

21世纪医学类规划新教材
“互联网+”创新型教材

组织胚胎学

主 编 苏 玲 王秀敏



互联网+
—创新型教材—

操作视频:
教学案例:
在线检测:

实地操作 直观学习
融汇案例 生动解读
“码”上做 “码”上答



北京希望电子出版社
Beijing Hope Electronic Press
www.bhp.com.cn

21世纪医学类规划新教材
“互联网+”创新型教材

组织胚胎学

主 编 苏 玲 王秀敏
副主编 王 欢 刘 哲 张 涛



北京希望电子出版社
Beijing Hope Electronic Press
www.bhp.com.cn

内 容 简 介

本书是为了适应医学教育发展的趋势,贯彻落实国务院、教育部《关于大力发展职业教育的决定》的政策,本着卫生职业教育“以服务为宗旨,以岗位需求为导向”的办学方针,以全国医学院校教学大纲为依据,以国内医学院校通用的权威教材为参考而进行编纂的。本书介绍了细胞的基础知识及组织胚胎学的实验技术,还介绍了基本组织、神经系统、循环系统、免疫系统、消化系统、呼吸系统、泌尿系统、生殖系统、内分泌系统、感觉器等主要器官的组织结构和功能,以及人体胚胎的发生与发育过程等。本书具有以下特点:一是以基本组织和各系统主要器官组织结构为主,其他辅助性器官组织结构仅做一般介绍;二是根据组织胚胎学的研究进展,更新概念和理论;三是内容精练、实用性较强。

本书既可以作为医药院校相关专业的教材,也可以作为社会从业人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

组织胚胎学/苏玲,王秀敏主编. —北京:北京希望电子出版社,2017.4

ISBN 978-7-83002-430-7

I. ①组… II. ①苏… ②王… III. ①人体组织学—人体胚胎学—医学院校—教材 IV. ①R329.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 056341 号

出版:北京希望电子出版社
地址:北京市海淀区中关村大街 22 号
 中科大厦 A 座 9 层
邮编:100190
网址:www.bhp.com.cn
电话:010-82626270
传真:010-62543892
经销:各地新华书店

封面:唐璐瑶
编辑:金美娜
校对:蒋彬彬
开本:787mm×1092mm 1/16
印张:20
字数:416 千字
印刷:三河市延风印装有限公司
版次:2017 年 7 月 1 版 1 次印刷

定价:45.00 元

前言

现今生命科学领域的研究技术快速发展,高等教育的体制改革不断深化,带动和促进了医学教育的发展,使医学教育逐步由专业化教育向融合知识、能力和素质的综合性教育转化,对学生的创新意识、创新精神和创新能力的培养提出了更高的要求。

组织胚胎学是研究人体微细结构和发生发展的科学,是培养合格医学人才的重要基础课程,在该学科的教学过程中,教材建设至关重要,对保证教学质量起着关键作用。本书遵照教育部、卫计委颁布的医学教育标准的精神,根据新的人才培养目标和教学大纲要求,在总结各院校教学经验的基础上,把握医学发展动态,精心编排教材内容。在编写过程中,注重基本理论和基础知识的阐述,坚持传承与创新相结合、理论与实践相结合,使教材内容丰富;注重使用科学严谨的语言、文字、数据及图片,做到准确和直观;注重与其他基础医学课程及临床实践的联系,力求贴近实践。

全书分为绪论、细胞、基本组织、器官系统和胚胎学等部分。主要介绍组织胚胎学的研究内容、研究技术等;上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织等基本组织的组成及结构特点;人体各系统中主要器官的微细结构及生理功能;人体早期胚胎发育的过程及影响因素等。通过理论学习和实践操作,使学生获得组织胚胎学的基础理论和基本知识,并得到有关的基本技能训练;能够识别各种细胞、组织和主要器官的光镜结构;辨认人体主要细胞和组织的超微结构;了解人体结构与功能的关系;熟练使用和维护普通光学显微镜,熟悉光学显微镜各部件的用途;能通过语言、文字及绘图对所观察的细胞、组织及器官的基本结构特点进行正确描绘或描述,从而为学习其他基础医学与临床医学课程打下良好的基础。

本书主要有以下特点:①每章前设置“本章导读”和“目标透视”,对本章所讲知识进行概述,有利于培养学生的学习兴趣和能力;②在正文中穿插“知识链接”,介绍与本课程相关的课外知识等,能激发学生的求知欲望和科学进取精神,扩大学生的视野,增强学生阅读的趣味性;③每章后有“本章小结”和“思考题”,提炼总结本章重难点内容,以便学生回顾和整理本章所讲内容并进行练习,巩固加深印象;④对专业名词附注英语,以适应一些院校双语教学的要求;⑤在正文中穿插二维码,以视频、案例等形式讲解文中相关知识,增强学生的学习主动性。书中所用的组织胚胎学专业名词以全国自然科学名词审定委员会2014年公布的《组织学与胚胎学名词》为准,计量单位严格执行《中华人民共和国法定计量单位》的规定。

