

双语版

中国科学院教材建设专家委员会规划教材

21世纪高等医药院校精品课程教材

(供基础、临床、口腔、精神、预防、麻醉、护理、检验、
药学、生物、医学信息专业使用)

医学组织学

文建国 主编

 科学出版社
www.sciencep.com

中国科学院教材建设专家委员会规划教材
21 世纪高等医药院校精品课程教材

供本科基础、临床、口腔、精神、预防、麻醉、护理、检验、药学、
生物、医学信息专业用

医学组织学

文建国 主 编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书为中南大学精品课程教育教材立项资助(中大教字[2003]92号)教材《医学组织学》和《医学胚胎学》中的一册。本书在长期从事组织学与胚胎学教学的基础上,编者按照医学本科培养目标要求,从深度和广度两方面适应当前本科教学的实际需要编写而成。全书分为19章:第1~8章为基本组织,第9~19章为器官系统。为了适应双语教学的发展要求和基础医学双语教学的实际状况,主要组织学名词做了不同程度的英文词汇替换,插图的标注采用英文,每章的结尾给出本章重要词汇表,所有专业英文词汇均给出国际音标,对学生的专业词汇学习具有较大的强化作用,同时可以帮助师生正确听读专业词汇。

本书适于高等医学院校五年制本科学生及老师作为教材使用,也适于从事妇产科学、生殖工程等相关学科的临床、科研工作人员作为参考书使用。

图书在版编目(CIP)数据

医学组织学/文建国主编. —北京:科学出版社,2006.3

(中国科学院教材建设专家委员会规划教材,21世纪高等医药院校精品课程教材)

ISBN 7-03-016926-3

I. 医… II. 文… III. 人体组织学-高等学校-教材 W. R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 012417 号

责任编辑:胡治国 李 君/ 责任校对:李奕莹

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双 青 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006年3月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006年3月第一次印刷 印张:18 3/4 插页:12

印数:1—5 000 字数:437 000

定价:29.80 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

《医学组织学》编写人员

主 编 文建国
副 主 编 张建湘 曾园山 曾腊初
编 者 (以姓氏笔画为序)

丁 英 (中山大学中山医学院)
文建国 (中南大学湘雅医学院)
王铁霞 (中南大学湘雅医学院)
戎锡云 (中南大学湘雅医学院)
朱永红 (中山大学中山医学院)
严文保 (中南大学湘雅医学院)
张 彬 (中南大学湘雅医学院)
张建湘 (中南大学湘雅医学院)
李 雯 (中山大学中山医学院)
杨 静 (中南大学湘雅医学院)
杨 擎 鹰 (湖南师范大学医学院)
肖 玲 (中南大学湘雅医学院)
段炳南 (中南大学湘雅医学院)
胡黎平 (中山大学中山医学院)
赵国军 (南华大学医学院)
黄 河 (中南大学湘雅医学院)
曾园山 (中山大学中山医学院)
曾腊初 (湖南师范大学医学院)
董为人 (南方医科大学)

前 言

随着我国改革开放的不断深入,高等医学教育面临着新的挑战和发展机遇,医学人才的知识结构也面临着新的调整,需要更多地掌握专业外语,以适应日益增多的国际交流。因而在教学上,双语教学的重要性日益突出。但究竟按照哪种教学模式、采用何种教学手段、编写什么样的教材,则是摆在教师 and 教学管理人员面前的一道难题。我国双语教学还处于起步阶段,因师资水平、学生接受程度、教材等方面的原因,双语教学面临许多实际困难,尤其对于医学前期课程来说难度更大。因此,编写一套符合我国医学教育实际的双语教材非常必要,也十分紧迫。

组织学与胚胎学是重要的医学主干课程之一,是医学教育培养方案中靠前开设的基础课,是其他重要医学课程的专业基础。在该课程中推行双语教学既可提高本课程的教学质量,同时也有利于培养学生对后续课程的兴趣,并为其他后续课程的双语教学打下良好的基础。由于本课程一般在第一学年开设,学生在医学专业方面刚刚起步,专业词汇尚无积累,直接进行双语教学有较大的难度。因此,我们在编写教材时,仍以中文体例作为基本思路,但将重要的本专业词汇做了适度的替换,插图的标注采用英文,以强化对专业词汇的学习。

为了让教师和学生能正确地听读专业词汇,本教材率先在专业教材中给出专业词汇的国际音标,这是本教材的一个有创意的特色。另外,每章末尾列出本章重要词汇,有利于学生尽快掌握一些重要的专业词汇,也有利于教师把握教学重点。书末的中英、英中双索引方便师生从不同途径快速查找词汇。词汇的页码改用该词汇所在章节号,也是适应本教材的特点做的特色处理。关于本教材专业词汇的处理思路详见附录 1。

我们认为,双语教学应该是循序渐进的,教材也应该适应这个特点,作为一种尝试,我们编写了这本特色教材。严格说来,本教材的语言处理不是真正意义上的双语,但本教材比完全中英对照式的双语教材更切合医学基础课程的双语教学实际,可以看作是广义上的双语教材。相信本教材的使用将为后续课程的双语教学打下良好的基础,也为后续课程的双语教材的编写提供有意义的借鉴。

本套教材的编写得到中南大学精品课程教育教材立项资助(中大教字[2003]92号),并得到许多同行的支持和帮助,各位编者也付出了辛勤的劳动。在此,谨向所有关心和支持本教材编写的各级领导和同仁表示衷心的感谢。

