二、心肌	52
三、平滑肌	53
第7章 神经组织	55
一、神经元	55
二、突触	60
三、神经胶质细胞	62

四、神经纤维	64
五、神经	66
六、神经末梢	67
第8章 神经系统	71
一、大脑皮质	71
二、小脑皮质	73
三、脊髓	75
四、神经节	76
五、脑脊膜	77
六、血 - 脑屏障	78
七、脉络丛和脑脊液	79
第9章 循环系统	80
一、血管壁的一般结构	80
二、动脉	82
三、静脉	84
四、毛细血管	85
五、微循环	86
六、心脏	87
七、淋巴管系统	89
第10章 免疫系统	91
一、免疫细胞	91
二、淋巴组织	93
三、淋巴器官	94
第11章 消化管	102
一、消化管壁的一般微细结构	102
二、口腔	103
三、咽	105
四、食管	106
五、胃	106
六、小肠	110
七、大肠	113
八、消化管壁内的淋巴组织	114
九、消化管黏膜的内分泌细胞	115
十、消化管的血管、淋巴管和神经分布	115
第12章 消化腺	117
一、唾液腺	117
二、胰腺	118
三、肝	121
四、胆囊、胆囊管和胆总管	126

第 13 章 呼吸系统	127
一、鼻腔黏膜	127
二、喉	129
三、气管与支气管	129
四、肺	130
第 14 章 泌尿系统	135
一、肾	135
二、排尿器官	143
第 15 章 内分泌系统	144
一、甲状腺	144
二、甲状旁腺	146
三、肾上腺	147
四、垂体	150
五、松果体	154
六、弥散神经内分泌系统	155
第 16 章 皮肤	156
一、皮肤的组织结构	156
二、皮肤的附属器	160
三、皮肤的血管、淋巴管和神经	162
第 17 章 眼和耳	164
一、眼	164
二、耳	171
第 18 章 男性生殖系统	176
一、睾丸	176
二、生殖管道	181
三、附属腺	182
四、阴茎	183
第 19 章 女性生殖系统	184
一、卵巢	184
二、输卵管	189
三、子宫	189
四、阴道	193
五、乳腺	194
第 20 章 胚胎学绪论	195
一、胚胎学的研究内容及意义	195
二、胚胎学发展简史	196
三、胚胎学的研究方法	197
四、胚胎学的学习方法	198
第 21 章 人胚早期发育和胚龄的推算	199
一、生殖细胞的发生	199

二、受精	201
三、胚泡形成和植入	203
四、三胚层的形成	206
五、三胚层分化和胚体形成	208
六、孪生、多胎和联胎	212
七、胚胎龄的推算和胚胎各期外形特征	214
第 22 章 胎膜和胎盘	218
一、胎膜	218
二、胎盘	221
第 23 章 颜面、颈和口腔的发生	226
一、鳃器的发生和分化	226
二、颜面的发生	227
三、腭的发生	229
四、舌和牙的发生	231
五、颈部的发生	232
第 24 章 消化系统与呼吸系统的发生	234
一、消化系统的发生	235
二、呼吸系统的发生	241
第 25 章 泌尿系统和生殖系统的发生	243
一、泌尿系统的发生	243
二、生殖系统的发生	248
第 26 章 体腔与系膜的发生	255
一、体腔的发生	255
二、系膜的发生与演变	258
第 27 章 循环系统的发生	261
一、心血管系统的发生	261
二、淋巴系统的发生	272
第 28 章 神经系统及其相关内分泌腺的发生	274
一、神经系统的发生	274
二、垂体、松果体与肾上腺的发生	282
第 29 章 眼和耳的发生	284
一、眼的发生	284
二、耳的发生	287
第 30 章 骨骼和肌肉系统的发生	290
一、骨骼系统的发生	290
二、肌肉系统的发生	293
第 31 章 先天畸形	296
一、先天畸形的分类	296
二、先天畸形的发生原因	297
三、胚胎的致畸敏感期	299

