



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材  
中国高等教育学会医学教育专业委员会规划教材

全国高等医学院校教材  
供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

# 组织学与胚胎学

(第3版)

主编 唐军民 张雷

*Histology and  
Embryology*



北京大学医学出版社



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

中国高等教育学会医学教育专业委员会规划教材  
全国高等医学院校教材

供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

# 组织学与胚胎学

## Histology and Embryology

(第3版)

主 编 唐军民 张 雷

副主编 李 和 刘 皓 景 雅 周德山  
高俊玲 白咸勇 付文玉 孙丽慧

编 者 (按姓名汉语拼音排序)

白咸勇 (滨州医学院)	沈新生 (宁夏医科大学)
曹 博 (哈尔滨医科大学)	苏衍萍 (泰山医学院)
崔慧林 (山西医科大学)	孙丽慧 (齐齐哈尔医学院)
付文玉 (潍坊医学院)	唐军民 (北京大学医学部)
高俊玲 (河北联合大学基础医学院)	王春艳 (承德医学院)
郭泽云 (昆明医科大学)	王海萍 (河北北方学院医学院)
景 雅 (山西医科大学)	翁 静 (首都医科大学)
李 和 (华中科技大学同济医学院)	吴 岩 (内蒙古医科大学)
李陈莉 (河北医科大学)	吴春云 (昆明医科大学)
李银生 (新乡医学院)	徐 健 (北京大学医学部)
梁 玉 (天津医科大学)	杨艳萍 (山西医科大学)
刘 皓 (天津医科大学)	岳黎敏 (河北工程大学医学院)
刘慧雯 (哈尔滨医科大学)	张 雷 (河北医科大学)
马红梅 (哈尔滨医科大学大庆校区)	张 莽 (河北工程大学医学院)
任君旭 (河北北方学院医学院)	张宏权 (北京大学医学部)
任明姬 (内蒙古医科大学)	周德山 (首都医科大学)
邵素霞 (河北医科大学)	

北京大学医学出版社

## ZUZHIXUE YU PEITAI XUE

### 图书在版编目 ( CIP ) 数据

组织学与胚胎学 / 唐军民, 张雷主编. —3 版. —北京:  
北京大学医学出版社, 2013. 12 (2014. 1 重印)

ISBN 978-7-5659-0687-9

I . ①组… II . ①唐… ②张… 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 . ① R32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 267113 号

### 组织学与胚胎学 ( 第 3 版 )

---

主 编: 唐军民 张 雷

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - m a i l: [booksale@bjmu.edu.cn](mailto:booksale@bjmu.edu.cn)

印 刷: 北京画中画印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 药 蓉 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 850mm × 1168mm 1/16 印张: 22.5 字数: 658 千字

版 次: 2013 年 12 月第 3 版 2014 年 1 月第 2 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-0687-9

定 价: 75.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

# 全国高等医学院校临床专业本科教材评审委员会

主任委员 王德炳 柯 杨

副主任委员 吕兆丰 程德基

秘 书 长 陆银道 王凤廷

委 员 (按姓名汉语拼音排序)

白咸勇 曹德品 陈育民 崔慧先 董 志

郭志坤 韩 松 黄爱民 井西学 黎孟枫

刘传勇 刘志跃 宋焱峰 宋印利 宋远航

孙 莉 唐世英 王 宪 王维民 温小军

文民刚 钱福华 袁聚祥 曾晓荣 张 宁

张建中 张金钟 张培功 张向阳 张晓杰

周增桓

# 序

北京大学医学出版社组织编写的全国高等医学院校临床医学专业本科教材（第2套）于2008年出版，共32种，获得了广大医学院校师生的欢迎，并被评教育部“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材。这是在教育部教育改革、提倡教材多元化的精神指导下，我国高等医学教材建设的一个重要成果。为配合《国家中长期教育改革和发展纲要（2010—2020年）》，培养符合时代要求的医学专业人才，并配合教育部“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材建设，北京大学医学出版社于2013年正式启动全国高等医学院校临床医学专业（本科）第3套教材的修订及编写工作。本套教材近六十种，其中新启动教材二十余种。

本套教材的编写以“符合人才培养需求，体现教育改革成果，确保教材质量，形式新颖创新”为指导思想，配合教育部、国家卫生和计划生育委员会在医药卫生体制改革意见中指出的，要逐步建立“5+3”（五年医学院校本科教育加三年住院医师规范化培训）为主体的临床医学人才培养体系。我们广泛收集了对上版教材的反馈意见。同时，在教材编写过程中，我们将与更多的院校合作，尤其是新启动的二十余种教材，吸收了更多富有一线教学经验的老师参加编写，为本套教材注入了新鲜的活力。

新版教材在继承和发扬原教材结构优点的基础上，修改不足之处，从而更加层次分明、逻辑性强、结构严谨、文字简洁流畅。除了内容新颖、严谨以外，在版式、印刷和装帧方面，我们做了一些新的尝试，力求做到既有启发性又引起学生的兴趣，使本套教材的内容和形式再次跃上一个新的台阶。为此，我们还建立了数字化平台，在这个平台上，为适应我国数字化教学、为教材立体化建设作出尝试。

