

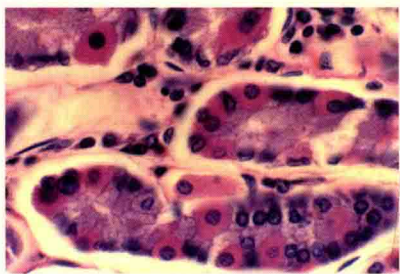
组织学

实习指导

ZUZHIXUE

SHIXI ZHIDAO

主编 冀凯宏 王 越



第二军医大学出版社
Second Military Medical University Press

组织学实习指导

主 编 冀凯宏 王 越

副主编 熊 俊 仵敏娟

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 越 仵敏娟

杨 玲 赵云鹏

胡凯猛 倪海涛

徐 莎 蒋峻峰

熊 俊 冀凯宏



第二军医大学出版社
Second Military Medical University Press

内 容 简 介

本书为高等医学院校组织学与胚胎学教学配套的实习指导教材,主要包括:根据多年教学实践经验整理的组织学重要组织器官的显微结构及超微结构说明;条理清晰、简明实用的阅片指导;以及推荐的课堂讨论题目等。此外,本书还紧密联系组织学彩色图鉴,绘制了大量立体模式图,有助于学生更好理解组织学形态与结构。本书适用于医学院校各专业组织学实验课教学和学生复习、自学。

图书在版编目(CIP)数据

组织学实习指导/冀凯宏,王越主编. —上海:第二军医大学出版社,2015.10

ISBN 978-7-5481-1155-9

I. ①组… II. ①冀… ②王… III. ①人体组织学—高等学校—教学参考资料 IV. ①R32-45

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 220563 号

出 版 人 陆小新

责任编辑 单晓巍 叶 婷

组织学实习指导

主 编 冀凯宏 王 越

第二军医大学出版社出版发行

上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433

发行科电话/传真:021-65493093

<http://www.smmup.cn>

全国各地新华书店经销

上海锦佳印刷有限公司印刷

开本:787×1092 1/16 印张:8.5 字数:15 万字

2015 年 10 月第 1 版 2015 年 10 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5481-1155-9/R·1880

定价:45.00 元

前 言

本书为《组织学与胚胎学》教材的配套实习指导，由多名具有丰富组织学教学实践经验的教师共同编写，涵盖了大量组织学经典组织阅片的详细说明，并在编写过程中力求突出以下几个特点：①紧密结合组织学教学要求，编写了简明、实用的切片阅读步骤，以方便学员明确实习要点和重点；②结合组织学彩色图鉴，针对重点和难点切片，分别配置了相关示意图和模式立体图，从而便于学员通过建立立体形象概念，加强理性认识，更好的理解重点组织器官的显微结构；③增加了适量的电镜图片，以利于学员有的放矢地复习和巩固组织细胞的亚微结构，强化对组织细胞结构的理解学习。希望本书能够成为广大师生的有力助手，提高组织学教学实践的效率和质量。

由于作者水平有限、时间仓促，可能仍有许多不当和错误之处，恳请从事组织学教学的一线教师在教学实践中批评指正。

本书的编写过程中，部分图片参考了由高英茂、李和教授主编的八年制组织胚胎学第2版教材（人民卫生出版社），在此特向作者表示感谢。

编 者

2015 年 8 月

目 录

第一章	绪论	1
第二章	上皮组织	7
第三章	固有结缔组织	14
第四章	软骨与骨	20
第五章	肌组织	27
第六章	神经组织	32
第七章	神经系统	38
第八章	血液	42
第九章	循环系统	47
第十章	皮肤	52
第十一章	眼和耳	56
第十二章	免疫系统	62
第十三章	内分泌系统	68
第十四章	消化管	74
第十五章	消化腺	81
第十六章	呼吸系统	89
第十七章	泌尿系统	95
第十八章	男性生殖系统	101
第十九章	女性生殖系统	105
附录	相关器官组织学彩图	111

