



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

全国高等学校医学规划教材

(供临床·基础·预防·护理·检验·口腔·药学等专业用)

组织学与胚胎学

第3版

主编 高英茂

高等教育出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等学校医学规划教材
(供临床·基础·预防·护理·检验·口腔·药学等专业用)

组织学与胚胎学

Zuzhixue yu Peitaixue

第3版

主 编 高英茂

副主编 郝 晶 管英俊 宋天保

编 者(以姓氏笔画为序)

于 丽	潍坊医学院	王富武	山东大学
王燕蓉	宁夏医科大学	刘尚明	山东大学
刘晓萍	青岛大学	孙 莉	桂林医学院
苏 敏	贵州医科大学	苏衍萍	泰山医学院
李 臻	第四军医大学	吴晓林	西安交通大学
汪 琳	武汉大学	宋天保	西安交通大学
陈红平	南昌大学	赵长瑶	长江大学
郝 晶	山东大学	高 青	山东大学
高英茂	山东大学	唐春光	锦州医科大学
管英俊	潍坊医学院		

高等教育出版社·北京

内容提要

本教材第1版于2004年出版,2006年被评为普通高等教育“十一五”国家级规划教材。经过10余年的教学实践和两次深度修订,教材内容、文字、图片、编排、印刷等均日臻完美,广受读者好评。第3版全书共27章,彩色插图300余幅,全面系统讲述了组织学与胚胎学的基本内容,并融入了该学科的新进展。各章前有英文书写的该章要点(KEY POINTS),章后有英文书写的内容摘要(SUMMARY);图题和图注均用中英双语标出,专业名词均有英文注释。从而为提高学生的专业外语水平搭建了很好的学习平台。教材内容的广度和深度与5年制本科教学基本要求的要求高度契合,既保证了教学质量,又避免了加重学生负担和拔苗助长的弊端。

图书在版编目(C I P)数据

组织学与胚胎学 / 高英茂主编. -- 3版. -- 北京 : 高等教育出版社, 2016.7
供临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业用
ISBN 978-7-04-045577-9

I. ①组… II. ①高… III. ①人体组织学-高等院校-教材②人体胚胎学-高等院校-教材 IV. ①R32

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第125239号

策划编辑 席 雁 责任编辑 席 雁 封面设计 张 楠 版式设计 马 云
责任印制 耿 轩

出版发行	高等教育出版社	网 址	http://www.hep.edu.cn
社 址	北京市西城区德外大街4号		http://www.hep.com.cn
邮政编码	100120	网上订购	http://www.hepmall.com.cn
印 刷	北京市大天乐投资管理有限公司		http://www.hepmall.com
开 本	889 mm×1194 mm 1/16		http://www.hepmall.cn
印 张	17.5	版 次	2014年1月第1版
字 数	590千字		2016年7月第3版
购书热线	010-58581118	印 次	2016年7月第1次印刷
咨询电话	400-810-0598	定 价	57.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 45577-00

数字课程（基础版）

组织学与胚胎学

第3版

主编 高英茂

登录方法：

1. 访问<http://abook.hep.com.cn/45577>，进行注册。已注册的用户输入用户名和密码登录，进入“我的课程”。
2. 点击页面右上方“绑定课程”，正确输入教材封底数字课程账号（20位密码，刮开涂层可见），进行课程绑定。
3. 在“我的课程”中选择本课程并点击“进入课程”即可进行学习。课程在首次使用时，会出现在“申请学习”列表中。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题，请发邮件至：medicine@pub.hep.cn。



普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等学校医学规划教材

组织学与胚胎学 第3版

主编 高英茂

用户名 密码 验证码 0936

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

组织学与胚胎学第3版数字课程与纸质教材配套使用，是纸质教材的拓展和补充。数字课程内容与纸质教材对应，有习题、专业名词索引等，以方便广大教师教学和学生学习。

高等教育出版社

<http://abook.hep.com.cn/45577>

前 言

本教材自 2004 年出版以来,经过 10 多年的广泛应用和不断修改,特别是 2010 年深度修订后的再版,使教材内容的广度和深度与 5 年制本科教学大纲的规定高度契合,既保证了教学水平的提高,又避免了学生负担过重和拔苗助长的弊端;彩色插图的视觉效果、图文的有机衔接、图随文走、结构图文并茂等获得了读者的好评;各章的英文要点、英文小结、中英名词对照及索引、中英双语图注等,为提高学生的专业外语水平搭建了一个极好的平台,深得学生的赞赏。读者的满意和赞赏是教材作者的最大满足,也是推动作者精益求精再次修订的最大动力。

本次修订保持了上一版的基本框架和特色,全书仍分 27 章,版面字数仍保持 60 万左右,各章的内容未再深化和延伸,图的总量未再增加。跟随科学的发展和教改的深化,有些陈旧过时的内容进行了必要的吐故纳新;文字描述精益求精,更加准确、精炼;部分图片进行了适当更新,图题和图注更加准确,视觉效果进一步提高。本次修订由 13 所高等医学院校的 19 位多年从事 5 年制本科教学、学术造诣高、教学经验丰富的教授完成。尽管各位编委付出了辛勤劳动和智慧,但仍会存在不尽人意甚至错误之处,敬请读者批评指正。

