



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材
全国高等医药院校规划教材

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理、法医等专业使用

案例版TM

组织学与胚胎学

第3版

主编 白咸勇 胡 军

课件

图片

音频

视频

拓展

动画

微课

案例



扫描书中二维码
尊享数字化资源增值服务



科学出版社



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材
全国高等医药院校规划教材

案例版™

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理、法医等专业使用

组织学与胚胎学

第3版

主 编 白咸勇 胡 军

副主编 王 东 张洪芹 李宝园 丁晓慧 王世鄂 牛嗣云

编 者 (按姓氏笔画排序)

丁晓慧 (沈阳医学院)

王 东 (滨州医学院)

王世鄂 (福建医科大学)

王淑英 (佳木斯大学)

王景霞 (佳木斯大学)

牛嗣云 (河北大学)

付文玉 (潍坊医学院)

白生宾 (新疆医科大学)

白咸勇 (滨州医学院)

刘 卉 (福建医科大学)

齐亚灵 (海南医学院)

李成仁 (陆军军医大学)

李红星 (滨州医学院)

李宝园 (山西大同大学医学院)

李笑岩 (滨州医学院)

时 彦 (滨州医学院)

宋 阳 (大连医科大学)

张连双 (滨州医学院)

张洪芹 (滨州医学院)

张海燕 (齐齐哈尔医学院)

周 欣 (大连医科大学)

赵 伟 (滨州医学院)

赵春艳 (潍坊医学院)

胡 军 (大连医科大学)

侯 云 (滨州医学院)

宫琳琳 (大连医科大学)

殷彦君 (滨州医学院)

常 青 (宁夏医科大学)

黑常春 (宁夏医科大学)

廉 洁 (齐齐哈尔医学院)

蔡 恒 (滨州医学院)



科学出版社

北 京

郑 重 声 明

为顺应教育部教学改革潮流和改进现有的教学模式,适应目前高等医学院校的教育现状,提高医学教育质量,培养具有创新精神和创新能力的医学人才,科学出版社在充分调研的基础上,引进国外先进的教学模式,独创案例与教学内容相结合的编写形式,组织编写了国内首套引领医学教育发展趋势的案例版教材。案例教学在医学教育中,是培养高素质、创新型和实用型医学人才的有效途径。

案例版教材版权所有,其内容和引用案例的编写模式受法律保护,一切抄袭、模仿和盗版等侵权行为及不正当竞争行为,将被追究法律责任。

图书在版编目(CIP)数据

组织学与胚胎学 / 白咸勇, 胡军主编. —3 版. —北京: 科学出版社, 2020.1

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材·全国高等医药院校规划教材

ISBN 978-7-03-063779-6

I. ①组… II. ①白… ②胡… III. ①人体组织学—高等院校—教材 ①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 (2019) 第 281395 号

责任编辑: 张天佐 胡治国 / 责任校对: 贾娜娜

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 范 唯

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京汇瑞嘉合文化发展有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 1 月第 一 版 开本: 850×1168 1/16

2020 年 1 月第 三 版 印张: 17

2020 年 1 月第十六次印刷 字数: 532 000

定价: 85.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

第3版前言

《组织学与胚胎学》（案例版，第3版）的编写是在中国科学院教材建设专家委员会的指导下进行的。修订的宗旨是使本教材适应我国医药卫生事业发展对高素质人才的需要，按照“坚持创新、注重实践、提高素质、整体优化、面向临床”的培养目标，本着强调“三基”（基础理论、基础知识、基本技能）和体现“五性”（思想性、科学性、启发性、先进性、实用性）的原则进行编写。

此次编写保持了前两版的特色，并有所创新。

1. 相关知识导读部分更加科普化，目的在于启发学生思考，激发学生的学习兴趣。
2. 案例更加优化，相关问题的提出更能体现出组织学与胚胎学的知识内容，目的在于引导学生学习，培养学生的临床思维能力和分析问题能力，巩固学生所学的理论知识，提高学习效率。
3. 每章最后均附有案例中提出问题的解释和分析，目的在于加强基础学科与临床学科的联系，有助于加深学生对所学知识的理解。
4. 本版教材增加了临床相关知识或学科前沿知识，以视窗的形式展现出来，为学生拓展知识提供平台。
5. 每章配有主要知识点的微课讲解，有利于学生利用课余时间学习。
6. 本教材所有插图（除电镜像外）均为彩色图片，图文并茂，图随文排，有利于教与学。

本教材在编写过程中得到了各编者单位，尤其是滨州医学院和山西大同大学医学院的大力支持和帮助，在此表示感谢。

本版教材的部分章节是在前两版的基础上进行修编的，并保留了大量的文字和插图，对前两版编者做出的贡献，在此表示诚挚的谢意。

由于我们的水平有限，编写经验不足，书中难免存在不足之处，恳请同行专家和广大读者批评指正。

白咸勇 胡 军

2019年2月

第 1 版前言

随着我国高等医学教育的不断深入,相关部门对教学内容和课程体系改革提出了更高的要求。本教材为了顺应 21 世纪医学教育发展趋势,适应我国医药卫生事业发展对高素质人才的需求,按照“坚持创新、注重实践、提高素质、整体优化、面向临床”的培养目标,本着强调“三基”(基础理论、基础知识、基本技能)和体现“五性”(思想性、科学性、启发性、先进性、实用性)的宗旨,在中国科学院教材建设专家委员会的指导下,通过各位编者的共同努力编写而成。

本教材有以下几个特点:①在全书中加入了相关知识导读部分,目的在于启发学生思考,激发学生的学习兴趣;②在每章中增加了临床真实病例或标准化病例,目的在于引导学生学习,培养学生的临床思维能力和分析能力,巩固学生所学理论知识,提高学习效果;③组织学每章最后均附有常见组织或系统疾病的组织学基础,目的在于加强基础学科与临床学科的联系和结合,有助于加深学生对所学知识的理解,便于学生早期接触临床医学知识,为学生学习其他基础医学课程和临床医学课程奠定必要的形态学基础;④本教材所有插图(除电镜像外),均为彩色图片,图文并茂,图随文排,有利于教师制作多媒体课件进行教学。

