形态学实用技术

Practical techniques in morphology

主编　王燕蓉　何仲义
主审　张建中

第二军医大学出版社
Second Military Medical University Press

形态学实用技术

主　　编　王燕蓉　何仲义

副 主 编　赵承军　马宁芳　景　丽

参编人员　（以汉语拼音排序）

蔡玉芳　常　青　崔　岫　郭凤英

黑常春　焦旭文　李跃萍　刘　娟

马文智　秦　毅　沈新生　王　银

王效军　张莲香　郑小敏　朱万平

主　　审　张建中

第二军医大学出版社

Second Military Medical University Press

内 容 提 要

本书涵盖了组织胚胎学、神经解剖学、神经生物学和病理学等形态学技术的方方面面，既包括传统的常用技术，如光镜、组织固定、样本处理、组织切片塑化包埋技术、冰冻切片、石蜡切片术、振动切片术、常用染色方法、组织化学术、免疫组织化学术、免疫荧光技术、细胞凋亡检测技术、电镜技术、早期胚胎的形态学检测技术等，又介绍了近年来新发展的、有较高实用价值的新技术。对于神经解剖学和神经生物学常用技术，如脑立体定位术、神经示踪技术、膜片钳技术、神经元的染色技术等也进行了详细的介绍。该书既介绍各技术的理论、机制，又着重讲述其应用步骤及注意事项。全书分 14 章、40 节，共 28 万余字。

本书内容丰富、详实，可为研究生和广大科研工作者提供相应的技术指导。

图书在版编目(CIP)数据

形态学实用技术/王燕蓉，何仲义主编. —上海：第二军医大学出版社，2010.4

ISBN 978-7-5481-0032-4

Ⅰ. ①形… Ⅱ. ①王…②何… Ⅲ. ①人体形态学 Ⅳ. ①R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 052885 号

出 版 人 石进英

责任编辑 高 标

形态学实用技术

主编 王燕蓉 何仲义

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

电话/传真：021-65493093

http://www.smmup.cn

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：787×1 092 1/16 印张：11.75 字数：278.6 千字

2010 年 4 月第 1 版 2010 年 4 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5481-0032-4/R·842

定价：33.00 元

序

20世纪以来，生命与医学科学飞速发展，医学科学的教学和研究已从人体宏观和微观组织器官结构观察扩展到了各层次水平上的结构及功能解释，已从原有的范畴扩展为多学科相互联系、相互渗透、由宏观到微观综合研究的庞大学科群。然而，形态学技术以其直观、原位定性和定量的优点，始终是高水平研究论文不可缺少的重要组成部分。形态学（组织胚胎学、人体解剖学和病理学）是基础医学的骨干课程，为医学生和研究生的必修课。目前，形态学实用技术已作为高等医学院校研究生的专业基础课：一方面它能让学生和研究生认证所学的形态学理论知识，另一方面也让他们动手、动脑相结合进行基础性的科学实验，培养从事科学研究能力。南北气候的显著差异造成组织学技术在应用中的不同。《形态学实用技术》是一本集多位常年在西北地区从事形态学教学的教师及技术人员的经验汇编而成的技术书籍，较为系统地介绍了与形态学相关的实验基本技能、实验操作步骤和实验方法及适用范围。在编写过程中，为了适应近年来形态学的飞速发展及分子生物学与形态学技术结合的需要，本书还介绍了各种现代组织学技术和现代组织化学技术。全书共14章，主要包括组织切片制作及常用染色技术、病理学技术、组织细胞培养技术、电镜技术、免疫细胞化学技术、原位杂交技术及原位PCR技术、共聚焦激光扫描显微镜技术、流式细胞术、凋亡检测技术、神经解剖学技术及组织芯片技术。

本书最大的特点是编写人员毫无保留地描述了他们实际工作的经验和体会，对技术上的要点和操作中出现的问题均有详细的说明和相应的解决办法。所选方法可靠、实用。可作为医学研究生、生物学及医学领域从事形态学技术的专业人员以及选修形态学实验的本科生的参考用书。相信本书的出版和发行会对形态学教学和研究做出贡献。

刘斌

2010年3月24日

目　录

第一章　组织的取材和固定 …… (1)

第一节　组织的取材 …… (1)
第二节　组织的固定 …… (3)
第三节　病理组织的取材 …… (7)

第二章　组织切片技术 …… (12)

第一节　石蜡切片制作技术 …… (12)
第二节　冰冻切片技术 …… (15)
第三节　振动切片技术 …… (18)
第四节　组织切片塑料包埋技术 …… (20)

第三章　常用染色方法 …… (24)

第一节　苏木精-伊红染色 …… (24)
第二节　几种常用的特殊染色 …… (26)

第四章　组织化学技术 …… (30)

第一节　多糖类的显示技术 …… (30)
第二节　核酸显示技术 …… (33)
第三节　脂类显示技术 …… (38)
第四节　酶组织化学技术 …… (43)

