



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



iCourse · 教材

全国高等学校医学规划教材

(供临床·基础·预防·护理·检验·口腔·药学等专业用)

组织学与胚胎学

(第2版)

主编 徐 晨



高等教育出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



iCourse·教材

全国高等学校医学规划教材

(供临床·基础·预防·护理·检验·口腔·药学等专业用)

组织学与胚胎学

Zuzhixue Yu Peitaixue

第2版

主 编 徐 晨

副主编 李 和 郝立宏

编 者 (按姓氏拼音排序)

陈晓蓉(安徽医科大学)

郭泽云(昆明医科大学)

霍涌玮(西安交通大学)

李 和(华中科技大学)

梁春敏(复旦大学)

齐建国(四川大学)

唐军民(北京大学)

王 越(第二军医大学)

伍静文(上海交通大学)

徐 晨(上海交通大学)

杨耀琴(同济大学)

钟近洁(新疆医科大学)

周作民(南京医科大学)

董为人(南方医科大学)

郝立宏(大连医科大学)

景 雅(山西医科大学)

李 臻(第四军医大学)

罗国容(广西医科大学)

任彩霞(北京大学)

王 兰(西安医学院)

吴 梅(青岛大学)

肖 岚(第三军医大学)

徐 冶(吉林医药学院)

曾园山(中山大学)

周德山(首都医科大学)

高等教育出版社·北京

内容提要

本书由国家精品资源共享课“组织学与胚胎学”课程负责人、上海交通大学徐晨教授担任主编,全国20余所高等医学院校长期从事“组织学与胚胎学”一线教学的专家教授共同编写完成。第2版教材是在第1版的基础上,对组织学与胚胎学的基本知识、基本内容进行系统地描述。每个章节都有相关内容的插入框,以促进基础理论与临床实践的融合,并注重培养医学生的人文素养;每章后附有英文概要(Summary),以提升学生的专业英语水平;书后列有汉英名词对照和国内外细胞生物学专业网址和组织学与胚胎学专业网址,旨在提高学生的自主学习能力;书中有400余幅精美的彩色插图,其中近250幅为手工精心绘制的模式图,以达到医学形态学教学“一图顶千言”的效果。全书图文并茂,彩色印刷,重点突出,条理清晰。并配有数字课程(包括教学PPT、自测题等数字资源),是对纸质内容的补充和拓展。

本书适用于临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业的本科生和长学制医学生,也可作为医学研究生、临床医务人员及科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学 / 徐晨主编. — 2版. — 北京: 高等教育出版社, 2015.12

iCourse. 教材 供临床、基础、预防、护理、检验、口腔、药学等专业用

ISBN 978-7-04-044256-4

I. ①组… II. ①徐… III. ①人体组织学-高等院校-教材②人体胚胎学-高等院校-教材 IV. ①R32

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第310232号

策划编辑 杨 兵

责任编辑 杨 兵

封面设计 张 志

责任印制 刘思涵

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印 刷 唐山市润丰印务有限公司
开 本 889 mm×1194 mm 1/16
印 张 24
字 数 680 千字
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 2009年1月第1版
2015年12月第2版
印 次 2015年12月第1次印刷
定 价 66.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 44256-00

数字课程(基础版)

组织学与胚胎学

(第2版)

主编 徐晨

iCourse·教材

登录方法:

1. 访问<http://abook.hep.com.cn/44256>, 点击页面右侧的“注册”。已注册的用户直接输入用户名和密码, 点击“进入课程”。
2. 点击页面右上方“充值”, 正确输入教材封底的明码和密码, 进行课程充值。
3. 已充值的数字课程会显示在“我的课程”列表中, 选择本课程并点击“进入课程”即可进行学习。

自充值之日起一年内为本数字课程的有效期
使用本数字课程如有任何问题
请发邮件至: medicine@pub.hep.cn

组织学与胚胎学(第2版)

主编 徐晨

用户名 密码 验证码 4586

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

相关教材



组织学与胚胎学(第1版)
徐晨

组织学与胚胎学(第2版)数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。数字课程分微视频、拓展阅读、本章小结、自测题、教学PPT等资源。充分运用多种形式媒体资源, 极大地丰富了知识的呈现形式, 拓展了教材内容。在提升课程教学效果同时, 为学生学习提供思维与探索的空间。

高等教育出版社

<http://abook.hep.com.cn/44256>

前言

组织学和胚胎学是医学的主要基础课程,因为只有掌握人体的微细结构和胚胎发育过程,才能正确理解与阐明细胞、组织、器官乃至系统的功能活动机制,并为预防先天畸形的发生、提高人口素质而提供有效策略。当今,组织学和胚胎学与其他学科诸如细胞生物学、分子生物学、免疫学、生理学、病理学、发育生物学、医学遗传学等已经相互渗透,交叉融合,携手前行。

《组织学与胚胎学》(第1版)作为普通高等教育“十一五”国家级规划教材,汇集了全国20余所高等医学院校长期工作在“组织学与胚胎学”教学、科研一线的专家教授,于2009年由高等教育出版社出版,教材出版后广受好评。“十二五”期间,教育部启动了国家精品开放课程建设项目,上海交通大学“组织学与胚胎学”原国家精品课程成功转型升级,获得国家级精品资源共享课立项,并于2014年在爱课程网(www.icourse.cn)上线。“iCourse·教材”为国家精品开放课程建设项目成果之一,由上海交通大学徐晨教授主编的《组织学与胚胎学》第2版有幸入选其中,采用“纸质教材+数字课程”的形式出版,使纸质教材更加精练适用,而数字课程是对纸质教材内容的巩固、补充和拓展,为学生自主学习和教师创新教学方法提供了有力支撑。第2版教材在第1版基础上,凝炼文字,精选了400余幅精美的彩色插图,做到图文并茂。注重反映组织学与胚胎学的重要内容和最新进展,并保留了第1版的特色:每个章节都有相关内容的插入框,以促进基础理论与临床实践的融合,并注重培养医学生的人文素养;每章后附有英文概要(Summary),尽量涵盖该章节重要的专业词汇,以提升学生的专业英语水平;书后列有汉英名词对照和国内外细胞生物学专业网址和组织学与胚胎学专业网址,旨在提高学生的自主学习能力。并配有数字课程(包括教学PPT、自测题等数字资源)。

