

全国高等学校“十三五”医学规划教材

主 编 翟效月 徐国成

组织学与胚胎学

Histology and
Embryology

(供临床、基础、预防、检验、护理、
口腔、影像、儿科、药学等专业用)

高等教育出版社

全国高等学校“十三五”医学规划教材

组织学与胚胎学

(供临床、基础、预防、检验、护理、
口腔、影像、儿科、药学等专业用)

主 编 翟效月 徐国成

副主编 刘佳梅 李锦新 丁晓慧 李 臻

编 者 (按姓氏笔画排序)

丁晓慧	沈阳医学院	马宁芳	广州医科大学
王 越	第二军医大学	叶晓霞	广东医科大学
刘佳梅	吉林大学白求恩医学部	刘俊文	中南大学湘雅医学院
齐建国	四川大学华西医学中心	李 臻	第四军医大学
李锦新	广州医科大学	杨 姝	首都医科大学
吴 宏	重庆医科大学	吴春云	昆明医科大学
汪 琳	武汉大学医学部	沙 鸥	深圳大学医学部
宋小峰	锦州医科大学	张 萍	锦州医科大学
张丽红	复旦大学上海医学院	郑 玮	中国医科大学
贺 军	华中科技大学同济医学院	秦 纹	新疆医科大学
徐国成	中国医科大学	韩秋生	中国医科大学
覃红斌	湖北民族学院医学院	温 昱	中国医科大学
薄双玲	山西医科大学汾阳学院	翟效月	中国医科大学

内容简介

本教材涵盖组织学和胚胎学两大部分,内容依照四大基本组织→系统器官→胚胎学总论→胚胎学各论展开,共 26 章。每一章由导学、正文、复习题、网上学习四部分等组成。全书系统、简洁地叙述了组织学与胚胎学的基本内容,重点突出,脉络清晰。在保证教材内容的准确性、科学性和严谨性的同时,通过配套的数字课程,介绍每章内容相关的新方法、新知识、新理论,体现了学科的最新进展。全书配有 500 余幅精美的彩色图片,使学生能够更加直观、准确地学习和掌握组织学与胚胎学知识。

本书适用于临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业的 5 年制本科生,亦可作为医学研究生、临床医务人员及科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学 / 翟效月, 徐国成主编. -- 北京 : 高等教育出版社, 2017.2
ISBN 978-7-04-046872-4

I. ①组… II. ①翟…②徐… III. ①人体组织学 - 高等学校 - 教材②人体胚胎学 - 高等学校 - 教材 IV. ①R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 020147 号

ZUZHIXUE YU PEITAI XUE

策划编辑 李光跃 责任编辑 李光跃 封面设计 赵 阳 责任印制 朱学忠

出版发行	高等教育出版社	网 址	http://www.hep.edu.cn
社 址	北京市西城区德外大街4号		http://www.hep.com.cn
邮政编码	100120	网上订购	http://www.hepmall.com.cn
印 刷	高教社(天津)印务有限公司		http://www.hepmall.com
开 本	889mm×1194mm 1/16		http://www.hepmall.cn
印 张	17.5	版 次	2017 年 2 月第 1 版
字 数	530 千字	印 次	2017 年 2 月第 1 次印刷
购书热线	010-58581118	定 价	55.00 元
咨询电话	400-810-0598		

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 46872-00

前言

自 20 世纪 80 年代开始,为满足社会对专科医疗服务的需求,我国在传统的 5 年制临床医学教育的同时,先后设置了以学科为专业的医学教育,包括儿科、检验、影像、口腔、耳鼻喉等;同时,随着社会对复合型人才的需求,先后开展了 7 年制、8 年制、“5+3”等多元化学制教育模式,及双语、全英语医学教育的探索。20 世纪 90 年代,沿袭多年的传统教学模式,即以学科为基础的课程教学,也受到综合课程教学模式的挑战。30 年过去了,多元化学制、多轨道教学、多模式教育,以及由此带来的多样化的教材,一直还都存在改革的空间。在新形式下,无论是医学多专业教育,还是满足执业医师执照考试的需求以及临床医生规范培养的目标,5 年学制教育将继续成为医学教育未来发展的主体模式。作为基础医学的形态学骨干学科的组织学与胚胎学,从它伴随工业革命带来的显微镜发明而起步的那时起,尽管学科发展风云变幻,其内涵已定格在了对人体器官及组织细胞微细结构及与之适应的功能的探索及认知上,万变不离其宗的传授方式及核心价值是,通过直观的显微镜图片或镜下观察,结合人体进化及发生发育的科学规律,掌握人体的微细结构和机能的关系,为疾病发生发展及胎儿异常发育提供组织细胞学及胚胎学依据。

因此,根据“十三五”时期医学教育发展的方向,及“互联网+”时代医学教育教学新模式的需要,本教材在延续 5 年制“十二五”国家级规划教材知识内涵的基础上,突显以下特色:

1. 全书 502 幅图片中,232 幅为手绘的光镜仿真图、电镜示意图及立体模式图。
2. 通过本书配套的数字课程(基础版),介绍每章内容相关的新方法、新知识、新理论,并提供电子版的“中英文名词对照”。
3. 结合形态学整合课程模式的需求,增加一些器官大体解剖部位的图片及描述。
4. 配合 5 年制不同轨道的教学计划,每章“导学”指出学习重点及难点。
5. 每章以“复习题”结束,以“名词解释”及“问答题”形式指出复习重点。