第五章　免疫组织化学技术 …… (51)

第一节　常用免疫组织化学技术 …… (51)
第二节　免疫组织化学技术应用注意事项 …… (60)

第六章　原位杂交技术及原位 PCR 技术 …… (64)

第一节　原位杂交组织化学 …… (64)
第二节　原位 PCR 技术 …… (82)

第七章　电子显微镜技术 …… (90)

第一节　透射电子显微镜的结构及超薄切片技术 …… (90)

第二军医大学出版社

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

第二节　扫描电子显微镜的结构及生物样品制备技术 …… (95)

第八章　共聚焦激光扫描显微镜技术 …… (99)

第一节　共聚焦激光扫描显微镜基本原理及应用 …… (99)
第二节　免疫荧光标记技术 …… (102)
第三节　激光共聚焦扫描显微镜快速检测组织中增强型绿色荧光蛋白表达 …… (104)

第九章　凋亡检测技术 …… (106)

第一节　TUNEL 末端标记技术 …… (106)
第二节　凋亡相关蛋白检测技术 …… (111)

第十章　神经解剖学技术 …… (115)

第一节　神经示踪技术 …… (115)
第二节　脑立体定位技术 …… (120)
第三节　神经元染色技术 …… (124)
第四节　膜片钳技术 …… (134)

第十一章　组织芯片技术 …… (143)

第一节　组织芯片技术的应用范畴 …… (143)
第二节　组织芯片制作技术 …… (145)

第十二章　流式细胞术 …… (148)

第一节　流式细胞仪的基本原理 …… (148)
第二节　流式细胞技术 …… (149)

第十三章　组织细胞培养技术 …… (153)

第一节　组织细胞培养 …… (153)
第二节　细胞分离技术 …… (163)
第三节　细胞培养中的研究方法 …… (173)

第十四章　早期胚胎的形态学检测技术 …… (179)

第一节　胚卵的采集 …… (179)
第二节　早期胚胎的形态学观察 …… (181)
第三节　胚泡植入点的观察 …… (182)

第一章　组织的取材和固定

第一节　组织的取材

组织制片中取材是非常重要的环节，必须根据教学或科研的目的和要求确定组织的取材部位和方法。不应随意切取任意组织制作组织切片，无论是教学还是科研当然以人的材料为佳，但由于种种原因，不易获取新鲜、正常人的组织材料，因此我们可选择较高级的动物组织作为教学和科研的组织材料，如狗、猴、兔、豚鼠等，本节主要介绍器官组织的常规取材方法及注意事项。

每种器官组织的取材都有一定的部位和方法，一般先取腹腔内的器官组织，切取腹腔内脏器官的程序：首先取肝脏、胆囊，其次取肾、肾上腺，继而取胰腺、脾、胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠等，然后取胸腔及盆腔内的器官组织，最后取神经系统。无论用何种方法处死动物，取材一定要迅速，应在动物处死后立即进行解剖和切取组织材料，否则会引起细胞发生死后变化（如组织自溶等），进而改变甚至失去原有的结构，如果进行酶组化染色，将会使大量的酶失活和丢失。常用的方法如下文所述。

一、整体取出脏器法

原位检查完胸、腹腔的脏器后，再将胸腔、腹腔和盆腔脏器一起取出进行固定，然后再取小标本材料。此种方法特别适合于小鼠、大鼠、豚鼠等小动物。大的实验动物及人体尸体解剖有时也使用此方法。具体操作方法如下：

1）用双刃尖刀从颈部切口处插入下颌骨正中的内侧缘，沿下颌骨内侧缘分别向两侧割断并剥离与口腔底部相连的软组织，从下面拉出舌，以暴露软、硬腭，并在软、硬腭的交界处切断软腭及切断咽后壁。

2）然后一手抓住舌、气管、心和肺等胸腔脏器往下拉，一手用解剖刀分离与其相连的软组织，直达横膈为止。用线分别结扎主动脉、下腔静脉及食管，然后在结扎处的胸腔段剪断，即可将胸腔段的脏器一并取出。或者剪断横膈后，连同腹腔脏器一起取出。

二、单个脏器取出法

根据实验目的和要求，重点检查和研究哪些组织就先分别取出这些组织。这是组织取材中最常用的一种方法，操作起来也比较简单。

三、切取组织块

脏器取出来之后，或者先将整个器官固定后再取小组织块，或者直接将其切成小组织块

固定。注意，当整体固定肝、脑、脾、肺、肾等组织时，先用长的脏器刀沿最长径将其切开，再做数个平行切面，每个切面间大约间隔 1 cm 的距离，这样有利于固定液的渗透。脑组织因比较柔软，最好用纱布将其包裹后再固定；肺组织内含较多空气，往往在固定时浮在固定液表面而影响固定，可以用一条毛巾压在肺组织的上面后再进行固定。

