

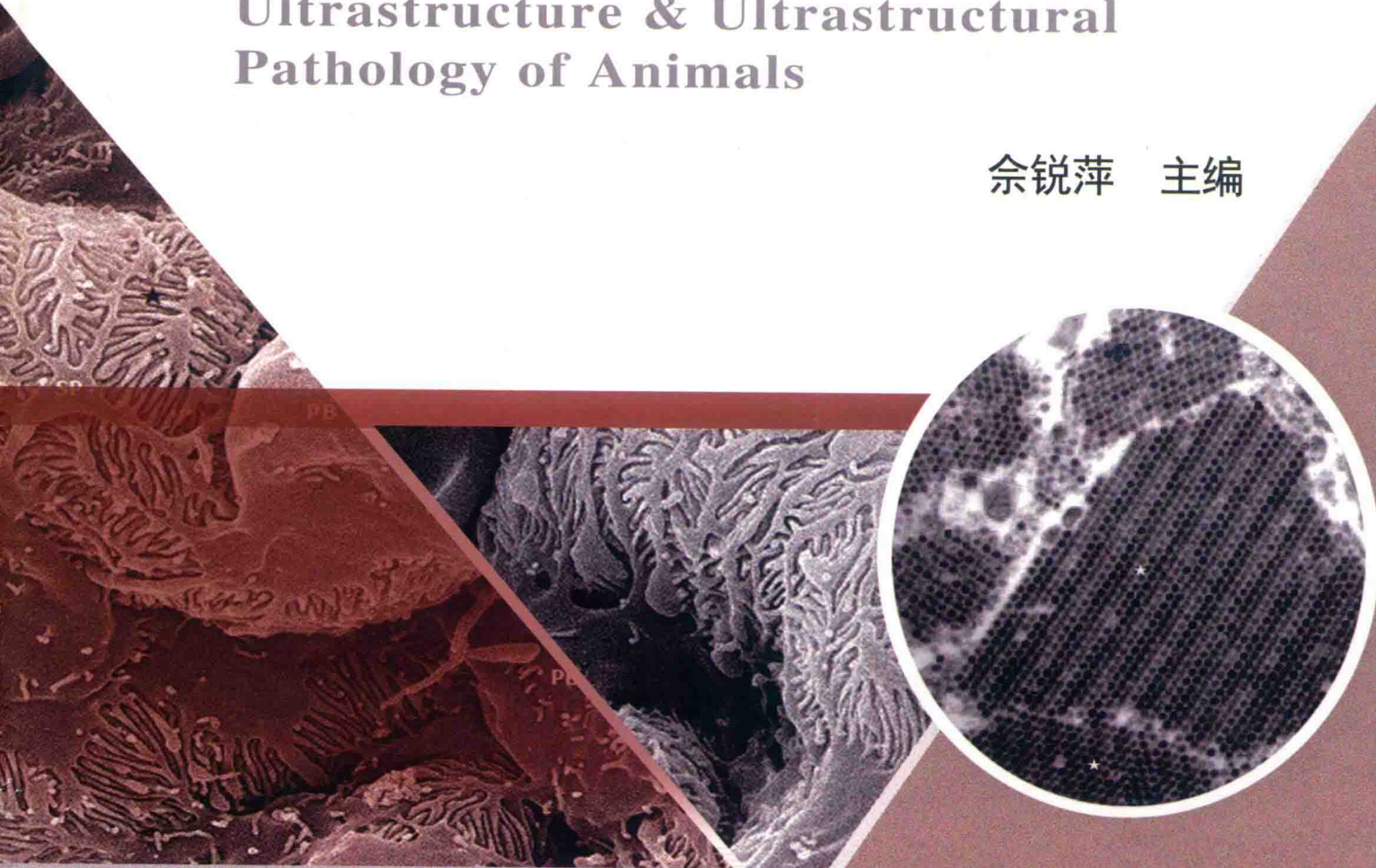


国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

动物超微结构及 超微病理学

Ultrastructure & Ultrastructural
Pathology of Animals

余锐萍 主编



中国农业大学出版社

CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY PRESS



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

动物超微结构及超微病理学

Ultrastructure & Ultrastructural Pathology of Animals

余锐萍 主编

中国农业大学出版社

· 北京 ·

内 容 简 介

本书主要包括绪论、超微病理学研究的基本方法、细胞超微结构及其超微病变概述、四大基本组织的超微结构特点、主要器官的超微病理学、肿瘤的超微结构、病原微生物的超微结构、电镜细胞化学及免疫电镜图片、电镜样品制作及观察方法。

图书在版编目 (CIP) 数据

动物超微结构及超微病理学/余锐萍主编. —北京: 中国农业大学出版社, 2018. 8

国家出版基金项目

ISBN 978-7-5655-2128-7

I. ①动… II. ①余… III. ①动物-细胞-超微结构-病理学-研究 IV. ①Q952

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 244294 号

书 名 动物超微结构及超微病理学

作 者 余锐萍 主编

策划编辑 冯雪梅

责任编辑 冯雪梅

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62818525, 8625

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617, 2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

E-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2018 年 8 月第 1 版 2018 年 8 月第 1 次印刷

规 格 889×1 194 16 开本 63 印张 1 862 千字

定 价 248.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编：余锐萍

副主编：王雯慧 田纪景 刘天龙 刘海虹 高 丰 常玲玲 石蕊寒 吴桥兴

编 者：(按姓氏拼音排序)