本书的面世,是整个编委会集体智慧的结晶。在此,表示衷心的感谢。同时,也感谢第1版的全体编委(陈晓蓉、窦肇华、冯京生、郭泽云、郝立宏、景雅、雷亚宁、李和、李爱东、刘皓、刘厚奇、罗国容、齐建国、邱曙东、任彩霞、唐军民、王兰、吴梅、徐晨、杨耀琴、曾园山、张庭深、张远强、钟翠平、周德山、周作民)为本教材所做出的贡献。在第2版教材的编写过程中,上海交通大学医学院的潘艺青老师为全书文字、图的处理以及通信联系做了大量的具体工作;副主编李和教授、副主编郝立宏教授在编写过程中提出许多修改意见和建议,郝立宏教授还为全书的图校色、核准。在此一并表示诚挚谢意。

囿于本人学识水平,在撰稿、统稿与审稿中难免存在疏漏甚至舛误,祈请广大读者不吝指正。

上海交通大学医学院

徐 晨

2015年11月

目 录

上篇 组 织 学

■ 第一章 组织学绪论 / 3

- 第一节 组织学的内容和意义 / 3
- 第二节 组织学的发展简史 / 3
- 第三节 组织学的研究方法与技术简介 / 4
- 第四节 组织学的学习方法 / 13

■ 第二章 细胞 / 17

- 第一节 细胞的大小、形态和数量 / 17
- 第二节 细胞的化学组成 / 18
- 第三节 细胞的结构和功能 / 19

■ 第三章 上皮组织 / 29

- 第一节 被覆上皮 / 29
- 第二节 腺上皮和腺 / 36
- 第三节 上皮组织的更新和再生 / 39

■ 第四章 固有结缔组织 / 41

- 第一节 疏松结缔组织 / 41
- 第二节 致密结缔组织 / 48
- 第三节 脂肪组织 / 49
- 第四节 网状组织 / 50

■ 第五章 软骨和骨 / 52

- 第一节 软骨 / 52
- 第二节 骨 / 54

■ 第六章 血液 / 61

- 第一节 血液成分 / 61
- 第二节 造血器官与血细胞发生 / 66
- 第三节 淋巴 / 69

■ 第七章 肌组织 / 71

- 第一节 骨骼肌 / 71
- 第二节 心肌 / 75
- 第三节 平滑肌 / 77

■ 第八章 神经组织 / 81

- 第一节 神经元 / 81
- 第二节 突触 / 85
- 第三节 神经胶质细胞 / 87
- 第四节 神经干细胞 / 89
- 第五节 神经纤维和神经 / 90
- 第六节 神经末梢 / 93
- 第七节 神经纤维的溃变和再生 / 97

■ 第九章 神经系统 / 100

- 第一节 大脑皮质 / 100
- 第二节 小脑皮质 / 103
- 第三节 脊髓 / 107
- 第四节 神经节 / 108
- 第五节 脑脊膜和血 - 脑屏障 / 109
- 第六节 脉络丛和脑脊液 / 111

■ 第十章 循环系统 / 114

- 第一节 血管壁的一般结构 / 114
- 第二节 动脉 / 115
- 第三节 毛细血管 / 117
- 第四节 静脉 / 119
- 第五节 微循环的血管 / 120
- 第六节 心脏 / 121
- 第七节 淋巴管系统 / 123

■ 第十一章 免疫系统 / 126

- 第一节 主要的免疫细胞 / 126
- 第二节 淋巴组织 / 128
- 第三节 淋巴器官 / 129

■ 第十二章 内分泌系统 / 138

- 第一节 甲状腺 / 138
- 第二节 甲状旁腺 / 140
- 第三节 肾上腺 / 140
- 第四节 下丘脑与垂体 / 142
- 第五节 松果体 / 148
- 第六节 弥散神经内分泌系统 / 148

■ 第十三章 皮肤 / 151

- 第一节 表皮 / 151
- 第二节 真皮 / 154
- 第三节 皮肤附属器 / 155
- 第四节 皮肤的老化与再生 / 158

■ 第十四章 眼与耳 / 161

- 第一节 眼 / 161
- 第二节 耳 / 167

■ 第十五章 消化管 / 174

- 第一节 消化管的一般结构 / 174
- 第二节 口腔 / 175
- 第三节 食管 / 177
- 第四节 胃 / 177
- 第五节 小肠 / 180
- 第六节 大肠 / 184

