

全国普通高等教育临床医学专业“5+3”十二五规划教材

Histology and Embryology

组织学与胚胎学

供临床医学、预防医学、口腔医学
医学影像学、医学检验学等专业用

主编 苏衍萍 王春艳

江苏科学技术出版社

Histology and Embryology

组织学与胚胎学

供临床医学、预防医学、口腔医学
医学影像学、医学检验学等专业用

主 编 苏衍萍 王春艳

副主编 张 鑫 贾书花 王建军

编 委 (按姓氏笔画排序)

孔佑华 (济宁医学院)

王改琴 (长治医学院)

齐亚灵 (海南医学院)

任明姬 (内蒙古医科大学)

陈兴书 (第三军医大学)

苏衍萍 (泰山医学院)

杜 辉 (泰山医学院)

郑 英 (扬州大学医学院)

黄 鹏 (河南科技大学医学院)

梅 芳 (北京大学医学部)

蔡英兰 (延边大学医学院)

王春艳 (承德医学院)

王建军 (扬州大学医学院)

朴丽花 (延边大学医学院)

张晓丽 (山东大学医学院)

陈晓蓉 (安徽医科大学)

张 鑫 (河南科技大学医学院)

杜少杰 (承德医学院)

姚忠祥 (第三军医大学)

贾书花 (长治医学院)

葛 丽 (泰山医学院)

秘 书 葛 丽 (泰山医学院)

杜 辉 (泰山医学院)

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学 / 苏衍萍等主编. —南京: 江苏科学技术出版社, 2013. 1

(5+3临床医学本科教材)

ISBN 978-7-5537-0474-6

I. ①组… II. ①苏… 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(2012)第298132号

组织学与胚胎学

主 编	苏衍萍	王春艳
责任编辑	徐祝平	刘玉锋
责任校对	郝慧华	
责任监制	曹叶平	方 晨

出版发行	凤凰出版传媒股份有限公司 江苏科学技术出版社
出版社地址	南京市湖南路1号A楼, 邮编: 210009
出版社网址	http://www.pspress.cn
经 销	凤凰出版传媒股份有限公司
印 刷	南京凯德印刷有限公司

开 本	880 mm×1 230 mm	1/16
印 张	18.5	
字 数	535 000	
版 次	2013年1月第1版	
印 次	2013年1月第1次印刷	

标准书号	ISBN 978-7-5537-0474-6
定 价	69.90元

图书若有印装质量问题, 可随时向我社出版科调换。

出版说明

为了全面提高我国普通高等教育医药卫生类专业人才的培养质量,深入落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010~2020)》以及服务于医疗教育体系的改革,深入贯彻教育部、卫生部2011年12月联合召开的“全国医学教育改革工作会议”精神,通过全面实施以“5+3”为重点的临床医学教育综合改革方案,进一步深化和推进医学教育深层次改革和发展,通过全面推进临床医学专业课程体系及教育体系的改革和创新,推动临床医学教育内容及教学方法改革和创新,进一步更好地服务教学、指导教学、规范教学,实现临床医学教学质量全面提高,培养高层次、高水平、应用型的卓越医学人才,从而适应我国医疗卫生体制改革和发展的需要,凤凰出版传媒集团江苏科学技术出版社作为长期从事教育出版的国家一级出版社,于2012年1月组织全国50多家高等医学院校开发了国内第一套临床医学专业“5+3”十二五规划教材。

该套教材包括基础课程、专业课程46种,部分教材还编写了相应的配套教材。其编写特点如下:

1. 突出“5+3”临床医学专业教材特色 这套教材紧扣“5+3”临床医学专业的培养目标和专业认证标准,根据“四证”(本科毕业证、执业医师资格证、住院医师规范化培训证和硕士研究生毕业证)考核要求,紧密结合教、学、临床实践工作编写,由浅入深、知识全面、结构合理、系统完整。全套教材充分突出了“5+3”临床医学专业知识体系,渗透了“5+3”临床医学专业人文精神,注重体现素质教育和创新能力与实践能力的培养,反映了“5+3”临床医学专业教学核心思想和特点。

2. 体现教材的延续性 本套教材仍然坚持“三基”(基础理论、基本知识、基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性、实用性)、“三特定”(特定的对象、特定的要求、特定的限制)的原则要求。同时强调内容的合理安排,深浅适宜,适应“5+3”本科教学的需求。

3. 体现当代临床医学先进发展成果的开放性 这套教材汲取了国内外最新版本相关经典教材的新内容,借鉴了国际先进教材的优点,结合了我国现行临床实践的实际情况和要求,并加以创造性地利用,反映了当今医学科学发展的新成果。

4. 强调临床应用性 为加快专业学位教育与住院医师规范化培训的紧密衔接,教材加强了基础与临床的联系,深化学生对所学知识的理解,实现早临床、多临床、反复临床的理念。

5. 强调了全套教材的整体优化 本套教材不仅追求单本教材的系统性和全面,更是强调了全套教材的整体优化,注意到了不同教材内容的联系和衔接,避免遗漏和重复。

6. 兼顾教学内容的包容性 本套教材的编者来自全国几乎所有省份,教材的编写,兼顾了不同类型学校和地区的教学要求,内容涵盖了临床执业医师资格考试的基本理论大纲的知识点,可供全国不同地区不同层次的学校使用。