四、先天畸形的预防和诊疗	300
第 32 章 胚胎发育的细胞和分子基础	302
一、胚胎形态发育的分子调控	302
二、胚胎发育中的细胞迁移	304
三、胚胎发育中的胚胎诱导	306
四、胚胎发育中的细胞信号转导	307
五、胚胎发育与凋亡	310
参考文献	313
中英文名词对照索引	315

第 1 章

绪 论



内容提要

1. 组织学的研究内容与意义
2. 组织学的研究方法
3. 组织学的学习方法

一、组织学的研究内容与意义

组织学(histology)是研究机体微细结构及其相关功能的科学,又称显微解剖学(microscopic anatomy)。所谓微细结构主要指光镜结构和电镜结构。光镜结构是指在光学显微镜下能分辨的微细结构,如细胞的细胞核、核仁、细胞质等。常用的度量单位是微米(μm),1微米=0.001毫米(mm)。电镜结构(electron microscopic structure)又称超微结构(ultrastructure),是指在电子显微镜下才能分辨的微细结构,如细胞内的各种细胞器和某些大分子,常用的度量单位是纳米(nanometer, nm),1纳米=0.001微米。

生物体包括人体具有复杂的结构,为了清楚地描述人体的形态结构,从宏观到微观把人体结构分为系统、器官、组织、细胞和分子等不同层次。组织学主要是研究人体的各种组织和器官的微细结构。组织(tissue)是由功能相关的细胞群及细胞之间的细胞外基质组成。其中细胞(cell)是组成人体的基本结构和功能单位,而细胞外基质(extracellular matrix)又称细胞间质(intercellular substance),是由细胞产生的,构成细胞生存的微环境,对细胞起着支持、营养、保护以及信息传递等作用。人体组织可分为四大基本类型,即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。四大基本组织以不同类型、数量和方式组合成具有一定形态的器官(organ)。若干功能相关的器官则组成系统(system)。

组织学是重要医学基础学科,它与解剖学、细胞生物学、生物化学和分子生物学、生理学、病理学、免疫学以及临床各学科均有密切关系。学好组织学,认识人体的微细结构及其相关功能,有利于我们从宏观到微观掌握人体的形态结构,理解人体的生理和病理过程,学好基础和临床的相关课程。

二、组织学发展简史

(一) 显微镜的发明和细胞的发现

16 世纪的欧洲,显微镜的发明为人类观察微观世界打开了大门。英国物理学家 Hooker 应用自制的显微镜观察软木塞薄片,发现软木塞是由许多蜂窝状的小室构成,并首先将其命名为细胞(cell)。虽然这些小室仅为细胞壁围成的空间,但是,这一研究却开创了应用显微镜研究生物体微细结构的先河。此后,显微镜成为研究有机体微细结构的主要手段,一系列的细胞和组织在显微镜下被发现。如意大利学者 Malpighi 观察了脾、肺、肾及表皮的结构,荷兰科学家 Leewenhock 发现了精子、红细胞、肌细胞和神经细胞。

(二) 显微技术的改进和细胞学说的确立

19 世纪物理学、化学、光学、电子学等科学技术的进步,使显微镜技术和组织固定、包埋、切片和染色技术得到了显著提高,使生物学和医学进入了快速发展期。1838 年和 1939 年,德国植物学家 Schleiden 和动物学家 Schwann 分别发表论文,提出了细胞是植物和动物形态结构、功能和发生的基本单位,认为新的细胞是由原来的细胞产生,从而创立了细胞学说。细胞学说的建立大大丰富了组织学的内容,促进了组织学的发展。有关动物和人体组织器官光镜结构的资料日趋丰富。在这一时期,除了能正确描述细胞的细胞质和细胞核的微细结构外,还能比较正确分辨细胞内的核染色体、核仁、线粒体、质(即粗面内质网)、内网器(即高尔基复合体)、中心体等精细结构,使组织学形成为一门完整独立的学科。

