

YIYONG
DIANZI
XIANWEIXUE

医用电子 显微学

主编 薄爱华 孙树勋 李继伦



人民卫生出版社

中国医药出版社
CHINA MEDICAL PUBLISHING HOUSE
地址：北京市东直门内大街38号
电话：(010) 57558238
网址：http://www.cmph.cn

医用电子 显微学

.....

人民卫生出版社

医用电子显微学

主 编 薄爱华 孙树勋 李继伦

副主编 戴 洁 赵淑敏 周 珍

编 委 (按姓氏笔画排列)

孙树勋 (华北煤炭医学院)	李继伦 (华北煤炭医学院)
任君旭 (张家口医学院)	邢立强 (张家口医学院)
祁晓莉 (张家口医学院)	许永利 (张家口医学院)
张晓丽 (张家口医学院)	周 珍 (华北煤炭医学院)
赵淑敏 (承德医学院)	戴 洁 (张家口医学院)
薄爱华 (张家口医学院)	

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

医用电子显微学/薄爱华等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2000
ISBN 7-117-03689-3

I. 医… II. 薄… III. 电子显微术-应用-医学
IV. R312

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 14104 号

医用电子显微学

主 编: 薄爱华 孙树勋 李继伦

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京市卫顺印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 14.25

字 数: 292 千字

版 次: 2000 年 4 月第 1 版 2004 年 7 月第 1 版第 4 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-03689-3/R·3690

定 价: 19.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

为了提高生物医学界科技人员和广大医学生对电子显微镜功能的认识,促进基础医学和临床医学研究的发展,我们曾于1992年编写了《医用电子显微学基础》一书,作为医学院校学生及相关学科研究生教材或选修课教材。在近十年的教学中,这门课程受到广大学生和相关学科教师的欢迎。根据我们多年教学体会,这次由张家口医学院、华北煤炭医学院和承德医学院的电镜工作者,重新编写并更名为《医用电子显微学》,对编写人员也做了调整,对教学内容进行了更新和补充,以适应学科发展和教学需要。本书可供各医学院校研究生和本科生使用,也可供生物医学工作者参考。

本书内容包括:电子显微镜、电镜样品制备、细胞超微结构和超微病理改变、骨骼肌细胞、血细胞的超微病理、消化、呼吸、泌尿、生殖、内分泌系统超微病理、电镜在肿瘤及病毒诊断中的应用,共十三章。各院校在使用本书时,可根据学时和教学条件等具体情况进行取舍。通过本门课程的学习,不仅可以了解和掌握电镜基本技术操作,而且能将生物学、组织学和病理学知识进一步深化,拓宽知识面,为学习临床医学打下更坚实的基础。

本书力求文字精练、深入浅出、层次分明,便于初学者阅读。由于时间和水平所限,难免有漏误和不足之处,请使用者给予指正。在采用电镜照片方面得到不少同道的支持和帮助,特此致谢。

薄爱华 孙树勋 李继伦

1999. 9

目 录

第一章 电子显微镜	(1)
第一节 概述	(1)
一、电子显微镜的发展简史	(1)
二、电子显微镜与光学显微镜的比较	(2)
三、电子显微镜的分类	(3)
第二节 透射式电子显微镜	(4)
一、透射电镜的基本结构	(5)
二、透射电镜的成像原理	(9)
三、透射电镜的使用	(13)
第三节 扫描电子显微镜	(17)
一、扫描电镜的基本结构	(17)
二、扫描电镜的成像原理	(20)
三、扫描电镜的操作	(23)
第四节 分析电子显微镜	(24)
一、波谱仪	(24)
二、能谱仪	(25)
三、应用	(27)
第二章 电子显微镜生物样品的制备	(28)
第一节 超薄切片法	(28)
一、组织处理	(28)
二、半薄切片	(37)
三、超薄切片	(38)
四、染色	(41)
五、标本转制技术	(43)
六、培养细胞及其它生物游离细胞样品的制备	(43)
第二节 扫描电子显微镜样品制备	(44)
一、扫描电镜生物样品的制备原则	(44)
二、标本的初步处理	(45)
三、样品的干燥	(46)
四、样品表面导电处理	(48)
五、用扫描电镜观察生物样品内部结构的技术	(50)
第三节 负染色技术	(50)