本教材也吸收了国内外同类教材的优点,广大组织学与胚胎学同人们的劳动成果为本教材奠定了良好的基础,谨在此向他们表示深切的敬意和感谢。

在编写本教材过程中,科学出版社、滨州医学院和成都医学院的领导给予了大力支持,在此深表谢意。

编写这本案例版教材对我们来说是一次探索和尝试,由于编写经验不足,加之时间仓促,书中难免存在疏漏甚至错误之处,敬请组织学与胚胎学专业同人和广大读者批评指正。

白咸勇 湛宏鸣

2006 年 6 月

目 录

第一章 绪论	1
一、组织学与胚胎学的研究内容及意义	1
二、组织学与胚胎学发展简史和当代组织学与胚胎学	1
三、组织学与胚胎学的研究方法	2
四、组织学与胚胎学学习方法	7
第二章 上皮组织	9
一、被覆上皮	9
二、腺上皮与腺	12
三、上皮细胞的特殊结构	13
四、上皮组织的更新与再生	17
第三章 结缔组织	18
一、疏松结缔组织	18
二、致密结缔组织	23
三、脂肪组织	24
四、网状组织	25
第四章 软骨和骨	27
一、软骨	27
二、骨	29
第五章 血液和血细胞发生	37
一、血液	37
二、淋巴	42
三、骨髓和血细胞发生	42
第六章 肌组织	47
一、骨骼肌	47
二、心肌	51
三、平滑肌	52
第七章 神经组织	55
一、神经元	55
二、突触	58
三、神经胶质细胞	59
四、神经纤维和神经	60
五、神经末梢	62
六、神经干细胞	64
七、神经纤维的溃变和再生	64
第八章 神经系统	66
一、大脑皮质	66
二、小脑皮质	69
三、脊髓	71
四、神经节	72
五、脑脊膜和血 - 脑屏障	73
六、脉络丛与脑脊液	74
第九章 循环系统	76
一、动、静脉管壁的一般结构	76

二、动脉	77
三、毛细血管	79
四、静脉	81
五、心脏	82
六、微循环	84
七、淋巴管系统	84
第十章 免疫系统	86
一、主要的免疫细胞	86
二、淋巴组织	87
三、淋巴器官	88
第十一章 皮肤	96
一、皮肤的组织结构	96
二、皮肤的附属器	100
三、皮肤的血管、淋巴管和神经	102
四、皮肤的再生	103
第十二章 内分泌系统	105
一、甲状腺	106
二、甲状旁腺	107
三、肾上腺	108
四、垂体	110
五、松果体	115
六、弥散神经内分泌系统	116
第十三章 消化管	117
一、消化管壁的基本结构	117
二、口腔	118
三、咽	120
四、食管	120
五、胃	121
六、小肠	124
七、大肠	126
八、肠相关淋巴组织	127
九、胃肠的内分泌细胞	128
第十四章 消化腺	131
一、唾液腺	131
二、胰腺	132
三、肝	134
四、胆囊与胆管	138
第十五章 呼吸系统	140
一、鼻腔	140
二、喉	141
三、气管和主支气管	141
四、肺	142
第十六章 泌尿系统	149
一、肾	149
二、输尿管	155
三、膀胱	155
第十七章 眼和耳	157
一、眼	157

二、耳	162
第十八章 男性生殖系统	168
一、睾丸	168
二、生殖管道	172
三、附属腺	173
四、阴茎	174
第十九章 女性生殖系统	176
一、卵巢	176
二、输卵管	180
三、子宫	180
四、阴道	184
五、乳腺	185
第二十章 胚胎学总论	187
一、胚胎学概述	187
二、生殖细胞与受精	187
三、胚泡的形成和植入	189
四、胚层形成	191
五、三胚层分化和胚体形成	193
六、胎膜与胎盘	194
七、胚胎各期外形特征和胚胎龄的推算	198
八、双胎、多胎和联胎	200
第二十一章 颜面和四肢的发生	202
一、鳃器的发生	202
二、颜面的形成	203
三、腭的形成及口腔和鼻腔的分隔	204
四、牙的发生	205
五、四肢的发生	206
六、颜面和四肢的常见畸形	206
第二十二章 消化系统和呼吸系统的发生	208
一、消化系统的发生	208
二、呼吸系统的发生	213
第二十三章 泌尿系统和生殖系统的发生	216
一、泌尿系统的发生	217
二、生殖系统的发生	218
第二十四章 心血管系统的发生	223
一、原始心血管系统的建立	223
二、心脏的发生	224
三、胎儿血液循环及出生后的变化	228
四、心血管系统的常见畸形	229
第二十五章 神经系统的发生	232
一、神经系统的发生	232
二、相关内分泌腺的发生	238
第二十六章 眼和耳的发生	240
一、眼的发生	240
二、耳的发生	242
第二十七章 先天性畸形	245
一、先天性畸形的分类	245

二、先天性畸形的发生原因	246
三、胚胎的致畸敏感期	248
四、先天性畸形的预防和治疗	248
参考文献	250
中英文名词对照索引	251

第一章 绪 论



第一章 PPT

一、组织学与胚胎学的研究内容及意义

组织学 (histology) 与胚胎学 (embryology) 是相互联系又相互独立的两门科学。组织学是研究正常机体微细结构及其相关功能的科学; 胚胎学是研究从受精卵发育为新生个体的过程及其机制的科学。组织学与胚胎学发展至今, 已有 200 多年的历史。在 20 世纪初, 组织学的研究范围仍然是在显微镜下观察机体的微细结构, 也就是细胞水平。但 20 世纪 30 年代电子显微镜问世, 经过不断的改进和完善, 已广泛应用于研究不同功能或观察不同分化发育阶段细胞的超微结构特点, 使人类对生命现象结构基础的认识引申到超微领域。一般光学显微镜下所见的形态, 称光镜结构; 电子显微镜下显示的结构, 称超微结构。