本教材的编写团队,由 20 所综合性或医学类院校有丰富一线教学经验的、较年轻的教授及副教授组成,使本书编写过程充满活力。更具特色的是,与来自医学美术教研室具有几十年医学形态学图片绘制经验的团队合作,相得益彰,使本教材做到文字表述简练,知识点面兼顾,图片精美、格调统一。

编写过程中,我们参考了国内外多种版本的组织学与胚胎学教材,并虚心向前辈请教。但由于我们理论水平及编写水平有限,书中可能会有一些不尽如人意之处,甚至会有内容上的疏漏或错误,希望在使用中接受各校同仁及学生的检验,并及时得到反馈,以便再次印刷时修改。最后,由衷感谢高等教育出版社、主编单位中国医科大学,以及各编委单位给予本教材的厚望及支持!向精诚合作、为教材编写付出辛苦劳动的全体编委致以崇高的敬意。愿这本凝聚编委的智慧与辛苦的教材能得到广大学生读者的认可和喜爱。

翟效月 徐国成

2017 年 1 月于中国医科大学

数字课程 (基础版)

组织学与胚胎学

主编 翟效月 徐国成

登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/46872>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20 位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请发邮件至: lifescience@pub.hep.cn



组织学与胚胎学

组织学与胚胎学数字课程与纸质教材配套使用, 是纸质教材的拓展和补充。数字课程分章提供了与每章内容相关的学习内容, 包括拓展学习、研究进展、临床应用等, 以方便学生的自主学习。同时提供电子版的“中英文名词对照”, 以供查阅使用。

用户名:

密码:

验证码:

5360

[忘记密码?](#)

[登录](#)

[注册](#)

<http://abook.hep.com.cn/46872>



扫描二维码, 下载 Abook 应用

目 录

第1章 组织学绪论	1	第7章 神经组织	65
一、组织学研究内容	1	一、神经元	65
二、组织学发展简史	2	二、突触	67
三、组织学的研究方法和技术	4	三、神经胶质细胞	69
四、组织学的学习方式及方法	14	四、神经纤维和神经	70
第2章 上皮组织	17	五、神经末梢	71
一、被覆上皮	17	第8章 神经系统	78
二、腺上皮与外分泌腺	21	一、中枢神经系统	78
三、上皮细胞特殊结构	24	二、周围神经系统	86
第3章 固有结缔组织	27	第9章 循环系统	89
一、疏松结缔组织	27	一、血管壁的一般结构	89
二、致密结缔组织	32	二、动脉	91
三、脂肪组织	33	三、毛细血管	93
四、网状组织	33	四、静脉	95
第4章 软骨和骨	35	五、心脏	96
一、软骨	35	第10章 免疫系统	99
二、骨	37	一、免疫细胞	99
三、骨的发生、生长和再生	41	二、淋巴组织	101
第5章 血液和淋巴	46	三、淋巴器官	101
一、血液	46	第11章 皮肤	108
二、骨髓和血细胞发生	51	一、表皮	108
三、淋巴	56	二、真皮	111
第6章 肌组织	58	三、皮下组织	112
一、骨骼肌	58	四、皮肤的附属器	112
二、心肌	61	第12章 眼和耳	116
三、平滑肌	62	一、眼	116

二、耳	122
第13章 内分泌系统	127
一、甲状腺	127
二、甲状旁腺	129
三、肾上腺	129
四、垂体	131
五、松果体	133
六、弥散神经内分泌系统	134
第14章 消化管	135
一、消化管壁的一般结构	135
二、口腔与咽	136
三、食管	139
四、胃	139
五、小肠	143
六、大肠	145
第15章 消化腺	147
一、唾液腺	147
二、胰腺	149
三、肝	152
四、胆囊与胆管	156
第16章 呼吸系统	158
一、鼻腔	158
二、喉	160
三、气管和主支气管	160
四、肺	161
第17章 泌尿系统	167
一、肾	167
二、排尿器官	174
第18章 男性生殖系统	176
一、睾丸	176
二、生殖管道	180
三、附属腺	181
四、阴茎	181

第19章 女性生殖系统	183
一、卵巢	183
二、输卵管	187
三、子宫	188
四、阴道	191
五、乳腺	192
第20章 胚胎学总论	194
一、配子发生和受精	194
二、胚泡形成和植入	198
三、胚层的形成	201
四、三胚层的分化和胚体的形成	203
五、胎期的发育	208
六、胎膜与胎盘	209
七、双胞胎、多胎和连体双胞胎	214
第21章 颜面、颈及四肢的发生	217
一、鳃器的发生	217
二、颜面的形成	218
三、腭的发生及口腔与鼻腔的形成	219
四、牙的发生	219
五、颈的形成	221
六、四肢的发生	221
七、常见畸形	222
第22章 消化系统和呼吸系统的发生	224
一、消化系统的发生	224
二、呼吸系统的发生	230
第23章 泌尿系统和生殖系统的发生	233
一、泌尿系统的发生	233
二、生殖系统的发生	237
第24章 心血管系统的发生	243
一、原始心血管系统的建立	243
二、心脏的发生	244
三、弓动脉的发生与演变	249
四、胎儿血液循环和出生后的变化	251
五、心血管系统的常见畸形	252

第 25 章 神经系统、眼和耳的发生 255

一、神经系统的发生 255

二、眼和耳的发生 260

第 26 章 先天畸形 265

一、先天畸形的分类 265

二、先天畸形的发生原因 266

三、胚胎的致畸敏感期 267

四、先天畸形的预防、宫内诊断和
宫内治疗 267**参考书目** 270

第1章

组织学绪论

导学

► 重点

- 组织学研究内容
- 石蜡切片的制备过程, 以及 HE 染色步骤
- 透射电镜的工作原理及标本制备过程
- 概念: 光镜结构、电镜结构(超微结构)、嗜碱性、嗜酸性、嗜银性、异染性、电子密度高、电子密度低