- 第七节 肠相关淋巴组织 / 185
- 第八节 胃肠道内分泌细胞 / 185

■ 第十六章 消化腺 / 189

- 第一节 大唾液腺 / 189
- 第二节 胰腺 / 191
- 第三节 肝 / 193
- 第四节 胆囊 / 197

■ 第十七章 呼吸系统 / 200

- 第一节 鼻腔 / 200
- 第二节 喉 / 201
- 第三节 气管与支气管 / 202
- 第四节 肺 / 203

■ 第十八章 泌尿系统 / 211

- 第一节 肾 / 211
- 第二节 排尿管道 / 222

■ 第十九章 男性生殖系统 / 225

- 第一节 睾丸 / 225
- 第二节 生殖管道 / 233
- 第三节 附属腺 / 234
- 第四节 阴茎 / 235

■ 第二十章 女性生殖系统 / 238

- 第一节 卵巢 / 238
- 第二节 输卵管 / 243
- 第三节 子宫 / 244
- 第四节 阴道 / 248
- 第五节 乳腺 / 248

下篇 胚胎学

■ 第二十一章 胚胎学绪论 / 253

- 第一节 胚胎学的内容 / 253
- 第二节 胚胎学发展简史及其主要分支 / 253
- 第三节 胚胎学的研究方法 / 256
- 第四节 学习人体胚胎学的意义和方法 / 256

■ 第二十二章 受精与胚胎早期发育 / 259

- 第一节 生殖细胞和受精 / 259
- 第二节 胚胎的早期发生 / 261
- 第三节 胎膜和胎盘 / 270
- 第四节 双胎、联胎和多胎 / 274
- 第五节 发育机制概要 / 275

第六节 先天畸形概述 / 277

■ 第二十三章 生殖工程 / 283

第一节 生殖工程研究的内容 / 283

第二节 生殖工程的主要成就 / 288

■ 第二十四章 颜面和四肢的发生 / 292

第一节 鳃器的发生 / 292

第二节 颜面的发生 / 293

第三节 腭的发生 / 294

第四节 舌的发生 / 295

第五节 牙的发生 / 295

第六节 颈的形成 / 296

第七节 四肢的发生 / 296

第八节 先天畸形 / 297

■ 第二十五章 消化系统和呼吸系统的
发生 / 301

第一节 消化系统的发生 / 301

第二节 呼吸系统的发生 / 306

■ 第二十六章 泌尿系统与生殖系统
发生 / 310

第一节 泌尿系统的发生 / 310

第二节 生殖系统的发生 / 314

■ 第二十七章 循环系统的发生 / 321

第一节 心血管系统的发生 / 321

第二节 淋巴管的发生 / 331

■ 第二十八章 神经系统、眼和耳的
发生 / 335

第一节 神经管和神经嵴的早期分化 / 335

第二节 脊髓的发生 / 336

第三节 脑的发生 / 338

第四节 神经节和周围神经的发生 / 340

第五节 眼的发生 / 341

第六节 耳的发生 / 344

第七节 主要先天畸形 / 346

■ 主要参考文献 / 350

■ 附录 / 352

I 国内外细胞生物学专业网址 / 352

II 国内外组织学与胚胎学专业网址 / 353

III 汉英名词对照 / 354



上篇 组 织 学

第一节 组织学的内容和意义

组织学(histology)是由希腊文 histo(组织)与 logos(科学)组成的。组织学是研究正常人体微细结构及其相关功能的科学。微细结构是指在显微镜下才能够看到的结构。最常用的显微镜包括光学显微镜(light microscope, LM, 简称光镜)和电子显微镜(electron microscopy, EM, 简称电镜),因此,微细结构也分为光镜结构和电镜结构。组织学是重要的医学基础课程,也是生命科学的基础学科。学好组织学,才能全面了解人体的形态结构。同时,只有真正深入掌握人体的形态结构,方能透彻理解其功能活动。现代组织学的研究内容已经深入到细胞与分子水平,并与细胞生物学、生理学、病理学、免疫学、遗传学、分子生物学等相关学科交叉渗透、融合并进。因此,学好组织学,将为学习其他基础和临床学科奠定必要的形态学基础和掌握相关的基本技能。

组织学的研究内容包括细胞、组织、器官与系统。

细胞(cell)是人体结构、功能及其分化发育等一切生命现象的基本单位。成人体内大约有 10^{14} 个细胞,分为 200 多种,它们形态不同、功能各异。如果按照其分化程度,则可以进一步分为 600 多种。这些细胞之间相互协调、彼此作用,共同维持着机体的生长、发育、遗传、变异、衰老与死亡等生命过程。

组织(tissue)是由行使相似功能的细胞和细胞间质(intercellular substance)组成的。细胞间质也称细胞外基质(extracellular matrix)。细胞间质由细胞产生,不仅对细胞起着营养、支持、保护和联系等作用,对于细胞的增殖、分化、迁移和信息传递等也有着重要影响。人体大致由 4 种基本组织(fundamental tissue)构成,即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。基本组织以不同的种类、数量与方式形成各种器官。

器官(organ)由不同类型的基本组织以特定的方式组合而成,具有一定的形态结构和特定的生理功能。根据器官中央有无大的空腔,将其分为空腔性器官(如胃、小肠、膀胱、子宫等)和实质性器官(如肝、脾、肺、肾等)。

系统(system)由数个形态结构相似或完全不同,能够协同完成某种系列生理功能的器官组成。人体内有神经、循环、免疫、内分泌、感觉、消化、呼吸、泌尿、生殖等系统。

第二节 组织学的发展简史

组织学的建立首先应归功于显微镜的发明。1590 年,荷兰的詹森父子(Hans Janssen 和 Zacharias Janssen)制作了第一台光学显微镜。1665 年,英国人胡克(Robert Hooke, 1635—1703)用自制的显微镜观察了软木塞以及其他植物组织的薄片,将一层薄壁围成的小室称为细胞(cell)。意大利人马尔比基(Marcello Malpighi, 1628—1694)观察了脾、肺、肾、皮肤等。1684 年,荷兰人列文虎克(Antonie van Leeuwenhoek, 1632—1723)用倍数较高的显微镜观察了细菌、精子、红细胞、肌纤维和神经细胞等。1801 年,法国人比夏(Marie Francois Bichat, 1771—1802)首次提出组织(tissu)一词,他把人体划分为 21 种组织。1819 年,德国人麦耶(August Franz Mayer, 1787—1865)将组织分为 8 种,并创用了组织学(histology)一词。德国植物学家施莱登(Matthias Jacob Schleiden, 1804—1881)和动物学家施万(Theodor Ambrose