组织学内容可分为两大部分, 即基本组织和器官系统。组织 (tissue) 由细胞 (cell) 和细胞外基质 (extracellular matrix) 组成。细胞是机体结构与功能的基本单位, 细胞外基质由细胞产生。人体组织根据其胚胎时期的发生和来源、细胞构成、形态结构及功能特点等可归纳为四大类, 即上皮组织、结缔组织、肌组织和神经组织。组织以不同的种类、数量和方式组合形成器官 (organ); 若干结构相似、功能相关的器官联合构成系统 (system)。胚胎学的研究内容包括生殖细胞发生、受精、胚胎发育、胚胎与母体关系及先天性畸形等。生殖工程 (reproductive engineering) 为胚胎学的一个新兴的研究领域, 是通过人工介入早期生殖过程, 以获得人们期望的新生个体。采用的主要技术有体外受精、早期胚胎培养、胚胎移植、卵细胞胞质内单精或细胞核注射、配子和胚胎冻存等。克隆动物和体外受精-胚胎移植技术, 是该领域中最著名的成就。除此之外, 胚胎学还有以下主要分支: 描述胚胎学 (descriptive embryology)、比较胚胎学 (comparative embryology)、实验胚胎学 (experimental embryology)、化学胚胎学 (chemical embryology) 和分子胚胎学 (molecular embryology) 等。

组织学与胚胎学是重要的基础医学课程, 与生物学、解剖学、生理学、生物化学、病理学等基础医学课程及妇产科学等临床医学课程均有密切联系。通过这两门课程的学习, 系统地掌握人体的微细结构和发生规律, 为学习其他基础和临床医学课程奠定必要的形态学基础。

二、组织学与胚胎学发展简史和当代组织学与胚胎学

(一) 组织学发展简史

光学显微镜 (light microscope, LM) 简称光镜, 于 16 世纪末由荷兰人发明。1665 年, 英国人 Robert Hooke 用光学显微镜观察到植物细胞, 提出了“细胞”一词, 同时也开创了用显微镜研究生物构造的先河。此后, Antoni van Leeuwenhoek 及 Graaf 观察到了红细胞、精子、肌纤维、卵泡。1801 年, 法国人 Bichat 首次提出“组织”一词。1838 年和 1839 年, 德国人 Schwann 和 Schleiden 在他们对动物和植物研究成果的基础上, 提出了细胞学说, 指出了细胞是一切动物和植物的结构、功能及发生的基本单位。到 19 世纪末, 人们已能较为正确地描述细胞结构, 利用组织学技术, 对机体标本进行全面而详细的观察和研究, 使组织学发展为一门独立而系统的学科。1932 年, 德国人 Ruska 和 Knoll 发明了电子显微镜 (electron microscope, EM), 简称电镜。电镜的分辨率从光镜的 $0.2\ \mu\text{m}$ 提高到约 $0.2\ \text{nm}$, 使人们观察到了细胞膜、细胞器、染色体、细胞间纤维成分的超微结构 (ultrastructure) 特点, 为深入阐明细胞、组织和器官的功能提供了新的依据, 组织学也从细胞水平飞跃到亚细胞水平, 人类对生命现象结构基础的认识引申到超微领域。

(二) 胚胎学发展简史

古希腊学者 Hippocrates 最早对鸡胚胎发育进行过观察, Aristotle 推测人胚胎来源于月经血与精液的混合。1651 年, 英国学者 Harvey 发表《论动物的生殖》, 提出“一切生命皆来自卵”的假设。光镜问世后, Leeuwenhoek 和 Graaf 分别观察到了精子和卵泡, 为人们正确认识胚胎来源提供了可



微课 1-1



靠的证据。17 世纪中叶,由荷兰学者 Graaf 和意大利学者 Malpighi 等提出“预成论”学说,认为在精子或卵泡内存在一个微小个体,由其逐渐发育长大为胎儿。18 世纪中叶,德国学者 Wolff 指出,早期胚胎中没有预先存在的微小个体,胚胎的四肢和器官是经历了从无到有、由简单到复杂的渐变过程而形成的,提出了“渐成论”。1828 年爱沙尼亚学者 Baer 观察到人和各种脊椎动物的早期胚胎极为相似,随着发育的进行才逐渐出现纲、目、科、属、种的特征,这就是贝尔定律。Baer 的研究成果彻底否定了“预成论”,并开创了比较胚胎学。1855 年,德国学者 Remark 提出了胚胎发育的三胚层学说,这是描述胚胎学起始的重要标志。1859 年,英国学者达尔文在《物种起源》中指出,不同动物胚胎早期的相似表明物种起源的共同性,后期的相异是由于各种动物所处外界环境的不同所引起。19 世纪 60 年代,德国学者 Müller 和 Haeckel 提出“个体发生是种系发生的重演”的学说,称为“重演律”。这一学说基本上是正确的,但由于胚胎发育期短暂,不可能重演全部祖先的进化过程。自 19 世纪末,人们开始探讨胚胎发育的机制。德国学者 Spemann 应用显微操作技术对两栖动物的胚胎进行分离、切割、移植、重组等实验,奠定了实验胚胎学的基础。根据实验结果提出了“诱导学说”,认为胚胎的某些组织能对邻近组织的分化方向起诱导作用。20 世纪 50 年代, DNA 结构的阐明和中心法则的确立,诞生了分子生物学。借助分子生物学的观点和方法,研究胚胎发育过程中遗传基因表达的时空顺序和调控机制,形成了分子胚胎学。分子胚胎学与其他学科,如实验胚胎学、细胞生物学、分子遗传学等相互渗透,发展建立了发育生物学 (developmental biology)。

(三) 当代组织学与胚胎学

随着科学技术的迅猛发展,当代组织学与胚胎学已发展到应用多种技术手段进行综合性科学研究的阶段,如各种特殊显微镜、电子显微镜、荧光技术、组织化学、免疫组织化学技术、同位素示踪标记、组织培养、细胞融合、蛋白质与核酸的分离提取和原位杂交技术、基因重组和基因工程、基因修饰、全胚培养、胚胎移植等,从而使组织学与胚胎学的内容不断充实、更新和扩展。当代组织学与胚胎学的研究包括对细胞增殖与分化的调控、细胞识别与运动、细胞通讯、受精机制与控制、性别的分化与控制、致畸因素与先天性疾病的预测、遗传性疾病发生的机制、环境污染与组织病变等的研究和探索。这些问题的研究与解决需要多学科、多层次的密切配合和高新技术的综合应用,同时与相关学科的基本理论和基本知识相互渗透、相互促进,使各学科之间的联系日益密切。

