

高等中医药院校实验教材

供临床本硕连读、临床医学、护理学等专业使用

ZUZHIXUE YU PEITAI XUE SHIYAN XUEXI ZHIDAO

组织学与胚胎学 实验学习指导

主编 蔡 朔
副主编 王 旭
主 审 蔡玉文



第二军医大学出版社

Second Military Medical University Press



组织学与胚胎学 实验学习指导

(适用于中医药临床本硕连读、临床医学、护理学等专业使用)

主编 蔡 哲

副主编 王 旭

主 审 蔡玉文



第二军医大学出版社

Second Military Medical University Press

内 容 提 要

本书是与“十一五”全国高等中医药院校国家级规划教材《组织学与胚胎学》配套的实验教材,由从事组胚教学多年的老师编写,由蔡玉文教授主审。全书共 17 章,插图 48 幅,对组织学与胚胎学的实验内容作了较全面的讲述。在内容上突出了专业性、实用性、指导性和学习性,旨在培养学生循序渐进的科学思维,认真观察事物和分析解决问题的能力。为便于学习,在重要部分配有组织结构图;为启迪创新思维,增设了一些综合性实验内容;为提高专业外语水平,适应双语教学的要求,书末列出了组胚的中英文名词 600 余条。

本书适用于中医药院校本科各专业组胚实验课教学。

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学实验学习指导/蔡溯主编. —上海:
第二军医大学出版社, 2009. 9

ISBN 978 - 7 - 81060 - 475 - 8

I. 组… II. 蔡… III. ①人体组织学-实验-中医学
院-教学参考资料②人体胚胎学-实验-中医学院-教学
参考资料 IV. R 32 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 144963 号

出 版 人 石进英
责 任 编 辑 高致远 高 标

组织学与胚胎学实验学习指导

主 编 蔡 溯

第二军医大学出版社出版发行

上海市翔殷路 800 号 邮政编码: 200433

发 行 科 电 话 / 传 真: 021 - 65493093

全 国 各 地 新 华 书 店 经 销

江 苏 南 通 印 刷 总 厂 有 限 公 司 印 刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 7.5 字数: 115 千字

2009 年 9 月第 1 版 2009 年 9 月第 1 次印刷

ISBN 978 - 7 - 81060 - 475 - 8/R · 568

定 价: 15.00 元

前 言

《组织学与胚胎学》是医学生的一门非常重要的基础课。本课程教学过程包括理论课和实验课两部分。实验课是理论课的继续与深化,其目的不仅在于验证理论知识,使学生掌握人体组织、器官基本结构和超微结构,熟练辨认组织、器官的组织切片,进一步巩固所学的组织学理论知识。更重要的结合学校临床本硕、临床医学、护理学等专业的培养目标,训练学生观察研究微观形态的能力,培养与提高学生的独立学习的能力和深入钻研微观事务的能力。结合组胚这一学科的教学特点,特编写《组织学与胚胎学实验学习指导》一书。本书共 17 章,2 个附录,文字约 12 万余字,插图 48 幅。

本书特点:

- 1) 为了适应 21 世纪中医院校的实际情况,我们对实验学习指导内容的编写进行了调整,以突出学习性、专业性、实用性。引导学生循序渐进,从肉眼、低倍到高倍观察,培养学生思考、分析和解决问题的能力。
- 2) 重要部分配有相应的结构图,便于学生观察切片时参考。在验证性实验的基础上,列出本章节实验课自行观察切片、示教片和电镜图片。
- 3) 为适应双语教学的要求,术后附组织学与胚胎学常用英文专业词汇 600 余条,词汇按章节列出,便于学生查阅和掌握。
- 4) 本书突出了对学生的能力培养,结合素质教育,增设了一些综合性实验内容,既可培养学生的动手能力,又有利于加深对理论课内容的理解。
- 5) 为了便于学生自学和复习,本书每章后面增加了复习思考题。

