

饭岛宗一 影山圭三 石川荣世 岛峰彻郎 主编

组织病理学图谱

在日中国人病理同学会 策划・翻译

上海画报出版社

饭岛宗一 影山圭三 石川荣世 岛峰彻郎 主编

组织病理学图谱

从 借

在日中国人病理同学会 策划・翻译
中国医科大学教授 赫明昌 主审

Atlas of Histopathology

上海画报出版社

検印省略

組織病理アトラス

1982 年 5 月 13 日 第 1 版第 1 刷発行
1983 年 4 月 1 日 第 2 版第 1 刷発行
1987 年 12 月 21 日 第 3 版第 1 刷発行
1994 年 10 月 3 日 同訂正第 9 刷発行

編 者 いい じま そう いち
 飯 島 宗 一
 かげ やま けい ぞう
 影 山 圭 三
 いし かわ えい せい
 石 川 栄 世
 しま みね てつ ろう
 島 峰 徹 郎

発行者 浅 井 宏 祐

発行所 株式会社 文 光 堂
 113 東京都文京区本郷7 2 7
 電話 東京(03)3813-5411(代)
 東京(03)3813-5478
 (営業部直通)

© 飯島宗一, 影山圭三, 石川栄世, 島峰徹郎, 1987
Printed in Japan 公和図書

乱丁・落丁の際はお取り替えいたします。

ISBN4-8306-0414-X

此图谱中文版权归在日中国人病理同学会

组织病理学图谱

上海画报出版社出版

(上海长乐路672弄33号)

上海市印刷七厂印刷

开本1/16 印张 34 印数 00001-2000

1997年8月第一版 1997年8月第一次印刷

ISBN7-80530-207-3/R · 208

定价: 200元

组织病理学图谱

翻译人员(按译文顺序排列)

路 进 *	财团法人佐佐木研究所病理部	医学博士
乔 炎	日本医科大学第二病理学教室	医学博士
杨向红	滋贺医科大学第二病理学教室	医学博士
戚晓东	神户大学医学部第二病理学教室	博士研究生
朱 玲	日本大学齿学部病理学教室	医学博士
潘立华	东北大学医学部第二病理学教室	医学博士
王若皎	日本医科大学第二病理学教室	
崔顺今	东京慈惠会医科大学第一病理学教室	医学博士
钟 云	札幌医科大学第二病理学教室	医学博士
王瑞霞	日本大学医学部第二病理学教室	
温 敏	日本医科大学附属第一病院病理部	医学博士
王大鹏	京都大学医学部妇产科教室	医学博士
李小梅	京都大学医学部妇产科教室	医学博士
李 奇	东京医科齿科大学神经病理学教室	医学博士
薛 宜	山梨医科大学第二病理学教室	医学博士
王小飞	山梨医科大学第二病理学教室	
张绍敏	东京大学医学部第二病理学教室	博士研究生
秦秀生	东京大学医学部第二病理学教室	医学博士
诸 杰	杏林大学医学部第一病理学教室	医学博士
海米提·斯德克	杏林大学医学部第一病理学教室	博士研究生
姚重华	神户大学医学部第二病理学教室	医学博士
吴志仁	长崎大学医学部第一病理学教室	医学博士
王质彬	东京大学医学部血液内科学教室	医学博士
刘 森	冈山大学医学部第二病理学教室	医学博士

* 路进先生是本书中文版主要策划人、在日中国人病理同学会会长。

中文版序

由饭岛宗一(名古屋大学名誉教授)、影山圭三(庆应义塾大学名誉教授)、石川荣世(东京慈惠会医科大学名誉教授)、岛峰徹郎(东京大学名誉教授)主编的《组织病理学图谱》(《Atlas of Histopathology》)自1982年第一版发行以来,深受日本医学本科生以及医学和病理学工作者的欢迎,是日本知名度很高并且相当普及的病理学参考书。这本书按病理学各论的章节编写,叙述各系统常见病的主要病变和重要疾病的典型病变及诊断要点,附以必要的组织化学和电子显微镜下的图片。书中还包括简单的病理学总论、显微镜操作原理、病理标本及切片的制作技术等等,图文并茂。该书于1987年第三版时,增加了新作者,增补了感觉器官一章,充实了某些章节的内容,例如有关淋巴结、淋巴组织、胸腺,脾脏的新资料等等,全书共22章1369幅组织病理图像。

日本中国留学生病理同学会路进医生等24位来自中国的留学生,怀着为祖国病理学事业做出一份贡献的心情,在留学期间极为繁忙的条件下,挤出时间,集体翻译了这部图谱。沈阳中国医科大学赫明昌教授对全书译本作了审校。上海画报出版社对该书中译本的出版给予了大力支持。

我想我国医学院校广大的教学和病理工作者一定能够从这部书中吸取很多新的知识和概念,也深信它将为促进中日两国人民间的友谊和专业交流做出新的贡献。

余铭鹏

中国医学科学院基础医学研究所

中国协和医科大学基础医学院

1995年11月7日

写在中文版出版之际

《组织病理学图谱》一书是由众多的日本病理学者执笔,由我同影山圭三(庆应义塾大学)、石川荣世(东京慈惠会医科大学)及岛峰徹郎(东京大学)四人编集,于1982年由文光堂书店出版发行。本书出版后得到众多医学生的欢迎和喜爱,至1987年已发行了第三版。本书受到来日本研修病理专业的路进医生等中国年青的病理学者的注目。他们在数年前就着手筹划并开始翻译本书,现在终于实现了出版中文版的愿望。

