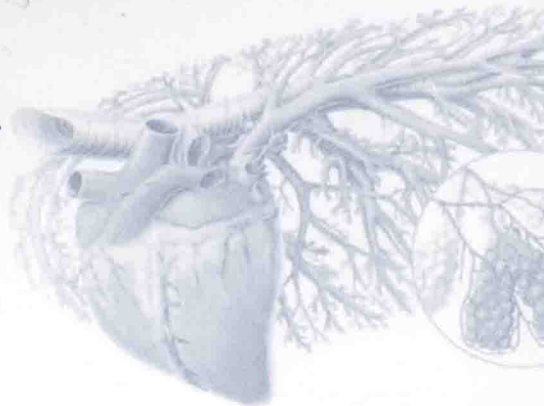




普通高等教育“十二五”规划教材



动物组织学与 胚胎学 (第二版)

李子义 栾维民 岳占碰 主编



 科学出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

动物组织学与胚胎学

(第二版)

李子义 栾维民 岳占碰 主编



科学出版社

北京

内 容 简 介

本书包括绪论、细胞、基本组织学(上皮组织、结缔组织、肌组织、神经组织,共4章)、器官系统组织学(神经系统、循环系统、被皮系统、呼吸系统、消化系统、免疫系统、内分泌系统、感觉器官、泌尿系统、生殖系统,共10章)、禽类主要器官的组织结构特点、胚胎学(哺乳动物和家禽早期胚胎发育各1章)等内容。本书既保留了动物组织学与胚胎学的经典内容,也简介了相关的新理论、新知识,还兼顾了本学科的科学史。

本书适用读者对象主要是普通高等院校动物医学、动物科学、实验动物、生物技术、动物食品卫生检验、野生动物资源保护等专业的学生;同时也可作为广大生物科技工作者和畜牧兽医科技人员的参考资料。

图书在版编目(CIP)数据

动物组织学与胚胎学/李子义,栾维民,岳占碰主编. —2版. —北京:科学出版社,2014.6

普通高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-03-041103-7

I. ①动… II. ①李… ②栾… ③岳… III. ①动物组织学-高等学校-教材 ②动物胚胎学-高等学校-教材 IV. ①Q95

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 129682 号

责任编辑:吴美丽 / 责任校对:郑金红

责任印制:肖 兴 / 封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

铭浩彩色印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003年6月第一版 开本:787×1092 1/16

2014年6月第二版 印张:18 1/4 插页:1

2014年6月第一次印刷 字数:478 000

定价:45.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《动物组织学与胚胎学》编写委员会

主 编 李子义 栾维民 岳占碰
副主编 张学明 岳顺利 杨 隽 崔成都 石 娇 谭丽勤
石长青 丁向彬 徐春生

编 委(以姓氏笔画排序)

丁向彬 (天津农学院)	岳占碰 (吉林大学)
马 馨 (吉林农业大学)	岳顺利 (东北农业大学)
王春生 (东北林业大学)	周佳勃 (东北农业大学)
王树迎 (山东农业大学)	郭 斌 (吉林大学)
石 娇 (沈阳农业大学)	段慧琴 (北京农学院)
石长青 (塔里木大学)	赵云蛟 (吉林农业大学)
刘忠华 (东北农业大学)	殷玉民 (西北农林科技大学)
李 敏 (辽宁医学院)	高登慧 (贵州大学)
李子义 (吉林大学)	栾维民 (吉林农业大学)
李莲军 (云南农业大学)	唐 博 (吉林大学)
李德雪 (军事医学科学院)	徐春生 (石河子大学)
吴高峰 (沈阳农业大学)	诸葛增玉 (天津农学院)
杨 隽 (黑龙江八一农垦大学)	崔成都 (延边大学)
杨 彬 (黑龙江八一农垦大学)	彭克美 (华中农业大学)
杨占清 (吉林大学)	谭丽勤 (云南农业大学)
张学明 (吉林大学)	穆 祥 (北京农学院)

主 审 李德雪
副主编 彭克美 王树迎

前 言

动物组织学与胚胎学是动物医学、动物科学、实验动物、生物技术、动物食品卫生检验、野生动物资源保护等专业的重要基础理论学科之一。只有对正常动物机体各部分的形态结构、发生发展过程有了比较全面的了解,才能进一步深入研究其正常生命活动及新陈代谢的途径和机制。所以其既是动物解剖学的延续,又是进一步学习动物生理学、生物化学、病理学、免疫学、诊断学、外科学、产科学及畜禽生产、生物技术等相关后续课程的必要基础。

为适应学科发展和 21 世纪动物医学与动物科学等相关专业教学改革的需要,我们编写了本书。本书力求从内容上做到既保持本学科传统理论的精华,又反映与之紧密相连的现代新理论、新知识,并兼顾本学科的科学史,以满足相关专业动物组织学与胚胎学教学之需,同时也为广大生物科技工作者和畜牧兽医科技人员提供参考。

本书为保持动物组织学与胚胎学的系统性,仍将“细胞”单列一章。为使学生对当前与本学科密切相关的新技术、新方法有所了解,在不占用太多篇幅的前提下,本书对细胞工程、组织工程、胚胎工程等相关内容进行了简要介绍。为便于学生课后复习、总结,掌握本课程的基本理论和知识要点,每章后均留有复习思考题。另外,为了让师生更好地掌握诸多以发现者或研究者而命名的名词术语,了解相关科学史,激发学生的学习兴趣,经查阅大量资料,编写了“科技人物与名词术语”附于书后。因此,本书内容比一般教材略显丰富。各院校可视本单位教学时数及教学内容的安排自行取舍。