安俊卿 包汇慧 陈 建 常玲玲 丁 叶 杜 芳 付振芳 高 丰
高贤彪 胡凤姣 胡薛英 靳 红 贾君镇 李冰玲 李 恒 李睿文
李 威 李文贵 梁锐萍 刘海虹 刘 爵 刘天龙 刘 伟 刘玉锋
刘玉茹 罗冬梅 马龙欢 马卫明 Majid hussian soomro (巴基斯坦)
毛晶晶 潘亚韬 彭开松 彭芳珍 石蕊寒 苏芳蓄 孙彦彦 孙 泉
余锐萍 田纪景 汤 金 王可洲 王铜铜 王雯慧 王英华 吴桥兴
夏抗抗 肖 鹏 许江城 杨依靠 杨玉荣 尹 君 于 品 岳 卓
赵 月 张艳梅 张成林 朱金凤 钟震宇 呼格吉乐图

序一

细胞是生物体形态结构和生命活动的基本单位。细胞学说的建立被伟大的革命导师恩格斯称为十九世纪自然科学的三大发现之一。研究动物机体细胞的形态结构不但对揭示医学上许多基本问题如各种疾病的病因学、病理学、肿瘤的发生学、分子药理学以及当代免疫学领域是迫切需要的，也是整个生物学科不可或缺的内容。电镜技术已经揭开了细胞分子结构的秘密，为分子生物学提供了丰富的资料，是打开微观世界大门的一把钥匙，是当今分子病理学不可缺少的研究手段。因此人们把它喻为超微观世界或分子世界的眼睛。由此可见电镜技术不仅在目前生物医学研究中起着重大作用，而且它的“足迹”已经正在踏遍整个分子世界。

超微病理学是利用电镜技术观察研究生理状态下组织与细胞的超微结构及病理状态下组织与细胞超微结构的变化，从而在超微水平及分子水平上揭示疾病的发生机理。本书的主要内容包括绪论、超微病理学研究的基本方法、细胞超微结构及其超微病变概述、四大基本组织的超微结构特点、主要器官的超微病理学、肿瘤的超微结构、病原微生物的超微结构、电镜细胞化学及免疫电镜图片、电镜样品制作及观察方法。本书的宗旨在于指导读者如何应用电镜技术观察和认识生命的超微结构，尤其是揭示病理状态下的细胞超微结构和分子水平的变化，使读者对细胞的超微结构有一个较全面系统的认识，了解和掌握电镜样品的制作方法和观察方法，学会阅读和辨认动物细胞的超微结构和超微病变，以开阔读者的知识层面，拓展读者的科研思路，提高读者的科学研究技能。


本书是作者近40年在超微病理学教学和科研方面工作成果的积累，大多数内容是执行和完成国家自然科学基金项目的成果，既可作为兽医及其他生物医学领域科研和教学工作者的工具书，又可作为动物医学及生物医学相关领域研究生的教材。目前，在生物医学领域，关于形态学（包括生理和病理状态下）方面的教材及图谱已有大量的书籍出版，但过去的这类出版物大多局限于光学水平，很少有涉及超微水平的书籍，尤其是在动物医学领域更是难于寻见，此书的出版将在一定程度上填补这方面的空白。

签字：

2018年3月18日

序二

电镜技术是生物医学工作者打开微观世界的大门，动物超微结构及超微病理学是利用电镜技术观察研究生理状态下组织与细胞的超微结构及病理状态下组织细胞超微结构的变化，从而在超微水平及分子水平上揭示疾病的发生机理。本书的主要内容包括绪论、超微病理学研究的基本方法、细胞超微结构及其超微病变概述、四大基本组织的超微结构特点、主要器官的超微病理学、肿瘤的超微结构、病原微生物的超微结构、电镜细胞化学及免疫电镜图片、电镜样品制作及观察方法。本书的宗旨在于指导读者如何应用电镜技术观察和认识生命的超微结构，尤其是揭示病理状态下的细胞超微结构和分子水平的变化，使读者对细胞的超微结构有一个较全面系统的认识，了解和掌握电镜样品的制作方法和观察方法，学会阅读和辨认动物细胞的超微结构和超微病变，以开阔读者的知识层面，拓展读者的科研思路，提高读者的科学研究技能。目前，已出版的同类书大多是本科教学的教材，并且大多局限于光学水平，很少有涉及超微水平的书籍，尤其是在动物医学领域更是难得一见。本书是作者近40年在超微病理学教学科研方面工作成果的积累，将理论与科研实际相结合，且大多数内容是执行和完成国家自然科学基金项目的成果。该书内容丰富、图文并茂，既可作为兽医及其他生物医学科研和教学工作者的工具书，又可作为动物医学及生物医学相关领域研究生的教材。该书的出版无论对丰富动物医学及生物医学相关领域研究的理论知识，还是对提高生物医学研究工作者认识和观察超微结构的技能水平都具有重大意义。

签字：

2018年3月6日

编者的话

细胞是生物有机体形态结构和生命活动的基本单位，研究动物机体细胞的形态结构即是研究细胞的化学组成，它不但对医学上许多基本问题如各种疾病的病因学、病理学、肿瘤的发生学、分子药理学以及当代免疫学是迫切需要的，也是整个生物科学绝不可缺的基础。电镜技术已经揭开了细胞分子结构的秘密，为分子生物学提供了丰富的资料。动物超微结构及超微病理学是利用电镜技术观察研究生理状态下组织与细胞的超微结构及病理状态下组织与细胞超微结构的变化，从而在超微水平及分子水平上揭示疾病的发生机理及疾病的发生、发展和转化规律的科学。

