




卫生部“十一五”规划教材

细胞病理学

主编 张晓杰

 人民卫生出版社

卫生部“十一五”规划教材

细胞病理学

主 编 张晓杰

副主编 于秀文 林 岩

主 审 李澎涛

编 者(以姓氏笔画为序)

于秀文(齐齐哈尔医学院)	张晓杰(齐齐哈尔医学院)
王显艳(齐齐哈尔医学院)	张晓明(齐齐哈尔医学院)
刘 婷(齐齐哈尔医学院)	林 岩(齐齐哈尔医学院)
孙翠云(天津医科大学)	柏青杨(齐齐哈尔医学院)
李 织(黑龙江中医药大学)	赵瑞波(哈尔滨医科大学)
李澎涛(北京中医药大学)	徐凤琳(齐齐哈尔医学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

细胞病理学/张晓杰主编. —北京:人民卫生出版社,
2009. 2

ISBN 978 - 7 - 117 - 11117 - 1

I. 细… II. 张… III. 细胞学:病理学 - 教材
IV. R361

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 197998 号

本书本印次封底贴有防伪标,请注意识别。

细胞病理学

主 编: 张晓杰

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010 - 67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

印 刷: 潮河印业有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 18.5

字 数: 432 千字

版 次: 2009 年 2 月第 1 版 2009 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 11117 - 1/R · 11118

定 价: 68.00 元

版权所有,侵权必究,打击盗版举报电话: 010 - 87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前 言

细胞病理学是病理学的一个分支，也是病理学的一个重要组成部分。这是一门通过细致观察细胞的变化来诊断疾病的一门科学。查阅国内外资料，追溯历史，发现在100多年前，即1838年，Miiller首先描述了从肿瘤组织中取下的细胞的光学显微镜下的形态变化。1847年Pouchet介绍了用阴道细胞涂片的方法，观察月经周期的细胞学改变。1860年Beale首次报告了咽喉癌患者的痰中发现癌细胞。1864年Sanders从膀胱癌患者尿中发现癌细胞。1904年Dufour在脑脊液中发现恶性细胞。1909年Marissi用碱性溶液插管冲洗法，成功地从胃和食管癌中发现了癌细胞。然而，由于当时细胞学染色技术不佳，诊断的差错率较高，因此并未受到临床上的重视和广泛采用。1928年Papanicolaou用阴道细胞涂片的方法诊断宫颈癌，创建了巴氏染色法，并在1954年编著了《脱落细胞学图谱》，为细胞学奠定了基础，使其成为一门真正的学科。1930年Martin和Ellis首先应用粗针（16~18号）吸取组织进行活检，并采用病理组织学和细胞学的方法诊断肿瘤性疾病。1974年J. Zajicek出版了针吸细胞学的专著《Aspiration Biopsy Cytology》，使细胞学从单纯脱落细胞学（Exfoliative Cytology）发展成为应用范围更加广泛的一门学科。1961年L. G. Koss编写的《诊断细胞学及其病理基础》一书的问世，使细胞学和病理学紧密地联系在一起，并逐步发展成为病理学的一个重要分支——细胞病理学（Cytopathology）。

随着高等教育教学改革不断深化和办学思路的不断扩展，各高等医学院校的办学指导思想逐步定位在满足社会需求、拓宽自己办学的专业门类上，目前国内90%以上医学院校《细胞病理学》为必选课程，而国内这方面书籍多为图谱及专著系列，不适合于教学。鉴于此，我们凭借多年的教学经验，组织了部分医学院校病理学专家编写了《细胞病理学》这本教材，内容涵盖脱落细胞学、细针吸取细胞学、其他细胞学（手术中的细胞学，骨髓、外周血细胞学，艾滋病细胞学等）。从正常到异常，从基础知识的介绍到临床细胞学诊断，兼顾科学研究，融会国内外相关前沿知识，图文并茂，预计能为我国细胞病理学的发展起到积极地推动作用。