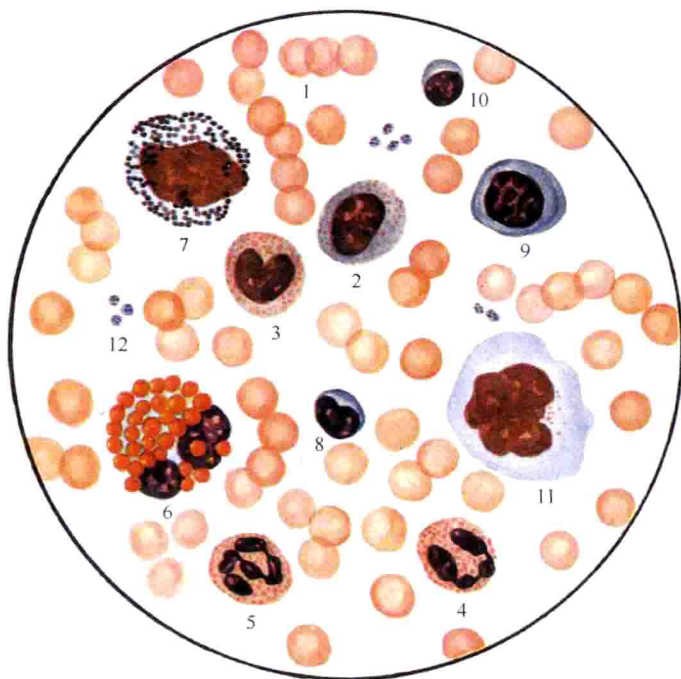
本书在编写中参考了国内外一些主要的动物(兽医)组织学与胚胎学教材,特将主要参考文献列于书后,以便读者进一步参阅。本书的编撰得到了作者所在单位及参编单位的大力支持,在此谨对关心和支持本书编写、出版的单位和同仁致以诚挚的谢意!科学出版社的编辑和其他工作人员对本书的出版给予了鼎力支持和帮助,特此致谢!囿于编者知识水平,书中瑕疵在所难免,恳请广大读者不吝批评指正,以资再版修订之用。

编 者

2014 年 3 月

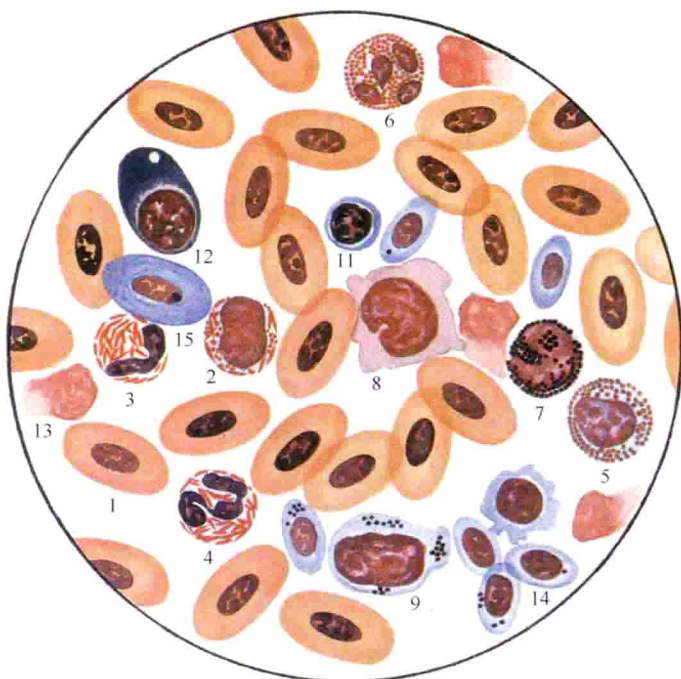
彩图一 马血涂片

1. 红细胞;
2. 中性粒细胞(中幼);
3. 中性粒细胞(晚幼);
- 4-5. 中性粒细胞(分叶核);
6. 嗜酸粒细胞;
7. 嗜碱粒细胞;
8. 小淋巴细胞;
9. 大淋巴细胞;
10. 小淋巴细胞;
11. 单核细胞;
12. 血小板



彩图二 鸡血涂片

1. 红细胞;
- 2-4. 异嗜细胞(假嗜酸粒细胞);
2. 髓细胞; 3. 杆状核型;
4. 分叶核型; 5-6. 嗜酸粒细胞;
5. 嗜酸髓细胞; 6. 嗜酸分叶核;
7. 嗜碱杆核粒细胞; 8. 单核细胞;
9. 大淋巴细胞; 10. 中淋巴细胞;
11. 小淋巴细胞; 12. 丘尔克细胞;
13. 核的残余物; 14. 血栓细胞;
15. 多染性红细胞



目 录

前言

第一章 绪论	1
复习思考题	8
第二章 细胞	9
第一节 细胞的形态结构	9
第二节 细胞的基本生命活动	25
第三节 细胞工程	28
复习思考题	30

上篇 组织学

第三章 上皮组织	33
第一节 被覆上皮	33
第二节 腺上皮与腺	40
第三节 感觉上皮	42
第四节 上皮组织的再生	42
第五节 组织工程	43
复习思考题	44
第四章 结缔组织	45
第一节 固有结缔组织	45
第二节 软骨组织与软骨	54
第三节 骨组织与骨	55
第四节 血液与淋巴	60
复习思考题	68
第五章 肌组织	69
第一节 骨骼肌	70
第二节 心肌	74
第三节 平滑肌	75
复习思考题	77
第六章 神经组织	78
第一节 神经元	78
第二节 神经纤维与神经	83
第三节 神经末梢	85
第四节 神经胶质细胞	88
复习思考题	90

