

全国高等医学院校教材
全科医学系列教材
供临床、预防、口腔、基础医学类专业用

医用组织学与胚胎学

主编 祝继明
伍赶球

北京大学医学出版社

全国高等医学院校教材
全科医学系列教材
供临床、预防、口腔、基础医学类专业用

医用组织学与胚胎学

主 编 祝继明 伍赶球
副主编 曾慧红 罗红梅
编 者 (以姓氏笔画为序)

伍赶球 (中南大学湘雅医学院)
刘俊文 (中南大学湘雅医学院)
刘冠南 (长沙医学院)
孙新明 (井冈山大学医学院)
李 杰 (湖南中医药大学)
李美香 (南华大学医学院)
张卫华 (宜春学院)
张晓东 (长沙医学院)
陈晓岚 (湘南学院)

林卡莉 (赣南医学院)
罗红梅 (南华大学医学院)
赵国军 (南华大学医学院)
祝继明 (长沙医学院)
莫中成 (南华大学医学院)
黄 河 (中南大学湘雅医学院)
龚兴壮 (吉首大学医学院)
曾慧红 (南昌大学医学院)
谢远杰 (南华大学医学院)

YIYONG ZUZHIXUE YU PEITAIXUE

图书在版编目 (CIP) 数据

医用组织学与胚胎学/祝继明, 伍赶球主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2011. 12

(全科医学系列教材)

ISBN 978-7-5659-0330-4

I. ①医… II. ①祝…②伍… 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 (2011) 第 266418 号

医用组织学与胚胎学

主 编: 祝继明 伍赶球

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京画中画印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张彩虹 责任校对: 张 雨 责任印制: 张京生

开 本: 889mm×1194mm 1/16 印张: 23.75 字数: 758 千字

版 次: 2011 年 12 月第 1 版 2011 年 12 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-0330-4

定 价: 79.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

《医用组织学与胚胎学》是一门重要的基础医学教材，定位于医学教育，力求符合 21 世纪城乡基层医疗单位全科医生人才培养目标的需要。本教材编写更新观念，立足改革，突出创新，特色鲜明。教材不仅体现教学内容改革，而且体现对学生获取知识、应用知识的能力和创新能力培养。

1. 内容体例和形式创新。教材内容包括“情境”导言、教学目标、基本内容、注释和小结五部分，内容丰富，形式新颖。

2. “情境”导言是在每章之首以紧扣主题的简明格言、名人事迹、成语谚语和巧妙设问等，并配以相关的精美图片，创设“情境”，导入新课。通过“情境”吸引学生，提供攀爬支架，让学生的内心充满好奇和愉悦，在情感上自然产生一种学习的内在需求，由此激发他们的求知欲，自觉地、主动地建构新知，启迪新智，触类旁通，产生奇思妙想，受益终身。

3. 教学目标主要根据临床医学专业《医用组织学与胚胎学》教学大纲规定的目的要求，分为掌握、熟悉和了解三级，作为教与学的主要依据。

4. 教材基本内容的选择，坚持体现“三基”（基本理论、基本知识、基本技能），充分考虑学生后续课程学习和未来全科医生工作的需要，正确处理相关课程间的交叉和衔接。同时淘汰旧的、过时的教学内容，补充比较成熟的新成果、新知识和新技术，使教材具有先进性。

5. 注释是本教材的重要原创，以注释形式联系功能、联系病理、联系临床，不仅可以加深学生对“三基”的理解，而且提供早期接触临床的“情境”，激发学生浓厚的学习兴趣，改变学习形态学枯燥乏味的状态，调动学习的主动性和积极性。同时适当介绍当前本学科领域研究的热点和前沿问题以及本学科专家的历史贡献，培养学生的科学思维方法、创新思维 and 创新能力。注释大大拓宽了组织学与胚胎学的理论内涵和应用范畴，可供教师教学参考与学生自学。

6. 每章编写小结，概括本章教学重点内容。“编筐窝篓，全在收口”，通过小结，引导和培养学生对知识的概括能力，便于学生回顾和深化本课程的“三基”内容，促进学生发展。

7. 全书图文并茂。教材语言文字准确、简明、精练、通俗易懂，易于自学。原创、精选或修改加工平面或立体模式图、示意图以及显微镜下照片图共 445 幅，其中有一幅图包括多个图，插图精美。在图片配置上，遵循认知规律，按易于理解的模式图或示意图、光镜图和电镜图次序组合，便于比对观察和学习；在注释中尽可能附带插图。同时，增加立体模式图和扫描电镜图的数量以及器官组织全景图。“一幅图像胜过千言万语”，由于插图具有直观性，使教材形象生动，增强了可读性，有助于学生观察能力和思维能力的培养，有助于建立组织结构的三维立体图像，提高学习效果。

本教材属全科医学系列教材，不仅供临床医学专业用，也可供预防、口腔、基础医学类专业用。

参加教材编写的单位共 10 所大学和医学院，除列出的编者名单外，还有长沙医学院袁衡、罗文奇、赵品、李双容和南华大学医学院唐显庆及湘南学院陈芬等老师也参加了本教材的编写或审校工作。中南大学 2007 级临床医学专业八年制学生管箫、胡正萍、黄雨蒙、冷文洁、李柳、李元君、刘洋腾宇、马虹、石蓉、王钊、袁度、张海岳、赵旻奕等参加了“情境”导言的设计工作。南昌大学医学院朱清仙教授热情支持本教材的编写，做了许多工作，在此一并致以衷心的感谢。主编提供教材中绝大部分光镜切片图，并对模式图、示意图和切片图进行电脑加工和彩色处理。此外，我们获得美国 Delaware 大学哺乳动物组织学网站主编 Dr. Roger C Wagner 的同意，引用了该网站许多电镜图和少量光镜图，对此，谨向他们致以深切的谢意和由衷的敬意。

由于本教材编写是教材多元化建设的一次新的尝试，工程较大，教材内容体例和形式、文字、插图等均难免有欠妥或失当之处，尚需通过教学实践的检验，恳切希望同仁和读者给予批评指正，以求不断改进和提高。