本书中文版的出版问世得到第三版原著者及编集者的理解和支持,并得到文光堂书店浅井宏祐社长在图版方面的大力支援。路进医生等诸位病理专业的留日中国留学生自愿承担了本书的翻译工作。在本书中文版出版过程中,中国的有关人士也提供了各方面有形无形的援助。另外,本书的出版还蒙丰田财团给予一部分经费资助。由此可见,本书中文版的诞生确是中日友好精神支配下的产物。在此,本人作为原书编集者的一员谨向对本书中文版的出版予以帮助的所有中日人士表示衷心的感谢。

病理学是对阐明人体疾病发生,对各种疾病进行确切的诊断以及推进有效的治疗方面有着重要作用的医学基础学科之一。本书的中文版如能为中国及亚洲的医学生及病理学者的学习与工作,为众多的人体保健起到微薄的作用,则本人作为医务工作者将感到十分高兴。当然,本书对疾病的记述还未臻完善,有待今后更进一步的研究改进。为此衷心希望本书能够成为中日两国医学工作者及病理学者为征服人类疾病携手并肩,相互协助,共同研究的基石。

饭岛宗一

1996年3月8日于名古屋

(路进译 赫明昌校)

译 者 的 话

《组织病理学图谱》一书由日本饭岛宗一先生等主编,文光堂出版社于1982年出版。本书是一部深入浅出、语言精炼、重点突出的精制彩色图谱。它不仅囊括了日常病理活检业务以及常见尸检病例,还是一部将病理学总论、各论合二而一的教材,在日本深受青年病理医师以及医学生的喜爱,几乎人手一册。它不但可以作为书写病理报告的参考,而且还是一部系统地总结人体病理学知识的极好教材。

“在日中国人病理同学会”各位深感国内类似的工具书极少,皆认为实有必要将这本好书介绍给国内的病理界同仁和医学生。大家怀着海外学子拳拳报国之心,在课余工后义务承担了翻译工作。若此图谱对医学院校的学生、青年病理医师以及与病理相关的人员有所助益,起到启蒙和参考书的作用,则是我们最大的心愿。

为了使此图谱能够成为医学院校众多学生学习病理学的参考书,鉴于医学院校的学生们的购读能力,本同学会在原作者饭岛宗一先生的热情关怀下,得到日本丰田财团在经济方面的援助,并在日本文光堂出版社、上海画报出版社的大力支援下,使本书能以高质量,低价格的面目提供给国内的读者。

中文与日文虽同属东方语言,但在翻译过程中,我们深深感到简洁、精炼的日文医学用语有时常常难以找出恰当的中文词汇。由于我们从事病理专业时间较短,尽管我们作了最大的努力,但限于水平,书中肯定会有许多误译、错译的地方,恳请读者批评指正。

另外,值得提醒读者注意的是,本书所记载的有关发病率、发病年龄等数值均为日本国内的数据,阅读时仅供参考。

为了忠实地保持原著的内容及风格,本书译成后,承蒙中国医科大学赫明昌教授在百忙之中对全书作了审校。付梓之际又蒙中国医学科学院余铭鹏教授作序。在《组织病理学图谱》中文版发行之际,我们谨向对本图谱的中文版发行给予大力支持的日本方面的饭岛宗一先生、丰田财团、文光堂出版社,中国方面的赫明昌教授、余铭鹏教授及上海画报出版社的张锡昌先生、刘复昌先生、鲍屹先生、李荀女士,以及所有参加本图谱中文版发行的中日两国友好人士表示衷心地感谢。

在日中国人病理同学会
路 进 诸 杰 乔 炎
1997年5月25日

日文版序

病理组织学图谱,在日本或其它国家均有多种出版。这些图谱因目的不同而各具特色。但是在病理学总论、病理学各论及活检病理学方面,供大学病理学专业学生毕业后作为常备应用的系统性图谱并附说明的书籍却感奇缺。我们一直在考虑自己动手编集一本可弥补此种不足并略尽人意的病理组织学图谱。适蒙文光堂社长浅井宏祐先生非常热心地筹划出版组织病理学彩色图谱,使我等的宿愿得以实现。

本书编辑的基本方针是由饭岛宗一、影山圭三、石川荣世和岛峰徹郎四人议定大纲,东京大学、庆应大学、东京慈惠会医科大学、神户大学、广岛大学和高知医科大学的各病理学教研室的诸位先生分担各章节的照片选制和说明的执笔。其间多次就图片说明进行讨论,并反复修改、加工及补充。全书从动笔至完稿耗时达数年之久。在进行中承蒙东京慈惠会医科大学的小森亮先生的大力协助,并有劳名古屋大学名誉教授牛岛宥博士审阅了彩色图片,以及文光堂的竹田兴先生对此所作的努力,编者对以上各位均表感谢。

