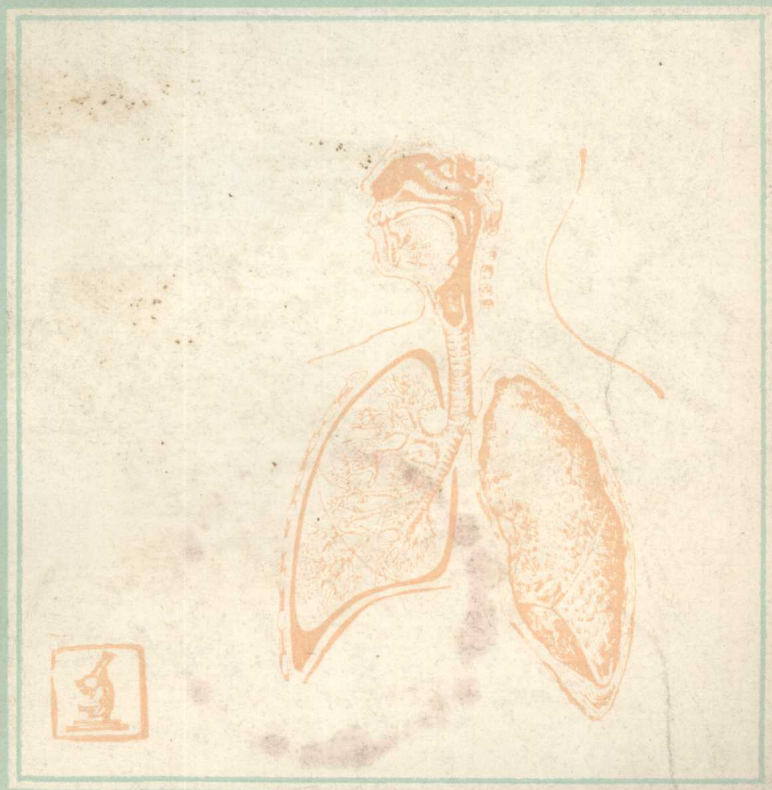


高等学校教材

人体组织解剖学实验

曾小鲁 刘振寰 戴惠娟 编



高等教育出版社

4-45

高等学校教材

人体组织解剖学实验

曾小鲁 刘振寰 戴惠娟 编

高等教育出版社

内 容 提 要

本书是根据《人体组织解剖学教学大纲》(实验部分)并配合北京师范大学等校合编的《人体组织解剖学》教材编写的一本实验用教材。全书共包括二十二个实验。书末尚有附录,介绍了人体组织解剖标本的制作和保存技术,以及观察组织切片的方法。

本书可供高等院校生物系使用,也可供有关专业参考。

高等学校教材

人体组织解剖学实验

曾小鲁 刘振寰 戴惠娟 编

出版

新华书店北京发行所发行

二〇〇七工厂印刷

开本 850×1168 1/32 印张 5.375 字数 128,000

1981年10月第1版 1986年4月第4次印刷

印数 23,961—36,880

书号 13010·0666 定价 0.92 元

前 言

本书是根据 1980 年在武汉召开的生物教材编委会修改和审订的《人体组织解剖学教学大纲》，并配合北京师范大学等校合编的《人体组织解剖学》教材而编写的。在实验内容和编排上同大纲及教材基本一致。

本书共安排实验 22 次，略超过教学大纲规定的次数，这是为了便于各校生物系根据不同的专业、课时与实验条件，选择采用。为了使学学生能了解一些人体解剖标本的制作技术及观察组织切片的方法，还增加了附录。

1981 年 7 月在庐山召开了这本实验教材的审稿会，参加会议的单位为：北京大学、南京大学、北京师范大学、华东师范大学、杭州大学、福建师范大学、甘肃师范大学、北京师范学院、上海师范学院、广西师范学院、山东师范学院、华南师范学院、西南师范学院、新乡师范学院、人民教育出版社、东北师范大学、江西大学。在会上与会代表进行了热烈而认真的讨论，提出了修改意见。在此向他们致以衷心的感谢。