主编 祝继明 伍赶球

2011 年 10 月于长沙

第一章 医用组织学绪论	2	(二) 椎间连接	48
一、组织学的研究内容和意义	2	注释	48
二、组织学发展简史	2	小结	50
三、组织学的研究技术和方法简介	4	第五章 血液	52
(一) 按显微方法不同分类	4	一、血液	52
(二) 按研究的目的分类	6	(一) 血浆	52
(三) 按研究的材料对象分类	8	(二) 血细胞	52
四、组织学的学习方法	9	二、骨髓和血细胞发生	57
注释	9	(一) 骨髓的结构	57
小结	11	(二) 血细胞发生	58
第二章 上皮组织	13	三、淋巴	61
一、被覆上皮	13	注释	61
二、腺上皮和腺	17	小结	62
三、上皮细胞表面的特化结构	19	第六章 肌组织	65
(一) 上皮细胞的游离面	20	一、骨骼肌	65
(二) 上皮细胞的侧面	21	(一) 骨骼肌纤维的光镜结构	65
(三) 上皮细胞的基底面	23	(二) 骨骼肌纤维的超微结构	66
注释	24	(三) 骨骼肌纤维收缩的原理	68
小结	25	(四) 肌肉的结构	69
第三章 结缔组织	27	二、心肌	69
一、疏松结缔组织	27	(一) 心肌纤维的光镜结构	70
(一) 细胞	27	(二) 心肌纤维的超微结构	70
(二) 纤维	31	三、平滑肌	71
(三) 基质	31	(一) 平滑肌纤维的光镜结构	72
二、致密结缔组织	33	(二) 平滑肌纤维的超微结构	72
三、脂肪组织	34	注释	74
四、网状组织	34	小结	75
注释	35	第七章 神经组织	77
小结	36	一、神经元	77
第四章 软骨和骨	38	(一) 神经元的结构	77
一、软骨	38	(二) 神经元的分类	80
(一) 透明软骨	38	二、突触	80
(二) 弹性软骨	39	三、神经胶质细胞	83
(三) 纤维软骨	39	(一) 中枢神经系统的神经胶质细胞	83
二、骨	40	(二) 周围神经系统的神经胶质细胞	84
(一) 骨组织	40	四、神经纤维和神经	86
(二) 长骨	43	(一) 神经纤维	86
(三) 骨的发生	44	(二) 神经	88
三、关节	47	五、神经末梢	89
(一) 滑膜关节	47	(一) 感觉神经末梢	89



(二) 运动神经末梢	90	(一) 淋巴细胞	123
注释	93	(二) 巨噬细胞和单核吞噬细胞系统 ..	124
小结	94	(三) 树突状细胞	124
第八章 神经系统	97	二、淋巴组织	124
一、大脑皮质	97	三、淋巴器官	126
(一) 大脑皮质神经元的类型	97	(一) 胸腺	126
(二) 大脑皮质的分层	98	(二) 淋巴结	128
(三) 大脑皮质神经元的联系	99	(三) 脾	130
二、小脑皮质	100	(四) 扁桃体	133
三、脊髓	102	注释	133
(一) 脊髓灰质	102	小结	134
(二) 脊髓白质	102	第十一章 皮肤	137
四、神经节	103	一、表皮	138
(一) 脊神经节	103	(一) 角质形成细胞	138
(二) 脑神经节	104	(二) 非角质形成细胞	139
(三) 自主神经节	104	二、真皮	140
五、脑脊膜和血-脑屏障	104	三、皮肤的附属器	141
(一) 脑脊膜	104	(一) 毛	141
(二) 血-脑屏障	104	(二) 皮脂腺	142
六、脉络丛和脑脊液	105	(三) 汗腺	142
七、神经系统的老化	106	(四) 指(趾)甲	144
注释	106	四、皮肤老化	144
小结	107	注释	144
第九章 循环系统	109	小结	147
一、心脏	109	第十二章 内分泌系统	149
(一) 心壁的结构	109	一、甲状腺	149
(二) 心脏的传导系统	110	(一) 甲状腺滤泡	149
二、动脉	111	(二) 滤泡旁细胞	150
(一) 大动脉	111	二、甲状旁腺	151
(二) 中动脉	112	(一) 主细胞	151
(三) 小动脉	113	(二) 嗜酸性细胞	152
(四) 微动脉	113	三、肾上腺	152
(五) 血管壁的特殊感受器	114	(一) 皮质	152
三、毛细血管	114	(二) 髓质	153
(一) 毛细血管的结构	114	(三) 肾上腺的血管分布	153
(二) 毛细血管的分类	115	四、垂体	154
(三) 毛细血管的功能	116	(一) 腺垂体	154
四、静脉	116	(二) 神经垂体	156
五、微循环	117	五、松果体	157
六、淋巴管系统	119	六、弥散神经内分泌系统	158
注释	120	注释	158
小结	121	小结	160
第十章 免疫系统	123	第十三章 消化管	162
一、免疫细胞	123	一、消化管壁的基本结构	162



(一) 黏膜	162	(四) 肝内胆汁排出途径	188
(二) 黏膜下层	163	四、胆囊	189
(三) 肌层	163	注释	189
(四) 外膜	163	小结	190
二、口腔	163	第十五章 呼吸系统	193
(一) 口腔黏膜的一般结构	163	一、鼻腔	193
(二) 舌	163	(一) 前庭部	193
(三) 牙	165	(二) 呼吸部	193
三、咽	166	(三) 嗅部	193
四、食管	166	二、喉	194
(一) 黏膜	166	三、气管和主支气管	195
(二) 黏膜下层	167	(一) 气管	195
(三) 肌层	167	(二) 主支气管	197
(四) 外膜	167	四、肺	197
五、胃	167	(一) 肺导气部	197
(一) 黏膜	167	(二) 呼吸部	198
(二) 黏膜下层	170	(三) 肺的血管	202
(三) 肌层	170	注释	202
(四) 外膜	171	小结	204
六、小肠	171	第十六章 眼和耳	206
(一) 黏膜	171	一、眼	206
(二) 黏膜下层	173	(一) 眼球壁	207
(三) 肌层	173	(二) 眼球内容物	212
(四) 外膜	173	(三) 眼附属器官	213
七、大肠	173	二、耳	214
(一) 盲肠、结肠与直肠	173	(一) 外耳	214
(二) 阑尾	174	(二) 中耳	214
(三) 肛管	174	(三) 内耳	214
八、消化管的淋巴组织	175	注释	218
九、胃肠的内分泌细胞	176	小结	219
注释	177	第十七章 泌尿系统	222
小结	178	一、肾	222
第十四章 消化腺	180	(一) 肾的一般结构	222
一、大唾液腺	180	(二) 肾实质	222
(一) 大唾液腺的一般结构	180	(三) 球旁复合体	229
(二) 三种大唾液腺的结构特点	181	(四) 肾间质	229
(三) 唾液	181	(五) 肾的血液循环	229
二、胰腺	181	二、排尿管道	231
(一) 外分泌部	181	(一) 输尿管	231
(二) 内分泌部	182	(二) 膀胱	231
三、肝	183	注释	232
(一) 肝小叶	184	小结	233
(二) 肝门管区	188	第十八章 男性生殖系统	235
(三) 肝内血液循环	188	一、睾丸	235