三、组织学与胚胎学的研究方法

随着科学技术的发展,组织学与胚胎学的新的研究技术和方法不断出现。这里仅就最常用的一些技术进行简要介绍。

(一) 一般光学显微镜技术

1. 组织标本的制备 利用一般光学显微镜观察组织、细胞是进行组织学与胚胎学研究最基本的技术。光镜标本的制备方式大体可以分为组织切片技术 (tissue slices) 和组织非切片技术。

(1) 组织切片技术:是比较常用的技术,尤其是石蜡切片 (paraffin section) 技术。石蜡切片标本的制备步骤:①取材和固定 (fixation):取新鲜组织块,将其置于固定剂中进行固定,使组织中的蛋白质迅速凝固,防止细胞自溶和组织腐败。常用的固定剂如乙醇、甲醛、乙酸、苦味酸、四氧化锇等,一般常将几种固定剂配制成混合固定液,以抵消或减弱单种固定剂对组织的收缩或膨胀等缺点,以达到更好的固定效果。②脱水和透明:利用梯度乙醇或丙酮进行脱水,去除组织中的水分,再用二甲苯等进行透明。③浸蜡和包埋 (embedding):将透明好的组织块浸入加温融化的石蜡中进行浸透,然后用石蜡将组织块包埋成硬块。④切片和染色 (staining):用石蜡切片机制成 5~10 μm 厚的组织切片,贴在载玻片上,经脱蜡等步骤后进行染色。⑤封固:在组织切片上滴加中性树胶,用盖玻片进行封固,保存。

制作较硬组织或较大组织器官等切片时,为了减轻因石蜡包埋所产生的收缩,可使用火棉胶 (collodion) 代替石蜡进行浸透包埋,用火棉胶切片机进行切片。新鲜的组织块也可立即投入液氮 (-196℃) 内快速冻结,用恒冷箱切片机制成冷冻切片 (frozen section),这种方法制片迅速,细胞内酶活性保存较好,常用于检测组织中酶的活性。



微课 1-2



(2) 组织非切片技术: 包括涂片、铺片、磨片和整装片等。血细胞和分离培养的细胞可直接涂在载玻片上, 制成涂片。疏松结缔组织和肠系膜等软组织可撕成薄片铺在载玻片上, 制成铺片。牙齿和骨骼等坚硬组织可磨成薄片, 制成磨片。为了观察胚胎早期的整体特点, 可以将整个胚胎经染色、透明后, 以封固剂和盖玻片封固, 制成整装片。

染色是用染料使组织切片着色, 便于镜下观察。组织学与胚胎学中最常用的是苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin staining), 简称 H-E 染色法。苏木精是一种碱性染料, 可使细胞核和胞质内的酸性物质染成蓝紫色。伊红是一种酸性染料, 可使细胞质和细胞外基质中的碱性物质染成红色 (图 1-1)。细胞和组织中的酸性物质或结构与碱性染料亲合力强者, 称嗜碱性 (basophilia); 而碱性物质或结构与酸性染料亲合力强者, 称嗜酸性 (acidophilia); 若与两种染料的亲合力均不强者, 称嗜中性 (neutrophilia)。除 H-E 染色法外, 还有许多染色方法, 能特异性地显示某种细胞、细胞外基质成分或细胞内的某种细胞结构。机体内某些结构成分, 经硝酸银处理时可使硝酸银还原, 形成银的微粒附着在组织结构上, 呈棕黑色, 这种性质称为亲银性 (argentaffin); 有些结构无直接还原作用, 需加入还原剂方能显色, 则称为嗜银性 (argyrophilia) (图 1-2)。还有些组织成分如结缔组织和软骨基质中的氨基聚糖 (又称糖胺多糖), 当用甲苯胺蓝 (toluidine blue) 等碱性染料染色后呈紫红色, 这种现象称为异染性 (metachromasia)。

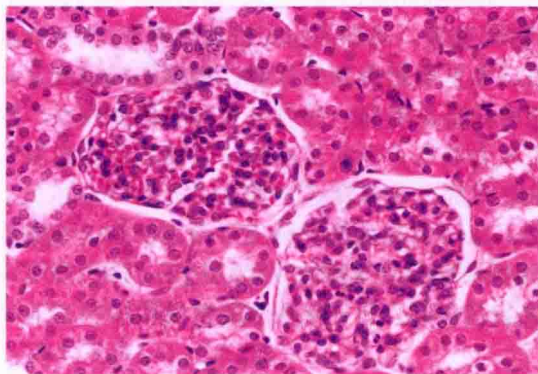


图 1-1 肾脏光镜图 (H-E 染色)

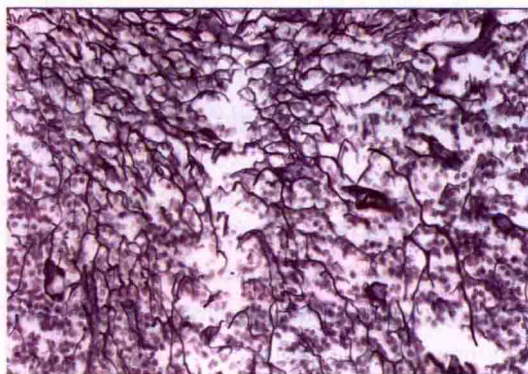


图 1-2 网状纤维光镜图 (镀银染色)