本书以不同脏器的各论为主体,尽可能更丰富、更深入地收集主要病变和重要疾病的典型病理组织内容,对有必要的部分,添加了组织化学和电子显微镜的内容。在各章节的开头均附有如何领会各脏器病理组织要点的解说。另外,为便于学生阅读,在第一章里简单地概括了组织病理学总论、显微镜的操作原理、组织切片的制作技术等病理组织学实习的基本事项。对有关图片均标以番号,同时还加入部分模式图以供理解。这些尝试是否成功尚待验证,但我们深信读者如若认真阅读本书并从中吸取内容必会收到相应的效果。本书还特别留意彩色图片的制作与印刷,自信作为图谱必能优于其它同类图书而绝无逊色。

最后衷心希望本书能为众多的学习病理学的读者所喜爱。

饭岛宗一 影山圭三 石川荣世 岛峰徹郎

1982年3月

(乔 炎 译 赫明昌 校)

日文第3版序

《组织病理学图谱》自1982年第1版问世以来已历时5年。在此期间，本书有幸得到全国医学学生的欢迎。对他们学习病理学有所助益，我们作为编著者对此感到十分高兴，但同时也深感有必要对本书进行充实完善。于是我们在1985年7月开始着手对本书进行了全面修改，共用了约两年的时间终于使本书修订后的第3版诞生了。

在第3版中，总论部分全部进行了改写，补充了叙述内容，更换了插图，使之能简要地概括病理学总论的内容。此外对各论中的前言部分也作了相应修改。对所有插图及说明均重新作了检查修改。第3版中增加了感觉器官一章，将造血器官内容加以充实并将其分为血液及淋巴组织、胸腺、脾两大部分。与旧版相比，我们相信第3版在许多方面得到了完善。

在修订改版之际，除旧版的著者外又增请了渡边英伸(新泻大学)、下田忠和(慈惠会医科大学)、牛込新一郎(慈惠会医科大学)、须知泰山(爱知县癌中心)四位参加执笔。另外本书得以修订出版与文光堂浅井宏祐社长以及竹田兴、斋藤雨村等各位的努力是分不开的，在此谨对所有参与此项工作的各位表示衷心感谢。

饭岛宗一 影山圭三 石川荣世 岛峰徹郎

1987年11月

(路 进 译 赫明昌 校)

总论

病理组织学pathological histology 或组织病理学histopathology 系从组织学上观察、研究病变的病理学pathology 的一个组成部分。

其研究对象的病变材料有：

- ① 由病理剖检(autopsy)获得的病人尸体的组织。
- ② 由活检(biopsy)获得的病人活体组织。
- ③ 由实验动物(animal experiment)获得的动物的组织。
- ④ 从比较病理学(comparative pathology)、动物病理学(animal pathology)、兽医病理学(veterinary pathology, pathology of domestic animals)方面获得的动物组织。

本书将就其中的①和②，即人体病理组织学以图文并茂的形式加以阐述。

病理组织学的观察基本以下述三点为目的加以进行：

- ① 对于疾病(disease)或病变(pathological changes)的研究。
- ② 疾病或病变的组织病理学诊断(histopathological diagnosis)。
- ③ 病理学实习。

上述三种均以显微镜水平的形态学为其共同的方法和原理来进行，但由于检查对象及观察目的不同，其处理方式亦有若干差异。

本书的主要目的是为学生及初学者的病理组织学实习及活检病理学实习提供参考。为此，在各章节的开头部分均对病理组织的基本内容略加叙述。

一 组织切片的制作方法

病理组织学的观察对象是组织标本。组织标本把由尸检和活检得到的“新鲜”的机体组织通过一定的操作加工使其成为适合于显微镜观察的切片。一般情况下，切片需经过固定(fixation)、包埋(embedding)、切片(sectioning)、染色(staining)几个过程来完成。

(一) 固定(fixation)

固定是使组织蛋白质变性(denaturation)而凝固(coagulation)，组织硬度有一定程度增加。此时酶的作用和其它生命活动均告停止，从而使组织或细胞停留在固定的状态。新鲜的组织、机体组织死后或自机体切除下来以后，如放置而不加处理，则会因本身的酶的作用而引起分解(自融autolysis)，或因外来的腐败菌而引起腐败(异种融解heterolysis)，再有就是因某种条件变化而使其丧失水分从而引起干尸化(mummification)。因此，不论在剖检或是活检将组织自机体取出后，均应尽快进行固定。这时，最好将组织的所有部位都能尽快和均匀地进行固定，用于固定的组织不宜过大。

尽管将自活体取出的组织予以快速且均匀地固定，但因固定操作本身不可避免地要使活体细胞组织的结构和病变发生或多或少的人为变化或变形，因此，关于组织切片，特别在观察其微细结构时，有必要注意到此切片是经过何种固定方法制成的。

固定有加热、冰冻、脱水等物理方法,但通常使用的是化学方法。此法是将组织块投放进固定剂溶液(固定液)中,使组织内浸透固定液。也有用向尸体血管内注入固定液的方法来固定尸体内脏。