(一) 生精小管	236	五、三胚层胚盘和相关结构的发生	
(二) 睾丸间质	239	(第3周)	272
(三) 直精小管和睾丸网	240	六、三胚层分化和胚体外形建立	
二、生殖管道	240	(第4~8周)	274
(一) 附睾	240	(一) 三胚层的分化	274
(二) 输精管	241	(二) 胚体外形的建立	276
三、附属腺和精液	241	七、胎膜和胎盘	278
(一) 前列腺	241	(一) 胎膜	278
(二) 精囊	242	(二) 胎盘	280
(三) 尿道球腺	242	八、胚胎龄的推算和胚胎各期外形特征 ..	282
(四) 精液	242	九、双胞胎、多胎和联体双胞胎	284
四、阴茎	242	(一) 双胞胎	284
注释	243	(二) 多胎	285
小结	244	(三) 联体双胞胎	285
第十九章 女性生殖系统	246	十、先天性畸形概述	286
一、卵巢	246	(一) 先天性畸形发生的原因	286
(一) 卵泡的发育与成熟	247	(二) 致畸敏感期	287
(二) 排卵	249	(三) 先天性畸形的预防	288
(三) 黄体的形成与退化	250	注释	288
(四) 卵泡的闭锁与间质腺	251	小结	290
二、输卵管	251	第二十二章 颜面和四肢的发生	293
三、子宫	252	一、鳃器的发生	293
(一) 子宫底部和体部	252	二、颜面的形成	294
(二) 子宫内膜的周期性变化	253	三、腭的发生	295
(三) 子宫颈	255	四、舌的发生	296
四、阴道	256	五、牙的发生	296
五、乳腺	257	六、颈的形成	298
注释	258	七、四肢的发生	298
小结	259	八、主要畸形	299
第二十章 人体胚胎学绪论	261	注释	300
一、人体胚胎学的研究内容和意义	261	小结	301
二、人体胚胎学发展简史	262	第二十三章 消化系统和呼吸系统的发生 ..	303
三、学习人体胚胎学的方法	263	一、消化系统的发生	304
注释	264	(一) 原始咽的发生及咽囊的演变	304
小结	264	(二) 甲状腺的发生	304
第二十一章 人体胚胎发生总论	266	(三) 食管和胃的发生	305
一、生殖细胞	266	(四) 肠的发生	305
二、受精	266	(五) 泄殖腔的分隔和演变	306
三、卵裂、胚泡形成和植入(第1周) ..	268	(六) 肝和胆的发生	307
(一) 卵裂	268	(七) 胰腺的发生	307
(二) 胚泡形成	270	(八) 主要畸形	308
(三) 植入	270	二、呼吸系统的发生	309
四、二胚层胚盘和相关结构的发生		(一) 喉、气管和肺的发生	309
(第2周)	272	(二) 主要畸形	310



注释	311	(一) 胎儿血液循环	335
小结	312	(二) 胎儿出生后血液循环的变化	337
第二十四章 泌尿系统和生殖系统的发生 ...	315	四、主要畸形	338
一、泌尿系统的发生	316	注释	338
(一) 肾和输尿管的发生	316	小结	340
(二) 膀胱和尿道的发生	317	第二十六章 神经系统、眼和耳的发生	342
(三) 主要畸形	318	一、神经系统的发生	342
二、生殖系统的发生	319	(一) 神经管和神经嵴的早期分化	342
(一) 生殖腺的发生	319	(二) 脊髓的发生	342
(二) 生殖管道的发生和演变	322	(三) 脑的发生	343
(三) 外生殖器的发生	323	(四) 神经节和周围神经的发生	345
(四) 主要畸形	324	(五) 主要畸形	347
注释	325	二、眼的发生	348
小结	326	(一) 眼球的发生	348
第二十五章 心血管系统的发生	329	(二) 眼睑和泪腺的发生	349
一、原始心血管系统的建立	329	(三) 主要畸形	349
(一) 血管的发生	329	三、耳的发生	350
(二) 原始心血管系统的组成	329	(一) 内耳的发生	350
二、心脏的发生	330	(二) 中耳的发生	351
(一) 原始心脏的形成	330	(三) 外耳的发生	351
(二) 心脏外形的建立	332	(四) 主要畸形	352
(三) 静脉窦的演变和永久性左、 右心房的形成	332	注释	352
(四) 心脏内部的分隔	333	小结	353
三、胎儿血液循环和胎儿出生后 血液循环的变化	335	参考文献	354
		中英文名词对照与索引	355

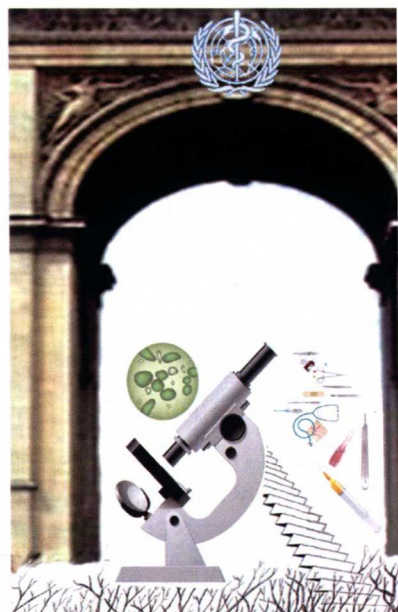
医用组织学绪论

1

显微技术开启了现代医学的大门。

教学目标

1. 掌握组织学的研究内容、组织的构成和分类。
2. 了解学习组织学的意义及学习方法。
3. 了解组织学的发展简史。
4. 了解组织学常用的研究技术和方法。熟悉 HE 染色的结果。