第一章

绪 论

一、实习目的

组织学是医学的一门基础学科,是在学习人体解剖学的基础上进一步学习正常人体细微结构的一门课程。学习的目的是培养学员自己动手、独立观察和分析思考的能力,通过实习,把理论知识与人体切片标本的具体形态结构相印证。要求达到:

(1) 熟练地使用显微镜,正确辨认各种组织和器官的形态结构。了解细胞如何构成组织,以及组织如何构成器官的规律。

(2) 善于分析形态结构与功能的联系,了解切片平面图像与器官立体构筑的关系(图 1-1)。

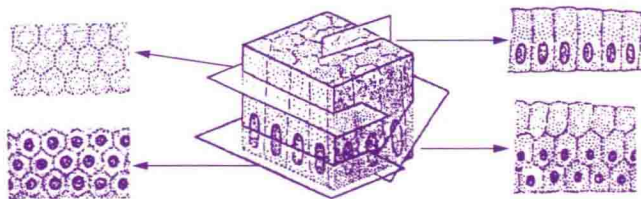


图 1-1 切片平面图像与器官立体构筑的关系

(3) 具有正确表达组织结构特征的绘图能力和观察分析电镜照片的能力。

(4) 具有独立思考、严谨细致的科学态度和善于使用显微镜进行观察研究的能力。

因此,在实习前必须复习有关理论内容,预习实习指导,对每次实习

内容事先有所了解;并准备好绘图报告纸及彩色铅笔(红、蓝、黑色笔各 1 支)等绘图工具。

二、 实习方法

对照实习指导,使用显微镜观察指定的切片标本,并有选择地绘图以表达所观察的内容。同时利用实验室提供的挂图、示教片、电镜照片、幻灯片、录像片、模型及多媒体课件和教学橱窗的各种光镜照片等辅助手段,补充和深化观察所得,进一步理解和掌握理论知识,并获得直观且感性的实验验证。实习指导教师负责指导、解惑和答疑。

通过切片观察,在头脑中建立起立体构筑,全面思考问题。镜下所见的各种细胞、组织及器官都是平面的、局部的、静止的,有时镜下所见的形态结构与理论描述有一定差距,因而要学会寻找典型,学会局部联系整体,平面联系立体,静止联系动态,光镜结构联系超微结构。同时还需要对组织的形态结构、切面方位、大小比例、分布疏密等加以比较。通常先用肉眼观察辨认标本是实体性或空腔性器官。实体性器官多从浅表开始观察,空腔性器官则从腔面开始观察。再用低倍镜观察标本的一般结构和特征,分清器官的各个部位或层次,找出所要深入观察的部位,然后用高倍镜进一步详细观察。

除了按指定内容观察切片、示教片和电镜照片外,还要选择某些切片中典型结构进行绘图。绘图目的是训练同学们掌握组织学绘图要领,记录和描述观察的结果,总结和归纳标本的典型特征,加深理解和记忆。绘制 HE 染色标本可用紫蓝色表示嗜碱性,粉红色表示嗜酸性,其他结构按切片的颜色绘图。注意表达各种典型结构的形状、位置和大小比例的真实性和科学性。最后,用黑铅笔注字。

三、 组织学切片标本制作方法

组织学切片标本制作有许多种方法,通常为了达到某种观察目的而采取不同的切片染色方法,其基本过程是从人体或动物身上取下小块组织后,选用适当的固定剂迅速将组织固定变硬,目的是防止组织自溶和保存其近生活状态下的组织结构。固定后的组织在加固定剂的辅助下便可用切片机切成薄片。加固剂有石蜡、火棉胶及环氧树脂等。切片技术有石蜡切片、火棉胶切片、冷冻切片和振动切片等多种方法,其中石蜡切片

使用最广泛。石蜡包埋的优点是方法简便,细胞结构保存较好,可切较薄的切片(一般为 $5\sim 8\text{ }\mu\text{m}$),利于分辨细微结构;适用于多种染色,易于做连续切片等。组织切片经不同染色后便可在显微镜下观察。

先将组织学最常用、最基本的石蜡切片、HE染色即苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin)染色标本制作过程简介如下:

(1) 取材 从人尸体或动物身上取出所需材料,越新鲜越好,尽量减少组织细胞在机体死亡后变性。一般组织块体积 $<0.5\text{ cm}^3$ 。

(2) 固定 将所取材料立即放入固定液中,以防细胞自溶、腐败。常用固定液有10%甲醛溶液、Bouin液及Zenker液等。

(3) 冲洗 洗掉多余的固定液,以免妨碍以后染色。

(4) 脱水 依次经70%→80%→95%→100%等梯度乙醇脱水各6~12 h,脱去组织中的水分。

(5) 透明 脱水后的组织浸入二甲苯至透明。

(6) 浸蜡 组织置于已熔化的石蜡液中浸透数小时。此步骤在温箱内进行。

(7) 包埋 将熔化的石蜡倒入包埋槽,再将浸蜡后的组织块置于槽内,冷却后石蜡即凝固坚硬成块。

(8) 切片与贴片 将组织石蜡块修整后用石蜡切片机切成 $5\sim 8\text{ }\mu\text{m}$ 的薄片。将切片在温水中展开,贴在涂有铬矾明胶的载玻片上,置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中烘干,以免切片在以后的操作过程中脱落。

(9) 染色 先用二甲苯脱去组织切片的蜡,再依次经100%→95%→80%→70%等梯度乙醇,浸入蒸馏水,然后放在苏木精水溶液中数分钟,经酸乙醇分色和水洗后,再经70%~80%乙醇后,浸入伊红乙醇染液,最后再经95%和100%乙醇脱水。

(10) 透明及封固 用二甲苯透明后,在标本中滴加中性树胶,用盖玻片封固,以便长期保存。

四、数码互动显微镜的结构及其使用方法

1. 数码互动显微镜的结构

Motic 数码互动显微镜的结构详见图1-2。

(1) 机械装置部分 镜座、光源亮度调节旋钮、聚光器升降旋钮、虹彩光圈调节手柄、镜柱、焦距调节旋钮(粗调、细调)、载物台、载玻片移动器旋



图 1-2 数码互动显微镜系统

钮、载玻片固定器、镜臂、物镜转换器、镜筒、视差调焦旋钮、瞳距调节板。

(2) 光学系统部分 光源、聚光器(滤光片、虹彩光圈、聚光镜)、物镜、目镜。物镜上所刻数字示例: ASC10/0.25,160/0.17。其中“10”表示放大倍数为 10 倍;“0.25”表示物镜的镜口率为 0.25;“160”表示镜筒长度为 160 mm;“0.17”表示可以观察的盖玻片厚度不能超过 0.17 mm。

(3) 互动部分 主电源开关、CCD 电源开关、电源适配器及电源插孔、S-video 插孔、video 插孔、白平衡按钮、光标控制手柄、光标亮度调节旋钮、光通路控制拉杆、摄像装置。

2. 数码互动显微镜的使用

(1) 准备 取下显微镜布罩→插上电源插头→光源亮度调至“1”的位置→打开主电源开关→打开 CCD 电源开关→拉出光通路控制杆→把聚光器升至最高→打开光圈→旋转物镜转换器,使 10 倍物镜正对通光孔→调白平衡→放玻片,并使材料正对聚光器中心。

(2) 低倍镜观察 眼睛看侧面,用粗调节旋钮升起载物台→眼睛看目镜,用粗调慢慢下降载物台,找到要观察的材料进行观察(如果过了,必须按此步骤重新操作,不能在眼睛看着目镜的情况下升起载物台)。

(3) 高倍镜观察 将要用高倍镜观察的材料移动到视野正中央→转换物镜至 40 倍→左右转动细调 2~3 圈,使观察材料的物像清晰(在用高

倍镜观察时不能使用粗调节旋钮,即使是使用细调也不能往同一方向转很多圈)。

(4) 观察完毕的操作 物镜回到 10 倍→载物台降至最低→取下玻片→把载玻片移动器调至原位→关闭光圈→将聚光器降至最低→使物镜呈八字形避开通光孔→光源亮度调回到“1”的位置→关闭 CCD 电源开关→关闭主电源开关→收回光通路控制杆→拔下电源插头→罩好显微镜→填写使用登记本。