一、负染色剂	(50)
二、样品染色前制备	(51)
三、染色方法	(51)
四、染色过程中的注意事项	(51)
第四节 样品制备中的冷冻技术概要	(52)
一、快速冷冻固定	(52)
二、冷冻固定样品的进一步处理	(53)
第三章 电镜酶细胞化学技术与电镜免疫细胞化学技术	(56)
第一节 电镜酶细胞化学技术	(56)
一、电镜酶细胞化学的基本原理	(56)
二、电镜酶细胞化学反应的主要方法	(57)
三、电镜酶细胞化学关键性技术步骤	(58)
四、细胞器的标志酶	(60)
第二节 电镜免疫细胞化学技术	(61)
一、免疫电镜技术基础	(61)
二、过氧化物酶标记电镜免疫细胞化学技术	(63)
三、胶体金标记电镜免疫细胞化学技术	(65)
四、铁蛋白标记电镜免疫细胞化学技术	(66)
五、电镜免疫细胞化学技术的标本处理原则	(67)
第四章 细胞超微结构与病理改变	(69)
第一节 细胞膜及其特化物	(69)
一、细胞膜	(69)
二、细胞游离面特化物	(72)
三、细胞连接	(74)
四、细胞基底面特化物	(76)
第二节 细胞器与包含物	(77)
一、细胞器	(78)
二、包含物	(87)
第三节 细胞核	(88)
一、核膜	(89)
二、染色质	(90)
三、核仁	(91)
四、核基质	(91)
第四节 常见病态细胞的超微结构特征	(92)
一、急性致死损伤及坏死	(92)
二、缺氧性损伤	(93)
三、病毒性损伤	(93)

四、肥大、萎缩和老化的细胞	(93)
五、免疫性损伤	(93)
六、不分化细胞	(94)
七、凋亡细胞	(94)
第五章 骨骼肌超微病理改变	(96)
第一节 骨骼肌超微结构	(96)
一、骨骼肌一般结构	(96)
二、骨骼肌超微结构	(97)
三、骨骼肌纤维收缩机制	(98)
第二节 骨骼肌超微病理改变	(99)
一、肌膜改变	(99)
二、肌原纤维改变	(100)
三、线粒体改变	(103)
四、三联体结构异常	(106)
五、肌质网改变	(107)
六、糖原颗粒的改变	(107)
第六章 血细胞和血小板的超微结构和超微病理	(108)
第一节 血液电镜标本的制备	(108)
第二节 各种正常血细胞的超微结构	(108)
一、红细胞的超微结构	(108)
二、粒细胞的超微结构	(110)
三、单核细胞的超微结构	(113)
四、淋巴细胞的超微结构	(114)
第三节 血小板和巨核细胞的超微结构	(115)
一、正常血小板	(115)
二、巨核细胞的发育阶段	(116)
第四节 血液病血细胞的超微结构变化	(116)
一、贫血	(116)
二、白血病	(117)
三、血小板疾病	(120)
第七章 胃、肠和肝脏疾病超微病理变化	(121)
第一节 胃癌及癌前病变的超微结构	(121)
一、胃粘膜上皮的超微结构	(121)
二、胃癌及癌前病变的超微结构特点	(122)
第二节 肠道疾病超微病理	(125)
一、肠粘膜上皮细胞超微结构	(125)
二、上皮内淋巴细胞及膜上皮细胞	(126)