第一章 医用组织学绪论

一、组织学的研究内容和意义

医用组织学(histology)是研究人体微细结构及其相关功能的科学。所谓微细结构是指肉眼(分辨率为0.2mm)不能直接观察、需要借助于显微镜放大之后才能观察到的结构,故组织学又称显微解剖学(microanatomy)。借助于光学显微镜(通常的分辨率为 $0.2\mu\text{m}$)观察到的微细结构,称光镜结构,常用的长度度量单位为微米(μm);电子显微镜(分辨率为 $0.1\sim 0.2\text{nm}$)下显示的结构,称超微结构(ultra-structure),长度度量单位为纳米(nm)。 $[1\text{毫米}(\text{mm})=1000\text{微米}(\mu\text{m}),1\text{微米}=1000\text{纳米}(\text{nm})]$

组织(tissue)由形态相似、功能相关的细胞(cell)和细胞外基质(extracellular substance)或称细胞间质(intercellular substance)组成。一般按结构将组织分为四种,即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织,它们是构成人体的基本材料,故称基本组织(primary tissue)。已有分子证据表明这种以结构为基础的分类方案是切实可行的,所有上皮特征性的中间丝为角蛋白,结缔组织的中间丝为波形蛋白,肌肉组织的中间丝为结蛋白,神经组织的中间丝为神经丝和胶质纤维酸性蛋白。但现代组织学的研究亦发现,一种组织内的细胞结构和功能往往是多种多样的,它们的起源也不同;有些细胞不止一种组织类型的特征。因此应认识到,组织分类是一种归纳性的相对意义的概念,不能机械僵化地理解。几种组织按一定规律组合构成器官(organ),每种器官都具有一定的形态结构,并执行特定的生理功能。而许多功能相关的器官,共同组成系统(system),如循环、消化、呼吸、生殖等系统完成连续的生理活动。在机体内,不同层次的各个部分彼此互相影响、互相依存,既有一定的独立性,又有严密而完整的统一性,在神经、内分泌、免疫系统的支配和协调下,有条不紊地进行着各种生命活动。细胞是机体结构和功能的基本单位,据粗略估算成人的细胞约有1800万亿个,有二百三十余种细胞,各种细胞具有一定的形态结构特点,合成与其功能相关的特殊蛋白质,表达某种代谢特点和功能活动。细胞外基质是由细胞产生的非细胞物质,包括纤维、基质和不断流动的体液(血浆、淋巴、组织液等),它们参与构成细胞生存的微环境(microenvironment),起支持、联系、营养和保护细胞的作用,对细胞的分化、运动、信息沟通也有重要影响。近年应用分形理论研究人体结构,寻求新规律,有了新认识^[1]。

不言而喻,学习医学科学必须首先熟悉人体的结构、组成及其基本生命现象。组织学是一门重要的医学基础课程,它不仅与其他基础医学课程,如人体解剖学、生理学、生物化学、病理学、免疫学等有密切的关系,而且也是临床医学课程的重要基础之一。只有掌握正常的人体微细结构和相关功能的基本理论和基本知识,才能更好地分析、理解人体生理过程和病理现象,从而正确认识疾病和防治疾病。由于组织学与胚胎学相互关系较为密切,我国医学教育习惯将它们列为一门课程,在国外有许多医学院校将组织学单独设为一门课程。

二、组织学发展简史

从细胞的发现和细胞学说的建立开始,组织学发展迄今已有三百余年历史。组织学的发展与显微镜等研究工具的发明和改进以及标本制备技术和染色方法的改进密切相关。组织学的每一项新成就都是建立在前人的知识基础上的。历史的回顾是追溯过去,但科学的发展在某些方面往往有相似之处,所以,回顾历史有其现实意义。组织学发展可分为4个阶段。

1. 光学显微镜的发明和细胞的发现 16世纪荷兰的眼镜制造工匠师H. Janssen兄弟于1590年制成第一台显微镜,放大倍数10倍。1665年英国人Hooke(1635—1703)用自制的显微镜(图1-1 A)观察软木塞薄片,首先描述了细胞壁所成的小室,称之为“cell”,创立“细胞”一词。意大利人Malpighi



(1628—1694) 用显微镜观察了脾、肺、肾等的组织结构, 荷兰人 Leeuwenhoek (1632—1723) 用自制的较高倍显微镜发现了精子、红细胞、肌细胞、神经细胞等, 1672 年荷兰人 Graaf (1641—1673) 发现了卵泡。法国人 Bichat (1771—1822) 曾根据肉眼解剖和放大镜下对组织的观察, 于 1801 年发表了“膜的研究”一文, 首次提出“组织”(法文 tissu, 原意为编织物) 一词, 并将人体的组织分为 21 种。此后德国人 Meyer (1819) 又将组织重新分类为 8 种, 并创用“histology”一词。他们的工作为组织学发展成一门独立的科学奠定了基础。