2. 几种特殊光学显微镜的应用

(1) 暗视野显微镜 (dark-field microscope): 主要用于观察在亮视野下因反差或分辨率不足的微细结构。此种显微镜主要是有一个暗视野集光器, 使光线不直接进入物镜, 故呈暗视野。普通光镜最大分辨率为 $0.2\ \mu\text{m}$, 暗视野显微镜则可分辨 $0.004 \sim 0.200\ \mu\text{m}$ 的微粒, 适用于观察不染色的新鲜细胞涂片或放射自显影 (autoradiography) 标本中的银颗粒分布, 以及观察细胞内线粒体运动和标本中细菌等微粒的运动。

(2) 相差显微镜 (phase contrast microscope): 用于观察组织培养中活细胞的形态结构。活细胞无色透明, 一般光镜下不易分辨细胞轮廓及结构。相差显微镜的特点是将活细胞不同厚度及细胞内各种结构对光产生的不同折射作用, 转换为光密度差异 (明暗差), 使观察到的组织结构反差明显、影像清晰 (图 1-3)。

(3) 荧光显微镜 (fluorescence microscope): 用于观察标本中的自发荧光物质或以荧光素染色或标记的细胞和结构。荧光显微镜以高压汞灯产生的短波紫外线为光源, 并配有激发、阻断、吸热和吸收紫外线等滤片系统, 标本中的荧光物质在紫外线激发下产生各种颜色的荧光, 借以研究该荧光物质在细胞和组织内的分布。荧光显微镜广泛用于免疫细胞化学研究, 即以异硫氰酸或罗丹明等荧光素标记抗体 (一抗或二抗), 用该标记抗体直接或间接地与细胞内的相应抗原结合, 以检测该抗原的存在与分布。

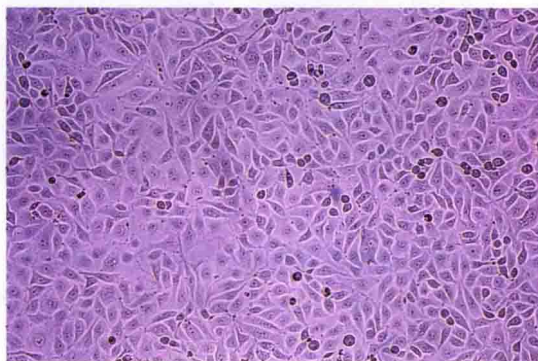


图 1-3 脐静脉内皮细胞相差显微镜图

(4) 激光共聚焦扫描显微镜 (laser scanning confocal microscope, LSCM): 是 20 世纪 80 年代研制成的高光敏度、高分辨率的新型仪器。它主要由激光源、共聚焦成像扫描系统、电子光学系统和图像分析系统 4 部分组成。激光可以透射且不损坏生物学组织。LSCM 可以通过改变聚焦平面, 直接进入切片标本的不同深度, 在不同平面上进行扫描聚焦, 得到一系列不同层面的清晰图像。利用计算机图像合成, 可以将多层图像叠加, 获得一张全聚焦图像, 能清楚显示样品凹凸不平的细节, 重建细胞的三维结构, 可对细胞的多种功能进行全自动、高效、快速的微量定性和定量测定。

此外, 超高分辨率荧光显微镜 (super-resolution fluorescence microscope) 使人们可以在纳米水平上观察、研究分子间的相互作用等。单层光显微技术 (light sheet microscopy) 能对厚达数毫米的样品进行观察, 并能进行荧光成像。该技术已经成功用于观察细小生物体和胚胎组织。

(二) 电子显微镜技术

电镜用电子束作为光源, 用电磁透镜聚焦电子束, 在荧光屏上成像, 然后进行观察。电镜的放大倍数的分辨率比光镜大得多, 放大倍数为几万至几十万倍, 分辨率可达 0.2 nm。

1. 透射电镜 (transmission electron microscope, TEM) 透射电镜标本的制备也包括固定、脱水、包埋、切片和染色等步骤。透射电镜标本制备较光镜的更严格, 新鲜组织切成小块 (1 mm^3), 用戊二醛、多聚甲醛、四氧化锇等固定, 树脂包埋, 以超薄切片机切成厚 $50 \sim 80\text{ nm}$ 的超薄切片, 经醋酸铀和柠檬酸铅等重金属电子染色。电子束射落到切片时, 随细胞构成成分的密度及吸附重金属铀、铅、锇程度的不同, 而发生相应的电子散射。当电子束投射到密度大、吸附重金属多的结构时, 电子被散射得多, 射落到荧光屏上的电子少而呈暗像, 电镜照片上呈黑或深灰色, 称高电子密度 (electron-dense); 反之, 浅染的部分称低电子密度 (electron-lucent) (图 1-4)。透射电镜技术主要用于观察细胞的超微结构。应用电镜观察细胞化学染色标本, 称电镜细胞化学技术 (electron microscope cytochemistry); 电镜观察免疫细胞化学染色标本, 称免疫电镜技术 (immuno-electron microscopy); 电镜与放射自显影结合的方法称电镜放射自显影技术 (electron microscope autoradiography)。

2. 扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 用于观察组织表面的立体结构。样品制备相对简单, 组织固定, 不需要包埋和切片, 经干燥后, 置于真空镀膜仪, 在标本表面先后喷镀一层碳膜和合金膜, 即可置于扫描电镜下观察。电镜发射极细的电子束在标本表面扫描, 标本表面散射的电子 (称二次电子) 被探测器收集, 形成电信号传送到显像管。由于扫描电镜的景深长, 可呈现富有立体感的表面图像, 如细胞表面的突起、微绒毛、纤毛及细胞的分泌与吞噬行为等 (图 1-5)。