高英茂

2016 年 4 月

目 录

第1章 组织学绪论	1	第4章 软骨和骨	28
一、组织学的研究内容和意义	1	一、软骨	28
二、组织学的研究方法和技术	1	（一）透明软骨	28
（一）普通光学显微镜组织标本的制备方法	1	（二）弹性软骨	29
（二）光学显微镜术	2	（三）纤维软骨	29
（三）电子显微镜术	2	（四）软骨的生长	29
（四）组织化学技术	3	二、骨	30
（五）组织培养术与组织工程	5	（一）骨组织	30
（六）组织和细胞的定量术	5	（二）长骨的结构	31
三、组织学的学习方法	6	三、骨的发生	33
第2章 上皮组织	8	（一）膜内成骨	33
一、被覆上皮	8	（二）软骨内成骨	33
（一）被覆上皮的类型和结构	8	（三）影响骨生长发育的因素	35
（二）上皮组织的特殊结构	10	第5章 血液和淋巴	37
二、腺上皮与腺	13	一、血液	37
（一）腺体的分类	13	（一）红细胞	38
（二）多细胞外分泌腺的结构和分类	14	（二）白细胞	39
（三）腺细胞的分类	14	（三）血小板	41
第3章 固有结缔组织	17	二、骨髓的结构和血细胞的发生	41
一、疏松结缔组织	17	（一）骨髓的结构	41
（一）细胞	18	（二）造血干细胞和造血祖细胞	42
（二）纤维	22	（三）血细胞在发生过程中的形态演变	43
（三）基质	23	三、淋巴	46
二、致密结缔组织	24	第6章 肌组织	47
（一）不规则致密结缔组织	24	一、骨骼肌	47
（二）规则致密结缔组织	24	（一）骨骼肌纤维的光镜结构	47
（三）弹性组织	25	（二）骨骼肌纤维的超微结构	48
三、脂肪组织	25	（三）骨骼肌纤维的收缩机制	50
（一）黄色脂肪组织	25	二、心肌	50
（二）棕色脂肪组织	25	（一）心肌纤维的光镜结构	50
四、网状组织	26	（二）心肌纤维的超微结构	51

三、平滑肌	52	(一) 大动脉	79
(一) 平滑肌纤维的光镜结构	52	(二) 中动脉	79
(二) 平滑肌纤维的超微结构	52	(三) 小动脉	79
(三) 平滑肌的收缩机制	53	(四) 微动脉	80
(四) 血管平滑肌的异质性	53	三、毛细血管	80
第7章 神经组织	55	(一) 毛细血管的基本结构	80
一、神经元	55	(二) 毛细血管的分类	80
(一) 神经元的结构	55	(三) 毛细血管与物质交换	81
(二) 神经元的分类	57	四、静脉	81
二、突触	58	五、微循环	82
三、神经胶质细胞	59	六、心	82
(一) 中枢神经系统的神经胶质细胞	59	(一) 心壁的结构	82
(二) 周围神经系统的神经胶质细胞	60	(二) 心传导系统	83
四、神经纤维和神经	60	七、淋巴管系统	83
(一) 神经纤维	60	第10章 免疫系统	85
(二) 神经	63	一、胸腺	86
五、神经末梢	63	(一) 胸腺的组织结构	86
(一) 感觉神经末梢	63	(二) 胸腺的功能	88
(二) 运动神经末梢	64	二、淋巴结	88
第8章 神经系统	69	(一) 淋巴结的结构	88
一、脊髓	69	(二) 淋巴结的功能	91
(一) 脊髓灰质	69	三、脾	91
(二) 脊髓白质	70	(一) 脾的结构	91
二、大脑皮质	70	(二) 脾的血液通路	94
(一) 大脑皮质的神经元类型	70	(三) 脾的功能	94
(二) 大脑皮质的分层	70	四、扁桃体	94
(三) 大脑皮质的神经元联系	72	五、单核吞噬细胞系统	96
三、小脑皮质	72	第11章 皮肤和皮肤附属器官	98
(一) 小脑皮质的神经元和分层	72	一、表皮	98
(二) 小脑皮质神经元的联系	74	(一) 表皮的分层	98
四、神经节	74	(二) 非角质形成细胞	100
(一) 脑脊神经节	74	二、真皮	100
(二) 自主神经节	74	(一) 乳头层	101
五、脑脊膜和血 - 脑屏障	75	(二) 网织层	101
(一) 脑脊膜	75	三、皮下组织	101
(二) 血 - 脑屏障	75	四、皮肤的附属器	101
六、脉丛和脑脊液	76	(一) 毛	101
第9章 循环系统	78	(二) 皮脂腺	102
一、血管壁的一般组织结构	78	(三) 汗腺	102
(一) 内膜	78	(四) 指(趾)甲	103
(二) 中膜	78	五、皮肤的再生	103
(三) 外膜	79	第12章 内分泌系统	106
二、动脉	79	一、甲状腺	106