在编写第3套教材时，一些曾担任第2套教材的主编由于年事已高，此次不再担任主编，但他们对改版工作提出了很多宝贵的意见。前两套教材的作者为本套教材的日臻完善打下了坚实的基础。对他们所作出的贡献，我们表示衷心的感谢。

尽管本套教材的编者都是多年工作在教学第一线的教师，但基于现有的水平，书中难免存在不当之处，欢迎广大师生和读者批评指正。

王德炳 柯杨

2013年11月

## 第3版前言

组织学、胚胎学是相关的两门学科，我国的医学教育习惯地将它们列为一门课程——组织学与胚胎学。组织学与胚胎学是研究人体微细结构及其发生发展的科学，是基础医学的主干学科之一，也是学习生命科学的必修课程。近几十年，随着细胞生物学和分子生物学的兴起，组织化学、免疫组织化学、原位杂交、电子显微镜、激光共聚焦扫描显微镜等新方法和新技术的应用，对机体的发育及其结构和功能变化的认识日益深刻，同时也大力推动了组织学与胚胎学学科的发展。

《组织学与胚胎学》（第3版）是由唐军民教授、张雷教授主编，北京大学医学部、滨州医学院、承德医学院、哈尔滨医科大学、哈尔滨医科大学大庆校区、河北北方学院医学院、河北工程大学医学院、河北联合大学基础医学院、河北医科大学、华中科技大学同济医学院、昆明医科大学、内蒙古医科大学、宁夏医科大学、齐齐哈尔医学院、山西医科大学、首都医科大学、泰山医学院、天津医科大学、潍坊医学院、新乡医学院20个单位（按汉语拼音排序）33名教授联合编写的“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材。该教材既反映出了组织学与胚胎学的学科发展特点，又体现出20个参编单位教学改革成果和教学科研水平。

本教材是在唐军民和张雷教授主编的《组织学与胚胎学》（第2版）基础上，根据近年来组织学与胚胎学的学科新进展、5年制本科教学大纲以及教师和学生使用该教材的体会等编写而成的。

为了更好地适应教学改革，增强教材的实用性以及与国际教材接轨，本教材在原有教学内容的基础上进行了认真的修改，使语言表达更加简练、逻辑性更强。同时，本教材适当地增加了细胞、组织的光镜像、电镜像及模式图或示意图，并全部采用彩色印刷。

本教材共含489幅彩图，其中模式图或示意图299幅，细胞、组织、器官的光镜照片156幅，电镜照片34幅，图文并茂，简洁易懂。

本教材图片部分取自唐军民教授等主编、北京大学医学出版社出版的《组织学与胚胎学彩色图谱》（实习用书）中的组织学标本照片。另外，教材中尚有许多主编及主编单位提供的图像，在此不再一一列出。

在本教材的编写过程中，美国的Michael W. Davidson教授和中日友好医院的潘琳主任实验师提供了3t3细胞系激光共聚焦扫描显微镜图像和胰岛免疫组织化学图像；毕振伍主管技师和董芳为标本图像的拍摄、模式图或示意图的绘制等工作做出了很大的贡献；美国加州大学医学院病理学家Robert Pitas教授和Gladstone研究所纪中生博士在百忙之中对英文Summary进行了审阅、修改；山西医科大学、齐齐哈尔医学院的各级领导及教师也给予了大力的支持和帮助；山东易创电子有限公司对于本教材的再版给予了一定的帮助，在此一并谨表谢意。

由于编者的水平有限，教材中不足之处或错误在所难免，恳请各位同道及学生批评指正。

衷心感谢北京大学医学出版社对该教材的出版给予的大力协助。

唐军民 张雷

2013年8月

# 目 录

第一章 绪论	1	二、心肌	77
一、组织学与胚胎学的研究内容和意义	1	三、平滑肌	78
二、组织学与胚胎学的常用研究方法	2	第八章 神经组织	81
三、组织学与胚胎学的学习方法	8	一、神经元	81
四、组织学与胚胎学的发展简史	9	二、突触	85
第二章 细胞	15	三、神经胶质细胞	87
一、细胞膜	15	四、神经纤维和神经	88
二、细胞质	17	五、神经末梢	90
三、细胞核	22	第九章 神经系统	96
四、细胞周期	25	一、脊髓	96
五、细胞分裂	26	二、大脑皮质	97
第三章 上皮组织	29	三、小脑皮质	99
一、被覆上皮	29	四、神经节	102
二、腺上皮和腺	32	五、脑脊膜和血 - 脑屏障	104
三、上皮细胞的特化结构	34	第十章 循环系统	107
四、上皮组织的更新和再生	37	一、毛细血管	107
第四章 结缔组织	39	二、动脉	109
一、疏松结缔组织	39	三、静脉	111
二、致密结缔组织	44	四、微循环的血管	112
三、脂肪组织	45	五、血管壁的营养血管和神经	113
四、网状组织	46	六、血管壁的特殊感受器	113
第五章 软骨和骨	49	七、心脏	113
一、软骨	49	八、淋巴管系统	115
二、骨	51	第十一章 免疫系统	117
三、骨的发生	55	一、免疫细胞	117
第六章 血液和血细胞发生	61	二、淋巴组织	118
一、血液	61	三、淋巴器官	119
二、骨髓和血细胞发生	66	第十二章 皮肤	131
第七章 肌组织	73	一、皮肤的结构	131
一、骨骼肌	73	二、皮下组织	135
		三、皮肤的附属结构	135