1. 取材的顺序

应根据动物死后组织结构改变的速度的快慢而定。打开腹腔，首先取出消化管，因为消化管在血液循环停止后，黏膜很快发生自溶现象；其次为肝脏、脾脏等多血器官及神经组织；然后才是其他脏器。

2. 取材的大小

切取的组织块应小而薄，大小一般以 2 cm×1.5 cm×0.3 cm 为佳，但有些特殊要求的可视情况而定。

3. 管状及囊状组织的取材

管状及囊状组织（如消化管的取材）都不应斜切。以食管和肠管为例，将取下的管道沿长轴剪开管腔，使之呈一片状，然后将其铺在硬纸板上，黏膜面朝上，被膜面朝下，用大头针或细线将四边固定，用生理盐水轻轻将黏膜表面的食物及黏液漂洗掉，然后固定。胃及胃的移行部位（贲门、幽门）的处理同样。

4. 较小且软的管状脏器的取材

较小且软的管状脏器如输尿管、输精管、输卵管、中等动脉或静脉、神经、脊髓等应取 1～1.5 cm长分段固定。最好平摊在吸水纸上再固定，以防因固定剂的作用而变形。

5. 较小的组织的取材

较小的组织如淋巴结、松果体、脑垂体、神经节等应采用整个器官固定。

6. 神经组织的取材

取材神经组织时最好同时取一纵切面和一横断面，以便于观察。

7. 取材时注意事项

1）取材时严禁机械损伤，不要用镊子、剪刀等去夹、剪任意部位，也不要用手去拽、拉扯组织，应先用镊子轻轻夹住所需组织周围的结缔组织，然后用锋利的手术剪和手术刀剪切下该组织。不可来回切割组织，以免损伤组织，使组织器官变形或内部细胞脱落，影响制片后的观察。

2）取材要尽量注意脏器的完整性，如消化管要保存其黏膜层、肌层及外膜的完整，肝、肾、脾注意不要破坏其被膜等，还要注意组织的面。应根据所要观察的部位进行选择，管状器官一般横切，小肠因有环行皱襞，故以纵切较好。肾脏纵切，脑一般取其表面和脑构成直角的方向做垂直切面，肝、脾、腺体纵、横切均可。对于病理材料，除切取病变部位外，还要切取病变和正常组织交界部分的区域，以利于进行正常组织与病理组织的对比观察分析。

3）所取的组织块较多时放在同一容器内容易混淆，应加标签予以区别。

4）取材时要注明取材时间、组织名称、固定液名称、组织块数量，以备查。

（宁夏医科大学　郭凤英）

第二节 组织的固定

用化学药品使新鲜组织细胞内的成分凝固和沉淀，阻止其死亡后变化，尽量保持其生活状态时的形态结构的过程称为固定。具有这种功能的化学药品则称为固定剂。因此新鲜组织在取材后应该立即投入到固定剂中加以固定，保持组织细胞的原有生活结构。

一、固定的方法

1. 浸泡固定法

这是最常用的固定方法，把取好的材料直接投入到固定液中，固定的时间一般在12～24 h，为保证切片的质量，在固定2～3 h后进行修材并更换固定液。

2. 蒸气固定法

比较小而薄的标本可用锇酸或甲醛蒸气固定。主要用于血液、细胞涂片以及某些薄膜组织的固定。具体方法：在培养皿内滴入1%～2%锇酸水溶液3～5滴，将涂片放入其中，罩上培养皿盖固定1 min左右，立即进行水洗，然后染色。

3. 灌注固定法

这种方法主要用于动物实验标本的固定。把固定液灌注注入血管，经血管分支注入到整个组织或全身，达到充分的固定。

(1) 局部灌注固定

肺组织可将固定液从气管或支气管灌注注入，灌注速度不宜太快，灌注一定的量后，用缓慢吹气法让肺泡扩张后，再灌注适当的量，以免胀破肺泡。肝、肾组织的固定可以从肝、肾动脉注入固定液，同时切断静脉，让血液流出，直到血液排净为止。眼球组织可以从眼后房用注射器注入固定液固定。

(2) 全身灌注固定

一般较大的动物都采用输液灌注法固定，动物麻醉后，将固定液从一侧颈总动脉输入，把另外一侧的静脉切开放血。至流出的液体变淡为止。不同动物固定液的输入量也不相同，兔和猫的灌注量为800～1 200 ml，猴和狗为1 500～2 500 ml。

4. 微波固定法

经微波固定的组织具有收缩小、核膜清晰、染色质均匀、分辨清晰等特点，但必须要控制好微波固定的时间和温度。各种组织的结构不同，成分不一，电子密度不一样，因而固定所需要的温度也不一样。也有文献认为，65℃左右的温度可适合于各种组织的固定，一般小块材料，固定时间在3～4 min。