中篇 器官与系统

第七章 神经系统	93
第一节 中枢神经系统	93
第二节 周围神经系统	100
复习思考题	101
第八章 循环系统	102
第一节 心脏	102
第二节 血管	105
第三节 淋巴管	112
复习思考题	112
第九章 被皮系统	113
第一节 皮肤	113
第二节 皮肤的附属结构	117
复习思考题	122
第十章 呼吸系统	123
第一节 鼻腔	123
第二节 喉	124
第三节 气管与支气管	125
第四节 肺	127
复习思考题	133
第十一章 消化系统	134
第一节 消化管	134
第二节 消化腺	149
复习思考题	159
第十二章 免疫系统	161
第一节 免疫细胞	161
第二节 淋巴组织	162
第三节 淋巴器官	163
第四节 单核吞噬细胞系统及抗原 呈递细胞	174
复习思考题	174
第十三章 内分泌系统	175
第一节 甲状腺	175
第二节 甲状旁腺	177
第三节 肾上腺	179

第四节 脑垂体	181	第四节 内分泌器官	239
第五节 松果体	186	第五节 泌尿器官——肾	242
复习思考题	188	第六节 生殖器官	244
第十四章 感觉器官	189	复习思考题	248
第一节 视觉器官	189	下篇 胚胎学	
第二节 平衡及听觉器官	196	第十八章 哺乳动物早期胚胎发育	251
复习思考题	201	第一节 生殖细胞	251
第十五章 泌尿系统	202	第二节 胚胎的早期发育	251
第一节 肾	202	第三节 胎膜与胎盘	258
第二节 排尿管道	214	第四节 胚胎工程	262
复习思考题	215	复习思考题	265
第十六章 生殖系统	216	第十九章 家禽早期胚胎发育	266
第一节 雄性生殖系统	216	第一节 家禽生殖细胞的结构特点	266
第二节 雌性生殖系统	222	第二节 家禽胚胎的早期发育	267
复习思考题	228	第三节 胎膜的形成及功能	271
第十七章 家禽主要器官的组织结构		复习思考题	274
特点	229	主要参考文献	275
第一节 淋巴器官	229	附录 科技人物与名词术语	276
第二节 消化器官	232		
第三节 呼吸器官	237		

第一章 绪 论

动物组织学(animal histology)和动物胚胎学(animal embryology)是相互关联的两门学科,在教学中一般将其合并为一门课程。由于动物种属较多,为满足教学需要,本书主要阐述家畜与家禽的有关内容。

一、研究内容和意义

(一) 动物组织学的研究内容和意义

动物组织学是研究动物机体微细结构及其相关功能的科学,它以显微镜观察组织切片为基本方法,故又称显微解剖学(microanatomy)。组织(tissue)由细胞(cell)和细胞间质组成。细胞是动物机体结构与功能的基本单位,动物机体的细胞有成百上千种类型,各种细胞均具有一定的形态结构和功能。细胞间质是由细胞产生的非细胞物质,包括纤维和基质,参与构成细胞生存的微环境,起支持、联系、营养和保护细胞的作用。一般可将组织分为四大类型,即上皮组织、结缔组织、肌肉组织和神经组织。几种组织按照特定的方式有机地结合,即构成器官(organ);由若干功能相关的器官共同组成系统(system)。

只有深入了解机体的结构,才能透彻阐明其功能。因此,动物组织学的发展极大地促进了动物生理学的发展。动物组织学也是动物病理学的基础,研究疾病状态下机体的结构变化,必须以正常机体的组织结构作为参照。掌握动物组织学的基本知识和技能,是动物医学、动物科学、实验动物、动物生物技术等专业的学生进一步学好动物生理学、动物病理学及其他相关学科的前提。

(二) 动物胚胎学的研究内容和意义

动物胚胎学主要是研究动物从合子发育为新个体的过程及其机理的科学,研究内容包括生殖细胞发生、受精、早期胚胎发育、胚胎与母体的关系等。胚胎学主要包括以下几个分支学科。

1. 描述胚胎学 描述胚胎学(descriptive embryology)主要应用组织学和解剖学的方法观察胚胎发育的形态演变过程及其规律,包括外形的演变,从原始器官到永久性器官的演变,系统的形成,细胞的增殖、迁移和凋亡等,是胚胎学的基础内容。

2. 比较胚胎学 比较胚胎学(comparative embryology)以比较不同种系动物的胚胎发育为研究内容,为探讨生物进化过程及其内在联系提供依据,有助于深刻理解动物胚胎的发育。

3. 实验胚胎学 实验胚胎学(experimental embryology)对胚胎或培养的胚胎组织给予化学或物理因素刺激,或施加显微手术,研究胚胎发育的内在规律和机理。

4. 化学胚胎学 化学胚胎学(chemical embryology)主要通过应用化学与生物化学技术,揭示胚胎生长发育过程中诸多化学物质的质与量的变化及代谢过程。

5. 分子胚胎学 分子胚胎学(molecular embryology)用分子生物学的理论和方法探索胚胎发生过程中基因表达的时间顺序、空间分布与调控因素,研究基因表达产物,即各种蛋白

质在胚胎发育中的作用,从根本上阐明胚胎发育的分子机理。

6. 畸形学 在胚胎发育中,遗传因素或环境因素可致胚胎异常发育,引起先天性畸形。畸形学(teratology)旨在研究各种先天性畸形发生的原因、机理和预防措施。

7. 生殖工程学 生殖工程学(reproductive engineering)即通过人工介入早期生殖过程,以获得期望的新生个体的学科。主要技术有体外受精、胚胎移植、显微受精、核移植等。

