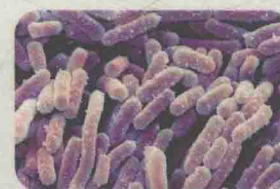
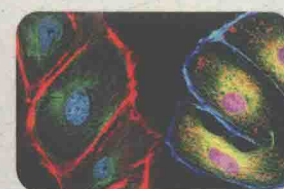


医学形态实验学

Medical Morphology Experiment



马 岚◎主 编



兰州大学出版社
LANZHOU UNIVERSITY PRESS

32-33

医学形态实验学

Medical Morphology Experiment

主 编 马 岚

副主编 王 敏 谷 弘 于红娟

编 委 (按姓氏笔画排序)

于红娟 马 岚 王 芳 王 敏

王 蓓 王毅君 白德成 朱钟泊

刘秉钧 谷 弘 苗小康 曹明强

谢 蓓 谢俊秋



兰州大学出版社
LANZHOU UNIVERSITY PRESS

图书在版编目 (C I P) 数据

医学形态实验学 / 马岚主编. -- 兰州 : 兰州大学出版社, 2018. 8
ISBN 978-7-311-05370-3

I. ①医… II. ①马… III. ①人体形态学—实验
IV. ①R32-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第141543号

策划编辑 张爱民
责任编辑 郝可伟
封面设计 陈 文

书 名	医学形态实验学
作 者	马 岚 主编
出版发行	兰州大学出版社 (地址:兰州市天水南路222号 730000)
电 话	0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心) 0931-8914298(读者服务部)
网 址	http://press.lzu.edu.cn
电子信箱	press@lzu.edu.cn
印 刷	北京虎彩文化传播有限公司
开 本	787 mm×1092 mm 1/16
印 张	14.75
字 数	300千
版 次	2018年8月第1版
印 次	2018年8月第1次印刷
书 号	ISBN 978-7-311-05370-3
定 价	30.00元

(图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系)

前 言

创新型人才是当今世界最重要的战略资源。大力培养创新型人才,已成为各国实现经济发展、科技进步和国际竞争力提升的重要战略举措。生命科学是21世纪前沿学科之一,医学是生命科学最重要的组成部分,现代医学的发展模式和方向,离不开创新型医学人才,创新型医学人才已成为社会对医学人才的首要选择。

高等医学院校承担着培养高素质医学人才的重责,医学是注重实践性教学的课程,对于新形势下培养适应时代发展的创新型人才,高等医学教育的实验教学改革应是创新型教育改革的切入点。

目前,形态学实验课都是“以课程为基础建立的实验课”。其学科特点明显,与理论教学同步性好,便于学生及时理解和掌握所学知识点。但实验课从属于理论课教学,以验证理论教学为主;学科相对孤立,学科间相互交叉、横向联系不够。21世纪医学模式的转变和医学教育改革的深入发展要求我们转变教学观念、改革教学方法、更新教学内容、探索新的实验教学模式、逐步形成新型的医学形态实验教学模式和课程体系。为此,我们撰写了《医学形态实验学》作为高等医学院校教材。本教材完全有别于传统教材,本教材的创新之处就在于能够让医学生掌握各种基本实验方法,进而综合运用多学科的知识,并注重相关学科知识的相互渗透,培养医学生分析问题与解决问题的能力,最终培养医学生进行科学研究的能力,将医学生培养成充满探索精神和改革精神而且有强大创造能力的人才。本教材实验内容设置分三个层次:方法学(基本技能和基本方法)、综合实验(多学科间交叉融合)、设计创新性实验(知识应用与创新)。其目的是三年级本科生能对一、二年级所学基础医学知识融会贯通,做到多学科知识的交叉运用、交叉理解,充分发挥学生在学习中的主体作用,培养学生的主动性、积极性、独立性,充分挖掘学生的潜能,在教给医学生基本知识和基本理论的同时,更重要的是教给他们好的思维方式,培养他们的创新思维能力,着力培养出会学习、善思维、勤探索、能创造的创新型医学人才。此外,本教材也适用于一、二年级研究生来学习和掌握形态学相关的各种实验方法和实验技能、一些动物疾病模型的建立和形态学观察等。