(一) 甲状腺滤泡	106	(二) 下颌下腺	129
(二) 滤泡旁细胞	108	(三) 舌下腺	129
二、甲状旁腺	108	(四) 唾液	129
(一) 主细胞	108	二、胰腺	129
(二) 嗜酸性细胞	108	(一) 外分泌部	129
三、肾上腺	108	(二) 内分泌部——胰岛	130
(一) 皮质	108	三、肝	131
(二) 髓质	109	(一) 肝小叶	131
四、垂体	109	(二) 肝门管区	134
(一) 腺垂体	109	(三) 肝的血液循环	134
(二) 神经垂体	111	(四) 肝内胆汁排出途径	135
五、松果体	112	(五) 肝的淋巴管和神经分布	135
六、弥散神经内分泌系统	112	(六) 门管小叶和肝腺泡	135
第 13 章 消化管	114	四、胆囊和胆管	135
一、消化管壁的一般结构	114	(一) 胆囊	135
(一) 黏膜	114	(二) 胆管	136
(二) 黏膜下层	114	第 15 章 呼吸系统	138
(三) 肌层	114	一、鼻腔	138
(四) 外膜	114	(一) 前庭部	138
二、口腔	115	(二) 呼吸部	138
(一) 口腔黏膜的一般微细结构	115	(三) 嗅部	138
(二) 舌	115	二、喉	139
(三) 牙	116	三、气管和支气管	139
三、咽	117	(一) 黏膜	139
四、食管	117	(二) 黏膜下层	140
五、胃	118	(三) 外膜	140
(一) 黏膜	118	四、肺	141
(二) 黏膜下层	121	(一) 肺导气部	141
(三) 肌层	121	(二) 肺呼吸部	142
(四) 外膜	121	(三) 肺间质和肺巨噬细胞	143
六、小肠	121	(四) 肺的血液循环	144
(一) 黏膜	121	第 16 章 眼和耳	146
(二) 黏膜下层	124	一、眼	146
(三) 肌层	124	(一) 眼球壁	146
(四) 外膜	124	(二) 眼球内容物	151
七、大肠	124	二、耳	152
(一) 盲肠和结肠	124	(一) 外耳	152
(二) 阑尾	125	(二) 中耳	152
(三) 直肠和肛管	125	(三) 内耳	153
八、消化管的内分泌细胞	126	第 17 章 泌尿系统	157
第 14 章 消化腺	128	一、肾	157
一、大唾液腺	128	(一) 肾单位的结构和功能	157
(一) 腮腺	129	(二) 集合管	163

(三) 球旁复合体.....	163	(一) 配子发生.....	187
(四) 肾间质.....	164	(二) 受精.....	188
(五) 肾的血管、神经和淋巴管.....	164	二、胚前期的发育.....	190
二、排尿器官.....	165	(一) 卵裂和胚泡形成.....	190
(一) 黏膜.....	165	(二) 植入.....	191
(二) 肌层.....	166	(三) 蜕膜和初级绒毛的形成.....	193
(三) 外膜.....	166	(四) 二胚层胚盘及相关结构的发生.....	194
第 18 章 男性生殖系统.....	167	三、胚期的发育.....	194
一、睾丸.....	167	(一) 三胚层的发生.....	194
(一) 睾丸的一般结构.....	167	(二) 脊索和尿囊的发生.....	195
(二) 生精小管.....	167	(三) 绒毛膜的形成和演变.....	196
(三) 睾丸间质.....	170	(四) 三胚层的分化.....	196
(四) 直精小管和睾丸网.....	170	(五) 胚期胚胎外形的变化.....	200
二、生殖管道.....	170	四、胎期的发育和胚胎龄的计算.....	201
(一) 附睾.....	170	(一) 胎期的发育.....	201
(二) 输精管.....	171	(二) 胚胎龄的推算.....	201
三、附属腺.....	171	五、胎膜和胎盘.....	203
(一) 前列腺.....	171	(一) 绒毛膜.....	203
(二) 精囊.....	172	(二) 卵黄囊.....	203
第 19 章 女性生殖系统.....	174	(三) 尿囊.....	203
一、卵巢.....	174	(四) 羊膜囊.....	204
(一) 卵巢的一般结构.....	174	(五) 脐带.....	204
(二) 卵泡的发育和成熟.....	175	(六) 胎盘.....	204
(三) 排卵.....	176	六、双胎、多胎和连体双胎.....	206
(四) 黄体的形成和演变.....	177	(一) 双胎.....	206
(五) 闭锁卵泡和间质腺.....	177	(二) 多胎.....	206
二、输卵管.....	178	(三) 连体双胎.....	207
三、子宫.....	178	第 22 章 颜面、颈和四肢的发生.....	210
(一) 子宫壁的一般微细结构.....	178	一、鳃器的发生.....	210
(二) 子宫内膜的周期性变化.....	179	二、颜面的形成.....	210
(三) 子宫内膜周期性变化的内分泌调节.....	180	三、腭的发生.....	211
(四) 子宫颈.....	180	四、牙的发生.....	213
四、阴道.....	181	(一) 釉质的形成.....	213
五、乳腺.....	181	(二) 牙本质的形成.....	213
(一) 乳腺的一般结构.....	181	(三) 牙骨质的形成.....	213
(二) 静止期乳腺.....	181	五、颈的形成.....	213
(三) 活动期乳腺.....	181	六、四肢的发生.....	214
第 20 章 人体胚胎学绪论.....	184	七、颜面、颈和四肢的常见畸形.....	214
一、人的个体发生和系统发生.....	184	(一) 唇裂.....	214
二、人体胚胎学的发展.....	184	(二) 面斜裂.....	214
三、学习人体胚胎学的意义和方法.....	185	(三) 腭裂.....	214
第 21 章 胚胎学总论——人体胚胎发生.....	187	(四) 颈囊肿和颈痿.....	215
一、配子发生和受精.....	187	(五) 四肢畸形.....	215