固定液中最古老的当属酒精,然后为铬酸(Hannover 1840)、升汞(Blanchard 1847)、福尔马林(Blum 1893)等。最常用的为福尔马林。福尔马林是甲醛(formaldehyde)的40%水溶液,原液还需稀释至10~20%后用于固定。为了迅速制作活检材料切片,也有推荐用其50%水溶液的观点(渡边垣彦1981)。

其它如布安氏(Bouin)液(苦味酸饱和液15、福尔马林5、冰醋酸1, Bouin 1897)、海利氏液(重铬酸钾2.5g、硫酸钠1.0g、升汞0.5g、水100ml混合后,以9对福尔马林1的比例制成, Helly 1904)、卡诺依氏(Carnoy)液(纯酒精60ml、氯仿30ml、冰醋酸10ml, Carnoy 1897)等处方配制的固定液也依其目的不同而被使用。其固定效果各有特点,如糖原等水溶性物质在放于含水份的固定液中则易溶解,故欲检出此类物质则需使用不含水份的固定液。再有脂质等成分,若使用脂溶性固定液则从组织中溶解丧失。电子显微镜材料的固定用戊二醛(glutaraldehyde)或锇酸(osmic acid)。

骨组织等富含钙盐成份的硬组织,固定后要脱钙,以使组织软化。

(二) 包埋(embedding)

组织块经含有水分的固定液固定完毕后要进行水洗,把浸在组织中的固定液充分洗出。水洗后用一般的酒精脱水。将组织块先浸于低浓度的酒精中,之后顺次放入高浓度酒精里,最后浸于纯酒精中,再把完全脱去水分的组织块进行包埋。

包埋是为使组织便于切片,把固定完了的组织块置于质地均匀、硬度适宜的包埋剂中的操作过程。这个过程不仅要把组织块放置到包埋剂中,还必须使包埋剂浸透到组织内部。

包埋剂有琼脂、明胶、火棉胶、石蜡、聚乙烯乙醇、碳蜡、合成树脂等多种,现在常用的为石蜡包埋(Klebs 1869)和火棉胶包埋(Dural 1879)。

石蜡包埋是将上述完全脱水的固定好的组织块浸于二甲苯、甲苯、苯、氯仿或四氯化碳等有机溶剂里,使有机溶剂浸入组织中以置换酒精。然后放于加热融化的石蜡中,待石蜡充分浸入组织内部后使石蜡冷却凝固。二甲苯等溶媒既溶于酒精,亦溶于石蜡,所以此步骤可使石蜡浸至组织的深部。包埋用的石蜡(paraffine)其熔点为56~60℃,若加热超过60℃,可使组织产生强烈的收缩,所以石蜡包埋不宜超过60℃。

火棉胶(celloidin)是将绵纤维素的硝酸化合物溶于乙醚而得到的,减少乙醚的量则可使硬度增加。火棉胶包埋不需要二甲苯等的处理,而是将经酒精脱水的组织块依次浸于浓度渐高的火棉胶里,缓慢地蒸发乙醚,使组织包埋于火棉胶中。火棉胶包埋尽管较石蜡包埋费时,但其优点是因始终在常温下处理,因而组织的收缩少,可较好地保持组织结构的相互关系。

不管是石蜡包埋,或是火棉胶包埋,在操作中均需由酒精或有机溶剂进行处理,以溶解排除组织中的多种脂质成分。如需保存组织中的脂质,上述包埋均不适用,此时必须应用冰冻切片法。

(三) 切片(sectioning)

为便于光学显微镜观察,必须将包埋的组织制成薄切片。切片要使用切片机(microtome)。切片机有各种类型,常用者有Jung型切片机。该机的原型是由病理学家R.Thoma和工匠R.Jung在1881年共同发明的,故称为Jung型切片机。

此型切片机是用锐利的切片刀在轨道上水平滑动,在包埋的组织块上切片。每切下一片后,将载有包埋组织块的支台沿稍有倾斜的支台轨道向前少许推动。切片刀的滑行轨道与支

台的轨道平行。切片刀的滑行高度是固定的,与此相对支台的高度却稍高,两者之差相当于切片的厚度。石蜡包埋的组织块可以切出 $5\sim 10\mu\text{m}$ 厚的切片,火棉胶包埋者可得到 $10\sim 100\mu\text{m}$ 厚的切片。除Jung型切片机之外,还有制作大型切片用的特殊切片机和可作连续切片的旋转式切片机(Minot型)。

切片也可不经包埋,直接把新鲜组织冷冻,再用特殊切片机进行切片。这种方法称为冰冻切片法(frozen sectioning)。冰冻切片法常使用Satorius型冰冻切片机或恒冷切片机(cryostat),两者均利用干冰来冷冻组织。其特点是除短时间能作出切片外,还可以较好地保存组织内的各种物质,适用于组织化学(histochemistry)观察。

(四) 染色(Staining)

薄切后的切片置于载玻片上并进行各种染色以供光镜观察。石蜡切片则需在染色之前脱蜡。

染色是用各种色素液体把组织成分加以区分,因其色调不同而便于精密观察的方法。首先进行组织切片染色的是J. Gerlach (1858),他尝试用胭脂红(carmin)进行染色。胭脂红是从胭脂虫(coccionella)的体内得到的色素,其粗制物可用于棉、丝、羊毛等的染色。用于组织染色的是精制的胭脂红酸与铝的合成颜料,可溶于碱性溶剂,将细胞核、染色体、粘液和糖原染成红色。