张晓杰

2008年12月

目 录

第一篇 总 论

绪论	1
一、脱落细胞学的概念	1
二、脱落细胞学的内容及任务	1
三、脱落细胞学在医学中的地位	1
四、脱落细胞学的技术方法	2
五、脱落细胞学的发展史	8
第一章 人体细胞的基本结构、分类及形态	10
第一节 人体细胞的基本结构	10
一、细胞膜	10
二、细胞质	13
三、细胞核	16
第二节 人体细胞的分类及形态	19
一、上皮细胞	19
二、非上皮细胞	21
三、细胞分类的意义	23
第二章 细胞的损伤和反应	24
第一节 细胞损伤的基本变化	24
一、细胞损伤时超微结构的基本变化	24
二、细胞变性	25
三、细胞死亡	25
第二节 细胞的反应	27
一、再生	27
二、化生	27
第三章 炎症的病理学及细胞学	29
第一节 炎症的病理学	29
一、炎症的病因学	29

二、炎症的临床表现	29
三、炎症的基本病理变化	29
四、炎症的类型	29
第二节 炎症的细胞学	31
一、急性炎症的细胞学	31
二、慢性炎症的细胞学	33
第四章 肿瘤的病理学及细胞学	35
第一节 肿瘤的概述	35
一、肿瘤的病因学	35
二、肿瘤的形态	36
三、肿瘤的异型性	36
四、良性肿瘤与恶性肿瘤的区别	36
第二节 瘤样病变	37
一、与肿瘤相似的病变	37
二、与肿瘤交界的病变	37
第三节 良性肿瘤	37
一、良性肿瘤的特征	37
二、良性肿瘤的细胞学特点	38
第四节 恶性肿瘤	38
一、恶性肿瘤的特征	38
二、恶性肿瘤的分类	38
三、恶性肿瘤的分级与分期	39
四、恶性肿瘤的细胞学特点	40
第二篇 各 论	
第五章 呼吸系统脱落细胞学	47
第一节 上呼吸道	47
一、上呼吸道解剖学与组织学	47
二、上呼吸道细胞学	48
三、上呼吸道非肿瘤性疾病的病理学与细胞学	50
四、上呼吸道良性肿瘤的病理学与细胞学	51
五、上呼吸道恶性肿瘤的病理学与细胞学	52
第二节 气管、支气管和肺	57
一、气管、支气管和肺的解剖学与组织学	57
二、气管、支气管和肺的细胞学	59
三、气管、支气管和肺良性病变的病理学与细胞学	61
四、气管、支气管和肺非肿瘤性疾病的病理学与细胞学	63
五、气管、支气管和肺肿瘤的病理学与细胞学	65

第六章 消化系统脱落细胞学	72
第一节 口腔	72
一、口腔的解剖学与组织学	72
二、口腔的细胞学	72
三、口腔非肿瘤性疾病的病理学与细胞学	73
四、口腔良性肿瘤的病理学与细胞学	74
五、口腔恶性肿瘤的病理学与细胞学	74
第二节 食管	75
一、食管的解剖学与组织学	75
二、食管的细胞学	75
三、食管良性病变的病理学与细胞学	76
四、食管癌的病理学与细胞学	78
第三节 胃	80
一、胃的解剖学与组织学	80
二、胃的细胞学	81
三、胃非肿瘤性疾病的病理学与细胞学	84
四、胃癌的病理学与细胞学	85
第四节 结肠、直肠	88
一、结肠、直肠的解剖学与组织学	88
二、结肠、直肠的细胞学	89
三、结肠、直肠的良性疾病病理学与细胞学	90
四、结肠、直肠恶性肿瘤的病理学与细胞学	92
第五节 十二指肠、胆道、胰	93
一、十二指肠、胆道、胰的解剖学与组织学	93
二、十二指肠、胆道、胰的细胞学	94
三、十二指肠、胆道、胰良性疾病的病理学与细胞学	95
四、十二指肠、胆道、胰恶性肿瘤的病理学与细胞学	96
第七章 泌尿系统脱落细胞学	98
第一节 泌尿系统的解剖学、组织学及细胞学	98
一、泌尿系统的解剖学与组织学	98
二、正常尿液的细胞学	99
第二节 泌尿系统良性病变脱落细胞学	101
一、下尿路炎症性疾病	101
二、尿路结石	102
三、膀胱黏膜白斑	102
四、临床治疗对膀胱上皮细胞的影响	102
五、肾移植	102
第三节 泌尿系统肿瘤	103