本书的各位编者都是工作在实验教学第一线的有丰富理论和实践经验的教师,编写的内容涵盖了多个学科。该课程着眼于医学生培养目标,以疾病为主导,强调学以致用,使医学生早期接触临床,做到对各系统器官组织的正常结构—病理变化—临床表现的整体展现。同时,增加的综合性、设计性和创新性实验教学,不仅能促使学生较全面

地掌握相关课程的实验技术、方法和医学理论知识,而且能强化其自学能力,观察问题、分析综合问题和解决问题的能力,动手能力,科研能力和实践能力,更注重机能、代谢改变和形态学改变的内在联系,能更全面地、系统地和完整地阐明疾病的发生机制,使学生认识到由正常组织发展到病理改变的一系列动态演变过程,使形态学实验成为连接正常—病变—临床之间的纽带,培养学生综合运用知识解决实际问题的思路与方法,训练学生由基础走向临床的基本技能,进而使学生提高对疾病发生、发展过程及规律的认识。

教学改革,特别是创立一门新的课程是一项复杂的工作,加之编者自身水平有限,时间仓促,尽管各位编者尽了最大努力,书中难免有某些欠缺和失当之处,敬请广大教师和学生加以批评指正,多提宝贵意见,以便再版时修订,使之更加完善。

马 巍

2017年10月

绪 论	1
一、医学形态学实验的发展	1
二、医学形态实验学的研究方法	4
三、医学形态实验学教材的内容	4
四、医学形态实验学的目的和教学要求	5
五、医学形态实验学的教学要求	5

第一篇 方法学

第一章 医学形态实验学常用仪器介绍	9
第一节 普通光学生物显微镜的结构及使用	9
第二节 荧光显微镜的基本原理及使用	13
第三节 倒置相差显微镜的工作原理和使用	20
第四节 激光共聚焦显微镜的基本原理及应用	22
第五节 电子显微镜的基本原理及应用	28
第六节 流式细胞仪的基本原理及应用	48
第二章 医学形态实验学常用实验方法介绍	65
第一节 标本的固定、观察和取材	65
第二节 组织切片制作与染色	73
第三节 原位杂交技术在医学形态学实验中的应用	93
第四节 组织细胞培养技术	96
第五节 显微图像测量的基本原理与方法	103
第六节 血涂片和骨髓涂片的制备与染色	106
第七节 免疫细胞及其功能检测	111
第八节 细菌的分离培养和鉴定方法	116
第九节 染色体标本的制备	128

第三章 医学形态实验学中实验动物的应用及动物实验的基本操作方法	141
第一节 实验动物及其分类	141
第二节 实验动物选择的原则	147
第三节 疾病动物模型	152
第四节 动物实验的基本操作方法	175

第二篇 综合性实验

实验一 寄生虫病原检查技术	175
实验二 不孕不育患者外周血淋巴细胞染色体标本的制备及核型分析	179
实验三 小鼠败血症模型的构建	181
实验四 败血症小鼠免疫学检测	183
实验五 肿瘤细胞的培养	184
实验六 小鼠移植性肿瘤模型的构建	188
实验七 荷瘤鼠T淋巴细胞活性检测——MTT比色法	190
实验八 荷瘤小鼠肿瘤组织及主要脏器的病理学检测	192
实验九 大鼠动脉粥样硬化及心肌梗死模型构建	195

第三篇 设计创新性实验

第一章 创新性实验的设计原则	201
第一节 医学实验设计的基本要素与实验误差及误差控制	201
第二节 医学实验设计的基本原则和方法	205
第三节 医学实验设计的内容、形式和程序	207
第二章 医学实验论文的撰写和要求	210
第一节 医学实验论文的基本特点和要求	210
第二节 医学实验论文撰写的方法与步骤	211
第三节 医学论文撰写的基本格式和要求	213
参考文献	217

附录

附录1 实验室规则与制度	221
附录2 生物安全实验室基本规程	222
附录3 生物安全实验室安全指南	224
附录4 实验废弃物收集、处理和实验动物尸体处理规程	225
彩插	227