本书在编写过程中,集思广益,博采众长,注重基本理论、基础知识、基本技能,保证先进性、思想性、科学性、启发性和适应性,目的就是为了贴近社会、贴近岗位、贴近学生,适应教

学的实际需要。但由于编写时间仓促、编者水平有限,书中的不足和遗漏在所难免,恳请使用本书的各位教师和同学不吝赐教,提出宝贵意见。

编 者

目录

绪论	1
第一章 细胞	12
第一节 细胞的结构	12
第二节 细胞增殖	23
第三节 细胞的运动、衰老与死亡	25
第二章 基本组织	29
第一节 上皮组织	29
第二节 结缔组织	38
第三节 肌组织	59
第四节 神经组织	65
第三章 神经系统	79
第一节 中枢神经系统	79
第二节 周围神经系统	88
第四章 循环系统	91
第一节 心血管系统	91
第二节 淋巴管系统	102
第五章 免疫系统	105
第一节 免疫细胞	105
第二节 淋巴组织	109
第三节 淋巴器官	110



第六章 消化系统	122
第一节 消化管	122
第二节 消化腺	138
第七章 呼吸系统	147
第一节 呼吸道	147
第二节 肺	152
第八章 泌尿系统	159
第一节 肾	159
第二节 排尿器官	168
第九章 生殖系统	171
第一节 男性生殖系统	171
第二节 女性生殖系统	177
第十章 内分泌系统	188
第一节 概述	188
第二节 甲状腺	189
第三节 甲状旁腺	191
第四节 肾上腺	192
第五节 垂体	195
第六节 松果体及弥散神经内分泌系统	200
第十一章 感觉器	204
第一节 皮肤	204
第二节 眼	213
第三节 耳	222
第十二章 人体胚胎学	229
第一节 概述	229



第二节 人胚早期发生	231
第三节 畸形学	250
第十三章 颜面和四肢的发生	254
第一节 颜面的发生	254
第二节 四肢的发生	258
第十四章 消化系统和呼吸系统的发生	261
第一节 概述	261
第二节 消化系统的发生	262
第三节 呼吸系统的发生	270
第十五章 泌尿系统和生殖系统的发生	274
第一节 泌尿系统的发生	274
第二节 生殖系统的发生	278
第十六章 心血管系统的发生	286
第一节 原始心血管系统的建立	286
第二节 心脏的发生	287
第十七章 神经系统、眼和耳的发生	297
第一节 神经系统的发生	297
第二节 眼的发生	305
第三节 耳的发生	309
参考文献	312

绪 论

本章导读

组织学是研究人体微细结构及其相关功能的学科,是重要的医学基础课程,能为其他临床各科的学习打下必备的形态学基础。组织学的研究内容包括细胞、组织、器官和系统的微细结构及其相关功能。胚胎学是研究人体发生发育规律的学科,与其他医学基础课程(如生理学、病理学等)和临床课程(如内科学、妇产科学等)有着密切的联系。

组织胚胎学的研究方法和实验技术随着科学的进步也在不断发展,常用的有显微镜技术、组织化学与细胞化学技术、组织培养技术、细胞化学定量术等。学好组织胚胎学应注意平面与立体相结合、结构与功能相联系、静态与动态相统一、局部与整体相贯通及理论联系实际。

目标透视

1. 掌握:组织学、胚胎学的概念,组织胚胎学的研究方法、实验技术。
2. 熟悉:组织胚胎学的研究内容。
3. 了解:树立辩证唯物主义的观点,运用理论联系实际的学习方法学好组织胚胎学。

一、组织胚胎学的概念

组织学(histology)是研究人体微细结构及其相关功能的学科。由于组织学以显微镜作为主要的研究工具,故又称为显微解剖学。胚胎学是研究人体发生发育规律的学科,主要研究受精卵通过细胞分裂、分化,逐步发育成新个体的全过程。

组织胚胎学的发展是以解剖学为前提、以细胞学为基础的,同时又促进了生理学的发展。随着现代医学科技的不断进步,现代组织胚胎学的研究已深入到分子水平,并与生物化学、免疫学、病理学、生殖医学及优生学等相关学科交叉渗透。目前,生命科学的一些重大研究(如组织工程、器官移植等)都与组织胚胎学密切相关。