第十三章 内分泌系统	140	二、输卵管	221
一、甲状腺	140	三、子宫	222
二、甲状旁腺	142	四、阴道	225
三、肾上腺	142	五、乳腺	225
四、垂体	145	第二十章 眼和耳	229
五、弥散神经内分泌系统	150	一、眼	229
六、松果体	150	二、耳	235
第十四章 消化管	153	第二十一章 胚胎学绪论	240
一、消化管壁的一般结构	153	一、胚胎学的研究内容	240
二、口腔	154	二、胚胎学的发展简史	240
三、咽	156	三、学习胚胎学的意义和方法	241
四、食管	156	第二十二章 人体胚胎学总论	244
五、胃	157	一、生殖细胞与受精	244
六、小肠	161	二、卵裂、胚泡形成与植入	247
七、大肠	163	三、三胚层形成与分化	250
八、肠相关淋巴组织	165	四、人圆柱状胚体形成	254
九、胃肠道的内分泌细胞	166	五、胎膜和胎盘	255
第十五章 消化腺	169	六、人胚胎各期外形特征、长度测量 与胚胎龄测定	260
一、唾液腺	169	七、双胎、联胎与多胎	261
二、胰	171	第二十三章 颜面、颈和四肢的发生	265
三、肝	173	一、鳃器的发生	265
四、胆囊与胆管	179	二、颜面的形成	266
第十六章 呼吸系统	182	三、腭的发生与口腔、鼻腔的分隔	267
一、鼻腔	182	四、牙的发生	268
二、喉	183	五、颈的形成	269
三、气管和主支气管	184	六、四肢的发生	269
四、肺	185	七、颜面、颈和四肢的常见先天 畸形	270
第十七章 泌尿系统	193	第二十四章 消化系统和呼吸系统的 发生	273
一、肾	193	一、消化系统的发生	274
二、排尿管道	204	二、呼吸系统的发生	280
第十八章 男性生殖系统	207	第二十五章 泌尿系统和生殖系统的 发生	284
一、睾丸	207	一、泌尿系统的发生	284
二、生殖管道	212	二、生殖系统的发生	289
三、附属腺	213		
四、阴茎	214		
第十九章 女性生殖系统	216		
一、卵巢	216		

第二十六章 心血管系统的发生·····	298	第二十八章 眼和耳的发生·····	319
一、原始心血管系统的建立·····	298	一、眼的发生·····	319
二、心的发生·····	299	二、耳的发生·····	321
三、弓动脉的演变·····	305	第二十九章 先天畸形和预防·····	324
四、胎儿血液循环和出生后血液循环 的变化·····	306	一、先天畸形的发生概况·····	324
五、心血管系统的常见先天畸形···	307	二、先天畸形的发生原因·····	325
第二十七章 神经系统的发生·····	310	三、先天畸形的预防·····	326
一、中枢神经系统的发生·····	310	主要参考文献·····	330
二、周围神经系统的发生·····	313	中英文专业词汇索引·····	332
三、垂体、松果体和肾上腺的发生	315		
四、神经系统的常见先天畸形·····	316		

# 第一章 绪 论

## 一、组织学与胚胎学的研究内容和意义

### (一) 组织学的研究内容

组织学 (histology) 是研究正常机体微细结构及其相关功能的科学, 包括细胞、基本组织及器官和系统 3 部分。

1. 细胞 细胞 (cell) 是一切生物体结构和功能的基本单位。一个成年人约有  $1 \times 10^{15}$  个细胞, 200 余种。细胞形态多样, 呈球形、方形、柱形、杯形、梭形、扁平形、多突起形等。光镜下所观察的细胞结构, 称为光镜结构, 所得图像为光镜像。细胞由细胞膜、细胞核和细胞质构成, 细胞质中含有多种细胞器。在电镜下进一步观察细胞的微细结构, 称为亚细胞结构或超微结构 (ultrastructure) 或电镜结构, 所得图像为电镜像。不同功能的细胞具有其相应的超微结构特征, 即结构特征是相应功能状态的反映。

2. 组织 组织 (tissue) 由形态相似、功能相近的细胞及细胞外基质构成。细胞外基质位于细胞之间, 由细胞产生, 构成细胞生活的微环境。人体组织可归纳为 4 大基本类型, 即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。每种组织都具有各自的结构和功能特点。

3. 器官和系统 4 大基本组织进行有机的组合形成器官 (organ), 多个器官协调配合完成一定的功能, 形成系统 (system)。人体由多个器官、系统组成, 各有其形态结构, 执行特定功能。例如, 消化系统由一系列管腔性器官和实质性器官组成, 包括食管、胃、肠、肝、胰等, 每一个器官均由基本组织构成。整个消化系统的功能是摄取、消化食物, 吸收营养, 去其糟粕。神经系统、内分泌系统和免疫系统调控和整合各系统的活动, 以保持机体的完整和统一。

### (二) 人体胚胎学的研究内容

人体胚胎学 (human embryology) 是研究人个体发生及发育规律的科学, 包括发生过程、发育机制和先天畸形等。人体胚胎学着重研究人体在母体子宫内的发育, 始于精卵结合, 历经 38 周、266 天, 由受精卵演化发育为结构复杂的胎儿, 最后得以分娩。胎儿出生后, 机体的生长发育仍在继续。因此, 从广义的角度讲, 研究人体发生发育的科学即人体发育学 (development of human)。