第 23 章 消化系统和呼吸系统的发生	217
一、消化系统的发生	218
(一) 前肠的衍化	218
(二) 中肠的演变	220
(三) 后肠的演变	221
(四) 消化系统的常见畸形	221
二、呼吸系统的发生	222
(一) 喉、气管和肺的发生	222
(二) 呼吸系统的常见畸形	224
第 24 章 泌尿系统和生殖系统的发生	226
一、泌尿系统的发生	226
(一) 肾和输尿管的发生	226
(二) 膀胱和尿道的发生	228
(三) 泌尿系统的先天性畸形	228
二、生殖系统的发生	230
(一) 生殖腺的发生和分化	231
(二) 生殖管道的发生和性别分化	233
(三) 外生殖器的发生和分化	233
(四) 生殖系统的先天性畸形	234
第 25 章 心血管系统的发生	239
一、原始心血管系统的建立	239
二、心脏的发生	240
(一) 原始心脏的形成	240
(二) 心脏外形的建立	241
(三) 心脏内部的分隔	242
三、胎儿血液循环和出生后的变化	243
(一) 胎儿血液循环途径	243
(二) 胎儿出生后血液循环的变化	244
四、心血管系统的常见畸形	245
(一) 房间隔缺损	245
(二) 室间隔缺损	245
(三) 动脉干分隔异常	245
第 26 章 神经系统的发生	249
一、神经管和神经嵴的发生和早期分化	249
二、脊髓的发生	251
三、脑的发生	252
(一) 脑泡的形成和演变	252
(二) 大脑皮质的组织发生	252
(三) 小脑皮质的组织发生	253
四、神经节和周围神经的发生	253
(一) 神经节的发生	253
(二) 周围神经的发生	254
五、垂体和松果体的发生	254
(一) 垂体的发生	254
(二) 松果体的发生	256
六、神经系统的常见畸形	256
(一) 神经管缺陷	256
(二) 脑积水	258
第 27 章 眼和耳的发生	259
一、眼的发生	259
(一) 眼球的发生	259
(二) 眼睑的发生	261
(三) 眼的常见先天畸形	261
二、耳的发生	261
(一) 内耳的发生	261
(二) 中耳的发生	262
(三) 外耳的发生	262
(四) 耳的常见先天畸形	262
专业名词中英对照及索引	265
专业名词英中对照及索引	266

组织学绪论

KEY POINTS

- Tissues and organs
- Paraffin sectioning and HE staining
- Light microscopy and electron microscopy
- Histochemistry and immunohistochemistry
- *In situ* hybridization
- Cell culture and tissue engineering

一、组织学的研究内容和意义

组织学(histology)是研究机体微细结构及其相关功能的科学。微细结构是指在显微镜(microscope)下才能清晰观察的结构。显微镜有光学显微镜(简称光镜)和电子显微镜(简称电镜),所以,微细结构也分光镜结构和电镜结构。光镜结构用长度单位微米(micrometer, μm)来度量;电镜结构又称超微结构(ultrastructure),常用纳米(nanometer, nm)来度量。 $1\text{ nm}=10^{-3}\text{ }\mu\text{m}=10^{-9}\text{ m}$ 。

组织学主要研究机体的各种组织(tissue)及其所构成的器官(organ)。组织由细胞和细胞外基质(extracellular matrix)构成。细胞是机体的结构和功能单位,数量众多,结构、代谢和功能各异。细胞外基质形成细胞生存的微环境。细胞和细胞外基质的结构和功能取决于其中的生物大分子,尤其是核酸、酶、蛋白质和蛋白聚糖等。形态和功能相同或相似的细胞群以及多少不等的细胞外基质构成组织。按其结构和功能,人体的组织可分为上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织四种基本类型。这些组织按一定的方式有机地组合构成器官,各种

器官都具有一定的大小和形态结构,并执行特定的功能。器官如果中央有大的空腔,称空腔性器官,如心、胃、膀胱等;如无大的空腔,称实质性器官,如肝、脾、肾等。一些结构上连续或功能上相关的器官组成系统(system),完成连续的生理活动,如循环系统、消化系统、内分泌系统、生殖系统等。

组织学是生物医学的一个主要分支,随着科学技术的发展,组织学的内容也不断充实、更新和发展。现代组织学的研究已经深入分子水平,与细胞生物学、生物化学与分子生物学、生理学、病理学、免疫学等相关学科交叉渗透,相互促进。目前,生物医学的一些重大研究课题,如细胞识别与细胞通讯,细胞增殖、分化、衰老、凋亡的调控,细胞突变、癌变及其逆转,组织与器官的再生,组织工程与器官重建等,都与组织学有密切的关系。组织学是一门重要的医学基础课,学好组织学,理解人体微细结构的基本知识,才能在解剖学的基础上,从宏观到微观,全面掌握人体的形态结构。也只有认识了人体的正常结构,才能更好地理解人体的正常生理过程和病理过程,学好生理学和病理学等其他医学基础课程和临床课程。

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有关,因之,熟悉组织学的研究工具、方法和技术是理解和掌握这门课程的前提。下面简单介绍常用的组织学研究方法和技术。

(一) 普通光学显微镜组织标本的制备方法

大多数组织和器官太厚,不能直接在光学显微镜(简称光镜)下观察。所以,制备能使光线透过

的组织切片是组织学研究的基本方法,主要包括固定、包埋、切片、染色等步骤。

首先,取动物或人体的新鲜组织块,用甲醛、乙醇等固定剂(fixative)固定,使组织内的蛋白质迅速凝固或沉淀,以尽量保持组织的原有结构。然后,分别用乙醇和二甲苯将固定后的组织块脱水、透明,并用石蜡包埋,制成有一定硬度的组织蜡块,再用切片机(microtome)将其切成5~10 μm厚的组织切片,称石蜡切片(paraffin section)。也可使组织块快速冷冻变硬,用冷冻切片机制成冷冻切片(frozen section),以保存蛋白质(包括酶)的活性。此外,常将血液、体液、培养细胞等直接涂于玻片上制成涂片;将疏松结缔组织或肠系膜等撕成薄片,铺在载玻片上制成铺片;将骨和牙等硬组织磨成薄片,称磨片。