二、组织胚胎学的研究内容

组织学的研究内容包括细胞、组织、器官、系统的微细结构及其相关功能。细胞(cell)是构成人体形态结构与生理功能的基本单位,细胞数量众多、形态各异,并具有各自的结构特征、代谢特点及功能活动。组织(tissue)由许多形态和功能近似的细胞与细胞间质



(intercellular substance)共同构成,它是构成人体器官的基本成分。人体有4种基本组织(primary tissue),即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。器官(organ)是由这些组织按一定方式组合构成的,具有一定的形态、结构,并能执行特定的生理功能,如心、肺、肝、肾等。在结构和功能上具有密切联系的器官结合在一起,共同执行某种特定的生理活动,即构成系统(system)。人体有9大系统,即运动系统、神经系统、循环系统、免疫系统、消化系统、呼吸系统、泌尿系统、生殖系统、内分泌系统。这些系统彼此之间既相互联系又相互制约,通过神经和体液调节,实现各种复杂的生命活动,使人体成为一个完整、统一的有机体。

胚胎学主要研究受精卵通过细胞分裂、分化,逐步发育成新个体的全过程。在此基础上,还要进一步研究先天性畸形的形成过程及其原因,为优生优育工作提供依据。人体胚胎学是研究出生前从受精卵开始通过细胞分裂、分化逐步发育成新个体的全过程以及形成畸形的原因。胚胎在母体内的发育是一个连续和复杂的过程,需时约266天(38周)。为了研究和学习,常将人胚发育分成2个时期:①胚期,指第1~8周的胚胎,包括受精、卵裂、胚层形成和器官原基的建立,第8周末胚已具人形;②胎期,指第9周起至娩出,此期胎儿逐渐长大,各器官的结构和机能逐渐完善。

三、组织胚胎学的发展简史

1665年,英国人罗伯特·胡克(Robert Hooke, 1635—1703)利用自己制作的显微镜观察软木塞薄片,将所发现的蜂窝状小室称为“cell”,并首次提出了细胞的概念。虽然他看到的只是植物死细胞的细胞壁,但却开创了利用显微镜研究生物构造的先河。此后,荷兰人安东尼·列文虎克(Antoni van Leeuwenhoek, 1632—1723)真正观察到了活细胞,发现了精子、红细胞和肌细胞等。1801年,法国人比沙(Bichat, 1771—1802)用放大镜观察解剖的组织,首次提出“组织”一词,还将人体组织分为21种,并认为是组织构成了各种器官。德国人梅尔(Meyer)于1829年提出了“histology(组织学)”一词。德国植物学家施莱登(Matthias Schleiden, 1804—1881)和动物学家施旺(Theodor Schwann, 1810—1882)分别于1838年和1839年提出了“细胞学说”,阐明细胞是动物和植物的结构、功能和发生的基本单位,这被誉为19世纪自然科学的三大发现之一。

19世纪中期以后,随着显微镜制造技术的提高、组织切片技术的发明、生物标本的固定及染色方法的出现,推动了组织胚胎学的持续发展。20世纪以后,相差显微镜、偏光显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、紫外光显微镜等特殊光学显微镜及电子显微镜的出现并用于组织胚胎学研究,使人类对生命现象结构基础的认识深入到更细微的境界。

20世纪以来,科学技术迅猛发展,新技术、新设备、新方法不断出现并用于组织胚胎学研究,如组织和细胞培养技术、免疫组织化学技术、放射自显影术、同位素和荧光标记技术等,使组织胚胎学的内容不断充实、研究领域不断扩大,形成了许多相互渗透的新兴交叉学科,也促进了医学科学的进一步发展。

我国组织胚胎学的研究始于20世纪初,它是从解剖学中分出的一门较年轻的学科。新中国成立后,组织胚胎学得到了迅猛发展,从事组织胚胎学研究的人员队伍迅速扩大,马文昭、鲍鉴清、王有琪等老一辈的组织学家在学科建设、科学研究和人才教育等方面做出了巨



大贡献,使我国组织胚胎学的研究进入了更深入、更广阔的领域。



知识链接

马文昭(1886—1965),组织学家、医学教育家,我国组织学、细胞学的奠基人,是中国解剖学会的发起人之一。他一生致力于组织学、细胞学的教学与研究,并做出了重大贡献。他研究过细胞线粒体、高尔基复合体与细胞分泌的密切关系,认为磷脂是这2种细胞器的主要化学成分,磷脂在形成分泌颗粒的过程中,在这2种细胞器内转化,这些论断得到了现代细胞学的确证。他还从事过关于吗啡中毒的研究,并在研究过程中注意到造血器官的结构变化,提出了脾、淋巴结和骨髓结构动态变化的假说。

