



全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材



全国高等中医药院校规划教材（第十版）

# 神经解剖学

（供中医学、针灸推拿学、中西医临床医学、康复治疗学等专业用）

主编 孙红梅

全国百佳图书出版单位  
中国中医药出版社

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

全国高等中医药院校规划教材（第十版）

# 神经解剖学

（供中医学、针灸推拿学、中西医临床医学、康复治疗学等专业用）

## 主 审

白丽敏（北京中医药大学）

## 主 编

孙红梅（北京中医药大学）

## 副主编

陈 安（湖南中医药大学）

金昌洙（滨州医学院）

关建军（陕西中医药大学）

罗亚非（贵阳中医学院）

徐 强（黑龙江中医药大学）

## 编 委（以姓氏笔画为序）

王 强（甘肃中医药大学）

王媛媛（北京中医药大学）

田新红（河南中医药大学）

江爱娟（安徽中医药大学）

李 平（天津中医药大学）

杨 畅（辽宁中医药大学）

张胜昌（广西中医药大学）

国海东（上海中医药大学）

罗友华（成都中医药大学）

和风军（云南中医学院）

高 杰（山东中医药大学）

韩永明（湖北中医药大学）

楼航芳（浙江中医药大学）

中国中医药出版社

· 北 京 ·

图书在版编目 ( CIP ) 数据

神经解剖学 / 孙红梅主编 .—北京: 中国中医药出版社, 2017.7

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978-7-5132-4229-5

I . ①神… II . ①孙… III . ①神经系统—人体解剖学—高等学校—教材  
IV . ① R322.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 112125 号

请到“医开讲 & 医教在线”(网址: [www.e-lesson.cn](http://www.e-lesson.cn))  
注册登录后, 刮开封底“序列号”激活本教材数字化内容。



中国中医药出版社出版

北京市朝阳区北三环东路 28 号易亨大厦 16 层

邮政编码 100013

传真 010 64405750

赵县文教彩印厂印刷

各地新华书店经销

开本 850×1168 1/16 印张 13 字数 324 千字

2017 年 7 月第 1 版 2017 年 7 月第 1 次印刷

书号 ISBN 978-7-5132-4229-5

定价 49.00 元

网址 [www.cptcm.com](http://www.cptcm.com)

社长热线 010-64405720

购书热线 010-89535836

侵权打假 010-64405753

微信服务号 [zgzyycbs](https://www.e-lesson.cn)

微商城网址 <https://kdt.im/LIdUGr>

官方微博 <http://e.weibo.com/cptcm>

天猫旗舰店网址 <https://zgzyycbs.tmall.com>

如有印装质量问题请与本社出版部联系 (010 64405510)

版权专有 侵权必究

全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材

全国高等中医药院校规划教材（第十版）

## 专家指导委员会

### 名誉主任委员

王国强（国家卫生计生委副主任 国家中医药管理局局长）

### 主任委员

王志勇（国家中医药管理局副局长）

### 副主任委员

王永炎（中国中医科学院名誉院长 中国工程院院士）

张伯礼（教育部高等学校中医学类专业教学指导委员会主任委员  
天津中医药大学校长）

卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）

### 委员（以姓氏笔画为序）

马存根（山西中医药大学校长）

王 键（安徽中医药大学教授）

王省良（广州中医药大学校长）

王振宇（国家中医药管理局中医师资格认证中心主任）

方剑乔（浙江中医药大学校长）

孔祥骊（河北中医学院院长）

石学敏（天津中医药大学教授 中国工程院院士）

匡海学（教育部高等学校中药学类专业教学指导委员会主任委员  
黑龙江中医药大学教授）

吕文亮（湖北中医药大学校长）

刘 力（陕西中医药大学校长）

刘振民（全国中医药高等教育学会顾问 北京中医药大学教授）

安冬青（新疆医科大学副校长）

许二平（河南中医药大学校长）

孙忠人（黑龙江中医药大学校长）  
严世芸（上海中医药大学教授）  
李占永（中国中医药出版社副总编辑）  
李秀明（中国中医药出版社副社长）  
李金田（甘肃中医药大学校长）  
杨柱（贵阳中医学院院长）  
杨关林（辽宁中医药大学校长）  
余曙光（成都中医药大学校长）  
宋柏林（长春中医药大学校长）  
张欣霞（国家中医药管理局人事教育司师承继教处处长）  
陈可冀（中国中医科学院研究员 中国科学院院士 国医大师）  
陈立典（福建中医药大学校长）  
陈明人（江西中医药大学校长）  
武继彪（山东中医药大学校长）  
范吉平（中国中医药出版社社长）  
林超岱（中国中医药出版社副社长）  
周仲瑛（南京中医药大学教授 国医大师）  
周景玉（国家中医药管理局人事教育司综合协调处副处长）  
胡刚（南京中医药大学校长）  
洪净（全国中医药高等教育学会理事长）  
秦裕辉（湖南中医药大学校长）  
徐安龙（北京中医药大学校长）  
徐建光（上海中医药大学校长）  
唐农（广西中医药大学校长）  
彭代银（安徽中医药大学校长）  
路志正（中国中医科学院研究员 国医大师）  
熊磊（云南中医学院院长）