“医学是旨在保护和加强人类健康、预防和治疗疾病的科学知识体系和实践活动，医学与自然科学和社会科学有着密切联系，因为医学所研究的是与自然和社会相互联系着的人”。这一医学概念反映了医学领域的内涵与发展。医学是一门社会性、服务性、实践性很强的学科，医学实验教学在医学教育中占有极为重要的地位，是教育过程中实现创新型人才培养目标的重要环节。本课程注重理论与实践相结合，基础与临床相结合，基本训练与创新训练相结合，以及形态与机能、局部与整体、病变与临床的结合；旨在加强学生科研思维与创新精神的培养，从而提高学生的动手能力，发现问题、分析问题和解决问题的能力，并逐步建立学生的临床思维和创新思维，培养适应社会需要的医学创新型人才。

医学形态实验学是以动手操作和实验观察的方法学习人体、动物和组织细胞正常与异常形态之间演变过程的一门综合课程。其目的是解释各种病变的起因、可能的机制、体内发生的各种改变及最终结果，从而认识疾病发生、发展的规律和本质。本教材完全有别于传统教材，本教材的创新之处就在于能够让医学生掌握各种基本实验方法，进而综合运用多学科的知识，并注重相关学科知识的相互渗透，培养医学生分析问题与解决问题的能力，最终培养医学生进行科学研究的能力，将医学生培养成充满探索精神和改革精神而且有强大创造能力的人才。

一、医学形态学实验的发展

自人类诞生以来，关于疾病的原因和性质的探索就从来没有停止过。古今中外，人们不断通过大量实验和临床实践来探究人体和疾病的秘密。延续了数千年的医学历程，正是不断在实践与认识的曲折道路上发展至今。

中国秦汉时期的医学典籍《黄帝内经》中就有疾病的发生和死后解剖等的记载。南宋时期著名法医学大家宋慈的《洗冤集录》，对尸体解剖、伤痕病变、中毒以及烧灼等病变都有比较详细的记载。这些著作对中国医学的发展做出了重大贡献。

2500年前古希腊医生希波克拉底（Hippocrates，公元前460—公元前370）打破了迷信与巫术禁锢医学的枷锁，使医学回归到经验与理性的道路上来。他提出了体液学说，认为有机体的生命决定于四种体液，即血、黏液、黄胆汁和黑胆汁。四种液体平衡，则身体健康，反之则多病，从而创立了液体病理学。公元2世纪左右，古罗马医学家盖伦（Claudius Galenus，129—199）总结古代医学的知识并加以系统化，发展了机体的解剖结构和器官生理学的概念。他认为研究和治疗疾病应以解剖学和生理学知识为基础。他虽没有解剖过人的尸体，但在研究解剖学时采用了各种动物。他的成就为西方医学中解剖学、生理学和诊断学的发展奠定了初步基础。

16世纪，欧洲医学摆脱了古代权威的束缚，开始独立发展，其主要成就是人体解剖学的建立。英国生理学家威廉·哈维（William Harvey，1578—1657）最先在研究中应用活体解剖的实验方法，直接观察动物机体的活动。同时，他还精密地算出自左心室流入总动脉和自右心室流入肺动脉的血量。他断定自左心室喷入动脉的血，必然是自静脉回归右心室的血，这样就发现了血液循环，他因此被誉为“生理学之父”。此外，哈维还用放大镜观察鸡胚和一些哺乳动物胚胎的发育，指出发育必须来自亲代双方，强调“一切动物皆起源于卵”，并著有《胚胎发生论》一书。1590年，荷兰光学匠师詹森父子（Hans and Zacharias Janssen）在一根管子的两端分别装上一块凹透镜和凸透镜制成复式透镜系统，由此诞生了第一台显微镜。