由于我们是第一次尝试编写用于双语教学的教材,可资借鉴的同类教材匮乏,编写经验不足,因而可能存在这样那样的不足和疏漏,有些内容和插图的处理是否充分合理尚有待实践的检验,恳请同行专家和读者批评指正。

文建国

2005 年 12 月于长沙

目 录

第 1 章 绪论(Introduction)	(1)
一、组织学的概念、主要内容和意义(The concepts, main contents and significations of histology)	(1)
二、组织学的发展简史(Brief history of histology)	(2)
三、组织学技术简介(Brief introduction of histological techniques)	(3)
第 2 章 上皮组织(Epithelial tissue)	(11)
一、被覆上皮(Covering epithelium)	(11)
二、腺上皮与腺(Glandular epithelium and gland)	(20)
第 3 章 固有结缔组织(Connective tissue proper)	(25)
一、疏松结缔组织(Loose connective tissue)	(25)
二、致密结缔组织(Dense connective tissue)	(32)
三、脂肪组织(Adipose tissue)	(33)
四、网状组织(Reticular tissue)	(33)
第 4 章 血液和血细胞发生(Blood and hematopoiesis)	(36)
一、血液(Blood)	(36)
二、骨髓和血细胞发生(Bone marrow and hematopoiesis)	(41)
第 5 章 软骨和骨(Cartilage and bone)	(47)
一、软骨(Cartilage)	(47)
二、骨(Bone)	(49)
三、骨的发生(Osteogenesis)	(55)
四、关节(Joint)	(58)
第 6 章 肌组织(Muscle tissue)	(60)
一、骨骼肌(Skeletal muscle)	(60)
二、心肌(Cardiac muscle)	(65)
三、平滑肌(Smooth muscle)	(66)
第 7 章 神经组织(Nervous tissue)	(70)
一、神经元(Neuron)	(70)
二、突触(Synapse)	(74)
三、神经胶质细胞(Neuroglial cell)	(76)
四、神经干细胞(Neural stem cell)	(78)
五、神经纤维和神经(Nerve fiber and nerve)	(78)
六、神经末梢(Nerve ending)	(81)
七、神经纤维的溃变和再生(Degeneration and regeneration of nerve fiber)	(84)

第8章 神经系统(Nervous system)	(88)
一、大脑皮质(Cerebral cortex)	(88)
二、小脑皮质(Cerebellar cortex)	(90)
三、脊髓灰质(Gray matter of spinal cord)	(92)
四、神经节(Ganglion)	(93)
五、脑脊膜和血-脑屏障(Cerebrospinal membrane and blood-brain barrier)	(94)
六、脉络丛和脑脊液(Choroid plexus and cerebrospinal fluid)	(95)
第9章 循环系统(Circulatory system)	(98)
一、心脏(Heart)	(98)
二、动脉(Artery)	(100)
三、毛细血管(Capillary)	(102)
四、静脉(Vein)	(104)
五、微循环(Microcirculation)	(105)
六、血管壁结构与功能的关系(The relationship between the structure and its functions of vascular wall)	(106)
七、淋巴管(Lymphatic vessel)	(106)
第10章 免疫系统(Immune system)	(109)
一、免疫细胞(Immune cell)	(109)
二、淋巴组织(Immune cell)	(111)
三、淋巴器官(Lymphoid organ)	(111)
第11章 内分泌系统(Endocrine system)	(123)
一、甲状腺(Thyroid gland)	(123)
二、甲状旁腺(Parathyroid gland)	(125)
三、肾上腺(Adrenal gland)	(126)
四、垂体(hypophysis)	(128)
五、松果体(Pineal body)	(132)
六、弥散神经内分泌系统(Diffuse neuroendocrine system)	(133)
第12章 消化管(Digestive tract)	(136)
一、消化管壁的一般结构(The general structure of digestive tract)	(136)
二、口腔(Oral cavity)	(137)
三、咽(Pharynx)	(140)
四、食管(Esophagus)	(140)
五、胃(Stomach)	(141)
六、小肠(Small intestine)	(145)
七、大肠(Large intestine)	(147)
八、消化管的淋巴组织及其免疫功能(Lymphoid tissue and immune function of digestive tract)	(148)
九、胃肠的内分泌细胞(Endocrine cells of digestive tract)	(149)
第13章 消化腺(Digestive gland)	(152)
一、唾液腺(Salivary gland)	(152)

二、胰腺(Pancreas)	(154)
三、肝(Liver)	(156)
四、胆囊(Gall bladder)	(161)
第 14 章 呼吸系统(Respiratory system)	(164)
一、鼻(Nose)	(164)
二、喉(Larynx)	(165)
三、气管与主支气管(Trachea and principal bronchus)	(166)
四、肺(Lung)	(168)
第 15 章 泌尿系统(Urinary system)	(175)
一、肾(Kidney)	(175)
二、输尿管(Ureter)	(187)
三、膀胱(Bladder)	(187)
第 16 章 眼和耳(Eye and ear)	(190)
一、眼(Eye)	(190)
二、耳(Ear)	(198)
第 17 章 皮肤(Skin)	(206)
一、表皮(Epidermis)	(206)
二、真皮(Dermis)	(209)
三、皮下组织(Hypodermis)	(210)
四、皮肤的附属器(Auxiliary apparatus of skin)	(210)
五、黏膜皮肤连接(Mucocutaneous junction)	(213)
六、皮肤的功能(Functions of skin)	(213)
第 18 章 男性生殖系统(Male reproductive system)	(216)
一、睾丸(Testis)	(216)
二、生殖管道(Reproductive duct)	(220)
三、附属腺(Auxiliary gland)	(221)
四、阴茎(Penis)	(222)
第 19 章 女性生殖系统(Female reproductive system)	(225)
一、卵巢(Ovary)	(225)
二、输卵管(Oviduct)	(230)
三、子宫(Uterus)	(231)
四、阴道(Vagina)	(236)
五、乳腺(Mammary gland)	(236)
主要参考书目	(240)
附录 1 本教材专业词汇的处理方式	(241)
附录 2 中英专业词汇索引	(242)
附录 3 英中专业词汇索引	(262)
彩图	