三、乳糜泻病	(126)
四、Whipple 病	(127)
五、脂质贮积病	(128)
六、溃疡性结肠炎	(128)
七、局限性肠炎	(129)
八、肠道肿瘤	(129)
第三节 肝脏疾病的超微病理变化	(130)
一、电镜技术在肝脏疾病诊断中的作用及注意事项	(130)
二、肝脏的超微结构及基本病变	(131)
三、代谢性疾病的超微结构特征	(134)
四、酒精性肝病	(136)
五、病毒性肝炎	(137)
六、药物及中毒性肝病	(139)
七、肝脏肿瘤	(140)
第八章 呼吸道超微病理变化	(142)
第一节 呼吸道上皮细胞超微结构	(142)
一、气管、支气管上皮	(142)
二、细支气管肺泡上皮与呼吸膜	(143)
第二节 肺疾病超微病理变化	(144)
一、呼吸道常见超微病理改变	(144)
二、慢性支气管炎	(145)
第三节 肺肿瘤超微病理学	(146)
一、肺癌组织学分型	(146)
二、常见肺癌超微结构特征	(146)
第九章 肾及膀胱的超微病理	(150)
第一节 正常肾小球的超微结构	(150)
一、内皮细胞	(151)
二、基底膜	(151)
三、脏层上皮细胞	(152)
四、壁层上皮细胞	(152)
五、系膜	(153)
六、肾小球旁器	(153)
第二节 肾小球的基本病理改变	(153)
一、滤过膜的超微病理改变	(154)
二、系膜的超微病理改变	(156)
第三节 常见肾小球疾病的超微病理	(156)
一、微小病变性肾病	(156)

二、局灶性、节段性肾小球硬化症	(157)
三、膜性肾病	(158)
四、毛细血管内增生性肾小球肾炎	(159)
五、膜增生性肾小球肾炎	(160)
六、狼疮性肾炎	(161)
七、IgA 肾病	(163)
八、糖尿病性肾小球硬化症	(163)
九、肾淀粉样变性	(164)
十、遗传性肾病	(165)
第四节 肾小球疾病的病理诊断要点	(165)
第五节 肾肿瘤	(167)
一、肾腺病及肾腺癌	(167)
二、肾母细胞瘤	(167)
三、嗜酸细胞瘤	(167)
四、球旁细胞瘤	(168)
第六节 膀胱肿瘤的超微病理	(168)
一、移行上皮癌	(168)
二、鳞状细胞癌	(168)
三、膀胱腺癌	(169)
第十章 生殖系统肿瘤超微病理变化	(170)
第一节 卵巢肿瘤超微病理	(170)
一、卵巢浆液性肿瘤	(170)
二、卵巢粘液性肿瘤	(171)
三、卵巢子宫内膜样癌	(172)
四、卵巢粒层细胞瘤	(172)
五、卵巢泡膜细胞瘤	(173)
六、卵巢内胚窦瘤	(174)
第二节 子宫肿瘤超微病理变化	(175)
一、正常子宫内膜的超微结构	(175)
二、子宫肿瘤的超微病理改变	(175)
三、子宫体肿瘤的超微病理	(176)
第三节 滋养层细胞肿瘤的超微病理	(177)
一、正常滋养层细胞的超微结构	(177)
二、滋养细胞肿瘤的超微病理	(178)
第四节 乳腺肿瘤的超微病理	(180)
一、正常乳腺的超微结构	(180)
二、乳腺肿瘤超微病理结构	(180)

