

高等医药院校试用教材

(供医学、儿科、口腔、卫生专业用)



组织学与胚胎学

主编 尹 昕 副主编 王 彦 刘 强

东北师范大学出版社

高等医药院校试用教材

(供医学、儿科、口腔、卫生专业用)

组织学与胚胎学

主 编	尹 昕
副主编	王 彦
	刘 强

东北师范大学出版社

责任编辑 王翠婷
封面设计 李冰彬

组 织 学 与 胚 胎 学
ZUZHIXUE YU PEITAIXUE

主编 尹 昕 副主编 王 彦 刘 强

•
东 北 师 范 大 学 出 版 社 出 版
(长春市斯大林大街110号)
吉 林 省 新 华 书 店 发 行
长 春 市 全 安 印 刷 厂 印 刷

•
开本:787×1092毫米1/16 印张:20 字数:474 000
1987年2月第1版 1987年2月第1次印刷
印数1——22 000册

ISBN 7—5602—0009—5/R·1
统一书号: 14334·1 定价: 3.35元

编写说明

本书是根据高等医药院校《组织学与胚胎学》教学大纲和统考大纲的要求，在全国统编教材的基础上，结合各校的教学实践经验，由白求恩医科大学、中国医科大学和哈尔滨医科大学联合编写而成。

编写本书的目的是想为高等医药院校医疗、卫生等各专业提供试用教材或自学参考书。此出也可供大学生物系师生参考。

全书分上、下两篇。上篇组织学部分，包括细胞、基本组织、器官系统；下篇为胚胎学部分，包括胚胎早期发生、器官与系统的发生。为了便于理解和记忆，全书编写以形态结构为主，恰当地联系了功能及相关知识。还注意适当地反映本学科新的发展及其研究成果。

本书编写过程中，尽量着力于使其内容充实、新颖，文字简洁、易懂，主次分明，重点突出，图像清晰、适用。

本书由尹昕主编，王彦、刘强为副主编。聂毓秀、葛春芳、宋可钦、董崇田参与了编著。书中电镜照片由白求恩医科大学提供。全书340余幅插图是由三校绘图室专职人员精心绘制的。本书曾邀请王敬之、成启威、孙旭光同志参与审阅，在此致以衷心地感谢。

由于编者水平有限，书中难免有疏漏之处，恳切希望试用本教材的同志和读者提出批评指正。

编者 1987. 1 .21.

目 录

绪 论

一、组织学与胚胎学的研究内容	1
二、组织学与胚胎学的研究方法	1
(一) 常用光镜标本制备技术	1
(二) 电子显微镜技术	2
(三) 组织化学技术	4
(四) 放射自显影技术	7
(五) 组织培养技术	7
三、组织学与胚胎学研究中应注意的问题	8
(一) 局部与整体的关系	8
(二) 结构与功能的关系	8
(三) 静态与动态的关系	8
(四) 理论与实践的关系	8

上篇 组 织 学

第一章 细胞	9
一、细胞膜	10
(一) 细胞膜的化学组成和分子结构	10
(二) 细胞膜的主要功能	11
二、细胞质	13
(一) 线粒体	13
(二) 核糖体	14
(三) 内质网	15
(四) 高尔基复合体	16
(五) 溶酶体	17
(六) 微体	18
(七) 细胞骨骼	18

(八) 中心体	20
(九) 内含物	20
三、细胞核	21
(一) 核膜	21
(二) 染色质与染色体	22
(三) 核仁	22
(四) 核基质	23
四、细胞增殖周期	23
(一) 间期	23
(二) 分裂期	23

组织学总论

第二章 上皮组织	25
一、被覆上皮	25
(一) 被覆上皮的类型和结构	25
(二) 上皮细胞的特殊结构	28
二、腺上皮与腺	30
(一) 外分泌腺与内分泌腺	30
(二) 外分泌腺的结构	31
(三) 外分泌腺的分类	31
(四) 腺细胞的分泌方式	33
第三章 结缔组织	34
第一节 固有结缔组织	35
一、疏松结缔组织	35
(一) 纤维成分	35
(二) 基质	36
(三) 细胞成分	37
二、致密结缔组织	41
三、脂肪组织	42
(一) 白色(或黄色)脂肪组织	42
(二) 棕色脂肪组织	42
四、网状结缔组织	42
(一) 网状细胞	42

(二) 网状纤维.....	42
第二节 软骨组织与软骨.....	43
一、软骨组织的结构.....	43
(一) 软骨细胞.....	43
(二) 基质.....	44
(三) 纤维.....	44
二、软骨膜.....	44
三、软骨的发育和生长.....	44
(一) 附加生长.....	44
(二) 间质性生长.....	44
四、软骨的类型.....	45
(一) 透明软骨.....	45
(二) 弹性软骨.....	45
(三) 纤维软骨.....	45
第三节 骨组织与骨.....	46
一、骨组织的结构.....	46
(一) 骨间质.....	46
(二) 骨组织的细胞成分.....	47
二、长骨的结构.....	48
(一) 松质骨.....	48
(二) 密质骨.....	49
(三) 骨膜.....	49
(四) 骨髓.....	50
三、骨的发生.....	50
(一) 骨化的方式.....	50
1. 膜性骨化.....	50
2. 软骨性骨化.....	50
(二) 骨的生长与改建.....	53
(三) 影响骨生长的因素.....	53
第四节 血液与淋巴.....	54
一、血液.....	54
(一) 红细胞.....	54
(二) 白细胞.....	55
(三) 血小板.....	58
二、淋巴.....	59
三、血细胞的发生.....	59
(一) 骨髓.....	59
(二) 血细胞的发生过程.....	59
第四章 肌组织.....	65
一、骨骼肌.....	65
(一) 骨骼肌纤维的一般结构.....	65
(二) 骨骼肌纤维的超微结构.....	66