电镜技术是生物医学工作者打开微观世界的大门，电镜超微结构是连接光学显微结构与分子结构的一个桥梁。本书的宗旨在于指导读者如何应用电镜技术观察和认识生命的超微结构，尤其是揭示病理状态下的细胞超微结构和分子水平的变化，使读者对细胞的超微结构有一个较全面系统的认识，了解和掌握电镜样品的制作方法和观察方法，学会识别电镜切片观察中的人工损伤，了解和掌握各种细胞器的结构和功能特点，学会观察辨识组织细胞的超微结构和超微病变，以开阔知识层面，拓展科研思路，提高科学研究中的形态学观察技能。这样，不仅可使读者的专业知识得以扩展和加强，还可使其生物医学实验技能得以大力提升，从而更能满足现代生命科学研究的需求。

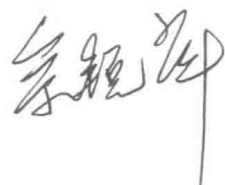
目前，在生物医学领域，有关形态学（包括生理和病理状态下）方面的教材及图谱已有大量的书籍出版，但过去的这类出版物大多局限于光学水平，涉及超微水平的书籍较少，尤其是在动物医学领域更是难于寻见，此书的出版将在一定程度上填补这方面的空白。本书是主编近 40 年在超微病理学教学和科研方面工作成果的积累，将理论与科研实际相结合，大多数内容是基于执行和完成国家自然科学基金（项目编号：39200092，39870584，39770548，30270995，30471301，30771588，30871853，31072110，31272515，31472165）、教育部高等学校博士学科点专项科研基金（项目编号：20020019023，20070019035，20130008110030）以及农业部兽医局重大专项（项目编号：21177043，2130108）的研究成果及在从事动物病理剖检诊断实践服务过程中的观察研究结果，在此基础上从内容的系统性、规范性和实用性方面进行梳理、归纳后编写而成。本书的主要内容包括绪论、超微病理学研究的基本方法、细胞超微结构及其超微病变概述、四大基本组织的超微结构特点、主要器官的超微病理学、肿瘤的超微结构、病原微生物的超微结构、电镜细胞化学及免疫电镜图片、电镜样品制作及观察方法。

本书共选编有 2 000 多张电镜图片，内容丰富、图文并茂，既可作为兽医及其他生物医学工作者从事科研、教学以及临床应用的工具书，又可作为动物医学及生物医学相关领域研究生的教材或参考用书。本书的出版可以丰富动物医学及生物医学相关领域科研工作者形态学研究的理论知识，提高观察和辨识动物超微结构的技能水平，在动物医学临床应用等方面也具有一定的意义。

经历了半年多的编排策划，尤其是经历了半年多的夜以继日、一图一字地键盘敲击，终于完稿，可以交与出版社排版印刷了。此时此刻，主编思绪万千，难以平静。书中所选图片，包含了从 20 世纪 80 年代初到现在将近 40 年的电子显微镜观察记录及教学经验积累，可谓跨世纪之作。从教近 40 年，

作为一名动物病理学领域的教授，有义务、有责任把这本书编写出来，贡献给广大读者，与大家共享微观世界的奥秘。所以，在此书的编写过程中，主编是怀着一腔的使命感一字一图地斟酌、一章一节地推敲编写完成的。在完稿之际，感恩之情油然而生。首先要感谢的是国家出版基金项目的资助使此书得以顺利立项出版；第二，因为本书主要内容是基于执行和完成国家自然科学基金和教育部博士点基金项目及农业部兽医局重大专项的研究成果，所以要感谢这些部门近 30 年来给予的科研项目经费的资助，使本书的内容具有明显的创新性；第三，感谢中国农业大学及动物医学院给我们提供了一个良好的从光镜到电镜的病理形态学观察研究工作平台，使我们的教学研究团队能顺心无忧地开展观察研究工作；最后，必须要感谢的是中国农业大学出版社在出版基金申请及在基金项目获批后责任编辑在编辑、排版和出版发行过程中所做的大量的、精心细致的工作。如果没有以上所述的各方支持，《动物超微结构及超微病理学》就不可能出版问世。

最后，本书很快将要和读者见面了，需要说明的是，虽然本书资料的来源是近 40 年的电子显微镜试验观察记录及教学经验的积累，编写素材很丰富，但因整理编写过程时间较紧，书中难免存有缺憾，诚挚地欢迎读者批评指正。



2018 年 4 月 30 日 于北京

目 录

绪论	1
第一章 细胞超微结构及超微病理学观察研究的基本方法	6
第一节 测量生物结构中的度量衡	6
第二节 电镜观察时应持有的基本观点	7
第三节 观察超微结构的基本要领	9
第四节 电镜切片观察中人工损伤及其识别	14
第二章 细胞超微结构及其超微病变概述	24
第一节 细胞膜及其常见超微病变	25
第二节 细胞表面及其病理过程	29
第三节 细胞的内膜系统及其超微病变	39
第四节 线粒体的超微结构及其超微病变	63
第五节 细胞核超微结构及病变	75
第三章 四大基本组织的超微结构特点	106
第一节 上皮组织	106
第二节 肌组织	200
第三节 神经组织	227
第四节 固有结缔组织	251
第四章 主要器官的超微病理学	305
第一节 心肌与血管	305
第二节 肝	348
第三节 肾与膀胱	373
第四节 气管和肺脏	392
第五节 免疫器官的超微结构及超微病理学	447
第六节 脑及脊髓	550
第七节 胃与肠道	602
第八节 生殖器官	670
第五章 肿瘤的超微结构	721
第一节 上皮组织肿瘤	721
第二节 间叶组织肿瘤	721
第六章 病原微生物的超微结构	813
第一节 细菌	813