参加本书编写人员有江西大学曾小鲁(编写实验二、三、四、五、十一、十二、十三、十五及附录一、五、八、九、十、十一)、东北师范大学刘振寰(编写实验六、七、八、九、十、十四及附录二、三、四、六、七)及江西大学戴惠娟(编写实验一、十六、十七、十八、十九、二十、二十一、二十二)等三位同志。最后由曾小鲁同志进行统稿。在编写过程中得到两校校、系领导的关心和支持，编写工作才得以圆满完成。

由于编写时间仓促和编者水平所限,有不足之处,欢迎各校师生使用该书后提出宝贵意见,函告编者,以便再版时订正。

编 者

1981 年 10 月

目 录

实 验 一	石蜡切片简介	1
实 验 二	上皮组织	8
实 验 三	结缔组织(一)	12
实 验 四	结缔组织(二)与肌肉组织	17
实 验 五	神经组织	23
实 验 六	运动系统(一)	28
实 验 七	运动系统(二)	37
实 验 八	循环系统(一)	44
实 验 九	循环系统(二)	50
实 验 十	消化系统(一)	55
实 验 十一	消化系统(二)	61
实 验 十二	呼吸系统	68
实 验 十三	泌尿系统	73
实 验 十四	生殖系统	78
实 验 十五	内分泌腺	85
实 验 十六	神经系统(一)	89
实 验 十七	神经系统(二)	92
实 验 十八	神经系统(三)	95
实 验 十九	神经系统(四)	104
实 验 二十	神经系统(五)	108
实 验 二十一	神经系统(六)	115
实 验 二十二	感觉器官及皮肤	121
附录		
一、	观察显微玻片标本应注意的事项	129
二、	尸体消毒、防腐、固定和保存	132

三、	解剖操作的基本方法·····	136
四、	骨骼标本的收集、处理和保存·····	139
五、	浸制解剖标本的涂色·····	142
六、	血管注射标本的制作·····	144
七、	透明标本的制作·····	148
八、	干燥标本的制作·····	152
九、	铸型标本的制作·····	155
十、	脑和脊髓厚片染色标本的制作·····	159
十一、	内耳标本的制作·····	162
参考资料·····		166

实验一 石蜡切片简介

【目的和内容】

简要介绍石蜡切片的制作和苏木精 (hematoxylin)、曙红 (eosin) 染色法 (简称 H. E. 染色法), 借以了解石蜡切片制作的基本原理和一般方法。

【材料和用具】

一、材料 青蛙或小白鼠。

二、用具

(一) 金属用具 解剖刀、解剖剪、解剖镊、解剖针、单面刀片、切片刀、切片机。

(二) 玻璃器皿 载玻片、盖玻片、标本瓶、烧杯、量筒、漏斗、染色缸、树胶瓶、酒精灯。

(三) 其它 毛笔、绘图纸、滤纸、标签纸、熔蜡箱 (或恒温箱)、展片台 (或烫板)、小木块、蜡带盒、烤片盒、切片托盘。

【药品和配制】

一、70%、80%、90%、95%、100% 的酒精 95% 以下的各级浓度酒精是用 95% 酒精加蒸馏水稀释而成。稀释方法: 所需稀释的浓度是多少, 就量取多少毫升原浓度的酒精, 再加蒸馏水至该酒精的原浓度即可。例如, 配制 70% 酒精, 就量取 70 毫升 95% 的酒精, 然后加入 25 毫升蒸馏水即成。

二、固定液 常用的固定液有 10% 福尔马林、Bouin 氏液和 Zenker 氏液等。

Bouin 氏液在动物切片技术方面应用甚广, 配方如下:

苦味酸饱和水溶液 75 毫升

福尔马林 25 毫升

冰醋酸 5 毫升

三、蛋白甘油 是粘贴蜡片用的粘片剂。配法如下：取一新鲜鸡蛋的蛋白，充分搅拌成雪花状泡沫，然后滤去泡沫，加入等量甘油，搅拌均匀，再加入一小粒麝香草酚防腐。

四、染色液 以 H. E. 染色法而言，需配制苏木精染液和曙红染液。

(一) 苏木精染液 配方有多种，现介绍 Harris 氏苏木精的配制：

甲液	苏木精	0.5 克
	95% 酒精	5.0 毫升
乙液	硫酸铝钾(或硫酸铝铵)	10 克
	蒸馏水	100 毫升
	氧化汞	0.25 克
	冰醋酸	几滴

先将甲液溶解。再将硫酸铝钾溶于蒸馏水中，并加热使溶解。然后将两液混合煮沸，并加入氧化汞。将此液冷却后用滤纸过滤，加入几滴冰醋酸即成。此液可保存数月。

(二) 0.5% 曙红酒精溶液 即 0.5 克曙红溶于 100 毫升 95% 酒精中。

五、盐酸酒精 用于分色。即 100 毫升 70% 酒精中加入 1 毫升盐酸。

六、其它 二甲苯、切片石蜡、中性树胶等。

【原理和步骤】

进行组织学研究，必须把活的组织或器官制作成切片标本，以便在显微镜下进行观察。切片标本也就是利用组织的不同结构，经过染色后呈现出不同的颜色和不同折光率而制作的。制片的方

法众多，但基本要求是尽量保持原结构的真相，切成极薄的切片，应用不同的染色方法，使内部结构清晰易见，并能便于保存。

石蜡切片法是最常用的一种制片法。其制作过程是：取材→固定→冲洗→脱水→透明→浸蜡→包埋→切片→贴片→烤片→脱蜡→染色→脱水→透明→封藏。现分述如下：

一、取材和固定 固定的目的在于保存组织内细胞原有的结构和形态，使其与生活时相似，因此要求固定的材料越新鲜越好。把动物杀死后应立即割取组织块，并快速投入固定液中。

将青蛙或小白鼠快速剪去头部，打开腹腔，用锐利的刀片割取小块组织（肝、肠等），组织块的大小以厚度不超过 5 毫米为宜。然后，将取下的组织块迅速投入 Bouin 氏固定液中。组织块与固定液的比例为 1:20。固定时间为数小时至 24 小时（需视组织块的大小而定）。

二、冲洗 经固定的材料，可根据不同的固定液，分别用水或酒精冲洗，以洗去固定液，否则固定液留在组织中会有碍染色。

用 Bouin 氏液固定的材料，可直接移入 70% 酒精中，多换几次酒精，直至无黄色为止。也可在酒精中加入几滴氨水或饱和碳酸锂水溶液，以迅速洗去黄色。但留少许黄色也无妨碍。

浸洗后的材料若暂时不制片，可保存于 70% 酒精中。

三、脱水 柔软并含有多量水分的组织是不易切成薄片的，故必须增加组织的硬度。石蜡切片法就是使石蜡渗入组织，以达到支持增硬的作用。但水与石蜡是不相混合的，因此，在浸蜡、包埋前须将组织中的水分完全除去，这一步骤即为脱水。

常用的脱水剂是酒精。应用酒精脱水时，先从低浓度的酒精开始，然后递增浓度，直至无水酒精。方法是材料经 70% 酒精→80% 酒精→95% 酒精(I)→95% 酒精(II)→无水酒精(I)→无水酒精(II)，各级酒精 1—2 小时。脱水应彻底干净，否则材料

不能透明,影响石蜡的浸入,致使难以切片。但无水酒精可使组织收缩变脆,因此不宜在无水酒精中浸得过久。

四、透明 酒精与石蜡不能混和,因此,脱水后的材料在浸蜡前,还必须经过透明剂透明。透明剂既可替代组织中的酒精,又能溶解石蜡,以利石蜡的渗入。二甲苯是常用的一种透明剂。