我们尝试对组织学实验学习指导的内容进行调整、编写。本书适应于中医药大学本科各专业组胚实验课教学,以期能使组织学与胚胎学教学质量有所提高,为人才培养发挥作用。

由于时间仓促,编者水平有限,难免存在不妥或疏漏之处,欢迎广大师生惠于指正,并顺致谢意。

辽宁中医药大学实验教学中心
辽宁中医药大学解剖组胚教研室



2009 年 9 月

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 上皮组织	(10)
第三章 固有结缔组织	(17)
第四章 软骨与骨	(21)
第五章 血液与血细胞发生	(25)
第六章 肌组织	(30)
第七章 神经组织	(35)
第八章 循环系统	(41)
第九章 免疫系统	(47)
第十章 消化管	(53)
第十一章 消化腺	(60)
第十二章 呼吸系统	(68)
第十三章 泌尿系统	(73)
第十四章 内分泌系统	(78)
第十五章 男性生殖系统	(83)
第十六章 女性生殖系统	(88)
第十七章 胚胎学总论	(94)
附录一 组胚实验课内容安排	(102)
附录二 组织学与胚胎学专业英文词汇	(105)

第一章

绪论

实验目的

- 1) 熟悉组织学与胚胎学的研究内容,了解常用的研究手段
- 2) 掌握光学显微镜的构造及使用方法
- 3) 掌握绘制显微镜下所见结构模式图的基本技能

组织学实验课主要教学目的是运用显微镜观察人体组织、器官标本的微细结构,并为学习其他有关课程打下基础。通过实习过程的操作和观察标本,达到理论联系实际的目的。实验课不但可以帮助同学们验证和巩固所学的理论知识,而且通过观察组织标本的过程,培养同学们辩证地观察和准确描述所观察事物的能力、独立分析问题和解决问题的能力,培养尊重客观事实的科学态度,并使学生掌握最基本的操作技能。