► 难点

- 各种光镜及电镜的工作原理

组织学(histology), 是医学基础骨干学科——解剖学的一个分支, 是借助显微镜技术研究机体微细结构及其相关功能的科学, 故又称显微解剖学(microscopic anatomy)。组织学的发展史因此也是显微镜技术的发展史。显微镜技术包括光学显微镜术(light microscopy), 简称光镜技术, 及电子显微镜术(electron microscopy), 简称电镜技术。与此相对应, 微细结构也分为光镜结构和电镜结构。由于光镜的分辨率(resolving power)可达 $0.2\text{ }\mu\text{m}$, 此为光镜下分辨两点之间的最小距离, 故光镜结构常用微米(micrometer, μm)度量, 如常见的细胞结构细胞核、核仁、细胞表面较大的突起等; 而电镜的分辨率可达 0.1 nm , 故所观察的结构常用纳米(nanometer, nm)度量, 电镜结构因此又称超微结构(ultrastructure), 细胞内如线粒体、内质网、核糖体等细胞器一般须采用电子显微镜来观察。微细结构度量单位的换算关系为 $1\text{ nm}=10^{-3}\text{ }\mu\text{m}=10^{-9}\text{ m}$ 。

一、组织学研究内容

组织(tissue)由细胞和细胞外基质构成。细胞(cell)数量众多, 形态多样, 并具有各自的微细结构、代谢特点和功能活动。细胞外基质(extracellular matrix)由细胞产生, 构成细胞生存微环境, 对细胞的增殖、分化、迁移、信息传递等行为有着重要影响。细胞和细胞外基质的结构与功能主要决定于其中的生物大分子, 如核酸、酶、蛋白质、蛋白多糖等, 因此, 组织学不但研究器官及组织细胞的微细结构, 还研究与微细结构密切相关的生物大分子的存在形式和量。

人体组织可分为4种基本类型, 即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。每种组织由形态和功能相同或相似的细胞群及多少不等的细胞外基质构成。按其结构和功能的不同, 这些基本组织按一定的方式有机地排列组合构成器官(organ), 执行特定的功能。如果器官中央有大的空腔, 称空腔性器官, 如心、胃、膀胱、子宫等; 如无大的空

腔,称实质性器官,如肝、脾、肺、肾等。若干结构上连续或不连续、功能相关的器官组成系统(system),完成一定生理活动,如神经系统、循环系统、免疫系统、内分泌系统、消化系统、呼吸系统、泌尿系统、生殖系统等。

从最早的组织水平到细胞水平,现代组织学的研究已深入到分子水平,并与一些新兴的前沿学科,如细胞生物学、发育生物学、人类遗传学等相互交叉、渗透,相互促进。目前,生命科学的一些与疾病发生发展关系重大的研究课题,如细胞识别与细胞通讯、细胞增殖与分化、衰老与凋亡的调控、细胞突变、癌变及其逆转、组织与器官再生、组织工程与器官重建、组织或器官3D打印、神经-体液-免疫调节等,都与组织学有密切的关系。因此,组织学作为一门医学基础课,是探索及认知生命现象不可缺少的关于机体结构与生理功能及与病理过程关系的科学。

二、组织学发展简史

组织学的发展史是显微镜技术的发展史,从最早的在一根管子两端安装凹、凸透镜形成最简单的显微镜,到后来的复式显微镜,再到今天原子力学显微镜的诞生,将医学的研究从宏观带到无穷尽的微观世界。

(一) 光学显微镜的发明及发展

光学显微镜的发明始于16世纪末。17世纪是显微镜发明的鼎盛时期,代表人物包括耳熟能详的、被称为“微生物之父”的荷兰显微镜制造者及微生物观察家Antoni van Leeuwenhoek(1632—1723),他一生制作了400多个透镜、放大镜,以及100多台显微镜。英国天文学家、显微镜制造家Robert Hooke(1635—1703),在改进显微镜的照明方法上做出重要贡献。而意大利解剖学家Marcello Malpighi(1628—1694)是动物和植物材料显微镜观察技术的创始人之一,也是最先使用染色剂(如墨水)和水银、石蜡等制作显微镜观察标本的人。一个领域的研究通常是波浪式发展的,尤其是依赖于技术进步的领域,这也是组织学研究领域的特征。从17世纪显微镜发明及制造的高峰进入了

18世纪的一个低谷时期后,19世纪,人们对显微镜做了进一步的改进,在目镜和物镜之间安置一个凹面镜制成反射显微镜(Amici, 1827),研制了消色差物镜和油浸显微镜(Abbe, 1886),发明了聚光器(Abbe, 1872)等,从而较好地校正了色差和球面像差,增强了进入显微镜的光线强度,大大提高了显微镜的放大倍数和分辨率。此外,英国人Gudden和Welker(1856)设计和制作了切片机,组织标本的固定、包埋、切片和染色等技术也有了很大的进步。但随之,发展空间逐渐减少,直到电子显微镜的诞生才迎来研究的新浪潮。