2. 细胞学说的创立和组织学的建立 在 Hooke 发现细胞后的 200 年中, 由于显微技术未得到改进, 所以, 对细胞的研究没有任何突破性进展。1827 年, Bear 在蛙卵和几种无脊椎动物的卵中观察到细胞核。1831 年, Brown 在几种植物表皮细胞中也见到了细胞核。虽然细胞的主要结构都已见到, 但是, 一直未从理论上加以概括。此后, 德国植物学家 Schleiden (1804—1881) 和动物学家 Schwann (1810—1882) 于 1838—1839 年分别指出植物和动物都是以细胞为其结构、功能和发生的基本单位, 创立了细胞学说, 成为组织学、胚胎学、生理学、病理学等生命科学发展的重要里程碑, 被誉为是 19 世纪自然科学的三大发现(细胞学说、物质和能量守恒定律、达尔文进化论)之一。不久, 德国病理学家 Virchow (1821—1902) 于 1858 指出“细胞只源于细胞”(即生物体的细胞通过细胞分裂增殖而来), 解决了细胞学说的细胞来源问题, 使细胞学说更趋完善。19 世纪中期以后, 光学显微镜、切片技术及染色方法的不断创建与改进, 例如陆续制成相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、紫外光显微镜等特殊显微镜, 并用于组织学研究; 组织化学、组织培养、放射自显影等技术也逐渐建立和完善并广泛应用, 组织学研究更趋深入, 资料日益丰富, 使组织学发展为一门独立的学科。1906 年, 意大利人 Golgi (1843—1926) 和西班牙人 Cajal (1852—1934) 发明镀银染色法, 并系统研究了中枢神经系统的组织结构。为此, 两人同获 1906 年诺贝尔生理学和医学奖。

3. 电子显微镜的发明和超微结构的发现 1932 年, 德国人 Ruska 和 Knoll 发明了电子显微镜(简称电镜), 使分辨率由光镜的 $0.2\mu\text{m}$ 提高到 0.2nm 。但是由于图像太差而实际应用不大。约 20 年后, 超薄切片机研制成功, 标本制备技术改进, 同时扫描电镜问世。电镜的应用极大地拓展了人们的视野, 能观察到各种细胞及细胞外基质成分的超微结构, 发现了许多特殊细胞器和各种细胞连接, 为阐明细胞、组织和器官的功能提供了新的依据, 组织学的研究从细胞水平进入到亚细胞水平。

4. 现代组织学 20 世纪 60 年代至今五十余年, 科学技术迅猛发展, 许多新技术、新设备如共聚焦激光扫描显微镜、图像分析仪、流式细胞仪应用于组织学的研究。但最具特色的则是免疫组织化学和原位杂交术, 这两种技术的应用使组织学研究进入分子水平。此外, 近年来发展的组织工程技术, 在体外模拟培养出了皮肤、软骨、骨等器官和组织, 为器官移植带来新的希望, 具有广阔的应用前景。



图 1-1 显微镜

我国组织学研究始于 20 世纪之初, 老一辈组织学家如马文昭 (1886—1965)、鲍鉴清 (1893—1982)、



王有琪（1899—1995）、张作干（1907—1969）、李肇特（1913—2006）、薛社普（1917—）、成令忠（1931—2003）等，他们在学科建设、科学研究和人才培养等方面做出了历史性贡献。

三、组织学的研究技术和方法简介

因为显微镜的发明，解剖学对人体结构的认识深入到微细结构的层次。因此，显微技术是组织学的核心技术，衡量显微技术的关键指标是分辨率（能清楚区分被检物体细微结构最小间隔的能力），显微技术的发展就是分辨率的不断提高，目前最高分辨率可达到0.01nm以下。此外，能在活体的状态下检测微细结构也是组织学技术发展的一个趋势。现将组织学常用的方法作简要的介绍。

（一）按显微方法不同分类

1. 光学显微镜术

（1）一般光学显微镜术 应用一般**光学显微镜**（light microscope, LM, 简称光镜）（图1-1）观察组织切片是组织学研究的最基本方法。光镜观察的组织需制成薄的切片，再经染色，才能在镜下观察。最常用的制备标本技术是**石蜡切片**（paraffin sectioning），其主要程序是：①取材和固定：取动物或人体的新鲜组织块（ $<1.0\text{cm}^3$ 大小），先用**固定剂**（fixative）固定（常用甲醛），使组织中的蛋白质迅速凝固，防止细胞自溶和组织腐败，尽可能保存组织的原有结构。②脱水和包埋：用酒精脱净组织块中的水，再用二甲苯置换组织块的酒精，然后将组织块置入融化的石蜡中，让蜡液侵入组织内，石蜡冷却凝固后，柔软组织变成具有一定硬度的组织蜡块，以便组织块被切成薄片。③切片和染色：用**切片机**（microtome）将组织蜡块切成5~10 μm 厚的**组织切片**（tissue section），切片贴在载玻片上经脱蜡等步骤后进行染色。**染色**（staining）是用染料使组织、细胞不同的微细结构染成不同的颜色，以增加结构间的反差，便于镜下观察。染色原理一般认为是组织或细胞的某些成分与染料的化学结合或物理吸附作用。染色方法很多，最常用的是**苏木精-伊红染色法**（hematoxylin-eosin staining），简称**HE染色法**（图1-2）。苏木精染液为碱性，能使细胞核内的染色质和胞质内的核糖体染成紫蓝色；凡组织细胞成分具有易被碱性染料着色的性质，称为**嗜碱性**（basophilia）。伊红是酸性染料，能使细胞质内的线粒体、溶酶体、滑面内质网、肌原纤维、血红蛋白和细胞外基质中的胶原纤维染成红色；凡组织细胞成分具有易被酸性染料着色的性质，称为**嗜酸性**（acidophilia）。若组织细胞成分对碱性染料和酸性染料亲和力都不强，则称**中性**（neutrophilia）。此外，将用来特异性地显示某种细胞或细胞内某种结构、或细胞外基质某种成分的染色方法统称特殊染色法。如用苏丹染料显示脂肪组织，染料溶于细胞内脂滴而显色；用硝酸银使神经细胞染为黑色；用醛复红将弹性纤维和肥大细胞的分泌颗粒染成紫色。④封片：组织切片经染色、透明后，以封固剂（如树胶）和盖片封固，即可长期保存。

除石蜡切片外，还有**冷冻切片**（frozen section），即将新鲜组织块投入液氮（ -196°C ）内快速冻结，用恒**冷箱切片机**（cryostat microtome）进行切片。这种方法制片迅速，细胞内酶活性保存较好，常用于酶组织化学染色。还可**非切片法**制备标本，常用的有**涂片法**（smear），即将体液成分或组织刮取物涂在载玻片上，如血涂片、骨髓涂片、胸腔积液或腹水涂片、子宫颈或阴道脱落细胞涂片^[2]、分离培养细胞涂片。此外，还有**铺片法**，将疏松结缔组织或肠系膜等软组织撕成薄片铺在载玻片上；**磨片法**，将坚硬的骨或牙放在磨石上磨成薄片。