马文昭以坚韧不拔的精神,刻苦钻研技术,付出的努力获得了工作上的成就。在学习组织学技术时,他勤学苦练、精益求精,能做出厚度只有 $3\mu\text{m}$ 的石蜡切片;在检查标本方面,无论是给学生示范,还是为专家解决疑难问题,都显示出他丰富的经验;在教学方面,他以身作则,以实事求是的精神感染学生。他在医学教育事业上为国家培育了大量人才,在组织学、细胞学的研究上做出了卓越贡献。

四、组织胚胎学的研究方法和实验技术

随着科学技术的进步,组织胚胎学的研究方法也在不断发展,从标本的制作方法到显微镜技术都有了很大进步,这里仅介绍几种常用的研究技术。

(一)显微镜技术

组织的微细结构必须在显微镜下才能观察清楚,故显微镜技术是组织胚胎学研究中常用的技术之一。显微镜有光学显微镜(light microscope, LM, 简称光镜)、电子显微镜(electron microscope, EM, 简称电镜)及特殊光学显微镜。

1. 普通光学显微镜技术

普通光学显微镜技术是组织胚胎学研究中最基本的方法,是指应用普通光学显微镜来观察组织切片微细结构的技术,简称光镜技术。借助普通光镜观察到的组织、细胞微细结构称为光镜结构或显微结构。

普通光学显微镜由光学和机械2部分组成,其中光学部分包括目镜、物镜等,起放大作用。光镜的光源就是普通光线,分辨率约为 $0.2\mu\text{m}$,可将组织结构放大1500倍左右。普通光镜技术应用时需将组织制成薄片,让足够的光线通过,才能看到组织微细结构。

石蜡切片是最常用的组织切片标本,其制备过程如下:取活体新鲜组织,切成小块;将组织小块投入甲醛或乙醇等固定液中进行固定,这样可使组织中的蛋白质迅速凝固,以保持组织在生活状态下的结构;将固定好的材料用乙醇脱水,经二甲苯透明处理后,再用石蜡浸透、包埋,制成有一定硬度的组织块;用切片机将组织块切成 $5\sim 7\mu\text{m}$ 的薄片,贴于载玻片上,经

★ 微视频



显微镜下的世界

脱蜡、水化后进行染色；滴加中性树胶并覆以盖玻片封固(见图 0-1)。

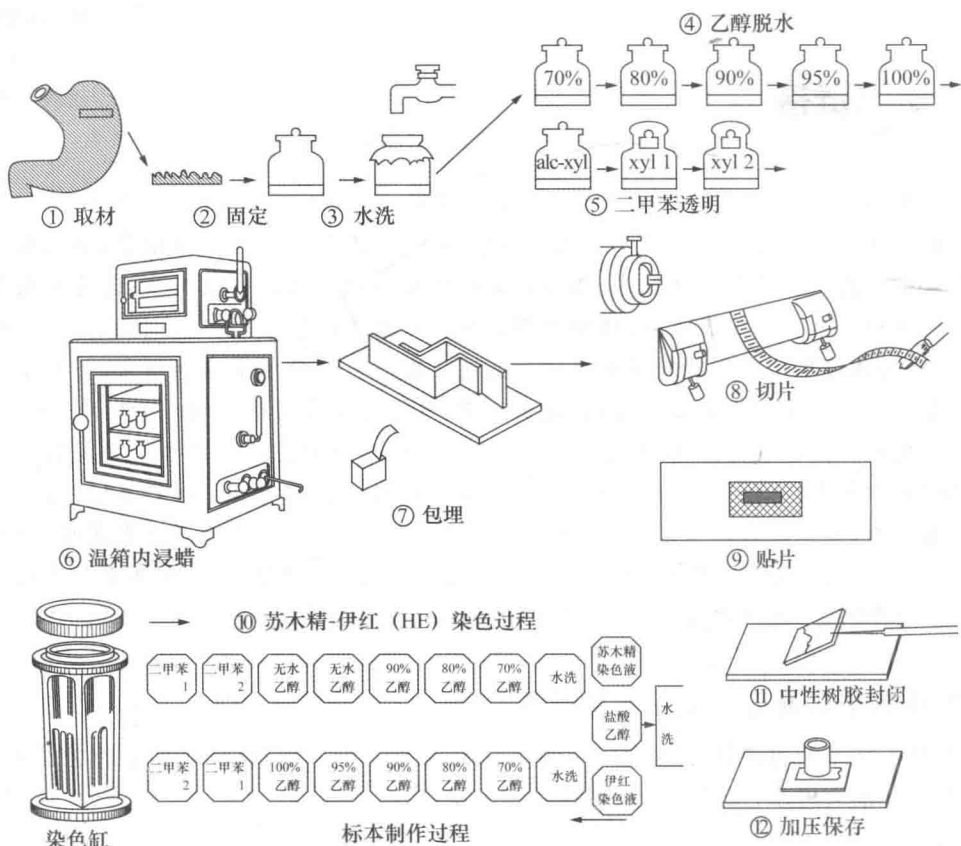


图 0-1 组织切片制作过程

制作较大结构的切片(如眼球、脑等)时,其过程与石蜡切片类似,但在包埋时常用火棉胶。临床上为了快速进行病理学诊断或研究,为了较好地保存组织化学成分和酶的活性,可用恒冷箱将组织快速冷冻,直接切片后再染色,制成冰冻切片。