研究动物胚胎学具有重要的理论意义和实用价值。其理论意义体现在能帮助人们用科学的观点理解个体的发生和发育;其实用价值体现在能为人类健康和畜牧业生产带来巨大的经济效益,因此长期以来备受人们关注。胚胎从一个细胞(即合子/受精卵)发育为胎儿的过程中,每一部分都在发生复杂的动态变化,这是胚胎学的研究对象不同于组织学的显著特点。因此,学习者既要了解某一时期胚胎的立体形态,也要掌握在不同时期这些结构演变的来龙去脉,即胚胎的时间与空间的结构变化。这不仅对学好胚胎学十分必要,而且对训练和培养动态的空间思维方法也颇有裨益。

二、动物组织学与胚胎学发展简史

(一) 动物组织学发展简史

1. 光学显微镜的发明与细胞、组织概念的提出 光学显微镜(light microscope,简称光镜)是16世纪末发明的。1665年,R. Hooke用自制的显微镜观察了软木塞薄片后,将所发现的蜂房状小室命名为“细胞”。其实他所见到的仅是植物的细胞壁,却无意中开创了用显微镜观察生物构造的先河。此后,M. Malpighi观察了脾、肺、肾、表皮等;A. van Leeuwenhoek发现了红细胞、精子、肌纤维;R. de Graaf发现了卵泡。1801年,M. F. X. Bichat提出“组织”一词,他把人体组织分为21种,并认为是组织构成了各种器官。

2. 细胞学说的提出和组织学的建立 1838~1839年,M. J. Schleiden和T. Schwann在动物、植物的研究成果基础上提出了细胞学说,认为细胞是一切动物、植物体的基本结构和功能单位,在细胞中进行着复杂的化学反应,新的细胞是由原有细胞产生的。这一学说激发了科学家研究细胞的热情。由于显微镜制造技术的提高、组织切片机的发明、生物标本固定及染色方法的出现,19世纪下半叶成为组织学和细胞学发展的黄金时期。至19世纪末,人们已能较为正确地描述细胞内的一些主要结构。利用切片技术,在细胞水平对机体标本进行全面而详细的观察和研究,使组织学发展为一门独立而系统的学科。

3. 电子显微镜的发明和超微结构的发现 1931年,E. Ruska和M. Knoll发明了电子显微镜(electron microscope,简称电镜),使显微镜的分辨率从光镜的 $0.2\mu\text{m}$ 提高到约 0.2nm 。约20年后,又发明了与之相适的超薄切片术。1965年,英国剑桥大学生产出了第一台商业化的用于观察物体表面结构的扫描电镜。新的观察工具和技术相结合,为人们开辟出一个崭新奇妙的视觉空间,组织学从此进入第二个黄金时期。人们观察到了细胞膜、细胞器、染色体、细胞间纤维成分的超微结构(ultrastructure),发现了组织与器官中大量新的细胞种类、各种细胞间的连接和空间配置关系,为深入阐明细胞、组织和器官的功能提供了新的依据,组织学也从细胞水平飞跃到了亚细胞水平。电镜发明者E. Ruska也因此于1986年荣获诺贝尔物理学奖。

现代动物组织学研究除继续应用并不断改良以往发明建立的各种技术外,还大量使用新发明的仪器和相关技术,如流式细胞仪、图像分析仪、共焦激光扫描显微镜等,但其最具特色的技术则是20世纪后期发展并广泛应用的免疫组织化学技术和原位杂交技术。免疫组织化学

技术能显示细胞和组织中的蛋白质,提供其定位、定性及定量信息,使人们获知各种亚细胞结构是由何种蛋白质构成,明确这些蛋白质的空间分布及其在细胞不同分化与功能状态时的变化。原位杂交技术则能在切片上特异性地显示 DNA 与 mRNA 片段,提供细胞所含基因及其表达状态的信息,从而深化人类对细胞分化和功能调节的认识。这两种技术的应用,使组织学的研究进入了分子水平。近年来发展起来的组织工程学技术,可在体外模拟培养出皮肤、软骨、骨等器官和组织,使组织学第一次和临床治疗发生了密切联系,具有广阔的应用前景。

(二) 动物胚胎学发展简史

古希腊学者 Aristotle 最早对胚胎发育过程进行过系统观察。他推测,人的胚胎来源于月经血与精液的混合,并对鸡胚的发育进行了一系列较为正确的描述。1651年, W. Harvey 记述了多种鸟类与哺乳动物胚胎的生长发育过程,提出“一切生命皆来自卵”的假设。显微镜问世后, A. van Leeuwenhoek 与 R. de Graaf 分别发现了精子与卵泡, M. Malpighi 观察到了鸡胚的体节、神经管和卵黄血管。他们提出“预成论”学说,认为在精子或卵子内存在一个微小个体,由此逐渐发育长大为胎儿。

18世纪中叶, C. F. Wolff 指出,早期胚胎中没有预先存在的微小个体,胚胎的四肢和器官是经历了从无到有、由简单到复杂的渐变过程而形成的,因而提出了“渐成论”。1828年, K. E. von Baer 出版了《论动物的进化》一书,报告了多种哺乳动物及人卵的发现。他观察到,人和各种脊椎动物的早期胚胎极为相似,随着发育的进行才逐渐出现纲、目、科、属、种的特征(贝尔定律)。他认为,对不同动物胚胎的比较比成体的比较能更清晰地证明动物间的亲缘关系。贝尔的研究成果彻底否定了“预成论”,并创立了比较胚胎学。1850~1855年, R. Remak 根据前人的报告及自己的观察,进一步细化了胚胎发育的三胚层的概念,这是描述胚胎学起始的重要标志。1859年, 达尔文(C. R. Darwin)在《物种起源》一书中对贝尔定律给予强有力的支持,指出不同动物胚胎早期的相似表明物种起源的共同性,后期的相异则是由于各种动物所处外界环境的不同所致。至19世纪60年代, E. Haeckel 进一步提出“个体发生是种系发生的重演”的学说,简称“重演律”。