### **秘 书 长**

王键（安徽中医药大学教授）  
卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）  
范吉平（中国中医药出版社社长）

### **办公室主任**

周景玉（国家中医药管理局人事教育司综合协调处副处长）  
林超岱（中国中医药出版社副社长）  
李秀明（中国中医药出版社副社长）  
李占永（中国中医药出版社副总编辑）

## 编审专家组

### 组 长

王国强（国家卫生计生委副主任 国家中医药管理局局长）

### 副组长

张伯礼（中国工程院院士 天津中医药大学教授）

王志勇（国家中医药管理局副局长）

### 组 员

卢国慧（国家中医药管理局人事教育司司长）

严世芸（上海中医药大学教授）

吴勉华（南京中医药大学教授）

王之虹（长春中医药大学教授）

匡海学（黑龙江中医药大学教授）

王 键（安徽中医药大学教授）

刘红宁（江西中医药大学教授）

翟双庆（北京中医药大学教授）

胡鸿毅（上海中医药大学教授）

余曙光（成都中医药大学教授）

周桂桐（天津中医药大学教授）

石 岩（辽宁中医药大学教授）

黄必胜（湖北中医药大学教授）

# 前言

为落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010—2020年）》《关于医教协同深化临床医学人才培养改革的意见》，适应新形势下我国中医药行业高等教育教学改革和中医药人才培养的需要，国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室（以下简称“教材办”）、中国中医药出版社在国家中医药管理局领导下，在全国中医药行业高等教育规划教材专家指导委员会指导下，总结全国中医药行业历届教材特别是新世纪以来全国高等中医药院校规划教材建设的经验，制定了“‘十三五’中医药教材改革工作方案”和“‘十三五’中医药行业本科规划教材建设工作总体方案”，全面组织和规划了全国中医药行业高等教育“十三五”规划教材。鉴于由全国中医药行业主管部门主持编写的全国高等中医药院校规划教材目前已出版九版，为体现其系统性和传承性，本套教材在中国中医药教育史上称为第十版。

本套教材规划过程中，教材办认真听取了教育部中医学、中药学等专业教学指导委员会相关专家的意见，结合中医药教育教学一线教师的反馈意见，加强顶层设计和组织管理，在新世纪以来三版优秀教材的基础上，进一步明确了“正本清源，突出中医药特色，弘扬中医药优势，优化知识结构，做好基础课程和专业核心课程衔接”的建设目标，旨在适应新时期中医药教育事业发展和教学手段变革的需要，彰显现代中医药教育理念，在继承中创新，在发展中提高，打造符合中医药教育教学规律的经典教材。

本套教材建设过程中，教材办还聘请中医学、中药学、针灸推拿学三个专业德高望重的专家组成编审专家组，请他们参与主编确定，列席编写会议和定稿会议，对编写过程中遇到的问题提出指导性意见，参加教材间内容统筹、审读稿件等。

本套教材具有以下特点：

## 1. 加强顶层设计，强化中医经典地位

针对中医药人才成长的规律，正本清源，突出中医思维方式，体现中医药学科的人文特色和“读经典，做临床”的实践特点，突出中医理论在中医药教育教学和实践工作中的核心地位，与执业中医（药）师资格考试、中医住院医师规范化培训等工作对接，更具有针对性和实践性。

## 2. 精选编写队伍，汇集权威专家智慧

主编遴选严格按照程序进行，经过院校推荐、国家中医药管理局教材建设专家指导委员会专家评审、编审专家组认可后确定，确保公开、公平、公正。编委优先吸纳教学名师、学科带头人和一线优秀教师，集中了全国范围内各高等中医药院校的权威专家，确保了编写队伍的水平，体现了中医药行业规划教材的整体优势。

## 3. 突出精品意识，完善学科知识体系

结合教学实践环节的反馈意见，精心组织编写队伍进行编写大纲和样稿的讨论，要求每门

教材立足专业需求，在保持内容稳定性、先进性、适用性的基础上，根据其在整个中医知识体系中的地位、学生知识结构和课程开设时间，突出本学科的教学重点，努力处理好继承与创新、理论与实践、基础与临床的关系。

#### 4. 尝试形式创新，注重实践技能培养

为提升对学生实践技能的培养，配合高等中医药院校数字化教学的发展，更好地服务于中医药教学改革，本套教材在传承历版教材基本知识、基本理论、基本技能主体框架的基础上，将数字化作为重点建设目标，在中医药行业教育云平台的总体构架下，借助网络信息技术，为广大师生提供了丰富的教学资源 and 广阔的互动空间。