（2）特殊光学显微镜术 由于研究对象的特性与研究目的的不同，显微镜必须增加特殊装置，即构成各种特殊显微镜。

①**荧光显微镜**（fluorescence microscope）：用来观察标本中的自发荧光物质或以荧光素染色或标记的细胞和结构。荧光显微镜广泛用于免疫细胞化学研究，即以异硫氰酸或罗丹明等荧光素标记抗体（一抗或二抗），用该标记抗体直接或间接地与细胞内的相应抗原结合，以检测该抗原的存在与分布。

②**相差显微镜**（phase contrast microscope）：用于观察组织培养中活细胞的形态结构及其变化。活细胞无色透明，一般光镜下不易分辨细胞轮廓及其结构。相差显微镜的特点是将活细胞不同厚度及细胞内



各种结构对光产生的不同折射作用，转换为光密度差异（明暗差），使镜下结构反差明显，影像清楚。组织培养研究常用的是**倒置相差显微镜**（inverted phase contrast microscope），它的光源和聚光器在载物台的上方，物镜在载物台的下方，便于观察贴附在培养器皿底壁上的活细胞。

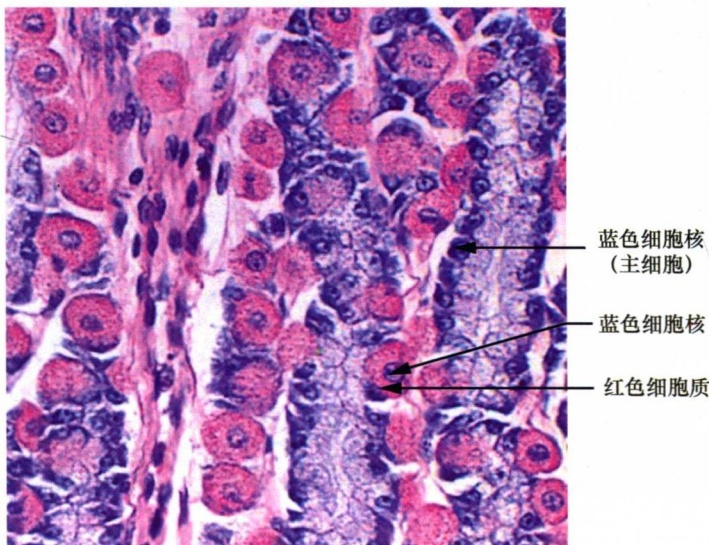


图 1-2 HE 染色（高倍）

胃底腺壁细胞：红色为细胞质，嗜酸性；蓝色为细胞核，嗜碱性

③**暗视野显微镜**（dark-field microscope）：是利用暗视野聚光器代替普通光学显微镜上的聚光器，使照明光线不能直接进入物镜，因而视野的背景是暗的，只有经过标本散射的光线才能进入物镜被放大，在暗视野中呈现明亮的图像。虽然物体内部结构看不清，但提高了分辨率，能观察到 0.04nm 以上的微粒子的存在和运动。因此适用于观察活细胞内线粒体、液态介质中的细菌和真菌等的运动。

④**共聚焦激光扫描显微镜**（confocal laser scanning microscope, CLSM）：用激光作扫描光源，逐点、逐行、逐面快速扫描成像，扫描的激光与荧光收集共用一个物镜，物镜的焦点即扫描激光的聚焦点，也是瞬时成像的物点。由于激光束的波长较短，光束很细，所以共聚焦激光扫描显微镜有较高的分辨率，大约是普通光学显微镜的 3 倍。系统经一次调焦，扫描限制在样品的一个平面内。调焦深度不一样时，就可以获得样品不同深度层次的图像，这些图像信息都储存于计算机内，通过计算机分析和模拟，就能显示细胞样品的立体结构。该显微镜既可以用于观察细胞形态，也可以用于细胞内生化成分的定量分析、光密度统计以及细胞形态的测量，如细胞内 Ca^{2+} 、pH 值等的动态分析测定，细胞的受体移动、膜电位变化、酶活性和物质转运的测定。

2. 电子显微镜术 **电子显微镜**（electron microscopy, EM）简称电镜（图 1-1 C），和普通光镜相比，其主要不同是以电子束代替可见光，以电磁透镜代替光学透镜，用荧光屏使肉眼不可见的电子束成像。常用的有透射电镜和扫描电镜两种。

（1）**透射电镜术** 透射电镜（transmission electron microscope, TEM）是用电子发射器发射的电子束穿透样品，在荧光屏上产生物像。由于电子易被散射或被样品吸收，故穿透力低，必须制备超薄切片（50~80nm）并进行电子染色。超薄切片制备要求严格，制备程序与石蜡切片相似。但取材组织块要小，切成 1mm^3 ，用双醛固定液（含多聚甲醛和戊二醛）和四氧化锇进行双重固定，树脂包埋，再用超薄切片机切片，贴于载网上，最后用重金属盐如醋酸铀、枸橼酸铅等进行电子染色，使组织某些结构与之结合，以增加物像的反差，从而提高结构的清晰度。电子染色与光镜染色不同，它不产生颜色差别，只形成明暗对比。被重金属盐染色的部位，电子散射多，射落到荧光屏的电子少，在荧光屏上图像显示暗，电镜照片上呈黑色或深灰色，称该结构电子密度高；反之，在荧光屏上图像显示较亮，电镜照片上呈浅灰色，称电子密度低（图 1-3）。因为电子波的波长比光波的波长短，所以电镜的分辨率显著提高，可达 0.01nm，放大倍数为几万至几十万倍。透射电镜主要用于观察和研究细胞内部微细结构。还有一种超高



压电子显微镜，把电子枪加速电压提高到 500kV 以上，最高的可达 3000kV。由于电子束穿透力极强，能观察 0.5~10 μ m 厚的切片，可用于观察细胞内的三维结构，如细胞骨架。