二、固定的注意事项

1) 组织固定越新鲜越好。组织一经离体，就要及时固定。根据实验，如果要获得某些酶的染色，固定最好在组织离体后30 s至1 min。

2) 固定的组织块不宜过大。一般组织大小以0.5 cm×0.5 cm×0.3 cm为宜。凡要固

定的组织，都不应该太大太厚，因为固定液穿透较大组织时间就会延长。

3）不同类型的组织应适当合理地选择固定液，固定剂的种类繁多，成分复杂，对组织的作用不尽相同，不能千篇一律地使用同一种固定液，而应认真地了解各种固定液的性能和使用方法。

4）组织固定时间不宜太短，也不宜太长。时间太短，就不能很好的固定组织，影响组织固定的效果，切片质量难以保证；固定时间太长会影响抗原的活性。

5）固定液量的足够与否决定着组织固定的成败，固定液的量与组织的比应是 20∶1 甚至 30∶1。固定用的容器应该够大，固定的组织材料不能太多，避免组织中水分渗出影响固定液的浓度，从而影响固定效果。

6）特殊病例或特殊物质应选择特殊的固定液。如要显示狂犬病毒的包含体时，应采用丙酮来固定，显示糖原，可选择无水乙醇或丙酮来固定组织。

7）组织固定后，因固定液渗到组织中，所以必须彻底冲洗，除去固定液，否则会影响下一步的脱水甚至染色。特别对于长时间固定的标本应用流水冲洗，尽可能减少色素沉着。对于混合固定液固定的组织，更要及时冲洗，避免对以后的染色造成影响。

三、常用单纯固定剂

1. 甲醛

甲醛（formadehyde）的商品名称福尔马林。易挥发，有强烈的刺激性气味，呈酸性，其水溶液的饱和度为 36%～40%，是一种还原剂，暴露于空气中易被氧化成甲酸，长时间存放易产生白色沉淀（三聚甲醛）。一般在使用时将其饱和度视为 100%，用水稀释成 10%的甲醛水溶液，因其呈酸性，可用碳酸锂或碳酸钙中和为中性甲醛溶液。甲醛渗透力强，固定均匀，固定的组织略有膨胀。如果组织在甲醛内长期固定，会使组织呈酸性，不利于组织染色，经水洗 12～24 h 即可好转。甲醛可以单独作为组织固定剂，也可以与其他固定剂混合使用。

2. 乙醇

乙醇（alcohol）也称酒精，无色透明液体，能与水以任意浓度混合，具有固定、硬化、脱水作用，渗透力较弱，对组织收缩大，能沉淀蛋白及糖，但遇水仍然能溶解，所以经乙醇固定的组织不能与低于 50%的乙醇接触。乙醇为还原剂，不能与重铬酸钾、锇酸等氧化剂混合使用，一般只用于糖原的固定。

3. 冰醋酸

冰醋酸（glacial acetic acid）是一种有酸性刺激的无色液体，在低温时冻结成冰状，又称冰乙酸。它的渗透力强，能使固定的组织产生一定的膨胀，可以防止组织自溶，组织硬化。多与其他固定剂混合使用。

4. 升汞

升汞（mercuric chloride）即氯化汞，呈白色粉末或针状结晶，有剧毒，使用时应该注意自我保护和环境保护。升汞可以使组织内的蛋白质沉淀凝固，迅速硬化，它的渗透力弱，对组织收缩较大。固定于升汞及其混合液中的组织往往有汞盐沉积，影响切片观察，需经 1%的碘酒脱汞，再进入 5%的硫代硫酸钠（海波）水溶液中去碘。

5. 重铬酸钾

重铬酸钾(potassium bichromate)为橘红色结晶,水溶液呈弱酸性,是一种强氧化剂,渗透力强,对组织收缩小,对细胞质固定良好,对脂类也有固定作用。常与甲醛、升汞配成混合液使用,必须现配现用,固定后的组织因颜色较深,须经水洗 12～24 h,然后脱水。重铬酸钾不能沉淀蛋白质,但能使蛋白质不溶于水。

6. 苦味酸

苦味酸(picric acid)为黄色结晶,强酸性,在空气中能自行燃烧,密闭会发生爆炸。为了使用和运输方便,常以水溶液保存,水溶液的饱和度为 0.9%～1.2%。苦味酸渗透力较弱,对组织收缩大,能沉淀一切蛋白质,具有软化皮肤和肌腱的作用。苦味酸不宜固定过久,最好不超过24 h,否则苏木精等碱性染料不易着色。经苦味酸固定的组织呈黄色,在脱水时换几次乙醇即可褪去,不需特殊处理,对染色也没有影响。若用火棉胶包埋,则需用 70%乙醇加少许碳酸锂脱色,因为苦味酸能软化火棉胶。

7. 锇酸

锇酸(osmic acid),四氧化锇,淡黄色结晶,强氧化剂,光照能使其还原成氢氧化锇,变为黑色沉淀而失效,因此配制的溶液须储存在棕色瓶内避光保存。锇酸为脂肪、类脂质及髓鞘良好的固定剂。它的渗透力弱,易挥发,有强烈的刺激性,对眼结膜和黏膜有损害,使用时注意防护。固定的组织硬而脆,是制备电镜标本常用的固定剂,一般配成 1%～2%水溶液。

