

第一部分 绪论

第一节 人体形态学实验概述

人体形态学属于医学科学中形态学科的范畴，以人体各系统、器官和组织的形态结构、位置毗邻、相互关系、基本功能以及生长发育规律为观察研究的主要目标。

在我国，人体形态学主要包括人体解剖学、组织胚胎学和病理学。人体解剖学和组织胚胎学以研究正常的形态为主，也包括畸形和变异；病理学则是研究病理状态的形态学改变。

人体形态学的研究方法主要有肉眼观察、光学显微镜观察和电子显微镜观察。肉眼观察包括进行尸体解剖和对标本进行直接观察；光学显微镜观察和电子显微镜观察需要制作相应的切片进行。现代的形态学研究还利用 X 线、计算机辅助 X 线断层扫描 (CT) 及磁共振 (MRI) 等影像学先进技术进行观察。

在医学及相关专业的本科生教学中，形态学的实验方法基本以肉眼观察和显微镜观察为主，包括亲自动手进行尸体解剖，观察各种标本和组织学、病理学切片，也辅以光学显微镜和电子显微镜照片及图像示教等。

第二节 人体形态学实验的历史与发展

人体解剖学具有漫长的发展历史，可以说是一门伴随医学的发展而发展的科学。早在公元前 400 多年前，我国的第一部医学巨著《黄帝内经》中就曾有人体构造方面的论述，并提出“解剖”一词，即使用解开剖视的方法来研究人体的构造，但由于长期受封建制度的束缚，解剖学始终融合在传统医学之中，没有形成独立的学科体系。

西方医学对解剖学的记载，始于古希腊名医 Hippocrates (公元前 460—前 377) 他认为心脏有两个心室和两个心房，并对头骨作了较为正确的描述。之后，古希腊学者 Aristotle (公元前 384—前 322) 在研究动物结构的基础上使用了“anatomy”一词，其原意也是切开进行观察。

16 世纪比利时医学家 Vasalius (维萨里 1514—1564) 冒着被宗教迫害的危险，亲自解剖人尸，于 1543 年出版了巨著《人体构造》一书，成为国际公认的人体解剖学奠基人。