五、电镜标本制作方法

电镜标本用于观察组织细胞的超微结构。透射电镜用于细胞内部结构的观察,扫描电镜用于细胞表面的观察(图 1-3)。现以透射电镜标本的制作为例作简要介绍。

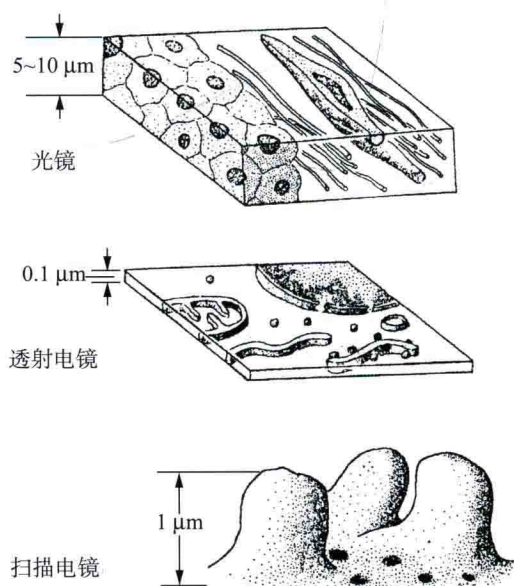


图 1-3 不同显微镜下标本差别

(1) 取材 标本的新鲜程度要求高于光镜标本,组织块体积不超过 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 。

(2) 固定 常用的固定液有 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液和 1% 锇酸。这些液体穿透力较强,能稳定和保存细胞的结构。

(3) 冲洗 冲洗液由 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值为 7.2)与双蒸水

等量混合配成。

(4) 脱水 脱水剂多采用浓度递增的乙醇和丙酮,从 50%乙醇→70%乙醇→90%乙醇→1/2 90%乙醇+1/2 90%丙酮混合液→90%丙酮→100%丙酮,间隔10~15 min。

(5) 包埋 包埋剂为环氧树脂 618 或 812 和固化剂十二碳烯基丁二醇酐(DDSA),加入适量增塑剂邻苯二甲酸丁酯(DBP)。

(6) 将组织块修成塔形 尖端面积为 $0.2 \sim 0.3 \text{ mm}^2$,用超薄切片机切成 50~70 nm 厚的超薄切片,再置于铜网上。

(7) 染色 常用的染液有 1%~2%醋酸铀和枸橼酸铅。醋酸铀染色是在组织块脱水过程中进行的,而枸橼酸铅染色则多用于片染。最后,将载有切片的铜网置于透射电镜下观察和摄影。

六、 实习注意事项

(1) 熟悉显微镜的构造和使用方法,不得随意拆卸零件,以免损坏。目镜或物镜上若有灰尘污物,禁止用手揩或口吹,应用擦镜纸拭净。每次使用油镜后,必须用二甲苯把镜头和玻璃片上的油渍擦净。

(2) 使用显微镜观察切片时,应先用低倍镜,再用高倍镜观察,必要时可用油镜。低倍镜视野广而清晰,利于观察和理解组织或器官的整体特征,当观察细胞的超微结构时,再转换高倍镜或油镜。观察时注意调节聚光镜高低和光栅大小,以获得视野中最佳亮度及清晰度。

(3) 每人一台显微镜和一盒组织切片,学员按排定的座位就座,不得擅自与他人交换使用或拿出实验室。如发现切片破损、遗失或显微镜故障、损坏,须立即报告指导教师,酌情赔偿或追究责任。使用切片时,按盒内目录号取出需要的切片,用毕插回原处。不要敞开盒盖让切片长时间暴露在阳光或日光灯下,避免褪色。观察切片时,注意盖玻片向上,不可反置。镜头切勿与切片碰撞。