第二节 病毒的超微结构	873
第七章 电镜细胞化学及免疫电镜图片	934
第一节 电镜酶细胞化学	934
第二节 免疫电镜细胞化学	937
第八章 电镜样品制作及观察方法	953
第一节 电子显微镜的基本结构与成像原理	953
第二节 透射电子显微镜的样品制备	959
第三节 扫描电子显微镜常规样品的制作	965
第四节 电镜酶细胞化学及免疫电镜技术	967
附录一 LICER 制刀机操作规程	970
附录二 LICER-UC6 超薄切片机的操作规程	971
附录三 扫描制样简便方法	972
附录四 扫描样品制备过程(扫描表面)	973
附录五 剖开法扫描样品制备过程(DMSO法)	974
附录六 JEOL-1230 电镜的使用与调整	975
附录七 扫描电镜的使用和调整	979
附录八 电镜酶细胞化学及免疫电镜样品制作程序	981
附录九 超微结构赏析	982
参考文献	993

绪 论

一、超微病理学定义

自从 1935 年电子显微镜问世以来，特别是 20 世纪 50 年代以后，病理形态学的研究已逐渐由光学显微镜水平的组织病理学发展到了细胞或亚细胞水平的细胞病理学 (cytopathology)。因为细胞病理学是从细胞器等细胞超微结构水平研究疾病的发生和发展，故也称细胞器病理学 (organelle pathology) 或超微结构病理学 (ultrastructural pathology)，简称超微病理学。

细胞病理学是运用细胞生物学的研究方法从细胞、亚细胞和分子三个水平研究细胞的异常生命活动的科学。细胞病理学把细胞看作是生命活动的基本单位，采用分析和综合的方法，在细胞、亚细胞和分子三个不同水平上把结构和功能结合起来，从动态观点来探索细胞异常生命活动。

本书主要介绍超微水平上细胞的异常生命活动概况。与之相对应的有《超微病理学》(*Ultrastructural Pathology*) 一书，是 1994 年底由美国 Norman Cheville 主编的，2009 年已出版了第 2 版，但并未确切下定义。以本人理解，超微病理学是在超微水平或分子水平上观察研究病理状态下细胞的超微变化，在超微水平和分子水平上揭示疾病的发生机理及疾病的发生、发展和转化规律的科学。

通常所说的超微结构是指以超微形态为重点的生物学超微结构。生物学超微结构学也可叫作超微解剖学或超微组织学，它是用电镜技术研究机体结构的科学。对于超微结构这个词，从不同角度可能有不同的理解，反映着不同的研究水平。人们常常把电镜技术与超微结构技术等同起来。一般说，这是可以通用的，就是指用电镜技术作为手段去观察光学显微镜所见不到的或看不清的生物结构的细节。

但是，人们在用词上确实存在着概念不清的问题，给初学者带来一定的困难，例如亚细胞水平、分子水平，等等。严格说来，亚细胞水平不仅是电镜技术所能达到的水平，许多亚细胞器如高尔基复合体、线粒体等早在电镜问世以前就被人们发现了，因此光学显微镜技术也能达到亚细胞水平。分子水平一般被理解为比亚细胞水平更高的水平，它也是当代高分辨率电镜的可及领域，不过，问题在于怎样看待“分子”这一词。人们可以把组成细胞器的亚单位当作细胞的“分子”，也可以把核酸、蛋白质或核蛋白、脂质等大分子结构当作分子，同时，也可以把原子组成的化学上的分子当作“分子”，这样一来，显然在“分子”的范畴里存在着很大的差别。分子生物学就是研究上面所说的构成机体主要物质即核酸、蛋白质等大分子结构和功能的科学。分子生物学包括的范围也是很广的，它需要研究细胞器结构和功能，需要研究核酸、蛋白质的结构和功能，同时它还要研究构成核酸和蛋白质的核苷酸、碱基、多肽和氨基酸顺序及其功能。分子水平是比亚细胞水平更高一级的水平。但是人们没有理由因此否定亚细胞水平里包含着分子水平的含义。超微结构应当被理解为从亚细胞水平直至分子水平的研究。如免疫电镜、酶标等，即是显示分子的存在部位。至于水平的高低则一方面反映了技术水平，同时也反映了研究技术上的需要。值得指出的是研究工作的必要以及取得成果的多少好坏并不以“水平”为界定，从细胞水平上或组织水平上的研究工作所得结果常常超过所谓“分子水平”上的研究。事实

上离开细胞或组织或离开整个机体一味追求“高水平”的研究未必是高质量、高成效的研究，甚至恰恰相反，脱离整体而片面追求“分子水平”的研究往往容易犯片面性或局限性的错误。当然作者并不是以上面的这些话否认分子水平的必要性。不可否认，分子水平上的技术方法更为困难、更加精细，未来的医学生物学发展对它不仅提出了迫切要求，而且已经和必然会从分子水平上取得重大成就。

本书编写的目的是通过向读者系统介绍动物组织细胞的超微结构及超微病理学特点，以便读者能了解和掌握观察组织、细胞超微结构及超微病变的方法，学会认识观察某些器官和组织的超微结构和超微病变，并能根据需要把超微病理学的理论和方法应用于自身的科学研究之中。

二、病理学发展概况及超微病理学展望

(一) 病理学发展概况

病理学 (pathology) 是运用各种方法研究疾病的原因 (病因学, etiology)、在病因作用下疾病发生发展的过程 (发病学, pathogenesis) 以及机体在疾病过程中功能、代谢和形态结构的改变 (病变, pathological changes), 阐明其本质, 从而为认识和掌握疾病的发生发展的规律, 为防治疾病提供必要的理论基础的科学。