机体的微细结构及其功能是在个体发生发育过程中逐渐形成和完善的。从机体的发生发育过程和规律的视角, 更能深刻理解机体的微细结构和功能。因此, 组织学、胚胎学可以是独立的两门学科, 也有的将两者有机结合组织编写成人体发育和功能组织学, 例如成令忠教授等主编的《组织胚胎学——人体发育和功能组织学》就是一个很好的先例。

### (三) 组织学与胚胎学在医学中的地位

人们对疾病发生发展规律的认识, 是从掌握人体正常结构入手的, 在宏观水平研究机体的

外形和内部结构,称为解剖学。利用显微镜在微观水平研究机体的微细结构,称为组织学或显微解剖学。因而,组织学以解剖学为基础。同时,组织学又是病理学的基础。倘若不了解人体正常微细结构,就不可能识别细胞、组织的病理形态变化。组织学与生理学、生物化学等学科的关系也很密切。目前,对人体微细结构的研究已从组织细胞水平、亚细胞水平提高到分子水平,乃至基因水平,更有利于深入理解正常机体的生理、生化代谢过程以及疾病的发生机制。

人体胚胎学为妇产科学、男性学、生殖工程学、儿科学、计划生育和人类优生学等学科提供了必要的基础知识。特别是与目前胚胎干细胞、组织工程的研究关系密切,对于干细胞的深入研究,也给胚胎学的发展带来了新机遇,胚胎学的许多概念得到了更新和补充。干细胞和组织工程研究的新成果,将使人类对疾病的认识和治疗获得飞速发展。

## 二、组织学与胚胎学的常用研究方法

组织学伴随着显微镜的发明而建立,显微镜的改进升级和标本制备技术的进步推动着组织学和胚胎学的不断发展。显微镜的放大倍率(magnification)与其分辨率(resolving power)有关。在一定的距离内,人眼分辨两点之间最小距离的能力,称为分辨率。通常,人裸眼的分辨率仅为0.2mm,而光学显微镜的分辨率约为0.2 $\mu\text{m}$ ,可使物体放大几十倍至1000倍。电子显微镜的分辨率则提高到0.2nm,放大倍率为几千倍至百万倍。

用光学显微镜与电子显微镜观察标本时,常用的长度计量单位及其之间的换算为:

$$1\mu\text{m}(\text{微米})=10^{-3}\text{mm}(\text{毫米})$$

$$1\text{nm}(\text{纳米})=10^{-3}\mu\text{m}(\text{微米})$$

另外,样品制备技术的不断进步和完善,与观察手段相得益彰,为深化研究工作创造了良好的条件。可以预言,随着技术进步、新方法的不断涌现,必将有力地推动组织学与胚胎学进一步的发展。下面仅就常用的显微镜和样品制备技术作简要介绍。

### (一) 光学显微镜术

1. 普通组织标本的制备技术 普通光镜用透射光观察标本,如果把组织材料直接置于显微镜下,由于厚度大,光线不能透过,而且绝大多数组织都是无色的,难以进行观察。须将组织材料制备为薄的组织切片,再经染色等步骤,才能在显微镜下观察。组织处理的主要步骤如下:

(1) 取材和固定:将新鲜组织约5mm<sup>3</sup>无损伤取下,立即投入固定液中进行固定(fixation)。固定的目的是防止组织离体后由于酶的作用,细胞产生自溶;同时防止由于细菌的作用产生组织腐败,并尽可能保存细胞生活状态下的结构、化学特性和生物活性等。固定液的种类很多,最常用的是甲醛溶液。

(2) 包埋和切片:为便于将组织块切割为薄的组织切片,需将固定的组织块逐步过渡到包埋剂中,进行包埋(embedding)。最常用的是石蜡包埋,对于大的组织块如眼球、大脑等也可用火棉胶包埋。固定之后的标本,经过浓度递增的乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡充分浸透,最终是以石蜡充填组织中水分的位置,并将整个组织块包埋在石蜡块内。用切片机(microtome)把石蜡组织块切成5~7 $\mu\text{m}$ 的薄片,裱贴在载玻片上,干燥后准备染色。

此外,还可将未经固定的新鲜组织块迅速冷冻,再用冷冻切片机(cryostat)进行切片,称为冷冻切片技术。该技术能较好地保存组织的化学成分和酶活性,并且方法简便快速,适用于酶的显示和临床病理快速诊断。如果是液状的组织如血液、骨髓、胸水、腹水或分泌物等,可以直接涂于载玻片上,制成涂片标本。疏松结缔组织、肠系膜等制成铺片标本。牙或骨等坚

硬组织需制成磨片标本。

(3) 染色：在普通光学显微镜下，只有当可见光通过标本后发生波长或振幅改变时，才能观察到结构细节。一般生物样品多无色透明，所以需要组织切片进行染色 (staining)。最常用的是苏木精 (hematoxylin) 和伊红 (eosin) 染色法，简称为 HE 染色。苏木精为蓝色的碱性染料，能将组织或细胞内的酸性物质如细胞核染为紫蓝色。伊红为红色的酸性染料，能将组织或细胞内的碱性物质如细胞质染为粉红色。组织细胞成分易于被碱性染料或酸性染料着色的性质分别称为嗜碱性 (basophilia) 和嗜酸性 (acidophilia)；若与两种染料的亲和力均较差，着色很浅，则称为中性 (neutrophilia) (图 1-1)。