(三) 骨骼肌纤维的收缩机理.....	68
(四) 骨骼肌纤维的分型.....	68
(五) 肌肉的构造.....	68
二、心肌.....	69
(一) 心肌纤维的一般结构.....	69
(二) 心肌纤维的超微结构.....	69
三、平滑肌.....	70
(一) 平滑肌纤维的一般结构.....	70
(二) 平滑肌纤维的超微结构.....	71
(三) 平滑肌纤维间连接与排列方式.....	71
第五章 神经组织.....	73
一、神经元.....	73
(一) 神经元的结构.....	73
(二) 神经元的分类.....	75
(三) 突触.....	77
二、神经纤维.....	79
(一) 有髓神经纤维.....	79
(二) 无髓神经纤维.....	81
(三) 周围神经.....	81
三、神经胶质细胞.....	83
(一) 中枢神经系统的神经胶质细胞.....	83
(二) 周围神经系统的神经胶质细胞.....	84
四、神经末梢.....	84
(一) 感觉神经末梢.....	84
(二) 运动神经末梢.....	85

组织学各论

第六章 神经组织.....	87
一、周围神经系统.....	87
(一) 脑脊神经节.....	87
(二) 植物神经节.....	88
二、中枢神经系统.....	88
(一) 脊髓.....	88
(二) 小脑皮质.....	89
(三) 大脑皮质.....	91
(四) 脑脊膜.....	93
第七章 循环系统.....	95
一、毛细血管.....	95
(一) 毛细血管的结构.....	95

(二) 毛细血管的类型.....	95	一、消化管的基本结构.....	124
(三) 毛细血管与物质交换.....	96	(一) 粘膜.....	124
二、动脉.....	97	(二) 粘膜下层.....	125
(一) 中动脉.....	97	(三) 肌层.....	125
(二) 小动脉.....	98	(四) 外膜.....	125
(三) 大动脉.....	98	二、消化管各段的结构.....	125
(四) 动脉的年龄变化.....	99	(一) 口腔.....	125
三、静脉.....	99	(二) 咽.....	128
(一) 静脉管壁的一般结构.....	99	(三) 食管.....	128
(二) 静脉瓣.....	100	(四) 胃.....	128
四、微循环.....	100	(五) 小肠.....	132
五、心脏.....	101	(六) 大肠.....	135
(一) 心脏的组织结构.....	101	三、消化管的免疫功能.....	137
(二) 心脏的传导系统.....	102	四、消化管的内分泌功能.....	138
六、淋巴管.....	103	五、消化管的血管、淋巴管与	
(一) 毛细淋巴管.....	103	神经.....	139
(二) 淋巴管与淋巴导管.....	104	第二节 肝与胆道.....	140
第八章 免疫系统	105	一、肝.....	140
一、淋巴组织.....	105	(一) 肝小叶.....	140
二、淋巴器官.....	106	(二) 门管区.....	145
(一) 胸腺.....	106	(三) 肝的血液循环.....	145
(二) 淋巴结.....	108	(四) 肝内胆汁排出经路.....	146
(三) 脾.....	112	(五) 肝的淋巴管和神经.....	146
(四) 扁桃体.....	114	(六) 门管小叶与肝腺泡.....	146
(五) 单核吞噬细胞系.....	115	二、胆囊与胆管.....	147
第九章 皮肤	117	(一) 胆囊.....	147
一、表皮.....	117	(二) 胆管.....	147
(一) 表皮的分层和角化过程.....	117	第三节 胰腺.....	147
(二) 非角质形成细胞.....	118	一、外分泌部.....	148
二、真皮.....	120	(一) 腺泡.....	148
三、皮下组织.....	120	(二) 导管.....	148
四、皮肤的附属器.....	120	二、内分泌部(胰岛).....	149
(一) 毛发.....	120	(一) A细胞.....	149
(二) 指(趾)甲.....	122	(二) B细胞.....	149
(三) 皮脂腺.....	122	(三) D细胞.....	149
(四) 汗腺.....	122	(四) PP细胞.....	150
五、皮肤的血管、淋巴管和神经.....	123	第四节 唾液腺.....	150
(一) 血管.....	123	一、大唾液腺的一般结构.....	150
(二) 淋巴管.....	123	(一) 腺泡.....	150
(三) 神经.....	123	(二) 导管.....	150
第十章 消化系统	124	二、三大唾液腺的结构特点.....	151
第一节 消化管.....	124	第十一章 呼吸统系	152

一、鼻腔	152
二、喉	153
三、气管与支气管	153
四、肺	155
(一) 导气部	155
(二) 呼吸部	156
(三) 肺的血管、淋巴管和神经	159
第十二章 泌尿系统	160
一、肾	160
(一) 肾单位的结构和功能	160
(二) 集合小管	167
(三) 近血管球复合体	167
(四) 肾间质	168
(五) 肾的血管和神经	168
二、排尿器官	170
第十三章 内分泌系统	171
一、甲状腺	171
(一) 滤泡	171
(二) 滤泡旁细胞	173
二、甲状旁腺	173
(一) 主细胞	174
(二) 嗜酸性细胞	174
三、肾上腺	175
(一) 皮质	175
(二) 髓质	176
(三) 肾上腺的血管分布	177
四、脑垂体	178
(一) 腺垂体	178
(二) 神经垂体	181
五、松果体	182
第十四章 感觉器官	184
第一节 眼	184
一、眼球	184
(一) 眼球壁	184
(二) 屈光装置	189
二、眼的附属器官	191
(一) 眼睑	191
(二) 泪腺	191
第二节 耳	192
一、外耳	192
(一) 耳廓	192
(二) 外耳道	192