其后番红(saffron)、苏木素(hematoxylin)、靛蓝(indigo)和茜素(alizarin)等天然色素的使用和合成色素的问世,使得用于组织染色的色素的种类愈加丰富,有复红(fuchsin)、硫堇(thionine)、伊红(eosin)、甲苯胺蓝(toluidin blue)、美蓝(methylene blue)、橙黄G(orange G)、苯胺蓝(aniline blue)、淡绿(light green)、甲基绿(methyl green)、派若宁(pyronine)、苏丹Ⅲ(sudanⅢ)等多种。

这些色素的染色原理,大部分是物理化学性质的,利用电子吸附和临界面吸附是很重要的条件。因此,细胞或组织中的蛋白质的等电点、色素液的PH值、色素在溶液中的电荷均可影响染色性。色素分子具有游离的OH、COOH、NO₂、SO₂、OH等基团时,色素在溶液中呈负电荷性者,被称为酸性色素(acid dyes),伊红、橙黄G、酸性复红、苯胺蓝、淡绿等即为酸性色素。与此相反,具有NH₂、NHCH₂、NH等基团的呈正电荷性者被称为碱性色素(basic dyes)。碱性色素有硫堇、甲苯胺蓝、美蓝、碱性复红等。苏木素与明矾等溶媒助染剂结合形成颜料后呈碱性色素的特点。一般讲酸性色素的溶液愈呈酸性,其染色性愈强,反之碱性色素亦然。

由此,细胞或组织的各成分经两种以上的色素染色后可便于区别,并成为适于观察的标本。因使用目的不同,人们研制出了多种混合色素液体的处方和多重染色方法。在本书中亦收入了多种染色法染制的切片照片,因此请注意各图说明中标明的染色法。在此对各种染色法不逐一赘述,只就常用的略加介绍如下。

1 苏木素 — 伊红染色

苏木素是从中南美洲产的豆科植物(Hematoxylon campechianum)中提取的天然色素,其原产物不具染色性,但氧化苏木素(hematein)和钾明矾等陶土类物质结合后产生的颜料具有碱性色素的染色性,可将细胞核和嗜碱性物质染成蓝紫色。

苏木素染色液有Meyer、Böhmer、Delafield、Carrazi和Harris等各种制法,有用铁明矾代替钾明矾(Heidenhain. Hansen等),也有用氯化高铁的方法。苏木素 — 伊红染色是先用苏木素溶液染色,再用伊红(伊红Y)的稀释水溶液或酒精溶液进行染色。

2 Azan — Mallory 染色

本法经F.B.Mallory (1900)发明后,再由

M. Heidenhain(1915)加以改良。Mallory染色法是把切片用酸性复红染色,再用磷钼酸处理,之后再用苯胺蓝和橙黄G混合液(添加草酸)染色。Heidenhain改良法是用偶氮卡红替代酸性复红,助染剂用磷钨酸,此即为azan染色。此法可使胶原纤维染成蓝色,肌原纤维染成红色,细胞浆由于使用不同的固定液而染成红、黄及淡蓝色。还有Masson(1929)变法和Goldner(1938)变法。

3 Elastica - Van Gieson 染色

本法是C. Weigert (1898)发明的利用雷琐辛复红(resorcin - fuchsin)进行的弹力纤维染色法和van - Gieson(1889)的结缔组织染色法的综合染色。

切片首先用Weigert 氏的弹力纤维染色液(雷琐辛复红溶液)染色,再用乙醇或盐酸酒精分色,然后用Weigert 铁苏木素染细胞核。分色后用磷钼酸和磷钨酸水溶液助染,最后用van Gieson染色液(复红和饱和苦味酸水溶液)染色。本法使弹力纤维呈紫黑色、胶原纤维呈红色、肌组织呈黄色。

4 银染法

本法是把组织浸于硝酸银等银盐溶液中,再用福尔马林或焦性没食子酚(pyrogallol)等还原。使银粒子游离出来,并沉积于神经原纤维上,将其染成黑色。神经纤维银染法有Bielschowsky法(1904)、Cajal法(1926)、Boalian法(1936)等。银染法也可用于网状纤维的染色。细胞内嗜银颗粒(argyrophil granules)的染色方法则有Grimelius 法(1968),还有用于测银还原颗粒(argentaaffin granules)的 Masson - Fontana法(1928)。

5 PAS染色和PAM染色

PAS染色(periodic acid - Schiff stain过

碘酸Schiff染色)是利用过碘酸氧化组织内的多糖类、游离出的醛基与Schiff试剂(白复红leuco-fuchsin)呈显色反应(红色)的染色法(MacManus 1946, Hotchikiss 1948),可使糖原、结缔组织多糖类染成红色。

PAM染色(periodic acid methenamine silver stain 过碘酸乌洛托品银染色, Jones 1953)是用乌洛托品银溶液(在乌洛托品水溶液中加入硝酸银水溶液和硼砂水溶液)代替PAS染色中的白复红而使用的方法,对肾小球基底膜和肾小球系膜细胞有极好的染色效果。