银染法也较常用。将组织切片浸于硝酸银中，有的组织成分能够直接把硝酸银还原，使银颗粒附于其上，呈棕黑色或棕黄色，组织的这种染色特点称为亲银性 (argentaffin)；有的组织成分本身对硝酸银无直接还原能力，需要先加入还原剂，使银盐还原沉淀显色，称为嗜银性 (argyrophilia) (图 1-2)。

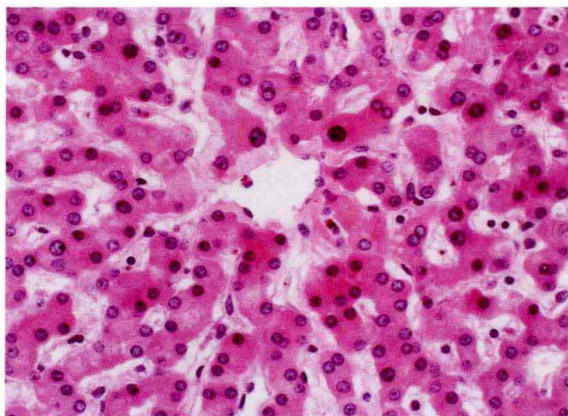


图 1-1 猪肝切面光镜像，HE 染色

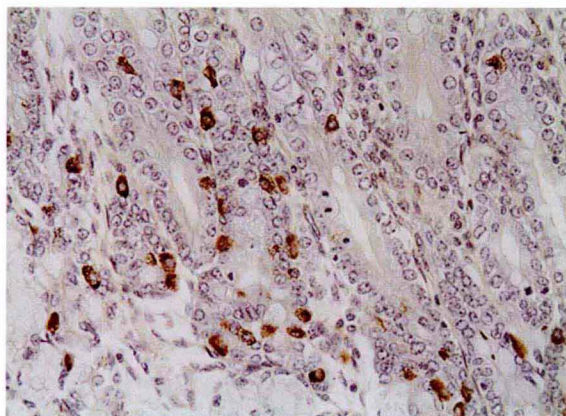


图 1-2 豚鼠小肠嗜银细胞光镜像，银染色

异染性是一种有趣的染色现象，例如，当用蓝色的碱性染料甲苯胺蓝进行染色时，肥大细胞内的嗜碱性颗粒被染为紫红色，并非染成蓝色，这种改变染料自身颜色的现象称为异染性 (metachromasia)。其原理可能是该染料在溶液中呈单体状态时显蓝色，当它与多阴离子的高分子物质结合后，染料分子聚合成多聚体时则呈现红色。

(4) 脱水和封片：染色后的标本经过从低到高梯度浓度乙醇脱去组织中的水分，经二甲苯透明，用树胶将组织封存于载玻片和盖玻片之间，以便较长期保存。

2. 普通光学显微镜 普通光学显微镜 (conventional light microscope, CLM) 简称为光镜，是最常用、最基本的观察工具。它以普通光线为光源，以玻璃透镜进行聚焦、放大成像，使用透射光观察标本。组织标本一般需要切成  $5 \sim 7\mu\text{m}$  的薄片，用染料染色以增加颜色反差，构成彩色图像显示细胞、组织结构。除了普通光学显微镜外，还有其他特殊光学显微镜，也广泛应用于科学研究，如荧光显微镜、偏振光显微镜、微分干涉差显微镜、相差显微镜等。它们的差别只是光源的变化、相位的变化等，但都是基于光和组织内容的相互作用，空气为介质，其分辨率和放大倍率都是基于光的特征，最高放大倍率受到限制，最大为 1000 倍。

3. 荧光显微镜 荧光显微镜 (fluorescence microscope) 采用波长较短的紫外光或蓝紫光作为光源，又称为激发光。标本中某些特殊分子吸收激发光之后，发出在荧光显微镜下可观察到的、波长较长的荧光。呈现荧光处，即代表某种成分所在。这些成分若是组织、细胞的固有

成分,则称为原发荧光;若是与荧光染料结合的成分,则称为继发荧光。例如,维生素 A 本身所产生的绿色荧光即为原发荧光,而 DNA 与荧光染料吖啶橙结合后发出的黄绿色荧光则为继发荧光, RNA 发出的继发荧光呈橘红色。若以荧光染料(如异硫氰酸、罗丹明等)标记抗体,检测组织中相应抗原的存在与分布,则称为免疫荧光技术,特异性更高。

4. 激光共聚焦扫描显微镜 激光共聚焦扫描显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)是 20 世纪 80 年代研制成的。它是以激光为光源、在传统光学显微镜基础上采用共轭聚焦原理和装置、并利用计算机对所观察分析的对象进行数字图像处理的一套观察和分析系