M. Malpighi (1628—1694) 用显微镜观察了动、植物的微细结构，提出动、植物均由细胞组成的概念，为组织学从解剖学中分出并形成一门学科奠定了基础。

20 世纪发明电子显微镜，广泛应用于细胞的超微结构与三维构筑的研究，使形态学跨入细胞和亚细胞水平，并进而达到分子水平。

由此可见，形态学的发展是随着科学技术的发展不断创新而逐渐发展的，形成了大体解剖学、显微解剖学和超微解剖学这三个不同的阶段。

随着影像技术和计算机技术的快速发展和广泛应用，促使人们必须研究人体断面和器官内部结构，对形态学提出了更深入的要求，从而产生了断面解剖学这一新的学科。

第三节 人体形态学实验常用仪器介绍

一、光学显微镜的结构与使用

光学显微镜 简称光镜 是学习本课程最重要的工具之一 属贵重仪器 因此我们必须必须在了解其构造的基础上使用和保护。光学显微镜的结构参见图 1。

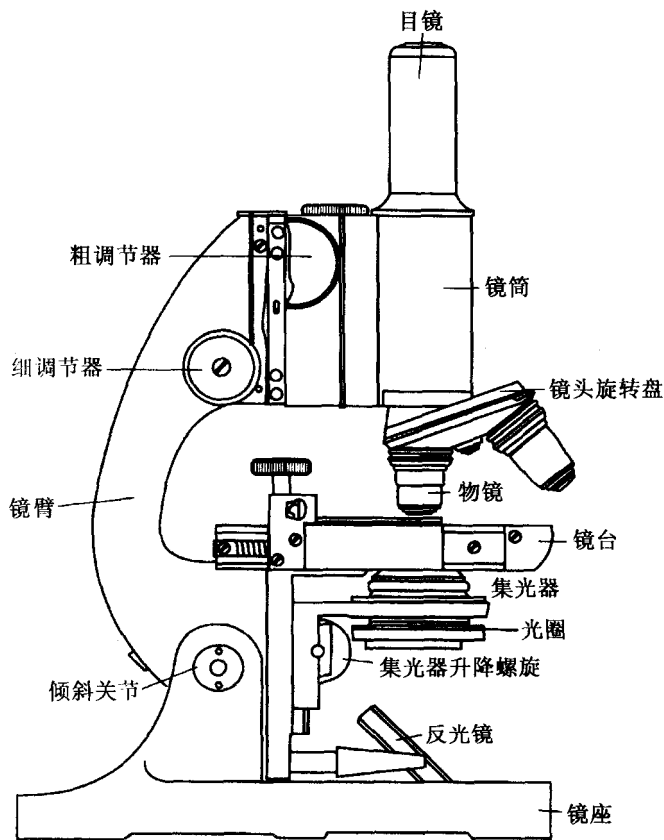


图 1 光学显微镜结构示意图

(一) 显微镜的一般构造

1. 镜座：位于最下部，起支持作用。在镜座左侧下方有一电源开关和电光源亮度调节

器。电光源亮度调节器用来调节光源强弱，以选择最适亮度。

2. 镜臂：位于中部，起支持和握取作用。

3. 镜筒：一般分为内、外两层。

4. 目镜：有单筒和双筒两种类型，它嵌于镜筒之顶端，根据需要，可自行调节双筒目镜的间距。目镜上刻有 5×或 10×等字样，表示其目镜放大倍数。

5. 旋转盘：接于镜筒下方，上嵌物镜，可以旋转，以更换物镜。

6. 物镜：嵌于旋转盘下，分低倍、高倍和油镜三种，其上均刻有物镜放大倍数，如 4×、10×、40×、100×。

(1) 低倍镜：它有两种，一种放大约 4 倍，镜头最短，有红线标记；另一种放大约 10 倍，镜头较长，镜面较小，有紫红色线作标记。

(2) 高倍镜：放大约 40 倍，镜头较长，镜面较小，有绿线标记。

(3) 油镜：放大约 100 倍，镜头最长，镜面最小，有淡蓝色线作标记，使用时在镜头与玻片之间要加香柏油，以提高显微镜的分辨率。

7. 粗调节器：位于镜臂上方，转轮较大。

8. 细调节器：位于粗调节器中间，转轮较小，在外有一升降刻度。

9. 镜台：为放置玻片的平台，中央有一圆孔，光线可通过此孔，镜台上装有玻片推进器。

10. 副镜面：由集光器和光圈两部分组成。

(1) 集光器：由多块透镜组成，用以集聚光线。

(2) 光圈：位于集光器下方，可任意缩小和扩大。

11. 光源：分为内光源和外光源两种。内光源位于镜座中间的圆柱形结构，内装有小灯泡，灯泡上面可放置各种滤色镜片。图 1 所示的显微镜为外光源，通过反光镜采集光线。

(二) 显微镜的使用规则

1. 携取：右手握持镜臂，左手托住镜座。

2. 放置：镜臂向前、镜台向后，置座位偏左侧。

3. 对光：本显微镜光源不来源于外界自然光，而它本身有一电光源作为光源，因此插上电源插头后，打开开关，转低倍镜上观察，以视野内明亮度感觉舒适为宜。两目镜之间的距离可自行调节，如光源太强，观察时刺眼；如光源太弱，观察时有不舒服之感。

4. 装上组织切片：对光后，用粗调节器升高镜筒，将切片标本平置镜台上。（注意：盖玻片必须向上，否则用高倍镜观察时不能看清，并易压碎切片和损坏镜头。）然后将标本片移至圆孔中央。

5. 使用低倍镜，依下列步骤进行：

(1) 先将粗调节器往外转，并用双眼在镜侧看好，使镜筒慢慢下降至距玻片约 3mm 止。（注意：勿使镜头与玻片直接接触。）

(2) 双眼注视目镜，并将粗调节器向内转（使镜筒慢慢上升），至见到物像止。

(3) 转动细调节器，使物像达到最清晰为止。

(4) 如光线太强或太弱，或切片位置不当，均于此时调节校正。

（注意：低倍镜视野大而清晰，可以看清较多的结构，因此在观察和寻找组织器官时，尽量在低倍镜下用工夫。）

如欲观察细胞的结构，应用高倍镜，但在高倍镜视野中能看见的范围小，故在使用之前，必须在低倍镜下把要观察的部分先移到视野中央，再转用高倍镜。否则，在高倍镜下很难找到需要观察的结构。

6. 使用高倍镜：在低倍镜下将需观察的结构移至视野中央后，把高倍镜转至镜筒下方，再用细调节器调节焦距，即可得到清晰的物像。

7. 使用油镜：在使用油镜之前需做好两项准备：将油镜镜头和玻片用 1:1 乙醚纯酒精或二甲苯拭净。先用低倍镜和高倍镜找到需要观察的物体，并移至视野中央，接着：

(1) 先把镜头升高约 1cm。

(2) 油镜头转至镜筒下方。

(3) 滴香柏油一滴于切片上欲观察之处。（注意：滴香柏油时，勿产生气泡。）

(4) 两眼从侧面看镜头慢慢下降至镜头浸入油滴，但与玻片相隔 0.5mm 左右。

(5) 双眼注视目镜并用细调节器调节至最清晰时止（注意使用油镜时光线需强。）

(6) 油镜使用后，必须用擦镜纸抹去镜头和玻片上的油迹，然后再用少量 1:1 乙醚或纯酒精拭净。

8. 收藏：使用完毕，首先关掉电源开关，拔掉电源插头，移去玻片，再将镜头下降，把物镜转到两侧，然后转动粗调节器，使镜筒下降至最低处，最后放回橱内。

(三) 显微镜的保护

1. 必须用两手来携取和送还显微镜，即用右手握住镜臂，左手托住镜座。

2. 使用时，勿使尘埃、湿气、水滴、药品等沾及显微镜的任何部位。

3. 目镜和物镜上遇到灰尘或污物时，禁止用口吹和手抹，以免损伤透镜，而需用擦镜纸或绸布擦净，如果干拭不净，那么用擦镜纸或绸布蘸一滴 1:1 乙醚纯酒精将污物拭去。