6 Klüver—Barrera 染色(K. B染色)

本染色法由Klüver和Barrera两人1953年发明,可同时染出中枢神经的神经细胞和髓鞘。本法系用Luxol fast blue MBS酒精溶液染色,再用碳酸锂水溶液分色,然后用结晶紫的水溶液复染。染色结果使髓鞘呈明亮的蓝色,神经细胞、尼氏颗粒、神经胶质细胞等呈紫色,红细胞呈绿蓝色。

(五) 组织化学(histochemistry)

组织化学(histochemistry)或细胞化学(cytochemistry)是把细胞或组织中存在的特殊物质用特异的方法加以鉴别的组织及细胞形态学方法。

如应用柏林蓝(Berlin - blue)反应、Turnbull - blue反应所进行的铁染色;为染出核酸而使用希夫氏试剂染出其醛基的Feulgen反应;用PAS染色染多糖类和糖原;利用与脂质有特异性色素亲和性而进行的苏丹(sudan)色素染脂肪等方法。此外尚有下列诸法。

1 酶组织化学

本法是将调节适合PH值的酶基质加在组

织切片上,由组织内酶的作用使基质分解产生显色的反应物及沉淀物,间接地证明酶及其活性的存在。高松英雄(1939)和G.Gomori(1939)两人在同一年分别发明了碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)的组织化学检测法。之后,应用此种原理检测众多的酶的各种方法相继问世。

高松、Gomori 两人的碱性磷酸酶检测方法是用甘油磷酸为基质,在PH9.4的条件下和组织发生反应,使其游离出磷酸基。此磷酸基与氯化钙反应得到磷酸钙,再放入氯化钴液中使其变成磷酸钴,再用硫化胺反应得到硫化钴的黑色沉淀。这个沉淀物可使存在酶活性的部位染成黑色。

2 荧光组织化学

它是利用特殊的物质通过被紫外线照射后发出荧光的原理测出被检物质的方法。它多用于维生素A、儿茶酚胺、5-羟色胺、卟啉和脂质等的检测。

3 荧光抗体法

它是利用荧光色素标记抗体,再与组织内的抗原发生抗原抗体反应,由荧光的位置测出特殊抗原物质的方法。本法由A.H.Coons氏(1942)首创,有直接法、间接法和补体法等。荧光色素使用FITC(异硫氰酸荧光素fluorescein isothiocyanate)。

4 酶抗体法

它是用酶(过氧化物酶)标记抗体代替荧光抗体法的荧光物质,在组织切片上生成抗原抗体反应物质,以过氧化物酶、 H_2O_2 为基质,用3,3'-diaminobenzide 显色的方法。它是由P.K. Nakane(中根)和G.D. Pierce (1966)开创的方法,本法也可用于电子显微镜观察。

5 放射自显术

它是用放射性同位素作为示踪物,检测此元素在活体内的摄取、移动和代谢的方法。常用 3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{45}Ca 等同位素,在组织切片上涂上感光性乳剂,使其受到同位素放射线的照射感光,经显像而得到其存在位置。它既可将同位素溶液直接注射入机体,也可使用放射性同位素标记的化学物质,如将 3H -脱氧胸腺嘧啶核苷或 3H -亮氨酸等投入体内。本方法也可用于电子显微镜观察。

二 光学显微镜

光学显微镜是进行病理组织学观察的必备工具。光学显微镜由物镜和目镜组成,由物镜将扩大的实像在镜筒中形成,再用目镜予以扩大观察。这种由透镜组合的显微镜是古代英国自然科学家Robert Hooke (1635—1703)发明的。其缺点是短焦距的物镜表现出强烈的球面像差(spherical aberration)和色像差(chromatic aberration)而难以得到鲜明的扩大像。到19世纪20年代研究出在冕牌玻璃和铅玻璃上用加拿大香胶粘附,由此而发明出没有色像差的透镜(消色像透镜)。自此,复合光学显微镜进入实用阶段。

德国物理学家Ernst Abbe (1840—1905)对光学显微镜的光学理论做出了很大的贡献。Abbe先在耶那大学执教,1889年以后成为Carl Zeiss光学机械公司的总经理、社长,对光学显微镜性能的改善贡献极大。日本的光学显微镜制作技术自1940年开始有飞速的进步,奥林派司光学公司、千代田光学公司和日本光学公司均有优秀的产品问世。

(一) 光学显微镜的构造

决定光学显微镜性能的基本要素是:①透镜系统;②聚光器;③照明法。

在透镜系统, 关键为放大倍率、分解能力和像差。倍率即物镜的固有倍率 β_1 和目镜的固有倍率 N_2 之积 $\beta_1 N_2$, $\beta_1 = \Delta / f_1$ (Δ 是从物镜的后焦点到目镜的前焦点的距离, 即镜筒的光学长度, f_1 是物镜的焦点距离); $N_2 = h / f_2$ (h 是明视距离, f_2 是目镜的焦点距离)。一般可得到40~1500倍的综合倍率。