(二) 电子显微镜的诞生

如果说,光学显微镜的发明使人类对微观世界的认识有了第一次飞跃,那么,电子显微镜的发明带来的是第二次质的飞跃。

1. 透射电子显微镜的发明 1924年,德国科学家De Broglie指出,任何一种接近光速运动的粒子都具有波动本质。1926—1927年, Davisson、Germer和Thompson Reid用电子衍射现象验证了电子的波动性,发现电子波长比X射线还要短,从而联想到可用电子射线代替可见光照明样品来制作电子显微镜,以克服光波长在分辨率上的局限性。同年,德国学者Busch指出,“具有轴对称的磁场对电子束起着透镜的作用,有可能使电子束聚焦成像”,这些光、电及磁场相互作用现象的发现为电子显微镜制作提供了理论依据。1931年,德国学者Knoll和Ruska获得了放大12~17倍的电子光学系统中的光阑像,证明可用电子束和电磁透镜得到电子像,但是,这一装置还不是真正的电子显微镜,因为它没有样品台。1931—1933年,Ruska等对以上装置进行了改进,做出了世界上第一台透射电子显微镜。1934年,电子显微镜的分辨率已达到500 Å,组织细胞结构的研究从细胞水平进入了亚细胞水平,Ruska也因此获得了1986年的诺贝尔物理学奖。

2. 扫描电子显微镜的发明 扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)的概念最早是由德国学者Knoll在1935年提出来的,1938年Von Ardenne在透射电镜上加了个扫描线圈做出了扫描透射显微镜。第一台能观察厚样品的扫描电镜是

Zworykin 制作的, 它的分辨率为 50 nm 左右。英国剑桥大学的 Oatley 和他的学生 McMullan 也制作了他们的第一台 SEM。进入 20 世纪 50 年代 SEM 的研究才取得较显著的突破, 成像质量有明显提高, 并在 1959 年制成了第一台分辨率为 10 nm 的 SEM。自第一台商业制造的扫描电镜 Mark I “Stereoscan” 在 1965 年由剑桥科学仪器公司制造之后的 20 年间, 发射电子枪及可变气压的研制大大提高了 SEM 的分辨率。目前, 最好的 SEM 已达到 0.7 nm 分辨率。

(三) 细胞的发现及细胞学说的确立

1665 年, 英国物理学家、显微镜制造者 Robert Hooke 通过观察软木塞的薄片发现植物的组织由小室组成, 于是, 将这些小室命名为细胞 (cell), 拉丁文中 “cella” 即英文中的 “room or chamber”。由于当时的显微镜非常简单, 微观研究并未迅速得到进一步发展。1830 年复式显微镜的引进, 促进了微观研究的发展。1833 年, Brown 发现了细胞核, 并且在 1838—1839 年, 德国植物学家 Schleiden (1804—1881) 和动物学家 Schwann (1810—1882) 分别提出了, 细胞是所有生物体的基本结构和功能单位, 植物和动物都含有细胞, 细胞具有细胞膜、细胞内含物、细胞核和核仁, 从而创立了细胞学说。德国人 Virchow (1821—1902) 通过对病理过程的深入细致的显微镜研究, 否定了之前提出的 “细胞自由形成” 的观点, 得出一个著名论断, 即所有细胞均来自细胞; 并认为细胞损害是一切疾病的基础, 从而建立了细胞病理学。Flemming (1843—1915) 和 Strasburger (1844—1912) 分别对动物和植物细胞的细胞核和细胞分裂进行了卓有成效的研究, 创造并使用了染色体、染色质、有丝分裂等术语, 提出动物和植物细胞是由先前存在的细胞均等分裂而来, 细胞核的分裂先于细胞体的分裂。

细胞学说是当时对生物学现象的基本概括, 细胞或细胞学的研究也迅速成为显微镜研究的一个重要分支。

(四) 组织概念的提出及组织学的建立

组织学与解剖学之间的渊源要追溯到 17 世纪。在当时, 显微镜的发明被广泛运用在解剖学的研究中, 因为, 在此之前, 解剖学被认为是 “关于生物

的形成与结构的学科”, 其最重要的研究方法是 “解剖”。希腊语中, 解剖学 “anatomy” 一词由 “ana” 和 “tomē” 组成, 前者意为 “离 (apart)”, 后者则是 “切开、剥离 (cutting up)” 的意思。随之, 它被分为宏观 (或大体) 解剖学 (gross anatomy) 和显微解剖学 (microscopic anatomy)。

18 世纪末, 法国解剖学家 Bichat (1771—1802) 借助简单的显微镜观察到动植物组织的主体像一个粗糙的网络, 于是创造了 “组织” 这一术语 (法语, tissu), 并把人体组织归纳为 21 种。

组织学 “histology” 一词来源于希腊语的 “histos” 和 “logos”, 前者表达 “编织状结构 (woven of tissue)”, 后者意为 “学科”, 于是德国人 Mayer 在 1819 年创造了 “histology” 这一术语。然而在当时, 简单显微镜的使用限制了组织结构研究的深度, 其 “组织” 的概念也仅仅是基于有限的宏观标准, 被分为 8 种。

接下来的 50 年, 随着复式显微镜的引进及细胞学说的确立, 涌现了大量研究成果代表了组织学的一个经典时代。有关动物和人体组织与器官的光镜结构的研究资料日趋丰富。Schwann 的研究显示, 组织由细胞和细胞产物组成。他根据细胞的发育程度把组织分为 5 类, 大约相当于现在的血液、上皮组织、软骨和骨、结缔组织、肌肉和神经组织, 并发现了周围神经的神经膜细胞。Purkinje (1787—1869) 观察了神经细胞及其突起、有髓神经纤维以及小脑的梨状神经元, 并描述了各种动物的上皮组织和纤毛运动。曾任柏林大学校长的 Müller (1801—1858) 对各种腺体、软骨和骨、结缔组织等进行了研究。意大利人 Golgi (1843—1926) 和西班牙人 Cajal (1852—1934) 创立和发展了银染技术, 系统研究了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。为此, 两人同获 1906 年诺贝尔生理学或医学奖。新科学创始人 Henle 的学生 Koelliker 于 1852 年出版了 “Handbush der Gewebelehre des Menschen”, 这是第一本系统性地讲述人类组织结构的课本。在他的书中, Koelliker 将 Bichat 提出的 21 种不同的组织缩减为现在的四大基本组织, 即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。此外, Koelliker 证明了细胞的起源及精子的发生 (1841), Hertwig 揭示