7. 突出教材个性 本套教材在保证整体优化的前提下,强调了个教材的个性,技能性课程突出了技能培训;人文课程增加了知识拓展;专业课程则增加了案例导入和案例分析。

8. 各科均根据学校的实际教学时数编写,文字精炼,利于学生对重要知识点的掌握。

9. 在不增加学生负担的前提下,根据学科需要,部分教材采用彩色印刷,以提高教材的成书品质和内容的可读性。

这套教材的编写出版,得到了广大医学院校的大力支持,作者均来自各学科教学一线,具有丰富的临床、教学、科研和写作经验。相信本套教材的出版,必将对我国当下临床医学专业“5+3”教学改革和专业人才培养起到积极的推动作用。

前言

根据国家医药卫生体制改革的总体要求,教育部决定,“十二五”期间在高等医学院校逐步建立“5+3”(五年医学院校教育加上三年住院医师规范化培训)为主体的临床医学人才培养体系。此项教学改革重要举措强调院校教育、毕业后教育和继续教育的有效衔接,培养目标是基础扎实、临床过硬的高水平医师。为承载“5+3”为主体的临床医学人才培养体系,我们组织编写了这套兼顾实用性和理论性的“十二五”规划教材,《组织学与胚胎学》位列其中。本教材由来自全国13所高等医学院校的21位专家、教授编写,他们长期工作在教学第一线,具有丰富的教学经验和扎实的专业基础,编写过程中吸纳了当下先进的教学改革成果。

1. 夯实基础知识兼顾创新性培养和学科进展 组织学与胚胎学是研究人体微细结构及其功能关系的学科,是一门实践性很强的形态学科。因此,本教材的编写强调对学生基本理论、基本知识、基本技能的培养,注重以形态与功能相结合、局部与整体相统一的辩证唯物主义观理解人体的组织结构,同时吸纳了新教学研究成果和新的科学研究成果,使本教材更具有思想性、科学性、先进性、启发性、适用性。

2. 图谱化的形态学教科书 本教材共有彩色图片419幅,其中模式图236幅,细胞、组织器官光镜和电镜结构图片183幅。每一重要组织结构后都附有精美图片,图随文走,图文并茂,从而将抽象的微细结构生动、形象地展现出来,有助于学生在头脑中建立机体结构的实际形象,便于教与学。

3. 加入临床应用板块 为加快专业学位教育与住院医师规范化培训的紧密衔接,在正文中适当加入了一些临床应用板块,旨在激发学生的学习兴趣,加强基础与临床的联系,深化学生对所学知识的理解,实现早临床、多临床、反复临床的理念。

4. 采用英语小结 英语是学生阅读专业文献、掌握学科前沿、走向世界的工具,因此在本科教学中渗透专业英语教学非常重要。本书在每一章后都插入英语小结,有助于学生提高专业英语水平。

本教材模式图或示意图为各编者在引进国内外教材插图的基础上进行修绘,并加以改进。光镜图像和电镜图像部分为编者本人提供,部分为泰山医学院形态学实验室切片拍摄图像,还有少量互相交流的图像。高级实验师李亚鲁和王新成为本教材标本制作和图像的拍摄做了大量工作,全国优秀教师高慧英教授为本教材审校花费了很大精力。泰山医学院、河南科技大学医学院、承德医学院、长治医学院、扬州大学医学院的各级领导对教材的出版也给予了大力支持和帮助。在此一并表示感谢。

由于编者水平有限,加之时间仓促,教材中不足或错误在所难免,恳请各位同仁和广大师生批评指正,便于日后修订完善。

苏衍萍 王春艳

2012年8月

目 录

上篇 组 织 学

第一章 组织学绪论	2
一、组织学的研究内容	2
二、组织学的研究方法和技术	2
三、组织学与胚胎学的学习方法	7
第二章 上皮组织	10
一、被覆上皮	10
二、腺上皮和腺	13
三、上皮细胞的特化结构	15
四、上皮组织的更新和再生	17
第三章 结缔组织	19
一、疏松结缔组织	19
二、致密结缔组织	25
三、脂肪组织	25
四、网状组织	26
第四章 软骨和骨	29
一、软骨	29
二、骨	30
三、骨的发生	33
第五章 血液	38
一、红细胞	38
二、白细胞	40
三、血小板	42
四、骨髓和血细胞发生	43
第六章 肌组织	49
一、骨骼肌	49
二、心肌	52
三、平滑肌	54
第七章 神经组织	57
一、神经元	57
二、突触	60
三、神经胶质细胞	61
四、神经纤维和神经	63
五、神经末梢	65

第八章 神经系统	70
一、脊髓	70
二、大脑皮质	70
三、小脑皮质	72
四、神经节	73
五、脑脊膜和血 - 脑屏障	74
六、脉络丛和脑脊液	75
第九章 循环系统	77
一、血管壁的一般结构	77
二、动脉	78
三、静脉	80
四、毛细血管	81
五、微循环	83
六、心脏	84
七、淋巴管系统	86
第十章 免疫系统	88
一、免疫细胞	88
二、淋巴组织	89
三、淋巴器官	90
第十一章 内分泌系统	100
一、甲状腺	100
二、甲状旁腺	102
三、肾上腺	102
四、垂体	104
五、松果体	108
六、弥散神经内分泌系统	109
第十二章 皮肤	111
一、表皮	111
二、真皮	114
三、皮肤附属器	114
第十三章 眼和耳	119
一、眼	119
二、耳	125
第十四章 消化管	130
一、消化管壁的一般结构	130
二、口腔	131
三、咽	133
四、食管	133
五、胃	133
六、小肠	137
七、大肠	139
八、肠相关淋巴组织	140