第1章 绪论(Introduction)

一、组织学的概念、主要内容和意义

组织学(histology)是研究正常机体微细结构及其相关功能的科学,它是在解剖学的基础上,伴随着**显微镜(microscope)**的发明和应用而发展起来的,它以 microscope 作为主要研究工具,以观察组织切片为基本方法,以细微结构为主要研究对象,故又称**显微解剖学(microanatomy)**。借助于**光学显微镜(light microscope, LM)**所见的结构,称为**光镜结构或显微结构(microstructure)**; **电子显微镜(electron microscope)**下显示的结构则称为**电镜结构或超微结构(ultrastructure)**。

组织(tissue)由细胞和细胞外基质构成,其中细胞是 tissue 的主体成分,是 tissue 的结构和功能单位。人体中的细胞数量庞大(约 10^{15} 个)、种类繁多(约 200 种),各种细胞皆有其一定的形态结构及其相关功能。**细胞外基质(extracellular matrix)**是由细胞产生的物质,包括纤维和基质。细胞外基质构成细胞生存的微环境(microenvironment),对细胞起支持、联系、营养和保护等作用,对细胞的分化、运动和通信也有重要影响。同一种 tissue 中的主要细胞大多具有相同或相似的形态结构及其相关功能。根据主要结构和功能特征,可将 tissue 分为四大类型,即**上皮组织(epithelial tissue)**、**结缔组织(connective tissue)**、**肌组织(muscle tissue)**和**神经组织(nervous tissue)**,称为**基本组织(primary tissue)**。前三种 tissue 又可根据某些特征进一步分类。现代组织学的研究愈来愈多地发现,同一种 tissue 内的细胞有可能具有较大的差别,其结构和功能往往是多种多样的,甚至起源也不同。因此, tissue 分类只是一种归纳性的相对概念,不能机械僵化地理解。几种不同的 tissue 以一定的数量和方式相互结合,组成器官(organ),同一类型的多个器官共同构成系统(system),多个系统构成了个体。由此可见, histology 的主要内容包括各种 tissue 的构成和各器官系统的组织结构,前者习惯上称为组织学总论,后者则称为组织学各论。

Histology 是医学科学中的一门基础课,是医学教育的重要入门课程,故我国医学高等教育历来将其作为重要的主干课程。作为医学生,必须首先熟悉人体的结构(包括大体结构和微细结构),为进一步学习生理学、生物化学、免疫学、病理学以及临床医学奠定坚实的基础。Histology 是以微细结构的形态描述为其基本内容,但随着生命科学的不断发展和深入,现代 histology 内容的不断充实、更新和扩展,涉及的领域日趋广阔,已不仅仅局限于微细结构本身。Histology 已处于当代生命科学多个学科的交互网络之中,且与其中的许多学科关系密切,如分子生物学、细胞生物学、遗传学、生理学、生物化学、免疫学、病理学、肿瘤学、环境毒理学、生物医学工程、计划生育以及多种临床学科等。

二、组织学的发展简史

Histology 的产生和发展迄今约经历了 300 余年的时间,大体上可将其分为 4 个阶段。

1. 细胞与组织概念的建立阶段 1665 年,英国人胡克(Hooke, 1635~1703)用 light microscope 观察软木塞的薄片时,发现软木塞是由大量蜂巢状的小室构成,它将其命名为“细胞(cell)”。虽然他当初看到的只是植物细胞的细胞壁而已,但却创造了“细胞”这个后来对整个生物学影响深远的名称,并开创了利用 microscope 研究生物构造的先河,对生物学的发展具有里程碑意义。在随后的 100 多年中,先后有许多学者利用 microscope 发现了众多的细胞,如意大利人马比奇(Malpighi, 1628~1694)观察了脾、肺、肾、表皮的镜下结构;荷兰人列文虎克(Leeuwenhoek, 1632~1723)发现了精子、红细胞、肌细胞、神经细胞;荷兰人格拉夫(Graaf, 1641~1673)发现了卵泡。1801 年,法国人比沙(Bichat, 1771~1802)提出了“组织(tissu)”一词(法文 tissu 的原意为编织物),他将人体的 tissue 分为 21 种。后来德国人梅耶(Mayer)又将 tissue 重新分类为 8 种,并创用了“histology”一词。

2. 细胞学说和组织学创立与发展阶段 在多年研究动物和植物结构的基础上,德国学者施万(Schwann, 1810~1882)和施莱登(Schleiden, 1804~1881)分别于 1838 年和 1839 年提出了细胞学说,认为细胞是一切动物和植物的结构单位和功能单位,而且新的细胞是由原有的细胞产生的。细胞学说的建立极大地促进了生物学的快速发展,伴随着 microscope 技术、切片技术和染色方法(staining method)的不断改进与充实,人们对细胞认识更加广泛和深入,在此基础上对生物的微细结构有了比较全面系统的认识, histology 作为生物学的一门分支学科就逐步建立起来了。在细胞学说建立后的 100 年间, histology 的研究方法和研究工具得到了极大的发展。在最初的普通 light microscope 的基础上,陆续研制出相差显微镜、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 microscope, 可从各种不同的角度对生物组织进行观察;在普通染色方法(HE 染色)的基础上,不断发明了各种特殊的方法,用以显示 tissue 的各种结构;与生物化学技术的结合,诞生了组织化学,以原位显示 tissue 中的化学成分。