一、尿道癌	103
二、膀胱肿瘤	103
三、肾盂和输尿管癌	105
四、肾细胞癌	105
第四节 前列腺	106
一、前列腺解剖学与组织学	106
二、前列腺细胞学	106
三、前列腺良性增生	106
四、前列腺癌	107
第八章 浆膜腔积液脱落细胞学	108
第一节 浆膜腔解剖学、组织学及细胞学	108
一、浆膜腔解剖学与组织学	108
二、浆膜腔细胞学	108
第二节 浆膜腔积液细胞学	108
一、浆膜腔积液的形成原因和机制	109
二、浆膜腔积液细胞学	110
三、非肿瘤性疾病的积液细胞学	112
四、原发性肿瘤积液细胞学	113
五、转移性肿瘤积液细胞学	114
第三节 体腔冲洗液细胞学	117
一、腹腔冲洗液的取材方法	117
二、腹腔冲洗液的细胞学	118
第九章 脑脊液脱落细胞学	119
第一节 脑脊液的循环及其细胞学	119
一、脑脊液的产生及其循环	119
二、脑脊液的细胞学	119
第二节 脑脊液良性疾病的病理学及细胞学	120
一、细菌性脑膜炎	120
二、病毒性脑炎和脑膜炎	121
三、脑寄生虫病	122
四、真菌性脑膜炎	122
第三节 中枢神经系统肿瘤的病理学及细胞学	122
一、中枢神经系统原发性肿瘤	123
二、中枢神经系统转移性肿瘤	124
第十章 乳头溢液脱落细胞学	125
第一节 乳头溢液标本采集方法、性状及其意义	125

一、乳头溢液的标本采集方法·····	125
二、乳头溢液性状及其意义·····	125
第二节 乳头溢液细胞学·····	126
一、乳头溢液中的良性细胞·····	126
二、恶性病变乳头溢液细胞学·····	127
第三节 乳腺常见疾病的病理学与细胞学·····	129
一、乳腺炎症·····	129
二、乳腺导管扩张症·····	129
三、乳腺导管内乳头状瘤·····	130
四、乳腺导管内癌·····	131
五、浸润性导管癌·····	131
六、佩吉特病·····	132
七、其他类型癌·····	132
八、内分泌障碍·····	132
第十一章 妇科脱落细胞学·····	133
第一节 女阴·····	133
一、女阴的解剖学与组织学·····	133
二、女阴的细胞学·····	134
三、女阴非肿瘤性疾病的病理学与细胞学·····	134
四、女阴良性肿瘤的病理学与细胞学·····	136
五、女阴恶性肿瘤的病理学与细胞学·····	136
第二节 阴道·····	139
一、阴道的解剖学与组织学·····	139
二、阴道的细胞学·····	139
三、阴道非肿瘤性疾病的病理学与细胞学·····	145
四、阴道良性肿瘤及良性病变的病理学与细胞学·····	146
五、阴道恶性肿瘤的病理学与细胞学·····	147
第三节 宫颈·····	149
一、宫颈的解剖学与组织学·····	149
二、宫颈非肿瘤性疾病的病理学与细胞学·····	150
三、宫颈癌前病变与癌的病理学与细胞学·····	156
第四节 子宫·····	160
一、解剖学与组织学·····	160
二、正常子宫内膜细胞形态学·····	161
三、子宫内膜炎症的病理学与细胞学·····	164
四、子宫内膜增生性病变的病理学与细胞学·····	165
五、子宫内膜恶性肿瘤的病理学与细胞学·····	167
六、取材、制片、阅片·····	172

第五节 输卵管	173
一、解剖学与组织学	173
二、细胞学	174
三、输卵管良性病变的病理学	174
四、输卵管癌的病理学与细胞学	175
第六节 卵巢	176
一、解剖学与组织学	176
二、细胞学	177
三、卵巢功能性肿瘤病理学与细胞学	177
四、卵巢恶性肿瘤病理学与细胞学	178
第七节 生理性激素周期性改变的细胞学	180
一、青春前期细胞学	181
二、生育期月经周期改变的细胞学	181
三、妊娠与流产细胞学	182
四、闭经期的细胞学	183
五、性激素水平、功能状态的细胞学评价	184
第八节 各种治疗对女性生殖道上皮细胞的影响	187
一、女性生殖道上皮细胞的放射反应	187
二、放射治疗时间与癌细胞反应的关系	190
第十二章 细针吸取细胞学	191
第一节 细针吸取细胞学的概论	191
一、细针吸取技术及涂片的制备	192
二、细针吸取细胞学的应用范围	195
三、细针吸取细胞学的优缺点、禁忌证与合并症	197
第二节 体表可触及肿物针吸细胞学	198
一、乳腺	198
二、甲状腺	211
三、涎腺及颈部囊肿	222
四、淋巴结	232
五、皮肤及附属器	242
六、软组织	245
七、前列腺及睾丸	254
八、眼球及眼眶	259
第三节 内脏肿物针吸细胞学	262
一、肺	262
二、纵隔及胸膜	266
三、肝脏	267
四、胰腺	270