本套教材的建设，得到国家中医药管理局领导的指导与大力支持，凝聚了全国中医药行业高等教育工作者的集体智慧，体现了全国中医药行业齐心协力、求真务实的工作作风，代表了全国中医药行业为“十三五”期间中医药事业发展和人才培养所做的共同努力，谨向有关单位和个人致以衷心的感谢！希望本套教材的出版，能够对全国中医药行业高等教育教学的发展和中医药人才的培养产生积极的推动作用。

需要说明的是，尽管所有组织者与编写者竭尽心智，精益求精，本套教材仍有一定的提升空间，敬请各高等中医药院校广大师生提出宝贵意见和建议，以便今后修订和提高。

国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室

中国中医药出版社

2017年6月



## 编写说明

本教材是根据国务院《中医药健康服务发展规划（2015—2020年）》《教育部等六部门关于医教协同深化临床医学人才培养改革的意见》（教研〔2014〕2号）的精神，在国家中医药管理局教材建设工作委员会宏观指导下，以全面提高中医药人才的培养质量、积极与医疗卫生实践接轨、为临床服务为目标，依据中医药行业人才培养规律和实际需求，由国家中医药管理局教材建设工作委员会办公室组织建设的，旨在正本清源，突出中医思维方式，体现中医药学科的人文特色和“读经典，做临床”的实践特点。

神经解剖学是神经科学的重要组成部分，也是一门重要的医学基础课。根据新时期中医学及相关专业的培养目标要求，结合目前神经科学的发展现状和需要，在国家中医药管理局教材建设工作委员会、中国中医药出版社的支持下，我们组织了全国18所高等中医药院校解剖学界的专家，以新世纪全国高等中医药院校教材《神经解剖学》为基础编写了此教材，供中医学、针灸推拿学、中西医临床医学及康复治疗学等专业学生使用，也是临床针灸推拿按摩师和康复治疗师的必备教材。

在编写本教材的过程中，对一些内容的编排进行了适当的增减，如：增加了绪论中神经解剖学的研究内容以及神经解剖学的建立与发展概况的介绍，并将原教材“第十章神经解剖学的研究方法”的内容进行精简编入绪论中；删减了原书“第九章神经递质和神经调质及神经营养物质”，将神经递质与神经调质的基本概念编入了神经组织一章；增加了有关神经损伤定位的临床联系内容。书中有插图二百余张，除编者科学研究的真实电镜照片外，全部采用了彩绘图，使图片更加精美。本书配套了相应的数字化内容，使教材内容更为直观和生动，将有效地提高学习者的兴趣。

本教材第一章绪论由金昌洙、孙红梅编写；第二章神经系统概述由杨畅、和风军编写；第三章神经系统的发生由陈安编写；第四章神经组织由楼航芳编写；第五章脊髓和脊神经由徐强、高杰、江爱娟编写；第六章脑和脑神经由关建军、金昌洙、李平、田新红、张胜昌编写；第七章内脏神经系统由王强、韩永明编写；第八章神经传导通路由徐强、罗友华编写；第九章脑和脊髓的相关结构由王媛媛、国海东编写。此外，衷心感谢北京中医药大学白丽敏教授对本教材的认真审核，感谢北京中医药大学盖聪老师对本书编写所做的大量秘书工作。

本教材数字化工作是在国家中医药管理局中医药教育教学改革研究项目的支持下，由中国中医药出版社资助展开的。该项目（编号：GJYJS119）由孙红梅负责，全体编委参与。

本书如有不妥之处，恳请广大同仁和读者提出宝贵意见，以便日后修订完善。

《神经解剖学》编委会

2017年3月

NOTE

## 目 录

<b>第一章 绪 论</b>	<b>1</b>	六、卫星细胞	32
一、神经解剖学的研究内容	1	第三节 神经纤维	32
二、神经解剖学的建立与发展概况	1	一、神经纤维的分类	32
三、神经解剖学现代常用研究技术概要	2	二、神经纤维的变性与再生	34
<b>第二章 神经系统概述</b>	<b>8</b>	第四节 神经末梢	36
一、神经系统的基本功能	8	一、感觉神经末梢	36
二、神经系统的区分	8	二、运动神经末梢	37
三、反射和反射弧	9	<b>第五章 脊髓和脊神经</b>	<b>39</b>
四、神经系统的常用术语	11	第一节 脊髓	39
<b>第三章 神经系统的发生</b>	<b>13</b>	一、脊髓的位置和外形	39
第一节 神经管的形成和演化	13	二、脊髓的节段及与椎骨的对应关系	40
一、神经管的早期发育	13	三、脊髓的内部结构	41
二、神经管的组织分化	14	四、脊髓的功能	50
三、脊髓的发育	16	五、脊髓和马尾损伤	51
四、脑的发育	16	第二节 脊神经	53
第二节 神经嵴的发育	17	一、概述	53
一、脑神经节和脊神经节的形成	18	二、脊神经的分支	54
二、交感神经节的形成	18	第三节 脊髓和脊神经的节段性支配	67
<b>第四章 神经组织</b>	<b>19</b>	一、对皮肤的节段性分布	67
第一节 神经元	19	二、对肌的节段性支配	69
一、神经元的结构	19	<b>第六章 脑和脑神经</b>	<b>71</b>
二、神经元的分类	23	第一节 脑	71
三、突触	24	一、脑干	71
第二节 神经胶质细胞	27	二、小脑	92
一、星形细胞	28	三、间脑	100
二、少突胶质细胞	29	四、大脑	107
三、小胶质细胞	30	第二节 脑神经	125
四、室管膜细胞	31	一、嗅神经	126
五、施万细胞	31	二、视神经	126
		三、动眼神经	128
		四、滑车神经	128