非切片标本的制备,常见的方法包括:①涂片法,如血细胞和分离培养的细胞等,可直接涂在玻片上,经固定、染色后便可进行观察;②铺片法,用于皮下疏松结缔组织等柔软组织和肠系膜;③磨片法,用于骨、牙等坚硬组织标本的制备。

组织切片的染色方法较多,最常用的是苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining),简称 HE 染色法。苏木精水溶液呈碱性,可将细胞核内的染色质及细胞质内的核糖体等结构染成蓝紫色,这种结构称嗜碱性(basophilia);伊红水溶液呈酸性,可将多数细胞的细胞质染成粉红色,这种结构称嗜酸性(acidophilia);与 2 种染液亲和力都不强的组织结

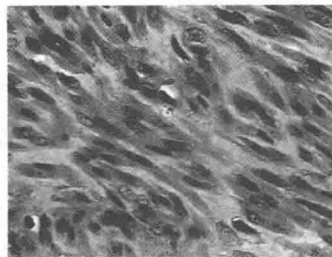


图 0-2 HE 染色

构,则称为中性(neutrophilia)(见图 0-2)。

除 HE 染色外,还有利用化学还原及物理吸附的作用进行染色的方法,可特异性地显示细胞内的某些结构。硝酸银染色时,有的组织结构可使银离子还原成银微粒附着在组织中,呈棕黑色,称亲银性(argentaffin);有的组织结构需经还原剂处理才能使硝酸银还原显色,称嗜银性(argyrophilia)。有些细胞中的颗粒用碱性的甲苯胺蓝(toluidine blue)等蓝色染料染色后呈紫红色,这种现象称异染性(metachromasia)(见图 0-3)。

2. 电子显微镜技术

电子显微镜观察到的组织结构更微细,故又称超微结构。电镜的基本原理与光学显微镜相似,但电镜是以电子发射器代替普通光源,以电子束代替光线,以电磁透镜代替光学透镜,将放大的物像投射到荧光屏上进行观察(见图 0-4),分辨率比光镜高 1 000 倍,达到 0.2 nm,可将组织放大几万到几十万倍。常用的电镜有透射电镜和扫描电镜。

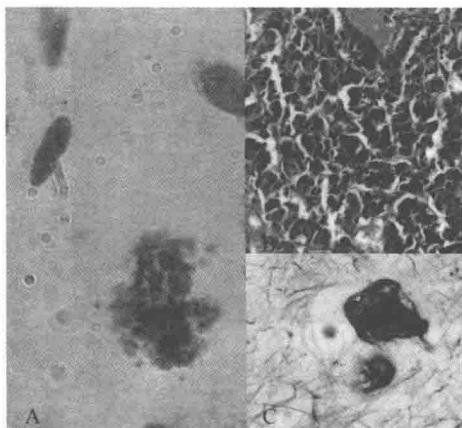


图 0-3 特殊染色

A. 甲苯胺蓝;B. 嗜铬性;C. 嗜银性

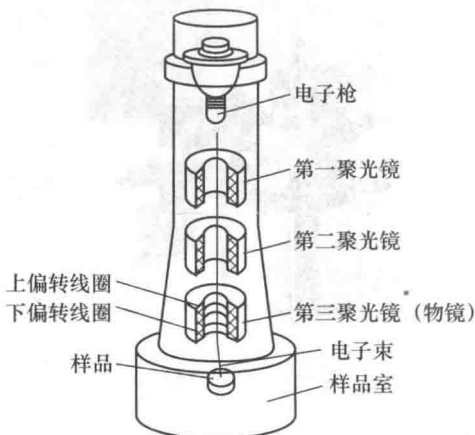


图 0-4 电镜结构示意图

(1)透射电镜。透射电镜(transmission electron microscope, TEM)是以电子束穿透样品后,使带有样品信息的电子束经聚焦放大而成像的电镜,用于观察组织、细胞内部微细结构(见图 0-5)。用于观察的样品的超薄切片通常厚 50~80 nm,制备过程与光镜切片相似,但要用戊二醛和锇酸双重固定,树脂包埋,超薄切片机切片,再用重金属盐(如醋酸铀、柠檬酸铅等)进行电子染色。标本中的组织结构被重金属盐染色后密度较大,电子束投射到此处时,电子被散射得多,而投射到荧光屏上的电子少,则电镜图像较暗,称电子密度高;反之,组织结构未被重金属盐染色,电镜图像较亮,则称电子密度低(见图 0-6)。