(三) 鼓膜	192
二、中耳	192
(一) 鼓膜	192
(二) 咽鼓管	192
三、内耳	192
(一) 骨迷路	193
(二) 膜迷路	193
第十五章 男性生殖系统	198
一、睾丸	198
(一) 曲精小管	198
(二) 睾丸的间质	203
(三) 直精小管和睾丸网	203
二、生殖管道	203
(一) 附睾	203
(二) 输精管	203
三、附属腺	204
(一) 精囊腺	204
(二) 前列腺	204
(三) 尿道球腺	205
四、阴茎	205
第十六章 女性生殖系统	206
一、卵巢	206
(一) 卵泡的发育与成熟	207
(二) 排卵	208
(三) 黄体形成与退化	208
(四) 卵泡闭锁与间质腺	210
(五) 门细胞	210
二、输卵管	210
三、子宫	211
(一) 子宫壁的结构	211
(二) 子宫内膜的周期性变化	212
(三) 卵巢和子宫内膜周期性变化的神经内分泌调节	214
(四) 子宫颈	214
四、阴道	215
五、乳腺	215
(一) 乳腺的一般结构	215
(二) 静止期乳腺	215
(三) 活动期乳腺	215

下篇 胚胎学

人体胚胎学总论

第一章 生殖细胞和受精	218
一、精子的发生和成熟	218
二、卵子的发生和成熟	220
三、受精	221
(一) 受精过程	221
(二) 受精的结果	223
(三) 受精的条件	223
(四) 人工受精与试管婴儿	223
第二章 人胚早期发育	224
一、卵裂与胚泡形成	224
(一) 卵裂	224
(二) 胚泡形成	225
二、二胚层时期(第2周)	225
(一) 植入(第6~12天)	225
(二) 二胚层的形成	228
三、三胚层时期(第3周)	228
(一) 中胚层与脊索的发生	228
(二) 神经管的形成	231
(三) 原始心血管系统的形成	231
(四) 绒毛膜的形成	231
四、体节期(第4周)	232
(一) 圆柱状胚体的形成	233
(二) 外胚层的分化	234
(三) 中胚层的分化	234
(四) 内胚层的分化	235
五、胚胎完成期(第5~8周)	235
第三章 胎儿期外形的特征(第9~38周)及胚胎龄的推算	236
一、胎儿期(第9周~出生)	236
二、胚胎龄测定和预产期计算	236
(一) 胚胎龄测定	236
(二) 胚胎高度测量法	236
(三) 预产期的计算	238
第四章 胎膜(胎儿的附属结构)与胎盘	240

一、胎膜(胎儿的附属结构)	240
(一) 羊膜	240
(二) 卵黄囊	241
(三) 尿囊	241
(四) 脐带	241
(五) 绒毛膜	242
二、胎盘	243
(一) 胎盘的结构	244
(二) 胎盘的功能	245
第五章 孪生、联体与多胎	247
一、孪生	247
二、联体	248
三、多胎	248

人体胚胎学各论

第六章 颜面、咽、口腔及鼻腔的发生	249
一、颜面的发生	249
(一) 鳃弓的发生与演变	249
(二) 颜面的形成	249
二、咽和咽囊的发生与演变	251
(一) 咽囊的演变	252
(二) 甲状腺的发生	252
三、口腔的发生	253
(一) 舌的发生	253
(二) 腭的发生	253
(三) 牙的发生	254
四、鼻腔的发生	255
五、先天性畸形	256
第七章 消化与呼吸系统的发生	258
一、消化系统的发生	258
(一) 咽的发生	258
(二) 食管的发生	259
(三) 胃的发生	259
(四) 肠的发生	260
(五) 直肠的发生——泄殖腔的分隔	262
(六) 肝及胆道系统的发生	263
(七) 胰的发生	264
二、呼吸系统的发生	264
第八章 泌尿与生殖系统的发生	267

一、泌尿系统的发生.....	267	(一) 脑的发生.....	297
(一) 肾和输尿管的发生.....	267	(二) 脊髓的发生.....	298
(二) 膀胱和尿道的发生.....	270	二、周围神经系统的发生.....	299
(三) 先天性畸形.....	270	(一) 神经节发生.....	299
二、生殖系统的发生.....	271	(二) 植物性神经节的发生.....	300
(一) 生殖腺的发生.....	271	(三) 传出神经纤维的发生.....	300
(二) 生殖管道的发生.....	274	三、脑垂体、松果体与肾上腺的	
(三) 外生殖器的发生.....	275	发生.....	301
(四) 先天性畸形.....	277	(一) 脑垂体的发生.....	301
第九章 体腔与系膜的发生.....	279	(二) 松果体的发生.....	301
一、体腔的发生.....	279	(三) 肾上腺的发生.....	301
(一) 原始体腔的形成.....	279	四、先天性畸形.....	302
(二) 原始体腔的分隔.....	280	第十二章 眼与耳的发生	303
(三) 膈的发生.....	281	一、眼的发生.....	303
(四) 先天性畸形.....	281	(一) 视网膜的发生.....	303
二、系膜的发生.....	281	(二) 虹膜的发生.....	303
(一) 腹系膜的演变.....	281	(三) 睫状体的发生.....	303
(二) 背系膜的演变.....	282	(四) 脉络膜的发生.....	303
(三) 先天性畸形.....	283	(五) 角膜与巩膜的发生.....	303
第十章 循环系统的发生.....	284	(六) 晶状体的发生.....	303
一、心血管系统的发生.....	284	(七) 眼睑的发生.....	305
(一) 原始心血管系统的建立.....	284	(八) 先天性畸形.....	305
(二) 心脏的发生.....	284	二、耳的发生.....	305
(三) 弓动脉的发生与演变.....	290	(一) 内耳的发生.....	305
(四) 胎儿血液循环.....	291	(二) 中耳的发生.....	305
(五) 先天性畸形.....	293	(三) 外耳的发生.....	305
二、淋巴系统的发生.....	295	(四) 先天性畸形.....	306
(一) 淋巴管系统的发生.....	295	第十三章 先天性畸形.....	307
(二) 淋巴结的发生.....	295	一、先天性畸形的原因.....	307
(三) 脾的发生.....	296	(一) 遗传因素引起的先天性畸形.....	307
第十一章 神经系统的发生.....	297	(二) 环境因素引起的先天性畸形.....	307
一、中枢神经系统的发生.....	297	二、胎儿先天性畸形产前诊断方法.....	309