五、肾脏及肾上腺·····	271
六、卵巢·····	275
七、腹膜后区·····	278
八、中枢神经系统·····	279
九、骨和关节·····	281
参考文献 ·····	284

绪 论

一、脱落细胞学的概念

脱落细胞学(exfoliative cytology)是利用各种采集器采取人体各个部位,特别是管腔、器官表面的脱落细胞或用细针直接吸取病变器官及肿物获得的细胞,经不同方法染色后,在显微镜下观察这些细胞形态,从而作出诊断的一门临床检验学科,故又称为临床细胞学(clinical cytology)、诊断细胞学(diagnostic cytology)或细胞病理学(cytopathology)。脱落细胞学是病理学的一个分支,也是病理学的一个重要组成部分。

二、脱落细胞学的内容及任务

脱落细胞学包括总论(第一章~第四章)和各论(第五章~第十二章)两部分内容。各论包括脱落细胞学、细针吸取细胞病理学和其他病理学。总论介绍了人体正常细胞的结构、分类、形态,以及细胞的损伤和反应,炎症、肿瘤的病理学及其细胞学;各论阐述了在各个系统、各个部位细胞的正常形态,各种疾病状态下细胞的形态改变,从而作出临床诊断。总论和各论是相互联系、密不可分,总论是共性的一般规律,各论则是研究各种疾病的特殊规律。两者之间有着内在的必然联系,例如:肺癌、胃癌、食管癌、肠癌、膀胱癌等恶性肿瘤,虽然其存在的部位不同,各有其发生原因及组织和细胞学特点,但却都属于癌,并具有恶性肿瘤细胞的异型性包括细胞的形态、细胞核、细胞质的变化。因此,学好总论是学习各论的必要基础,学习各论的同时也必须经常联系、运用总论的知识,同时加深对总论的认识和理解。

三、脱落细胞学在医学中的地位

脱落细胞学是病理学的一门分支学科,也是病理学的重要组成部分。在临床诊断、疗效的观察、随访等方面具有极其重要的地位。

脱落细胞学突出的特点:①简单易行,对设备要求不高、费用低。②安全,患者痛苦少或无痛苦,无不良反应、可重复多次取材。③诊断迅速、准确性高,癌细胞的检出率一般在60%以上,如技术好,方法得当,某些肿瘤的检出率可达80%,子宫颈癌可达90%以上。尤其对早期癌,组织学无从取材时,脱落细胞学显示出独特的优点。④采集的细胞代表范围较大的黏膜脱落细胞,如肾盂、输尿管和膀胱的癌细胞均能在尿液细胞学涂片检出。在

许多国家和地区已将脱落细胞学诊断技术推向临床诊断的前沿,特别是大规模防癌普查和高危人群的随访观察,可以检出可疑早期癌、不典型增生或早期癌病人,以利于进一步活检或追踪观察,便于早期治疗,因此脱落细胞学已成为诊断癌的主要方法之一。在我国,宫颈癌、食管癌和鼻咽癌等危害较大又较常见的肿瘤,大范围的普查主要依赖于细胞学,而且取得了突出的成果;使原位癌和早期癌相对增多,中、晚期癌发生率大幅度下降,起到了早期发现、早期诊断、早期治疗,明显地改善了这些肿瘤患者的预后。

近几十年来,细针吸取细胞学(fine needle aspiration cytology, FNAC)的迅速发展,使脱落细胞学的应用范围日益扩大。主要体现在以下几个方面:①细胞学诊断,不再局限于分泌物、体液及排泄物的检查,而扩大到几乎全身所有的组织和器官;②细胞学诊断不再只是针对上皮来源的恶性肿瘤,而是扩大到对全身所有肿瘤,包括内脏器官的原发性肿瘤和转移性肿瘤,均可由细胞学作出明确的诊断;③细胞病理学已不再是单纯的肿瘤细胞学,目前已扩大到许多非肿瘤疾病的诊断,特别是一些具有特殊细胞改变的特异性炎症,如病毒感染的细胞学、真菌和结核病的细胞学诊断等;④细胞学检查已不再是一种单纯的诊断方法,目前已扩展到对癌前病变的演变、癌变过程的研究以及随访观察、疗效观察的主要指标。