17世纪，医学注重观察和实践，意大利生理学家圣托里奥（Santorio，1561—1636）制作了体温计和脉搏计，还通过长期观察体重的变化进行了最早的新陈代谢研究。显微镜在17世纪初的出现，把人们对物质世界的认识带到一个新的水平。科学家们利用显微镜在医学领域取得了一系列重要成果。1661年，意大利的解剖学家马尔比基（Marcello Malpighi，1628—1694）在观察青蛙的肺脏和肠系膜后，终于发现末梢动脉和静脉是由一种直径像头发一样细微的血管网所衔接，而将之命名为毛细血管，填补了哈维理论的漏洞，血液循环论因而大功告成。同时，他也因此获得“显微医学之父”的美名。1665年，英国博物学家罗伯特·胡克（Robert Hooke，1635—1703）在用自制的显微镜观察软木及其他植物组织的薄片时，将细胞壁围成的小室称为“cell”，创立了“细胞”一词。

18世纪，医学家通过解剖无数尸体，对人体的正常构造有了清晰的认识。1761年，意大利解剖学家莫尔加尼（Morgagni，1682—1771）根据700多例尸体解剖的发现，出版了《论疾病的位置和原因》一书，描述了疾病影响下器官的变化，并且据此对疾病原因做了科学的推测。他认为一切疾病的发生都有一定的位置，只有脏器的变化才是疾病的真正原因，把病灶和临床症状联系起来，由此创立了器官病理学。18世纪末，英国乡村医师爱德华·詹纳（Edward Jenner，1749—1823）观察到牛患牛痘，挤奶女工

因接触病牛脓疱物质而得“牛痘”，可是这些得“牛痘”的女工从不感染天花，后经反复试验，终于得出结论，牛痘接种预防天花。这不仅为人类预防并消灭天花做出了重要贡献，也为疫苗防止传染病提供了重要的启示。法国医生比沙（Bichat, 1771—1802）肉眼观察了人体结构，看到分离的膜和脏器，认为它们是不同的质地的编织物，称为“tissue”（组织）；他把人体分为21种组织。他的工作为组织学的发展奠定了基础。

19世纪，在改良的光学显微镜的帮助下，德国病理学家鲁道夫·魏尔肖（Rudolf Virchow, 1821—1902）认为细胞损伤是一切疾病的基础，从而创立了“细胞病理学”，指出“疾病是异常的细胞事件”。这一学说不仅为现代病理学，而且为所有的医学基础学科奠定了基础。他被誉为“病理学之父”。19世纪中叶，由于发酵工业的需要，同时物理学、化学的进步和显微镜的改进，细菌学诞生了。法国微生物学家路易·巴斯德（Louis Pasteur, 1822—1895）开始研究发酵的作用，后研究微生物，证明发酵及传染病都是微生物引起的。巴斯德是第一个以令人信服的实验证明：特定的病原会造成特定的疾病。德国细菌学家罗伯特·科赫（Robert Koch, 1843—1910）发现霍乱弧菌、结核杆菌及炭疽杆菌等，并改进了培养细菌的方法和细菌染色方法，还提出科赫三定律。他们的研究成果是微生物、细菌学发展史上的里程碑。19世纪中叶，奥地利遗传学家孟德尔（Gregor Johann Mendel, 1822—1884）选用豌豆做实验材料，进行形态实验观察，根据种子的圆滑和皱缩、子叶的黄色和绿色、种皮的白色和灰色等性状总结出了遗传分离规律和基因自由组合规律，被公认为遗传学的奠基人。美国遗传学家托马斯·亨特·摩尔根（Thomas Hunt Morgan, 1866—1945）在实验室证实了染色体的基因决定生物性状，创立了基因连锁互换定律，被誉为“遗传学之父”。

20世纪的医学，牢固地建立在实验基础之上，在技术上有了空前的进步。在研究层次上，向微观和宏观发展，分子医学和系统医学并进；在学科体系上，学科分立和学科之间的交叉融合并进。20世纪60年代，电子显微镜技术的建立，使形态学研究进入到亚细胞水平。近几十年来，免疫学、细胞生物学、分子生物学、细胞遗传学的发展以及免疫组织化学、流式细胞术、图像分析技术和分子生物学等新技术的应用，对疾病的认识产生了深刻的影响。学科互相渗透为疾病的研究带来了新的动力和机遇，出现了一些新的分支，如免疫病理学、分子病理学、遗传病理学和定量病理学等，使得对疾病的研究不仅在器官、组织、细胞和亚细胞水平进行，而且深入到分子和基因水平，并使形态学观察结果从定位、定性走向定量，更具客观性、重复性和可比性。不仅如此，对疾病的观察和研究也从个体向人群和社会发展，并且和环境结合，出现了地理病理学、社会病理学等新的分支。这些发展大大加深了对疾病本质的认识，同时也为许多疾病的防治开辟了光明的前景。