了受精是由卵细胞和精细胞融合所引起的(1876), Flemming 描述了动物细胞的分裂(1882)等。

人们逐渐意识到,细胞是现存的生物体的基本单位。具有相同功能的细胞组成组织。两个或更多的组织联合形成更大的功能单位,即器官,例如肝和肾。最后,几个具有相关功能的器官形成系统,例如,呼吸系统包括鼻、咽、喉、气管、支气管和肺。

尽管,从词源上讲,组织学这一词意为“关于组织的研究”,但是,现代组织学发展已大大拓宽了它的内涵,包含细胞的结构和器官的形成。因此,组织学包含细胞学(关于细胞的研究)、组织学总论(关于组织的研究)和组织学各论(关于器官结构的研究)。至此,组织的分类及组织学的内涵有了更科学的诠释。

(五) 现代组织学的发展

20 世纪以来,相差显微镜、偏光显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、紫外光显微镜等的相继问世,推动了组织学研究技术的迅猛发展。而第一台透射电镜的诞生对现代组织学研究内容的贡献具有划时代的意义。尤其随着超薄切片机的出现、标本制备技术的改进,以及扫描电镜的发明,电镜的应用越来越广泛。人们观察了各种细胞及细胞间质成分的超微结构,发现了许多特殊的细胞器,如核糖体、内皮细胞的 W-P 小体等,并在阐明超微结构的基础上,提出了许多新的理论,如神经元通过突触相互连接的神经元学说(Palade 和 Palay, 1954)、纤毛摆动的微管扭动学说(Afzelius, 1959)、肌纤维收缩的肌丝滑动学说(Huxley, 1969)等,使组织学的研究进入到亚细胞水平。

在此期间,由于多学科的相互渗透和促进,组织化学技术有了很大的进展,许多新方法相继建立,如显示 DNA 的福尔根反应(Feulgen, 1924),显示多糖的过碘酸-Schiff 反应(McManus, 1946),以及显示 100 多种酶活性的酶组织化学。免疫组织化学也从最初的荧光素标记和直接法(Coons, 1941)到酶标记和间接法(Nakane 和 Pierce, 1966),再到酶-抗酶复合物(PAP)法(Sternberger, 1970)和亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(ABC)法(Hsu, 1981),其显示抗原物

质(如蛋白质)的敏感性和特异性大大提高。核酸分子杂交技术和聚合酶链反应(PCR)在组织学中的应用产生了原位杂交技术(Gall 和 Pardue, 1969)和原位 PCR 技术(Haase, 1990),特异性显示细胞内的 DNA 和 mRNA 片段,并使单拷贝和低拷贝核酸的检测成为可能。这些方法可在组织细胞的原位检测其化学成分,对结构蛋白、酶蛋白、信息分子等进行定性、定位、定量及代谢和功能分析,揭示基因及其表达状态,使组织学研究进入分子水平。

此外,生物物理学的发展使放射自显影术、X 射线显微分析术、X 射线衍射术、显微分光光度术等技术随之建立和完善。细胞培养技术的建立和发展,不但能直接研究细胞的行为及其影响因素,而且成为许多现代重大生物学技术的关键环节。20 世纪 70 年代以后,又相继出现了图像分析术、流式细胞术、激光共聚焦扫描显微镜术、微细结构三维重建并可视化等,这些新技术与计算机技术相结合,能够迅速地对组织细胞的微细结构及生物物理和生物化学参数做出分析,对细胞进行分选或切割,使组织学研究更加广泛、更加深入、更加精细,并逐渐实现自动化、定量化和数字化。

三、组织学的研究方法和技术

组织学研究方法和技术多种多样,其选择主要取决于研究内容和目的。如单纯研究组织细胞生理或病理微细结构的,或单纯研究依托于结构的生物大分子的存在(定性研究)、分布(定位研究)及量(定量研究)的。但是,大部分的研究是综合性的,故多半是几种技术方法的结合应用。归根结底,组织学的研究方法与技术组织学的发展一样,都与生物显微镜技术相关,即根据传统的和新兴的各种显微镜的工作原理,制备要研究的生物学标本,用于显微镜观察,并将结果转变为数字图像进行定性、定位及定量分析。所以,现代组织学的研究方法和技术是多学科理论,如物理、化学、生物化学与分子生物学、免疫学、数学、计算机科学等及技术的融合。