脱落细胞学有一定的局限性。因为脱落细胞学主要是观察细胞形态变化而诊断疾病,看不到组织结构,也不能观察肿瘤与周围组织的关系,因此细胞学诊断有一定的误诊率。即使细针吸取细胞学,已经进入靶器官,并吸取肿瘤内的细胞,仍有10%的假阴性。细胞学诊断常常不能确定肿瘤的具体部位,如尿液中发现癌细胞时,不能确定病变是肾盂、输尿管还是膀胱,需要结合X线、B超或活检等确诊。脱落细胞学诊断恶性肿瘤准确率高,即区别良、恶性肿瘤比较可靠,而对恶性肿瘤的分型诊断准确性较低,尤其是对一些低分化的肿瘤,分型诊断易发生错误。这主要是因为低分化肿瘤胞质的特异性功能分化不明显所致。在这方面需要紧密结合病理组织学,采用新的技术和方法,进行更深入的探索和研究。

脱落细胞学与病理学的结合是提高的基础。因此,从事脱落细胞学的医师必须首先经过严格的病理学训练,具有扎实的病理学基础理论和基本知识,然后再进行细胞学的训练和实践。我国细胞学的先驱杨大望教授曾经讲过:“病理学是树干和树根,细胞学是枝叶,只有干粗根深,才能枝叶茂盛”。这句话非常深刻、形象地叙述了病理学和细胞病理学的关系。

四、脱落细胞学的技术方法

(一) 标本来源

1. 自然排出物 正常情况下,人体很多器官,尤其体表和黏膜表面常有细胞更新脱落,病变部位的细胞更容易脱落。人体的体表、各组织器官的表面及体内脏器脱落的细胞都属于自然排出物范畴。如痰(气管黏膜脱落上皮)、尿(输尿管膀胱脱落的移行上皮)及乳头溢液(乳腺导管上皮)等,其中都含有自然脱落的上皮细胞。口腔、鼻咽部、食管、胃及肠黏膜的标本不完全是自然脱落细胞,部分是通过刷洗或人工刮取所得,但属于脱落细胞范畴。

2. 体腔抽出液 包括浆膜腔(如胸膜腔、腹膜腔、心包腔)积液和脑、脊髓膜腔等。

3. 细针穿刺吸取液 使用细针穿刺病变器官或肿物,吸出少量病变组织、细胞进行涂片检查。抽出的细胞完全是人为的“脱落”细胞,因为细针穿刺细胞学的诊断及价值与自然脱落细胞非常相似,因此归属于脱落细胞,也是本门学科的一个重大发展。常用于体表可触及肿物的检查,如乳腺、甲状腺、涎腺肿块,颈部囊肿,肿大的淋巴结,皮肤及附属器、皮下软组织肿块,前列腺及睾丸、眼球及眼眶的穿刺;内脏器官肿物,肺、纵隔及胸膜、肝脏、胰腺、肾脏及肾上腺、卵巢、腹膜后区等肿物在超声影像定位下穿刺。

(二) 标本采集

正确地采集标本是细胞学诊断的关键和基础。因此,采集标本有以下几方面的要求:①准确地选择采集部位,应在病变区直接采取细胞;②标本必须保持新鲜,应尽快制片,以防细胞自溶或腐败;③应避免血液、黏液等干扰物混入标本;④采集方法应简便,操作应轻柔,减少病人痛苦,防止严重并发症发生和肿瘤扩散。

常用的标本采集方法有:

1. 直视采集法 皮肤、口腔、鼻腔、鼻咽部、眼结膜、外阴、阴道、阴道穹隆、宫颈、肛管等部位可直接印片或用刮片刮取,吸管吸取或刷洗。气管和肺支气管、食管、胃及直肠可用纤维内镜在病灶处直接刷取细胞涂片。