二、医学形态实验学的研究方法

(一) 动物实验(animal experiment)

运用动物实验的方法,可在适宜动物身上复制出某些人类疾病的动物模型(animal model)。通过疾病复制过程可以研究疾病的病因学、发病学、病理改变及疾病的转归。动物实验的优点在于可根据需要,对之进行任何方式的观察研究。例如可在疾病的不同时期活检,以了解疾病不同阶段的病理变化及其发生发展过程、药物或其他因素对疾病的疗效或影响等,并可与人体疾病进行对照研究。但应该注意动物和人体之间毕竟存在物种的差异,不能把动物实验结果不加分析地直接套用于人体,仅可作为研究人体疾病的参考。

(二) 组织和细胞培养(tissue and cell culture)

将动物体内或人体某种组织或单细胞用适宜的培养基在体外培养,既可建立组织细胞的病理模型,也可观察某些干预因素对细胞增殖、分化及功能代谢的影响,可在细胞水平上揭示某些疾病的发生、发展规律。这种研究方法的优点是周期短、见效快、节省开支;体外因素单纯,容易控制,可以避免体内复杂因素的干扰。缺点是孤立的体外环境与复杂的体内整体环境毕竟有很大的不同,故不能将体外研究结果与体内过程等看待。

(三) 活体组织检查(biopsy)

活体组织检查简称活检,是通过手术方式,如局部切取、钳取、细针穿刺、搔刮和切取病变器官等从动物或人体获取病变组织或病变器官进行病理检查,以确定诊断的方法。在疾病治疗过程中,定期活检可连续了解病变的发展和判断疗效;因此,活检对于诊断、治疗和预后都具有十分重要的意义。

(四) 尸体解剖检查(autopsy)

尸体解剖检查简称尸检,通过对动物尸体进行病理解剖,全面检查各器官、组织的病理变化,并结合各种实验资料进行对比分析,从而明确疾病的诊断,查明死亡原因。尸检的作用在于确定病变,分析各种病变的主次和相互关系,确定诊断,查明死因。

三、医学形态实验学教材的内容

本书共分五部分。第一部分为绪论。第二部分为方法学,讲述医学形态实验学常用仪器设备的原理和应用、常用实验方法以及实验中动物的应用及选择原则等。第三部分为综合性实验项目,综合性实验融合了解剖学、组织学、病理学、免疫学、微生物学、

寄生虫学以及遗传学等多个相关学科的理论 and 实验方法。每个实验要求学生动手操作,让学生正确运用已学到的知识,参与科学实验,激发学生学习的自信心和观察事物的好奇心,培养发现问题、分析问题、解决问题的能力和创新意识。第四部分为设计、创新性实验,在掌握设计创新性实验的设计原则和实验论文的撰写要求的基础上,同学们可根据所学内容和兴趣自行设计,独立完成整个实验过程,包括选题、撰写论证报告、设计技术路线、选择实验材料、实验动物等,并撰写论文;在实践中不断培养学生严谨的科学作风、严密的科学思维和实事求是的科学态度,进而使学生提高对疾病发生、发展过程及规律的认识。第五部分为附录,介绍实验室相关制度和规程。核心内容为第三、四部分。

四、医学形态实验学的目的

医学形态实验学的目的在于通过对形态实验方法学的学习,学生通过自己动手操作并正确地运用已学到的知识,全面细致地观察,认识和了解异常与正常、局部与整体、异常与病变、病变与临床的相互联系,培养学生发现问题、分析问题、解决问题的能力。其目的是使三年级本科学生能对一、二年级所学基础医学知识融会贯通,做到多学科知识的交叉运用、交叉理解;充分发挥学生在学习中的主体作用,培养学生的主动性、积极性、独立性;充分挖掘学生的潜能,在教给医学生基本知识和基本理论的同时,更重要的是教给他们好的思维方式,培养他们的创新思维能力,着力培养出会学习、善思维、勤探索、能创造的创新型医学人才。此外,本课程也适用于一、二年级研究生来学习和掌握形态学相关的各种实验方法和实验技能、一些动物疾病模型的建立和形态学观察等。