4. 严禁拆卸、调换、玩弄目镜和物镜，取用镜头时，手指切勿触及它。

5. 使用细调节器或推进器时勿用力过猛，以免受损。

6. 离开座位时，需将镜身推向桌子中央，以免撞翻。

(四) 其他

1. 必须牢记“先低倍 后高倍 盖玻片向上”。

2. 显微镜放大倍数 = 目镜放大倍数 × 物镜放大倍数。

二、几种特殊光学显微镜

1. 荧光显微镜 (fluorescence microscope): 可用来观察标本内的自发荧光物质或荧光素染色或标记的结构，由光源、滤片系统和显微镜三部分构成。光源为高压汞灯，可产生短波的紫外光，受检标本内的荧光，取决于光源激发光的强度。细胞内的某些成分可与荧光染料结合而发出荧光，如溴乙啶与吖啶橙可与 DNA 结合而发荧光，以此进行细胞内 DNA 测定。荧光显微镜也广泛用于免疫化学研究，首先用荧光素标记抗体，然后用该标记抗体直接与细胞内相应抗原结合，以测定该抗原的分布。

2. 倒置相差显微镜 (inverted phase contrast microscope)：此种显微镜是把光源和聚光器

安装在载物台上方，物镜放置在载物台下方，这样可将细胞培养标本直接放在载物台上观察。相差显微镜是将活细胞不同厚度及细胞内不同结构对光产生的不同折射转换成光密度差异，使镜下结构反差明显，图像清晰。倒置相差显微镜常用于组织培养，能观察活细胞形态及生长情况。

3. 暗视野显微镜 (dark-field microscope): 主要观察反差小或分辨力不足的微小颗粒。此种显微镜有一个暗视野集光器，使光线不直接进入物镜，故称暗视野。标本内的小颗粒产生的衍射光或散射光进入物镜，使暗视野中的小颗粒呈明亮小点。暗视野显微镜的分辨率可达 $0.004\mu\text{m}$ ，适用于观察细胞内线粒体的运动及液体介质中未染色的细菌、酵母、霉菌等微粒的运动。

4. 激光共聚焦扫描显微镜 (confocal laser scanning microscope, CLSM): CLSM 是 20 世纪 80 年代初研制成功的一种高光敏度、高分辨率的新型生物学仪器。它主要由激光光源、共聚焦成像系统、电子光学系统和微机图像分析系统四部分组成。此外，还附有外接探测器（由电脑进行遥控或图像传送）、高分辨率的彩色显示器、图像打印机和 35 mm 照相装置等。CLSM 可以更准确地检测、识别组织或细胞内的微细结构及其变化，也可对细胞的受体移动、膜电位变化、酶活性以及物质转运进行测定，并以激光对细胞及染色体进行切割、分离、筛选和克隆。

三、电子显微镜技术

目前，电子显微镜技术 (electron microscopy) 已成为研究机体微细结构的重要手段。常用的电子显微镜（简称电镜）有透射电镜 (transmission electron microscope, TEM) 和扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)。与光镜相比，电镜用电子束代替可见光，用电磁透镜代替光学透镜，并使用荧光屏将肉眼不可见电子束成像。

1 透射电镜技术：透射电镜是以电子束透过样品经过聚焦与放大后所产生的物像，投射到荧光屏上或照相底片上进行观察。透射电镜的分辨率为 $0.1\sim 0.2\text{nm}$ 放大倍数为几万至几十万倍。由于电子易散射或被物体吸收，穿透力低，故必须制备更薄的超薄切片（通常为 $50\sim 100\text{nm}$ ）。其制备过程与石蜡切片相似，但要求极严格。要在机体死亡后的数分钟内取材，组织块要小（ 1mm^3 以内），常用戊二醛和锇酸进行双重固定树脂包埋，用特制的超薄切片机 (ultramicrotome) 切成超薄切片，再经醋酸铀和柠檬酸铅等进行电子染色。

电子束投射到样品时，可随组织构成成分的密度不同而发生相应的电子发射，如电子束投射到质量大的结构时，电子被散射的多，因此投射到荧光屏上的电子少而呈暗像，电子照片上则呈黑色，称为电子密度高 (electron dense) 反之 则称为电子密度低 (electron lucent)。

2 扫描电镜术：扫描电镜是用极细的电子束在样品表面扫描，将产生的二次电子用特制的探测器收集，形成电信号传到显像管，在荧光屏上显示物体（细胞、组织）表面的立体构像，可摄制成照片。