(4) 切片的制作是十分复杂精细的,除了必要试剂和多项技术操作外,更主要的是不少标本的来源非常困难,希望同学们珍惜每一张切片。

(5) 自觉遵守实验室规则,不在实验室内高声喧哗,爱护实验室中的一切用具,保持实验室干净整洁,课后轮流打扫卫生。

第二章

上皮组织

掌握 各种被覆上皮的光镜结构,区别单层上皮与复层上皮细胞排列的规律性。

一、观察切片

1. 单层扁平上皮 (simple squamous epithelium)

切片: 51#。

取材: 蟾蜍肠系膜铺片。

染色: 银浸法染色整装片。

(1) 肉眼 标本呈棕黑色,厚薄不一,选择较薄处做镜下观察。

(2) 低倍 移动标本,选择颜色较浅(淡黄色)的部分观察,可见许多蜂窝状小格,每个小格就是1个单层扁平上皮细胞的表面形态(图2-1)。

(3) 高倍 可见细胞表面形态为不规则的多边形,细胞间有黑色波纹形分界线(为银染的细胞间质和细胞膜),细胞核呈卵圆形,未被银盐着色,呈空泡状,活体时位于中央。有时见核偏位,是因铺片时牵拉标本所致。

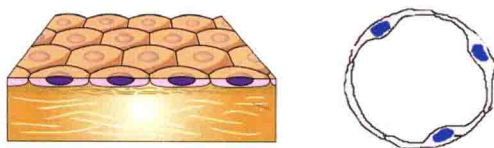


图2-1 单层扁平上皮

2. 单层扁平上皮侧面观

切片：25#。

取材：人肾脏(冠状切面)。

染色：HE 染色。

(1) 肉眼 标本表面染色较红部分为肾皮质，深部染色浅处为髓质。
选择肾皮质部分镜下观察。

(2) 低倍 在皮质区域可见许多球状结构，称肾小体；中间为血管球；周围壁层上皮即单层扁平上皮侧面观(图 2-2)，细胞呈梭形。

(3) 高倍 单层扁平上皮细胞极扁薄，界限不清；胞质一般看不清；胞核呈扁圆形，着深紫色，凸向腔面。

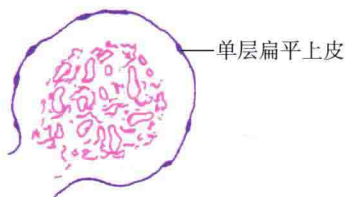


图 2-2 肾小囊壁层单层扁平上皮模式图

3. 单层立方上皮(simple cuboidal epithelium)

切片：4#。

取材：兔肾髓质。

染色：HE 染色。

(1) 肉眼 着色浅淡的部位为肾髓质。

(2) 低倍 可见许多大小不等的管道断面。选择一些较大、着色较浅的管道(集合小管)观察，可见管壁由一层整齐排列的细胞围成(图 2-3)。

(3) 高倍 放大集合小管，可见细胞边界清楚，核呈圆形，紫蓝色，位于细胞中央。但有的细胞没有核，为什么？

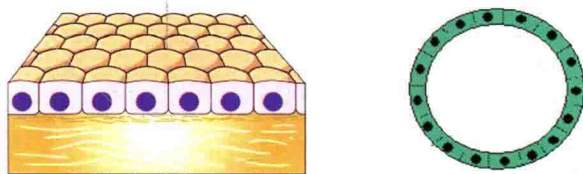


图 2-3 单层立方上皮

4. 单层柱状上皮 (simple columnar epithelium)

切片: 5#。

取材: 人空肠黏膜。

染色: HE 染色。

(1) 肉眼 切片中凹凸不平的一面为空肠的管腔面, 可见有几条不规则皱襞。皱襞表面的指状突起为绒毛。管腔面着紫蓝色的是黏膜层。其表面为要观察的单层柱状上皮(图 2-4)。