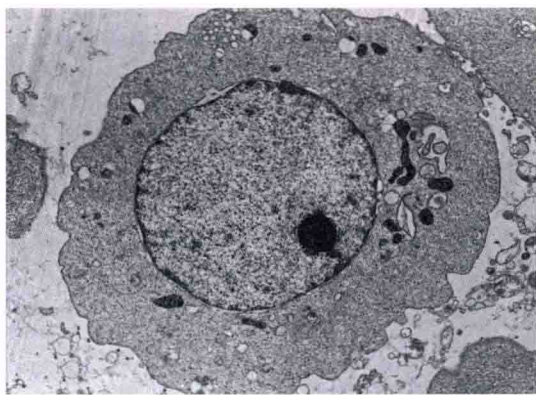


图 1-4 脐带内皮细胞透射电镜像

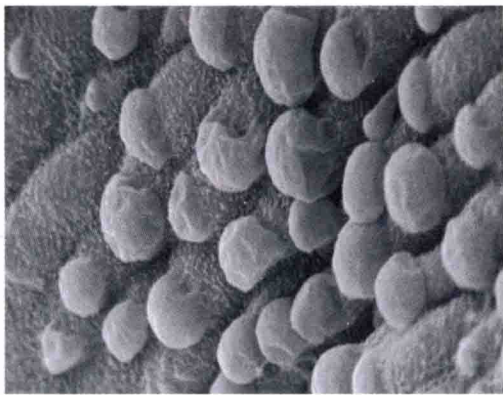


图 1-5 子宫内膜皱襞扫描电镜像

3. 冷冻蚀刻复型术 (freeze etch replica) 是在透射电镜下观察组织或细胞断裂面的金属复制膜, 显示细胞微细结构的立体影像。组织先经甘油、生理盐水处理 (防止形成冰晶) 后投入液氮快速冷冻, 在低温下用钢刀将样品劈开, 形成凹凸不平的断裂面; 在断裂面上先后喷镀一层合金膜和碳膜, 用次氯酸等组织腐蚀掉; 将反差的凹凸不平的金属复型膜置于镜下观察。此项技术尤适用于研究生

物膜的内部结构。

(三) 组织化学和细胞化学技术

组织化学 (histochemistry) 和细胞化学 (cytochemistry) 技术是通过化学、物理和免疫学等方法, 研究组织或细胞内某种化学成分, 进行定性、定位和定量, 从而探讨与其相关的功能活动。

1. 一般组织化学技术 是在组织切片上或被检测材料上加某种试剂, 与组织或细胞内某些物质起化学反应, 形成有利于观察的有色沉淀物或重金属沉淀。

(1) 糖类: 显示聚糖和蛋白聚糖的常用方法是过碘酸希夫反应 (periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)。其基本原理是过碘酸的氧化作用先使糖分子的乙二醇基变为乙二醛基, 后者继而与 Schiff 试剂结合, 形成紫红色反应产物。颜色反应的深浅取决于组织内聚糖的乙二醇分子的多寡。现阶段, PAS 联合阿利新蓝 (alcian blue, AB) 检测黏蛋白。AB 可将唾液黏蛋白、硫黏蛋白和蛋白聚糖染成蓝色。PAS 可将中性黏蛋白染成深红/红紫色, 同时将既含中性黏蛋白又含酸性黏蛋白的组织和细胞染成深浅不同的紫色。AB 是类铜钛花青阳离子染料, 与组织内含有的阴离子基团如羧基和硫酸根形成不溶性复合物。分子中带正电荷的盐键与酸性黏蛋白聚糖物质中带负电荷的酸性基团结合, 形成不溶性的复合物而呈蓝色, 再与 PAS 进行复合染色, 就能显示三种不同黏液物质成分 (图 1-6)。

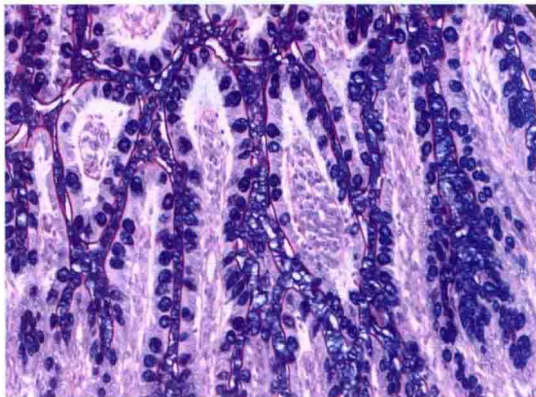


图 1-6 小肠绒毛光镜图 (AB-PAS 复合染色)

(2) 脂类: 包括脂肪和类脂。标本用甲醛固定, 冷冻切片。多用苏丹染料、油红 O、尼罗蓝等溶于脂类的染料使脂质呈色。也可用四氧化锇 (OsO_4) 染色, 脂肪酸或胆碱可使 OsO_4 还原为 OsO_2 而呈黑色。

(3) 核酸: 显示 DNA 的传统方法是 Feulgen 反应, 切片先用稀盐酸处理, 使 DNA 分子中脱氧核糖与嘌呤之间的连接键打开, 形成醛基, 再与 Schiff 试剂作用, 原理同 PAS 反应, 使细胞核 DNA 显紫红色。还可采用甲基绿-派洛宁染色法同时显示 DNA 和 RNA, 这两种染料都是碱性, 甲基绿使细胞核内的 DNA 呈蓝绿色, 派洛宁使细胞质和核仁内的 RNA 呈红色。

(4) 酶类: 细胞内的酶种类甚多, 有氧化还原酶、水解酶、合成酶、转移酶等几大类, 目前已有 100 多种酶组织化学染色法。酶组织化学反应的基本原理: 利用酶对其相应底物的水解、氧化等作用, 使底物的反应产物与某种捕获剂发生反应, 在原位形成沉淀或有色的最终产物, 借此检测该酶在组织切片或细胞内的分布及活性强弱。显色的深浅反映了酶活性的高低。由于绝大部分酶是蛋白质, 故也可以用免疫组织化学技术进行检测。

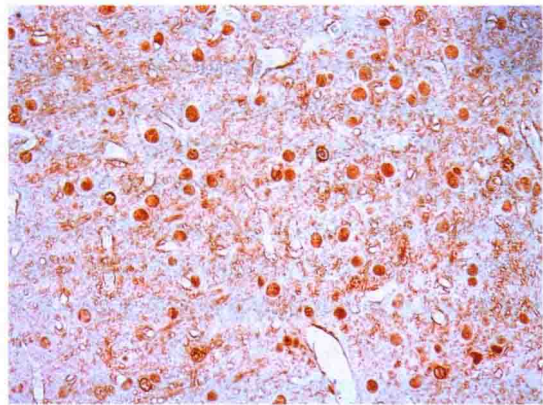


图 1-7 大脑皮质光镜图 (免疫组织化学技术 DAB 染色, 棕黄色示重组碱性成纤维细胞生长因子)