病理学发展史可以追溯到两千多年前, 它是在人类探索和认识自身及动物疾病的过程中应运而生的, 它寓于医学的发展之中。其发展过程可分为如下几个阶段:

1. 原始病理学阶段 (公元前 400 至公元 18 世纪初)

在欧洲, 病理学以古希腊名医, 被称为医药之父的希波克拉底 (Hippocrates, 公元前 460 至前 377) 提出的“液体病理学”和古希腊哲学家德谟克利特 (Democritus, 公元前 470 至前 380) 提出的“固体病理学”为原始的病理学代表, 它控制和影响了欧洲医学思想长达 2 000 年之久。在我国以《黄帝内经》为代表, 它的“阴阳五行”学说支配和影响了我国医学 2 000 多年。由于生产力和科学发展水平所限, 这些学说只不过是作者对患病机体的形态和机能改变的观察、分析和总结, 不可能阐明疾病的本质。

2. 经典的病理学阶段或病理形态学/病理解剖学阶段 (1761 至 19 世纪初)

继原始的病理学之后, 经过 2 000 多年的发展, 直到 18 世纪中后期, 欧洲发生了生产力和科技的革命。由于自然科学的兴起和发展, 促进了医学的进步和发展。

真正的病理学起源于文艺复兴时期意大利的解剖学院。在意大利帕多瓦, 解剖学家的位置依次由 Vesalius、Malpighi 和 Valsalva 这些伟大的科学家所占据。1761 年, 意大利的名医 Morgagni (1682—1771) 在进行了 700 余例尸体剖检的基础上, 根据积累的尸检材料, 分析整理写成了《器官病理学》(Seats and Causes of Disease) 一书, 对器官病变做了比较细致的肉眼观察描述, 试图阐明器官病变与疾病之间的关系, 揭示病灶与临床表现的联系, 提出了器官病理学的概念。《器官病理学》的问世标志着病理形态学的开端, 也是古代医学向现代医学发展的一个转折点。在此之前, 生理学家们认为疾病是由于体液成分的不平衡所致。而在 Morgagni 之后, 人们认识到了器官的特定病变是由于特定的疾病所引起的。

1762 年, 在法国里昂 (Lyon) 成立了第一所兽医学校。William Harvey 在 Padua 学成返回伦敦后, 研究发现了血液循环。在这一时期, 英国伦敦皇家兽医学院的董事之一 John Hunter (1728—1793) 在对血管病理的治疗研究中, 首先发现并认识到了微血管在炎症过程中的重要作用。同一时期, 加拿大蒙特利尔兽医学院教授 William Osler 研究发现了血小板及其功能。

19 世纪初, 随着显微镜技术、切片染色及组织学方法的相继问世, 使人们有可能对各种疾病过程

中所表现的形态学变化进行比较深入的观察。

奥地利维也纳的病理学家 Rokitsansky (1804—1878) 根据对 84 000 多例尸体解剖的观察资料, 撰写了第一部《病理解剖学》巨著, 丰富了器官病理学的内容。

3. 病理生理学阶段 (19 世纪中后期至 20 世纪中期)

随着《病理解剖学》的问世, 人们对疾病观察认识的不断深入, 发现运用临床观察和尸体解剖方法, 不能解决对疾病本质的全面认识, 于是在疾病病理研究中开始注意生理的或机能的变化。法国大生理学家 Claud Bernard (贝尔纳, 1813—1902) 首先采用了实验生理学的方法研究疾病的机能障碍及发生机制, 编写了《病理生理学讲义》, 叙述了病理机能实验的方法, 此即病理生理学的始基。

4. 古典的细胞病理学阶段 (19 世纪初至 20 世纪初)

没有显微镜就没有细胞学, 更不可能有细胞病理学。细胞的发现也与显微镜的制作有密切关系。第一架复式显微镜是由荷兰眼镜制造商詹森 (Janssen) 兄弟于 1590 年试制成功的。其后 1665 年, Robert Hook 应用自己研制的简陋显微镜观察软木塞栎树皮薄片及其他植物组织, 发现了许多蜂窝状小室, 称为“cell”(小室之意, 由拉丁文 cellulae 演变而来)。他所见到的“小室”仅仅是死细胞的细胞壁。真正观察到活细胞的是 Leeuwenhoek, 他于 1667 年用自己磨制的透镜组装成的高倍显微镜观察了池塘中的原生动物、人类和哺乳动物的精子以及鲑鱼红细胞的核。过了一个世纪以后, R. Brown (1831) 在兰科植物叶片表皮细胞首先发现细胞核和核仁。Schleiden 和 Schwann 在 1838—1839 年根据前人的观察以及总结前人的工作, 提出了细胞学说。细胞学说认为“一切生物, 从单个细胞到高等动物和植物都是由细胞组成的, 细胞是生物形态结构和功能活动的基本单位”。现代医学病理学起源于 19 世纪 80 年代。当时, 在德国柏林 Johannes Muller 的病理研究室里, Rudolf Virchow (1812—1902) 应用当时新发明的光镜消色差装置系统观察分析了病理损伤部位的病理组织学特点, 根据对组织器官病理变化的显微镜观察结果, 记述了病变组织细胞的形态变化, 于 1848 年撰写出版了 *Cellular Pathology* 即《细胞病理学》, 提出了细胞是生命的基本单位, 细胞的形态改变和细胞的机能障碍是一切疾病的基础, 疾病的病变都是局部性的和定位性的。1858 年 Virchow 进一步提出“一切细胞只能来自原来的细胞”的论点。此外, 他还提出机体的一切病理现象都是基于细胞的损伤, 他的这些观点是对细胞学说的重要补充, 也标志了古典的细胞病理学的创立。