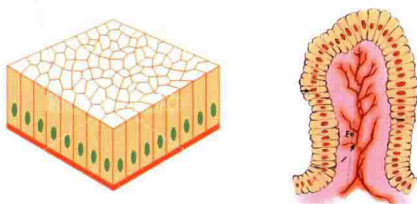


图 2-4 单层柱状上皮

(2) 低倍 可见黏膜表面不平整, 有许多不规则的指状突起, 即小肠绒毛。在切片上, 绒毛被切成许多纵切面和横切面, 纵切面与下方组织相连, 横切面呈圆形或椭圆形。所有切面的表面都是单层柱状上皮。选择比较规则的绒毛, 换高倍镜观察。

(3) 高倍 可见上皮细胞为长柱状, 细胞境界不清楚。细胞核呈椭圆形, 靠近细胞基底部, 着紫蓝色; 细胞质淡红色; 细胞游离面有着色较红的一条细线, 称纹缘 (straisted border), 是电镜下见到的密集排列的微绒毛。另外, 柱状细胞之间夹有一些杯状细胞 (goblet cell), 形似高脚酒杯, 其底部狭窄, 顶部膨大, 充满分泌颗粒。杯状细胞核上部胞质呈空泡状, 染色淡, 胞核小, 呈三角形, 靠近细胞基底部。

5. 假复层纤毛柱状上皮 (pseudostratified ciliated columnar epithelium)

切片: 23#。

取材: 人的气管。

染色: HE 染色。

(1) 肉眼 这是气管横切面的一部分, 呈半环形, 管腔面一层蓝色的结构即气管黏膜上皮。

(2) 低倍 于腔面可见一层较厚且色深的上皮, 细胞排列紧密、界限

不清,细胞核为多层(为什么说它属于单层上皮),游离面和基底面较平整(图2-5)。仔细观察上皮的游离面有什么结构。基底面和深层组织连接处有一层较厚的淡红色带,即为基膜(basement membrane)。



图2-5 假复层纤毛柱状上皮

(3) 高倍 游离面可见清晰的染成粉红色的纤毛;上皮细胞排列紧密,细胞界限不清;细胞核染蓝紫色,大小不一,高低不齐,常排列成3~4层。分辨柱状细胞及杯状细胞。

6. 复层扁平上皮(stratified squamous epithelium)

切片: 16#。

取材: 人的食管。

染色: HE 染色。

(1) 肉眼 本片为食管的横断面,邻近管腔的部分着色较深,即是黏膜上皮。

(2) 低倍 确定上皮的游离面和基底面。上皮由多层细胞组成,上皮细胞分界不很清楚,但各层细胞的核均可清楚地看到。上皮游离面较平整,基底面与染成淡红色的深面结缔组织相连,后者凸入上皮基部形成乳头(图2-6)。乳头可因切面不同而呈不规则或圆形。有时乳头被横切,其周围染色较深的部分即基底层细胞。

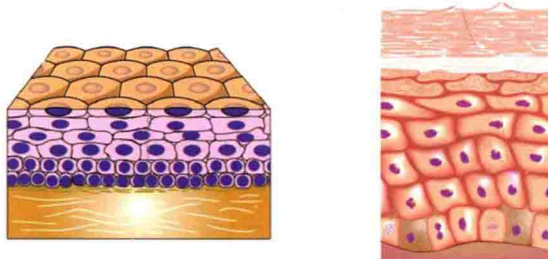


图2-6 复层扁平上皮

(3) 高倍 依次由上皮基部向游离面观察,可发现上皮细胞排列规律。

1) 基底层: 位于基膜上的单层低柱状或立方形细胞, 细胞分界不明显。核呈椭圆形, 染色深; 胞质染色深, 嗜碱性。

2) 中间层: 细胞多边形, 较大, 胞界清楚; 核呈圆形, 着色浅而亮, 位于细胞中央。多边形细胞向表面逐渐变扁, 呈梭形。

3) 表层: 多层非角化的扁平细胞, 色红, 核呈扁椭圆形, 有的细胞无核, 细胞界限不清。

注意观察从深层至浅层细胞核形态的逐渐变化。

7. 变移上皮 (transitional epithelium)