第五节 睾丸肿瘤的超微结构·····	(181)
一、精原细胞瘤·····	(182)
二、胚胎性癌·····	(183)
三、畸胎瘤·····	(183)
第六节 前列腺增生及肿瘤·····	(183)
一、前列腺上皮的超微结构·····	(183)
二、前列腺增生症·····	(184)
三、前列腺癌·····	(184)
第十一章 内分泌腺肿瘤超微病理·····	(185)
第一节 概述·····	(185)
一、含氮类激素分泌细胞·····	(185)
二、类固醇激素分泌细胞·····	(185)
第二节 腺垂体及其肿瘤超微结构改变·····	(185)
一、腺垂体远侧部细胞分类、分泌的激素及超微结构特点·····	(185)
二、腺垂体肿瘤超微病理·····	(186)
第三节 甲状腺和甲状旁腺肿瘤超微病理·····	(191)
一、甲状腺的细胞结构及肿瘤·····	(191)
二、甲状旁腺细胞结构及肿瘤·····	(193)
第四节 肾上腺及其肿瘤超微病理变化·····	(194)
一、肾上腺细胞的超微结构·····	(194)
二、肾上腺肿瘤·····	(195)
第五节 胰岛细胞与肿瘤超微病理·····	(197)
一、胰岛细胞超微结构及其分泌的激素·····	(197)
二、胰岛细胞瘤·····	(197)
第十二章 肿瘤细胞的超微结构特点·····	(199)
第一节 肿瘤细胞核的特点·····	(199)
一、核形畸变·····	(200)
二、染色质边集·····	(201)
三、核仁增多、增大·····	(201)
第二节 肿瘤细胞质及细胞特化物的超微结构变化·····	(202)
一、肿瘤细胞质的特点·····	(202)
二、恶性肿瘤细胞特化物的改变·····	(204)
第三节 肿瘤超微结构在诊断和鉴别诊断中的意义·····	(204)
一、电镜观察具有补充、明确和修正光镜诊断的作用·····	(205)
二、电镜观察在肿瘤鉴别诊断中的具体应用·····	(205)
第四节 肿瘤细胞相邻间质的超微结构·····	(206)
(一) 毛细血管和内皮细胞·····	(206)

(二) 淋巴管	(206)
(三) 淋巴细胞	(206)
(四) 浆细胞	(207)
(五) 纤维细胞和纤维母细胞	(207)
第十三章 病毒的超微结构	(208)
第一节 概述	(208)
第二节 病毒的基本结构和类型	(209)
一、病毒的结构和成分	(209)
二、病毒的类型	(210)
第三节 临床上几种常见病毒的结构特点	(210)
一、肝炎病毒	(210)
二、流感病毒	(211)
三、腺病毒	(212)
四、疱疹病毒	(213)
五、流行性出血热病毒	(214)
六、人乳头状病毒	(215)
七、人类轮状病毒	(215)
八、人类免疫缺陷病毒	(216)
第四节 病毒对受染细胞形态结构的影响	(216)
一、病毒对宿主细胞膜的损伤	(217)
二、包涵体的形成	(217)
三、病毒对宿主细胞器的影响	(217)
四、病毒对宿主细胞基因突变及肿瘤形成的影响	(218)

第一章 电子显微镜

第一节 概 述

一、电子显微镜的发展简史

20 世纪 30 年代, E·Ruska 在电子光学理论发展的基础上发明了世界上第一台透射式电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM), 并且成功地得到了一张由电子束作为光源形成的铜网放大像。当时放大倍数仅有 12 倍。但是, 在实践中却证明了以电子束和电子透镜组成的电子光学系统可以像光学显微镜一样将物体放大成像。到 1934 年他们把电子显微镜的分辨率提高到 50nm, 放大倍数达到 1 万倍。这一阶段称之为电子显微镜的初型设计阶段。1935 年电子显微镜基本定型。1939 年德国西门子公司生产了世界上第一批作为商品的透射式电子显微镜, 分辨率优于 10nm, 放大倍数达到 10 万倍。以后, 透射式电子显微镜的研究重点是改进设计, 提高仪器分辨率。

60 年代, 透射式电子显微镜的点分辨率达到 0.5nm。70 年代末电子显微镜的点分辨率已优于 0.3nm, 晶格条纹分辨率达到 0.14nm, 实现了人们早就向往的对原子像和晶格像的观察。80 年代电子显微镜已发展成为一种综合分析仪器, 在高分辨率的透射式电子显微镜的主体上, 安装具有景深长, 便于制备样品, 分辨率优于 5nm 的扫描附件。还可以安装配有计算机系统的能量分析谱仪, 对样品进行元素的成分分析。样品室内亦可装配加热、冷却、大角度倾斜、拉伸样品台等附件, 使透射式电子显微镜既能观察样品的形态又能分析样品的成分。

扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 是显微镜世家中的一位后起之秀。自第一台定型的透射式电子显微镜产生后, 1935 年法国 knoll 首先提出了扫描电子显微镜的设计思想和工作原理, 到 1942 年剑桥大学的 D. M. Mullan 在 C. Wcatly 的指导下, 首次制成世界上第一台反射扫描电子显微镜。由于当时电子技术的落后, 成像分辨率只达到 1 μ m, 比光学显微镜还要低。照一幅图像的曝光时间要长达几个小时。所以, 第一台扫描电子显微镜未引起普遍重视。不少人认为扫描电子显微镜前途不大而改行, 致使扫描电子显微镜发展受到了极大影响。到 1965 年才基本定型。由于扫描电子显微镜使用范围广, 并具备分辨率高、图像立体感强、放大倍率选择范围广、样品适应性大、制样方便等优点, 所以后期发展速度比透射式电子显微镜快的多。70 年代已发展成为性能完善, 自动化程度高, 功能齐全的一种电子光学仪器。目前, 扫描电子显微镜可装 X 光谱仪、电视及用微处理机控制的图像处理仪附件, 亦可配装反差增强器、动态聚焦器和电子束自动补

偿器等提高仪器性能的附件。近年来较高档的扫描电子显微镜加有故障分析显示电路，给仪器维修人员提供了很大方便。

我国电子显微镜的研制在 1958 年以前还是空白。1959 年吸收了国际上的先进经验，由中国科学院光学精密机械研究所、上海精密医疗器械厂、中国科学院电子学研究所等单位共同研制了我国第一台透射式电子显微镜，型号 DX-100，分辨率、放大倍数都比较低。经过近十年的努力，1977 年由上海设计制造出高分辨率的透射式电子显微镜，点分辨率达到 0.3nm，晶格条纹分辨率达到 2nm，放大倍数 80 万。

60 年代初，我国就有一些大学、研究所着手进行了扫描式电子显微镜的理论研究和仪器试制工作。经过努力，在电子器件发展的基础上，由中国科学院仪器厂试制成功了我国第一台 DX-3 型扫描电子显微镜。目前我国已经能够生产高分辨率、多功能的扫描电子显微镜。如中国科学院科学仪器厂生产的分析扫描电子显微镜 KV-200 型，分辨率达到 5nm，可同时观察样品的形貌、分析样品的成分。

二、电子显微镜与光学显微镜的比较

为了便于理解电子显微镜的构成和成像过程，本节将电子显微镜与光学显微镜作一比较，见表 1-1。电子显微镜的总体结构、成像原理、操作方式等与光学显微镜有着本质上的区别。但是，它们的显微放大过程基本相似。都是由光学系统、成像系统和放大系统完成显微放大过程（图 1-1）。