细胞病理学的创立不仅对病理学, 而且对整个医学的发展做出了具有历史意义的划时代的贡献。后来, Virchow 在其名著 *Handbook of Communicable Diseases* 一书中记载了可传播给人的动物病。他指出为了公共健康, 动物死后的尸检工作应作为肉品检测的一道程序。1870 年, 在柏林 Rudolf Virchow 被授予首席兽医病理学家称号。

细胞病理学的建立奠定了近代医学和兽医病理学的基础, 使病理学作为一门学科独立于医学之中。以后, 由于显微技术的不断改进, 使病理学的研究更加进入了微观阶段。

5. 现代病理学阶段 (20 世纪中期至现在)

19 世纪后期, 由于发明了保存细胞结构的固定液和染色技术的出现, 人们应用固定染色技术对细胞的观察认识不断深入, 在显微镜下相继观察到了几种重要的细胞器。1883 年 Van Beneden 和 Boveri 看到了中心体, 1898 年 Benda 发现了线粒体, 1898 年 Golgi 发现了高尔基体。这些发现对于病理学的研究提供了新的思路。

20 世纪初 William Welsh 将系统病理学带到了北美, 他和他的学生们在兽医病理学界影响很大, 许多病理学家都受训于他的医学机构。后来出现的 William Feldman 也是一位杰出的兽医病理学家, 他于 1948 年与来自美国和加拿大的一批病理学家一起共同创立了美国兽医病理学院, 并担任第一任院长。这些兽医病理学家及其机构对于兽医病理学的学科发展起到了重要的推动作用。

在这一时期, 细胞学的研究不再只着重于形态结构的观察, 而且还采用了多种实验手段。同时细胞学还与相邻学科相互渗透形成了一些重要的分支学科。1902 年 Boveri 和 Sutton 同时提出了“染色

体遗传理论”，把染色体的行为同 Mendel 的遗传因子联系起来，1910 年 Morgan 根据他的大量实验材料，证明遗传因子位于染色体上，提出了基因学说。这样，便使细胞学与遗传学结合起来，形成了细胞遗传学。1909 年 Harrison 创建了组织培养技术，为开展细胞生理学研究，直接观察和分析细胞的形态结构和生理活动提供了有利条件。1943 年 Cloude 应用高速离心机从活细胞中把细胞核和各种细胞器，如线粒体、叶绿体和微粒体（内质网的碎片）等分离出来，分别研究它们的生理活性。这对了解各种细胞器的生理功能和酶的分布，起了很大作用。

在这期间形成的细胞化学对细胞内的化学成分开展了大量的研究工作。Feulgen (1924) 首创 Feulgen 染色，测定了细胞中的 RNA。Gaspersson (1940) 采用紫外光显微分光光度法检测了细胞中 DNA 的含量。他们的实验工作还证明，蛋白质的合成可能与 RNA 有关。

1933 年 Ruska 设计制造了第一台电子显微镜，其性能远远超过了光学显微镜。电子显微镜的分辨率由最初的 500nm 改进到现在的几个 nm，放大倍数可达到上百万倍。20 世纪 50 年代以后，使许多学者能应用电子显微镜清楚地观察细胞内各种细胞器的微细结构，如内质网 (Porter, 1950)、高尔基体 (Sjostrand, 1950)、溶酶体 (de Duve, 1952)、线粒体 (Palade, 1952) 和质膜 (Robertson, 1958) 等。

这些新技术、新理论的出现，在很大程度上促进了病理学的研究不断深入和系统化。尤其是随着电子显微镜的出现，使病理学的研究进入了亚显微时代——超微结构领域。20 世纪 60 年代以来，随着生产力和科学技术的发展，特别是免疫组织化学技术，包括免疫电子显微镜技术的应用与分子杂交和 PCR 等先进技术的应用，还有细胞生物学、分子生物学、环境医学以及现代免疫学、现代遗传学等新兴学科的迅速兴起和发展，以及动物和人类基因组的解密和基因组学的兴起，对病理学的发展产生了深远的影响，促使病理学领域出现了遗传病理学、免疫病理学、毒理病理学、环境病理学、定量病理学、超微病理学、分子病理学及生物病理学等新的边缘学科和分支。这些分支学科的出现，标志着病理学已不仅停留在细胞和亚细胞水平，而且深入到了分子水平去认识和揭示疾病的发病的原因及其机理。即从染色体畸变、遗传基因突变和蛋白质构型改变去认识和揭示疾病的发病原因，并使形态学观察结果从静止的定性、定位走向动态的定性、定位且与定量相结合，这样更具客观性、重复性和可比性。这些进展大大加深了人类对疾病本质的认识，标志着病理学已进入了一个“形态、机能与代谢相结合”以及“定性、定位与定量相结合”的崭新历史时期。从而为寻求诊断和防治动物及人类的各种疑难疾病的有效方法开辟了新的思路和光明的前景。

作为病理学的一个分支，超微病理学是在细胞病理学的基础上逐渐完善起来的。20 世纪 70 年代末 80 年代初，美国的兽医病理学家 Norma Cheville 编写出版了《细胞病理学》(*Cell Pathology*) 一书，10 余年以后，1994 年 Norman Cheville 正式编写出版了《超微病理学》(*Ultrastructural Pathology*)，2009 年《超微病理学》第 2 版出版发行，与第 1 版相比，第 2 版的内容更系统、更全面。可以说 Norman Shelver 是兽医超微病理学的创始人。