分解能力(解像能力)是以能看清楚2个点或线的最小间隔来表示, 根据Abbe理论, 分解能力与光线的波长成正比, 与物镜的数值孔径成反比。

物镜的数值孔径(numerical aperture, N.A)用 $N.A = n \cdot \sin \alpha$ 来表示。 n 是物体和物镜最前部之间的媒介物的折射率, α 是通过透镜最边缘的光线和光轴所成的角度。数值孔径越大则分解能力越强, 成像越清晰、鲜明、逼真。如用油镜时, 加大 n (空气的 $n=1$)则可补充分解能。但是, 尽管使用油镜, $N.A = 1.52 \times \sin 90^\circ$ 是理论上的最大值, 其限度在用波长为530nm的绿光时, 分解能为350nm, 用紫外线时, 为200nm左右。

像差分为球面像差和色像差。球面像差不仅在透镜的中心部, 而且在通过边缘部的光线在成像时也会引起像的歪斜。色像差由光的波长而导致折射率的不同, 在同一透镜中, 越近光谱的紫色侧, 其折射越强, 是焦点距离变短所致。

上述像差可由透镜的组装和设计而得到修正以至消除。现在所用的物镜都考虑到了像的中心部的解像能力(消色差透镜、高消色差透镜)以及边缘部的解像能力和像的平坦性(平面消色差透镜、平面高消色差透镜)。为正确观察病理组织切片, 建议使用消色差透镜和高消色差透镜。

聚光器是加强照明的装置, 由Abbe氏最先发明。把得到的平行光线集中于被观察物上, 有加大数值孔径的作用, 并能修正球面像差和色像差。它通常与光圈组装在一起。

聚光器和光圈依镜检目的不同加以适当调整, 以得到良好镜像是非常重要的。镜检时要求

把光源的位置置于视野中心, 把由聚光器聚焦的光点照到被观察物(切片)上, 使聚光器的光轴和物镜的光轴保持一致并适当地调节光圈。

照明是使用平面或凹面反射镜来进行照明, 现今除去极简单的显微镜外已很少见。大部分显微镜装有光源灯泡, 以前使用的光源灯泡是低电压的钨丝灯泡, 现在一般使用卤丝灯泡。这种灯泡只要保持一定的电压, 其亮度、颜色和温度始终不变。

(二) 特殊的光学显微镜

1 相差显微镜

相差显微镜(phase contrast microscope)是光学显微镜的一种, 能显示透明的组织中微小的折射率差, 可用于观察非经处理的活细胞的细微构造。在聚光镜头下装有环形过光片, 并在物镜中焦点面上装有菲薄的透明膜状相位板, 可改变非衍射光的相位及亮度。其结果在非折射光和折射光之间产生干扰现象, 相位差即以明暗程度差的形式显示出来。此种显微镜是F.Zernike于1935年发明的。

2 干扰显微镜

干扰显微镜(interference microscope)是在通过切片的光线上再重叠上一束分离自光源的干扰光线, 与相差显微镜的作用相同, 通过光波的干扰, 对透明标本中的折射率和厚度不同的组织结构进行观察或定量。其根据干扰光的途径不同分为四组, 可连续地改变观察物镜像的反差对比, 或观察其着色像。

3 偏光显微镜

偏光显微镜(polarizing microscope)装有偏光和旋光两个尼可尔棱镜(Nicol prism), 可检测出受检物质的偏光性。

4 紫外线显微镜

紫外线显微镜(ultraviolet microscope)光源采用紫外线。由于紫外线较普通可见光线的波长为短,故其分解能力强。其光源可利用各种波长的紫外线。它除可作受检物内部结构中紫外线的吸收定量或吸收物的定性外,还可根据被测物体而确定其是否发出荧光。而为组织化学研究所应用,此称为荧光显微镜(fluorescence microscope),亦可用于荧光抗体法的检查。

射线可进行和几何光学相同的试验。1924年V.de Broglie 证明了粒子射线的波动性。1927年C.J.Davisson 和 L.H.Germer 明确了电子射线的折射。同年H.Bush把电子射线集中于有电流流动的线圈,电流线圈对于电子射线表现出与光线通过光学透镜相同的效果。

在上述物理学发展的基础上,E.Ruska等发明了电子显微镜,并于1939年由德国的西门子(Siemens)公司推上市场。

(一) 电子显微镜的结构

现在使用的电子显微镜有透射型电子显微镜和扫描型电子显微镜两种类型。

透射型电子显微镜是在真空($10^{-5} \sim 10^{-7}$ mmHg)的镜筒中使钨等热阴极接通电流予以加热,用高电压(50~100KV)或超高电压(500~3000KV)使飞出的电子加速,由聚光器及透镜集中照射于标本上。通过标本的电子射线再由物镜、投影透镜折射,于荧光板上形成放大的影像,再将此像摄于底片。上述透镜一般是用电磁石制成的,相当于光学显微镜的集光透镜、物镜和目镜。

其明亮度用聚光器及透镜调节,由物镜放大倍率并聚焦,由投影透镜再次放大倍率。焦点的深度约为数厘米。解像能参照Abbe公式,由使用的电子射线的波长来决定,波长 λ 根据de