自19世纪末, W. Roux、H. Driesch、T. Boveri 等开始用实验方法探讨胚胎发育机理。H. Spemann 应用显微操作技术对两栖动物胚胎进行了分离、切割、移植、重组等实验,提出了诱导学说,认为胚胎的某些组织(诱导者)能对邻近的组织(反应者)的分化方向起诱导作用。在这些实验与理论的基础上,实验胚胎学逐渐发展起来, Spemann 也因此于1935年荣获诺贝尔生理学或医学奖。其他著名学说还有细胞分化决定、胚区定位、胚胎场与梯度等。我国实验胚胎学的主要创始人是童第周先生,因在克隆技术上的贡献而闻名。与此同时,一些学者应用化学和生物化学技术,研究胚胎发育过程中细胞与组织内的化学物质变化、能量消长、新陈代谢特点,以及这些化学因素与胚胎形态演变的关系。J. Needham 总结了这方面的研究成果,于1931年出版了《化学胚胎学》一书。

现代胚胎学是从20世纪50年代开始发展起来的,以分子胚胎学和生殖工程学为其理论和技术进步的两大标志。50年代,随着DNA结构的阐明和中心法则的确立,诞生了分子生物学。用分子生物学的观点和方法研究胚胎发育过程,便产生了分子胚胎学。其研究表明,在发育过程中,最重要的不是个别基因的表达,而是这些基因表达在时间、空间上的联系与配合,即发育的遗传程序,而遗传程序是由调节基因控制的。已发现的重要调节基因群有:母体基因,其表达产物在卵细胞质内有特定的分布模式,可选择性地激活细胞核内的基因,从而决

定胚胎的体轴;分节基因,能奠定体轴分节发育的格局;同源异型基因,进一步决定各体节的演化方向和形态特征,如头、胸、腹等。这些基因群对胚胎发育构成了多层次的调控网络。分子胚胎学与实验胚胎学、细胞生物学、分子遗传学等学科互相渗透,形成了一个新的交叉学科,即发育生物学(developmental biology)。生殖工程学是把某些实验胚胎学技术向应用方面发展而形成的。例如,将体外受精、胚胎移植等技术用于治疗人和动物的不孕症,1978年即在英国诞生了第一例“试管婴儿”;将研究两栖类动物体细胞核的再分化能力所用的核移植技术用于哺乳动物,克隆羊“多莉”即于1997年轰动世界。

三、动物组织学与胚胎学技术简介

(一) 光镜技术

石蜡切片技术(paraffin sectioning)是经典且最常用的技术。其基本程序为:①取材和固定,用蛋白凝固剂(常用甲醛)固定新鲜的组织块,最大限度地保存其原始结构;②脱水和包埋,用脱水剂(如乙醇)脱尽固定好的组织块中的水分,由于脱水剂一般不溶于石蜡,故再用媒浸剂(如二甲苯)置换出组织块中的乙醇,然后将组织块置于熔化的石蜡中,让蜡液浸入组织细胞,待冷却后,组织便具有了石蜡的硬度;③切片和染色,将包有组织的蜡块用切片机切为5~10 μm 的薄片,贴于载玻片上,脱蜡后进行染色;④封片,切片经脱水等处理后,滴加树胶,用盖玻片密封保存。

除石蜡切片外,在制作较大组织块(如眼球、脑)的切片时,常用火棉胶包埋。对需要进行某些组织化学反应的标本,为保存蛋白质(包括酶)的结构和活性,常把组织块经液氮冷冻后,用恒冷切片机切片(冰冻切片)。此外,可将游离的细胞(如血细胞)直接涂于载玻片(涂片);将疏松结缔组织或肠系膜等撕成薄片铺在载玻片上(铺片);骨和牙等硬组织可磨为薄片(磨片)。

最常用的染色法是苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining),简称HE染色法。苏木精染液为碱性,主要使细胞核内的染色质与胞质内的核糖体着紫蓝色;伊红为酸性染料,主要使细胞质和细胞外基质中的成分着红色。易于被碱性或酸性染料着色的性质分别称为嗜碱性(basophilia)或嗜酸性(acidophilia);若与两种染料的亲和力都不强,则称中性(neutrophilia)。除HE染色外,还有多种染色方法,常用来特异性地显示某种细胞或细胞外基质成分以及细胞内的某种结构,如用硝酸银将神经细胞染为黑色;用醛复红将弹性纤维染为紫色;用甲苯胺蓝将肥大细胞的分泌颗粒染为紫色,这些染色方法习惯统称为特殊染色。另外,在取动物组织材料前,为显示某种细胞,还可进行活体染色,即将无毒或毒性小的染料经静脉注入后,再取材制成切片观察,如注入的台盼蓝可被肝、脾等器官内的巨噬细胞吞噬,这些细胞因含有大量蓝色颗粒而易于辨认。