2. 自然分泌液采集涂片法

(1) 痰液涂片:因痰液是支气管等呼吸系统的分泌物,对支气管肺癌和其他呼吸道疾病细胞学具有诊断价值。

(2) 尿液涂片:收集尿液中脱落的泌尿系统细胞成分,作尿液细胞学检查,对泌尿系统肿瘤和某些疾病进行细胞学诊断。

(3) 前列腺液涂片:采用前列腺按摩法取得分泌物,对前列腺炎和前列腺癌作细胞学诊断。

(4) 乳头溢液涂片:对导管内乳头状瘤和乳腺癌进行细胞学检查。

3. 灌洗法 向有腔器官、腹腔或盆腔(剖腹探查时)灌注一定量的生理盐水进行冲洗,使其中的细胞成分脱落于液体中,收集灌洗液离心涂片,进行细胞学检查。

4. 摩擦法 用摩擦工具在病变处摩擦,取擦取物直接涂片。常用的摩擦工具有线网套、气囊、海绵球摩擦器等。可对鼻咽部、食管和胃等处病灶取材涂片。

(三) 脱落细胞学常规技术

1. 涂片制作

(1) 涂片要求:①玻片要清洁:先用硫酸洗涤液浸泡、冲洗,再用75%乙醇浸泡,蒸馏水清洗,至玻片无油渍。②标本要新鲜:取材后要尽快制片。③操作要轻柔:防止挤压、损伤细胞。涂片均匀、薄、厚适度,过厚细胞重叠,过薄细胞过少,均影响阳性检出率。④涂片要牢固:含蛋白质的标本可以直接涂片;缺乏蛋白质的标本,涂片前,先在玻片上涂一薄层黏附剂,可防止染色时细胞脱落。常用的黏附剂,如蛋白甘油:由生鸡蛋蛋白和甘油等量混合而制成。⑤涂片数量:每位患者的标本至少要涂两张涂片,防止漏诊。涂片后应立即在玻片一端标上编号。

(2) 涂片制备方法:①推片法(method of smear):适用稀薄的标本,如血液、胸腹水等。离心后取一小滴标本滴在玻片偏右侧端,将玻片上待检液用另一玻片作30°夹角轻轻向左推。②涂抹法(smear technique):用于稍稠的标本,如鼻咽部标本。用竹棉签从玻片一

端开始平行涂抹或由玻片中心以顺时针方向,向外转圈涂抹,涂抹要均匀,不要重复。

③压拉涂片法:适于较黏稠的标本,如痰液涂片。将标本夹在交叉的两张玻片之间,移动两张玻片,使其重叠,再边压边拉,一次可获得两张涂片。

④吸管推片法(smear technique of pipette):亦适用于胸、腹水标本。先用吸管将标本滴在玻片一端,再将滴管前端平行放于标本滴上,向另一端匀速移动滴管,即推出均匀的薄膜。

⑤喷射法(spurting technique):用于各种吸取的标本。用配备细针头的注射器将标本从左至右反复均匀地喷射于玻片上。

⑥印片法(printing slide technique):活体组织检查的辅助方法。将切取的病变组织块用手术刀切开,立即将切面平放在玻片上,轻轻按印即可。

2. 涂片的固定 固定(fixation)的目的主要是保持细胞的自然形态,防止细胞自溶和细菌所致的腐败,使细胞结构清晰,易于着色。因此,标本越新鲜,固定越及时,细胞结构越清晰,染色效果越好。

(1)固定液(fixation fluid):细胞学检查常用固定液有以下3种:①乙醚乙醇固定液:乙醚和乙醇对半配制而成,渗透性强,固定效果好。适于一般细胞学常规染色。但由于乙醚有很强的吸湿性和特有的气味,现已被单一的95%乙醇所代替。②氯仿乙醇固定液:又称为卡诺(carnot)固定液。优点同乙醚乙醇固定液。③95%乙醇固定液:制备简便,但渗透作用稍差。适用于大规模防癌普查。

(2)固定方法:①湿固定法(wet preparation):当涂片尚未干燥,即行固定的方法。该法固定细胞染色鲜艳,结构清楚。适用于巴氏染色或HE染色。痰液、食管拉网、阴道分泌物、穿刺物、腔镜刷取涂片等常用此方法。②干燥固定(dry preparation):涂片后待其自然干燥再进行固定。适用于瑞氏和吉姆萨染色。较稀薄的标本如尿液、胃冲洗液等标本常用此法。

(3)固定时间:因固定液和标本性质不同而异,一般为15~30分钟。胸、腹水及尿液等涂片因不含黏液,固定时间可酌情缩短;而痰液、食管拉网及阴道分泌物含黏液较多,涂片固定时间应适当延长。