(二) 超微病理学展望

细胞是生物体的形态结构和生命活动的基本单位。细胞学说的建立被伟大的革命导师恩格斯称为十九世纪自然科学的三大发现之一。研究机体细胞的形态结构是研究其化学组成，它不但对医学上许多基本问题如各种疾病的病因学、病理学、肿瘤的发生学、分子药理学以及当代免疫学是迫切需要的，也是整个生物学科绝不可缺的基础。电镜技术已经揭开了细胞分子结构的秘密，为分子生物学提供了丰富的资料。由于电镜技术的发展和运用，揭示了细胞膜（或者说整个生物膜系统）结构上的奥妙，传统的“单位膜”概念已经逐渐被放弃，新的生物膜结构理论相继诞生。由于超薄切片技术，尤其是由于冷冻蚀刻技术的发展和运用，不仅发现了大量的膜结构，而且使人们可以借助这些技术直接观察和解释细胞核内外遗传信息传递的可见形态。总之，人们不再满足于几十年前由单线条绘制的细胞膜模式图，而是用新的技术揭示那些“线条”上的亚单位或者说大分子结构排列的形态。

如果我们把细胞当作超微结构比较容易达到的较大形态的一端，那么，作为有机体的病毒以及前病毒及后来发现的朊病毒形态则是另一个极端。它们之间从大小上说相差亿万倍，可是从化学结构上它们共享着许多相似的东西。核酸（DNA 和 RNA）和蛋白质是构成千变万化的生物机体的主要物质基础。超微及分子病理学的任务，就是应用多学科密切配合，以发现疾病发生、发展、遗传、演化的普遍规律，使人们从“必然王国”奔向“自由王国”，用掌握的自然规律改造自然，为防病治病、造福人类的崇高目标而奋斗。

电镜技术是打开微观世界大门的一把钥匙，它是当今分子病理学不可缺少的研究手段。电镜超微结构是连接光学显微结构与分子结构的一座桥梁。人们把它喻为超微观世界（或分子世界）的眼睛。几十年前在电镜技术发展的初期用它看到了无数微小生命的可见形态，现在，又用它去研究生物大分子结构。电镜技术在朊病毒、慢病毒和其他危害人类和动物健康的病毒，以及癌症病因等分子病毒学和分子病理学研究上起着前沿哨兵的作用。分子感染已不再停留在假想阶段，一组不同于一般病毒的裸体（分子）病毒已被发现。前病毒形态（provirus 或 viroid）已成为当今医学中的重要课题。当前高分辨力电镜既然能够分辨出单个原子的形态，毋庸置疑，至今世界上最小的生命形态朊病毒决不会逃脱电镜的“追击”。尤其是免疫组化学和免疫电镜技术的出现，使我们可用电子显微镜追踪各种大分子及病原微生物在细胞内的踪迹。由此可见，电镜技术不仅在生物医学研究中起着重大作用，而且目前，它的“足迹”已开始踏遍整个（包括化学及物理在内的）分子世界。

我们无意要夸大超微结构研究和电镜技术的作用，因为这门学科与自然科学中的许多学科相比还很年轻，由于它还有许多不足和限制，因此从事这门学科研究的同志，尤其是兽医病理学工作者要克服种种困难。我们要把完善和发展超微病理学作为使命，努力为超微病理学的发展贡献我们的力量。可以预言在未来的 5~8 年后，超微病理学及分子病理学将得到大力发展，并且一定会得到广泛应用。这可从两方面来加以说明：

一是整个医学发展的需要，迫切要求病理学家从更高的水平上来揭示疾病发生的原因及发病机理。目前，虽然人及动物的许多疾病从临床到大体解剖再到组织病理学变化等方面均已被揭示得很清楚，但从超微结构、分子水平的角度尚存有未解之谜，而且还有许多疾病本身的特点（包括临床、解剖及组织病理学变化）及发病机制尚未被探明。这都必然促使病理学家从超微角度、分子水平去探讨这些未知问题。实际上，任何疾病的发生都有其分子学改变的基础，因为机体的细胞结构无一不是由各种化学成分组成的。现代遗传病理学认为，在人类疾病中虽然只有一小部分具有明显的遗传特征，但原则上几乎所有的疾病都受遗传因素的影响。因此，病理学家只有深入到分子水平方能透彻地揭示出各种疾病发生的真面目。

另一方面，科学技术发展到了今天，使病理学家从超微水平、分子水平来探讨疾病的本质及规律成为可能，由于研究设备、研究手段的改进提高，使病理工作者有条件进行这方面的研讨。电镜技术、免疫细胞化学、分子杂交技术、核酸测序、PCR 技术等，将在病理学研究中得到广泛应用，尤其是随着电镜技术的普及应用，许多疾病的病因及发病机理就可能在超微水平、分子水平上被揭示。这就必然使目前正在兴起和发展中的超微病理学及分子病理学的理论不断完善，而超微病理学必将作为病理学乃至生物医学领域的一门系统完整的分支学科立足于生物医学之林。