绪 论

一、组织学与胚胎学的研究内容

在医学中,组织学(histology) 主要是研究人体的微细结构及其与功能的关系,胚胎学(embryology) 主要是研究人体的发生过程、先天性畸形及其成因。机体的微细结构及其功能是在发生发展过程中逐渐形成和完善的,因此,只有了解机体的发生发展规律才能深刻理解它们的微细结构及其功能。所以组织学与胚胎学这两门科学有着密切联系。做为一个医药院校的学生,就是要通过这两门课程的学习,系统掌握人体的微细结构和发生规律,为学习其它基础医学和临床医学打下必备的形态学基础和基本技能。因此组织学与胚胎学是医学中重要的基础科学。

组织学首先要研究构成机体的基本结构和功能单位——细胞,进而研究由细胞及其产物(细胞间质)所组成的基本组织,在此基础上再研究各个器官与系统。胚胎学首先研究人胚的早期发生,然后再研究主要器官与系统的发生,以及常见的先天性畸形。

二、组织学与胚胎学的研究方法

随着科学技术的不断发展,人们观察微观世界的手段也日趋改进。普通光学显微镜的分辨率为 $0.2\mu\text{m}$,可放大1000倍左右,能观察组织和细胞的一般微细结构。电子显微镜的分辨率已达 0.2nm 左右,可放大几万到几十万倍,能观察细胞的亚微结构($200\sim 1\text{nm}$),如结合应用冷冻蚀刻等技术,可观察分子水平的超微结构($<1\text{nm}$),所以,通常把电子显微镜下所见的微细结构,统称为超微结构。

在光镜和电镜下进行观察时,常用的长度计量单位有:

$$1\mu\text{m} (\text{微米, micrometre}) = 1/1000\text{mm} (\text{毫米, millimetre})$$

$$1\text{nm} (\text{纳米, nanometre}) = 1/1000\mu\text{m}$$

$$1\text{\AA} (\text{埃, angstrom}) = 1/10\text{nm}$$

组织学与胚胎学的研究方法很多,并随着科学技术的发展,新的技术不断建立,我们要根据研究的目的及内容,采取相应的方法。这里仅就最常用最基本的一些方法做简要介绍。

(一) 常用光镜标本制备技术

1. 切片标本的制备 这是最基本的方法,应用光学显微镜观察机体各部的微细结构时,首先应把所要观察的材料制成薄片,最基本的就是切片方法,其中石蜡(paraffin)切片更为常用,其制备程序大致如下:①取材与固定——把所要观察的新鲜材料放入固定液(如甲醛溶液等)中进行固定,防止死后变化,使其尽可能保持活体时的结

构状态；②脱水与包埋——为了使石蜡浸入组织内，把固定好的材料用乙醇脱水，经二甲苯等透明后，再浸入加温融化的石蜡中进行浸透包埋；③切片与染色——将包有组织的蜡块，用切片机 (micrtome) 切成5~10 μ m左右的组织切片贴在载玻片上，脱蜡后进行染色。最常用的染色法是苏木精 (hematoxylin) 和伊红 (eosin) 染色，简称HE染色，配制后的苏木精是碱性染液，可使细胞核内的染色质及胞质内的核糖体等染成蓝紫色，称为嗜碱性 (basophil)；伊红是酸性染料，可使多数细胞的胞质染成粉红色，称为嗜酸性 (acidophil)。对碱性和酸性染液亲和力都不强的结构，称为中性 (neutrophil)。

机体内有些结构成分，经硝酸银处理 (银染) 时可使硝酸银还原，形成的银微粒附着在组织结构上，呈棕黑色，对组织结构的这种性质称亲银性 (argentaffin)。有的组织结构本身不能使硝酸银还原，需加还原剂才能使硝酸银还原，称这种性质为嗜银性 (argyrophil)。此外，为了显示某些特殊结构成分，还可应用各种特殊染色方法，如使用雷琐辛品红 (resorcin—fuchsin) 等弹性纤维染色法可显示弹性纤维，等等。

在制作较硬组织 (如骨组织等) 或较大组织 (如眼球等) 的切片，以及为了减轻因石蜡包埋所产生的收缩，可应用火棉胶 (celloidin) 包埋切片，它是用火棉胶代替石蜡进行浸透包埋，再同样进行切片和染色。还有，为了较好地保存细胞内酶的活性或尽快制成切片标本等的需要，可选用冷冻切片，它是将组织在低温条件下快速冻结使之变硬，直接切片后进行染色。