3. 电子显微镜(电镜)的发明和超微结构认识的阶段 1932 年,德国人卢斯卡(Ruska)和科诺尔(Knoll)发明了 electron microscope。利用电镜,人们发现了 tissue 和细胞中更加细小的结构,因为电镜的分辨率达到了 0.2 nm,而光镜的分辨率仅 0.2 μm 。在光镜下,一般仅能看到某些细胞器的基本轮廓,而在电镜下,各种细胞器的结构清晰可见。在电镜的应用和改进过程中,发展起来了与之配套的超薄切片制作技术,使 ultrastructure 的观察更全面更便捷。首先发明的电镜为透射式电镜,后来又出现了以观察物体表面结构为主的扫描电镜。电镜的应用极大地拓展了人们的视野,加深了对生物结构和功能的认识。借助于电镜,人们发现了 tissue 与器官中大量新的细胞种类、细胞间的许多特殊连接结构、各种微细结构的空間位置关系等,为深入阐明细胞、组织和器官的功能提供了新的依据。

4. 当代组织学阶段 近 30~40 年来,科学技术发展迅猛,许多新技术、新设备不断涌现。在原有 histology 方法不断改进的基础上,陆续发明了许多新的研究仪器,如显微分光光度计、共焦激光扫描显微镜、图像分析仪和流式细胞仪等;发展和完善了一批新的技术和

方法,如荧光标记技术、单克隆技术、放射性核素标记技术、免疫组织化学和原位杂交技术等。其中,免疫组织化学和原位杂交技术以其独特的优势而得到更为广泛的应用,应用范围远远超出了 histology 范畴,甚至对整个生物医学的研究都有着深远的影响。此外,近年来发展的组织工程技术也引起了人们的广泛关注。该项技术在体外模拟培养出了皮肤、软骨、骨等器官和组织,为器官再造和移植带来了新的希望,展示了其广阔的应用前景。

我国 histology 研究起始于 20 世纪之初,是与我国现代医学教育和科研事业一同发展起来的。许许多多的 histology 工作者为我国的 histology 发展做出了大量贡献,其中,老一辈著名的组织学家(histologist)马文昭(1886~1965)、鲍鉴清(1893~1982)、王有琪(1899~1995)、张作干(1907~1969)、李肇特(1913~)、薛社普(1917~)、成令忠(1931~2003)等是 histology 工作者的优秀代表,他们在学科建设、科学研究和人才培养等方面所做的贡献具有历史性意义。

三、组织学技术简介

(一) 普通光镜技术

此种技术是指应用 light microscope 进行研究的的技术统称。一般所称的光镜技术是指用普通光学显微镜(简称光镜)观察组织切片(tissue section)的技术,是 histology 研究的最基本的技术方法,其中最常用的经典方法为石蜡切片术(paraffin sectioning),绝大多数的教学切片就是用石蜡切片技术制作出来的。该方法的基本程序如下:

1. **取材和固定** 取适当大小的新鲜组织块,先用固定剂进行固定(fixation),使 tissue 中的蛋白质迅速凝固,防止细胞自溶和组织腐败,以保存 tissue 的正常结构。常用的固定剂如乙醇、甲醛、醋酸、苦味酸等,一般常将几种固定剂配制成混合固定液,以抵消或减弱单种固定剂对 tissue 的收缩或膨胀等缺点,达到更好固定效果。

2. **脱水和透明** 固定后的组织块用流水洗去固定液后,要将组织块放入乙醇溶液进行脱水。脱水的目的是要去除组织块中的水分。脱水方法是从低浓度到高浓度进行系列脱水。脱水后 tissue 中的水分被乙醇溶液替换。由于乙醇溶液不溶于石蜡,因此,在进行石蜡包埋之前要用脂溶性溶剂将乙醇溶液置换出来,一般采用二甲苯进行置换,这个过程称为透明。

3. **浸蜡和包埋** 将组织块置入已融化的石蜡中进行浸蜡,目的是将石蜡浸入到 tissue 中。浸蜡后将熔化状态的石蜡倒入包埋框,再将组织块置入包埋框中适当的位置进行包埋(embedding),此过程在室温下进行。经过数小时以上的自然冷却后,石蜡硬化,组织块即被包埋在石蜡中,经适当的修块后即可进行切片。

4. **切片和贴片** 将包埋有 tissue 的蜡块固定在切片机上,切成 5~10 μm 厚的 tissue section。切片机(microtome)是一种专门用于组织切片的机器,一般所称的切片机是指用于光镜切片的机器(用于电镜切片的称为超薄切片机)。将切片贴在洁净的载玻片上,滴适量的水使其充分展平,然后放置在室温下风干,此过程称为贴片。