五、医学形态实验学的教学要求

(一)实验前

做好课前预习,明确实验目的与实验内容,必须掌握与实验相关的各学科医学基础理论知识。

(二)实验时

按照实验的步骤和老师的要求,认真、细致、规范地操作。仔细观察并认真记录实验现象和反应;认真记录或绘制实验结果和数据,做好实验的原始记录;几人同做一项实验时,要注意分工协作,密切配合;对实验过程中出现的现象,不仅需要记录和仔细观察,并要联系有关理论知识进行思考,即多看、多想、多联系。如:“有什么改变吗?”“为什么会发生这样的改变?”“这种改变说明了什么问题呢?”等,学会分析实验结果,完成实验报告;设计性实验要严格按照科研程序完成,实验中注意科学合理地分

配和运用时间。在实验过程中做到三严：严肃、严格、严谨。如实记录实验结果，按规定完成实验报告。对于失败实验结果要分析原因，必要时重复实验。

(三) 实验后

应认真分析实验结果，探讨实验原理，得出可能的结论。若实验结果与理论不符合，要加以分析讨论，以逐步提高自己的科学思维能力。实验课后，须按时按要求递交实验报告。

(马 岚)

第一篇 方法学

第一章 医学形态实验学常用仪器介绍



第一节 普通光学生物显微镜的结构及使用



图 1.1.1 光学显微镜的构造

一、光学显微镜的构造

普通生物学光学显微镜种类繁多，但基本构造相同，主要分为两部分：机械装置、光学系统（光源部分和光学部分）。如图 1.1.1 所示。

(一)机械部分

镜体包括镜座、镜柱及镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台及推进器、粗细调节器等。

1. 镜座

即显微镜的底座，用以支持稳定镜体。

2. 镜柱及镜臂

连接镜座的直立部分，称镜柱；与镜柱相连接的曲部，另一端连于镜筒，称为镜臂，是取放显微镜时手握位置。

3. 镜筒

镜筒连接在镜臂前方，上端装有双目镜（10倍固定），下端装有物镜转换器。

4. 物镜转换器

物镜转换器接于棱镜壳下方，圆盘状，盘上有4个圆孔，是安装物镜头部位，可自由转动，调换不同倍数的物镜。

5. 载物台（镜台）

镜台在镜筒物镜头下方，中央有一通光孔，用以放置玻片标本。镜台上装有玻片标本推进器，推进器有弹簧夹，用以夹持玻片标本，在其一侧，装有推进器调节轮，可使被观察标本做前后、左右方向移动。

6. 粗、细调节器

粗、细调节器即装置在镜柱两侧上的大、小两种螺旋钮，能使镜台做上下移动。粗、细调节器分为：粗调节器（大螺旋）和细调节器（小螺旋）。粗调节器即大螺旋，移动时，可使镜台较大幅度地升降，迅速调节物镜和标本之间的距离，使物像呈现于视野中，通常在使用低倍镜时，先用大螺旋找到物像。细调节器即小螺旋，可使镜台微幅缓慢升降，使得标本更清晰，并可观察到标本的不同层次和不同深度的结构，这个操作叫调焦。

(二)光源部分

光学显微镜的光源装置主要包括反射镜、卤素灯电光源、聚光器，广义说也包括照明光源和滤光器等。

光学显微镜是使用反光镜，采集自然光或人工光源；或由灯泡（卤素灯泡或Led灯泡）发射的电光源，这里主要介绍电光源显微镜。聚光器，也叫集光器，位于载物台中孔下方，由聚光镜和可变光阑组成，其作用是把光线集中到所要观察的标本上。可变光阑聚光镜下方，也叫光圈，旋转光阑环，可以调节其开孔的大小，以调节光量，使聚光镜的镜口率适应于物镜的镜口率；光阑环上刻有物镜倍率（4×，10×，