九、胃肠的内分泌细胞	141
第十五章 消化腺	143
一、唾液腺	143
二、胰腺	144
三、肝	146
四、胆囊与胆管	150
第十六章 呼吸系统	152
一、鼻腔	152
二、喉	153
三、气管和支气管	154
四、肺	155
第十七章 泌尿系统	161
一、肾	161
二、排尿管道	170
第十八章 男性生殖系统	173
一、睾丸	173
二、生殖管道	178
三、附属腺	179
四、阴茎	180
第十九章 女性生殖系统	183
一、卵巢	183
二、输卵管	188
三、子宫	189
四、阴道	193
五、乳腺	193

下篇 胚胎学

第二十章 胚胎学绪论	198
一、胚胎学的研究内容	198
二、胚胎学的发展简史与现代胚胎学	199
三、胚胎学的意义和学习方法	201
第二十一章 人体胚胎学总论	203
一、生殖细胞和受精	203
二、卵裂、胚泡形成和植入	205
三、三胚层的形成与分化	208
四、胎膜和胎盘	213
五、胚胎龄的推算	217
六、双胎、多胎和联体双胎	218
第二十二章 颜面和四肢的发生	221
一、鳃器的发生	221

二、颜面的形成	222
三、腭的发生与口腔、鼻腔的分隔	223
四、舌的发生	223
五、牙的发生	224
六、颈的形成	225
七、四肢的发生	225
八、颜面、颈和四肢主要畸形	225
第二十三章 消化系统和呼吸系统的发生	229
一、消化系统的发生	229
二、呼吸系统的发生	234
第二十四章 泌尿系统和生殖系统的发生	238
一、泌尿系统的发生	238
二、生殖系统的发生	241
第二十五章 心血管系统的发生	248
一、原始心血管系统的建立	248
二、心脏的发生	249
三、胎儿血液循环及出生后的变化	254
四、心血管系统主要畸形	255
第二十六章 神经系统、眼和耳的发生	257
一、神经系统的发生	257
二、眼的发生	263
三、耳的发生	266
第二十七章 先天性畸形的发生和预防	269
一、先天性畸形的发生率和分类	269
二、致畸敏感期	270
三、先天性畸形的影响因素	270
四、先天性畸形的预防和产前检查	272
中英文对照	274
参考文献	288

上篇

组 织 学

第一章

组织学绪论

Chapter 1 Introduction to Histology

一、组织学的研究内容

组织学(histology)是研究人体微细结构及其功能关系的一门科学。微细结构是指在显微镜下才能清晰观察的结构。显微镜主要有光学显微镜和电子显微镜,在光学显微镜下的结构简称光镜结构,在电子显微镜下的结构简称电镜结构或超微结构。

组织学主要研究机体各种组织(tissue)和器官(organ)的微细结构。组织由细胞和细胞外基质(extracellular matrix)构成。按照结构和功能不同通常把机体的基本组织分为四种,即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。每种组织均具有各自的形态结构和功能特点。细胞是机体结构和功能的基本单位,是一切生物新陈代谢、生长发育、繁殖、分化的形态基础。人体具有多种不同形态、结构的细胞,执行着多样的功能活动。它们在身体内互相调节和合作,以维持机体的生命活动。细胞外基质由细胞产生,构成细胞生存的微环境。四种基本组织按照一定的比例和方式构成器官,各种器官都有一定的大小和形态结构,并执行特定的功能。如果器官中央有大的空腔,称中空性器官,如心、胃、小肠等;如果无大的空腔,称实质性器官,如肝、胰、甲状腺等。由一些结构和功能相关的器官构成系统(system),完成连续的生理活动,如呼吸系统、消化系统、男性生殖系统、女性生殖系统等。

二、组织学的研究方法和技术

组织学的发展与其研究方法的进展密切相关,因此了解组织学的研究工具、方法和技术是理解和掌握这门课程的前提。组织学技术原理广泛涉及物理学、影像学、化学、免疫学、生物化学、分子生物学等学科。

(一) 普通光学显微镜技术

应用光学显微镜观察组织切片是最常用的方法。组织和器官不能直接在显微镜下观察,制备成能使光线透过的组织学切片是组织学研究的基本方法,主要包括取材、固定、脱水、包埋、切片和染色等步骤。首先,迅速取动物或人体的新鲜组织块,用甲醛、乙醇等固定剂固定,使组织内的蛋白质凝固或沉淀,以尽量保持组织的原有结构。然后用梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制成有一定硬度的组织蜡块,再用切片机(microtome)将其切成 $5 \sim 10 \mu\text{m}$ 的组织切片,贴于载玻片上,称石蜡切片法(paraffin sectioning)。也可将组织块快速冷冻变硬,进行冷冻切片,以保存蛋白质(包括酶)的活性。此外,血液、体液和培养细胞等可以直接涂于玻片上制成涂片;将疏松结缔组织或肠系膜撕成薄片,铺在载玻片上制成铺片;将骨和牙等硬组织磨成薄片,贴在载玻片称为磨片。