2. 涂片、铺片、磨片标本的制备 血液等液体材料，可直接在玻片上进行涂片，干燥后再进行固定和染色。疏松结缔组织、神经等柔软组织，或肠系膜等薄层组织，可在玻片上撕开铺平，制成铺片，待干燥后再进行固定和染色。骨、牙等坚硬组织可磨成薄的磨片进行观察。

从上述各种标本制备过程中可以看出，组织要经过各种物理的和化学试剂的作用，因此在标本中有时出现不是活体所固有的形态结构，凡是在标本制作过程中所产生的形象，统称为人工假象 (artefact)。

(二) 电子显微镜技术

随着电子显微镜性能的不断提高，样品制备技术的不断改进，电镜技术已成为研究机体微细结构的重要手段。当前常用的电镜有透射电镜 (transmission electron microscope, 简称TEM) 和扫描电镜 (Scanning electron microscope, 简称SEM) 两种。电镜的基本原理与光镜比较主要是，以电子束代替光线，以电磁透镜代替光学透镜 (图1)。电子显微镜从20世纪30年代研制成功，经过几十年的研制改进，性能有了很大的提高，能放大几十万倍，透射电镜分辨率已达到0.1~0.2nm，扫描电镜分辨率为3.0nm左右。所以应用电子显微镜可识别机体更微细的结构，一般称为超微结构 (ultrastructure)。

1. 透射电镜技术 透射电镜是电子束透过样品所产生的物象，投射到荧光屏上或照相底板上进行观察。因为电子易散射或被物体吸收，所以必须制备更薄的超薄切片 (常为50~100nm)。超薄切片的制备过程与光镜切片相似，主要是取材要小 (1mm³以

内)，常用戊二醛——锇酸双重固定和树脂包埋，用特制的超薄切片机 (ultramicrotome) 切成超薄切片，再经铅和铀等重金属盐进行电子染色。

电子投射到样品时，可随组织构成成分的密度和厚度发生相应的电子散射，总散射量是与密度和厚度的乘积成正比，此乘积称质量厚度。如电子投射到质量厚度大的结构时，电子被散射的多，因此投射到荧光屏上的透射电子少，所以呈暗象，电镜照片上则呈黑色，称电子密度高 (electron dense)，反之则称电子密度低 (electron lucent)。超薄切片用重金属盐进行染色，就是使它与组织的特定结构相结合，增加电子的散射度，提高该结构的电子密度，增强与其它部分的反差。

2. 扫描电镜技术 扫描电镜是将极细的电子束在样品表面进行扫描，将其发生的二次电子用特定的探测器收集，形成电信号，传送到显象管，在荧光屏上显示物体表面的立体象，或摄制成电镜照片观察。

扫描电镜样品不需要制成超薄切片，可将较大的组织块用戊二醛——锇酸固定，经脱水和干燥后，再在样品表面喷镀一薄层金，以增加二次电子数。

扫描电镜能观察较大的组织表面的超微结构，由于它的景深长，1mm左右的凹凸表面也能清晰成象，所以扫描电镜图象富有立体感。

3. 冷冻蚀刻 (freeze etching) 技术 它是电镜样品的一种制备方法，对研究细胞的膜结构很有价值。冷冻蚀刻样品制备步骤大致如下：①冷冻——先把组织浸入含有20~30%的甘油生理盐水的冷冻保护剂内，以防止形成冰晶和提高冷冻速度，然后把组织放入液氮 (-196℃) 内快速冻结；②断裂——在低温高真空中，把冻结的组织表层以劈裂的方式劈掉，常沿着薄弱部位劈开 (如膜结构的双层脂质分子疏水极之间)，余下部分的表面是要观察的部位；③蚀刻——在真空中将温度回升到 -100℃ 左右，使劈开表面的冰升华，形成凸凹不平的形态；④复型——在达到蚀刻深度的劈裂表面，以45度角喷镀一层铂膜增加图象的反差和立体感，再喷镀一层碳膜以加固铂膜。然后用次氯酸钠等腐蚀液除去组织，捞取复型膜在透射电镜下观察 (图2)。

冷冻蚀刻法是研究细胞的膜相结构的重要手段。当从膜的双层脂质分子疏水极之间劈开时，其中细胞质侧劈开面的外表面，称P面 (protoplasmic face)，而细胞外侧劈开面的内表面称E面 (extracellular face)。在细胞质内的内质网和高尔基复合体等膜相结构，细胞质基质侧的劈开面为P面，内腔侧的劈开面为E面。在任何膜的劈开面上都可见许多直径8~15nm的膜内粒子 (membrane associated particle, int-