2. 免疫组织化学技术 (immunocytochemistry)

是基于抗原与抗体特异性结合的原理, 检测组织、细胞内多肽和蛋白质等大分子的技术 (图 1-7)。这种方法特异性强, 敏感度高, 进展迅速, 应用广泛, 已成为生物学和医学众多学科的重要研究手段。

3. 荧光组织化学技术 (fluorescent histochemistry) 或免疫荧光组织化学技术 (immunofluorescence histochemistry)

荧光组织化学技术敏感性高, 能检出更微量的物质。荧光显微镜以光波短和能量大的紫外线为光源, 当照射到荧光物质时, 激发出不同种颜色的荧光。组织中某些成分或有自发荧光, 或能与荧光素结合而发荧光。如维生素 A 呈绿色自发荧光;

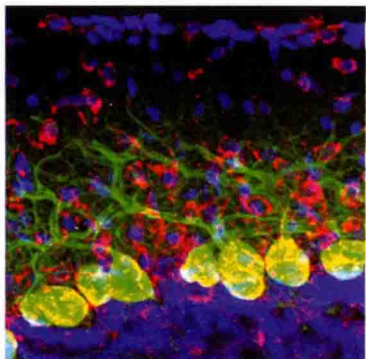


图 1-8 小脑皮质激光共聚焦显微镜图
(红色示胶质细胞; 绿色示浦肯野细胞;
蓝色示细胞核)

血红蛋白中的卟啉呈红色自发荧光。荧光染料种类多, 常用吖啶橙与 DNA 结合呈黄至黄绿色荧光, 与 RNA 结合呈橘黄色至橘红色荧光。免疫荧光组织化学技术是在免疫组织化学技术的基础上, 以异硫氰酸或罗丹明等荧光素标记抗体 (一抗或二抗), 用该标记抗体直接或间接地与细胞内的相应抗原结合, 使用荧光显微镜检测该抗原的存在与分布 (图 1-8)。

4. 原位杂交技术 (in situ hybridization) 是一种核酸分子杂交技术, 它是通过检测细胞内 mRNA 和 DNA 序列片段, 原位研究细胞合成某种多肽或蛋白质的基因表达。其基本原理是根据两条单链核苷酸互补碱基序列专一配对的特点, 应用已知碱基序列并带有标记物的核酸 (RNA 或 DNA 片段) 探针 (probe), 与组织切片或细胞内的待测核酸进行杂交, 通过

标记物的显示, 在光镜或电镜下观察目的 mRNA 或 DNA 的存在与定位 (图 1-9)。核酸分子原位杂交术有很高的敏感性和特异性, 它是在免疫细胞化学的基础上, 进一步从分子水平上探讨细胞功能的表达及其调节机制的, 已成为当前细胞生物学、分子生物学研究的重要手段。

5. 组织和细胞化学定量术 组织和细胞形态结构及其化学成分的定量研究, 是以量的测定及其数据变化来阐述组织和细胞的生长、分化、代谢和功能的演变, 以及对环境因素和致病因素的反应。目前比较常用的定量技术有以下几种:

(1) 显微分光光度定量技术 (microspectrophotometry): 是将显微镜技术和分光光度技术结合, 应用显微分光光度计测定组织化学和免疫组织化学染色标本的反应强弱, 进行化学成分的定量分析。基本原理: 细胞内某种物质的含量不同, 其染色反应的深浅不一, 对一定波长的光吸收也就不同。通过光电组合自动控制系统将光度转换为电信号, 即可得出光密度值 (OD 值), 进行定量分析比较。

(2) 显微荧光光度技术 (microfluorometry): 是利用对细胞内原有发荧光的物质或对细胞内各种化学成分用不同荧光素标记后, 进行定性、定位和定量的测量。

(3) 流式细胞术 (flow cytometry, FCM): 是利用流式细胞仪进行的一种单细胞定量分析和分选技术。流式细胞术主要应用于测定细胞内 DNA 的变异系数、DNA 倍体分析; 定量研究细胞内蛋白质和核酸; 快速进行细胞分选和细胞收集; 也可应用于各种干细胞的检测、癌症患者的多药耐药性、血小板分析等。

(4) 形态计量技术 (morphometry): 是运用数学和统计学原理对组织和细胞内各种有形成分的数量、体积、表面积、周长等的相对和绝对值测量的方法。研究物体某些结构的立体数值的科学称体视学 (stereology)。通过组织切片或照片 (光镜和电镜) 平面图像的测量, 推算其立体结构数值, 传统方法是将测试系统 (点、线、方格等) 投影或覆盖在切片上或照片上, 把若干样品的平面测量数据按数学公式推算出其立体数值。目前已广泛应用图像分析仪 (image analyzer) 进行形态计量研究, 该仪器是将切片或照片的图像通过摄像机显示于屏幕上, 并根据不同结构的颜色深浅 (灰度) 及各像点的大小位置, 快速准确地得出所需的各种形态数据。组织化学和免疫组织化学染色标本, 也可应用图像分析仪测定其光密度值, 进行定量分析。

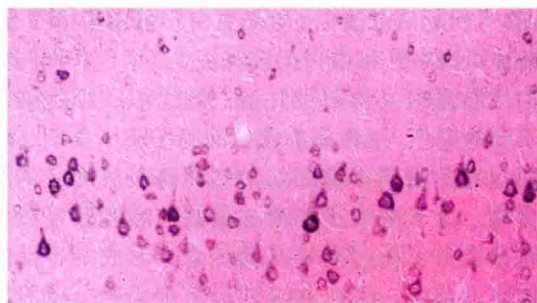


图 1-9 脊髓前角光镜图 (原位杂交, BCIP/NBT 显色,
示 VEGFR-3 mRNA)