染色的目的是使不同的微细结构呈现不同的颜色。最常用的染色方法是苏木精(hematoxylin)和伊红(eosin)染色(简称HE染色)。苏木精是碱性染料,使细胞核和细胞质中的核酸等酸性物质染成紫蓝色;伊红是酸性染料,使细胞质和细胞外基质中的碱性蛋白成分染成粉红色。对碱性染料亲和力强的称为嗜碱性(basophilia);对酸性染料亲和力强的称为嗜酸性(acidophilia);对碱性染料和酸性染料亲和力都不强的称为中性(neutrophilia)(图1-1)。另外,某些结构如肥大细胞的细胞质内颗粒,当用甲苯胺蓝等蓝色染料染色时染成紫红色,称为异染性(metachromasia)。当用硝酸银染色时,有些组

组织结构可直接使银离子还原为银颗粒而成黑色,称为亲银性(argentaffin),有些组织加入还原剂才能显色,称为嗜银性(argrophilia)(图 1-2)。

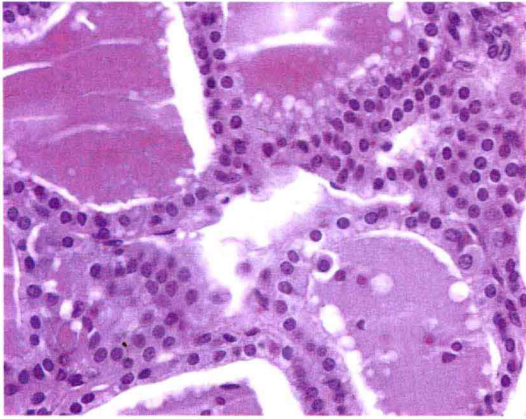


图 1-1 甲状腺切面光镜像(高倍)

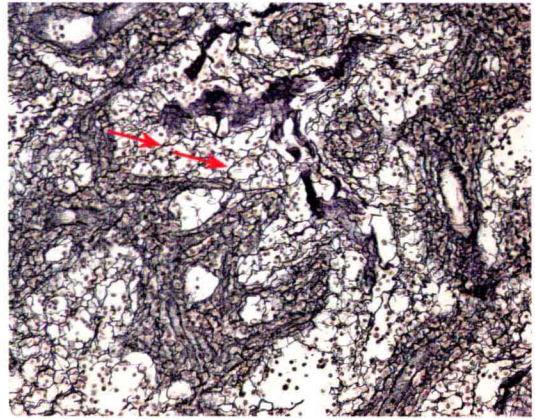


图 1-2 淋巴结髓质镀银染色显示网状纤维(→)(高倍)

(二) 特殊光学显微镜

1. 荧光显微镜技术 荧光显微镜(fluorescence microscope)以紫外线为光源,激发细胞、组织内的荧光物质或者荧光染料发出荧光。荧光显微镜适用于观察细胞和组织内各种自发荧光物质,也可以观察被荧光素或者荧光染料标记的细胞、组织结构。常用的荧光素有异硫氰酸荧光素(fluorescein - isothio - cyanate, FITC)、碘化丙啶(propidium iodide, PI)、4,6 二氨基 - 2 - 氨基吲哚(4,6 - diamidino - 2 - phenylindole, DAPI)等(图 1-3)。

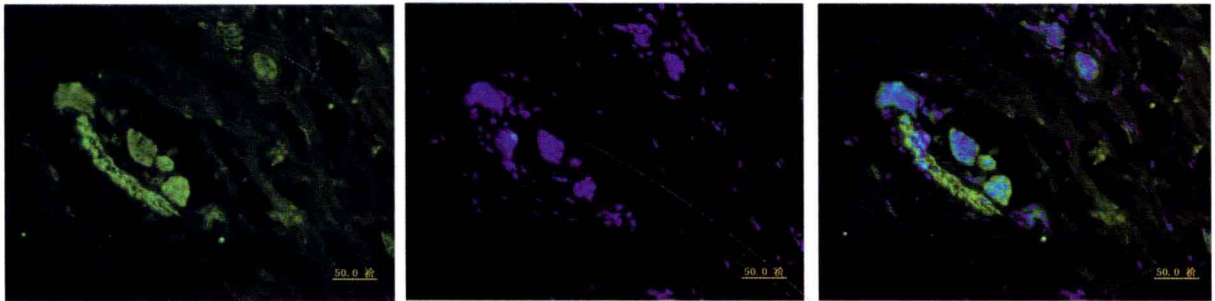


图 1-3 免疫荧光显微图像(高倍)

绿色荧光为 FITC 标记的抗体,蓝色荧光为 DAPI 标记的抗体

2. 相差显微镜技术 相差显微镜(phase contrast microscope)适用于观察体外培养中活细胞的形态结构。未经染色的活细胞是无色透明的,其各部分的光密度几乎相同,故普通光学显微镜难于分辨其微细结构。相差显微镜可将活细胞内各种结构对光产生的不同折射(相位差)转换为明暗差别(振幅差),从而使观察对象结构反差明显。这种显微镜常将光源安装在载物台上面,物镜在载物台下面,称倒置相差显微镜(inverted phase contrast microscope),可观察生长在培养皿(瓶)中的活细胞(见图 1-4),并进行摄片及录像以记录活细胞的增殖、分裂和运动等行为。