五、三叉神经	129	五、平衡觉传导通路	168
六、展神经	132	六、内脏感觉传导通路	169
七、面神经	132	第二节 运动传导通路	170
八、前庭蜗神经	136	一、躯体运动传导通路	170
九、舌咽神经	137	二、内脏运动传导通路	175
十、迷走神经	138		
十一、副神经	142		
十二、舌下神经	142		
<b>第七章 内脏神经系统</b>	<b>145</b>	<b>第九章 脑和脊髓的相关结构</b>	<b>176</b>
第一节 内脏运动神经系统	146	第一节 脑和脊髓的被膜	176
一、交感神经	147	一、硬膜	176
二、副交感神经	151	二、蛛网膜	179
三、交感神经与副交感神经的主要区别	153	三、软膜	180
四、内脏神经丛	154	第二节 脑室及脑脊液	181
第二节 内脏感觉神经系统	155	一、脑室	181
		二、脑脊液及其循环	182
		第三节 脑屏障	184
		一、血-脑屏障	185
		二、血-脑脊液屏障	186
		三、脑脊液-脑屏障	187
		第四节 脑和脊髓的血管	187
		一、脑的血管	187
		二、脊髓的血管	191
<b>第八章 神经传导通路</b>	<b>161</b>	<b>主要参考书目</b>	<b>194</b>
第一节 感觉传导通路	161		
一、本体感觉传导通路	161		
二、痛觉、温度觉、粗触觉和压觉传导通路	164		
三、视觉传导通路	165		
四、听觉传导通路	167		

# 第一章 绪论

## 一、神经解剖学的研究内容

神经解剖学 (neuroanatomy) 是研究神经系统形态结构、发生和发展过程、神经组织的微细结构及细胞间相互联系的一门科学。神经解剖学是神经科学研究的重要组成部分,是神经生物学、神经生理学、神经药理学、神经病理学及临床神经病学和精神病学等学科的基础。近年来,随着生命科学和医学等领域的发展及研究技术的进步,神经解剖学的研究领域也在不断地拓宽。

## 二、神经解剖学的建立与发展概况

一般认为现代神经解剖学是从 19 世纪中期开始逐渐形成的一门独立学科。

19 世纪中后期,解剖学家发明了多种染色技术并将其应用到神经组织的研究中,在显微镜下观察染色神经组织切片的结构,取得了一系列的研究成果。

意大利解剖学家 Camillo Golgi (1843—1926) 在 1873 年创建了镀染整个神经元的银浸法 (silver impregnation method) 即称“Golgi”法;西班牙著名的神经组织学家 Santiago Ramón y Cajal (1852—1934) 对此法进行了改良,并利用这一方法做了大量的神经组织研究,提出了“神经元学说”,并出版了《人和脊椎动物的神经系统组织学》和《神经系统的变性和再生》两本神经解剖学的经典著作,1906 年两人共同获得了诺贝尔生理学或医学奖。

德国病理学家 Karl Weigert (1845—1904) 在 1884 年发明了髓鞘染色的 Weigert 法,以后又出现了很多改良方法,有的至今仍被应用。意大利的病理学家 Vittauio Marchi (1851—1908) 在 1890 年创立了显示变性髓鞘的 Marchi 法,应用此法可进行变性髓纤维的追踪,这为神经通路的研究做出了重要贡献。

德国精神病学家和神经病理学家 Franz Nissl (1860—1919) 在 1892 年发明了用碱性染料进行神经元染色的方法,称 Nissl 染色法,这种染色方法开启了神经组织中细胞构筑学的研究,并通过这种染色方法发现了神经纤维或神经元损伤后胞体的染色质溶解现象,此法至今仍被用于神经组织损伤的研究。

英国神经生理学家 Charles Scott Sherrington (1875—1952) 于 1897 年提出突触 (synapse) 这个概念,20 世纪 50 年代通过电子显微镜在超微结构水平已得到了证实,此后,神经科学工作者进行了大量的突触研究工作。2013 年因揭示了神经细胞突触囊泡运输调节机制的 3 位科学家 James E. Rothman、Randy W. Schekman 和 Thomas C. Südhof 获得了诺贝尔生理学或医学奖。

进入 20 世纪,神经科学工作者对神经元、神经胶质及神经纤维的微细结构进行了大量研究工作。20 世纪 50 年代后,随着电子显微镜的广泛应用,神经解剖学的研究进入到超微结构