四、常用混合固定液

1. Bouin 液

苦味酸饱和水溶液	75 份
甲醛	25 份
冰醋酸	5 份

Bouin 液为实验室常用的固定液,用前将几种液体混合即可。其渗透力强,对组织固定均匀,组织收缩较小,使组织有适当的硬度,能保持细胞的微细结构,组织易染色,其中冰醋酸能固定染色质,苦味酸保持组织硬度,甲醛对冰醋酸的膨胀起调节作用,此液必须现配现用,一般组织固定 12～24 h。

2. Zenker 液

升汞	5 g
重铬酸钾	2.5 g
冰醋酸	5 ml
蒸馏水	100 ml

配制 Zenker 液时将升汞和重铬酸钾用蒸馏水分别加温溶解,混合后冷却过滤,用前加入冰醋酸即可,但加入冰醋酸后必须立即使用,否则失效。经此液固定的组织,细胞核和细胞质着色较好且稳定。一般组织固定 12～24 h,固定后须经流水冲洗 12 h 洗去重铬酸钾,并用碘酒脱汞。其中升汞和冰醋酸可改善对细胞核的固定,冰醋酸能缓解升汞对组织的过度硬化,也可减小重铬酸钾对组织引起的收缩。此液为实验室常用的固定液。

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

3. Helly 液

升汞	5 g
重铬酸钾	2.5 g
甲醛	5 ml
蒸馏水	100 ml

Helly 液是 Zenker 液的改良，用甲醛代替 Zenker 液中的冰醋酸，故不产生铬盐成分，因重铬酸钾未酸化，对染色质固定良好，尤其在显示胞质内特殊颗粒时效果尤为突出。配制时先将升汞和重铬酸钾分别溶解，使用前加入甲醛，必须现配现用，混合 24 h 后即失效。此液与 Zenker 液的不同在于甲醛有少许媒染细胞质的作用，增加组织对酸性染料的亲和力，升汞可减少重铬酸钾对染色质的破坏。多用于骨髓、脾脏、淋巴结、肝脏以及线粒体的固定，固定后处理同 Zenker 液。

4. Susa 液

升汞	5 g
氯化钠	0.5 g
三氯醋酸	2 g
蒸馏水	80 ml
冰醋酸	4 ml
甲醛	20 ml

配制 Susa 液时先将升汞、氯化钠、三氯醋酸分别溶解在蒸馏水中作为 Susa 液的储备液，使用时加入冰醋酸和甲醛混匀即可。此液渗透力强，对组织收缩小，可用于各种组织的固定，尤其适用于难以渗透的组织。一般固定 12～24 h，小块组织固定 4～12 h 即可。固定后不需水洗，可直接进入 80%乙醇中脱水，为避免汞盐沉积，染色过程中用碘酒脱汞处理。

5. Carnoy 液

冰醋酸	10 ml
氯仿	30 ml
纯乙醇	60 ml

Carnoy 固定液渗透力强，小块组织固定数小时即可。此液中乙醇可固定糖原、胞质，冰醋酸可固定染色质，并能缓解乙醇对组织的过度收缩和硬化，是组织化学常用的固定液，尤其适用于糖原与核酸的固定。组织一般固定 12～18 h，固定后直接进入无水乙醇中脱水。

6. 乙醇-福尔马林液

甲醛	1 份
无水乙醇	9 份

乙醇-福尔马林液主要用于肠系膜及皮下组织铺片的固定，显示肥大细胞效果良好，对弹性纤维和胶原纤维的染色效果也不错。固定数小时即可，固定后直接进入无水乙醇脱水。

7. 中性甲醛固定液(pH 值 7.0 左右)

甲醛	100 ml
蒸馏水	900 ml
磷酸二氢钠	3.5 g
磷酸氢二钠	6.5 g

中性甲醛固定液可以减低组织的酸化，有利于细胞核染色，多用于一些特殊染色和组织化学染色的固定。

8. 改良的多聚甲醛缓冲固定液

多聚甲醛	4 g
无水磷酸二氢钠	3.5 g
磷酸氢二钠	6.5 g
蒸馏水	100 ml

改良的多聚甲醛缓冲固定液渗透力较强，组织收缩小，对保存组织细胞的抗原物质较为有利，特别对脂肪及各种酶的固定效果尤为突出。固定时间不宜太久，以不超过 24 h 为宜。此液为常规组织化学和免疫组化固定液。

（宁夏医科大学　朱万平）

第三节　病理组织的取材

一、一般原则

1）大标本检查及描述应根据从表及里，从前往后，由大到小，从上到下以及逐一解剖部位检查描述的顺序进行检查描述。如送检标本为子宫及附件，就要按上述顺序先检查表面、肌层、宫腔、宫颈管、宫颈外口，然后输卵管及卵巢等逐一检查描述。