5. **脱蜡和水化** 将贴有 tissue section 的载玻片置入二甲苯以脱去 tissue 内、外的石

蜡。脱蜡后载玻片上将只剩下 tissue 本身。然后将切片在乙醇中水化,方向是从高浓度到低浓度,因为一般的染色液是水溶液,与石蜡和二甲苯等脂溶剂互不相溶。

6. 染色 绝大多数的 tissue 成分本身是无色的。为了能很好地分辨组织、细胞和细胞内外的各种结构,可使用各种染料对 tissue section 进行染色(staining)。由于不同的结构成分对各种染料有特定的亲和力,因而结合的染料种类和多少有各自的特点,故可在光镜下进行分辨。可用于 tissue section 染色的染料非常多,可单用一种染料进行 staining,也可用几种染料联合 staining。最常用的 staining method 是用苏木精-伊红联合染色(hematoxylin - eosin staining),简称 HE 染色(HE staining)。HE staining 能显示绝大多数 tissue 的结构情况,因而是切片制作最基本的方法,使用得最为频繁,故也称为普通染色(usual staining)(彩图 1-1)。苏木精是一种碱性染料(basic dye),它可使细胞核内的染色质和胞质内的核糖体着紫蓝色,伊红为一种酸性染料(acid dye),主要使细胞质基质、大多数的细胞器和细胞外基质的多种成分,如胶原纤维等着红色。易于被碱性或酸性染料着色的性质分别称为嗜碱性(basophilia)和嗜酸性(acidophilia),与两种染料的亲和力均不强者,称为中性(neutrophilia)。

7. 水洗和封片 Staining 完成后,用清水洗净染色液,适当风干后,用封固剂进行封片。一般方法是用树胶滴加在 tissue section 上,再用盖玻片紧贴在 tissue section 上,从而将 tissue 封存在载玻片和盖玻片之间,以便长期观察使用(彩图 1-1)。

在一般情况下,用石蜡切片方法制作的切片能基本满足教学与临床需要。但有些 tissue 不适合用石蜡包埋或包埋后的切片效果不理想,特别是某些较大的组织块(如眼球、脑),因而采用某些特殊材料进行包埋,如火棉胶、树脂等。有些坚硬的组织器官在未脱钙的情况下不能切片,而将其磨成薄片,称磨片,如牙磨片和骨磨片。对血液和分离的细胞(如培养的细胞、阴道脱落细胞、精子等)则一般采用涂片的方法,将其直接涂抹在玻片上,制成涂片(smear)。对皮下组织和肠系膜等软组织可直接铺展在玻片上,制成铺片。用于组织化学反应的标本,为了尽可能保存化学成分(特别是酶)的结构与活性,一般是直接将新鲜的组织块放在液氮(-196°C)内快速冷冻,或在恒冷箱切片机(cryostat microtome)中冷冻,然后用恒冷箱切片机切片,即冷冻切片(frozen section)。

除了 HE staining,还有许多其他 staining method,习惯上统称为特殊染色(special staining)。Special staining 一般用于显示某些特定的细胞、结构、化学成分或细胞外基质中的特定成分,这些 special staining 方法弥补了 HE staining 的不足。如镀银染色,是用硝酸银将染色对象(神经元、小肠内分泌细胞、甲状腺滤泡旁细胞、网状纤维、胆小管等)染成黑色;醛复红染色法可将弹性纤维和肥大细胞的颗粒染成紫色;铁苏木精法可清楚地显示心肌闰盘的结构(彩图 1-2);焰红显示小肠潘氏细胞[帕内特(Paneth)细胞];弹性染色显示弹性膜;氯化金染色显示神经末梢等。

另外,为了显示某种细胞、某些特殊结构或特殊成分,在取动物 tissue 之前,活体注射某种物质,以利镜下观察。注射的物质根据所要显示的对象进行选择,但必须是无毒或毒性很小的物质。例如,为了很好地显示巨噬细胞,在取材前几天给动物注射台盼蓝(trypsin blue)染料,染料可被巨噬细胞吞噬,这些细胞内因含有了大量的蓝色颗粒而易于辨认。又如,在血管内注射卡红染料或墨汁,可显示肝、肾和肺等器官内的血管分布(彩图 1-3)。

(二) 特殊光镜技术

某些情况下,人们会遇到一些特殊的观察对象,如活细胞、微小颗粒、tissue 中的特殊成分等。这时,用普通光镜不能满足这类需求,而必须使用特殊的 microscope。这些特殊 microscope 均有各自特殊的构造、原理和使用方法。因而,用于观察的 tissue 样品也常需要做特殊处理,这些样品的处理和普通光镜切片制作有很大不同。现介绍几种常用的特殊 microscope 及其相应的样品制备情况。

1. 荧光显微镜(fluorescence microscope) 用于观察标本中的自发荧光物质或以荧光素染色或标记的细胞和结构。荧光显微镜是以紫外线为光源照射标本,如果标本中含有荧光物质,则可在紫外线的激发下产生荧光,借此可观察该荧光物质在细胞和 tissue 内的分布。机体内许多成分属于自发荧光物质,且不同的荧光物质受激发后产生的荧光往往各不相同。如神经细胞和心肌细胞内的脂褐素呈棕黄色荧光,肝贮脂细胞和视网膜色素上皮细胞内的维生素 A 呈绿色荧光,神经组织内的一些单胺类物质(儿茶酚胺、5-羟色胺、组胺等)在甲醛作用下呈不同颜色的荧光。Tissue 中有些成分本身并无自发荧光特性,但可与荧光素结合,通过荧光素发出的荧光而被间接证明。如 DNA 可与溴化乙啶和吖啶橙结合,故用这两种荧光染料染色后,在荧光显微镜下可根据荧光强度进行 DNA 含量测定。