扫描电镜样品用戊二醛和锇酸等固定，经脱水和临界点干燥后，再于样品表面喷镀薄层金膜，以增加二次电子数。扫描电镜能观察较大的组织表面结构，由于它的景深长， 1mm 左右的凹凸不平面能清晰成像，故样品图像富有立体感。

3 冷冻蚀刻复型术：冷冻蚀刻复型 (freeze-etching replica) 是电镜样品的一种制备技术，以显示细胞、组织微细结构的立体构像。其样品制备步骤如下：

(1) 冷冻：先把组织浸入含有 20%~30%甘油生理盐水的冷冻保护剂中，以提高冷冻速度和防止冰晶形成，然后把组织放入液氮（-196℃）内快速冻结；

(2) 断裂：在低温真空下，把冻结的组织用钢刀劈开，断裂面常为组织、细胞的薄弱部位，如膜脂质双分子层的疏水极之间余下部分的表面要观察的部位；

(3) 蚀刻：在真空下将温度回升到-100℃，使断裂面的冰升华，形成凹凸不平的形态；

(4) 复型：在断裂面以 45°角喷镀一层铂膜，以增加图像的反差和立体感，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。

冷冻蚀刻复型技术是研究细胞膜相结构的重要手段。细胞膜的双层类脂质层被劈分开后，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)；在 P 面常可见许多直径 6~9nm 的膜内粒子而 E 面则较少。一般认为膜内粒子是细胞膜和细胞内膜相结构中的镶嵌蛋白质粒子的图像，膜内粒子的数量与分布随膜的功能状态而变化因此，可应用冷冻蚀刻复型术研究膜结构与功能的关系。

4. 冷冻割断术(freeze cracking)：将固定组织经过处理后，置于特制的冷冻台上，浸于二甲基亚砷中，低温下将组织割断，断面喷镀合金，在扫描电镜下观察组织结构断面的立体图像。

第四节 人体形态学实验方法学

一、组织切片的一般制作方法

(一) 制片方法的种类

在实验教学中所观察的组织切片种类较多，各种组织切片所采取的制片方法种类也有所不同，主要有以下几种：

1. 切片标本：此种组织标本制片法是组织学研究中应用最为广泛的基本方法。根据所用的支持物质不同，切片方法可分为石蜡包埋切片、火棉胶包埋切片和冰冻切片，尤以石蜡包埋切片最常用。在制作石蜡和火棉胶包埋切片的过程中，组织都得经过取材、固定、脱水、透明、石蜡或火棉胶包埋、切片、染色和封固等步骤。而冰冻切片只经过取材、固定、冰冻、切片、染色和封固等步骤。后者通常用于组织化学研究。

2. 涂片标本：把人体内液态的组织成分如血液、骨髓或内脏器官的排出物如精液、阴道脱落细胞等直接涂抹在载玻片上，经固定和染色制成组织标本。涂片标本用以观察细胞的形态及其微细结构。

3. 铺片标本：将膜状组织结构如大网膜、肠系膜或皮下疏松结缔组织、神经丛等结构成分伸展后平铺于载玻片上，经固定、染色和封固等步骤制成组织标本。铺片标本主要用于观察各种结构成分的整体形态和微细结构。

4. 磨片标本：把坚硬的骨和牙，不经脱钙而直接磨成薄片，不染色或经过染色后封固制成标本，如骨磨片、牙磨片等。

5. 压片标本：将小块组织经药物处理、染色后，用盖玻片压平于载玻片上所制成的标

本，如运动终板、肌梭等，用以观察其结构的整体形状。

6. 分离标本：把组织块浸入化学药品分离液内，分解细胞间质，使细胞分离，再染色和封固制成组织标本，即可观察单个完整的细胞，如肌纤维、神经元等。

7. 血管注射标本：将卡红、普鲁士蓝、墨汁等染料加明胶配制成染色液注入血管内，然后取材、固定、包埋、切片和封固所制成的标本 如肝、肾、肺、小肠等血管注射切片标本 以观察这些器官的血管分布特点。

8. 整体装片标本：将很小的动物或早期胚胎，经固定、染色和封固制成的标本，例如鸡胚整体标本，以观察胚体的表面立体形态特征。

9. 活体标本：指光镜下直接观察活细胞或组织的形态和动物状况的标本，如精子运动、纤毛运动等。

(二) 制片方法及主要操作程序

组织标本的各种制片方法在具体操作上虽然有所不同，但其主要操作程序是类同的，都需要经过取材、固定、染色和封固等主要步骤。如果是切片标本，则需要增加一个切片步骤。现将各种制作方法归纳为切片法和非切片法两大类，并将主要操作程序归纳成图 2。至于详细操作过程，可查阅有关技术书籍。