一、研究方法

组织学与胚胎学的研究技术和方法很多,在此仅介绍最常用的光学显微镜技术和电子显微镜技术。

(一) 光学显微镜技术

1. 光学显微镜的结构与使用方法

(1) 显微镜的构造 显微镜由机械部分和光学部分构成(图 1-1)。

机械部分

1) 镜座: 位于最下部,起支持作用。

2) 镜臂: 呈弓形,作支持和握取之用。

3) 载物台: 即放切片的平台, 中央有圆孔, 称通光孔。台上有片夹和标本推进器, 可沿前、后、左、右方向移动标本。

4) 物镜转换器: 接与镜筒下端, 其上可安装3~4个不同放大倍数的物镜, 可以旋转以更换物镜。

5) 粗螺旋与细螺旋: 用于升、降载物台, 以调节焦距。

光学部分

1) 目镜: 可分5×、8×、10×, 其内常装有指针。

2) 物镜: 可分低倍镜(4×、10×)、高倍镜(40×)、油镜(100×)。

显微镜放大倍数=目镜放大倍数×物镜放大倍数

3) 聚光器: 位于载物台下, 可上下移动。内装虹彩光圈, 可放大和缩小。

4) 反光镜: 在镜座上, 可旋转, 使光线集中至聚光器。有平、凹两面, 平面镜反射光弱, 可用于强光源。凹面镜反射光强, 可用于弱光源。

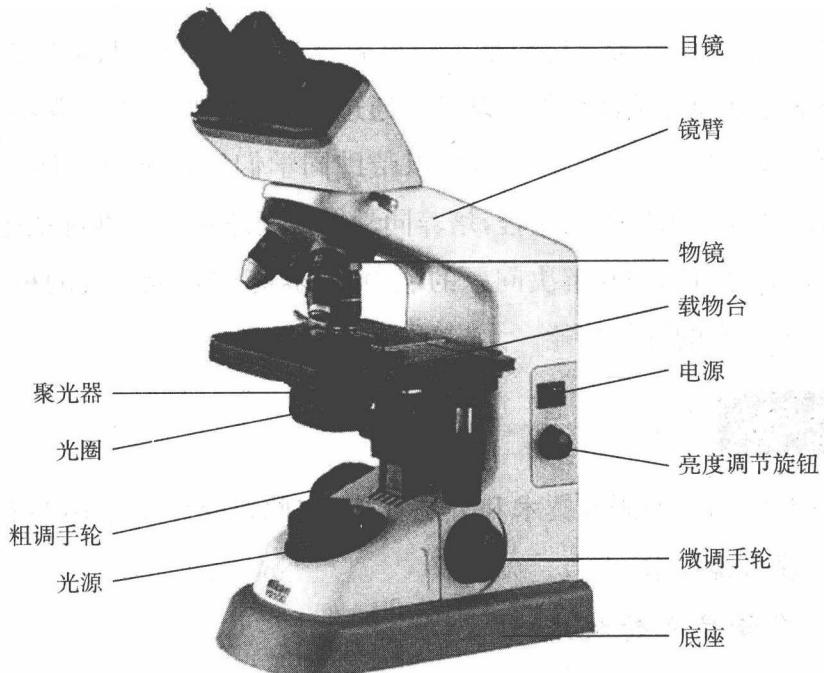


图 1-1 显微镜的构造

(2) 显微镜的使用方法

1) 取出显微镜: 一手握住镜臂, 另一手托住镜座, 保持镜身直立从柜里取出, 置于实验台上观察者正前方偏左侧。

- 2) 使用前准备：揭下防尘罩，放入抽屉内。插上电源，打开开关。
- 3) 对光：用物镜转换器将低倍镜对准聚光器中心，调节聚光器和反光镜使视野明亮。再用手拉动目镜筒滑板，使双眼的视野重合在一起。
- 4) 放置标本：将所要观察的标本由切片盒内取出，首先用肉眼观察组织切片的外形、大小、颜色及盖片有无破损。盖片向上（否则在转换高倍镜时易压碎标本）放在载物台上，用标本夹固定好，将有标本的部分对准通光孔的中心即可观察。
- 5) 低倍镜观察：慢慢转粗螺旋使物镜接近标本 0.5 cm 时为止。这时必须从侧面仔细观察，切勿使镜头把标本压碎。然后双眼在目镜处进行观察的同时，用手转动粗螺旋慢慢下降载物台（或使镜筒上升），直到视野内物像清晰为止，若物像不太清晰可调节细螺旋使物像清晰。利用移动器使标本前后左右移动，以观察标本的全貌。
- 6) 高倍镜观察：在低倍镜下把将要放大观察的部分先移至视野的中央，再转换高倍镜，适当调节细螺旋使物像清晰。
- 7) 观察后处理：将切片标本取下按编号放回盒内，又开物镜镜头，下降载物台，关闭电源开关。拔下电源插头，整理好导线，放在显微镜的右侧。套上防尘罩，把显微镜放回柜中。在登记本上填写使用情况。

2. 数码互动操作要点

(1) 数码互动显微镜操作规程

- 1) 打开电源开关。
- 2) 将遮光板拉出。
- 3) 将光源亮度开到最亮。
- 4) 将聚光镜升到最高位置。
- 5) 将孔径光栏开到 5 点钟的位置。
- 6) 放上标本切片（有盖片面朝上），移动载物台，将标本移到视场外。
- 7) 按下白平衡。
- 8) 调整瞳距尺寸，使双目视野重合。
- 9) 移动载物台，将标本移动到视野内，调整粗、细螺旋认得到最佳视野。

(2) 学生显微镜使用注意事项

- 1) 数码头部的连线不要随意插拔。

2) LSD 光标控制杆移至最左边的调节光度旋钮,可以旋转,力度不宜太大,中间摇杆用来移动光标位置,只能上下左右地摇摆,禁止旋转。切忌用手握持住亮度调节手轮来移动箭头光标,这样会导致内部电器元件损坏,显微镜不能正常使用。

3) 100×油镜在滴油使用后,及时用乙醇和乙醚的混合液擦拭干净,不能用二甲苯擦拭。

4) 关闭显微镜时先把光源调到最暗,先关闭电源开关,后拔掉电源插头。

3. 光镜标本制作方法

(1) 石蜡切片标本的制作 用光学显微镜观察机体的微细结构,必须事先把组织或器官制备成能透光的薄片。实验课中使用的组织学标本大部分为石蜡切片。石蜡切片制备法是经典的组织学技术,具体的制作过程如下:

1) 取材:力求新鲜,避免死亡过久,机体组织结构发生变化。

2) 固定:将组织切成 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$ 小块,侵入固定液中。固定液可使细胞、组织的主要生化成分凝固而保持其结构。最常用的固定液是 10% 的甲醛溶液。

3) 脱水:组织块经过 $70\% \rightarrow 80\% \rightarrow 90\% \rightarrow 95\% \rightarrow 100\%$ 乙醇(酒精),脱出所含水分,因为水与包埋所需要的石蜡不相溶。

4) 透明:乙醇与石蜡亦不相溶,故用二甲苯或者水杨酸甲酯脱出组织块中的乙醇。当透明液成分浸透组织内部时,组织块呈现透明状。

5) 浸蜡:将透明后的组织侵入融化的石蜡中($56\sim60^\circ\text{C}$),经 $2\sim3\text{ h}$ 使得石蜡充分渗透组织内部。