(三) 新技术的应用和现代组织学的发展

20 世纪 30 年代,德国学者 Buska 和 Knoll 发明了电子显微镜,大大提高了仪器的分辨本领和放大倍率,使人们的观察视野进入到更为精细和准确的境界,即超微结构。在电镜下,人们可以清晰地观察细胞内各种细胞器和大分子的形态结构,又称亚细胞结构。组织学也从细胞水平飞跃到亚细胞水平。1986 年两位电镜的发明者获得诺贝尔奖。

(四) 现代组织学

随着科学技术的发展,特别是近年来大量的新技术,如各种细胞和分子标记技术、定量分析等技术的应用,以及各种观察分析仪器的不断更新,特别是免疫组织化学和原位杂交技术的使用,使我们从更广泛的角度和更深层次上深化了对微观形态结构和生命活动关系的认识,标志现代组织学已进入分子水平和信息时代。

我国组织学研究始于 20 世纪初,老一辈组织学家如马文昭、鲍鉴清、王有琪、张作干、李肇特、薛社普教授等,在学科建设、科学研究和人才培养等方面做出了历史性贡献;大批新一代组织学工作者,为我国组织学发展作出了新的成就。

三、组织学的研究方法

组织学的研究方法很多。显微镜技术是组织学最基本和常用的技术,而电镜技术为人们展现了更为精细的超微结构世界。为了动态地观察生命物质在组织和细胞内的产生、分布、运行规律,发展了各种细胞和分子标记技术,如组织细胞化学技术、免疫组织细胞化学技术、放射自显影技术、原位杂交技术及激光扫描共聚焦显微镜技术等。为了观察细胞的生活状态,发展了各种细胞、组织器官培养技术以及显微操作、细胞分离技术等。另外,其他相关学科特别是细胞、分子生物学的研究方法也大量地应用于组织学的研究,从而加快了组织学的发展。这里就上述的常用研究方法进行简单的介绍。

(一) 光学显微镜技术

1. 普通光学显微镜 简称光镜(light microscope),是观察组织细胞显微结构最经典常用的工具。光镜的分辨率为 $0.2\mu\text{m}$,放大倍数为 1500 倍左右。

用光镜观察组织细胞时,必须先将组织样品切成薄片进行染色,即标本制备。常用的制备标本方法为石蜡切片技术,即将新鲜组织标本,经固定、脱水、石蜡包埋等程序处理,再用切片机将其切成 $5\sim 10\mu\text{m}$ 厚的组织切片,贴于载玻片上,最后进行染色观察。除了石蜡切片技术外,还可根据不同要求,采用其他不同的标本制作技术,如对牙、骨等坚硬组织可制作成磨片;对血液及其他液体材料可制成涂片;对肠系膜、疏松结缔组织等柔软薄层组织可制成铺片;为了保存蛋白、酶的生物活性,可制成冷冻切片。

组织学中最常用的染色方法是苏木精(hematoxylin)和伊红(eosin)染色法,简称 HE 染色法。苏木精为碱性染料,细胞核内染色质和细胞质中的核糖体等酸性物质能被苏木精染成蓝紫色,称为嗜碱性(basophilia)。伊红为酸性染料,细胞质和细胞外基质中的碱性蛋白能被伊红染成淡红色,称为嗜酸性(acidophilia);对碱性和酸性染料亲和力均不强的成分被染成淡紫红色,称为嗜中性(neutrophilia)。

除 HE 染色外,还有多种染色方法特异地显示细胞内某些结构,如雷琐辛品红(resorcin fuchsin)染液显示组织内的弹性纤维;有的细胞经重铬酸盐处理,呈棕褐色,称为嗜铬性(chromaffinity);有的细胞或组织成分经硝酸银处理时,可使硝酸银还原,形成银颗粒,沉淀在组织中呈棕黑色,此特性称为亲银性(argentaffin);有的细胞或组织成分需加还原剂才能使硝酸盐还原,形成银颗粒沉淀,此特性称为嗜银性。另外,还有某些结构成分如肥大细胞的细胞质颗粒,当用甲苯胺蓝等蓝色染料染色时,呈紫红色,称为异染性。