(2)扫描电镜。扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)用于观察组织表面立体结构,图像清晰且富有立体感,如可显示细胞的微绒毛、纤毛等(见图 0-7)。使用扫描电镜不需要制作切片,标本经固定、脱水、干燥和喷镀金属膜后即可进行观察(见图 0-8)。

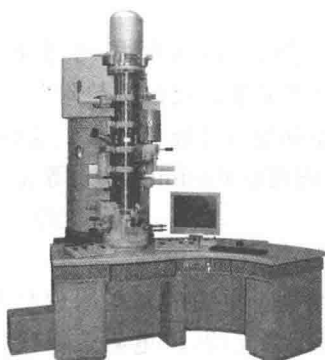


图 0-5 透射电镜

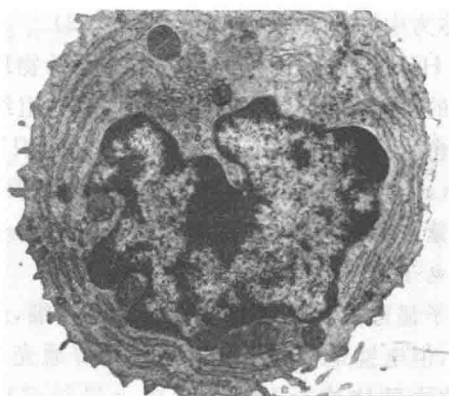


图 0-6 淋巴细胞(TEM)

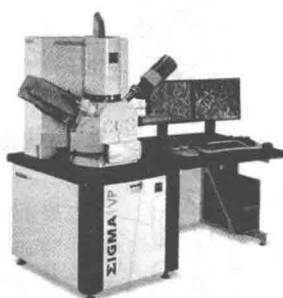


图 0-7 扫描电镜

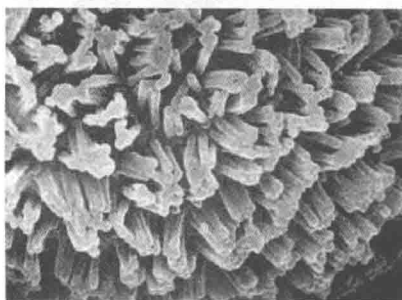


图 0-8 小肠微绒毛(SEM)



知识链接

人类认识微观世界的历史是从放大镜开始的。光学显微镜的发明,促进了细胞的发现及细胞理论的建立,这是人类认识微观世界的一大突破。然而,无论光学显微镜的质量如何改善,由于可见光波长的限制,其放大倍数只能达到 1 000~1 500 倍,分辨率无法突破 0.2 微米(μm)的极限。在这种解像力下,大部分细胞器的详细结构是无法被看清楚。因此,有必要发明一种更具解像力的显微镜,以满足人们观察微观世界的需要。

1932 年,德国人厄恩斯特·卢斯卡(Ernst Ruska)和马克斯·克诺尔(Max Knoll)对阴极射线示波器做了一些改进,并成功得到了铜网的放大像。尽管得到的电子像放大倍数仅为 12 倍,但它真实、有力地证明使用电子束和电子透镜(磁场透镜)可以制成与光学像相同的电子像。从此,电子显微镜法便被正式确立了。



(3)冷冻蚀刻复型术。冷冻蚀刻复型术(freeze etch replica)能显示组织、细胞微细结构的立体构象,是研究细胞膜的结构与功能之间关系的重要手段(见图 0-9)。将组织块处理后快速冷冻再劈开,形成凹凸不平的断裂面,在断裂面上喷镀金属膜后将组织腐蚀掉,即可将金属复型膜置于电镜下进行观察。

3. 特殊光学显微镜技术

(1)荧光显微镜。荧光显微镜(fluorescence microscope)主要用于观察组织、细胞内荧光物质的分布。它以短波的蓝紫光或紫外线为光源,激发标本中的荧光物质而呈现出不同颜色的荧光。借助荧光显微镜,可以观察组织、细胞内的自发荧光物质,如维生素 A、脂褐素等;也可以观察用荧光素或荧光染色法标记的细胞内结构,如 DNA 等。通过观察荧光的分布与强度来检测组织、细胞内结构成分的变化,探讨细胞的功能状态。