染色的目的是使不同的微细结构染成不同的颜色,便于观察。组织学中最常用的染色方法是苏木精(hematoxylin)和伊红(eosin)染色法,简称HE染色法。苏木精为碱性染料,使细胞核和细胞质中的核糖体等酸性物质染成蓝紫色;伊红为酸性染料,使细胞质和细胞外基质中的碱性蛋白成分染成淡红色。组织结构与碱性染料亲和力强、易被染色的特性称嗜碱性(basophilia);与酸性染料亲和力强、易被染色的特性称嗜酸性(acidophilia);若与两种染料的亲和力都不强,则称中性(neutrophilia)。另外,某些结构成分(如肥大细胞的胞质颗粒),当用甲苯胺蓝等蓝色染料染色时呈紫红色,称为异染性(metachromasia)。当用硝酸银染色时,有些组织结构可直接使银离子还原为银颗粒而呈黑色,称为亲银性(argentaaffin);而有些组织结构需加入还原剂才能显色,称为嗜银性(argyrophilia)。

(二) 光学显微镜术

1. 普通光学显微镜术 应用普通光学显微镜观察组织切片是组织学研究的主要技术。光镜的放大率可达1 500倍左右。光镜的分辨率是指在光镜下所能分辨的两点间的最短距离,约为0.2 μm。分辨率决定图像的清晰度和细微度,它与物镜的数值孔径(A)呈反比。普通物镜光线通过的介质是空气,A小于1;如使用油镜(A可达1.4),在镜头与标本之间加香柏油,可提高放大率和分辨率。

2. 特殊光学显微镜

(1) 荧光显微镜(fluorescence microscope) 用于观察组织、细胞中有自发荧光、诱发荧光或经荧

光染料染色或标记的结构。荧光显微镜技术常以紫外线为光源,激发标本中的荧光物质产生各种不同颜色的荧光,通过观察荧光的分布与强弱来测定被检物质。如神经细胞内的脂褐素呈黄色自发荧光,儿茶酚胺在甲醛诱发下呈黄绿色荧光,荧光染料吖啶橙可使DNA呈黄绿色荧光,RNA呈橙红色荧光。

(2) 相差显微镜(phase contrast microscope) 主要用于观察体外培养中活细胞的形态结构。未染色的活细胞常是无色透明的,其各个部分的光密度几乎相同,故一般光镜难以分辨其微细结构。相差显微镜根据光通过细胞内具有不同折射率的结构时其速度和方向会发生改变的原理,应用特殊的镜头将这种变化转换为光密度差异,使活细胞的不同结构反差明显,并具有立体感。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)。

(3) 激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscope, LSCM) 是一种高光敏度与高分辨率的仪器,主要由激光光源、共聚焦成像扫描系统、电子光学系统和计算机图像分析系统四部分组成。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光学断层扫描成像,可进行一系列亚细胞水平的结构和功能研究,如测定细胞内DNA、RNA、骨架蛋白、Ca²⁺浓度、细胞内pH、膜电位、细胞间通讯等,还可对细胞进行切割、分离、筛选和克隆。

(三) 电子显微镜术

电子显微镜简称电镜,是基于电子和组织成分相互作用的成像系统。电镜不同于光镜之处是用电子束代替可见光,用电磁场代替玻璃透镜。电镜的分辨率约为0.2 nm,可放大几万到几十万倍。电镜术分为透射电镜术和扫描电镜术。

1. 透射电镜术(transmission electron microscopy, TEM) 是用电子束穿透标本,经过电磁场的会聚、放大后,在荧光屏上显像,或将影像投射到照相底片上。由于电子束穿透力弱,故经过固定的电镜标本须制成超薄切片(50~80 nm),并用重金属盐(如柠檬酸铅和醋酸铀等)染色。密度大、被重金

属盐染色的结构,电子束散射掉的多,射落到荧光屏上的电子少,所形成的图像暗,称电子密度高;反之,称电子密度低。

2. 扫描电镜术(scanning electron microscopy, SEM) 用于观察细胞、组织和器官表面的立体细微结构。将小块组织经固定、脱水、干燥后,在其表面喷镀薄层碳膜和金属膜。扫描电镜发射的细电子束在样品表面按顺序一点一点地移动扫描,使样品表面金属膜发射出电子(称二次电子),二次电子信号被探测器收集,经过放大,在荧光屏上成像。所形成的图像清晰,富有立体感。

(四) 组织化学技术

组织化学(histochemistry)技术是应用化学反应、物理学反应或免疫学反应等原理检测组织和细胞的化学成分并进行定位和定量的技术。组织细胞中的糖类、脂类、蛋白质、酶、核酸等均可与相应试剂反应,最后形成有色反应终产物或电子致密物,应用光镜或电镜进行观察。

1. 一般组织化学

(1) 糖类 常用过碘酸希夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)显示糖类。过碘酸是一种强氧化剂,可将糖分子中的乙二醇基氧化成乙二醛基;后者再与希夫试剂(无色的亚硫酸品红)结合,形成不溶性紫红色反应产物。多糖和糖蛋白均呈 PAS 反应阳性(图 1-1)。