图 1-3 线粒体和粗面内质网电镜图

重金属浸染呈黑色的结构，称电子密度高；重金属浅染的部分称电子密度低
可见线粒体、粗面内质网等

(2) 扫描电镜术 **扫描电镜** (scanning electron microscope, SEM) (图 1-4) 用于观察细胞、组织和器官表面立体微细结构，如细胞的微绒毛、纤毛和细胞的分泌与吞噬活动等。不需制备超薄切片，组织块 (直径约 0.3cm 大小) 经固定、脱水干燥、表面喷镀碳与金属膜，即可观察。其原理是电镜发射极细的电子束，称为电子探针，在标本表面扫描，由于它的撞击，样品表面发出二次电子，二次电子信号代表样品的形貌，收集二次电子信号，经放大并在荧光屏显示具有立体感的图像 (图 1-5)。20 世纪 80 年代初又研制出新型显微镜——扫描隧道显微镜^[3]，用于研究物质表面结构，使人们的视野延伸到原子的尺度。

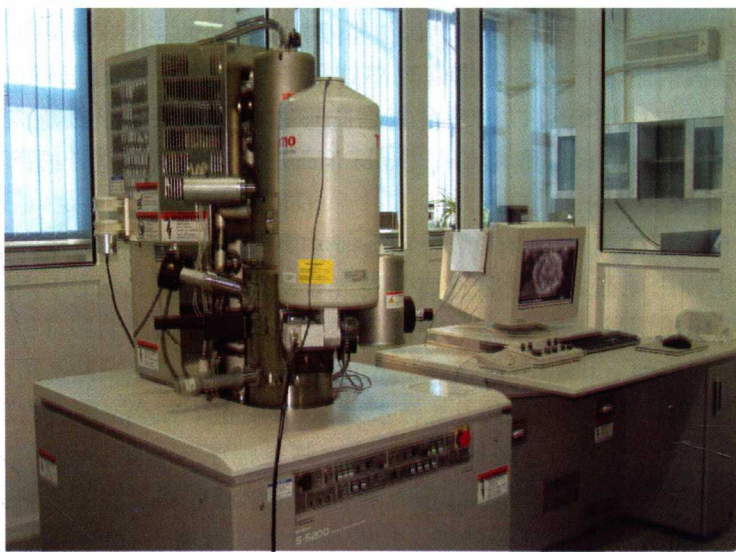


图 1-4 超高速扫描电镜

(二) 按研究的目的分类

1. 定形结构显示 取人体或实验动物的材料，在显微镜下观察其微细结构。

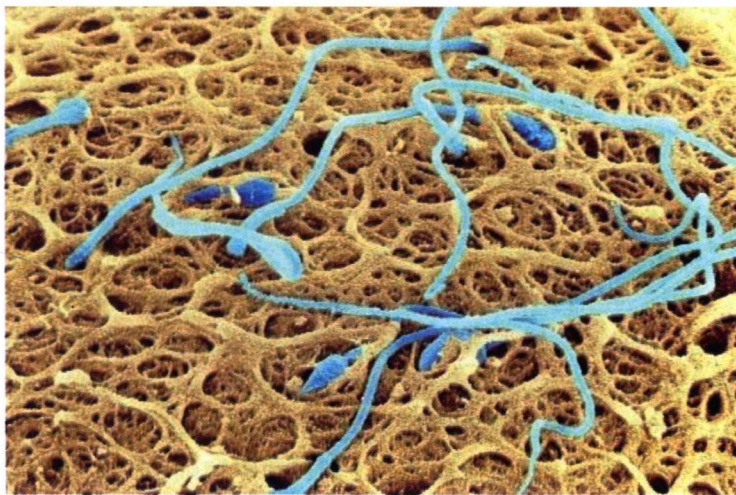


图 1-5 卵子表面的精子扫描电镜图（伪彩）

2. 化学成分的定位显示 组织化学（histochemistry）和细胞化学（cytochemistry）技术是通过化学或物理反应原理显示组织切片细胞内某种化学成分，进行定位、定量及其与功能相关的研究。如糖类、脂类、酶、核酸等与试剂发生化学、物理反应，形成有色终末产物，在光镜下观察，有的可在电镜下观察。

（1）一般组织化学和细胞化学 是利用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高电子密度沉淀，在显微镜下观察这些沉淀物的部位、色泽深浅、颗粒大小等。该方法可显示组织、细胞中的蛋白质、酶、糖类、脂肪和核酸等物质。如用过碘酸-希夫反应（periodic acid-Schiff reaction, PAS 反应）显示多糖（图 1-6），基本原理是过碘酸的氧化作用先使糖分子形成醛基，后者继而与 Schiff 试剂（无色亚硫酸品红复合物）结合，形成紫红色反应产物，称 PAS 反应阳性，证明该部位存在多糖。

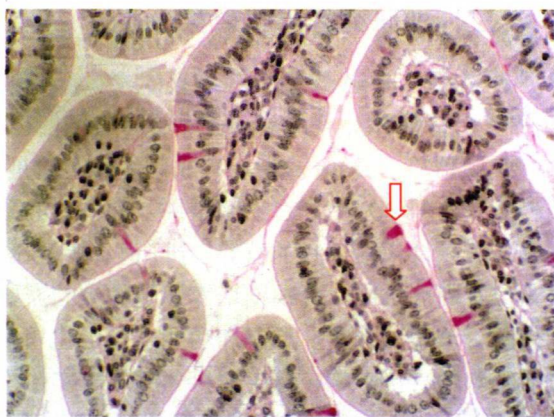


图 1-6 PAS 反应

↓ 小肠绒毛上皮杯状细胞的黏原颗粒显紫红色

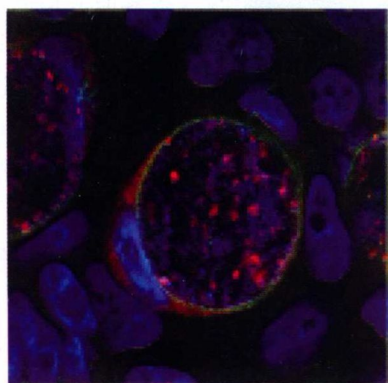


图 1-7 免疫组织化学

衣原体感染 Hela 细胞 36h 后，荧光标记，共聚焦激光扫描显微镜观察，红色荧光为荧光染料标记的抗体，绿色荧光为包含体膜，蓝色荧光为 DNA（美国德克萨斯健康科学中心大学钟光明供图）