3. 涂片的染色 染色目的是借助于一种或多种染料,使组织和细胞内结构分别着不同的颜色,在显微镜下清楚地观察细胞内部结构,从而作出正确细胞学诊断。临床日常工作中较常用的染色方法有3种:

(1)巴氏染色法:该法染色特点是细胞具有多色性染色效果,色彩鲜艳多样。涂片染色的透明性好,细胞核结构清晰,细胞质颗粒分明,如角化前细胞,胞质呈浅绿色或浅蓝色;角化细胞,胞质显粉红色,而鳞状上皮完全角化细胞,胞质显橘黄色。适用上皮细胞染色或阴道涂片中观察女性激素水平对上皮细胞的影响。此方法的缺点是染色程序较复杂。

(2)苏木素-伊红(HE)染色法:该法染色透明度好,核与胞质对比鲜明,染色效果稳定。细胞核显紫蓝色,细胞质呈淡玫瑰红色,红细胞呈朱红色。染色步骤简便,适用于痰液涂片。

(3)瑞氏-吉姆萨染色法(Wright-Giemsa stain):该法细胞质内颗粒和细胞核染色质结构较清晰,操作简便,多适用于血液、骨髓细胞学检查。

(四) 免疫细胞化学技术

免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)技术:将免疫学基本原理与细胞化学技术

相结合所建立起来的新技术。在细胞学方面的应用原理与组织学相似,指在应用常规苏木素染色、巴氏染色不能确立诊断时,合理应用 ICC 染色将对准确诊断起到指导作用。其基本原理是利用抗原与相应的抗体特异性结合反应,标记上可见的显示物系统来检测和定位细胞中的某种化学物质的一门技术。此方法可以识别定位各种细胞、组织成分,如蛋白质、多肽、核酸、部分类酯、多糖、激素、病原体(寄生虫、细菌病毒)、受体、神经介质、肿瘤的标记物(抗原或相关抗原)等,在光学显微镜、荧光显微镜或电子显微镜下观察其性质定位,还可以利用细胞分光光度计、图像分析仪、共聚焦显微镜等进行细胞原位定量测定。

免疫细胞化学染色方法有很多,按标记物的性质可分为:荧光法(荧光素标记)、酶法、免疫金银及铁标记技术等。按染色步骤:可分为直接法和间接法。①直接法(又称为一步法):用标记抗体与相应抗原直接结合,操作方法简便,特异性高,但敏感性较差,此法可用于检测未知抗原。②间接法(又称为二步法、三步法或多步法):先用未标记的具有特异性的第一抗体与标本中的相应抗原结合,然后再以标记的第二抗体与特异性的第一抗体结合,然后再结合以标记物,通过这样的放大作用,使抗原分子上的标记物大大增加,故间接法较直接法的敏感性大为增高,高 5~10 倍,故应用更为广泛。间接法中较常用的,如过氧化物酶-抗过氧化物酶复合物法(peroxidase antiperoxidase complex method, PAP 法),标本先后经一抗、二抗和 PAP 复合物处理后再以 DAB 显色,抗原存在部位可见棕黄色产物。

(五) 原位杂交技术

原位杂交组织(或细胞)化学(in situ hybridization histochemistry, ISHH)简称原位杂交(in situ hybridization),属于固相分子杂交的范畴,它是用标记的 DNA 或 RNA 为探针,通过杂交直接在细胞涂片或培养细胞爬片上原位检测组织细胞内特定核酸序列的方法。根据所用探针和靶核酸的不同,原位杂交可分为 DNA-DNA 杂交, DNA-RNA 杂交和 RNA-RNA 杂交 3 类。根据探针的标记物是否直接被检测,原位杂交又可分为直接法和间接法两类。直接法主要用放射性同位素、荧光及某些酶标记的探针与靶核酸进行杂交,杂交后分别通过放射自显影、荧光显微镜术或成色酶促反应直接显示。间接法一般用半抗原标记探针,最后通过免疫组织化学法对半抗原定位,间接地显示探针与靶核酸形成的杂交体。原位杂交最初是以同位素(如³⁵S, ³H, ³²P 等)标记探针进行的。这类探针的敏感性高,但有半衰期及放射性污染,成本高且耗时,故其使用受限;非放射性探针标记物有荧光素、地高辛和生物素等,尽管其敏感性不如放射性标记探针,但因其性能稳定,操作简便,成本低和耗时短等长处,正越来越广泛地得到应用。