(2) 脂类 标本用甲醛固定,冷冻切片,脂类保存较好。常用苏丹染料、油红 O、尼罗蓝等脂溶性

染料染色,使脂类显色。也可用四氧化锇固定兼染色,脂肪酸或胆碱可使四氧化锇还原为二氧化锇而呈黑色。

(3) 核酸 显示 DNA 的传统方法是福尔根反应(Feulgen reaction)。用稀盐酸处理切片,使 DNA 水解,打开脱氧核糖与嘌呤碱基之间的连接键,暴露醛基,再与希夫试剂作用,形成紫红色反应产物。如要同时显示 DNA 和 RNA,则可用甲绿-派若宁染色,甲绿与细胞核的 DNA 结合呈蓝绿色,派若宁与核仁及细胞质内的 RNA 结合呈红色。

(4) 酶类 细胞内酶的种类甚多,如水解酶、氧化还原酶、合成酶和转移酶等。酶组织化学技术的基本原理是:在适当的温度和 pH 条件下,酶催化其特异性底物水解、氧化等,形成初级反应产物;然后用捕获剂捕获该反应产物,在酶存在的部位形成不溶性的、有颜色的或电子致密的反应终产物。例如,显示酸性磷酸酶时,在切片上加酶的底物 β -甘油磷酸钠,后者被酶催化水解产生磷酸根,再以 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,即可在光镜下观察。

2. 免疫组织化学(immunohistochemistry) 是根据免疫学原理,应用带有可见标记的特异性抗原-抗体反应,检测组织、细胞中抗原性物质(蛋白质和多肽等)的一种技术。这种方法特异性强,敏感度高。进行免疫组织化学染色时,首先要获得被检蛋白质或多肽的抗体,其次要对抗体进行标记。常用的标记物有:荧光染料如异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC),酶类如辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP),重金属如胶体金(colloidal gold)等,这些标记物可分别在荧光显微镜、普通光镜和电镜下观察。

免疫组织化学技术主要有直接法和间接法(图 1-2)。直接法是直接标记某抗原的特异性抗体(又称第一抗体, primary antibody),用该标记抗体孵育标本,标记抗体即与标本中的相应抗原发生特异性结合,通过显示标记物即可检测组织细胞中的抗原成分。该法简单,特异性强,但敏感性较差。在间接法中,第一抗体不标记;以第一抗体作为抗原免疫另一动物,制备抗第一抗体的抗体,即第二抗体(secondary antibody),并标记第二抗体。染色时,顺次以第一抗体和标记的第二抗体处理标本,在抗原存在部位形成抗原-第一抗体-标记第二抗体复合

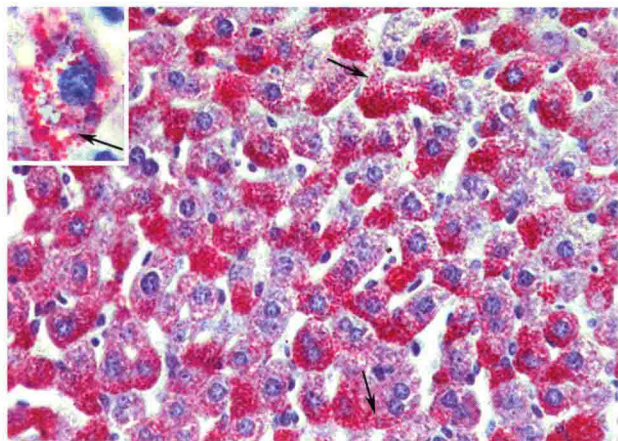


图 1-1 PAS 反应显示肝细胞内的糖原颗粒(↑)(苏木精复染,高倍)

Fig.1-1 PAS reaction showing glycogen granules in liver cells(↑)(Counterstained with hematoxylin. High magnification)

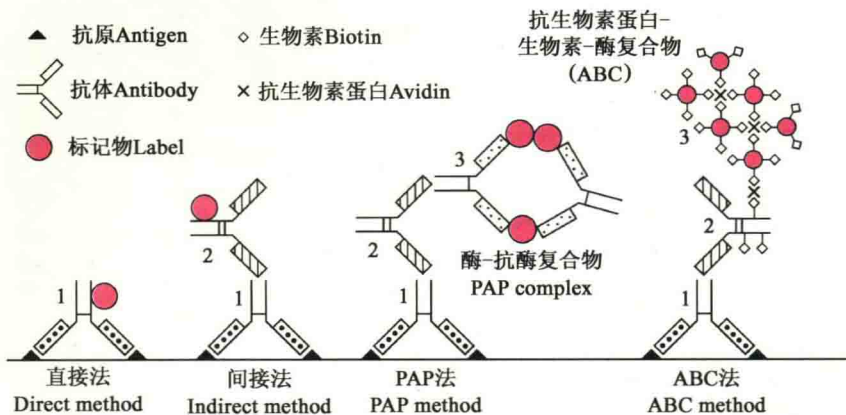


图 1-2 免疫组织化学基本原理示意图

1~3 示反应顺序

Fig.1-2 Sketchy diagram of immunohistochemistry principle

The reaction sequence is indicated by 1~3

物,以达到检测该抗原的目的。间接法因第二抗体的放大作用而敏感性较高。

目前,常用的免疫组织化学方法主要有过氧化物酶-抗过氧化物酶复合物法(peroxidase-antiperoxidase complex method,PAP 法)和抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物法(avidin-biotin-peroxidase complex method,ABC 法)(图 1-2)。PAP 法中,第一抗体和第二抗体均不标记;但需制备抗过氧化物酶的抗体,并使之与适量过氧化物酶反应,以制成可溶性的、含 2 个抗酶抗体分子和 3 个酶分子的五环 PAP 复合物。染色时,先后以第一抗体、第二抗体和 PAP 复合物孵育标本,最后以 H_2O_2 -二氨基联苯胺(DAB)为底物显示过氧化物酶,即可检测标本中的抗原成分。