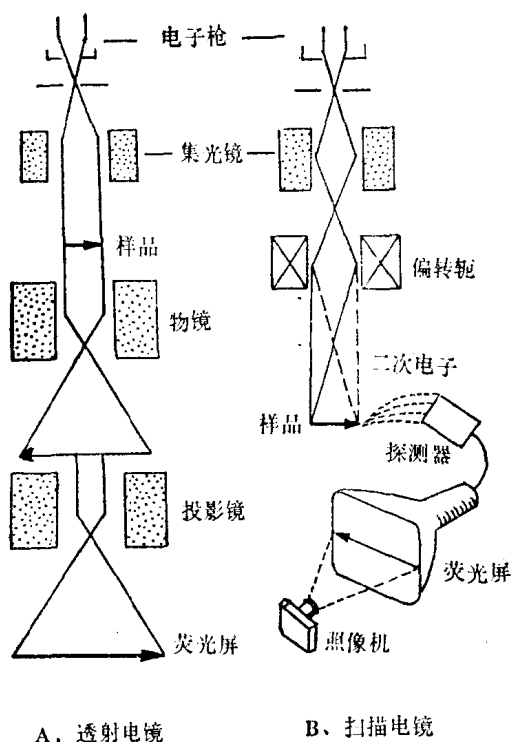


图1 电子显微镜基本原理示意图

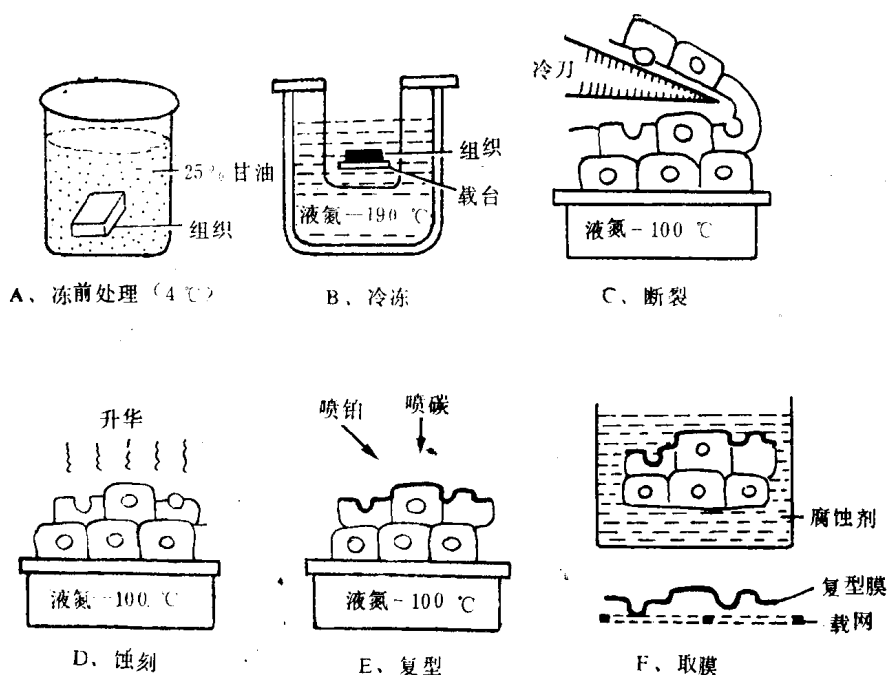


图2 冷冻蚀刻法示意图

ramembranous particle)。一般说，P面的膜内粒子比E面多，粒子的数目及分布可随膜的机能状态而变动，认为膜内粒子是细胞膜液态镶嵌模型中镶嵌蛋白质粒子的图象(图3)。

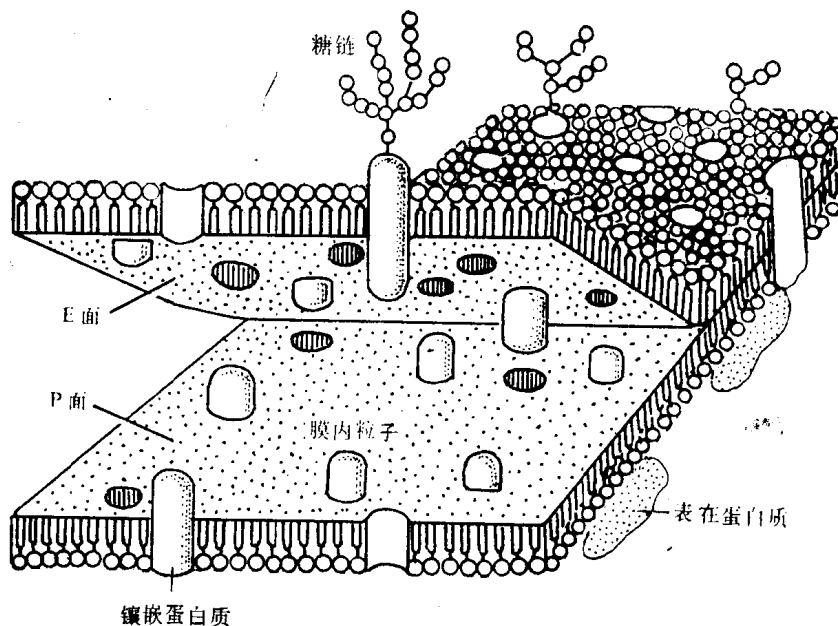


图3 细胞膜的P面及E面模式图

(三) 组织化学技术

组织化学 (histochemistry) 是应用物理的、化学的或免疫学等方法，研究组织

或细胞内某种物质的分布和数量，从而探讨与其有关的机能活动。这里将组织化学概括分为一般组织化学、荧光组织化学和免疫组织化学三个方面做简要介绍。

1. 一般组织化学 它的基本原理是，在组织切片上或被检材料上，加一定试剂，使它与组织或细胞中某种物质起化学反应，所形成的最终反应产物，光镜组化要使它成为有色沉淀，电镜组化要成为重金属盐沉淀，观察其沉淀物可知某种物质的定位和定量。举例说明如下：