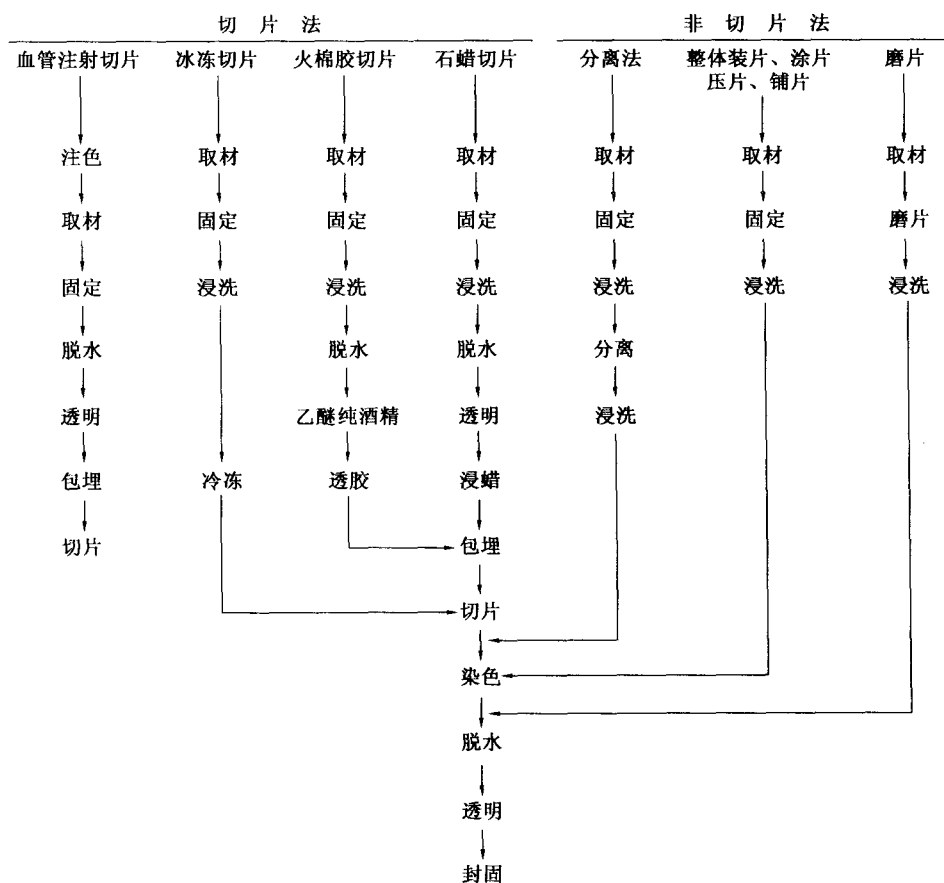


图 2 制片方法和主要操作程序

(三) 几种常用的染色方法

在自然状态下绝大多数组织是无色、不透明的，需要相应的方法制成薄片，再经过染色和透明后才能在显微镜下观察。

组织制片中最常用的方法是石蜡包埋切片，经苏木素（Hematoxylin）和伊红（Eosin）染色（简称 HE 染色）切片，通常称之为普通染色切片或常规染色切片。

除此以外的其他各种染色方法均称为特殊染色。现对几种常规制片染色方法的制作过程详细介绍如下，并举一反三地列举了其他几种常用的特殊染色方法，使同学对实验中将要观察的组织标本的染色和制作过程有所了解。

1. 石蜡包埋切片与 HE 染色法

(1) 取材：材料愈新鲜愈好，以防组织的死后变化。组织块厚度不应超过 0.5cm。

(2) 固定：将组织块放入 10%福尔马林、Bouin 液等固定剂中固定 24 小时，使组织细胞的蛋白质变性，以保存其原有的形态。

(3) 浸洗：固定后须经流水或酒精洗涤，直至组织内的固定剂洗净为止，一般约 24 小时。

(4) 脱水：经过 50%、70%、80%、90%、95%、100% 各级酒精脱水，每级为 2~6 小时，其目的在于除去组织中的水分，代之以酒精。

(5) 透明：组织脱水后，浸入二甲苯内直至透明为止，使组织中的酒精被透明剂取代后才能浸蜡包埋，一般为半小时至 2 小时

(6) 浸蜡：放入温热熔融的石蜡内浸透数小时，通常为 2~4 小时即可。

(7) 包埋：将温热之石蜡倒入一定形状的容器内，使组织凝固其中，以待切片。

(8) 切片：用切片器将含有组织的蜡块切成厚度为 5~8 μ m 的薄片。

(9) 贴片与烘干：在清洁的载玻片上匀涂微量蛋白甘油，再滴上数滴蒸馏水，并将蜡片置于水面上，在烘片台上使蜡片展平后烘干。

(10) 脱蜡与入水：切片浸入二甲苯内 10~20 分钟，再依次经过 100%、95%、90%、80%、70%酒精冲洗各 5 分钟，然后入蒸馏水 2 分钟。

(11) 染色：切片放入苏木精染液 5~10 分钟→自来水洗 2 分钟→0.5% 盐酸溶液分色数秒钟（光镜下检查胞核呈浅红色，细胞质及胶原纤维几乎无色）→蒸馏水洗→流水冲洗半小时→蒸馏水冲洗 1 分钟→70%、80%、90%酒精冲洗各 5 分钟→0.5%伊红染液（以 90%酒精为溶剂）3~5 分钟→95%酒精分色（至无红色自组织上脱下为止）。