ABC 法与 PAP 法相似,第一抗体也不标记,但第二抗体以生物素(biotin)标记;另外,染色前按一定比例将抗生物素蛋白(avidin,又称亲和素)与生物素标记的过氧化物酶混合,形成 ABC 复合物,并使抗生物素蛋白分子上至少空出 1 个生物素结合位点。顺次以第一抗体、生物素标记的第二抗体和 ABC 复合物作用于标本,最终形成的复合物网络了大量酶分子,显色后形成大量反应终产物(图 1-3)。

如果用胶体金标记第二抗体,则可在电镜下检测组织细胞的抗原成分及其超微结构的定位。胶体金颗粒呈圆形,电子密度高,且不影响背景结构。

3. 原位杂交(*in situ* hybridization) 是一种

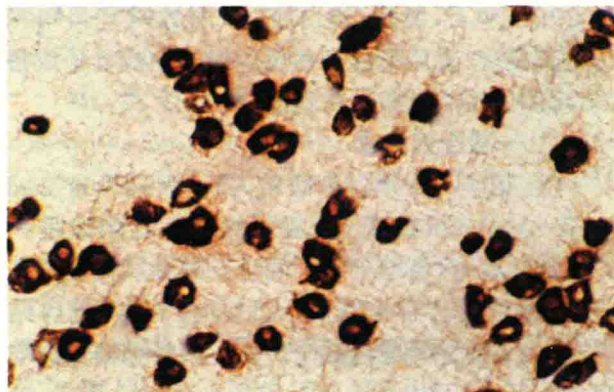


图 1-3 免疫组织化学 ABC 法示大鼠腺垂体黄体生成素阳性细胞(高倍)

Fig.1-3 Immunohistochemical ABC method showing luteinizing hormone-positive cells in the rat adenohypophysis (High magnification)

在组织细胞原位进行的核酸分子杂交技术,敏感度高,特异性强。原位杂交的原理是根据碱基互补原则,用一条碱基序列已知、经特定标记的核苷酸链为探针,与组织切片、细胞制备或染色体标本中的待检 DNA 片段或 mRNA 进行杂交,然后显示标记物,从而分析待检核酸的分布和含量。常用标记物有放射性核素(如 3H 、 ^{35}S)、地高辛、生物素、荧光染料等。利用此项技术可研究各种基因在染色体上的定位,编码某种蛋白质的 mRNA 在胞质中的表达。如果待检核酸含量很低,可先在标本上进行聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)或反转录 PCR 扩增,然后再进行原位杂交。

4. 凝集素组织化学 细胞表面的糖链或寡糖

是重要的识别标志,与细胞的分化、成熟、恶性变等有关。这些糖链不能用 PAS 反应区别,而凝集素(lectin)组织化学可敏感地鉴别和定位这些糖链。凝集素是主要来源于植物种子的蛋白质,不同的凝集素如刀豆球蛋白(Con A)、麦芽凝集素(WGA)可与不同的糖链特异性结合。检测糖链时,先将凝集素用荧光物质等标记,使其与标本上的特异性糖链结合,再用荧光显微镜等显示该凝集素。也可不标记凝集素,而用抗凝集素抗体和免疫组织化学技术显示结合在糖链上的凝集素。

(五) 组织培养术与组织工程

组织培养术(tissue culture)泛指活的器官、组织和细胞在体外适当条件下培养生长的技术。目前,大都利用酶(如胰酶和胶原酶)消化法分离和纯化组织中某种细胞,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(cell culture)。培养的活细胞需用相差显微镜观察(图 1-4)。组织培养术不仅可直接研究细胞的行为(如生长、分化、代谢、形态和功能变化),还可研究各种理化因子(如激素、生长因子、药物、毒物、辐射等)对细胞的影响,同时也是现代分子生物学和重组 DNA 技术的关键环节。组织和细胞培养必须在无菌的环境下进行,严防微生物污染。培养液要有适合细胞生长的营养物质、生长因子、pH、渗透压、O₂ 和 CO₂ 浓度、温度等,并常加入不同浓度的血清。经长期培养而成的细胞群体,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。

组织工程(tissue engineering)是用细胞培养术在体外模拟构建机体组织或器官的技术。目前,国内外学者已开展了许多人造组织和器官的研制,如皮肤、软骨、骨、肌腱、角膜、神经、血管、气管等,其中组织工程化皮肤和软骨已获得成功,并用于临床。组织工程的基本方法是:取少量自体或异体组织,分离、培养种子细胞(seed cell),或通过干细胞体外定向诱导分化,获得大量的种子细胞;应用人工合成的有机高分子聚合物(如聚羟基醋酸和聚乳酸)或天然的细胞外基质成分(如胶原和纤维蛋白),制备有一定形状和空间结构的三维支架;将种子细胞种植到支架上,在体外培养或植入体内;细胞生长增殖,并分泌细胞外基质,而支架材料逐渐降解吸收,从而形成有一定结构和功能的组织或器官,用于组织修复。