银染技术的创立和发展

意大利学者 Golgi 和西班牙学者 Cajal 创立和发展了银染技术,系统地开展了对中枢神经系统的神经元、神经胶质细胞、大脑皮质和小脑皮质的细胞构筑以及神经通路等领域的研究,于 1906 年获得诺贝尔奖。

2. 相差显微镜 相差显微镜(phase contrast microscope)是用于观察生活细胞和未经染色细胞的形态结构。相差显微镜可增强标本内各种结构的反差,使标本中生活细胞的结构清晰可辨。

3. 倒置相差显微镜 倒置相差显微镜(inverted phase contrast microscope)主要用来观察生长在培养瓶中的生活细胞,它可以对体外培养细胞进行长时间观察、拍照、拍摄电影及录像等以记录生活细胞的行为。

4. 荧光显微镜 荧光显微镜(fluorescence microscope)主要用以观察细胞和组织内荧光物质的分布,它是装有能产生紫外线(短波长)光源及系列滤片装置的显微镜。由于紫外线的照射,标本中的荧光物质吸收光能后,呈现出不同颜色的荧光,也可用荧光素或荧光染料标记细胞内成分,再观察组织细胞的结构及细胞内某些成分的改变,以探讨细胞的功能状态(图 1-1)。

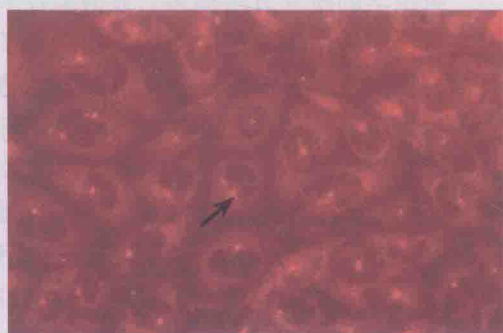


图 1-1 免疫荧光细胞化学技术

↑:中心体(高倍)

5. 激光扫描共聚焦显微镜 激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscope, LSCM)是 20 世纪 80 年代初研制成功的一种高灵敏度、高分辨率的新型仪器。它的主要特点是:①以激光作为光源;②采用共聚焦成像系统和电子学系统;③拥有扫描、显示及记录系统。激光聚焦后落在细胞的不同方向、不同深度的平面上进行聚焦扫描,从而得到一系列不同层次的清晰图像,利用计算机图像合成系统重建细胞的三维图像。LSCM 可以实现对细胞非侵入式光学断层扫描,更精确地检测、识别组织和细胞内的微细结构和功能变化(图 1-2),如测定细胞内的 DNA、RNA、骨架蛋白、 Ca^{2+} 浓度、细胞内 pH 值、膜电位和细胞间通讯等。近年来,还将激光作为“光子手术刀”,应用于激光细胞显微外科,如细胞切割、胞膜打孔等。

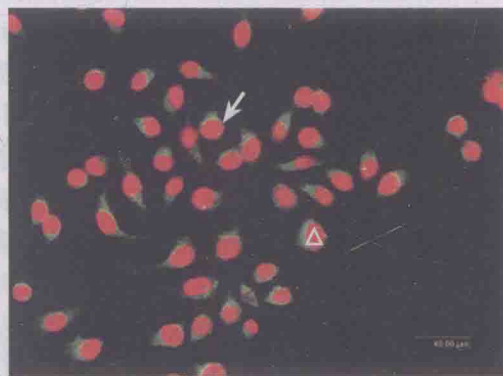


图 1-2 体外培养乳腺癌细胞激光扫描共聚焦显微镜像(低倍)

△:细胞核 ↑:细胞质

6. 超分辨荧光显微镜 一直以来,光学显微镜存在一个极限,即光学显微镜无法获得比半光波长更好的分辨极限。在荧光分子的帮助下,超分辨荧光显微镜(super resolution imaging, SR imaging)打破了这一极限限制,达到了纳米级分辨率,实现了活体细胞中内部结构、单个分子以及动态过程的可视化。