(12) 脱水：已染色的组织切片依次放入 95%酒精 1~2 分钟→100%酒精（Ⅰ）、（Ⅱ）各 10 分钟。

(13) 透明：切片脱水后放入二甲苯（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）内 每道各 10 分钟。

(14) 封固：将已透明的组织切片从二甲苯中取出，滴加树胶，盖上盖玻片封存。

染色结果：细胞核呈紫蓝色，细胞质和细胞间质的某些有形成分则呈粉红至红色。

2. 镀银染色法：机体中某些组织结构成分，经硝酸银处理后形成细小的银微粒附着在组织结构上，再经还原使其呈棕黑色，便于光镜下观察。此法主要用于显示网状纤维、嗜银细胞、神经组织等组织结构成分，应用范围仅次于 HE 染色。

3. Wright 染色法：常用于血涂片的制作。

4. 活体染色法：把无毒或毒性很小的染料（如台盼蓝、墨汁等）注射到动物体内，通过巨噬细胞的吞噬作用，将染料吞噬于细胞内，以此识别巨噬细胞。

二、实验方法及基本要求

（一）观察

本课程的实验标本主要是切片，观察切片时，对每张切片都应按照实验指导，先用低倍镜将切片全部观察一遍，然后选择适当的部位转高倍镜仔细观察。

显微镜下看到的形态结构往往和理论上所描写的情况并不完全一样，其原因大致有如下几种：

1. 出现情况不同，其形态结构可能产生差异。如腺细胞一般呈立方形，但充满分泌物时，细胞可变为柱形；分泌物完全排出时，则可变成低立方形，甚至是扁平形。

2. 由于切面关系，在立体结构的不同切面上，其形态不可能全部一样。在理论讲解时，我们总是以全面、立体的观点加以介绍，但在实际观察切片时，由于切面限制，我们只能看到立体结构的一个切面，如图 3 所示。

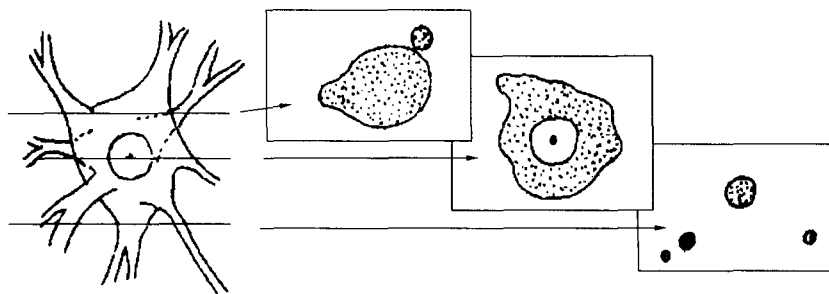


图 3 神经细胞的不同切面,有不同表现

3. 由于染色的限制，在理论上所描述的组织结构，不能用 HE 染色显示出来，而要通过各种特殊染色才能加以补充显示，如肥大细胞、神经元纤维、小肠内的嗜银细胞等。

4. 由于人工伪像的干扰，活细胞或组织在制片过程中会受到某些因素的影响，例如脂肪细胞的脂滴被溶后形成空泡，软骨细胞的皱缩现象，组织结构之间的裂隙以及染料残渣、刀痕、气泡等都属于人工伪像，观察时应注意加以识别。

（二）绘图

为加强记忆，选择某些重点切片，在仔细观察的基础上进行绘图。绘图时要求做到：

1. 科学性：所绘结构和文字说明应当概念清楚，正确无误。
2. 真实性：力求反映镜下所见的真实微细结构，颜色应尽量与其相应。
3. 特征性：图中应突出所观察的细胞、组织或器官的结构特征。
4. 艺术性：图面设计、大小比例、颜色深浅、线条粗细等都应合理适当，要有艺术感。

5. 认真程度：一幅图的质量和认真程度如何，可以反映同学的学习态度是否端正。图4示范绘图记录格式。

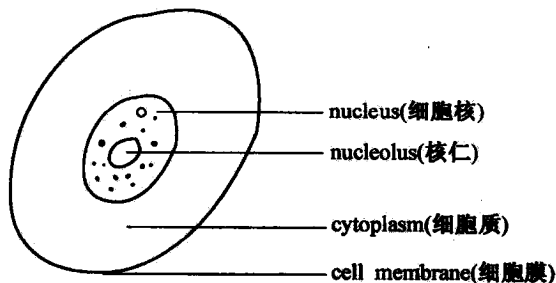


图4 绘图格式示范

绘图过程中注意用相应的彩色笔，例如 HE 染色切片 可用蓝色绘胞核 红色绘胞质。绘好图后 将各种结构引出标线 用铅笔分别用中英文标明内容 标线要平行整齐 图下面应注明标本名称、染色方法、放大倍数。