将脱水后的材料经 1:1 无水酒精与二甲苯→二甲苯 (I)→二甲苯(II), 各级时间为 30 分钟至 2 小时,务使组织达到透明为止。因二甲苯易使组织变硬变脆,故在二甲苯中也不宜久留。

五、浸蜡 将已透明的材料,移入熔化的石蜡内浸渍即为浸蜡。其目的是去除组织中的透明剂,而使石蜡渗入整个组织,获得一定的硬度和韧度,以便切成菲薄的切片。

先将装有 56°C — 58°C 石蜡的三只蜡杯放在熔蜡箱内熔化,并使熔蜡箱的温度保持恒定(约 58°C 左右),切勿太高或太低,以石蜡半熔半凝的状态为佳。

然后将透明了的材料放入蜡杯(I)→蜡杯(II)→蜡杯(III)。浸蜡时间视材料大小而定,一般总的浸蜡时间为 2—4 小时左右。

六、包埋 将浸蜡后的材料包埋于石蜡中,并使它凝固成蜡

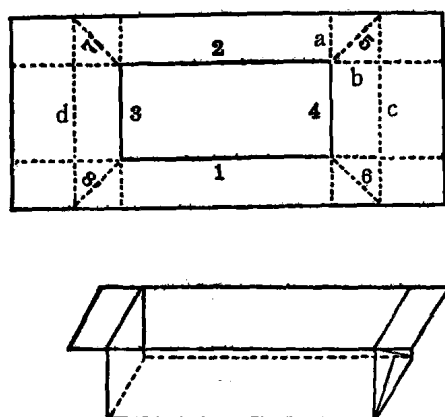


图 1 包埋纸盒的折叠方法及折成的包埋纸盒

块,这一过程称为包埋。

包埋前,视组织块的大小先将绘图纸折成一纸盒,作为包埋的容器。纸盒折法如下:先折1、2线,次折3、4线,然后使a、b两折重叠,向外折出5线;同法折出6线,再折c线。最后依同法折出7、8线及d线即成(图1)。

将纸盒盛满已熔化的石蜡,随即将第三杯中已浸蜡的材料放入其中,应注意切面朝下,位置放正。然后速将纸盒半浸于冷水中,待石蜡表面凝结后,将纸盒全部浸入水中冷却。石蜡全部凝固后,拆去纸盒即成蜡块。

七、切片 切片前,先将蜡块用刀片修整成上下两边平行的正方形或长方形,否则切出的蜡带弯曲不直,或无法连成带状。

将修整后的蜡块粘在小木块上,小木块装在切片机上,以待切片。

切片刀一定要锋利的,否则很难切出优质的蜡片。

在旋转式切片机上将蜡块切成4—8微米厚的薄片。切下的薄片连成蜡带。用毛笔轻轻取下蜡带,装在蜡带盒内备用。

八、贴片和烤片 将蜡片粘贴在载玻片上即为贴片。用小玻棒蘸取一点蛋白甘油滴于一洗净的载玻片上,用手指涂匀,并加几滴蒸馏水于载玻片上。将蜡带按要求切成适当长度的蜡片,然后用小镊子将蜡片轻放在载玻片的水面上,再把载玻片放在展片台上(温度为45°C左右)。蜡片受热后,即慢慢展平。待完全展平后,用解剖针将切片位置拨正,倾去载玻片上的余水后,将其放在烤片盒中,置于50°C左右温箱内烤干。

九、染色 染色剂多为水溶液,故染色前必须先经脱蜡、复水(加水)等步骤。染色方法众多,以H.E.染色法而言有下列步骤:

(一)脱蜡 将烤干的切片放入二甲苯(I)→二甲苯(II)中,各

为 5—10 分钟,以溶去切片上的石蜡。

(二) 复水 是将脱蜡后的切片经各级浓度酒精逐渐下降到水的过程,即

将二甲苯(II)中取出的切片移入 1:1 二甲苯与无水酒精→无水酒精→95% 酒精→80% 酒精→70% 酒精→蒸馏水,各级中停留 1—5 分钟。

(三) 染色

1. 将蒸馏水洗涤后的切片移入 Harris 氏苏木精液中 5—10 分钟,作细胞核的染色。

2. 用自来水洗去切片上残余的染液。

3. 用 1% 盐酸酒精分色切片数秒钟。分色就是褪去细胞质不应着色部分的颜色,而使细胞核着色得清晰适度。因此,分色是 H. E. 染色法的一个关键。分色的时间往往凭经验控制,且需随时用显微镜检查,使其着色适度,分色鲜明。