3. 激光扫描共聚焦扫描显微镜 激光扫描共聚焦扫描显微镜(laser scanning confocal microscope, LSCM),是 20 世纪 80 年代初研制成功的一种高光敏度、高分辨率的新型生物学仪器。目前,在教学和科学研究过程中,越来越多地应用激光扫描共聚焦显微镜。它主要由激光光源、共聚焦成像扫描系统、电子光学系统和微机图像分析系统四部分组成,还附有外接探测器、彩色显示器和照相装置等。LSCM 是以激光束通过扫描器和柱状透镜到达物镜,聚焦后对样品不同深度进行扫描,再经过光

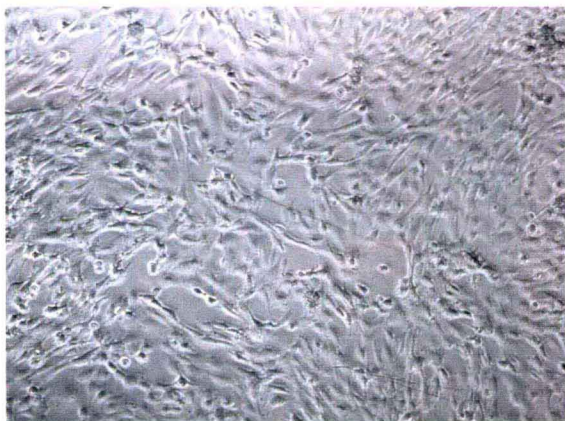


图 1-4 体外培养的小鼠胚胎成纤维细胞倒置相差显微镜图像(中倍)

用电磁透镜替代光学透镜(聚光镜、物镜和目镜),将肉眼看不见的电子束成像于荧光屏上。光镜分辨率为 $0.2\ \mu\text{m}$,放大倍数约为 1000 倍;而电镜的分辨率为 $0.2\ \text{nm}$,可放大几十万倍到几十万倍,因此电镜能观察到细胞的更微细结构,称超微结构。电镜术分为透射电镜术和扫描电镜术。

1. 透射电镜术 透射电镜(transmission electron microscope, TEM)是通过电子枪发射的电子束穿透观察样品后,经电磁场的聚合放大并在荧光屏上显像,或将影像投射到照相底片上。由于电子束的穿透能力较弱,故样品的厚度以不超过 $100\ \text{nm}$ 为宜,一般是 $50\sim 80\ \text{nm}$,称超薄切片。样品制备的主要过程与普通光镜样品制备技术类似:包括取材(组织块不超过 $1\ \text{mm}^3$),用戊二醛(glutaraldehyde)和锇酸(osmic acid)依次固定,脱水、树脂包埋,用超薄切片机(ultramicrotome)切成超薄切片(ultrathin section)裱贴于铜网上;再用醋酸铀(uranium acetate)和枸橼酸铅(lead citrate)等重金属盐进行电子染色,电镜下观察等步骤。电镜下所看到的结构通常称超微结构。细胞内重金属盐沉积的部位因电子多被散射而较少投射到荧光屏上,故呈较黑暗的图像,称电子密度高(electron-dense);反之图像则较明亮,称电子密度低(electron-lucent)(图 1-5)。

2. 扫描电镜术 扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)主要用于观察细胞、组织和器官表面微细结构。特点是图像富有三维立体感,如细胞的微绒毛、纤毛等。其分辨率为 $6\sim 10\ \text{nm}$ 。组织经戊二醛和锇酸固定、脱水和临界点干燥后,在其表面喷薄层碳和金属膜。扫描电镜发射的极细的电子束(电子探针)在样品表面扫描,将样品表面产生的二次电子用探测器收集,形成电信号送达荧光屏上显像。形成的图像清晰,立体感强(图 1-6)。

(四) 组织化学与细胞化学技术

组织化学(histochemistry)与细胞化学(cytochemistry)技术是利用化学试剂与组织、细胞内某种待检化学成分发生化学反应,在局部形成有色沉淀物,便于在光镜或电镜下对其进行定位、定性甚至定量研究。

1. 糖类显示法 最常用的显示多糖或蛋白多糖的方法是过碘酸-希夫反应(periodic acid-Schiff reaction),简称 PAS 反应。其原理是:过碘酸是一种强氧化剂,可将多糖分子中的乙二醇基氧化成乙二醛基;乙二醛基再与 Schiff 试剂中的亚硫酸品红结合,形成不溶于水的紫红色沉淀,紫红色物质存在

电信号转换在显示屏上,图像同时传送到计算机图像分析系统,对图像进行二维或三维的分析处理。LSCM 突破了普通光学显微镜不能对细胞或组织内部进行定位检测的限制,实现了对细胞内部非侵入式扫描成像,可以检测、识别组织或细胞内微细结构及其变化、细胞的受体移动、膜电位变化、酶活性以及物质转运,并以激光对细胞及染色体进行切割、分离、筛选和克隆,实现亚细胞和分子水平的结构与功能研究。