(三) 示教

按实验指导及示教简图辨认管状器官的切面(图5)和束状器官的切面(图6)。

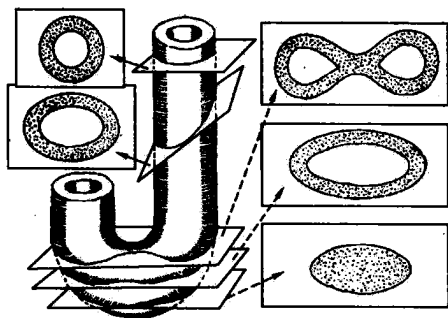


图5 管状器官的不同切面

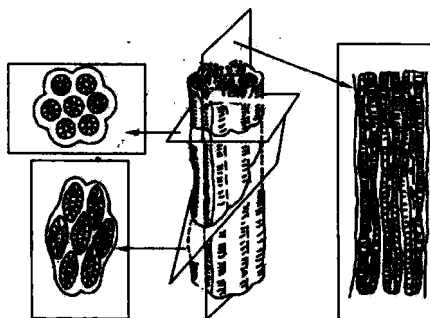


图6 束状器官的不同切面

(四) 电镜图片观察

认识重点内容的超微结构。

1. 透射电镜图像的观察：着重观察细胞膜、细胞外形，细胞器和细胞核的超微结构。
2. 扫描电镜图像的观察 着重于细胞、组织或器官表面的形成结构及整体、立体关系。

(五) 观看录像

了解一些基本实验操作，进一步深化理论内容的理解。

三、组织化学与免疫组织化学

(一) 组织化学

组织化学 (histochemistry, HC) 技术的基本原理是, 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待检物质发生化学反应而成为有色沉淀物, 然后用显微镜进行观察; 若为重金属沉淀, 可以用电镜观察, 称电镜组织化学 (electron microscope histochemistry)。这种方法可用于检测细胞内的酶类、糖类、脂类、核酸等。如进一步应用显微分光光度计等测定标本中沉淀物的强度, 则能较精确地进行定量研究。

1. 糖类显示法: 最常用于显示细胞、组织内的多糖和蛋白多糖的方法是过碘酸-雪夫反应 (periodic acid-Schiff's reaction, PAS 反应)。其基本原理是: 糖被强氧化剂过碘酸 (HIO_4) 氧化后形成 2-醛基; 后者与 Schiff 试剂中的无色品红亚硫酸复合物结合, 形成紫红色反应产物。PAS 反应阳性部位即表示多糖的存在 (参见彩图 1)。

2. 酶类显示法: 细胞内含有多种酶, 每一种酶可催化一定的化学反应。酶的显示法是通过显示酶的活性来表明酶的存在, 而不是酶的本身。将具有酶活性的组织放入含有一定底物的溶液中孵育, 底物经酶的作用形成初级反应产物, 它再与某种捕捉剂反应, 形成显微镜下可视性沉淀, 即最终反应产物。

如欲显示细胞内的酸性磷酸酶, 则可先将切片放入含有酶底物 (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; 用捕捉剂硝酸铅与磷酸反应, 形成微细的磷酸铅沉淀, 此时, 可在电镜下检出; 如再用硫化铵处理, 磷酸铅被置换成硫化铝沉淀, 可在光镜下观察到。

3. 脂类显示法: 脂类物质包括脂肪与类脂。标本可用甲醛固定、冷冻切片, 用油红、苏丹 III、苏丹 VI、苏丹黑 B、尼罗蓝等脂溶性染料染色; 亦可用钨酸固定兼染色, 脂类呈黑色。

4. 核酸显示法: 显示 DNA 的传统方法为 Feulgen 反应。切片先经稀盐酸处理, 使细胞内的 DNA 水解, 打开 DNA 分子中脱氧核糖核酸和嘌呤碱之间的连接键, 使其释放出醛基, 再用 Schiff 试剂处理, 形成紫红色反应产物。

如用甲基绿-派若宁反应, 可同时显示细胞内的 DNA 和 RNA, 甲基绿与细胞核中的 DNA 结合呈蓝绿色, 派若宁与核仁及胞质内的 RNA 结合呈红色。

(二) 免疫组织化学

免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 是将免疫学基本原理与细胞化学技术相结合所建立起来的新技术, 根据抗原与抗体特异性结合的特点, 检测细胞内某种多肽、蛋白质及膜表面抗原和受体等大分子物质的存在与分布。肽类与蛋白质种类繁多, 均具有抗原性, 当将人或动物的某种肽或蛋白质作为抗原注入另一种动物体内时, 则产生与该抗原相应的特异性抗体 (免疫球蛋白); 将抗体从血清中提出后, 结合上某种标记物, 即成为标记抗体。用标记抗体与组织切片标本孵育, 抗体则与细胞中的相应抗原发生特异性结合, 结合部位被标记物显示, 则在显微镜下观察到该肽或蛋白质的分布。用荧光素 (常用异硫氰酸) 标记抗体, 并于荧光显微镜下观察, 称免疫荧光术。如抗体与辣根过氧化物酶 (horse radish

peroxidase, HRP)等结合,进行酶显示后,可在光镜或电镜下观察。若用电镜观察,则称为免疫电镜术(immunoelectronmicroscopy)。此外,以铁蛋白标记抗体,称铁蛋白标记法,也能用于电镜下观察。