Broglie公式 $\lambda = \frac{12.3}{\sqrt{V}} \text{Å}$,由加速电压V来决定。

电子射线的波长是恒定的,不像可见光线那样,由于波长的差而使吸收量不同从而出现明暗和色调上的误差。但是由于样品组织成分的密度、厚度不同而出现散射,散射度愈强则在荧光板上得到的影像愈暗。如把影像摄于底片,冲洗出照片的暗黑部分即相当于该处,此称为“电子密度(electron density)高”

用于电子显微镜观察的组织切片的染色,是在组织切片的特定部分附加上质量大的物质

(三) 使用光学显微镜的注意事项

显微镜为精密仪器,使用时在充分理解显微镜的一般结构和原理的基础上,应确认自己所使用的显微镜和附件(透镜)的性能,必须慎重和准确地使用。特别值得一提的是:

1. 在搬运显微镜时要小心,切勿粗暴地碰撞,也不应向下提着“把手”部分行走。
2. 勿忘透镜、载物台、光源和聚光器的经常擦拭以免积尘。擦拭灰尘要特别留心,初学者最好要配备教员。
3. 观察时尽可能使用粗调装置,不要滥用微调。
4. 切忌不必要的加大亮度或忘记关掉照明电源开关。

三 电子显微镜

电子显微镜(electron microscope)是用电子射线替代光学显微镜的光线,用电磁石替代光学透镜,从而使解像力大幅度提高的一种显微镜。1899年J.J.Thomson发现了阴极射线为具有阴性电荷的粒子并不超越出电子流以外的原理。1920年P.Lenard 发现了在真空中的阴极

以增加电子射线的散射,使该部分电子密度增高,从而达到增强与其它部分产生对比的效果。

解像极限(d)值由 $d = \frac{0.6\lambda}{n \cdot \sin\theta}$ 公式取得。

n是媒介物质的折射率。 $\sin\theta$ 是对着被检品的物镜开口角的1/2。电子射线也有各种像差,完全将其消除是不可能的,实际应用时的解像能一般为1~3Å。

扫描型电子显微镜(scanning electron microscope)是在被检品表面用极细的集中的电子射线束来扫描,用测试器接受从被检品表面发出的二次性电子,然后再使其变成电流。增幅后与电子信号同步,使电视的显像管上扫描射线的光亮度发生变化而成像。这样可使检品的立体表面结构如同在光线照射下那样有明有暗地成像。扫描电子显微镜的解像能约为150Å。

(二) 适用于电子显微镜观察的组织切片的制作

适用于电子显微镜观察的组织切片的制作方法,其基本程序和光学显微镜的组织切片相同,有固定、包埋、切片、染色诸过程。但是适用于电子显微镜的检品更应注意以下事项:①尽量减少因死后变化或固定产生的组织和细胞微细结构的变化。②由50~100KV的加速电压产生的电子射线无法通过超过0.5μ厚的组织材料,故必须制作0.05~0.1μ的超薄切片(ultra-thin section)。③为增强电子密度的对比,检品需用氢氧化铅、醋酸铀和磷钨酸等染色。为补充由二次性电子得到的情报量,扫描型电子显微镜所用检品表面要喷涂碳和金的镀膜。④切片的支撑物是多孔的薄铜片的载网,其表面应覆上一层火胶棉等薄膜。

切片固定时多用戊二醛和锇酸,包埋多用Epon树脂。超薄切片的制作用各种型号的超薄切片机(ultramicrotome)。切片刀使用钻石刀或玻璃刀。

四 病理组织切片的观察方法

(一) 前言

在把一张病理组织切片放在显微镜下观察前,应对该标本来自何种病人的哪种器官、组织和由何种固定、染色方法制成等有所了解,应尽量掌握有关患者的年龄、性别、临床诊断、临床观察及经过等详细、准确的资料。如为病理尸检标本,除上述临床资料外,还应参考病理剖检诊断、病理解剖所见、取材部位的肉眼观察。

活检材料亦同上。最理想的作法是检查者自己通过参与病理剖检或对活检标本亲自作肉眼观察、取材并对切片制作过程作全面了解。

用显微镜观察病理组织切片,与观察通过显微镜对切片进行机械性照像而获得的显像有着本质上的差异。镜下阅片时,观察者可以反复探索切片,从中得到答案,并对此加以思考,再进一步提出新的问题,以验证答案,最后再从反复的有选择的探索中得到结果。因此,观察者事先正确地掌握标本的出处及观察的重点和目标,会对得出正确的结论极有助益。

但是,应当指出,临床诊断和病理诊断并不一定总是正确的,病理组织学观察目的是由病理组织学标本本身搜取事实根据的,因此,上述有关病案资料只不过起辅助作用,切忌由此形成先入为主的观念而对切片的观察产生偏差。

在学生病理组织学实习时,发给的切片标本并不一定附有上述的背景资料,但会被告知实习此标本系针对何种病变或疾病,所以在用显微镜观察之前或观察过程中,应对此病变或疾病的基础知识做一复习,并充分参考教材和笔记。

本图谱基于此点,在图示各种病变和疾病的同时,于卷头以“细胞、组织的基本病变”为题简述了病理学总论,并在各章的开始讲解对各种脏器应掌握的要点等基本事项。