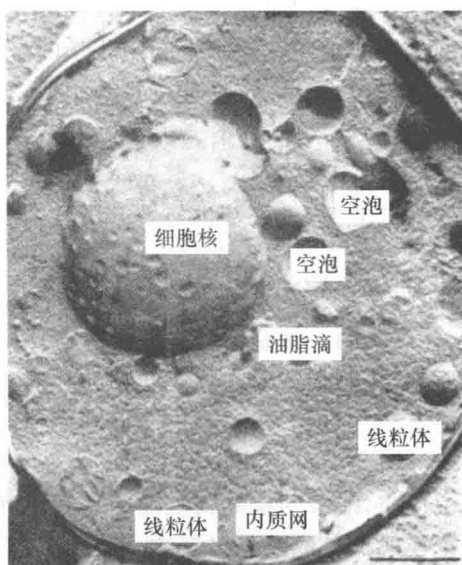


图 0-9 冰冻蚀刻复型术(细胞)

(2)暗视野显微镜。暗视野显微镜(dark-field microscope)主要用于观察反差小或分辨力不足的微小颗粒。该种显微镜内有暗视野集光器,使光线不能直接进入物镜,呈暗视野;而标本内的小颗粒产生的衍射光或散射光进入物镜,呈明亮小点。暗视野显微镜的分辨率可达 $0.004\ \mu\text{m}$,可用于观察细胞内线粒体的运动、细菌的活动等。

(3)相差显微镜。相差显微镜(phase contrast microscope)用于观察活细胞和未经染色细胞的形态结构。活细胞无色透明,细胞内各种结构间的反差很小,在一般光镜下难以观察到细胞的结构。相差显微镜是将活细胞不同厚度及细胞内部各种结构对光产生的不同折射作用,转换成光密度差异(明暗差),使镜下结构反差明显,标本中的结构清晰可辨。倒置相差显微镜(inverted phase contrast microscope)是将光源安装在载物台的上方,物镜安装在载物台的下方,便于对体外培养中贴附于培养器皿上的细胞进行观察。

(4)共焦激光扫描显微镜。共焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)是一种高光频度、高分辨率的新型仪器。其以激光为光源,光束通过聚焦后可对样品的不同深度进行断层扫描,通过电信号彩色显像,利用微机图像合成系统可重建细胞的三维图像并进行分析处理;还可测定细胞内 pH、 Ca^{2+} 浓度、骨架蛋白等动态变化。CLSM 可以更精确地检测、识别组织或细胞内的微细结构及其变化,进行细胞生物学功能的研究,如细胞分选、细胞间通讯、膜流动性测定等。

(二)组织化学术

组织化学术(histochemistry)是应用物理、化学、免疫学或分子生物学的原理和技术,在组织切片上定位、定量地显示某种化学物质的存在与分布,探讨与其相关的功能活动的一种实验技术。应用这种技术于游离细胞的样品(如细胞涂片),称细胞化学术(cytochemistry)。

1. 一般组织化学术

一般组织化学术是利用化学的呈色或沉淀原理显示组织或细胞内的某种化学成分,并进行定位、定性、定量分析及其相关功能的研究,多用于糖类、酶、脂类及核酸的观察。

(1)糖类。糖类常用的一般组织化学术是过碘酸-希夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)。其基本原理是通过过碘酸(HIO_4)的氧化作用,使糖分子中的二醇基变为二醛基,二醛基再与 Schiff 试剂中的无色亚硫酸品红结合,产生紫红色沉淀,其颜色的深浅取决于组织内多糖中二醇基的多寡。PAS 反应阳性部位即表示有多糖和蛋白多糖的存在。

(2)酶。细胞内含有多种酶,每一种酶可催化某一特定的化学反应。酶组化反应的基本原理是:利用酶对其相应底物的水解、氧化等作用,使产生的反应产物与某种捕捉剂反应,形成沉淀或有色终产物,借此可利用显微镜观察酶在组织、细胞内的分布及活性强弱。例如,酸性磷酸酶可催化作用于酶底物 β -甘油磷酸钠,水解并释放磷酸银,用捕捉剂硝酸铅与磷酸根反应,形成的磷酸铅沉淀为重金属沉淀,可在电镜下检出;如果再用硫化铵处理,磷酸铅被置换成黑色的硫化铅沉淀,可在光镜下观察到。

(3)脂类。脂类包括脂肪与类脂。标本可用甲醛固定,冰冻切片。常用油红 O、苏丹染料、尼罗蓝等脂溶性染料使脂类显色,也可用钼酸固定兼染色,使脂类呈黑色。

(4)核酸。显示 DNA 的传统方法为孚尔根反应(Feulgen reaction),其原理是:切片先用稀盐酸处理,使细胞内的 DNA 水解,打开脱氧核糖核酸和嘌呤碱基之间的连接键,使醛基暴露,再经 Schiff 试剂处理,形成紫红色的反应产物。还可用于甲基绿-派若宁反应,可同时显示细胞内的 DNA 和 RNA,甲基绿与细胞核内的 DNA 结合呈蓝绿色,派若宁与核仁及胞质内的 RNA 结合呈红色。