2. 倒置显微镜(inverted microscope) 这种 microscope 与普通显微镜的主要差别是某些重要部件的位置不同。它的光源和聚光镜位于载物台的上方,而物镜则位于载物台的下方,且大大增加了载物台放置标本的高度,载物台上可放置培养皿或培养瓶,可直接观察体外培养的细胞,可配装显微操作器对细胞进行显微操作,如细胞内注射、抽吸、细胞切割、细胞核移植等。

3. 暗视野显微镜(dark-field microscope) 用于观察某些微小颗粒,这些颗粒可能反差太小,也可能未达到普通光镜的分辨率。普通光镜最大分辨率为 $0.2\ \mu\text{m}$,暗视野显微镜可在一定范围内分辨直径小于 $0.2\ \mu\text{m}$ 的微粒,故适用于观察线粒体和细菌等微粒的运动等情况。暗视野显微镜的主要部件是一个暗视野集光器,光线不能直接进入物镜,故呈暗视野。但标本内的小颗粒产生的衍射光或散射光则进入物镜,故在暗视野中,颗粒呈明亮的小点而得以观察。

4. 相差显微镜(phase contrast microscope) 用于观察活细胞的形态结构及分裂增殖和运动情况,如 tissue 培养中的活细胞、新鲜的精子。活细胞无色透明,普通光镜下不易分辨其轮廓和内部结构。相差显微镜的基本原理是将活细胞各结构对光产生的不同折射程度转换为光密度差异,即明暗差,增强各结构的镜下反差,从而得以观察其微细结构。组织培养研究常用的是倒置相差显微镜(inverted phase contrast microscope),便于观察贴附在培养器皿底壁上的活细胞。用于相差显微镜观察的样品一般不需要做特殊处理。

5. 共焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM) 是从 20 世纪 80 年代发展起来的一种集观测与分析功能于一体的新型仪器。基本原理是以激光为光源,光束经聚焦后落在样品上,并做移动扫描。既可对样品表面进行扫描,还可聚焦于样品内部的不同平面进行断层扫描,扫描信息通过电信号彩色显像,经图像分析系统进行二维和三维分析处理,可得到高反差、高分辨率、高灵敏度的彩色图像。CLSM 可对细胞进行多方面

的探测分析,包括各种成分的定性、定量、定位,并可进行动态分析。分析对象包括各种细胞器、细胞内的多种离子(如 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+})、细胞内各种荧光标记物、多种细胞成分的含量(DNA、RNA、蛋白质等),可对细胞的受体移动、膜电位变化、膜流动性、酶活性和物质转运进行动态测定。此外,还可通过激光的“手术刀”作用,对细胞进行操作,完成诸如细胞膜穿孔、染色体切割、神经元切除、细胞器切除等一系列细胞外科手术。

(三) 电镜技术

电镜技术(electron microscopy)是应用 electron microscope 研究机体微细结构的技术总称。与光镜不同的是,电镜用电子束代替可见光,用电子透镜代替光学透镜,并将不可见的电子束成像于荧光屏上。因此,电镜结构复杂、体积庞大、分辨能力比光镜高得多,可达 0.2 nm。放大倍数达几万至几十万倍,能观察到更加微细的结构,故一般将电镜下观察到的结构称为 **ultrastructure**。用于观察的样品更小,制备过程也更严格。常用的电镜有透射电镜和扫描电镜两种,由于结构和成像原理有所不同,故其样品的制备也各不相同。

1. 透射电镜(transmission electron microscope, TEM) 是以电子束穿透样品,再对透过的电子束进行聚焦和放大,显像于荧光屏上进行观察和摄片。用于电镜观察的 tissue 应尽可能新鲜,以最大限度地保留细胞的 ultrastructure。一般将新鲜组织切成小块(1 mm^3),用戊二醛和锇酸固定,脱水后用树脂包埋,用超薄切片机(ultramicrotome)切成厚 50~80 nm 的超薄切片,再经醋酸铀和枸橼酸铅等重金属电子染色后,电镜下观察。标本在荧光屏上呈黑白反差的结构影像,被重金属浸染呈黑色的结构,称电子密度高,浅染的部分称电子密度低。由于是以电子束穿透样品,故透射电镜所观察到的一般为组织细胞的内部结构(图 1-1,图 1-2)。