6) 包埋:将浸蜡后的组织块放入含有已融化的石蜡的小盒中,使之冷却变硬。

7) 切片:将含有组织块的蜡块修整后,在切片机上切出 $5\sim10\text{ }\mu\text{m}$ 厚的切片,贴附于载玻片上。

8) 染色:切片在进行染色前,要先用二甲苯脱蜡,经乙醇到水。最常见的染色方法为苏木精(Hematoxylin)-伊红(Eosin)染色法,简称 HE 染色法。配制后的苏木精为碱性染液,可使细胞核内的染色质及细胞质的核糖体等染色成蓝色,组织结构的这种性质称为嗜碱性;伊红是酸性染料,可使多数细胞的胞质染成粉红色,把组织结构的这种性质称为嗜酸性。

9) 封片: 染色后的标本经过各级乙醇脱水, 二甲苯透明后, 用中性树胶加盖片封固, 观察。

(2) 铺片 疏松结缔组织和肠系膜等薄层组织, 可在载玻片上撕开展平, 制成铺片, 待干燥后进行固定和染色。

(3) 涂片 血液等液体材料, 可直接在载玻片上涂片, 干燥后再进行固定和染色。

(4) 磨片 骨和牙等坚硬组织除用酸(如稀硝酸等)脱钙后再常规制切成片外, 还可直接研磨成薄的磨片进行染色观察。

(二) 电子显微镜技术

1. 电子显微镜工作原理

电子显微镜工作原理与光学显微镜相似, 但它是用电子束代替光线, 用电磁透镜代替光学透镜, 当电子束通过标本后, 经过聚焦与放大物像后, 最后透射到荧光屏或照相底版上。

电子束的波长是一定的, 当它通过标本时, 则以构成组织成分的密度及厚度等而发生相应的散射。散射度越强的部分在荧光屏上则越暗, 电镜照片上则越黑, 即所谓电子密度高; 反之, 则电子密度低。电子显微镜切片常用重金属(如铀、铅)染色, 因它能与组织的特定部分结合, 提高电子束的散射度, 以增加物像的对比, 使物像更加清晰。

2. 透射电镜技术

透射电镜术(TEM)因用电子束穿透样品, 产生物像而得名。透射电镜的分辨率为 0.1 nm, 放大倍数为几万至几十万倍。由于电子易散射或被物质吸收, 故穿透力低, 必须制备更薄的超薄切片(通常厚为 50~80 nm)。其制备过程与石蜡切片相似, 但要求极严格。必须在机体死亡后的数分钟内取材, 组织块要小(1 mm^3 以内), 常用戊二醛和锇酸进行双重固定, 树脂包埋, 用特制的超薄切片机切成超薄切片, 再经醋酸铀和柠檬酸铅等进行电子染色。

电子束投射到样品时, 可随组织构成成分的密度不同而发生相应的电子散射, 如电子束投射到质量大的结构时, 电子被散射的多, 因此投射到荧光屏上的电子少而呈暗像, 电镜照片上则呈黑色, 称电子密度高; 反之, 则称为电子密度低。

3. 扫描电镜技术

扫描电镜术(SEM)是用极细的电子束在样品表面扫描,将产生的二次电子用特制的探测器收集,形成电信号运送到显像管,在荧光屏上显示物体(细胞、组织)表面的立体结构,可在荧光屏上观察,也可摄制成照片。

扫描电镜样品用戊二醛和锇酸等固定,经脱水和临界点干燥后,再于样品表面喷镀薄层金膜,以增加二次电子数。扫描电镜观察较大的组织表面结构,由于它的景深长,1 mm 左右的凸凹不平表面也能清晰成像,故样品图像富有立体感。

4. 电镜图像的观察

分析电镜图像时应着重观察以下内容。

(1) 细胞膜和细胞外形 细胞膜结构是否完整清晰;细胞表面是否光滑;有无微绒毛、突起或纤毛等特殊结构;有无细胞膜内陷形成小泡、小管或内褶等;相邻细胞之间有无连接结构;以及细胞与细胞外基质的关系,细胞外基质内有无纤维等结构。

(2) 细胞质 ①膜性结构的细胞器(如线粒体、内质网、高尔基复合体、溶酶体、微体)的形态、数量及分布,膜结构是否完整,细胞器基质的电子密度;②非膜性结构的细胞器的数量及分布等;③包含物(如糖原颗粒、脂滴颗粒)的数量、分布及结构;④特殊结构的有无。