4. 切片在流水中充分洗涤,以除去余酸。

5. 入氨水(1:1000)或自来水使之蓝化。

6. 在蒸馏水中浸片刻。

7. 切片入 70%→80%→90% 酒精各 1—2 分钟。

8. 入 0.5% 曙红酒精溶液中染 2—5 分钟,使细胞质着色。

十、脱水 切片依次入 95% 酒精(I)→95% 酒精(II)→无水酒精(I)→无水酒精(II),各级中停留 1—5 分钟。

十一、透明 切片入 1:1 无水酒精二甲苯→二甲苯(I)→二甲苯(II),各级中停留 1—5 分钟。

十二、封藏 已透明的切片用中性树胶进行封藏。方法如下:将切片从二甲苯(II)中取出,用纸或布擦去材料周围的二甲苯。在材料中央滴一小滴树胶,然后,用镊子加盖盖玻片。盖片时注意防止产生气泡。

切片封好后,放在切片托盘上待树胶干燥,即可用来观察。

染色结果,细胞核呈现鲜艳的蓝色,细胞质及细胞间质呈粉红至红色。

【注意事项】

1. 制片是一个连续的操作过程,往往要连续几天才能完成,因此,事先一定要制订一个工作日程,有计划地按顺序进行工作。这样可避免和其它工作发生冲突,也不会因前后顺序颠倒或超过了规定的时间,给工作带来不必要的损失。

2. 制片的各个步骤都是互相关联的,如脱水不彻底就会影响到透明的程度,以至影响蜡块的质量。为此,必须对任何一个步骤,都要细致、严格地进行操作。

3. 通过本实验可了解到每张切片是来之不易的,因此应倍加爱护,不要损坏。

实验二 上皮组织

【目的和内容】

1. 联系机能了解被覆上皮组织的结构特点及分布。
2. 观察上皮组织的某些特殊结构,如纹状缘和纤毛。
3. 学习肠系膜平铺片的制作方法。

【材料和用具】

蛙或小白鼠。载玻片、盖玻片、滴管、解剖器(镊、剪、针)。1%硝酸银水溶液、甘油、蒸馏水、显微镜。

甲状腺、小肠、气管、食管和膀胱的切片(H. E. 染色)。

【观察】

一、单层扁平上皮

(一) 肠系膜的间皮和肠系膜内的毛细血管内皮是观察单层扁平上皮的较好的材料。每人用蛙或小白鼠的肠系膜为材料制作一张平铺片,然后观察。制作方法如下:

将蛙剪头杀死,取下肠系膜,若有血液污染,可用0.7%生理盐水洗干净。把肠系膜放在一载玻片上,用解剖针将肠系膜挑开展平,晾干。加1%硝酸银水溶液数滴于肠系膜上,使其皆被溶液浸盖。立即放在日光下晒3—5分钟,或在灯光下照射10—15分钟。当肠系膜变成浅褐色时,然后倾去载玻片上的溶液,用蒸馏水洗净。加一两滴甘油,盖上盖玻片,便可用来观察。

1. 低倍镜观察 选择染成淡黄色,标本最薄的部分进行观察。

2. 高倍镜观察 在这种平铺片上,可以看到肠系膜的间皮细胞,也可看到肠系膜内毛细血管网的内皮细胞。它们均为单层扁

平上皮。在平铺片上,从表面观,上皮细胞为多边形,细胞与细胞之间的边界由于硝酸银感光后沉淀为黑色。边界清晰,呈锯齿状,相邻细胞彼此相嵌。细胞核扁圆形,位于细胞的中央。硝酸银对细胞核无镀染作用,所以细胞核为无色或淡黄色。