水平。20世纪70年代后,随着神经通路追踪技术、荧光素标记法、组织化学、免疫组织化学、免疫电镜技术等相继应用,神经解剖学从形态结构的研究延伸到对其内化学物质的研究,开辟了免疫神经组织化学,也称**化学神经解剖学**(chemical neuroanatomy)这个学科,此学科对神经元中具有生理活性物质的定性和定位进行研究,揭示神经元间功能活动的化学机制。1989年美国确定20世纪90年代为“脑的10年”,随后掀起了神经科学研究的新高潮;90年代原位杂交技术的引入,将神经细胞中的基因用形态学方法显示出来;而激光扫描共聚焦显微镜等的应用再次给神经解剖学的研究带来了质的飞跃。

进入21世纪,神经科学的研究已成为国内外医学研究领域的热点之一,神经解剖学借助生命科学研究的新技术和新方法,其研究内容越来越丰富,与其他学科的交叉和融合研究越来越多。目前围绕脑功能、脑网络组、神经再生、神经发育与遗传等方面的研究引起了神经科学工作者的广泛关注。神经科学与心理学、人工智能、认知科学以及教育学等一些跨领域研究学科的联系和交叉渗透更加密切。2013年4月美国宣布并启动为期10年的名为“基于神经科学技术创新的人脑研究计划(BRAIN Initiative)”,2013年10月,欧盟正式启动欧盟人脑研究计划,日本也随即呼应启动日本脑计划,我国于2016年2月也正式公布了中国脑计划的名称“脑科学与类脑科学研究”,资助时间长达15年(2016~2030年)。

在我国,科学工作者结合中医药及针灸的临床应用,开展了大量针刺镇痛的神经机制、中医药防治神经系统疾病以及康复机制的研究。这对推动神经科学的发展亦具有重要的意义。

### 三、神经解剖学现代常用研究技术概要

神经解剖学的研究技术在不断出现和发展,由于篇幅限制,将扼要介绍在现代研究中神经解剖学常用的一些研究技术。

#### (一) 神经组织的一般染色技术

神经系统的一般组织学染色技术方法可以追溯到19世纪末,有的至今仍是神经解剖学研究中常用的方法。要进行神经组织微细结构的观察,首先需对神经组织标本进行一系列处理后切成薄片,再进行染色,然后才能在显微镜下观察拍照。本部分简要介绍组织切片的制作和传统的神经解剖学染色方法。

**1. 组织切片的制备方法** 在进行组织切片前首先要进行组织固定、组织包埋,然后进行组织切片。

(1) **组织固定** 固定是指将组织浸入化学试剂内,通过化学试剂的作用,使组织细胞的形态结构保存下来的一种方法。组织固定是组织切片制备的重要步骤之一,它不仅用于一般的组织切片染色,也是组织化学、免疫组织化学、原位杂交、电镜等技术成败的关键环节。

一般情况下,生物体死后组织很快自溶,其形态结构立即发生改变。用固定剂固定组织既可防止组织自溶,又可保护组织免受微生物侵袭,并使之能承受制片过程中因渗透压的改变而导致的组织结构破坏,以维持组织生前结构。理想的固定剂还能将蛋白质、脂类及其他细胞成分聚成不溶性大分子网而不影响其组织化学特性,它应保存组织中酶的活性。实际上并无理想的固定剂,任何固定剂都只能满足某些方面的要求。下面介绍神经解剖学中常用的固定方法和固定剂。

1) 常用的固定方法 主要有浸泡固定和灌流固定两种。①浸泡固定:将组织块直接浸泡

在固定液中，一般固定液的量应为组织块的 15 ~ 20 倍；②灌流固定：通常经左心室至升主动脉将固定液灌注在动物机体，同时剪开右心耳放血，灌流固定液的量至少是动物血液量的 2 倍以上。为了避免血凝块堵塞小血管，一般在灌注固定剂前，先用生理盐水冲去血液。

2) 常用的固定剂 固定剂可分为单一固定剂和混合固定剂。前者指选择一种化学试剂作为组织固定剂，如乙醇、甲醛、四氧化锇（锇酸）等。后者指用两种或两种以上的化学试剂按一定比例混合后作为组织固定剂，目的在于使这些化学试剂可以通过各自的优缺点相互弥补，从而成为一种较完美的固定剂。

(2) 组织包埋 将固定的组织块经过脱水等处理、充分浸透包埋剂后，再置于包埋剂内冷却，这个过程称为**包埋**。常用的组织包埋方法根据包埋剂的不同可分为石蜡包埋、火棉胶包埋、低黏稠度硝化纤维包埋及明胶包埋等。

(3) 组织切片 组织切片的方法较多，下面介绍几种常用方法。

1) 石蜡切片法 是神经解剖学研究中最为常用和实用的切片制作技术。采用石蜡切片机切片，如无特殊要求，切片厚度一般为 5 ~ 10 $\mu\text{m}$ ，将切片机切下的蜡带放于恒温水浴中展开后贴于经过处理的载玻片上，放入温箱内烘干后，再经脱蜡、染色后可在显微镜下观察。