(六) 组织和细胞的定量术

随着生命科学研究的不断深入,各种定量技术日益广泛地应用于形态学研究。例如,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,可在显微镜下对生物样品中的化学物质进行定量分析。形态计量术(morphometry)是运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研究,其中三维立体结构的研究又称体视学(stereology)。目前广泛应用图像分析仪(image analyzer)进行形态计量研究,将切片或照片图像通过摄影机显示在监视器屏幕上,并根据各像点的大小位置及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。

流式细胞术(flow cytometry)是近年建立的细胞分类和定量技术,应用流式细胞仪(flow cytometer)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,可进行细胞周期各时相细胞的比例和细胞内 DNA、RNA、蛋白质的含量分析,淋巴细胞亚群的分离和定量,血细胞增殖情况的分析,杂交细胞等的分选等。其工作原理是分离被检细胞,制成悬液,并进行荧光染色或标记,然后使单细胞液流快速通过该仪器的激光照射分析区,被检细胞产生不同的荧光信号并转变为电脉冲,分别输入计算机内贮存,同时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有关数据。

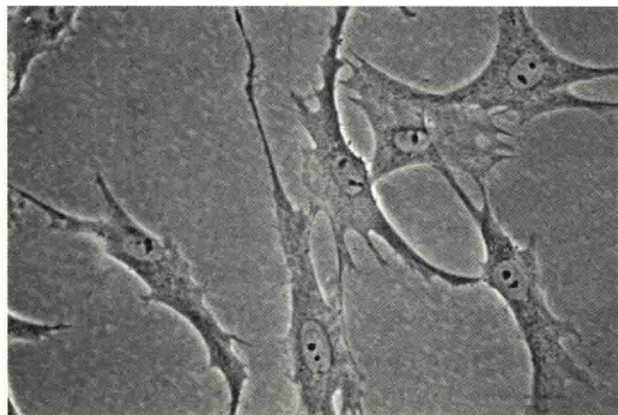


图 1-4 培养的大鼠骨髓间充质干细胞(高倍)

Fig.1-4 Cultured mesenchymal stem cells from the rat bone marrow (High magnification)

三、组织学的学习方法

1. 建立立体与动态的概念 组织切片和显微图片显示的是组织和细胞在某一时刻的平面结构,同一细胞因取材时间的不同其结构可能不同,同一结构因切面的不同也可呈现不同的图像。如饱食和饥饿时肝细胞中糖原颗粒的多少和分布不同,血管在横切和斜切时的形状不同。因而,在学习时要全面观察,善于思维,从大量静止的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,这样才能真正理解和掌握人体的微观结构。

2. 重视结构与功能的联系 人体是一个结构与功能的统一体,任何结构都有其相应的功能,而任何功能也必定有其结构基础。如神经细胞有丰富的粗面内质网与发达的高尔基复合体,其合成蛋白质的功能必定旺盛;凡具有较强吞噬功能的细胞,必然含有较多的溶酶体,以消化吞噬物。虽然组织学以学习形态结构为主,但如能经常联系功能,既可增加学习兴趣,又可深入理解和记忆组织细胞的结构。

3. 强调理论与实践的结合 组织学的实践性很强,要求学生能在镜下识别机体的主要组织和器官。因此,在学习组织学理论的同时,要重视实验课。要认真、仔细地观察组织切片、电镜照片,要动眼看、动脑想、动手画,以加强对理论知识的理解与记忆。在实验课之前,复习理论知识可指导正确的实践,能迅速、准确地找寻某种结构。通过理论与实践的结合,提高观察问题、分析问题和解决问题的能力。

4. 注意勤奋与学习技巧 学习是一种艰苦的劳动。因此,要有吃苦耐劳、勤奋钻研的精神。但也不要死背硬记,而应摸索出适合自己的学习技巧。在学习,要注意前后联系,归纳总结,找出共性,牢记个性。对一些相关结构可采用对比法比较其异同,对比时可用列表法,也可用图解法。这样才能学得主动,学得扎实,收到良好的学习效果。

SUMMARY

Histology is the study of the tissues in the body and of how these tissues are arranged to constitute organs. Tissues are made of cells and extracellular matrix. There are four types of basic tissues in the

body: epithelial, connective, muscular and nervous tissues. Most organs are formed by an orderly combination of several tissues, allowing the function of each organ and of the organism as a whole.

The most common method used in the study of tissues by light microscopy is the paraffin sectioning and hematoxylin and eosin (HE) staining. 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.

Histochemistry is used to indicate methods for localizing substances in tissues and cells. For example, the periodic acid-Schiff (PAS) reaction is a method to demonstrate polysaccharides. Most of these methods are based on specific chemical reactions or on high-affinity interactions between macromolecules. They usually produce insoluble colored or electron-dense compounds that enable the localization of specific substances by means of light or electron microscopy. There are both direct and indirect methods for antigen localization by immunohistochemistry, based on specific antigen-antibody reactions tagged by a visible label. Several variations of immunohistochemical methods, such as the PAP method and the ABC method, have been developed and possess both high specificity and sensitivity. Through *in situ* hybridization specific DNA sequences (such as genes) or gene expression, through the presence of mRNA can be localized in chromosomes of squashed mitotic cells, tissue sections, or cultured cells.

Cell culture permits direct analysis of cell behavior. Living cells are grown in chemically defined synthetic media, to which serum, nutrients, growth factors are frequently added. Tissue engineering is a novel, developing technology that combines cell culture with material science. The tissue engineered skin and cartilage, among others, have achieved a great success and been used for tissue repair of patients with a severe burn and articular