(一) 光学显微镜术

光学显微镜(light microscope)是利用光学原

理，把人眼所不能分辨的微小物体放大成像，以供人们提取微细结构信息的光学仪器，主要用来观察生物切片的组织、细胞、细菌，以及体外培养的活体组织或细胞、流质沉淀等。

1. 普通光学显微镜术 普通光学显微镜此处特指适用于医学教学的正置（物镜在载物台上方）、亮视野（相对于暗视野）显微镜（图 1-1）。主要用于观察经过染色的组织细胞切片标本的微细结构。光镜的放大作用由其光学部分实现，由聚光器（condenser）、物镜（objective lens）和目镜（eyepiece）组成。观察光镜下结构时，其放大倍数等于物镜和目镜放大倍数的乘积，可达 1 500 倍左右。但图像的清晰度和细微度主要由显微镜的分辨率（resolving power）决定，即分辨两点间的最小距离。分辨率与光的波长成正比，与物镜的数值孔径（NA）成反比。光通过普通物镜的介质是空气，NA 小于 1；如使用油浸物镜，在镜头与标本间加香柏油，NA 可达 1.4，可提高分辨率。光镜的分辨率约为 0.2 μm。目前，广泛应用于多媒体教学及科研的光学显微镜多在物镜和目镜之间安装高敏感数码相机或摄像机，建立数字化图像增强和分析系统，有助于进行图像定性定量分析。



图 1-1 双目镜正置光学显微镜

2. 组织的光镜标本制备方法 将生物组织或器官制备成光线易透过、微细结构清晰可辨的组织

切片是组织学研究的基本方法，主要用于教学或单纯微细结果观察的研究，包括取材、固定、切片、染色等步骤。

(1) 固定 取动物或人体的新鲜组织块，用化学试剂处理，使组织内的蛋白质迅速凝固或沉淀，以防止细胞自溶和细菌引起的组织腐败，保持组织原有结构和化学组成，这一处理过程称为固定（fixation）。固定用的化学物质称为固定剂（fixative），常用的固定剂有甲醛、戊二醛、苦味酸、醋酸、酒精、丙酮、四氧化锇等，不同组织和不同的研究目的对固定剂的要求不同，常将几种固定剂配制成混合固定液，使它们的作用互补。固定时，一般将组织块浸泡在固定液中，或经心脏或血管灌注固定液，后者固定效果迅速、均匀。

(2) 切片 石蜡切片（paraffin section）是组织学中经典而最常用的切片制备方法。首先，用梯度乙醇将固定后的组织块脱水（dehydration），用二甲苯置换乙醇并使组织透明（clearing），再用熔化的石蜡浸透组织，室温下凝固包埋（embedding），制成组织蜡块，然后用石蜡切片机（microtome）（图 1-2）将其切成 5~10 μm 厚的组织切片（tissue section），贴附于载玻片上。



图 1-2 石蜡切片机

在制作含液体量较大的组织切片标本时（如眼球、脑、睾丸等），常用火棉胶（celloidin）包埋并切片。对某些要进行组织化学反应的标本，为保存脂质物质和酶的活性，也可采用快速冷冻组织并用恒冷箱切片机（cryostat microtome）制成冷冻切片（frozen section）的方法。振动切片机（vibratome）常用于制备未固定的、较厚的神经组织切片，进行

酶组织化学或荧光染色。

此外, 血液、体液、精液等组织常用涂片 (smear) 方法; 膜状标本如肠系膜则制成铺片 (stretched preparation) 观察; 骨和牙等坚硬组织磨为薄片, 称磨片 (ground section) 等。

(3) 染色 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 (HE staining)。大多数组织细胞若没有经过染色处理, 光镜观察难以分辨其微细结构。应用天然或人工合成的染料使组织切片上不同的微细结构呈现不同的颜色, 便于光镜观察, 称为染色 (staining)。染料 (dye) 可分为碱性染料和酸性染料, 碱性染料如苏木精、甲苯胺蓝、碱性品红等, 含有碱性助色基团, 在溶液中带正电荷; 酸性染料如伊红、橙黄 G、亮绿等, 含有酸性助色基团, 在溶液中带负电荷。组织细胞结构与碱性染料亲和力强、易被染色的特性称嗜碱性 (basophilia); 与酸性染料亲和力强、易被染色的特性称嗜酸性 (acidophilia); 若与两种染料的亲和力都不强, 则称中性 (neutrophilia)。在 HE 染色中, 苏木精使细胞核和细胞质中的核糖体等物质染成紫蓝色, 伊红

使细胞质和细胞外基质中的一些成分染成粉红色。染色后的切片经浓度梯度乙醇脱水、二甲苯透明, 用树胶和盖玻片封固, 即可在光镜下观察, 并长期保存 (图 1-3)。

另外, 某些结构成分如肥大细胞胞质颗粒, 经甲苯胺蓝等碱性染料染色时, 不呈现染料的蓝色, 而呈紫红色, 这种染色特性称为异染性 (metachromasia)。当用硝酸银染色时, 有些组织结构如神经细胞可使银离子还原为银颗粒而呈黑色, 称为亲银性 (argentaffin), 有些组织结构如网状纤维需加入还原剂才能显色, 称为嗜银性 (argyrophilia) (图 1-3)。

3. 荧光显微镜术 荧光显微镜 (fluorescence microscope) 由光源、滤片系统和显微镜 3 部分构成, 用于观察细胞、组织中有自发荧光、诱发荧光或经荧光染料染色或标记的结构或生物大分子。正置荧光显微镜指的是物镜在载物台上方, 物镜口向下, 多数用于切片观察; 而倒置荧光显微镜的物镜在载物台下方, 物镜口向上, 多用于细胞观察 (图 1-4)。荧光显微镜的光源为高压汞灯, 用以产生短波长、高能量的紫外光。荧光显微镜术是以紫外