(二) 电子显微镜技术

电子显微镜(electron microscope)简称电镜,是研究机体超微结构的重要手段,其常用的测量单位是纳米,分辨率为 0.1~0.2nm,放大倍数为几万倍,最大可达几十万倍。

1. 透射电镜术 是以电子束透过样品经过聚焦与放大后所产生的物像,投射到荧光屏或照相底片上进行观察。由于电子束穿透力低,必须制备超薄切片(通常厚度为 50~70nm)。其制备过程与石蜡切片相似,但要求极严格。取材要新鲜,组织块要小(1mm^3 以内),常用戊二醛和锇酸进行双重固定、树脂包埋,用超薄切片机(ultramicrotome)切片,再经醋酸铀和枸

橡酸铅等进行电子染色。

电子束投射到样品时,可随组织密度不同而发生相应的电子散射,如电子束投射到质量大的结构时,电子散射的多,投射到荧光屏上的电子少而呈暗像,电镜照片上则呈黑色,称为电子密度高 (electron dense);反之,则称为电子密度低 (electron lucent)。

2. 扫描电镜术 是用极细的电子束在样品表面扫描,将产生的二次电子用特制的探测器收集,形成电信号运送到显像管,在荧光屏上显示物体(细胞、组织)表面的立体图像,可摄制成照片。扫描电镜能观察较大的组织表面结构,由于它的景深长,1mm 左右凹凸不平的表面也能清晰成像,故样品图像富有立体感(图 1-3)。

3. 冷冻蚀刻复型术和冷冻割断术 冷冻蚀刻复型 (freeze etch replica) 术和冷冻割断术 (freeze cracking) 是电镜样品的一种制备技术,以显示细胞、组织微细结构的立体构象。其样品制备步骤如下:

①冷冻:先把组织浸入含有 20%~30% 甘油生理盐水的冷冻保护剂中,以防止冰晶形成和提高冷冻速度,然后把组织放入液氮 (-196°C) 内快速冻结。

②断裂:在低温真空内,把冻结的组织用钢刀劈开,断裂面常为组织、细胞的薄弱部位,如膜的双层类脂质分子的疏水极之间,断裂部分的表面是要观察的部位。

③蚀刻:在真空内将温度回升到 -100°C ,使断裂面的冰晶升华,形成凹凸不平的形态;④复型:在断裂面以 45° 角喷镀一层铂膜,以增加图像的反差和立体感,再喷镀一层碳膜以加固铂膜,然后用次氯酸钠等腐蚀液除去组织,捞取复型膜在透射电镜下观察。

冷冻蚀刻复型技术是研究细胞膜相结构的重要手段。细胞膜的双层类脂质被劈分开后,其外层的内表面称为胞质外面或 E 面 (extracellular face, E face),其内层的外表面称为胞质面或 P 面 (plasmic face, P face),在 P 面常可见许多直径 6~9nm 的膜内粒子,而 E 面则较少。一般认为膜内粒子是细胞膜和细胞内膜相结构中的镶嵌蛋白质粒子的图像(图 1-4,图 1-5),膜内粒子的数量与分布随膜的功能状态而变化。因此,可以应用冷冻蚀刻复型术研究膜结构与功能的关系。

冷冻割断术是将固定组织经过处理后,置于特制的冷冻台上,浸于二甲基亚砜中,低温下将组织割断,断面喷镀合金,在扫描电镜下观察组织结构断面的立体图像(图 1-6)。

(三) 原子力显微技术

原子力显微技术 (atomic force microscope) 的原理是将移动探针与原子间的相互作用力的三维空间分布情况转换成图像信息,从而了解物质表面原子及其分布状态。目前,已广泛应用于蛋白质、核酸、聚糖等生物大分子及有机化合物的表面结构、动态作用的研究。