(三) 电子显微镜技术

电子显微镜(electron microscope, EM)技术,简称电镜技术,是 20 世纪 30 年代发明的一项新技术。与光镜相比,电镜用电子束代替可见光,

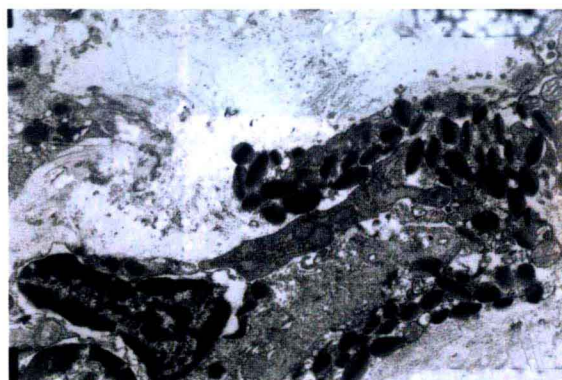


图 1-5 大鼠胃黏膜嗜酸性粒细胞投射电镜像

的部位即是多糖和糖蛋白存在的部位。基底膜、系膜基质、纤维蛋白、血管透明变性、淀粉样物质等可显示阳性反应,呈紫红色(图 1-7)。



图 1-6 气管扫描电镜像显示表面
大量排列整齐的纤毛

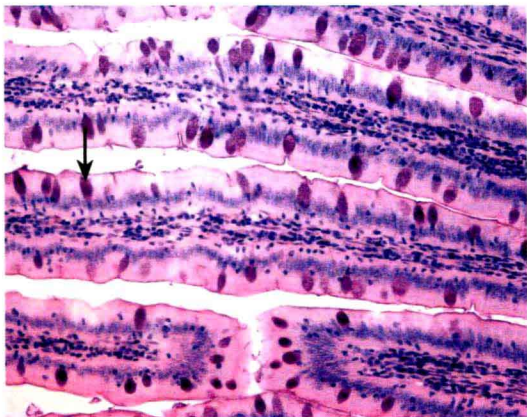


图 1-7 PAS 反应显示大鼠小肠绒毛杯状细胞黏蛋白(↓)(高倍)

2. 酶类显示法 酶对其相应底物水解、氧化而产生的反应物与捕获剂发生反应时,可形成有颜色的最终产物。且以最终产物显色的深浅程度来判断酶活性的有无与强弱。不同的酶有不同显示方法。例如,酸性磷酸酶催化底物 β -甘油磷酸钠水解产生磷酸根,然后以 Pb^{2+} 捕获磷酸根,生成无色、电子致密的磷酸铅沉淀,可在电镜下观察。如再用硫化铵与磷酸铅反应,形成黑色硫化铅沉淀,就可在光镜下观察。

3. 脂类显示法 组织块可用甲醛固定,冷冻切片。用油红 O、尼罗蓝、苏丹类脂溶性染料(如苏丹Ⅲ、苏丹黑 B)染色,使脂类(脂肪、类脂)呈相应染料的颜色(图 1-8)。亦可用钼酸固定兼染色,脂肪酸或胆碱可使四氧化钼还原为二氧化钼而呈现黑色。

4. 核酸显示法 显示 DNA 常用福尔根反应(Feulgen reaction):切片经稀盐酸处理,使 DNA 水解、醛基暴露,继而用 Schiff 试剂试剂处理,形成紫红色反应产物。同时显示 DNA 和 RNA 可用甲基绿-派若宁反应:甲基绿与细胞核内的 DNA 结合呈蓝绿色,派若宁与核仁以及胞质内的 RNA 结合呈红色。

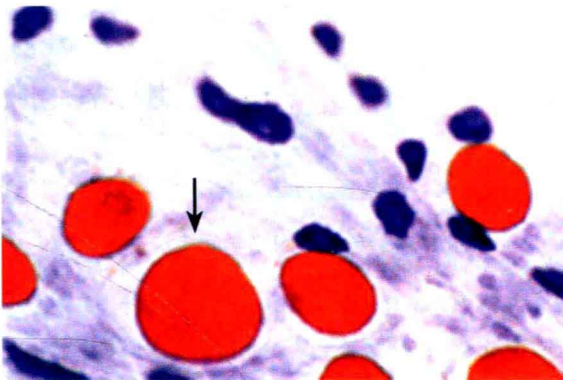


图 1-8 脂类组织化学染色(↓)(苏丹Ⅲ染色,高倍)

(五) 免疫组织化学与免疫细胞化学技术

利用抗原与抗体特异性结合的原理,应用已标记的特异性抗体,与组织、细胞内的特异性抗原结合,检测组织、细胞中抗原性物质(蛋白质和多肽等)存在和分布的一种技术,称免疫组织化学(immunohistochemistry)与免疫细胞化学(immunocytochemistry)技术。这种方法特异性强,敏感度高。多肽和蛋白质具有抗原性,若将人或动物的某种肽或蛋白质作为抗原注入另一种动物,可使其体内产生针对该抗原的特异性抗体(免疫球蛋白)。将抗体与标志物结合即成为标记抗体。用标记抗体处理样品(组织切片或培养细胞),抗体将与相应的抗原特异性结合,在显微镜下通过观察标志物而了解待检测肽或蛋白质的存在与分布。免疫细胞化学染色的基本方法分直接法和间接法。直接法用标记抗体直接与组织或细胞中的抗原结合,特异性强,操作简便,但敏感性较差,且只能检测一种抗原(图 1-9);间接法不标记特异性抗体(第一抗体),而将其作为抗原制备第二抗体,并对其进行标记。染色时,顺