2) 冰冻切片法 将组织块制冷后进行切片，也是神经解剖学常用的切片方法之一，目前最常用的为**恒冷箱切片法**。恒冷切片机实际上是将切片机置于类似冰箱的恒冷箱内，使切片机保持恒定的低温状态，组织块不致解冻。本法的优点是可切较薄的连续冰冻切片，切片厚度在 10 ~ 100 $\mu\text{m}$ ，适用于细胞化学和免疫细胞化学的研究。

操作时可将新鲜固定或不经固定的组织用液氮、干冰等冷冻后置于恒冷箱内切片，也可将组织块直接放置在恒冷箱内，经过组织吸热器处理后切片，为防止组织内的水分形成冰晶，可在冰冻前将组织放入一定浓度的蔗糖内浸透。

3) 振动切片法 该法使用振动切片机进行，该机是利用振动器使刀片进行横向振动，同时缓慢向前进刀，以切割浸泡在液体中的组织块，其切片厚度范围为 20 ~ 500 $\mu\text{m}$ 。用此种方法切片，不需包埋或冰冻，因此可保持组织的成分及酶活性，以及避免冰晶造成的组织破坏等，尤其适用于组织化学及免疫电子显微镜技术的切片观察。

4) 超薄切片法 此法制作的超薄切片组织很小，适用于透射电镜下观察。前期组织块一般用多聚甲醛和戊二醛的磷酸缓冲液做预固定，然后用四氧化锇的磷酸缓冲液做后固定，组织块采用丙酮脱水，包埋剂多用环氧树脂。在超薄切片机上用玻璃刀或钻石刀切片，切片厚度不超过 0.1 $\mu\text{m}$ 。切片用醋酸双氧铀及枸橼酸铅等进行染色后，在透射电镜下观察。

**2. 神经组织切片染色** 染色是指组织或细胞的某些成分与染料经化学结合或物理吸附作用而显色，以便于显微镜下观察。下面介绍几种常用的染色方法。

(1) 苏木精 - 伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE) 法 简称 HE 染色法。是组织切片染色技术中应用最广泛的染色方法，也是神经组织形态学研究技术中最基本的染色方法。苏木精是阳离子染料，能将细胞核内的嗜碱性物质染成蓝紫色；伊红是阴离子染料，可将细胞质和胶原纤维等染成粉红色。但 HE 染色不能很好地显示神经元的尼氏体、神经纤维的髓鞘、神经末梢、胶质细胞等，显微镜下观察这些结构还需采用其他的特殊染色方法。

(2) Nissl 染色法 是一种经典的神经组织特殊染色方法。其根据神经元内的主要成分核酸（脱氧核糖核酸和核糖核酸）具有嗜碱性的特点，采用碱性染料进行染色。神经元胞体中大

量核糖核酸主要以尼氏体 (Nissl body) 的形式存在, 可与碱性染料结合, 而细胞核中染色质少, 故染色浅, 但核仁含有丰富核糖核酸和一层脱氧核糖核酸外壳, 故核仁染色较深。

通过 Nissl 染色, 尼氏体、胞核和核仁清晰可辨, 而且容易区分树突 (有尼氏体) 和轴突 (无尼氏体)。在生理情况下, 尼氏体大而数量多, 反映神经元合成蛋白质的功能较强; 而神经元受损时, 尼氏体的数量可减少甚至消失, 因此可通过尼氏染色后对尼氏体的观察来了解神经元的损伤和恢复情况。另外神经胶质细胞核内染色质较丰富, 故尼氏染色着色较深, 但胞浆不着色。Nissl 染色使用的碱性染料主要有焦油紫 (又称甲酚紫或克紫或焦油固紫)、硫堇、甲苯胺蓝和倍花青等。

(3) 镀银染色 也是显示中枢神经系统神经元形态结构的方法, 不但能显示神经元的胞体, 也可显示神经纤维、神经末梢以及溃变的神经纤维等。

1) Golgi 法 是用硝酸银镀染显示完整的神经元轮廓及突起的走向。现在 Golgi 原法已有很多改良方法。Golgi 镀染神经元的机制至今不清, 但此法如今仍被广泛使用。

2) Cajal 法 由 Santiago Ramón y Cajal 在 1903 年创立。主要镀染神经元内的神经原纤维, 从而可以显示轴突末梢和其他胞体之间的联系。

(4) 髓鞘染色 髓鞘是神经纤维的被膜, 髓鞘的染色观察对研究神经纤维的联系、变性和再生有重要的意义。

1) Weigert 法 先用金属化合物如铬、铜、铁盐等对神经组织、特别是髓鞘进行媒染, 再用苏木素染色, 使髓鞘染成深蓝色至黑色。Weigert 法目前是显示髓鞘的最佳方法。