例 1. 多糖显示法——PAS反应

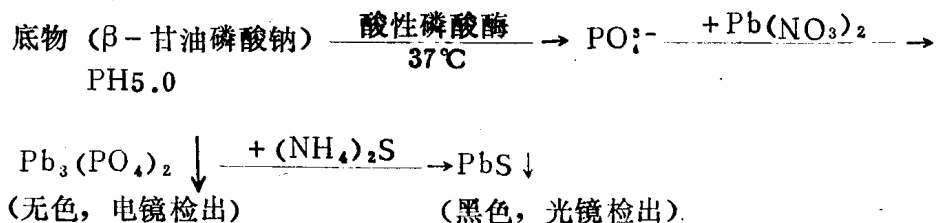
多糖用一种强氧化剂——过碘酸 (HIO_4) 氧化，可形成多醛基，多醛再与无色的品红硫酸复合物 (Schiff试剂) 结合，成为紫红色反应产物，此反应则称为过碘酸雪夫反应 (periodic acid Schiff reaction)，简称PAS反应。PAS反应阳性部位即表示多糖的存在。



例 2 酶的显示法

细胞内含有多种酶，每种酶可催化一定的化学反应。酶的显示法特点是，要显示酶的活性，而不是酶的本身。将具有酶活性的组织放入含有一定底物中孵育，底物经酶的作用，分解形成初级反应产物，它再与捕捉剂反应，形成最终反应产物，即可检出酶的存在。由此可见，酶的显示法与显示多糖等物质有所不同，即反应产物不是直接来自组织成分，而是来自底物。

现以酸性磷酸酶显示法为例做简要说明。将组织切片或其它予检材料放入含有酶底物 (常用 β -甘油磷酸钠) 的溶液 (PH5.0) 中孵育，底物经酶的作用，水解并释放出磷酸，以捕捉剂铅盐与磷酸进行反应，形成无色的磷酸铅沉淀，此时即可在电镜下检出，如再用硫化铵处理时，磷酸铅被置换成黑色的硫化铅沉淀，可在光镜下观察。



2. 荧光组织化学 荧光组织化学技术敏感性高，能检出更微量物质。荧光显微镜是以波长短和能量大的紫外线为光源，当照射荧光物质时则激发出各种颜色的荧光。现就几种常用的荧光组织化学技术简要介绍如下：

(1) 自发荧光物质 机体内有些物质本身就是自发荧光物质，可在荧光显微镜下直接观察它们的分布。如维生素A呈绿色自发性荧光，维生素B₂呈黄色荧光，血红蛋白中的卟啉呈亮红色荧光，等等。

(2) 单胺类物质 如肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺等不是荧光物质，但如用甲醛处理后，则呈现不同颜色的荧光，肾上腺素呈黄绿色荧光，5-羟色胺呈黄色荧光，因此，

可用荧光显微镜观察各种单胺类物质。

(3) 荧光染色显示各种物质 体内有些物质与某种荧光染料结合, 呈现不同颜色的荧光, 如用荧光染料吖啶橙对细胞进行染色时, 吖啶橙与DNA结合呈黄~黄绿色荧光, 与RNA结合呈桔黄~桔红色荧光。

(4) 荧光免疫技术 (见后)

3. 免疫组织化学 免疫组织化学 (immuno-histochemistry) 是应用免疫学基本原理而发展起来的新技术, 主要是利用抗原与抗体的特异性结合的特点, 检知组织、细胞中某种肽类及蛋白质等大分子的分布。当给机体注入某种抗原 (异种蛋白或肽类), 则体内产生与抗原相应的抗体 (免疫球蛋白), 从血清中制备该抗体。再使抗体与荧光色素结合形成荧光抗体, 用它处理组织切片, 具有荧光标记的抗体与相应的抗原发生特异性结合, 可在荧光显微镜下观察抗原的分布, 此即荧光抗体法。如抗体与辣根过氧化物酶等酶类结合, 进行酶反应后, 可在光镜或电镜下观察, 此即酶抗体法。此外, 如果抗体用铁蛋白标记, 则称为铁蛋白标记法, 可在电镜下检出 (图4)。