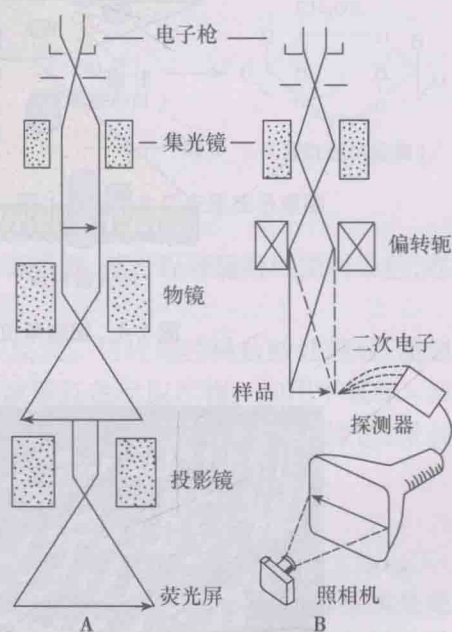


图 1-3 电子显微镜基本原理示意图
A:透射电镜 B:扫描电镜

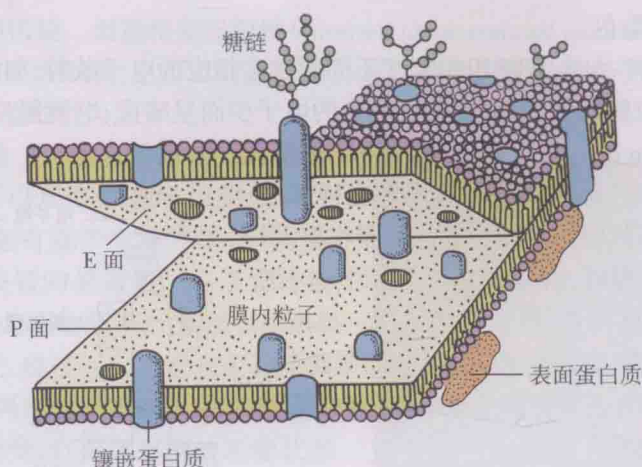


图 1-4 细胞单位膜从中间劈开的 E 面与 P 面模式图

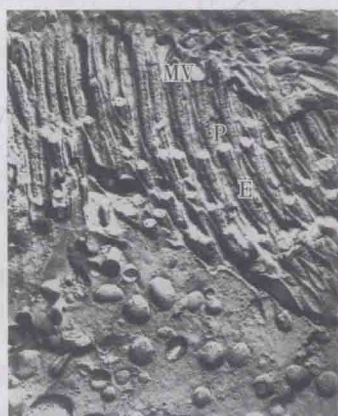


图 1-5 小鼠肾近曲小管冷冻蚀刻复型电镜像

MV:微绒毛 E:E面 P:P面
(吉林大学 尹昕 朱秀雄供图)

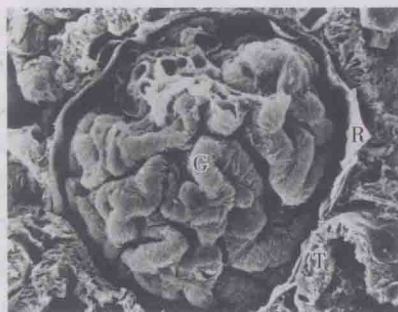


图 1-6 大鼠肾冷冻割断扫描电镜像, 示肾小体

R:肾小囊壁层 G:血管球 T:肾小管
(吉林大学 尹昕 朱秀雄供图)

(四) 组织化学与细胞化学技术

组织化学(histochemistry)与细胞化学(cytochemistry)技术是在组织切片上加一定试剂,使它与组织或细胞中待检物质或与待检物质反应的底物发生化学反应形成有色沉淀物,可应用光镜观察。若为重金属沉淀,也可以用电镜观察,称为电镜组织化学(electron microscope histochemistry)。这种方法可用于检测细胞内的酶类、糖类、脂类、核酸与某些金属元素等。

1. 糖类显示法 最常用于显示细胞、组织内的聚糖和蛋白聚糖的方法是过碘酸-雪夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)。基本原理是:糖被强氧化剂过碘酸(HIO_4)氧化后,形成醛基;后者与 Schiff 试剂中的无色品红亚硫酸复合物结合,形成紫红色反应产物, PAS 反应阳性部位即表示聚糖的存在部位(图 1-7)。