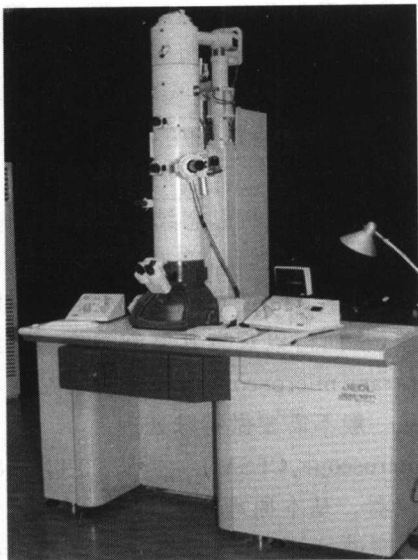


图 1-1 透射电镜

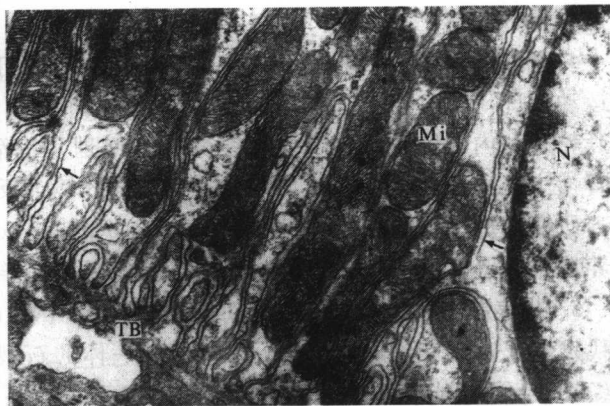


图 1-2 小鼠肾远端小管上皮细胞基部透射电镜图

TB:小管基膜;Mi:线粒体;N:细胞核;↑质膜内褶

2. 扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 用于观察 tissue 表面的立体结构。Tissue 样品用戊二醛和锇酸固定,脱水和临界点干燥后,在样品表面先后喷镀碳膜和合金膜,即可置于镜下观察。扫描图像形成的原理是用极细的电子束喷镀的合金膜进行扫描,将膜反射的二次电子用特制的探测器收集,形成电信号送到显像管,在荧光屏上显示喷镀膜的立体情况,而喷镀膜的形状正是代表了 tissue 样品的表面形状。由于其景深较长,故其图像有较强的立体感,特别适合观察细胞表面的突起、微绒毛和纤毛等(图 1-3, 图 1-4)。

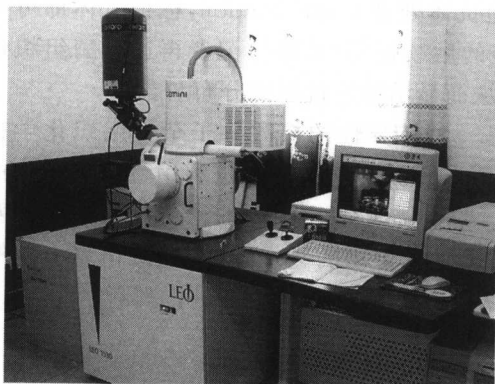


图 1-3 扫描电镜

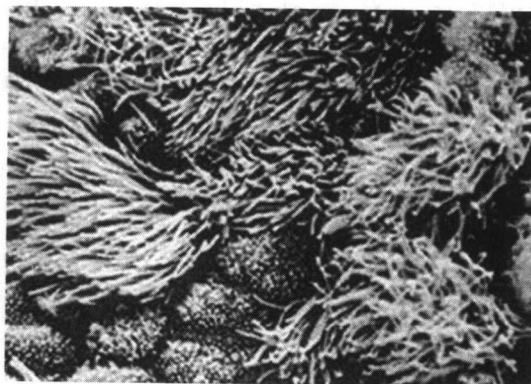


图 1-4 气管上皮表面扫描电镜图

(四) 组织化学技术

组织化学 (histochemistry) 是应用化学、物理、生物化学、免疫学和分子生物学等相关学科的原理与技术,与 histology 技术相结合而产生的一类应用性技术,用以原位显示组织细胞内的某种化学成分,如糖类、脂类、酶、核酸等。通过一系列反应,最终形成有色终末产物而得以在 microscope 下观察。根据呈色反应的部位和强弱,可对其进行定位和定量,并借此分析其相应的功能意义。

1. 一般组织化学技术

(1) **糖类**:通常采用过碘酸希夫反应 (periodic acid Schiff reaction, PAS 反应) 显示糖的存在,如多糖、糖蛋白和蛋白多糖中的糖链。该反应是利用过碘酸的强氧化作用使糖的醇基变为醛基,后者与无色的品红亚硫酸复合物 (希夫试剂) 结合,形成紫红色反应产物 (彩图 1-4)。

(2) **脂类**:一般用脂溶性染料进行 staining,如苏丹类染料、油红 O、尼罗蓝等,也可用四氧化锇 (OsO_4) 染色。为了较好地保存脂类物质,标本通常用甲醛进行固定和冷冻切片。

(3) **酶类**:酶组织化学反应的基本原理是利用酶对底物的催化作用 (如水解、氧化等),产生某种中间反应产物,再利用某种捕获剂与其反应,沉淀形成有色的最终产物。可见酶组织化学染色不是酶本身的直接显色,而是由酶作用底物的化学反应产物显色的。由于酶的种类繁多,现已发展出 100 多种酶的显色方法,虽然方法各异,但都利用了酶对底物的催化活性。

(4) **核酸**:显示 DNA 的传统方法为福尔根反应 (Feulgen reaction)。先用稀盐酸处理切

片,打开脱氧核糖与嘌呤之间的连接键,形成醛基,再与希夫试剂作用,形成紫红色反应产物,故反应原理类似 PAS 反应。还可利用甲基绿-派洛宁反应同时显示 DNA 和 RNA,甲基绿可使细胞核内的 DNA 呈蓝绿色,派洛宁使细胞质和核仁内的 RNA 呈红色。

2. 免疫组织化学技术 (immunohistochemistry) 是应用抗原与抗体结合的免疫学原理,检测细胞内抗原物质(如多肽、蛋白质)的存在与分布。Tissue 中的多肽和蛋白质种类繁多,具有抗原性。将抗原注入另一种动物体内后,该动物将产生相应的特异性抗体(免疫球蛋白)。将该抗体从动物血清中分离提取后用标记物进行标记,即成为标记抗体。常用标记物有荧光素、酶、铁蛋白和胶体金等。用标记抗体处理 tissue section,标记抗体即可与 tissue 内相应的抗原发生特异性结合。通过相应的后续处理(如酶标记者再进行酶组织化学反应),即可观察到相应的反应产物或标记物,从而显示特定抗原的分布与含量。