(六) 聚合酶链反应(PCR)技术

聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)又称体外酶促基因扩增。是一种模拟天然 DNA 复制,将体外特异性目的 DNA 片段序列进行高效扩增的分子生物学新技术。PCR 模拟 DNA 的自然复制过程,引物按照碱基配对与 DNA 模板互补结合以后,在 DNA 多聚酶的作用下,按照碱基配对的原则(A, T, C, G),从引物开始合成与模板 DNA 互补的 DNA 链。经变性,退火,延伸等一次循环, DNA 链数量增加一倍。它以敏感,特异,快速的核酸分析技术而著称,是分子生物学技术的一项突破。由 Mullis 发明于 1983 年。经不断的改进,现今已发展出了不对称 PCR(asymmetric PCR),反向 PCR(inverse PCR),多重

PCR(multiplex PCR), 锚定 PCR(anchored PCR), 差异显示 PCR(differential display PCR), 定量 PCR(quantified PCR) 等多种 PCR 技术。

(七) 电子显微镜技术

电子显微镜(electron microscopy)技术是运用电子显微镜对组织、细胞及一些病原微生物的表面和内部超微结构进行更细致的观察,即从亚细胞水平或大分子水平认识和了解细胞的病变。目前已成为研究机体微细结构的重要手段。常用的电子显微镜有透射电镜(transmission electron microscope, TEM)和扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)。电子显微镜和光学显微镜的基本原理是相同的,不同的是光镜的照明源是可见光,而电镜是用电磁透镜代替了光学透镜并使用荧光屏将肉眼不可见电子束成像。

1. 透射电镜技术 透射电镜是以电子束透过样品经过聚焦与放大后所产生的物像,投射到荧光屏上或照相底片上进行观察。透射电镜的分辨率为 $0.1 \sim 0.2\text{nm}$,放大倍数为几万~几十万倍。由于电子易散射或被物体吸收,故穿透力低,必须制备更薄的超薄切片(通常为 $50 \sim 100\text{nm}$)。其制备过程与石蜡切片相似,但要求比较严格。要在机体死亡后的数分钟内取材,组织块要小(1mm^3 以内),常用戊二醛和锇酸进行双重固定树脂包埋,用特制的超薄切片机(ultramicrotome)切成超薄切片,再经醋酸铀和柠檬酸铅等进行电子染色。

电子束投射到样品时,可随着组织构成成分的密度不同而发生相应的电子发射,如电子束投射到质量大的结构时,电子被散射的多,因此投射到荧光屏上的电子少而呈暗像,电子照片上则呈黑色,称为电子密度高(electron dense)。反之,则称为电子密度低(electron lucent)。

2. 扫描电镜术 扫描电镜是用极细的电子束在样品表面扫描,将产生的二次电子用特制的探测器收集,形成电信号运送到显像管,在荧光屏上显示物体。(细胞、组织)表面的立体构象,可摄制成照片。

扫描电镜样品用戊二醛和锇酸等固定,经脱水和临界点干燥后,再于样品表面喷镀薄层金膜,以增加二次电子数。扫描电镜能观察较大的组织表面结构,成像清晰,样品图像富有立体感。

(八) 流式细胞技术

流式细胞技术(flow cytometry, FCM)是一种在功能水平上利用流式细胞仪对单细胞或其他生物粒子进行定量分析和分选的检测手段,是单克隆抗体及免疫细胞化学技术、激光和电子计算机技术等综合利用的高技术产物。

流式细胞仪的工作原理是使悬浮在液体中分散的经荧光标记的细胞或微粒一个个地依次通过样品池,细胞的流速可达 9m/s ,同时由荧光探测器捕获荧光信号并转换成分别代表前向散射角,侧向散射角和不同荧光强度的电脉冲信号,经计算机处理形成相应的点图、直方图和假三维结构图像进行分析。

用于 FCM 的样本是单细胞悬液,可以是血液,悬浮细胞培养液,各种体液,如胸水、腹水、脑脊液、新鲜实体瘤的单细胞悬液,以及石蜡包埋组织的单细胞悬液等。

流式细胞仪具有精密、准确、快速和高分辨能力等特性,具体表现在以下几个方面:
①测定细胞内 DNA 的变异系数最小,一般在 2% 以下;②能准确地进行 DNA 倍体分析;
③借助于荧光染料进行细胞内蛋白质和核酸的定量研究;④快速进行细胞分选和细胞收