Schwann, 1810—1882) 于 1838、1839 年提出:一切植物、动物都是由细胞组成的,细胞是一切动植物的基本单位。这就是著名的细胞学说(cell theory)。恩格斯把细胞学说、罗蒙诺索夫的能量转化与守恒定律以及达尔文的进化论并列为 19 世纪自然科学的三大发现。1858 年,德国人魏尔啸(Rudolf Virchow, 1821—1902)提出了细胞病理学说,认为细胞损害是一切疾病的基础,使得细胞学说更趋完善。

19 世纪中后期,科学家发明了许多组织学技术,从而发现了许多细胞、组织的微细结构。例如,1850 年,德国人莱迪希(Franz von Leydig, 1811—1883)发现并描述了睾丸间质细胞(Leydig cell)。1851 年,德国组织学家柯蒂(Alfonso Corti, 1822—1888)发现了内耳的螺旋器,又称科蒂器(organ of Corti)。1851 年,德国解剖学家米勒(Johannes Peter Müller, 1801—1858)发现了视网膜放射状胶质细胞(Müller cell)。1865 年,意大利人塞尔托利(Enrico Sertoli, 1842—1910)发现了睾丸支持细胞(Sertoli cell)。1882 年,德国解剖学家狄塞(Josef Dissé, 1852—1912)发现了肝血窦与肝细胞之间的窦周间隙,也称狄塞间隙(Disse space)。1886 年,德国病理学家朗格汉斯(Paul Langerhans, 1847—1888)发现皮肤表皮内的朗格汉斯细胞(Langerhans cell)。1888 年,德国生理学家潘内特(Joseph Paneth, 1857—1890)发现了肠腺基底部的帕内特细胞(Paneth cell)。1889 年,意大利人高尔基(Camillo Golgi, 1843—1926)和西班牙人卡哈尔(Santiago Ramón y Cajal, 1852—1934)创立了银染技术,并用于神经细胞与神经组织的研究,发现了高尔基复合体(Golgi complex),他们是现代神经科学的奠基人(两人获得 1906 年诺贝尔奖)。1892 年,德国病理学家尼氏(Franz Nissl, 1860—1919)发现了神经元胞质中的嗜碱性颗粒尼氏体(Nissl body)。1897 年,法国人波因(Pol André Bouin, 1870—1962)发明了如今常用的混合固定液(甲醛-苦味酸-乙酸固定液,即 Bouin 液),使睾丸等组织的固定与染色更加完美。

19 世纪末至今的 100 多年,是现代组织学发展的黄金时代。俄国人梅契尼科夫(Elie Ilya Metchnikoff, 1845—1916)发现吞噬细胞吞噬异物的现象及其与机体防御功能的关系,获得 1908 年诺贝尔奖。英国人谢灵顿(Charles Scott Sherrington, 1857—1952)和艾德里安(Edgar Adrian, 1889—1977)研究神经元功能,提出神经反射学说和“突触”的概念,两人获得 1932 年诺贝尔奖。1954 年,帕拉德(George Palade, 1912—)和佩莱(Sanford Louis Palay, 1918—2002)共同发表了第一张突触超微结构图像。1969 年,赫胥黎(Andrew Fielding Huxley, 1917—2012)等在研究骨骼肌纤维的超微结构与功能的基础上,提出肌纤维收缩机制学说。意大利人蒙塔西尼(Rita Levi Montalcini, 1909—2012)和美国人科恩(Stanley Cohen, 1922—)在下颌下腺中提取大量的神经生长因子(NGF)和表皮生长因子(EGF),并研究了其在神经生长以及胚胎发育方面的重要功能,两人获得 1986 年诺贝尔奖。

我国的组织学研究始于 20 世纪初,组织学家马文昭(1886—1965)、鲍鉴清(1893—1982)、王有祺(1899—1995)、张作干(1907—1969)、李肇特(1913—2006)、薛社普(1917—)、成令忠(1931—2003)等教授在该领域的学科建设、科学研究和人才培养等方面都做出了杰出的贡献。

组织学的发展历史充分说明,组织学新理论和新技术的发现与发明有力地推动了其他相关医学学科的发展与进步。

第三节 组织学的研究方法与技术简介

随着现代科学技术的不断进步,组织学的研究方法与技术同样得到了迅速的发展。其原理广泛涉及物理学、影像学、化学、免疫学、生物化学和分子生物学等学科。

一、光学显微镜技术

(一) 普通光学显微镜技术

应用普通光学显微镜观察人体微细结构是组织学最常用的研究技术。可以将被观察物体放大 1 000~1 500 倍,分辨率可达 0.2 μm (图 1-1)。标本制作通常可以分为切片法和非切片法两种。