(四) 组织培养或细胞培养技术及组织工程

1. 组织培养 (tissue culture) 或细胞培养技术 是在体外适宜的环境中培养、研究活组织、活细胞或早期胚胎的形态结构、生理功能及动态变化的一种有效的研究手段。在无菌条件下, 将从机体取得的活组织、整个胚胎、细胞或可供长期传代培养的细胞株, 置于富含营养的培养基内, 保持

合理的 O_2 与 CO_2 比例, 在必要的电解质和适宜的渗透压、pH、温度和湿度等条件下对其进行培养。可在倒置相差显微镜下观察细胞的增殖、分化、运动等动态变化, 也可用显微录像系统或激光共聚焦显微镜等记录组织细胞或胚胎的连续变化过程。还可应用组织或细胞培养研究各种物理、化学因素对胚胎的影响或对活细胞增殖、分化、代谢、运动、吞噬、分泌等动态过程的影响及细胞病变、癌变和逆转等的机制, 获得在体实验难以达到的研究目的。

2. 组织工程 (tissue engineering) 是用细胞培养技术在体外模拟构建机体组织或器官的技术。目前, 组织工程化皮肤和软骨已经获得成功, 并用于临床。组织工程的基本方法: 取少量自体或异体组织, 分离、培养种子细胞; 应用人工合成的有机高分子聚合物或天然的细胞外基质成分, 制备有一定形状和空间结构的三维支架; 将种子细胞种植到支架上, 在体外培养或植入体内; 细胞生长增殖, 并不断分泌细胞外基质, 从而形成有一定结构和功能的组织或器官, 用于组织修复。

(五) 组织芯片技术

组织芯片 (tissue chip), 也称组织微阵列 (tissue microarrays), 是生物芯片技术的一个重要分支, 是将许多不同个体组织标本以规则阵列方式排布于同一载体上, 进行同一指标 (如同一种基因或蛋白质分子) 的原位组织学研究。这项技术可以与免疫组织化学、核酸原位杂交、原位 PCR 等其他常规技术结合使用。目前, 组织芯片与基因芯片 (gene chip) 配合使用在肿瘤研究中发挥着重要作用。将基因芯片筛选出的基因做成探针, 再将探针与组织芯片中众多的肿瘤组织进行荧光原位杂交, 寻找肿瘤发生发展的相关因素。

四、组织学与胚胎学学习方法

组织学与胚胎学所涉及的内容比较抽象, 在学习过程中要掌握正确的学习方法, 善于自学钻研、纵横联系, 做到融会贯通、举一反三。学习时应注意以下几个方面:

1. 平面与立体、局部与整体的关系 切片和照片所显示的是细胞、组织和器官的平面结构, 切面的不同可能会呈现一定的形态差异。对细胞、组织、器官平面结构的观察, 可建立相应的立体的整体结构的认知。人体内的各种细胞、组织、器官等都是整体的一部分, 离开了整体就失去了其本身存在的条件和意义。学习过程中不要孤立地看待一个平面结构图、一种组织或一个器官, 而应该将其结合在一起, 从整体上进行观察和研究。因此, 应从平面结构的观察出发, 树立整体结构的概念。

2. 结构与功能相联系 每种细胞、组织和器官都有一定的形态结构特点, 这些特点往往是它们行使一定功能的结构基础, 两者密切相关。例如, 分泌蛋白质的腺细胞富含粗面内质网和发达的高尔基复合体; 巨噬细胞则有较多的溶酶体; 构成肌组织的肌细胞, 形态细长, 含有大量纵行肌丝, 是细胞收缩的物质基础; 消化管是连续的管道, 而食管、胃、小肠和大肠的黏膜又各有特点, 它们与各段的相应功能相关。因此, 结构与功能相结合学习既可深入理解、融会贯通, 又可抓住要点, 掌握规律。

3. 从静态结构了解动态变化 机体的细胞和组织始终处于动态变化之中, 在细胞增殖、运动、分化、代谢和死亡过程中, 其微细结构也有相应变化。即使是非细胞的间质成分 (包括坚硬的牙齿和骨基质), 也不断地被吸收和重建。胚胎时期的生长发育变化则更为显著。但在切片中所见的结构都是某一时刻的静态形象, 所以要善于从静态时相理解其动态变化。

4. 发生发展和进化的观点 人体各种组织、器官的形态结构都是在漫长的由低级向高级、由简单向复杂的进化过程中逐步形成的。这些组织结构一直处于新陈代谢、发育分化的动态变化之中, 如淋巴细胞免疫功能的发生和分化、上皮细胞与血细胞的不断更新、组织的年龄变化等。这些发展变化, 除受外环境和整体的影响外, 也与细胞所处的内环境的变化有关。人体胚胎发育过程, 也反映了生物种系发生的历程, 如胚胎早期尿囊和脊索的出现与消失等。

5. 各学科间的相互渗透 现代生物学和医学基础理论的研究进展迅速, 使各学科间的内容相互渗透, 联系日益密切。在组织学与胚胎学的教学中, 无论是研究方法还是基本理论的验证, 都不可避免地要涉及和联系到其他学科的新成果, 尤其是细胞生物学、分子生物学、免疫学、生物化学和生物物理学等, 如肌纤维的超微结构及其收缩机制的分子水平原理; 血细胞发生的造血干细胞学说及其实验依据; 神经元信息传递的形态学基础; 淋巴细胞和巨噬细胞的起源、分化及在免疫应答中

的抗原、抗体及受体的关系；许多内分泌细胞的发现，各种激素和调节因子的产生、作用及其相互关系；生殖细胞的起源、分化和成熟等。因此，在学习中不要死记硬背，而应在掌握形态结构基本知识的前提下，要善于分析和比较，善于自学参考资料，扩大知识面，活跃思维，深刻理解，达到融会贯通，从而为其他课程的学习奠定坚实的基础。

【思考题】

1. 试述组织学与胚胎学的研究内容及意义。
2. 试述 H-E 染色的原理及嗜酸性、嗜碱性的概念。
3. 列举四种常用的免疫组织化学技术方法及其应用。

(侯 云 白咸勇)