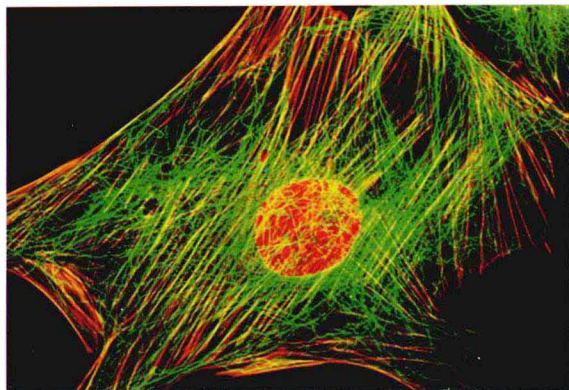


图 1-3 3T3 细胞系激光共聚焦扫描显微镜像  
(Michael W. Davidson 提供)

统。CLSM 主要解决了生物样品结构相互重叠影响观察的问题。CLSM 可对细胞或组织切片(包括活细胞或组织)进行连续扫描,获得各个层面的结构图像,并进行三维重建。由于具备多个通道,可对组织、细胞进行多重荧光染色或标记,能分别获得单染色图像、多重染色图像以及透射光图像,并将它们共同定位于一个图像(图 1-3)。另外,CLSM 可检测活细胞内 pH、离子浓度、膜电位、自由基、荧光漂白恢复等,进行笼锁解笼锁的测量、荧光能量共振转移的测量等。

双光子激光扫描显微镜(two-photon laser scanning microscope)是结合了激光扫描显微镜技术和双光子激发技术基础上的新的实验技术。它具有长波长激发深度大,焦平面外激发几乎无荧光,无须针孔阻挡,采集效率高,低细胞损伤,以及可用于活细胞长时间三维成像的特点。它为原位观察生物活体提供了最佳方法,可以在不破碎细胞的前提下显示基因在生物体内的表达。它可用微型激光“光刀”对黏附细胞进行筛选、分离、克隆,以及对各种细胞和染色体进行切割;可进行膜流动性、膜电位变化的检测,可用于高分子物质的扩散、通透性、受体的移动变化、细胞骨架、基因定位、原位杂交、细胞间通信的研究;可对细胞内的 DNA 损伤和修复、酶活性进行检测。

双光子激光扫描显微镜(two-photon

## (二) 电子显微镜术

1. 透射电子显微镜术 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)以电子束为光源,以电磁场作为透镜(电磁透镜),电子束在电磁场的作用下偏转,产生聚焦或放大,放大的图像成像于荧光屏,可照相记录。

TEM 标本的制备需经过取材、固定、脱水、包埋、切片、电子染色等步骤。与普通组织标本制备技术比较,有以下特点:取材时组织块更小,一般为  $1\text{mm}^3$ ;固定液通常使用戊二醛、四氧化锇双重固定;树脂包埋;用超薄切片机切成厚度为  $50 \sim 80\text{nm}$  的超薄切片;将超薄切片捞载于铜网上;使用重金属盐醋酸铀、枸橼酸铅进行电子染色。电镜下观察时,由于标本中不同成分与重金属盐结合程度的差异,因而对电子的吸收与散射程度不同,所以在荧光屏上呈现出图像的明暗反差。被重金属盐染色多的部位,电子束照射时,产生电子吸收或电子散射,而透过标本的电子数量少,在荧光屏上成像显得暗,称为电子密度高(electron density);反之,在荧光屏上成像显得亮,称为电子密度低(electron lucency)或电子透明(图 1-4)。电镜下所观察到的结构称为电镜结构(electron microscopic structure)或超微结构,代表亚细胞水平。电子染色与染料染色不同,不产生颜色差别,只产生明暗反

差，所以迄今电镜下仍然是黑白世界，我们有时看到的彩色像实际上是电脑加工后的伪彩色。

2. 扫描电子显微镜术 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 主要用于观察组织细胞的表面形貌 (图 1-5)。SEM 发射的电子经聚焦后形成极细的电子束，称为电子探针。后者在样品表面逐级扫描，扫描到样品表面的电子，为入射电子，由于它的撞击，样品表面发出二次电子。各扫描点二次电子的产量与样品表面的形貌有关。收集二次电子信号并放大，最后在荧光屏上可转变为图像。图像是明暗反差的三维立体图像。

扫描电镜的标本不需要制成超薄切片，标本经过固定、脱水干燥，表面喷镀金属膜，即可观察。样品表面喷镀处理可增加表面二次电子信号发射率，并可增加样品表面导电性，使图像质量提高。