2) Marchi 法 是用钨酸专门显示变性髓鞘的染色方法。本法广泛应用于变性有髓纤维束的追踪。Marchi 法染色可使变性髓鞘及脂肪呈黑色, 背底呈黄至浅棕色, 只适合有髓纤维。

3) Nauta 法 由荷兰神经解剖学家 Walle J. H. Nauta (1916—1994) 和他的同事于 20 世纪 50 年代创立, 是一种显示变性纤维或终末的改良镀银法。此法用高锰酸钾对神经组织进行前处理, 以降低组织还原力, 并抑制正常纤维嗜银性, 从而可以追踪到终末前、显示变性纤维靠近终末部分的变性。Nauta 的溃变银染法曾为研究中枢神经系统纤维联系提供了重要方法。

## (二) 神经通路追踪技术

神经通路追踪技术是追踪神经元之间以及胞体与突起之间联系的技术, 是神经解剖学研究中的一个重要组成部分, 对研究神经的功能、神经系统的发育和成熟都具有重要的价值。从早期显示溃变纤维的镀银法到 20 世纪 70 年代神经通路追踪技术的出现, 神经解剖学的研究迈向了新台阶。通过神经通路追踪技术, 能够顺行或逆行标记神经元胞体或纤维, 从而展开对神经元通路的形态学研究, 但各种神经通路追踪技术存在灵敏度和操作便捷性等方面的差异。

追踪剂是神经通路追踪技术的工具药。常用的有辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP)、放射性同位素  $^{14}\text{C}$  或  $^3\text{H}$  等标记的氨基酸、放射性同位素  $^{14}\text{C}$  或  $^3\text{H}$  标记的 2-脱氧葡萄糖、荧光素等。除上述示踪剂外, 单独使用的示踪剂还有植物凝集素如菜豆凝集素 (phaseolus vulgaris agglutinin, PHA)、生物胞素 (biotin) 和神经生物素 (neurobiotin)、生物素化葡聚糖胺 (biotinylated extran amine, BDA)、霍乱毒素亚单位 B (cholera toxin subunit B, CTB) 及神经营养性病毒如单纯疱疹病毒、假狂犬病毒及弹性病毒等。追踪剂的选择也取决于多种因素, 包括动物的种类、年龄及追踪的部位和方向等, 在实验设计中可以使用不同的示踪剂多通路追踪, 也可以与其他技术结合进行神经通路的追踪研究。

### (三) 化学神经解剖学研究技术

**1. 酶组织化学技术** 酶组织化学 (enzyme histochemistry) 是利用组织细胞内酶具有催化某种反应的特性来检测酶活性。显色原理是将组织切片置于含有特异性底物的溶液中孵育, 底物经酶的作用形成初级反应产物, 再与某种捕获剂结合, 形成显微镜下可见的沉淀物。常用于神经解剖学研究的酶组织化学方法有乙酰胆碱酯酶组织化学染色和辅酶 II 依赖性黄递酶 (NADPH-d) 组织化学染色等。

**2. 免疫组织化学技术** 免疫细胞化学 (immunocytochemistry, ICC) 技术是应用免疫学原理, 通过抗原和抗体的结合反应显示细胞内的抗原或抗体成分。将这种技术用于组织学研究则称为免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 技术。由于该方法特异性强和灵敏度高, 特别是近年来免疫学不断发展, 提纯抗原和制备标记抗体等技术不断提高, 使 IHC 技术进展迅速、应用更加广泛, 已成为神经解剖学的重要研究方法。常用的免疫组织化学方法包括免疫荧光细胞化学法和免疫酶法等, 用这种方法可对细胞内的特定抗原、抗体进行定位和定量研究。

在神经解剖学的研究中, 作为抗原的通常是神经组织内的蛋白、神经肽或酶, 抗体为免疫球蛋白。大多数抗原-抗体反应物是不可见的, 需要将抗体或免疫复合物用可以辨别的物质或荧光染料结合, 再用组织化学方法显示此标记物, 才能在一般光镜或荧光显微镜下进行观察。常用的标记物质有荧光染料、酶、铁蛋白、生物素、胶体金及同位素等, 光镜免疫组织化学最常用的标记酶是 HRP。

用免疫组化技术在同一张切片上显示两种或两种以上的抗原, 以观察他们定位、形态和功能上的相互关系, 或在相邻两张切片上各显示一种抗原, 然后进行比较观察两种抗原是否共存于同一细胞内, 可采用免疫组织化学双重染色技术。

**3. 原位杂交组织化学技术 (in situ hybridization histochemistry, ISHH)** 简称原位杂交 (in situ hybridization), 是在一定温度和离子浓度下, 将具有特异序列的单链探针通过碱基互补规则与组织细胞内待测的核酸结合, 使得组织细胞中的特异性核酸得到定位, 并通过探针上所标记的检测系统将其在核酸的原有位置上显示出来。标记的 DNA 或 RNA 为探针, 可与组织切片、细胞或染色体标本中的待检 DNA 片段或 mRNA 进行杂交, 然后显示标记物, 从而分析待检核酸的分布和含量。利用此项技术可研究编码某种蛋白质的 mRNA 在胞质中的表达和各种基因在染色体上的定位。尽管目前 PCR 技术可以更便捷地检测组织中的 DNA 和 RNA 的含量变化, 但在基因定位检测方面原位杂交技术是无法替代的。