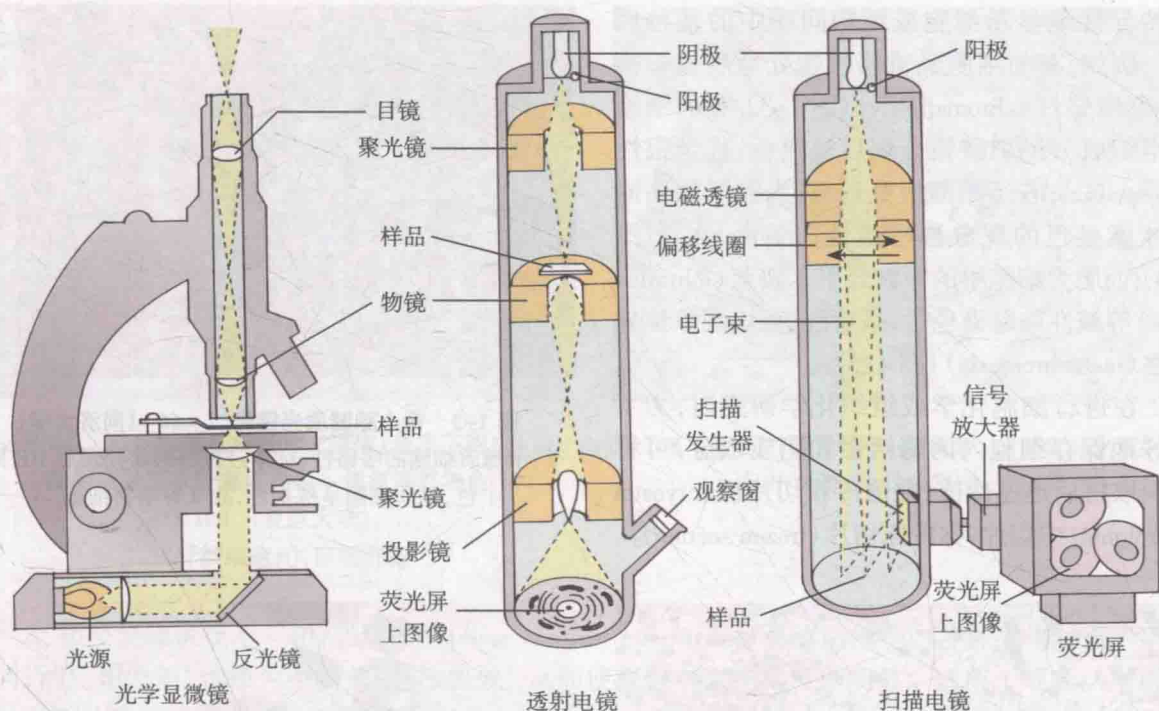


图 1-1 光学显微镜、透射电镜与扫描电镜比较

1. 切片法 石蜡切片术(paraffin sectioning)是最常用的技术,其基本程序包括取材、固定、脱水、包埋、切片、脱蜡和染色等主要步骤。

(1) 取材与固定:用蛋白质凝固剂(例如甲醛、乙醇、丙酮等,混合固定液如 Bouin 液、Carnoy 液、Zenker 液等)固定新鲜的组织块(一般以不超过 0.5 cm^3 大小为宜),目的在于保持细胞、组织在生活状态下的形态结构。

(2) 脱水与包埋:组织经固定后,还要通过浓度逐级上升的乙醇将其所含的水分脱除。因乙醇不溶于包埋剂石蜡,故需用二甲苯(xylene)置换出组织块中的乙醇;然后将组织块放在融化的石蜡中,使石蜡液浸入组织细胞内,冷却后组织块便具有石蜡的硬度。除石蜡外,其他包埋剂还有火棉胶、树脂、塑料等。

(3) 切片与染色:将包有组织的蜡块用切片机(microtome)切成 $5\sim 10 \mu\text{m}$ 的薄片,贴于载玻片(glass slide)上,此切片称石蜡切片。切片经二甲苯脱蜡后,进行染色。最常用的染色方法是苏木精(hematoxylin)和伊红(eosin)染色,简称 HE 染色。苏木精为碱性,可使细胞核内的染色质以及细胞质内的核糖体等染成紫蓝色;伊红呈酸性,可使细胞质以及细胞外基质中的成分染成粉红色(图 1-2)。细胞或者细胞间质中的成分易于被碱性染料和酸性染料着色的性质分别称为嗜碱性(basophilia)和嗜酸性(acidophilia),而对碱性染料和酸性染料亲和力都比较弱的现象称中性(neutrophil)。

(4) 封片:切片经脱水、透明后,滴加中性树胶并覆以盖玻片进行封固(mounting)后,便可在显微镜下进行观察。

除 HE 染色外,还有许多其他染色方法,能

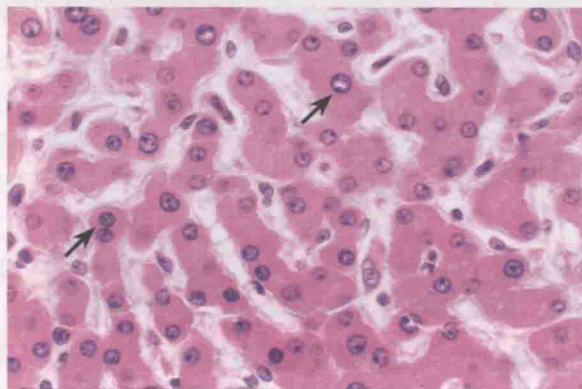


图 1-2 肝细胞光镜像 HE 染色 $\times 132$ (同济大学)
↑:肝细胞

够特异性地显示细胞或细胞间质中的某种成分。例如,有的细胞经重铬酸盐处理后呈棕褐色,称嗜铬性(chromaffinity)(图1-3);有的细胞或组织成分经硝酸银处理后呈黑色,称亲银性(argentaffin);若经硝酸银处理后,尚需添加还原剂才能显色的现象称嗜银性(argyrophilia)(图1-4);而肥大细胞中的颗粒经甲苯胺蓝(toluidine blue)等碱性染料染色后,呈紫红色,该现象称异染性(metachromasia)(图1-5)。