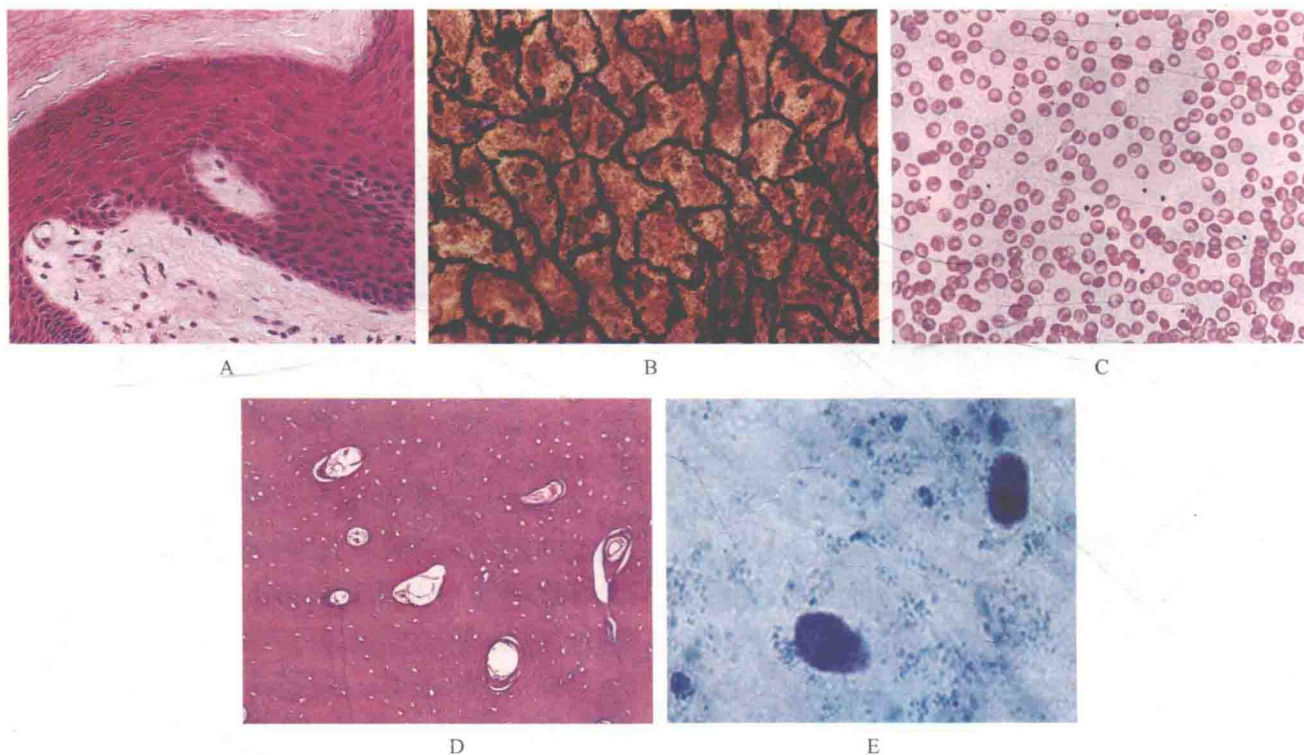


图 1-3 各种切片制备及染色

A. 石蜡切片 HE 染色; B. 肠系膜铺片镀银染色; C. 血涂片 Giemsa 染色; D. 骨磨片 HE 染色; E. 肥大细胞颗粒异染性



图 1-4 倒置荧光显微镜

光激发标本中的荧光物质，使之产生各种不同颜色的荧光，通过观察荧光的分布与强弱来测定被检物质。其组织标本常制备成石蜡切片或冰冻切片。荧光显微镜也广泛应用于免疫组织化学研究（见后）。

4. 相差显微镜 相差显微镜（phase contrast microscope）主要用于不适合染色的活细胞形态结构及生长变化情况的观察。相差显微镜的原理是：光通过细胞内具有不同厚度或折射率的结构时，其速度和方向发生改变，产生光程差，光程差使两束光的波峰和波谷位置不再并列，即发生了相位差；在物镜的后焦面处装有相位板，可将这种相位差转换为振幅差（明暗差），这样就使活细胞的不同结构出现显著的明暗反差，并具有立体感。为了便于观察贴附于培养瓶底的活细胞并进行某些显微操作，这种显微镜常将光源和聚光器安装在载物台上方，物镜在载物台下方，称倒置相差显微镜（inverted phase contrast microscope）。

5. 偏光显微镜 偏光显微镜（polarization microscope）常用于肌纤维、胶原纤维、细胞膜和纺锤体等的研究。其主要特点是在显微镜内装有产生偏振光和检测偏振光的装置，前者安装在光源和标本之间，称起偏器；后者安装在物镜和目镜之间，称检偏器。光线通过起偏器时，形成只能在一个平面上振动的偏振光。如使检偏器与起偏器的位置平行（平行检偏位），起偏器产生的平行偏振光完全通过检偏器，视野明亮；如两者位置垂直（正交检偏位），则偏振光不能通过检偏器，视野黑暗。

在正交检偏位观察标本时，如果旋转镜台，视野始终黑暗，则被检物为各向同性（如横纹肌纤维中的明带）；如旋转镜台一周，被检物4次隐没，4次明亮，则为各向异性（如横纹肌纤维中的暗带）。