### (四) 电子显微镜技术

**电子显微镜**简称电镜 (electron microscope, EM) 是用电子代替可见光, 用电磁透镜代替光学透镜, 利用电子的波动性将肉眼不可见的电子束成像在荧光屏上的显微镜。

在神经解剖学的研究中常用的电子显微镜主要为**透射电镜** (transmission electron microscope, TEM) 和**扫描电镜** (scanning electron microscope, SEM)。

透射电镜利用由电子发射器发射的电子束穿透样品, 经电磁场透镜的聚合放大投射到荧光屏或照相胶片上成像而成, 其分辨率为 0.2nm, 比光镜高 1000 倍, 可放大几万倍到几十万倍, 能观察到细胞内更微细的结构, 在电镜下所见的结构称**超微结构** (ultrastructure), 进行组织细胞透射电镜观察时需制作超薄切片 (厚 50 ~ 80nm), 将超薄切片粘在金属载网上, 再用染色剂铅盐和铀盐染色后, 在电镜下观察。



扫描电镜是研究细胞和器官表面立体微细结构的电子显微镜，它利用电子发射到样品上，有一部分电子把样品表面原子的外层电子打落，称为“二次电子”，将其收集起来并使它们成像。它主要用于观察物体的表面形态，因而对样品的厚度没有限制，无须制作超薄切片，在样品处理上比较简单，只须经过固定、脱水及镀上一层金属薄膜就可以观察。其视场大、景深长，图像清晰富于立体感和真实感，特别适合于观察细胞的突起、微绒毛、神经纤维、微管、微丝等结构。

### (五) 激光扫描共聚焦显微技术

**激光扫描共聚焦显微镜** (laser scanning confocal microscope, LSCM) 是以激光束为光源，将光学显微镜技术、激光扫描技术和计算机图像处理技术结合在一起的高新技术设备。其主要装置包括激光器、扫描头、显微镜和计算机四大部分，它用于研究和分析细胞在变化过程的结构，也可对活细胞离子含量变化进行定量检测等。

激光扫描共聚焦显微镜主要应用于以下几个方面：

**1. 免疫荧光定量定位测量** 借助免疫荧光标记方法，激光扫描共聚焦显微镜不仅可对细胞的细胞器、DNA、RNA、酶和受体分子的含量、成分及分布进行定性和定量测定；还可测定细胞的膜电位、氧化-还原状态及配体结合等生化反应；与此同时，还能够对所获得的图像进行定量分析，提高结果的准确性。

**2. 细胞内离子测定** 使用荧光探针，可对神经细胞的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{H}^{+}$  及其他各种细胞内离子进行定量和动态分析；使用双荧光探针还可对  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{H}^{+}$  等同时测定。

**3. 细胞间通讯研究** 可从形态学上观察细胞间连接的变化、连接蛋白和黏附因子；测量细胞间隙连接介导分子转移；测定某些因子对神经元间通讯的影响等。

**4. 细胞膜流动性测定** 利用其专用软件可对细胞膜的流动性进行定量和定性分析，这对膜磷脂和脂肪酸组成、药物效应和作用点、温度反应和物种比较等研究都有重要意义。

**5. 图像重组** 通过激光扫描共聚焦显微镜的共聚焦系统，可获得生物样品高反差、高分辨率和高灵敏的二维图像，再利用其模拟荧光处理软件，可将系列光学切片的数据合成三维图像，三维重组图像可使神经细胞、细胞器的形态学结构更生动逼真。

### (六) 脑功能成像技术

随着现代物理、电子与计算机技术的迅速发展，脑功能成像技术日趋成熟，因功能强大和无创等优势，其已成为神经科学研究的又一利器。如今它在认知神经科学以及心理学领域中的应用取得了许多突破性成果。

到目前为止，人们已成功开发了许多脑功能成像技术，如：**功能性核磁共振成像技术** (functional magnetic resonance imaging, fMRI)、**正电子发射断层扫描技术** (positron emission tomography, PET)、**单-正电子发射计算机断层扫描技术** (single positron emission computerized tomography, SPECT)、**磁共振波谱分析** (magnetic resonance spectroscopy, MRS)、**事件相关电位** (event-related potential, ERP)、**脑电图** (electroencephalograph, EEG)、**脑磁图** (magnetoencephalography, MEG) 和**近红外线光谱分析技术** (near-infrared spectroscopy) 等。

### (七) 脑立体定位技术

在动物实验中，有时需要在较少损伤中枢神经系统的情况下，把微细电极或导管插入脑的