光学显微镜的光学系统一般采用可见光作为光源，玻璃透镜作为成像、放大透镜。其成像过程是：可见光通过空气和玻璃透镜这两种不同的物质界面时，光的运

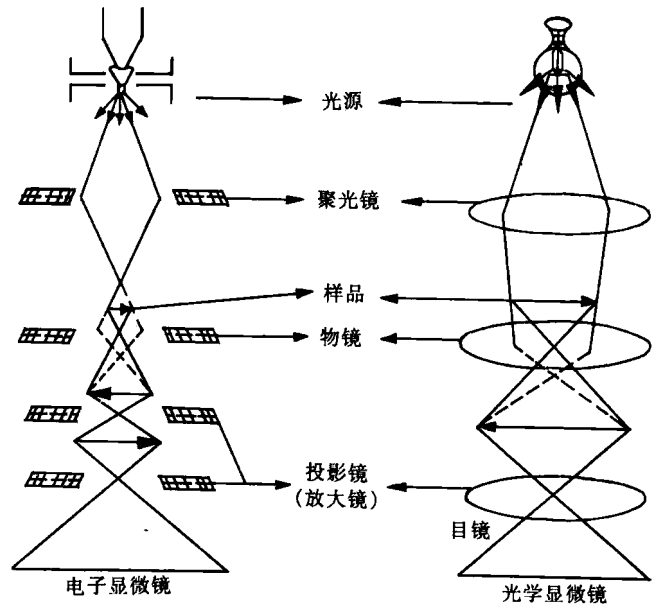


图 1-1 光路示意图

表 1-1 电镜与光镜光路图的比较

	电子显微镜	光学显微镜
照射	电子束	光束
波长	0.859nm (20kV) ~ 0.37nm (100kV)	750nm (可见光) ~ 200nm (紫外光)
介质	真空	空气
透镜	电磁透镜	玻璃透镜
聚焦	电聚焦	机械
反差	散射吸收、衍射、相位	吸收、反射
显像方式	荧光屏	直接观察

动速度改变，从而改变运动方向使之会聚一点（焦点），然后再发散，这样就可以把物体的细节加以放大成像，使人们观察到物体的显微结构。

电子显微镜采用电子束作为照明系统中的光源，电磁透镜作为成像、放大透镜，其基本成像过程是：电子束通过电子磁透镜时，由于电磁场的作用使电子改变其运动方向而会聚在一点（焦点），然后发散，从而把物体的微细结构放大成像。不过此时所成的像，人眼不能直接观察到，还须通过一个荧光屏才能看到。这里还需要强调一点，电磁透镜有一个基本的不同于光学玻璃透镜的特点是，电子束离开它原来运动轨迹弯曲或者折射是由于外力对电子的作用，在磁场中始终有一个分力作用在电子上，所以折射是连续的，并且在折射介质（磁场）和浸入介质（真空）之间没有明显的界面，而光学显微镜光线的折射产生在透镜和它的浸入介质之间的分界面上。

三、电子显微镜的分类

从使用选择的角度考虑，目前电子显微镜可分为三大类：即透射电子显微镜、扫描电子显微镜和分析电子显微镜。按系统分类，透射电子显微镜可分为超高压电子显微镜、高压电子显微镜、高分辨电子显微镜、普及型电子显微镜、简易型电子显微镜五类。（见表 1-2）

表 1-2 电子显微镜分类及其基本参数

类 型	基 本 参 数		
	加速电压	分 辨 率	放 大 率
超高压电镜	≥500kV	晶格优于 0.343nm	>30 万倍
高压电镜	≥200kV	晶格优于 0.343nm	
		点优于 0.450nm	>30 万倍
高分辨电镜	≥100kV	晶格优于 0.204nm	
		点优于 0.450nm	>30 万倍

续表

类 型	基 本 参 数		
	加速电压	分 辨 率	放 大 率
普通电镜	$\geq 75\text{kV}$	晶格优于 0.699nm 点优于 1nm	≥ 10 万倍
简易电镜	$\geq 50\text{kV}$	点优于 5nm	≥ 2 万倍

所谓分析电子显微镜是将 X 射线显微分析仪与透射电子显微镜或扫描显微镜相组合。目前多用的 X 射线显微分析仪有波谱仪和能谱仪，在第四节中将专门介绍其结构及工作原理。

第二节 透射式电子显微镜

透射式电子显微镜（简称透射电镜）是以波长极短的电子束作为照明源，用电磁透镜聚焦成像的一种高分辨率、高放大倍数的电子光学仪器。简单地讲，就是用聚得很细的电子束照射在样品上，接收透过样品并带有样品内部信息的电子，经过物镜聚焦放大成像。这种接收透射电子成像的显微镜称之为透射电镜（图 1-2）。