次以第一抗体和标记的第二抗体处理标本,如组织或细胞中有相应抗原存在,则会形成抗原 + 第一抗体 + 标记的第二抗体复合物而呈现染色效果(图 1-10)。其优点是敏感性高,目前广泛应用,也可检测未知抗体,但特异性稍差。常用标志物有辣根过氧化物酶(图 1-11)、碱性磷酸酶和荧光素等。用荧光素标记抗体处理样品,并于荧光显微镜下观察,称免疫荧光细胞化学术(immunofluorescent cytochemistry technique)(图 1-3)。用胶体金(colloidal gold)、铁蛋白等标记抗体处理标本后,可以在电镜下观察,称免疫电镜技术(immunoelectron microscopy)。



图 1-9 免疫组织化学直接法

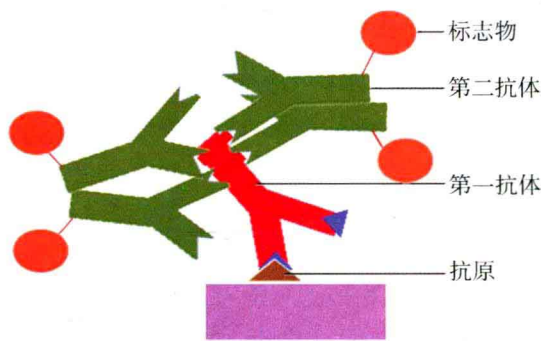


图 1-10 免疫组织化学间接法

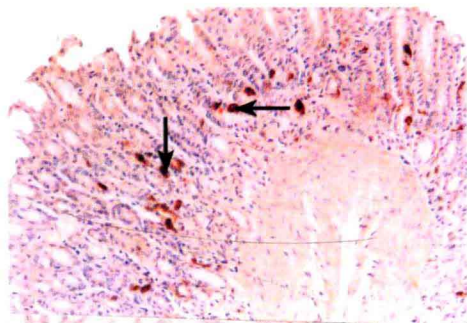


图 1-11 免疫组织化学显示胃壁 Bax 阳性细胞(↓)(高倍)

(六) 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。目前这种技术广泛地用于检测样品中特定的基因片段(DNA)或者在转录水平检测基因的活性(mRNA)。原位杂交的原理是根据碱基互补的原则,用一段已知的碱基序列,经特定标记,制成带有特定标记的核酸探针,与组织、细胞内待测的 DNA 片段或者 mRNA 进行杂交。并通过标志物的显示,可在光镜、电镜下观察待测核酸的存在和分布。探针标志物有两类:①放射性核素(如³H、³⁵S、³²P、¹⁴C、¹²⁵I等),经放射自显影术处理后观察;②非放射性物质(如地高辛、生物素、荧光素、铁蛋白等),经免疫组织化学技术处理后观察。

(七) 体外培养技术

体外培养技术(in vitro culture)用于研究细胞、组织的生物学行为,如细胞增殖、分化、代谢、运动、分泌、融合等,也可以用于观察物理、化学以及生物因素对其生物学行为的影响(图 1-4)。目前,主要利用机械或酶消化法分离和纯化组织中的某种细胞,制成单细胞悬液,然后将细胞接种于培养瓶或培养板,使之贴壁生长或悬浮生长,称为细胞培养。培养条件包括适宜的温度、湿度、酸碱度(pH)、渗透压、O₂、CO₂、营养成分(盐、氨基酸、维生素等)等,还要防止微生物污染。首次分离后培养的细胞称原代培养(primary culture);待细胞增殖到一定的数量再传代继续培养的细胞称传代培养(subculture)。

经长期培养而成的细胞群,称细胞系(cell line);用细胞克隆或单细胞培养出的纯种细胞,称细胞株(cell strain),这些细胞系或细胞株可置于液氮内长期冻存,可随时取出复苏,进行实验。

用细胞培养技术在体外模拟构建机体组织或器官的技术称组织工程(tissue engineering)。组织工程的基本方法是:①通过自体或异体组织分离、培养的方法,或通过干细胞体外定向诱导分化的方法,获得大量的种子细胞(seed cell);②应用聚羟基醋酸和聚乳酸等人工合成的有机高分子聚合物,或胶原和纤维蛋白等天然的细胞外成分,制备有一定形态和空间结构的三维支架;③将种子细胞种植在支架上,在体外培养或植入体内;④种子细胞生长增殖,分泌细胞外基质,支架材料逐渐降解吸收,从而形成有一定形态和功能的组织或器官。目前,组织工程化皮肤和软骨已经获得成功,并用于临床。

(八) 组织和细胞的定量技术

目前,各种定量技术广泛的用于形态学研究,主要有以下几种。

1. 显微分光光度术 应用显微分光光度计,以各种物质分子对光的选择性吸收为基础,可以在显微镜下对生物样本中的化学物质进行定量分析。

2. 图像分析术 图像分析术(image analysis),即形态计量术(morphometry),是应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学测量方法,其中三维立体结构的研究又称体视学(stereology)。图像分析仪目前被广泛应用于形态计量研究。首先将切片或照片通过摄像机显示在监视器屏幕上,并根据各像素点的位置、大小和不同结构的颜色深浅(灰度或光密度),快速准确地获得各种形态数据和物质含量的相对数据。