2）一般非肿瘤标本的肉眼检查要有相应的检查描述，不能遗漏：大小、色泽、形状、质地、结构以及标本数目等。多个标本较大时（每个最大直径＞0.5 cm 者）必须分别描述。标本较大时表面有无渗出物、分泌物以及表面是否被有皮肤或其他组织状况也须有所记录。

3）对于肿瘤标本必须检查描述包括：确切部位、大小、形状、包膜状况、与周围关系、色泽、质地以及结构等（后三项表面及切面情况分别描述）。

较大肿瘤结构中是囊性或是实性、或是囊实性，肿瘤有无出血坏死及出血坏死程度和分布状况、肉眼类型、淋巴结状况（至少分两组分别描述检查及取材。肿瘤周围及周围以远淋巴结，临床分部位取材者依临床分组检查）以及断端状况都必须检查。

肿瘤标本取材应注意其生长浸润情况，不同结构状况、浸润深度状况，肿瘤周围状况（交界处及较远瘤周——肉眼正常 1～2 cm 以远处），淋巴结转移及断端状况等。断端取材必须沿断缘平行取材，不能与切缘垂直取材。

4）囊性结构的肿瘤要检查描述以下几点：囊的大小，是多房还是单房、形状、囊壁厚度，囊内壁状况以及囊内容物和量及性质等。不同囊壁及囊壁状况要分别取材。

5）较小单一标本取一块即可，若较大标本根据不同结构病变分别取材，标本较大但结构较单一取一块也可。

6）肠管切除或有断端标本，断端必须取材。

7）取材大小，一般大小为（1.5～2）cm×1 cm×0.3 cm。根据特殊需要，取材范围可以适当扩大一些。

二、活检组织取材

活检组织包括子宫内膜诊刮、浅表或深部组织穿刺物、皮肤组织、内镜钳取黏膜、微创手术切去不完整组织等。

1）应描述标本的数量、大小（多量时聚堆测量）、形状、色泽和质地等。

2）小量小标本，应全部取材。

3）多量小标本，取材后剩余者应保管好备用。

4）黏膜和皮肤应“立埋”以便观察各层结构。

三、大标本取材

取材时应当记录标本的手术类型，描述和记录标本大小（三维长度、形状、色泽、表面、质地等），球形标本可测直径。切面：沿大面切开，描述和记录其特点，如实性或囊性，各占比例如何，色泽、质地、出血坏死，囊壁厚度，内容物颜色等。编号：数量、剩余组织记录“留”，全部取材时记录（“全包”）“一包”等。重取材要记录。

1. 甲状腺、胰腺等脏器

应间隔一定距离做多个平行剖面，以免漏掉微小肿瘤。取代表性区域，并与正常组织交界处取材，完整瘤体要带包膜。描述和记录标本大小（三维长度、形状、色泽、表面、质地等）球形标本可测直径。

（1）切面　沿大面切开，描述和记录其特点，如实性或囊性，各占比例，色泽、质地、出血坏死，囊壁厚度，内容物颜色等。

（2）取材　取代表性区域，并与正常组织交界处取材。

2. 皮肤和皮下组织

（1）肉眼观察　形状、大小（估计）和三维测量。注意皮肤表面情况（平滑、粗糙、水肿、水疱），是否有毛发附着，是否存在疣状物、乳头、结节状隆起或皮下结节，以及皮肤硬度等全部描述。

（2）取材　应包括肉眼所见的病变和切缘等。

3. 肿瘤

（1）整体观察　肿瘤位置、数量、大小、形状、色泽、质地、活动度、生长方式等；若为溃疡病变，则观察数目、部位、直径、形状、色泽、边缘、深度、底部及有无穿孔等；若为实性肿物，则观察色泽、质地、边界、包膜，是否有浸润、出血、坏死等。

（2）切面　最大径剖面观察囊性、实性、囊实性；如为囊性，则要观察囊壁厚度、内容物、有无乳头及包膜有无破裂等。

（3）取材　肿瘤实质1～4块，与邻近组织之间1～2块，切缘、正常组织必要时适当取材，分别编号。

4. 食管和贲门

辨认送检食管或胃，测长度，辨认上、下切缘，食管纵行剪开，胃沿大弯剪开，观察黏膜面病变部位、形状、大小、深度、范围等。

5. 胃

肉眼检查：术式包括次全切除、全胃切除、残胃切除等。首先测大、小弯长度、注意浆膜面情况，沿大弯剪开。观察胃黏膜：有无溃疡、肿瘤，肿瘤的形状、数目、深度、颜色、质地和浸润深度。

6. 小肠

(1) 肉眼　长度、直径、外形、狭窄、扩张、肿瘤、套叠(部位)粘连等，触摸肠壁有无肿物及其部位，沿系膜剪开肠管。观察：内容物、有无溃疡和肿瘤等逐一观察描述测量。

(2) 取材　如为肿瘤标本，则取肿瘤组织 1～4 块，肠壁全层与正常组织相连处，上、下切缘各一块，系膜淋巴结也应取材。若为肠梗死标本，梗死灶与周围存活组织，以及两者交界处分别取材。