以上方法制备的标本一般用普通光镜进行观察。在组织化学染色中,常使用荧光染料染色或作为标记物,用荧光显微镜(fluorescence microscope)观察。在细胞培养中,一般光镜不易分辨无色透明的活细胞,必须用相差显微镜(phase contrast microscope)才能观察。相差显微镜可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,转换为光密度差异(明暗差),从而使镜下结构反差明显,影像清晰。

(二) 电镜技术

与一般光镜相比,电镜用电子束代替了可见光,用电磁透镜代替了光学透镜,用荧光屏将肉眼不可见的电子束成像。

1. 透射电镜术 透射电镜术(transmission electron microscopy, TEM)因用电子束穿透样品、产生物像而得名。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)。制备程序和石蜡切片相仿,但要求极严。一般须在机体死亡后数分钟内取材,以保存细胞正常的超微结构。组织块(1mm³以内)用戊二醛与锇酸两次固定,脱水后树脂包埋,用超薄切片机切片,再经乙酸铀和柠檬酸铅染色。电子束射落到切片时,随细胞构成成分的密度以及吸附重金属铀、铅、锇的程度不同,而发生相应的电子散射。当电子束投射到密度大、吸附重金属多的结构(如溶酶体)时,电子被散射得多,因此,射落到荧光屏上的电子少而呈暗像,电镜照片上呈黑色或深灰色,习惯称该结构电子密度高;反之呈浅灰色,称电子密度低(如脂滴)。

2. 扫描电镜术 扫描电镜术(scanning electron microscopy, SEM)无须制备切片,组织块(约0.3cm³大小)用戊二醛和锇酸固定后,经脱水、干燥,再于其表面喷镀薄层碳与金属膜。观察时,电镜发射极细的电子束在标本表面扫描,标本表面散射的电子(即二次电子)被探测器收集,形成电信号传送到显像管,在荧光屏上显示标本表面的立体构像。用扫描电镜能观察较大的组织表面,因其景深长,1mm左右的凹凸不平的结构也能清晰成像,故标本图像具有真实的立体感。

(三) 组织化学技术

组织化学(histochemistry)技术是应用化学、物理、生物化学、免疫学或分子生物学的原理和技术,与组织学技术相结合而产生的技术,能在组织切片上显示某种物质是否存在及分布状态,还可结合图像分析仪等测定光镜切片中该物质反应的强度,获得定量信息。如果将此技术用于细胞样品,则称细胞化学(cytochemistry)技术。

1. 一般组织化学技术 此技术是在切片上加某种试剂,与组织中的待检物质发生化学反应,其最终产物若为有色沉淀物,则用光镜观察;若为重金属沉淀,可用电镜观察。

(1) 糖类 常用过碘酸希夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS反应)显示多糖和糖蛋白的糖链。糖被强氧化剂过碘酸氧化后,形成多醛,后者再与无色的品红硫酸复合物(即希夫试剂)结合,形成紫红色反应产物。故多糖和糖蛋白呈PAS阳性反应。

(2) 脂类 标本用甲醛固定,冰冻切片,用油红O、尼罗蓝等染料染色,使脂类(脂肪和类脂)呈相应的颜色。也可用锇酸固定兼染色,脂类呈黑色。

(3) 核酸 显示DNA的传统方法为福尔根反应(Feulgen reaction)。切片先经稀盐酸处理,使DNA水解;再用希夫试剂处理,形成紫红色反应产物。如需同时显示DNA和RNA,则用甲基绿—派若宁反应。甲基绿与细胞核DNA结合呈蓝绿色,派若宁与核仁及胞质内的RNA结合呈红色。

(4) 酶类 通过显示酶的催化活性来表明酶的存在。程序是将切片置于含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,后者再与某种捕捉剂结合,形成显微镜下可见的沉淀物,即最终反应物。

2. 免疫组织化学技术 免疫组织化学(immunohistochemistry)技术是根据抗原与抗体特异性结合的原理,检测组织中肽和蛋白质的技术。肽和蛋白质均具有抗原性。当把人或动物的某种肽或蛋白质作为抗原注入另一种动物时,其体内会产生针对该抗原的特异性抗体(免疫球蛋白)。将抗体从动物血清中提出后,与标记物相结合,即成为标记抗体。用后者与组织切片孵育,抗体即与组织中相应抗原特异性结合,在显微镜下通过观察标记物而获知该肽或蛋

白质的分布部位。常用标记物有荧光素、辣根过氧化物酶、胶体金等。

3. 原位杂交术 原位杂交术(in situ hybridization)即核酸分子杂交组织化学技术。免疫组织化学是在翻译水平检测基因的表达结果(肽和蛋白质),原位杂交则是检测基因(DNA片段)的有无以及在转录水平检测基因的活性(mRNA)。因此,这是一种特异性的核酸组织化学技术。其原理是用带有标记物的已知碱基顺序的核酸探针按碱基配对的原则,与细胞内待测的核酸进行特异性原位结合,即杂交,然后通过标记物的显示和检测,而获知待测核酸的有无及相对量。常用的标记物有放射性同位素(^{35}S 、 ^{32}P 、 ^3H 等,经放射自显影处理后观察)与地高辛(经免疫组织化学处理后观察)。

(四) 放射自显影术

放射自显影术(autoradiography)旨在通过活细胞对放射性物质的特异性摄入以显示该细胞的功能状态或该物质在组织和细胞内的代谢过程。首先,将放射性同位素或放射性同位素标记的物质注入体内,间隔一定时间后取材、制备切片,并在其上涂以薄层感光乳胶,置暗处曝光,再显影后定影。这样,在放射性同位素或其标记物存在的部位,溴化银被还原为黑色的微细银粒,可在光镜或电镜下观察,从而获知被检物质在组织和细胞中的分布及相对含量。在注入放射性同位素标记物后,如果有规律地在若干时间段取材,则可观察到被检物质的动态分布变化过程。例如,将 ^3H 标记的胸腺嘧啶注入体内,以研究细胞的DNA合成及其增殖状态;将 ^{125}I 注入体内,观察碘在甲状腺滤泡内的碘化部位。