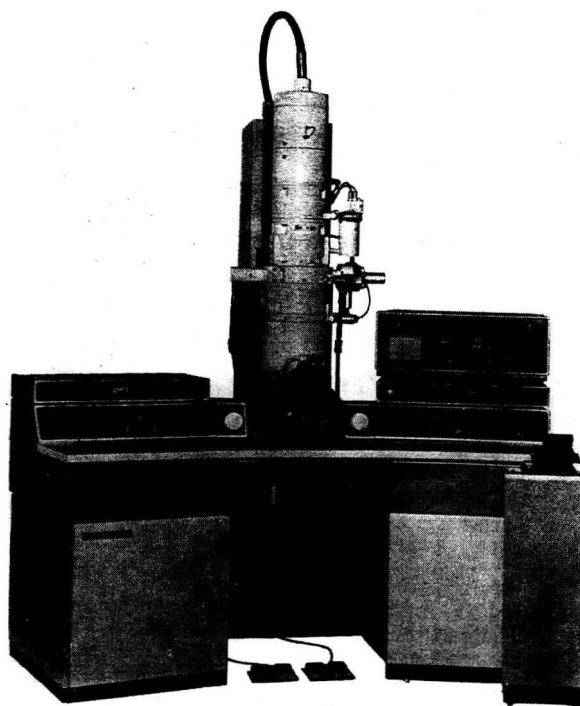
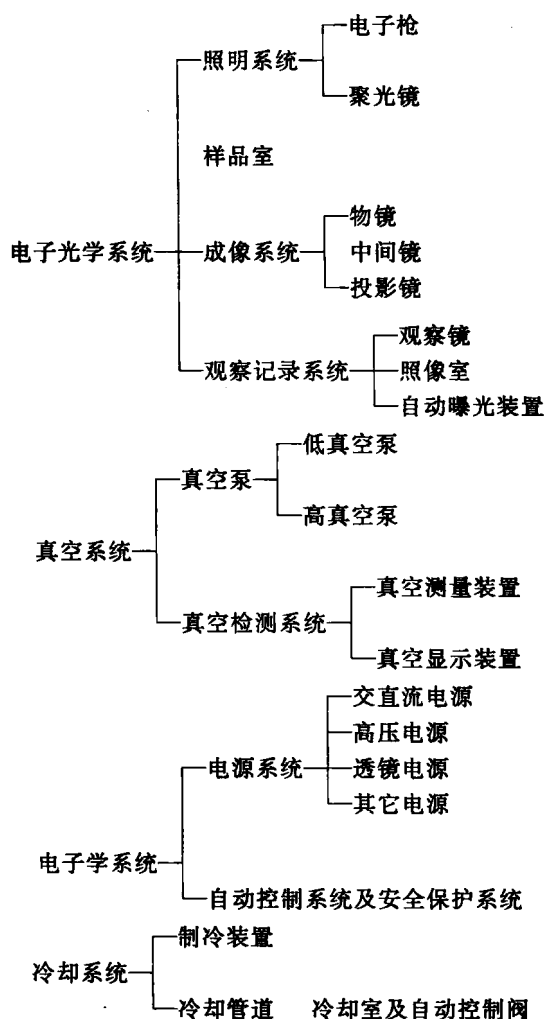


图 1-2 JEM-100CX 电镜外观图

一、透射电镜的基本结构

透射电镜主要由电子光学系统、真空系统、电子学系统、冷却系统四部分构成。它们的构成见下表：



电子光学系统是透射电镜的主体，是本节讨论的主要内容（图 1-3）。

（一）照明系统

照明系统相当于光学显微镜的照明部分。但是，它的重要性要超过光学显微镜中照明部分所起的作用。透射电镜对照明系统的要求主要是：电子束斑点准确地照射在样品上，方向及位置足够稳定；照明亮度足够大，聚光镜的像散减到最小；电子束的孔径角及束斑直径可调。

1. 电子枪 电子枪是电子显微镜的电子源，目前常用的是热发射三极电子枪。它由阴极（灯丝）、栅极（Wehnelt 圆筒）、阳极组成（图 1-4）。