2. 荧光组织化学术

荧光组织化学术的基本原理是用荧光色素将标本染色后,用荧光显微镜进行观察。例如,经荧光素吖啶橙染色后,细胞中的 DNA 呈黄绿色荧光,核仁及胞质内的 RNA 呈橘红色荧光,对比明显,易于观察。

3. 免疫组织化学术

免疫组织化学术是将免疫学原理与组织化学相结合的新技术,根据抗原与抗体特异性结合的特点,检测组织、细胞内某种多肽、蛋白质等大分子物质的存在及其分布。该方法特异性强、敏感度高,主要用于基础理论研究和某些疾病的早期诊断。

(三)组织培养术

组织培养术(tissue culture)是在无菌条件下,将离体的器官、组织或细胞置于模拟机体生理条件的体外进行培养的技术,主要用于研究组织、细胞的生物学行为,以及各种理化因子和生物因素对组织、细胞的影响。目前,该技术已广泛应用于遗传学、免疫学和肿瘤学等多种学科的实验研究。

组织工程(tissue engineering)是将组织学和材料学相结合的新兴学科,是利用组织、细胞培养术在体外模拟构建机体组织或器官。组织工程技术已开展了许多人造组织和器官的研究,用于组织修复和器官移植。



(四)细胞化学定量术

1. 显微分光光度定量术

显微分光光度定量术是应用显微分光光度计(microspectrophotometer)对组织和细胞内的化学成分进行定量分析的技术,即通过测定细胞内化学物质的光吸收度,进行微量分析。其原理是细胞内某种物质的含量不同,其染色反应的深浅不一,对一定波长光波的吸收也不同,即某种物质的吸光度与一定厚度和面积内该物质的含量成正比。将吸光度转换为电信号,即可测定其光密度值(OD值)进行定量分析比较。该技术对荧光素染色、酶和核酸组织化学染色、多肽和蛋白质免疫组织化学染色、放射自显影等标本均适用。

2. 形态计量术

形态计量术(morphometry)是运用数学和统计学原理,根据观察到的组织和细胞的二维平面图像资料,推导到三维立体定量的方法。目前,可应用图像分析仪(image analyzer)进行组织、细胞三维结构的定量分析研究,即将切片或照片图像通过摄像机显示于监视器屏幕上,并根据不同结构的颜色深浅及各像点的大小位置,快速、准确地得出所需的各种形态数据。组织化学和免疫组织化学染色、荧光素染色、放射自显影及原位杂交等标本,均可用应用图像分析仪来测定其光密度值,从而进行定量分析。

3. 流式细胞术

流式细胞术(flow cytometry, FCM)是应用流式细胞仪进行细胞定量分析研究和细胞分类研究的新技术。流式细胞仪综合了流体喷射技术、激光光学技术、电子技术和计算机技术等多项技术。其工作原理是将被检细胞分离出来制成悬液,用荧光素染色后,使其通过流式细胞仪,被检细胞产生的不同荧光信号转变为电脉冲,输入计算机内贮存,并显示在示波器上,可获得该细胞群体中不同类型细胞的有关数据。该仪器的特点是能精确地计数荧光强度不同的细胞,以达到收集不同类别细胞的目的,分类速度快,精确性高,灵敏度高。目前,流式细胞术用于研究细胞周期各时相细胞的比例和细胞内DNA、RNA、蛋白质含量的分析,也用于肿瘤临床诊断。

(五)其他技术

1. 原位杂交术

原位杂交术(in situ hybridization)是一种敏感性高、特异性强,能在组织细胞原位进行的核酸分子杂交技术。其原理是用标记的核酸探针(DNA或RNA片段)与细胞或组织中的待测核酸按碱基互补配对原理进行杂交。通过镜下观察标记物,可对待测核酸的存在和表达活性进行判断。常用的标记物有放射性同位素(如 ^3H 、 ^{14}C 等)和非放射性物质(如地高辛等)。该技术是目前分子生物学研究的重要手段之一。

2. 放射自显影术

放射自显影术(autoradiography)可追踪某些物质在体内、组织或细胞中的分布与代谢途径。用放射性同位素标记活细胞,间隔时间取样,制成标本,将薄层感光乳胶涂在标本表面,在暗盒中保存,放射性同位素产生的射线使乳胶中的溴化银还原成黑色银微粒,经显影、定影后在显微镜下观察,即可获知被检物质在机体、组织与细胞内的分布、数量及代谢途径。