7. 阑尾

(1) 肉眼　测量长、直径，描述表面、腔内容物、壁厚，有无肿物、粪石、阻塞等。

(2) 取材要点　横断面间隔取 2 块组织，如果囊肿或肿瘤要纵破，取肿瘤，有淋巴结者要取材。

8. 大肠

肉眼　确认结肠、描述、测量。如为炎症，则需观察到充血、水肿、表面炎性渗出物、穿孔、粘连，腔内容物色泽、黏膜情况等变化；如为肿瘤则需观测部位、大小、形状、浸润深度，保证取材确切，一定包含两端切缘和系膜淋巴结；若为溃疡，则需描述数目、部位、直径、形状、色泽、底部、出血、穿孔、溃疡间黏膜，并且注意良、恶性溃疡的区别。

9. 肝和胆道

(1) 测量与描述　大小、观察表面有无结节大小，切面颜色、结节大小及其间的间隔；肝内胆管结石形状类型、胆管扩张及其周围变化；若发现肿瘤，则要描述肿瘤大小、硬度、境界、色泽。

(2) 胆囊　肉眼观察外形、长度、浆膜面情况，沿长轴剪开，描述胆汁、结石、数目、形状、色泽、囊壁厚度、质地。如果发现肿瘤，则要描述肿瘤大小、形状、浸润深度。

10. 胰和十二指肠

整体观察　确认术式和器官，测量三维长度，描述。检查胆总管、主胰管有无扩张、结石、肿瘤；胰腺横断面切片，底部保留，如遇肿瘤，肿瘤组织取 3～4 块，要连带周围组织一起取材。

11. 腮腺

整体观察　描述、测量，沿与腮腺长径相垂直方向做平行切面。

12. 喉

(1) 肉眼检查　主要是喉癌：全喉、半喉、声门上喉切除标本。确认标本的上、下、左、右，是否带梨状隐窝、舌骨、甲状腺等(喉有舌骨、甲状软骨、环状软骨)，沿后正中线打开喉，观察肿瘤部位：声门、声门上、声门下、左侧、右侧；瘤体大小、形状、生长方式、侵犯范围、深度、喉外播散等。

(2) 取材　沿喉的长轴取材，瘤组织取 3 块，上下左右切缘、邻近组织、淋巴结各组分别标记。

13. 肺

(1) 肉眼检查　确定肺标本的前后左右的位置，肺测量，三维长度，描述胸膜：有无渗出、纤维化、粘连、肿瘤浸润。沿肺标本长径，从肺外缘水平朝肺门方向剖开，观察病变部位，以及病变与肺和支气管关系。

(2) 取材　若为肿瘤，则肿瘤组织取 3～4 块，连同周围肺组织，取支气管切缘、侵及气管或胸膜者要取材；包括各组淋巴结(气管旁、气管支气管、气管支气管下、叶支气管等)需要逐一取材；脓肿、囊肿、结核球等取材要包含病变部位及周围组织。

14. 肾

(1) 整体观察　注意形状、表面、有无粘连、突出物(大小、实性、囊性)，描述肾门情况，包括动脉、输尿管的长度、直径、有无扩张或狭窄，腔内有无结石或肿块等；观察肾盂有无扩张、结石、肿物等。由肾脏外缘至肾门方向剖开观察肾内病变，从外向内观察包膜是否易剥离、与肾实质是否粘连；观测皮质厚度、色泽、纹理及其走行，观测髓质厚度、色泽、髓放线及其走行；观测肾盂大小、扩张、结石、形状、黏膜情况；如为肿瘤，则观测肿瘤大小、形状、部位(上级、下级、肾盂)、色泽、有无乳头、有无坏死出血，肿瘤累及范围、是否侵及包膜等。

(2) 取材　成人肿瘤，取 2～4 块，其中 1 块加肾组织，而儿童肿瘤则每 1 cm 取 1 块，所有肿瘤包含“无”肿瘤肾组织 1 块，肾盂组织 1 块，输尿管切缘 1 块，淋巴结全部取材。非瘤性病变由皮质向髓质取材 1～3 块，肾盂和输尿管须取材。

15. 膀胱

膀胱剖开　有膀胱的尿道口断端至膀胱底部，将膀胱壁做“Y”形剪开。

16. 前列腺

(1) 肉眼检查　三维长度、尿道长度、精囊。

(2) 剖面　矢状面，间隔 5 mm。仔细查各面。

(3) 取材　肿瘤组织 1～4 块，取包膜和尿道、增生性囊肿钙化等酌取，无病变的每叶 1 块；精囊 1 块，尿道 1 块，淋巴结全部；前列腺碎片组织：选取色黄、质硬组织，多取，至少选 10 块制作切片。