2. 酶类显示法 是通过显示酶的活性来表明酶的存在,而不是酶的本身。将具有酶活性的组织放入含有一定底物的溶液中孵育,底物经酶的作用形成初级反应产物,它再与某种

捕捉剂相反应,形成显微镜下可视性原位沉淀,即最终反应产物。例如:显示细胞内酸性磷酸酶时,先将切片放入含有酶底物(常用 β -甘油磷酸钠)的溶液(pH 5.0)中孵育,底物经酶的作用,水解并释放出磷酸;用捕捉剂硝酸铅与磷酸反应,形成微细的磷酸铅沉淀,在电镜下观察;如再应用硫化铵处理时,磷酸铅被置换成硫化铅沉淀,可在光镜下观察。

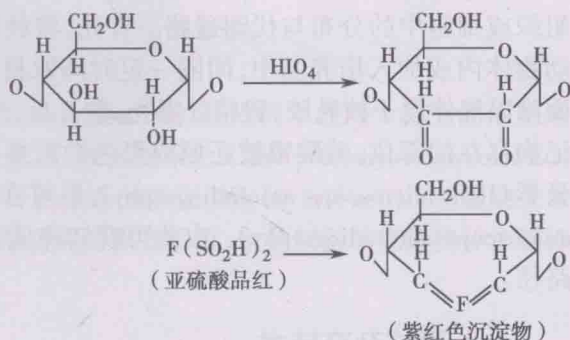


图 1-7 PAS 反应原理示意图

3. 脂类显示法 脂类物质包括脂肪

与类脂。显示脂类可用甲醛固定或冷冻切片,用油红、苏丹Ⅲ、苏丹Ⅳ等脂溶性染料染色,亦可用钼酸固定兼染色,脂类呈黑色。

4. 核酸显示法 显示核酸的传统方法为 Feulgen 反应。切片先经稀盐酸处理后,使细胞内 DNA 水解,释放出醛基,再用 Schiff 试剂处理,形成紫红色反应产物。如用甲基绿-派若宁反应,可同时显示细胞内的 DNA 和 RNA,甲基绿与细胞内的 DNA 结合呈蓝绿色,派若宁与核仁结合呈红色。

(五) 免疫组织化学与免疫细胞化学技术

免疫组织化学(immunohistochemistry)与免疫细胞化学(immunocytochemistry)技术是免疫学基本原理与组织化学或细胞化学技术相结合所建立的技术。根据抗原与抗体特异性结合的特点,检测组织或细胞内某种多肽、蛋白质及膜表面抗原和受体等大分子物质的存在与分布。肽类与蛋白质种类繁多,均具有抗原性,当将人和动物的某种肽或蛋白质作为抗原注入另一种动物体内,则产生与该抗原相应的特异性抗体(免疫球蛋白);将抗体从血清中提出后,结合某种标记物即成为标记抗体。用标记抗体与组织切片标本孵育,抗体则与组织或细胞中相应抗原发生特异性结合,结合部位被标记物显示,则在显微镜下可观察到该肽或蛋白质的分布。用荧光素(常用异硫氰酸)标记抗体,并于荧光显微镜下观察,称为免疫荧光术。如抗体与辣根过氧化物酶(horse peroxidase, HRP)等结合,进行酶显示后,可在光镜或电镜下观察,用于电镜者称为免疫电镜术(immunoelectronmicroscopy)。

近 10 年来,免疫细胞化学技术有了很大的进展,各种新方法相继建立。单克隆抗体制备技术极大地提高了抗体的特异性与免疫组化染色的精确性。目前,免疫组化最常用的方法为链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法(streptavidin peroxidase method, SP)法。此方法具有以下优点:①敏感性强:链霉菌抗生物素蛋白,又称链霉亲和素,是从链霉菌中分离出的一种蛋白,对生物素有极高亲和力,它的四个亚基全部可以和二抗的生物素相结合。②背景着色低:链霉亲和素等电点接近中性,所带负电荷少,不易与组织中正电荷相互吸引;链霉亲和素不含糖基,不会与组织中糖基类似物反应;该反应放大系统不含生物素,可以免除内源性生物素造成的影响,降低非特异性着色。③组织穿透性强,反应速度快。基于以上优点,SP 法被广泛应用于基础研究及临床病理分析。