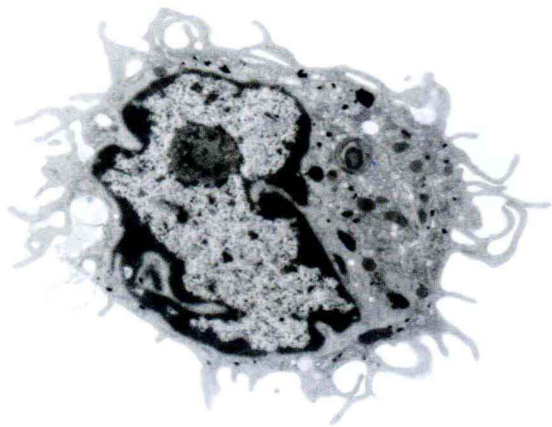


图 1-4 纯化的小鼠淋巴结树突状细胞透射电镜像

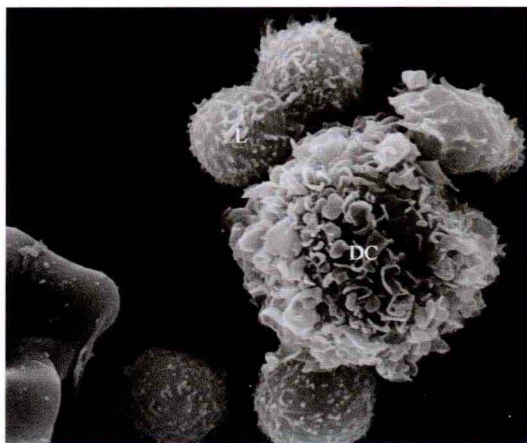


图 1-5 体外培养的人树突状细胞 (DC) 和淋巴细胞 (L) 扫描电镜像

### (三) 组织化学与细胞化学技术

组织化学 (histochemistry) 与细胞化学 (cytochemistry) 是介于组织学与生物化学间的边缘科学。其基本原理是利用某些化学试剂与组织细胞样品中的某种物质发生化学反应，反应终产物在组织的原位形成可见的有色沉淀物，从而间接证明某种组织细胞成分的存在。用组织化学方法可以定性、定位、间接定量显示组织内糖类、脂类、蛋白质和酶、核酸等物质。例如，过碘酸希夫反应 (periodic acid Schiff reaction, PAS) 是显示多糖和糖蛋白的组织化学反应，糖被强氧化剂过碘酸氧化后，形成多醛，后者再与无色的品红硫醛复合物 (即希夫试剂) 反应，形成的终产物为紫红色沉淀 (图 1-6)。

倘若组织化学反应终产物的细小沉淀具有吸收或散射电子的能力，则可在

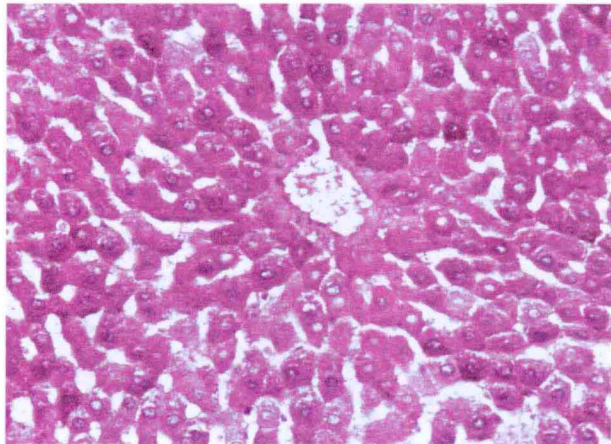


图 1-6 大鼠肝糖原光镜像，组织化学 PAS 法

超微结构水平上观察到某种化学成分的存在，称此为电镜细胞化学技术（electron microscope cytochemistry）。

#### （四）免疫组织化学或免疫细胞化学技术

免疫组织化学（immunohistochemistry）、免疫细胞化学（immunocytochemistry）是以抗原抗体结合反应为基础，在显微镜下查知组织或细胞内多肽、蛋白质等抗原性物质的技术。它的优点是特异性强、敏感度高。显微镜下抗原抗体反应不可直视，但若用标记物将抗体进行标记，再用标记的抗体与抗原进行反应，那么标记物显色的地方，即代表抗原的所在（图 1-7）。常用的标记物有辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等。如果用胶体金、铁蛋白等作为标记物，在透射电镜下观察免疫细胞化学染色标本，称为免疫电镜术（immunoelectron microscopy）。如

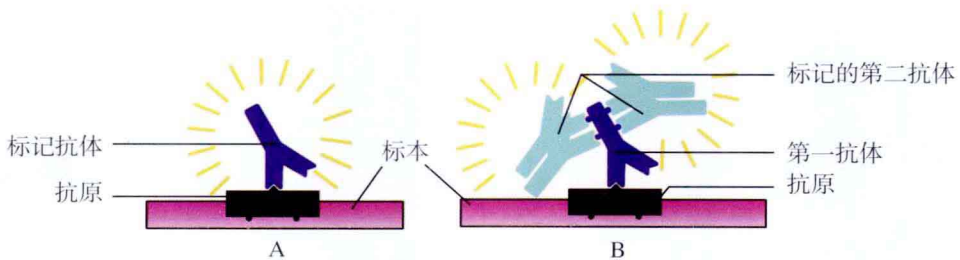


图 1-7 免疫组织化学直接法（A）与间接法（B）示意图

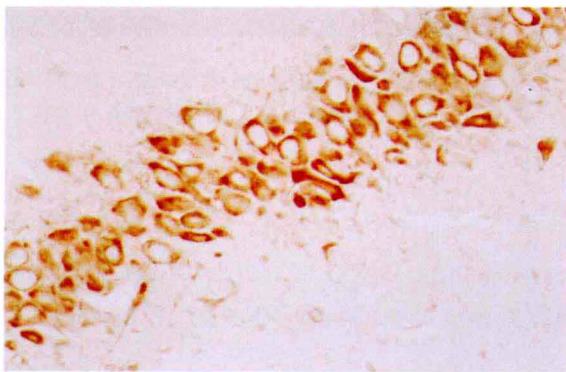


图 1-8 免疫组织化学 SP 法显示大鼠海马神经元

果以荧光素为标记物，则可在荧光显微镜下进行观察，称为免疫荧光技术（immunofluorescence microscopy）。

标记抗体与被检抗原的结合方式有两种：直接法和间接法。以标记的第一抗体（简称为一抗）直接与抗原结合的方法为直接法。如果将一抗再次作为抗原免疫另外一种动物，产生出第二抗体（简称为二抗），将二抗进行标记，先后以一抗和标记的二抗处理标本，最终形成抗原+一抗+标记二抗复合物。显然，间接法较直接法的敏感度更高（图 1-7，图 1-8）。