(3) 细胞核 细胞核的大小、形态及位置;核膜双层是否完整清晰,核周隙和核孔的结构,异染色质及常染色质的数量及分布;核仁的数量、大小及结构。

二、观察切片标本时应注意的问题

由于切片标本极薄,在人们的视野中呈现二维的平面结构,然而,细胞、组织、器官本身都是三维的立体结构。因此,切片观察者必须运用空间思维,使看到的平面结构回归到细胞、组织、器官的立体结构。此外,由于切片部位和方向的不同,同一组织或同一直管可呈现不同的切面图像,这一点在初学者需要注意。

在标本制备过程中,常常有不可避免地对一些组织的损伤(既人工假象),这也是观察者需要知道的。如上皮细胞的部分脱落;组织间出现裂隙;小的管腔(如毛细血管)萎陷、消失等。

三、学生绘图的基本要求

绘图在组织学实验课中是一项重要训练。在仔细观察标本的基础上通过绘图记录,以加深对所学内容的理解和记忆。绘图有两种方式:一是描绘镜下实物图;二是将镜下所见与理论内容结合,绘半模式图,现将绘图的方法与要求做简要说明。

1. 绘图用具

绘图工具包括:①红、蓝铅笔(或者彩色笔)和铅笔;②图画本;③尺、橡皮。

2. 方法

(1) 视野 用低倍镜把标本全部浏览以后,找出能代表该组织或者器官结构特征之处,画出一部分,能概括整个标本的主要形态结构即可。

(2) 确定画面 在选择视野之后,用尺在图画本上画出一个大小合适的图框。

(3) 构画草图 将所要求观察的形态结构各个部分,按一定比例轻轻钩出草图,点线图。

(4) 着色 用红、蓝铅笔着色,大部分标本为 HE 染色,一般用红色绘细胞质与细胞外基质,用蓝色绘细胞核,同种颜色可深浅运用,由浅入深,先红后蓝。

(5) 注字 图画好以后注上各种结构的名称,注字要规整,标线要平行整齐,不能有交叉,不要随便拉线,最后在图的下方写出标本名称、放大倍数、染色方法及绘图日期。

四、复习思考题

(一) 填空题

- 组织学是研究机体_____及其_____的科学。
- _____染色法是光镜观察组织切片最常用的染色法。即用_____和_____进行染色。
- 细胞核内的染色质与胞质内的核糖体被苏木精染成_____色,称为_____. 细胞内的细胞质易被伊红染成_____色,称_____,与两者亲和力均不强者称_____。
- 显示多糖最常用方法是_____反应,反应过程为:糖被强氧化剂_____氧化后,形成_____;后者再与无色的_____试剂结合,生成_____色反应产物。

5. 免疫组化技术是根据_____与_____特异性结合的原理,检测组织细胞内肽类及蛋白质大分子物质的分布。
6. LM下所见的形态结构称_____结构,EM下显示的结构称_____又称作_____。
7. 组织是由功能相关的_____与_____构成的。
8. 人体由_____、_____、_____、_____四大基本组织构成。
9. 超薄切片染色常用_____和_____,染色深的结构称为_____,染色浅的结构称为_____。
10. 组织学光镜切片标本制作过程需经过_____和_____,_____和_____及_____和_____等步骤。

(二) 选择题

1. 光镜下观察组织石蜡包埋切片的厚度一般是() μm
- A. 100 B. 1 C. 50
 D. 0.1~0.5 E. 5~10
2. 透射电镜下观察组织切片厚度为()nm
- A. 50~80 B. 100~500 C. 5~10
 D. 1~2 E. 10~20
3. PAS反应是检测组织内的()
- A. 核酸 B. 脂类 C. 蛋白水解酶
 D. 抗原 E. 多糖类
4. 扫描电镜是主要用于观察()
- A. 生物膜内部结构 B. 细胞器的内部结构
 C. 组织和细胞的表面结构 D. 细胞内的多糖
 E. 细胞核内的结构

(三) 是非题

1. 组织在固定包埋后才能做组织切片。()
2. 组织化学和细胞化学染色切片只能在光镜下观察,不能在电镜下观察。()
3. 一种组织中的细胞,它们的起源、形态结构和功能表达都是相同或近似的。()
4. 原位杂交术是蛋白质分子杂交组织化学术。()
5. 酶类显示法的特点是要显示酶的活性表明酶的存在,而不是酶本身。()
6. PAS反应阳性部位即表示多糖的存在。()