(六) 放射自显影术

放射自显影术(autoradiography)旨在用放射性同位素标记技术追踪某些物质在体内、

组织或细胞中的分布与代谢通路。首先,将放射性同位素或放射性同位素的标记物注入动物体内或加入培养基中,间隔一定时间取材,制成标本(如切片),在暗室中于标本的上面涂以液体原子核乳胶,置暗处曝光,数日后,经显影和定影处理,在放射性同位素或其标记物存在的部位,硝酸银被还原成黑色的微细颗粒,再经染色后光镜观察,即光镜放射自显影(light microscope autoradiography),也可在电镜下观察,即电镜放射自显影(electron microscope autoradiography)。由此可获知物质在机体、组织与细胞内的分布、数量及代谢路径。

(七) 原位杂交技术

原位杂交(in situ hybridization)是在研究 DNA 复制原理的基础上发展起来的一种技术。其基本原理是两条核苷酸单链片段,在适宜的条件下,通过氢键结合,形成 DNA-DNA、DNA-RNA 或 RNA-RNA 双链分子的特点,应用带有标记的 DNA 或 RNA 片段为核酸探针,与组织切片或细胞内待测核酸(RNA 或 DNA)片段进行杂交,在光镜或电镜下观察目的 mRNA 或 DNA 的存在与定位。应用原位杂交术,可在原位研究细胞编码某种多肽或蛋白质的基因表达。此方法有很高的敏感性和特异性,可进一步从分子水平探讨细胞的基因表达及其调节机制。

(八) 细胞培养和组织工程

细胞和组织培养(cell and tissue culture)是在无菌条件下将从机体取得的组织块或细胞置于体外无菌的条件下进行培养,培养条件包括适宜的营养液、 O_2 、 CO_2 、pH、渗透压与温度等(图 1-8)。

将体内的细胞和组织移到体外进行培养的技术称为原代培养。细胞增殖到一定密度后,需进行传代再培养,称为传代培养;经长期传代培养的细胞群体称为细胞系(cell line);用细胞克隆培养而建成的纯细胞群体,称为细胞株(cell strain)。目前已建立多种细胞株和系,广泛用于实验研究。如用于研究各种物理、化学及生物因素对细胞的直接作用。组织培养术与上述各种技术密切配合,可获得单纯从体内实验难以达到的效果。

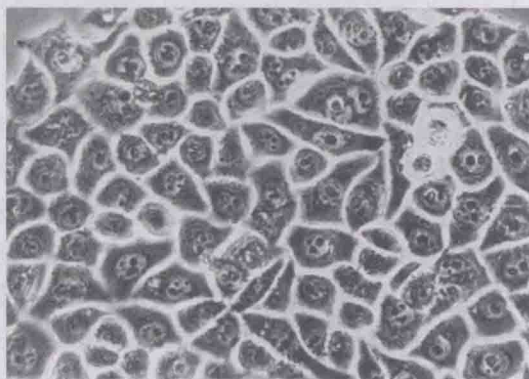


图 1-8 体外培养人宫颈癌细胞,倒置相差显微镜像

(吉林大学 聂毓秀供图)

组 织 工 程

组织工程(tissue engineering)是用细胞培养技术在体外模拟构建机体组织或器官的技术,是组织学与材料科学相结合的一门交叉学科,也是生物医学研究的热点。目前应用组织工程科学技术已经开展了许多人造组织和器官的研制,如皮肤、软骨、骨、肌腱、骨骼肌、血管、角膜等,其中组织工程皮肤和软骨已经获得成功,在治疗烧伤等疾病上发挥作用。