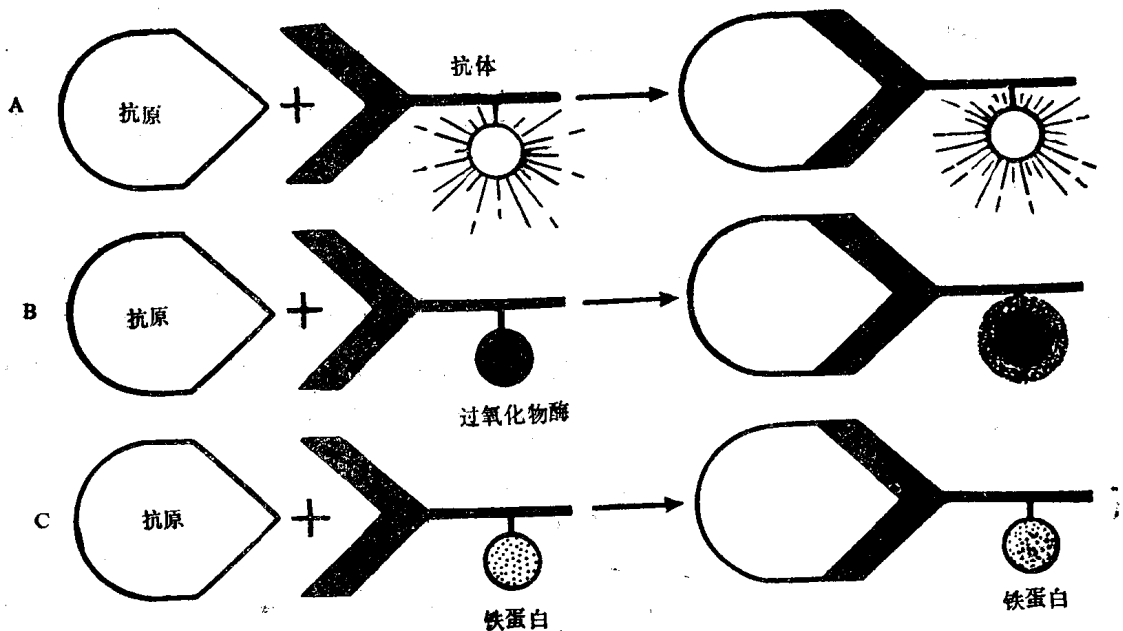


图4 免疫组织化学标记法

A. 荧光抗体法 B. 酶抗体法 C. 铁蛋白标记法

标记抗体法主要有两种: ①直接法 如图5之A所示, 用上述的标记抗体在组织标本上直接与相应抗原结合, 方法简单, 特异性高, 但敏感性较差, 可检定未知抗原; ②间接法 如图5之B所示, 先用未标记的特异性抗体 (第一抗体) 与组织标本上的相应抗原结合, 然后再以标记的抗抗体 (第二抗体, 是以第一抗体作为抗原注入体内而制备的抗体的抗体) 处理, 使它与特异性第一抗体结合。这样可增加结合在抗原上的标记物, 因此间接法比直接法的敏感性高5~10倍, 它即能检定未知的抗原, 也能检定未知的抗体。

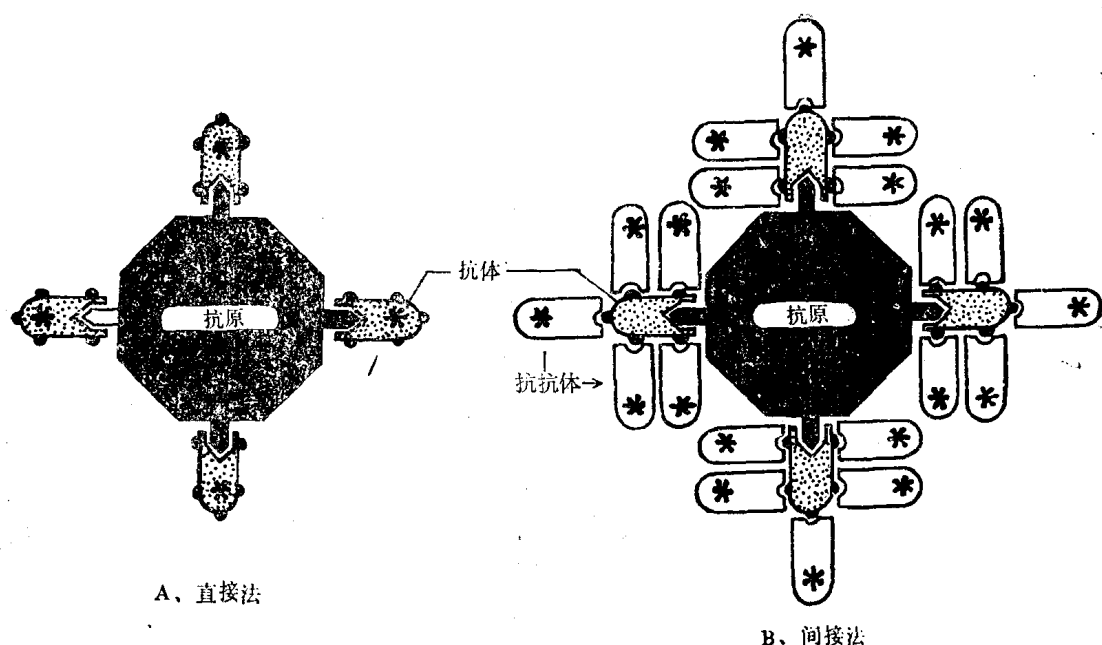


图5 荧光抗体法

(四) 放射自显影技术

一般组织学和组织化学方法只能研究组织、细胞的微细结构及化学物质的分布，但要追踪这些化学物质在体内或细胞内的代谢经路及其与结构的关系，需借助放射自显影技术 (autoradiography)。

将放射性同位素或放射性同位素标记的物质，注入体内或组织培养的营养液内，间隔一定时间取出某种组织、器官或被检材料，制成标本，并在其上面覆以感光材料（或涂以感光乳胶，或贴以照相干板），置暗处曝光，经数周或数月后，再经显影和定影处理，在放射性同位素或其标记物质存在的部位，溴化银被还原成微细银粒，这样可在光镜或电镜下观察结构的同时，观察放射性同位素或其标记物质的数量、分布和动态变化。

在生物科学研究中，所用的放射性同位素主要是β射线，常用的有 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{45}C 等。例如，有的直接把 ^{125}I 注入体内，可观察碘在甲状腺滤泡内的碘化部位。又如，把 ^3H 标记的氨基酸或核苷注入动物体内或加入组织培养的营养液内，就能研究蛋白质或核酸在组织、细胞内的代谢过程。

(五) 组织培养技术

组织培养 (tissue culture) 是在体外研究活组织、活细胞的形态结构和生理功能变化的一种很有价值的方法，已广泛应用于医学、生物学的研究。组织培养要在无菌条件下，取出机体的活组织、活细胞，或具有无限增殖的细胞株，放入盛有营养液的试管或培养瓶内，在一定的温度、 O_2 和 CO_2 浓度、PH值等条件下进行培养，可在倒置相差显微镜下直接观察其生长变化，并可用显微录象或显微电影真实记录下活细胞的动态变化。例如，应用组织培养研究各种物理、化学因素对活细胞的影响，是一种比较简便，反应敏锐的实用方法。这里必须指出的是，在判定结果时，不应把组织培养所得的