切片: 41#。

取材: 人的膀胱(收缩状态)。

染色: HE 染色。

(1) 肉眼 标本为红色条块状, 着淡紫色一侧为黏膜, 凹凸不平, 其表面为变移上皮。

(2) 低倍 可见变移上皮由多层细胞构成, 基底面平整(图 2-7), 上皮下面的结缔组织不形成乳头, 故上皮的厚度基本一致, 但因黏膜层形成皱襞而使表面凹凸不平。细胞核常排列成 5~6 层。其中, 基底层细胞核密集、小、染色深, 而表层细胞核较稀疏、大、呈立方或矩形, 有的有双核。游离面细胞膜和表面细胞质浓缩形成壳层, 胞质嗜酸性较强, 此种细胞又称为盖细胞。

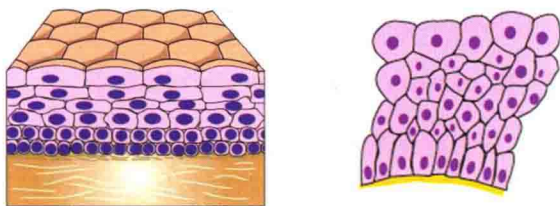


图 2-7 变移上皮

二、阅读电镜照片

1. 连接复合体(junctional complex)

观察要点: 相邻上皮细胞顶端侧面, 依次可见紧密连接(tight junction, TJ)、中间连接(intermediate junction, IJ)、桥粒(desmosome, De)和缝隙连接(gap junction, GJ), 细胞顶部可见微绒毛(microvillus, Mv)(图 2-8)。

2. 桥粒(desmosome)

观察要点：相邻两细胞膜形成桥粒，膜内侧面高密度的致密物质为附着板，胞质内的张力丝附于附着板上。细胞间隙明显，间隙内可见中间丝和丝状物质(图 2-9)。

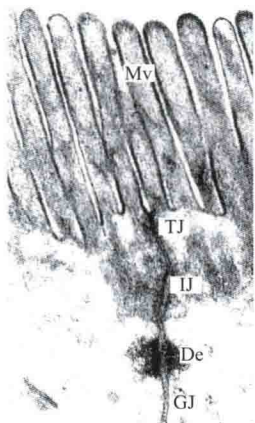


图 2-8 连接复合体

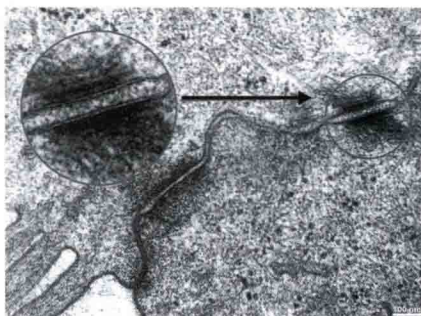


图 2-9 桥粒

3. 缝隙连接(gap junction)

观察要点：相邻细胞膜呈间断性融合构成缝隙连接。图 2-10 示一条纵行致密线，上下端可见细胞间隙。

4. 质膜内褶(plasma membrane infolding)

观察要点：上皮细胞基底面细胞膜折向细胞质形成许多内褶，与基底面垂直，内褶间含有与其平行的长杆状线粒体(图 2-11)。

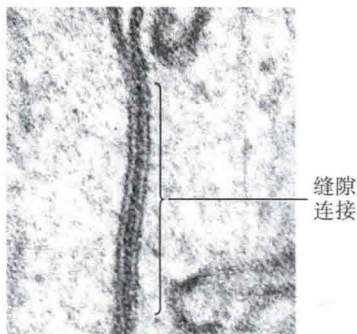


图 2-10 缝隙连接

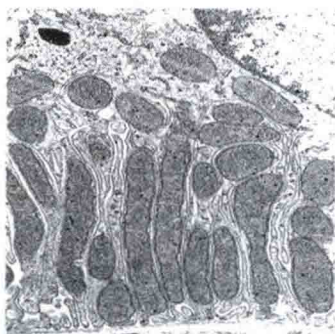


图 2-11 质膜内褶