3. 流式细胞术 流式细胞术(flow cytometry)是一种细胞分类和定量技术,它可以对单个细胞进行生物化学和生物物理特性的快速定量测定,可进行不同细胞周期比例和细胞内DNA、RNA、蛋白质含量分析,淋巴细胞亚群的分离和定量,血细胞增殖状态分析,杂交细胞的分选等。流式细胞的工作原理是分离被检细胞,制成单细胞悬液,然后进行荧光染色或标记,继而使单细胞悬液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电脉冲,分别输入计算机内储存,同时显示于示波器屏幕上,由此获得该细胞群体中不同类型细胞的有关数据。

三、组织学与胚胎学的学习方法

(一) 加强结构与功能结合

形态结构总是和一定的功能密切相关的,如神经细胞有细长的突起可以长距离的传递冲动;凡是有较强吞噬功能的细胞,必然有较多的溶酶体,以消化吞噬物,如巨噬细胞和破骨细胞等;凡是合成与分泌蛋白比较旺盛的细胞,细胞质内均含有丰富的粗面内质网和发达的高尔基复合体,如成纤维细胞和浆细胞等。虽然组织学以学习形态结构为主,但结构和功能是不能分离的,只有互相联系才能增加学习兴趣,又可深入理解和记忆组织细胞的结构。

(二) 强调理论与实践的结合

组织学是一门实践性强的形态学科,许多结构不要死记硬背,而是在实验中通过显微镜观察、分析、比较,然后再记忆。在实验课之前,复习理论知识对实验课具有指导作用,能迅速、准确地寻找、掌握某种结构,通过理论和实践的结合,提高学生观察问题、分析问题和解决问题的能力。

(三) 建立断面与立体的关系

组织切片(5~6 μm)显示的是组织细胞在某一时刻的平面结构,同一细胞因为取材时间的不同结构也可能不同,同一结构因为切面不同也呈现不同的图像。如甲状腺滤泡细胞,在分泌功能旺盛时呈现矮柱状,分泌功能较低时呈现矮立方状,血管在横切、斜切、纵切等具有不同的形态。因此在学习时要全面观察,善于动脑分析,从大量静止结构中发现其动态变化规律,从不同切面的二维结构中抽象出其立体结构,达到真正理解和掌握人体微细结构的目的(图1-12)。

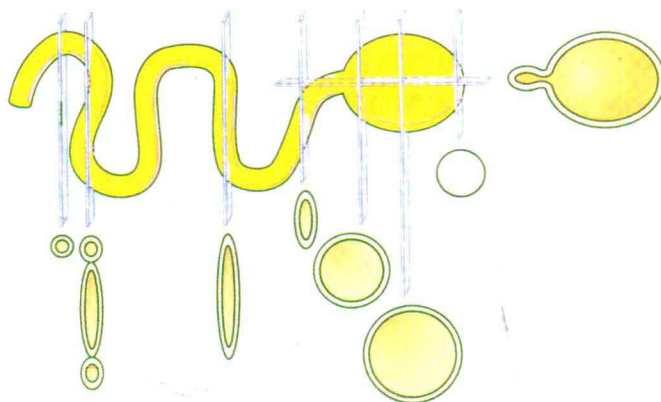


图 1-12 组织立体结构与平面切面关系示意图

(四) 注意勤奋与学习技巧

华罗庚说“聪明出于勤奋,天才在于积累”。学习是一种艰苦的劳动,因此要吃苦耐劳、善于积累,但也不要死记硬背,要摸索出适合自己的学习技巧。在学习中,注意对比、归纳和总结,注意前后联系,找出功能,牢记个性,达到事半功倍的效果。

SUMMARY

Histology is the study of the tissues of the body and of how these tissues are arranged to constitute organs. There are four types of fundamental tissues in the human body: epithelial tissue, connective tissue, muscular tissue, and nervous tissue. Tissues are made of cells and extracellular matrix. Most organs are formed by an orderly combination of several tissues, except the central nervous system, which is formed almost solely by nervous tissue. The precise combination of these tissues allows the functioning of each organ and of the organism as a whole.

The most common procedure used in the study of tissues is the preparation of histologic sections that can be studied with the aid of the light microscope. The histologic section is the most commonly stained by the combination of hematoxylin and eosin (HE). Hematoxylin stains the cell nucleus and other acidic structures (such as RNA - rich portions of the cytoplasm and the matrix of hyaline cartilage) blue. In contrast, eosin stains the cytoplasm and collagen pink. Tissue components that stain more readily with basic dyes are termed basophilic; those with an affinity for acid dyes are termed acidophilic. More detailed interpretation of the body structure rests with electron microscopy because of its great magnification and high resolution. Electron microscopy is divided into transmission and scanning electron microscopes.

The terms histochemistry and cytochemistry are used mainly to indicate methods for localizing different substances in tissues and cells. For example, the periodic acid - Schiff (PAS) reaction is a method to polysaccharides and glycoproteins. Lipids are best revealed with dyes that are soluble in lipids. DNA can be identified and quantified in cell nuclei using the Feulgen reaction, which produces a red color in DNA. Several procedures are used to obtain this type of information, most of them based on specific chemical reactions or on high - affinity interactions between macromolecules. These methods usually produce insoluble colored or electron - dense compounds that enable the localization of specific substances by means of light or electron microscopy. Immunocytochemistry is a method using labeled antibodies have proved most useful in identifying and localizing specific proteins, based on a highly specific interaction between an antigen and its antibody. There are direct method of immunocytochemistry and indirect method of immunocytochemistry. In situ