3. 原位杂交技术 (in situ hybridization) 是一种特异性的核酸分子杂交组织化学技术,是分子生物学技术和组织化学技术相结合而形成的。基本原理是利用带有标记物的已知碱基序列的 RNA 或 DNA 片段(核酸探针),与 tissue section 内的待测核酸按碱基互补原理进行原位结合,即核酸分子杂交。然后通过对标记物的显示,在光镜或电镜下观察待测核酸的存在与定位以及相对含量,从而对该基因的存在与表达活性进行判断。

(五) 放射自显影术

放射自显影术 (autoradiography) 是利用放射性物质的辐射作用,对特定的组织细胞进行研究的方法。一般是先将放射性核素或放射性核素标记的物质注入体内或加入培养基内,让活细胞摄取,然后间隔一定的时间取材、制作切片或细胞涂片,涂抹感光乳胶层,暗处曝光(放射性核素产生的射线使乳胶中的溴化银还原为银粒),显影和定影,即可获知该核素或核素标记物存在的部位及其动态变化,从而了解该细胞的功能状态或该物质在组织细胞内的代谢过程。如用 ^3H 标记的胸腺嘧啶核苷研究细胞的 DNA 合成及其增殖,用 ^{35}S 标记的蛋氨酸研究某些腺细胞分泌物的合成与排泄,用 ^{125}I 观察甲状腺滤泡的碘化部位等。

(六) 图像分析术

图像分析术 (image analysis) 也称形态计量术 (morphometry),是运用数学和统计学原理对 Tissue 和细胞平面图像进行各种数据测量分析,进而获得立体的 tissue、细胞或细胞内成分的相关参数,如数量、体积、表面积、周长等。传统方法是将测试系统(点、线、方格等)投影或覆盖在切片上或照片上,测定出相应的数据,并以同样方法获得若干个样品的数据。然后,将这些在平面图像上测量的数据进行整理,再按有关统计学方法及其相应的数学公式推算出其立体参数。目前已广泛应用图像分析仪 (image analyzer) 及其专用计算机程序代替手工测量分析,大大提高了工作效率。而且还能根据图像的颜色和深浅分析该物质的相对含量。如果采用连续切片,则还可进行 tissue 的三维重建。

(七) 细胞培养术

细胞培养 (cell culture) 是将活细胞在体外模拟体内环境进行培养的技术。如培养的为组织块、器官的较大部分或全部,则分别称为组织培养 (tissue culture) 和器官培养 (organ

culture)。由于组织块和器官难于长久培养,故以细胞培养开展得最为广泛,技术也最成熟。细胞在体外生存必须具有近似体内的生存环境,如充足的营养,合适的 O_2 与 CO_2 比例,适宜的渗透压、pH、温度和湿度等,还需防止微生物污染。组织培养的优势在于可利用各种理化因素(温度、激素、药物、毒物等)对活细胞的直接影响,研究这些因素对细胞增殖、分化、代谢、运动、吞噬、分泌等活动的影响和调节,以及细胞病变、癌变和逆转等机制,以达到在体实验难达到的研究目的。经长期培养而成的细胞群体,称细胞系(cell line);用细胞克隆(cell clone)或单细胞培养而建成的某种纯细胞群体,称细胞株(cell strain)。它们均可在液氮内长期冻存,供随时应用。现已建成多种肿瘤细胞株,广泛用于各类实验研究。

(八) 组织工程

组织工程(tissue engineering)是一种人工构建机体 tissue 或器官的技术,它是细胞培养技术和生物材料学有机结合的产物,目的是为器官缺损患者提供移植替代物。组织工程的主要技术过程如下:首先是根据需要提供选择种子细胞(多为各种 tissue 的干细胞),对种子细胞进行分离与体外培养。同时要具有可被机体降解吸收的生物材料,一般为高分子材料,如聚乙醇酸,用其构建 tissue 或器官支架,然后将培养的种子细胞种植在该支架内进行三维培养,待培养到一定阶段,再将具有特定形状的人工组织或器官移植到机体。经过一段时间的适应性生长,生物材料被机体逐渐降解吸收,人工组织或器官亦开始发挥相应的作用。目前,正在研究构建的组织器官主要有皮肤、软骨、骨、肌腱、骨骼肌、血管、角膜和耳廓等(彩图 1-5)。

(文建国 杨 静)

本章重要词汇

acid dye [ˈæsid daɪ] 酸性染料

acidophilia [ˈæsidəʊfiliə] 嗜酸性

autoradiography [ˈɔ:təureidiɔːgrəfi] 放射自显影术

basic dye [ˈbeisik daɪ] 碱性染料

basophilia [ˈbeisəfiliə] 嗜碱性

cell culture [sel ˈkʌltʃə] 细胞培养

connective tissue [kənəktiv ˈtɪʃuː] 结缔组织

electron microscope [ˈiːlektrən ˈmaɪkrəskəʊp] 电子显微镜

electron microscopy [ˈiːlektrən maɪˈkrəʊskəpi] 电镜技术

epithelial tissue [ˌepiˈθiːljəl ˈtɪʃuː] 上皮组织

extracellular matrix [ˌekstrəˈseljʊlə ˈmeɪtriks] 细胞外基质

Feulgen reaction [ˈfɔɪlgən ri(ː)ˈækʃən] 福尔根反应

hematoxylin-eosin staining [ˌhɪmətəksilin-iːəsin ˈsteɪnɪŋ] 苏木精-伊红染色, HE 染色

histochemistry [ˌhɪstəʊˈkemɪstri] 组织化学

histology [ˌhɪstələdʒi] 组织学