（2）免疫细胞化学（immunocytochemistry）是应用抗原与抗体特异性结合的免疫学原理，检测细胞或组织中多肽、蛋白质等具有抗原性物质存在与分布的技术。这种方法特异性强，敏感度高，进展迅速，应用广泛，成为生物学和医学众多学科的重要研究手段。抗原抗体间的反应，显微镜下本来是不可见的，但用镜下可观察的标记物，如辣根过氧化物酶、荧光素、胶体金、铁蛋白等对抗体进行标记，再用标记的抗体和抗原进行反应，在镜下观察标记物，即可获得该抗原所在部位（图 1-7）。

（3）原位杂交术（in situ hybridization）是一种核酸分子杂交技术，它是通过检测细胞内 mRNA 和 DNA 序列片段，原位研究细胞合成某种多肽或蛋白质的基因表达。其基本原理是根据两条单链核苷酸互补碱基序列专一配对的特点，应用已知碱基序列并具有标记物的 RNA 或 DNA 片段即核酸探针（probe），与组织切片或细胞内的待测核酸（RNA 或 DNA 片段）进行杂交，通过标记物的显示，在光镜或电镜下观察目的 mRNA 或 DNA 的存在与定位。



3. 组织和细胞化学定量术 组织和细胞形态结构及其化学成分的定量研究技术，主要有以下几种：

(1) 显微镜分光光度定量术 是应用**显微分光光度计** (microspectrophotometer) 测定组织化学和免疫组织化学染色标本的反应强弱，进行化学成分的定量分析的技术。其基本原理是细胞内某种物质的含量不同，其染色反应的深浅不一，对一定波长的光吸收也就不同。

(2) **形态计量术** (morphometry) 是运用数学和统计学原理对组织和细胞进行二维和三维的形态测量研究，如细胞及其微细结构成分的数量、体积、表面积、周长等的相对和绝对值的测量。目前已广泛应用**图像分析仪** (image analyzer) 进行形态计量研究，它是将切片或照片图像通过摄像机显示于监视器屏幕上，并根据不同结构的颜色深浅(灰度)及各像点的大小位置，快速准确地得出所需的各种形态数据。

(3) **流式细胞术** (flow cytometry, FCM) 是细胞分类和定量研究技术，是应用流式细胞仪对单个细胞生物化学和生物物理特性进行快速定量测定。工作原理是先分离被检细胞制成悬液，并作荧光染色或标记，使单细胞液流快速通过该仪器的激光器照射分析区，被检细胞产生的不同荧光信号转变为电脉冲，分别输入计算机内贮存，并显示于示波器屏幕上，即可获得该细胞群体中不同类型细胞的有关数据。该技术的特点是速度快、精确性高、灵敏度大，已广泛用于细胞动力学、遗传学、免疫学、肿瘤学等的研究。

(三) 按研究的材料对象分类

1. **在体** (in vivo) 材料 取人体或实验动物的组织，经固定等处理后，对已经死亡的组织进行观察研究。

2. **离体或体外** (in vitro) 材料 如组织或细胞培养术。

组织培养 (tissue culture) 或称体外实验是将离体的活细胞、组织或器官，放置在模拟机体生理条件的培养液(培养基)中，在无菌条件下和适当的温度下进行体外培养，使其生存和生长的一种技术(图 1-8)。细胞培养条件包括适宜的营养、pH 值、渗透压、 O_2 和 CO_2 浓度、生长因子、温度等。人工合成培养基种类多，都有商品供应，可根据培养细胞种类的需要选用，使用方便。组织培养可观察培养的细胞、组织或器官的代谢、增殖、分化、形态和功能变化，也可研究各种理化因素和生物因素(药物、毒物、激素、辐射等)对活细胞的直接影响，是生命科学的基本实验技术^[4]。从体内获取的细胞进行首次培养，称**原代培养** (primary culture)；当原代细胞增殖达到一定密度后，将细胞分散，从一个培养器移到另一个或几个容器中的扩大培养，称**传代培养** (subculture)。经长期培养而成的细胞群体，称**细胞系** (cell line)；用**细胞克隆** (cell clone) 或单细胞培养而建成的某种纯细胞群体，称**细胞株** (cell strain)。它们均可在液氮内长期冻存，供随时应用。现已建成胚胎干细胞株和多种肿瘤细胞株，广泛用于实验研究。

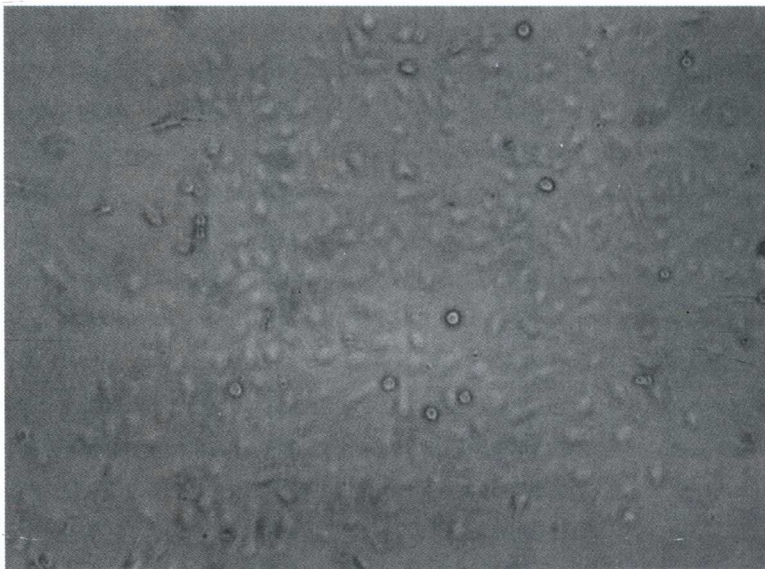


图 1-8 人脐静脉内皮细胞(倒置显微镜低倍)

培养第 2 天，细胞呈梭形，贴壁生长