第一章 细胞超微结构及超微病理学观察研究的基本方法

第一节 测量生物结构中的度量衡

作为生物医学工作者，了解和掌握测量生物结构的度量衡是很有必要的。人眼不能分辨间距小于0.1 mm 即 100 μm 的两个点，因此，大多数细胞都是人的肉眼所望尘莫及的东西。光学显微镜在大多数细胞成分或亚细胞结构（通常叫作细胞器）面前是无能为力的，于是，电镜就担负起观察包括原子在内的超微观世界一切物体的重任。说得通俗一些，从形态学的角度上看，在生物学领域中，用光学仪器对生物体的分析都可叫作解剖学。因为生物体像任何其他物质一样是永远可分的。由于分析的精密密度不同，测量长度的单位也不同。在大体解剖学方面，可用米至毫米作为度量衡单位，来测定长度范围。在电镜下，测量范围的度量衡单位就更加微细了。从细胞化学角度上来说，化学成分的质量同样要有相应的度量范围，将用下面两张表说明测量细胞和细胞器的度量衡单位及其相互换算关系（表 1-1-1，表 1-1-2）。用表 1-1-3 至表 1-1-5 来说明，比较细胞和大分子的相对大小以及对比长度和质量单位的相应关系，并且指明生物种的不同视野及其相应学科，这些单位和相互关系是医学超微结构中随时都会接触到的问题，因此具有重要意义。

表 1-1-1 用于测量细胞和细胞器的单位英汉对照表

单位	代号	相应线度	细胞学测量上的范围和用途
厘米	cm	=0.4 英寸 (inch)	肉眼的范围，巨大的卵细胞
毫米	mm	=0.1 厘米 (cm)	肉眼的范围，非常大的细胞
微米	μm	=0.001 毫米 (mm)	光学显微镜技术，大多数细胞和较大的细胞器
纳米 (毫微米)	nm	=0.001 微米 (μm)	电子显微镜技术，较小的细胞器，最大的分子
埃	\AA	=0.1 纳米 (nm)	电子显微镜技术，X 射线方法，分子和原子

表 1-1-2 线度的换算表

纳米 (nm)	微米 (μm)	毫米 (mm)
0.1	0.000 1	0.000 000 1
1.0	0.001	0.000 001
1 000.0	1.00	0.001
1 000 000	1 000.0	1.00

如果我们把细胞当作超微结构比较容易达到的较大形态的一端，那么，作为有机体的病毒以及前病毒及后来发现的朊病毒形态则是另一个极端。它们之间从大小上说相差亿万倍，可是从化学结构上它们共享着许多相似的东西。核酸（DNA 和 RNA）和蛋白质是构成千变万化的生物机体的主要物质基础。超微及分子病理学的任务，就是应用多学科密切配合，以发现疾病发生、发展、遗传、演化的普遍规律，使人们从“必然王国”奔向“自由王国”，用掌握的自然规律改造自然，为防病治病、造福人类的崇高目标而奋斗。

电镜技术是打开微观世界大门的一把钥匙，它是当今分子病理学不可缺少的研究手段。电镜超微结构是连接光学显微结构与分子结构的一座桥梁。人们把它喻为超微观世界（或分子世界）的眼睛。几十年前在电镜技术发展的初期用它看到了无数微小生命的可见形态，现在，又用它去研究生物大分子结构。电镜技术在朊病毒、慢病毒和其他危害人类和动物健康的病毒，以及癌症病因等分子病毒学和分子病理学研究上起着前沿哨兵的作用。分子感染已不再停留在假想阶段，一组不同于一般病毒的裸体（分子）病毒已被发现。前病毒形态（provirus 或 viroid）已成为当今医学中的重要课题。当前高分辨力电镜既然能够分辨出单个原子的形态，毋庸置疑，至今世界上最小的生命形态朊病毒决不会逃脱电镜的“追击”。尤其是免疫组化和免疫电镜技术的出现，使我们可用电子显微镜追踪各种大分子及病原微生物在细胞内的踪迹。由此可见，电镜技术不仅在生物医学研究中起着重大作用，而且目前，它的“足迹”已开始踏遍整个（包括化学及物理在内的）分子世界。

我们无意要夸大超微结构研究和电镜技术的作用，因为这门学科与自然科学中的许多学科相比还很年轻，由于它还有许多不足和限制，因此从事这门学科研究的同志，尤其是兽医病理学工作者要克服种种困难。我们要把完善和发展超微病理学作为使命，努力为超微病理学的发展贡献我们的力量。可以预言在未来的 5~8 年后，超微病理学及分子病理学将得到大力发展，并且一定会得到广泛应用。这可从两方面来加以说明：

一是整个医学发展的需要，迫切要求病理学家从更高的水平上来揭示疾病发生的原因及发病机理。目前，虽然人及动物的许多疾病从临床到大体解剖再到组织病理学变化等方面均已被揭示得很清楚，但从超微结构、分子水平的角度尚存有未解之谜，而且还有许多疾病本身的特点（包括临床、解剖及组织病理学变化）及发病机制尚未被探明。这都必然促使病理学家从超微角度、分子水平去探讨这些未知问题。实际上，任何疾病的发生都有其分子学改变的基础，因为机体的细胞结构无一不是由各种化学成分组成的。现代遗传病理学认为，在人类疾病中虽然只有一小部分具有明显的遗传特征，但原则上几乎所有的疾病都受遗传因素的影响。因此，病理学家只有深入到分子水平方能透彻地揭示出各种疾病发生的真面目。

另一方面，科学技术发展到了今天，使病理学家从超微水平、分子水平来探讨疾病的本质及规律成为可能，由于研究设备、研究手段的改进提高，使病理工作者有条件进行这方面的研讨。电镜技术、免疫细胞化学、分子杂交技术、核酸测序、PCR 技术等，将在病理学研究中得到广泛应用，尤其是随着电镜技术的普及应用，许多疾病的病因及发病机理就可能在超微水平、分子水平上被揭示。这就必然使目前正在兴起和发展中的超微病理学及分子病理学的理论不断完善，而超微病理学必将作为病理学乃至生物医学领域的一门系统完整的分支学科立足于生物医学之林。