17. 睾丸和附睾

(1) 肉眼检查　剪开鞘膜，暴露睾丸和附睾。矢状面切睾丸(和附睾)：观测精索长度，是否存在静脉曲张等。

(2) 取材　肿瘤者，肿瘤组织 1～4 块，需取邻近组织。无肿瘤的睾丸 1 块，附睾、精索及其周围组织 2 块。

18. 阴茎

(1) 肉眼检查　观测长度、直径，有无炎症、白斑、红斑等，由尿道作矢状面切开，分成两半。

(2) 取材　若为肿瘤，则肿瘤组织取 1～4 块，皮肤和尿道组织各取 1 块，淋巴结，手术断端 1～2 块。

19. 子宫

(1) 肉眼检查　确定子宫的前后位置：前面由阔韧带、腹膜反折较高，沿前壁剖开子宫，测量与描述宫颈三维长度，表面有无糜烂、息肉、肿物、裂伤、宫深、内膜厚度(局灶或弥漫)、宫壁厚度，有无肿物，出血、粗糙等确切位置，浆膜面情况。

(2) 取材　宫颈最少取“十”字交叉四点位置，内膜，肌壁常规取材。如为刮出物、排出物或切咬取物，则将内膜聚堆，三维长度，检查色泽、质地、血凝块、坏死、绒毛泡(成串、单个水肿绒毛)，少量全部取，多量酌情取。

20. 胎盘

(1) 检查　胎膜、脐带、胎盘的胎儿面、胎盘的母体面、单胎性或双胎性，胎盘的形状、直

径、厚度、完整性、颜色、胎粪着色、有无出血；观察胎膜的完整性；测量脐带长度、直径，观察连接胎盘的位置，脐带与胎膜是否融合（帆状胎盘）、存在扭转，脐带血管数，是否存在血肿、血栓形成等。

（2）取材　不同部位的胎盘组织取3～4块，脐带横断面取材。

21. 输卵管和阔韧带

（1）肉眼检查　长度、直径、形状（扩张、内容、与卵巢囊肿相连）、肿瘤，观察浆膜面有无渗出、充血、出血、破口、粘连；伞端是否开放、闭锁、泡状附件；壶腹部是否膨大、破裂、出血、胎盘绒毛、胎盘成分；峡部有无结节、阔韧带有无肿瘤。

（2）取材　无特殊要求一般是峡部、中间部和近壶腹部各1块，妊娠者胎盘绒毛、胚胎全部取材；囊肿、脓肿适量取材。

22. 卵巢

（1）外观　单侧、双侧，连有输卵管，形状、三维长度、颜色、质地、与输卵管关系，被膜：光滑、囊肿、乳头、破裂。切面：包膜厚度、皮质髓质、黄体、白体、小囊肿；肿瘤：按其特点描述。囊肿：要描述囊肿为实性、囊性或囊实性、有无囊内外乳头，壁厚、囊内容物等。

（2）取材　最大径剖开取1块，囊肿壁光滑和粗糙区均取材，实性视颜色和质地不同而取不同区域。

23. 乳腺

（1）肉眼检查　将乳房放于板上，确认哪侧乳房、是否有乳头乳晕（糜烂、溃疡、结痂、凹陷）、皮肤（橘皮样变）、乳腺、胸大肌、筋膜、腋窝组织、新鲜切口（瘢痕）。测量三维。沿乳头与肿物之间的相连线切开乳腺，每隔2 cm平行再剖面，观察肿块大小、色泽、质地、浸润范围等。

（2）取材　乳头、乳晕及其下方乳腺组织1～2块；肿瘤至少3块；要取与正常组织交界处1块。

（3）剥离淋巴结　腋窝区：先确认胸小肌位置，再在腋窝脂肪组织内寻找各组淋巴结全部取材。

24. 脾

（1）肉眼检查　三维测量、包膜厚度、有无梗死、裂口，并注意边缘情况。沿脾长径方向间隔1～2 cm做平行切面，描述颜色、质地、脾小体，以及是否存在梗死、肿瘤等。

（2）取材　常规1～2块，肿瘤1～4块，同其他脏器肿瘤取材。

（宁夏医科大学　景　丽）

参 考 文 献

[1] 刘世新. 实用生物组织学技术[M]. 北京：科学出版社，2004.

[2] 宜家农. 组织学与组织化学技术[M]. 湖南医学院，1986.

[3] 麦兆煌. 病理组织标本制作技术[M]. 北京：人民卫生出版社，1963.

[4] 上海第一医学院病理解剖教研组. 病理检验技术[M]. 上海：上海科学技术出版社，1978.

[5] 李甘地. 组织病理技术[M]. 北京：人民卫生出版社，2002.

[6] Juan R. ROSAI & ACKERMAN外科病理学[M]. 9版. 回允中主译. 北京：北京大学医学出版社，2006.

[7] Westra William H，Hruban Ralph H，et al. 外科病理取材图解指南[M]. 2版//王哲，王瑞安译. 西安：第四军医大学出版社，2009.

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com