(二) 取小肠、气管或其他器官的切片(H. E. 染色)观察。

1. 低倍镜观察 寻找一个毛细血管横切面或纵切面观察。了解单层扁平上皮在切面上的形态。

2. 高倍镜观察 毛细血管只由一层内皮细胞构成,细胞很薄。细胞核染成蓝紫色,长椭圆形,突向管腔。有的细胞切到核,有的没切到。细胞质染成红色,细胞界限在这种染色切片上分界不清。

二、单层立方上皮 用猫甲状腺切片(H. E. 染色)观察。

(一) 低倍镜观察 在甲状腺切片上先找到大小不等的,内含红色胶状物质的甲状腺滤泡。

(二) 高倍镜观察 甲状腺滤泡壁为一层立方上皮细胞构成。核圆,染成蓝紫色,位于细胞中央。细胞质染成粉红色。细胞界限隐约可见。

三、单层柱状上皮 用猫小肠切片(H. E. 染色)观察。掌握单层柱状上皮在切面上的形状,并辨认纹状缘与杯状细胞。

(一) 肉眼观察 我们需要在粘膜层中观察上皮,所以,首先应辨别哪一层是粘膜? 见有突起不平整的一面即为粘膜面。

(二) 低倍镜观察 见粘膜面形成许多指状突起突向管腔。选择一较完整的纵切突起,可见其表面覆有一层柱状上皮。

(三) 高倍镜观察 见上皮细胞为柱状,核长椭圆形,染成蓝紫色,位于接近细胞的基底部分。把虹彩光圈缩小,减少光量,可见细胞的游离面有一层较亮的粉红色膜状结构,即纹状缘。在柱状细胞之间散在有杯状细胞,此细胞上端膨大,下端细小,核呈三角

形或半圆形，位于细胞的基底部。在杯状细胞上端的细胞质内积有大量不着色的粘液，在切片上呈卵圆形空泡状结构。若切片正垂直切着杯状细胞，则可见其顶端无纹状缘。但大部分由于切斜，故看不到其顶端或基底部，只见一个个椭圆形或圆形空泡。

四、假复层纤毛柱状上皮 取兔气管切片(H. E. 染色)观察。

(一) 肉眼观察 先辨别朝向气管腔的粘膜层。

(二) 低倍镜观察 管壁粘膜的最内面着色较深的一层是假复层纤毛柱状上皮。细胞排列紧密，界限不清楚，其间夹有透亮的杯状细胞。细胞核位置高低不等。

(三) 高倍镜观察 依上皮细胞的形状、细胞核所处的位置及细胞顶端所达到的位置，可分为四种。

1. 锥形细胞(基细胞) 细胞呈锥形，基部宽，顶部窄，顶部不能达到腔面。其细胞核排列于整个上皮的下部。

2. 梭形细胞 细胞的两端尖细，中间略宽，这部分细胞不大容易辨认。其细胞核排列于整个上皮的中部。

3. 柱状细胞 胞体抵达上皮游离面，细胞顶端较宽，基部较细。细胞的顶端有微细而整齐的纤毛，因此整个上皮的游离面被排列紧密的纤毛覆盖。其细胞核排列于整个上部的上部。

4. 杯状细胞 夹于柱状细胞之间，顶端无纤毛。细胞核也排列于整个上皮的中部。

五、复层扁平上皮 取人食管切片(H. E. 染色)观察。

(一) 肉眼观察 先辨别朝向食管腔的粘膜层。

(二) 低倍镜观察 管壁粘膜的最内面着色较深的一层即复层扁平上皮，可见由十几层细胞组成，有的地方较厚，有的地方较薄，所以基底面呈波浪状。

(三) 高倍镜观察 和结缔组织交接的最深的一层细胞呈低柱状，细胞排列紧密，核椭圆形，染色深，位于细胞基底部。中层为