在进行细胞化学或组织化学研究时,为了更好地保存细胞内的酶活性和脂质成分,可将组织取材后迅速冷冻,在恒冷箱切片机(cryostat microtome)中切片,称冷冻切片(frozen section)。

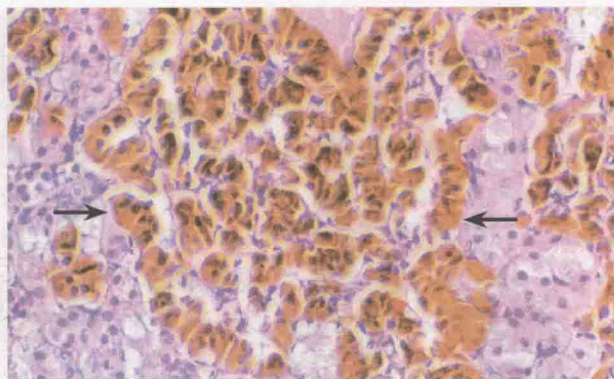


图1-3 肾上腺髓质光镜像 ×66 (同济大学)

↑:示髓质细胞的嗜铬性,标本经重铬酸盐处理后 HE 染色,髓质细胞呈棕褐色,故又称嗜铬细胞



图1-4 网状纤维光镜像(猫淋巴结髓质) 镀银 高倍
↑:网状细胞;↓:网状纤维



图1-5 肥大细胞光镜像(大鼠皮下组织)甲苯胺蓝染色
×132 (同济大学)

2. 非切片法 系指不经包埋、切片等步骤制作切片的方法。例如,将血液、精液、分离细胞、脱落细胞等直接涂在载玻片上,称涂片(smear)(图1-6);将肠系膜、疏松结缔组织等柔软组织拉展成薄片后贴在载玻片上,称铺片(stretched preparation)(图1-7);将骨、牙等坚硬的组织打磨成薄片,称磨片(ground section)(图1-8)。

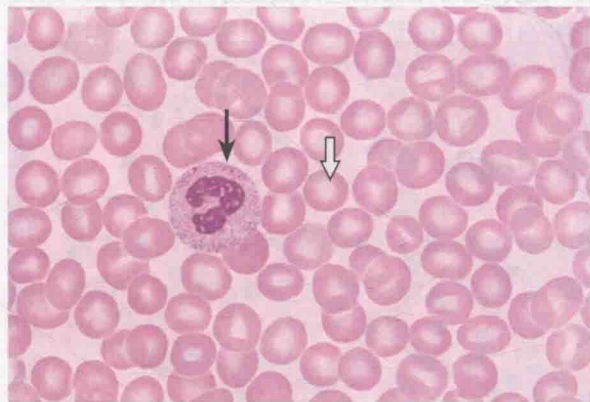


图1-6 血涂片光镜像 瑞特(Wright)染色
×990 (北京大学)

↑:中性粒细胞;↓:红细胞

(二) 特殊光学显微镜技术

常用的特殊光学显微镜技术包括:

1. 荧光显微镜技术 荧光显微镜(fluorescence microscope)以紫外线为光源,能够激发细胞、组织内的荧光物质或者荧光染料发出荧光。适用于观察细胞、组织内各种自发荧光物质,也可以观察被荧光素或者荧光染料标记的细胞、组织结构。常用的荧光素有异硫氰酸荧光素(fluorescein-isothio-cyanate, FITC)、碘化丙啶(propidium iodide, PI)等。

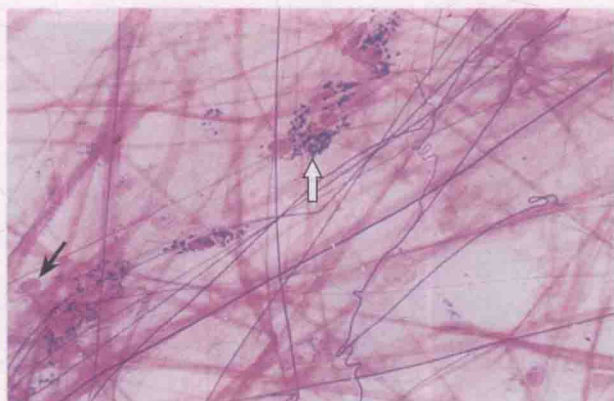


图 1-7 疏松结缔组织铺片光镜像(兔皮下组织)
注射台盼蓝 + 醛复红染色 + 偶氮洋红染色
× 100 (复旦大学)
↑: 成纤维细胞; ↑: 巨噬细胞

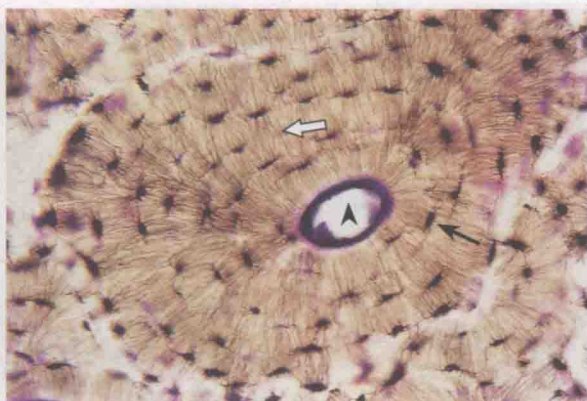


图 1-8 骨磨片(长骨骨干)光镜像 × 198 (北京大学)
▲: 中央管; ↑: 骨陷窝; ↓: 骨小管

2. 相差显微镜技术 相差显微镜(phase contrast microscope)可将活细胞内各种结构对光产生的不同折射(相位差)转换为明暗差别(振幅差),从而使观察对象结构反差明显。适用于观察活细胞和未经染色的形态结构。而倒置相差显微镜(inverted phase contrast microscope)可观察生长在培养瓶中的活细胞,并进行摄片及录像以记录活细胞的增殖、分裂和运动等行为。