(四) 名词解释

1. 组织
2. HE 染色
3. 嗜碱性
4. 嗜酸性
5. 电子密度高
6. 电子密度低
7. 组织工程

(五) 简答题

1. 简述组织学与胚胎学研究内容及其意义。
2. 简述 HE 染色石蜡切片的制作过程。

第二章

上皮组织

实验目的

- 1) 掌握上皮组织的一般特点和分类
- 2) 掌握各种被覆上皮的结构特点和分类
- 3) 熟悉微绒毛、纤毛、紧密连接、中间连接、桥粒、缝隙
连接的结构和功能
- 4) 熟悉基膜的位置、结构和功能

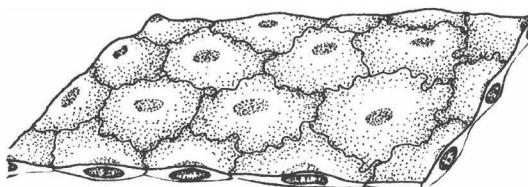
一、单层扁平上皮(间皮铺片)

材料 大白鼠肠系膜。

方法 镀银染色。

肉眼 选择标本染成黄色或淡黄色的地方(最薄之处)观察。

低倍 可见银盐沉积在细胞外基质,显示出波浪状黑线,每一多边形的轮廓即相当于一个单层扁平上皮细胞(图 2-1)。



2-1 单层扁平上皮模式图

二、单层立方上皮

材料 人肾。

方法 HE 染色。

肉眼 深染部位为肾皮质, 淡染部位为肾髓质。把肾髓质部分放到镜下观察。

低倍 肾髓质中可见大小不等的圆形管腔, 管壁是由单层立方上皮围成。选管腔大、细胞界限清楚的部位换高倍镜观察。

高倍 上皮细胞染色较淡, 呈立方形, 细胞界限清楚, 核呈圆形, 染成紫蓝色, 位于细胞中央(图 2-2)。

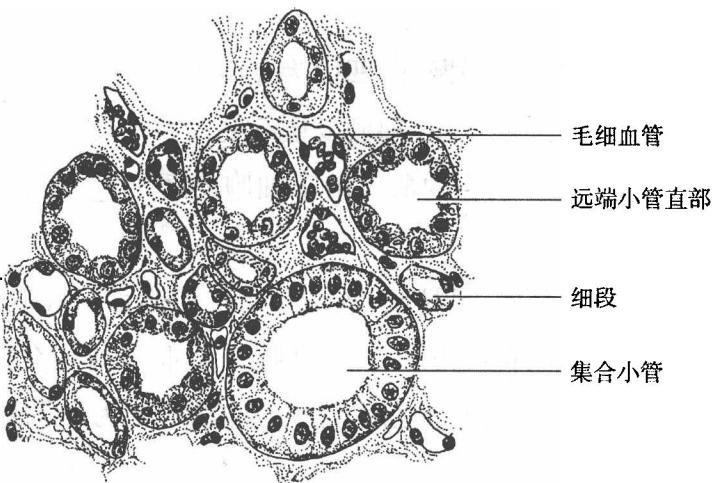


图 2-2 单层立方上皮模式图

三、单层柱状上皮

材料 人小肠(纵断)。

方法 HE 染色。

肉眼 在标本的一侧有几个大的突起为皱襞, 在这些皱襞的表面及皱襞间又有许多小突起, 即绒毛。

低倍 在肠腔面可见到不同断面的小肠绒毛。找到绒毛的表面, 可见一层柱状细胞, 细胞顶部的细胞质染色浅, 基部有一层细胞核。

高倍 上皮细胞的形态为柱状, 细胞界限不清, 核椭圆形, 染色深, 呈紫蓝色, 位于基部。细胞质染成淡粉色。游离面可见厚度均匀一致、颜色

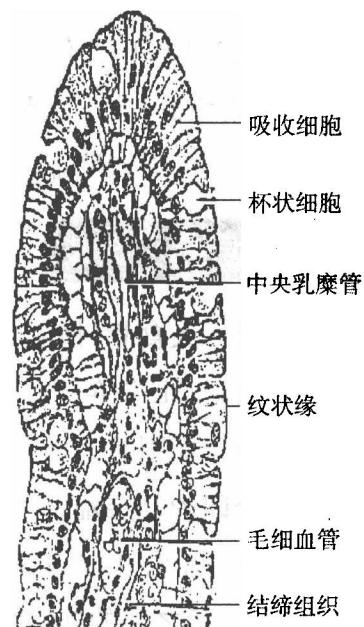


图 2-3 单层柱状上皮模式图