6. 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）是采用激光作为光源，在传统光学显微镜基础上，运用光学共轭聚焦原理和装置，并利用计算机对所观察的对象进行数字图像处理的一套观察、分析和输出系统。是一种高灵敏度与高分辨率的生物学仪器，LSCM系统包括激光光源、自动显微镜、扫描模块（包括共聚焦光路通道和针孔、扫描镜、检测器）、数字信号处理器、计算机及图像输出设备等（图1-5）。LSCM的激光光源产生激光束，通过入射针孔的光阑作用入射到样品各点上，避免非照射区域的光散射。在发射光检测光路上有一个检测针孔，检测针孔和入射针孔的位置相对于物镜的焦平面是共轭的，即所谓“共聚焦”。激光束通过物镜聚焦后对样品的不同深度进行扫描；经样品反射的激光束通过透镜成像，被探测器接收，再经过光电信号转换在显示屏上；图像同时被传送到计算机图像分析系统，进行二维或三维的定性、定位及半定量分析。

LSCM突破了普通光学不能对较厚的切片标本的细胞或组织内部生物大分子进行定位检测的限制，实现了对细胞非侵入式光学断层扫描成像，从而进行一系列细胞及亚细胞水平的结构和功能研究。其标本制备通常进行荧光染色（图1-6）。



图 1-5 激光扫描共聚焦显微镜

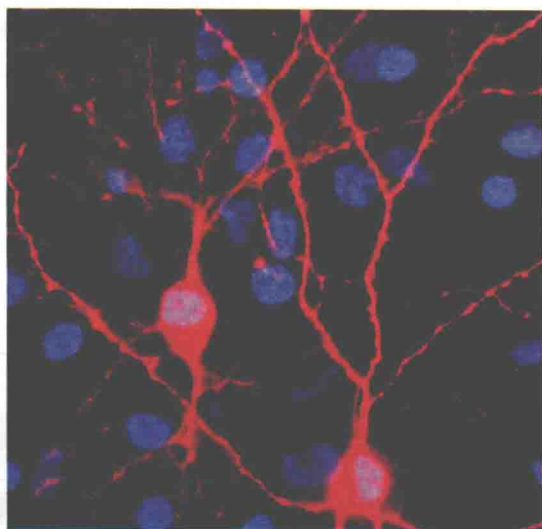


图 1-6 LSCM 示神经元活细胞图像 (Ippei Kotera 等, 北海道大学电子科学研究所)
红色为神经细胞胞体及突起

(二) 电子显微镜术 (简称电镜术)

电镜术主要包括透射电镜术和扫描电镜术。

1. 透射电镜术 透射电镜术 (transmission electron microscopy, TEM) 是用电子束取代可见光穿透标本, 并用电磁透镜代替光学透镜将穿过标本的电子束汇聚、放大, 在荧光屏上成像, 进行直接观察, 或将电子束投射到专用的底片, 对图像进行保存, 还可以对图像进行数字化, 然后利用计算机进行观察、保存和分析处理 (图 1-7)。透射电镜的分辨率可达 $0.1 \sim 0.2 \text{ nm}$, 放大倍数从几千倍到几十万倍。

由于电子束穿透力弱, 电镜标本须制成 $50 \sim 80 \text{ nm}$ 的超薄切片 (ultrathin section)。组织切成 1 mm^3 小块, 用多聚甲醛和戊二醛固定, 并用四氧化锇进行后固定, 树脂包埋; 再用超薄切片机 (ultramicrotome) (图 1-8) 切片, 贴附于铜网上; 最后用重金属盐如柠檬酸铅和醋酸铀等染色, 电镜下观察。

密度大、被重金属染色的结构, 电子束散射得多, 射落到荧光屏上的电子少, 在图像上呈暗区, 称电子密度高 (electron dense); 反之, 称电子密度低 (electron lucent) (图 1-9)。如观察 $0.5 \sim 6 \mu\text{m}$ 厚的切片, 需将电子枪的加速电压从通常的 $50 \sim 100 \text{ kV}$ 提高到 500 kV 以上, 即超高压电镜, 其电子束穿透力明显增强, 可观察细胞骨架、各种细胞器的立体超微结构及其相互关系等。

2. 扫描电镜术 扫描电镜术 (scanning electron microscopy, SEM) 用于观察细胞、组织和器官表面的立体微细结构。将小块组织 (直径约 0.3 cm) 经固定、脱水和临界点干燥后, 在其表面喷镀薄层碳膜和金属膜。扫描电镜发射的细电子束在样品表面按顺序逐点移动扫描, 使样品表面金属膜发射出二次电子, 二次电子信号被探测器收集, 经过放大, 在荧光屏上成像。扫描电镜的景深长, 图像清晰, 富有立体感 (图 1-10)。

3. 冷冻蚀刻术和冷冻割断术 冷冻蚀刻 (freeze etching) 术用于观察细胞断裂表面的微细结构, 特



图 1-7 透射电子显微镜



图 1-8 超薄切片机

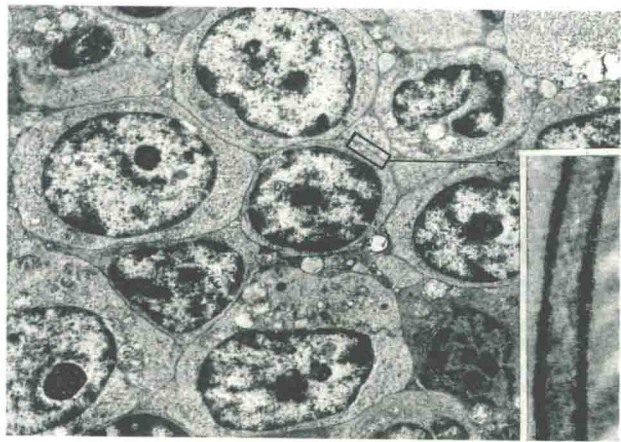


图 1-9 透射电镜 (TEM) 图片
右下角为高倍显示的细胞膜