3. 暗视野显微镜技术 暗视野显微镜(dark field microscope)是以胶体粒子的反射和散射现象即廷德尔效应(Tyndall effect)为基础设计的。由于暗视野显微镜是利用被检物体表面散射的光层来观察被检物的,所以能够看到被检物体的存在和运动,但不能清晰分辨物体本身的微细结构。适用于观察位于液体介质内未染色的细菌、酵母、真菌及血液内白细胞等的运动情况。

(三) 激光扫描共聚焦显微镜技术

激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscope, LSCM)以激光作为激发光,通过计算机控制的扫描装置,获得细胞和组织内部微细结构的荧光图像,能观察细胞形态和细胞内各种成分的细微变化,并可动态地检测细胞内各种离子、pH、膜电位等生理信号,而广泛地应用于组织和细胞的形态学、分子生物学、生物化学、神经生物学、生理学、药理学和遗传学等领域的研究。与传统的荧光显微镜相比,激光扫描共聚焦显微镜采用了共轭光路,有效抑制了同一焦平面上非测量点的杂散荧光以及非焦平面上的荧光,从而解决了荧光标记物质结构重叠、影响荧光图像分辨率等问题,因此它能得到分辨率、灵敏度、清晰度和对比度更高的荧光图像(图 1-9A, B);其相对较快的图像采集速度也使得活细胞动态观察成为可能,并且能对细胞和组织的三维荧光图像进行扫描,使得多重荧光标记观察更为简便和准确。

根据激光扫描共聚焦显微镜扫描方式的不同,可分为狭缝式激光扫描共聚焦显微镜、台阶式激光扫描共聚焦显微镜和光束式激光扫描共聚焦显微镜。目

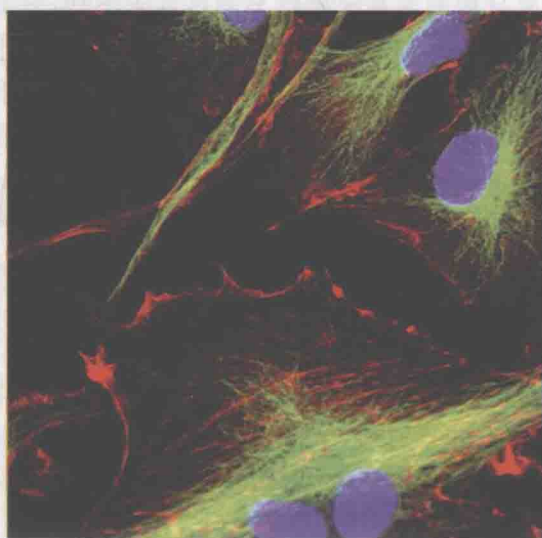


图 1-9A 激光扫描共聚焦显微镜像 示细胞骨架
(肺动脉内皮细胞)
(蓝色:细胞核;红色:微丝;绿色:微管)



图 1-9B 激光扫描共聚焦显微镜像 示大鼠附睾上皮 $\times 630$

前又陆续发展了双光子和多光子激光扫描共聚焦显微镜,能用较长的激发波长来观察发射波长短的荧光物质,进一步提高了荧光图像的清晰度。

二、电子显微镜技术

电子显微镜技术简称电镜技术,是应用电镜研究机体超微结构(ultrastructure)的重要手段。与光镜相比,电镜用电子束代替可见光,用电磁透镜替代光学透镜(聚光镜、物镜和目镜),将肉眼看不见的电子束成像于荧光屏上(见图 1-1)。

(一) 透射电镜技术

透射电镜(transmission electron microscope, TEM)是通过电子枪发射的电子束穿透观察样品后,经电磁场的聚合放大并在荧光屏上显像。由于电子束在不同的电压下(一般为 50~100 kV)产生不同的短波长,所以电镜的分辨率可达 0.1~0.2 nm,放大倍数可以从数千倍到几百万倍。由于电子束的穿透能力较弱,故样品的厚度以不超过 100 nm 为宜(一般 50~80 nm)。可见,样品的制备十分关键。其主要过程与普通光镜样品制备技术类似:新鲜取材(机体死亡后的数分钟内完成),组织块(大小以不超过 1 mm³ 为宜)用戊二醛(glutaraldehyde)和锇酸(osmic acid)依次固定,脱水后树脂包埋,用超薄切片机(ultramicrotome)切成厚度为 25~100 nm 的超薄切片(ultrathin section),裱贴于铜网上。再用醋酸铀(uranium acetate)和枸橼酸铅(lead citrate)等重金属盐进行电子染色,即可在电镜下观察。电镜下所看到的结构通常称超微结构(图 1-10)。细胞被重金属盐染色结合的部位(如溶酶体),因电子被散射多,投射到荧光屏上的电子少而呈较黑暗的图像,称电子密度高(electron-dense);反之图像则较明亮,称电子密度低(electron-lucent)。

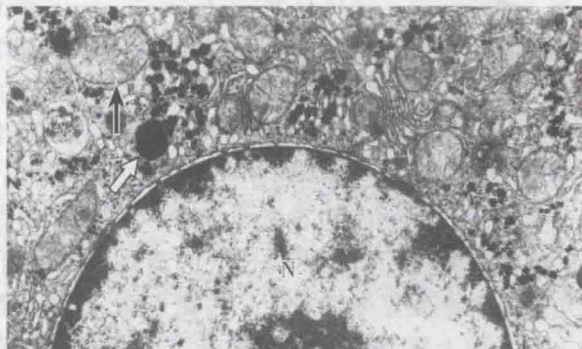


图 1-10 肝细胞透射电镜像(大鼠) $\times 17\ 200$
(吉林大学)