#### （五）原位杂交技术

原位杂交（in situ hybridization）技术，即核酸分子杂交组织化学技术。基本原理是根据 DNA 或 RNA 核苷酸碱基互补规律，应用已知的被标记碱基序列（核酸探针）与细胞内待检测的 mRNA 或 DNA 片段（基因）进行杂交，通过标记物的显示，在显微镜下观察待测基因的定位分布，并可以通过图像分析技术进行定量，进而反映出该基因的表达与细胞功能的联系，具有很高的特异性和敏感性。常用的标记物有两类，一是放射性核素，如  $^{35}\text{S}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^3\text{H}$ ，经放射自显影术处理后观察；二是非放射性试剂，如碱性磷酸酶、地高辛等，经免疫组织化学处理后观察。免疫组织化学是在翻译水平检测基因的表达产物蛋白质或多肽的定性和定位，原位杂交技术是在转录水平检测 mRNA 或 DNA 片段的有无和活性。



## （六）组织或细胞培养技术

组织培养 (tissue culture)、细胞培养 (cell culture) 是将活的组织或细胞在体外适宜条件下进行培养的技术。细胞在体外生长, 需要与体内基本相同的条件 (温度、湿度、营养、pH、合理的氧气与二氧化碳比例等)。对培养的细胞可进行形态学观察、功能测试和基因修饰等, 也可对培养细胞施加一定的实验因素, 观察其对细胞形态、功能、行为等的影响 (图 1-9)。体外培养下的各因素易于控制, 便于对所得结果进行分析。组织培养技术在生物医学领域有着广泛应用, 已经成为细胞学、病理学、微生物学、免疫学、肿瘤学、分子生物学等不可缺少的研究手段, 为医学发展做出了很大贡献。

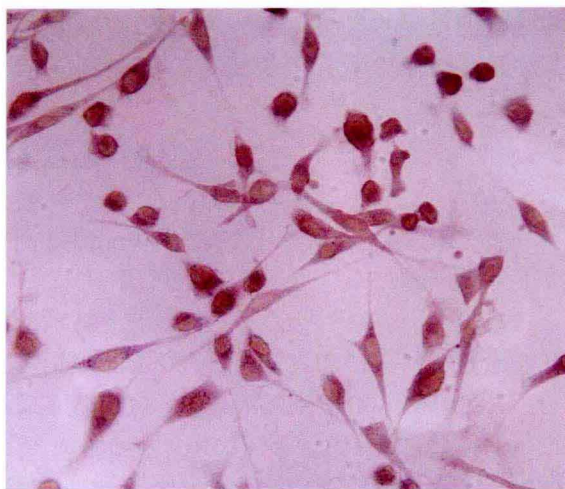


图 1-9 体外培养的神经干细胞光镜像

## （七）组织工程

组织工程 (tissue engineering) 是指应用生命科学与工程学的原理与技术, 在正确认识哺乳动物的正常和病理两种状态下的组织结构与功能关系的基础上, 以分子生物学、细胞生物学、生物工程学和临床医学为基础, 设计、构造、改良、培育和保养活组织, 用以修复或重建组织器官的结构, 维持或改善组织器官的功能的一门新兴的边缘科学。组织工程的研究内容主要包括种子细胞、生物材料支架 (biomaterial scaffold) 或细胞外基质微环境、组织器官三维构建及移植应用 4 个方面, 并与生物活性因子和生物反应器密切相关。

理想种子细胞的标准是: ①来源广, 数量充足; ②容易培养, 黏附力大, 增殖力强, 可大量扩增; ③遗传背景稳定, 具备特定的生物学功能; ④纯度高, 具备特定功能的细胞占主导; ⑤免疫排斥反应极小或无免疫排斥反应; ⑥分子结构和功能与再生组织的正常细胞相似; ⑦临床上易取得, 供体损伤小, 具有实用性。满足这些条件, 是种子细胞能够再生特定组织或修复特定组织缺损的重要保证。

种子细胞的种类: 用于组织工程的种子细胞包括干细胞及其他一些细胞, 但干细胞是最重要的组织工程种子细胞。

干细胞 (stem cell) 是指未分化的、具有增殖和自我更新能力以及分化潜能的细胞群体。根据分化潜能的不同, 干细胞可分为全能干细胞 (totipotent stem cell)、多潜能干细胞 (pluripotent stem cell)、多能干细胞 (multipotent stem cell) 和单能干细胞 (unipotent stem cell)。根据来源不同, 干细胞可分为胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC) 和成体干细胞 (adult stem cell)。

成体干细胞由于不存在伦理争议及发育分化条件相对简单等优势, 是最具有临床应用价值的组织工程种子细胞。

## （八）图像分析术

高级多维图像分析系统由多个图像分析与合成模块所组成, 可利用相关设备采集的超分辨率图像信息, 进行测试、整合、分析: ①在二维、三维和四维水平定性和定量分析细胞间的微