(五) 图像分析术

图像分析术(image analysis)又称形态计量术(morphometry),是应用数学和统计学原理对组织切片提供的平面图像进行分析,从而获得立体的组织和细胞内各种有形成分的数量、体积、表面积等参数,如肺泡的数量和表面积、肾小体的数量和体积、胰岛的数量及其各类细胞的百分比等,这些数值从量的角度显示了结构与功能的关系。目前的图像分析仪可快速地测量组织切片和电镜照片中的微细结构,通过软件程序获得各项数据,也可以测量组织化学染色切片,根据染色深浅而提供该物质含量的相对数值。另外,在连续切片上应用计算机进行三维重建,可获得微细结构的立体模型,这部分内容称为体视学(stereology)。

(六) 细胞培养

细胞培养(cell culture)是把从机体取得的细胞在体外进行培养的技术。如果培养的是组织块、器官的较大部分或全部,则分别称为组织培养和器官培养。体外培养条件包括适宜的营养、pH、渗透压、 O_2 和 CO_2 的浓度、温度等。培养细胞除少数种类(如淋巴细胞等)悬浮于培养液中外,一般均贴于培养瓶(皿)壁上生长。首次从体内取出的细胞进行培养称为原代培养。当细胞增殖、长满瓶(皿)壁时,须将其按一定比例分散到若干个瓶(皿)中继续培养,此称传代培养。经长期培养而成的可连续传代的细胞群,称细胞系(cell line),可分为有限细胞系和无限细胞系。有限细胞系经一定传代次数后死亡,无限细胞系则可无限地传代培养。从细胞系中选择单个细胞进行培养,所形成的细胞群称细胞株(cell strain)。HeLa细胞株便是1952年用一位美国非洲裔妇女的宫颈癌细胞培养形成的,目前仍在广泛应用。

(七) 流式细胞术

流式细胞术(flow cytometry, FCM)是运用流式细胞仪,对在高速流动的悬液中经过特异

荧光标记的单个细胞的生物化学和生物物理特性进行快速测量并自动分析的技术。它是激光、计算机和流体喷射等技术相结合形成的新型技术。测定方法是将被检细胞用荧光染色或标记,制成细胞悬液,运用喷射技术使细胞悬液喷成均匀小滴,使单细胞流快速通过该仪器的激光照射分析区。被检细胞产生的不同荧光信号转变为脉冲,分别输入计算机内处理,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大小、数量、密度及表面物质特性等,也可检测细胞内部的 DNA、RNA 及蛋白质的含量。目前,该技术已被广泛用于细胞动力学、遗传学、免疫学及肿瘤学等研究。

(八) 共焦激光扫描显微镜术

共焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscopy, CLSM)术是近年来发展起来的一种高光敏度、高分辨率的新型生物学技术。CLSM 是在荧光显微镜成像基础上加装激光扫描装置,使用紫外光或可见光作为激发光源,利用计算机图像分析系统对组织或细胞进行二维和三维分析处理。CLSM 可用于细胞内各种荧光标记物的微量分析、细胞受体移动和膜电位的变化、酶活性和物质转运的测定、DNA 的精确分析等。因此,CLSM 可更准确、快速地对细胞内的微细结构进行定性和定量测定。

四、学习中应注意的问题

学习动物组织学与胚胎学必须以辩证唯物主义思想为指导,处理好下面 4 种关系。

1. 局部与整体的关系 在显微镜下所看到的结构,往往是整个动物体的很小的局部,特别是在透射电镜下观察超薄切片所获得的图像更是非常局限。而且细胞是立体的,而镜下所见图像是平面的,在不同方向的切面上可显示出不同的形态结构。例如,梭形细胞,当对其正中横切时,其切片图像呈圆形,且有一个圆形胞核;若正中纵切,则其图像才呈梭形。如要获得真实的立体结构,就需观察各个不同方向的切片。但这在实际观察中一时又很难做到。因此,要求我们在进行观察时,必须树立整体和立体观念,把所看到的图像进行综合分析,正确理解局部与整体、平面与立体的关系。应在全面观察标本的基础上,再深入观察各个局部的微细结构及其相互关系,只有这样才能获得全面而准确的资料。图 1-1 为熟蛋的 4 个切面。组织切片时可能出现更多不同方向的切面。其基本原理一致,可以此类推。尖端纵切:切面为较小圆形,内部结构只见蛋清,不见蛋黄。正中纵切:切面圆形较大,蛋黄居中央,较大,周围为蛋清。边缘水平切:切面为椭圆形,与蛋形一致,较小,内部结构只见蛋清,不见蛋黄。偏中水平切:切面为椭圆形,与蛋形一致,较边缘纵切为大,但较正中纵切为小,蛋黄居中央,较正中纵切为小。