N:细胞核;↑:线粒体;∩:溶酶体

(二) 扫描电镜技术

扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)是通过极细的电子束(电子探针)在样品表面扫描,将样品表面产生的二次电子用探测器收集,形成电信号送达荧光屏上显像。主要用于观察较大的样品表面结构,图像富有三维立体感,如细胞的微绒毛、纤毛等(图 1-11)。其分辨率为 6~10 nm。样品的制备过程为:样品经戊二醛和锇酸固定、脱水和临界点干燥后,表面喷碳、镀上薄层金膜(以

增加二次电子数,从而提高其导电性和图像反差)等。

(三) 冷冻蚀刻复型和冷冻切断技术

冷冻蚀刻复型技术(freeze etch replica)的样品制备主要步骤如下:①冷冻:将样品组织浸入冷冻保护剂中,然后再将样品放入液氮(-196°C)内快速冷冻。②断裂:在真空条件下使样品断裂,断裂面常为组织、细胞的薄弱部位,如细胞膜脂质双分子层的疏水极之间。③蚀刻:在真空内使温度回升到 -100°C ,使断裂面含游离水较多之处的冰晶升华,形成凹凸不平的“浮雕”效果。④复型:在断裂面上先后喷镀铂和碳,形成金属复型膜,称复型(replica)。用次氯酸钠等腐蚀液将组织溶解,取复型膜在透射电镜下观察(图 1-12)。

细胞膜的脂质双分子层被劈分开以后,其外层的内表面称胞质外面或 E 面(extracellular face, E face),其内层的外表面称胞质面或 P 面(plasmic face, P face)。P 面常见许多膜内粒子, E 面则较少。一般认为,膜内粒子是细胞膜结构中的镶嵌蛋白颗粒的图像(图 1-13)。膜内粒子的数量与分布随膜的功能状态而变化,因此,冷冻蚀刻复型技术适用于生物膜内部结构与功能的研究。

冷冻切断技术(freeze cracking)是将固定、包埋的样品组织在低温(-196°C)下切断,断面喷镀金属膜,在扫描电镜下观察断面的立体结构。适合于观察组织内部微细结构的相互关系,如肾小囊与血管球的关系(图 1-14),肝细胞与胆小管的关系等。

三、组织化学与细胞化学技术

组织化学(histochemistry)与细胞化学(cytochemistry)技术是利用物理和化学反应的原理,使组织、细胞内某种待检化学成分形成有色沉淀物,便于在光镜或电镜下对其进行定性、定位甚至定量研究。

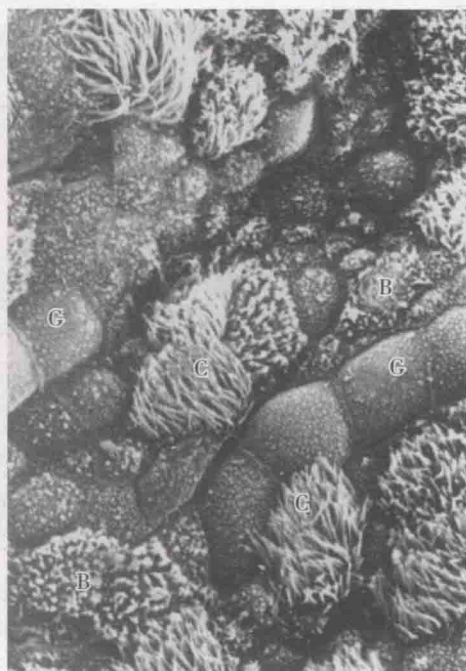


图 1-11 气管黏膜表面扫描电镜像(大鼠)
 $\times 17\,200$ (吉林大学)

B: 刷细胞; C: 纤毛细胞; G: 杯状细胞

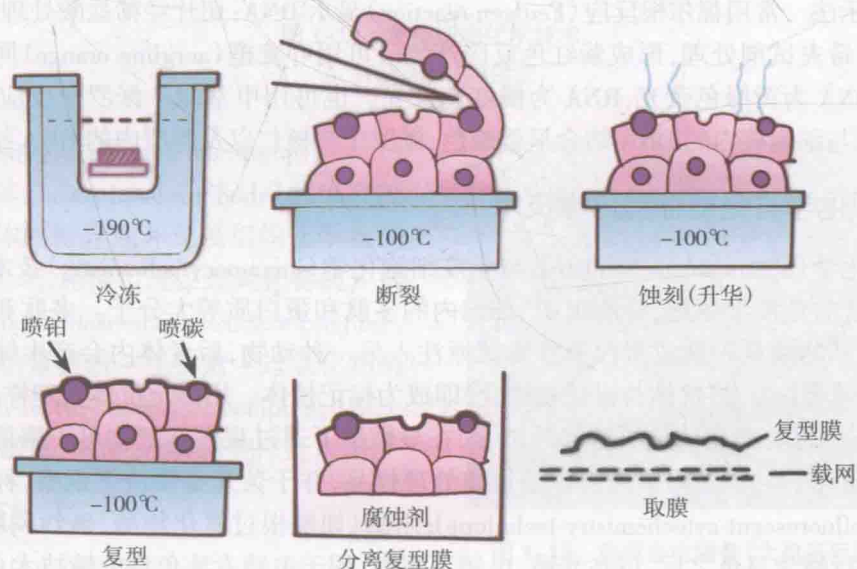


图 1-12 冷冻蚀刻复型标本制备示意图