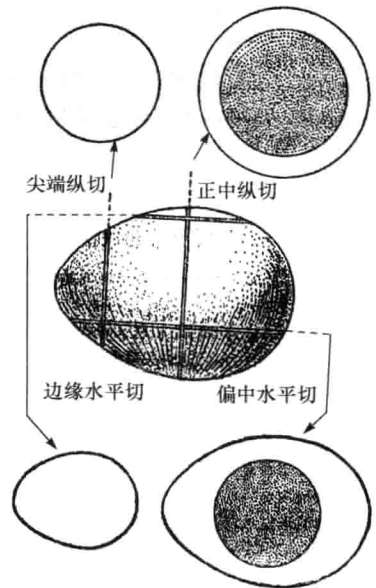


图 1-1 熟蛋的各种切面

2. 结构与功能的关系 结构与功能是不可分割的,在掌握各种微细结构的同时,又要联系它与功能的关系。当已知某一细胞具有某种功能时,就要探讨其结构基础。例如,巨噬细胞内含有许多溶酶体,所以被吞噬的异物是由溶酶体对其进行消化分解的;又如,当已了解胰

外分泌腺细胞能产生大量蛋白质性分泌物时,就要联想到该细胞内一定有丰富的粗面内质网及高尔基复合体。因此,只有把结构与功能密切联系起来,才能学深学活,达到掌握微细结构的目的,并能为学习其他课程打下坚实的形态学基础。

3. 静态与动态的关系 生活的细胞处于不停地动态变化中,其结构的变化主要表现在两个方面。① 各种细胞都有其发生发展过程,随着发育,细胞的形态、大小、内部结构和功能也相应地发生一系列变化,如红细胞的发生,需经一系列形态结构变化才能达到成熟,只有了解其发育过程才能深刻理解其结构与功能。在研究胚胎学时更应特别注意不断发展着的动态变化规律。② 细胞在不同功能状态和代谢活动中,形态结构也随着发生变化,如线粒体数量可随细胞能量需要多少而增减等。但我们所观察的标本多经过固定、切片等处理,因此,所观察到的结构只是某一瞬间的静态图像,所以必须把观察到的静态图像与动态变化联系起来才能真正掌握其结构与功能。

4. 理论与实践的关系 根据本学科是以形态学为主的特点,在掌握基本理论的同时,必须十分重视实习课,要认真观察各种光镜标本、电镜图像、图表、模型以及做好各种实验操作。通过对各种实物标本的观察比较、综合分析,才能不断提高对各种结构的识别能力,从而加深对基本理论知识的理解。

复习思考题

1. 名词解释:嗜酸性 嗜碱性 中性 HE 染色 显微结构 超微结构
2. 简述动物组织学和胚胎学的研究内容。
3. 动物组织学和胚胎学常用研究方法有哪些(举例说明)?
4. 学习这门课程应注意哪些问题?

第二章 细 胞

在动物体中,许多细胞借助于细胞间质有规律地结合成一定的组织,几种组织组成一定的器官,若干器官组成某一系统,进而形成整体。动物体中的细胞均有一定的代谢、感应、生长和分化等生理活动能力。无论从系统发育角度,还是从个体发育角度来看,动物体都是由一个单细胞,即合子(受精卵)经过一系列变化发育而来。因此,细胞是动物体形态结构、生理功能和生长发育的基本单位。

人们对细胞的认识随着科学技术的不断发展而逐渐深入,经历了由简单到复杂、由微观到超微观的发展过程。随着光镜的发明和细胞学说的建立,人类对生物体的研究产生了飞跃;由于电镜的问世,人类对生物体微细结构的研究达到了超微水平。近几十年来各种新技术的相继创立和应用,使细胞学的研究日趋走向形态学、生物化学和生理学等多学科的综合研究,并使之不断向纵深发展,有力地促进了医学和其他学科的发展。

第一节 细胞的形态结构

动物体内细胞的种类繁多,形态各异。例如,能感受刺激和传导冲动的神经元具有突起;具有收缩功能的肌细胞呈纤维状;游离的血细胞多呈球形;上皮细胞多呈扁平、立方、多边形或柱状等(图 2-1)。细胞的大小差别也很大,如下丘脑神经元胞体直径仅 $3\sim 4\mu\text{m}$,而成熟卵母细胞直径有的可达 $300\mu\text{m}$ 。鸟类的卵有的达数厘米,如鸵鸟卵的卵黄直径可达 5cm 。

细胞的形态和大小虽然千差万别,但其结构一般均包括细胞膜、细胞质和细胞核三部分(图 2-2)。根据超微结构又可将细胞的结构分为膜相结构(membranous structure)和非膜相结构(non-membranous structure)两大部分。膜相结构是以类脂-蛋白质成分为基础的膜系统,包括细胞表面膜和细胞内膜两部分,通常把细胞的所有膜结构统称为生物膜(biomembrane)。在高倍透射电镜下,生物膜一般呈 3 层结构,每层厚约 2.5nm ,其中内、外两层电子密度大,深暗;中层电子密度小,明亮。一般把具有这种 3 层结构的膜称为单位膜(unit membrane)。非膜相结构主要包括以核酸-蛋白质为主要成分的颗粒状或纤维状结构(如染色质、核仁等)和由蛋白质分子构成的细胞骨架系统。

一、细胞膜

细胞膜(cell membrane)又称质膜(plasma membrane),是包裹细胞的薄膜,厚 $7.5\sim 10\text{nm}$,光镜下不能分辨,电镜下清晰可见,呈单位膜结构。

(一) 细胞膜的化学组成及分子结构

细胞膜主要由类脂、蛋白质和少量糖类组成,还有微量核酸、水和金属离子等。类脂以磷脂为主,胆固醇量少。磷脂与蛋白质的比例一般为 $1:1$,糖类约占 3% ,但其组成成分可因细胞的种类和功能状态而异。一般功能多而复杂的生物膜蛋白质所占比例大;反之,膜功能越简单,所含蛋白质的种类和数量越少。例如,神经髓鞘主要起绝缘作用,其蛋白质只有几种,与类