标记抗体与抗原结合的方式主要有两种:①直接法:用标记抗体与抗体中的相应抗原直接结合。此法操作简便,特异性高,但敏感性较差,可用于检定未知抗原。间接法:先用未标记的具有特异性的第一抗体与样品中的相应抗原结合,然后再以标记的第二抗体与特异性的第一抗体结合;第二抗体是用第一抗体作为抗原注入另一动物体内诱导产生的抗体,然后再结合以标记物。通过这样的放大作用,使抗原分子上的标记物大大增多,故间接法较直接法的敏感性大为增高,约高5~10倍,应用更为广泛。间接法中较常用的,如过氧化物酶-抗过氧化物酶复合物法(peroxidase anti-peroxidase complex method, PAP法)该法除需一抗和二抗外,还需要制备HRP标记的抗酶抗体,即以HRP作为抗原免疫动物,制成抗HRP抗体再以HRP标记该抗体,制成稳定的环形PAP复合物。标本先后经一抗、二抗和PAP复合物处理后再以DAB显色抗原存在部位可见棕黄色产物。

近10年来,免疫细胞学技术有了很大进展,各种新方法相继建立。单克隆抗体(monoclonal antibody)制备技术极大地提高了抗体的特异性与免疫组化染色的精确性。继PAP法之后由于生物素-亲合素等试剂的应用,为检测微量抗原、受体、抗体提供了更精确的技术。目前常用的生物素-亲合方法有:标记亲合素-生物素法(labelled avidin-biotin method, LAB法)桥连亲合素-生物素法(bridged avidin-biotin method, BAB法)及亲合素-生物素-过氧化物酶复合物法(avidin-biotin-peroxidase complex method, ABC法)现在市场上有配制成的ABC药盒供应,使用简便,是目前广泛应用的一种方法。

第五节 人体形态学实验的教学要求

学习人体形态学必须以探索和掌握形态特征为主,然而,形态不是孤立静止的,故学习时应该运用进化发展的观点、形态与功能结合的观点、局部与整体统一的观点和理论联系实际的观点来观察与研究人体的形态构造,这样才能正确地、全面地认识人体的形态。

人体形态学名词多、描述多是其特点,那种脱离标本实物、死记硬背的方法是难以学好的。在学习过程中要逐步地学会动手解剖,准确地辨认所解剖或观察到的结构,注意分析归纳以理解其形态特征,在理解的基础上进行记忆。重视实验(对尸体解剖、组织切片、模型等的学习)加深印象。

端正学习态度,认真进行尸体解剖,珍惜爱护尸体和标本。不怕脏,不怕累,不怕异味刺激。勤动手,善观察,多动脑。

认真做好预习,了解要实验的内容和重点以及实验程序,做到心中有数。

实验进程中严格按照操作的要求和顺序进行。对尸体标本,既要解剖清楚,充分暴露,又不可盲目切割,任意行事。

实验中要相互帮助,在教师的指导下展开讨论,解决学习中的重点、难点和疑点。

第六节 人体形态学实验与医学伦理

人体形态学实验是以人体标本为主要实验材料，属于人体实验范畴。由于人体实验在现代医学和医学研究中有着极其重要且不可替代的作用和地位，所以现代人体实验的道德争议已不在能不能在人体上进行实验，而在于如何进行人体实验，杜绝滥用。

在历史上，我国由于封建社会伦理道德的长期统治和影响，尸体解剖是被禁止的，被认为是大逆不道的事情。所谓“身体发肤 受之父母”损坏了就是“不孝”，而毁人尸体更是不合封建的仁义之道。据《南史·顾凯之传》记载：一妇女因遵丈夫遗嘱，解剖了丈夫的尸体，结果以“伤夫五脏不道”的罪名被判刑，子不能劝阻，竟以“不孝”之罪被杀头。因此，我国虽早在2000多年前的医书中就有关于人体解剖的位置的粗略描述，到近代也有像王清任那样敢冒不讳的医家在坟山弃尸身上作解剖的探求，但却由于封建伦理道德的长期影响和束缚，尸体解剖一直被认为是不道德的事，因而人体解剖在我国一直没有能够发展成为一门独立的学科，这给祖国医学的发展带来了一定的局限性。

在中世纪的欧洲，由于教会的统治和禁令，人体解剖同样被视为有违圣经，属于不道德的行为而被禁止。长期以来，人们只能凭借直观和臆测来解释一些病理生理现象，其中不可避免地夹杂有许多错误的成分。

近代医学是随着资本主义的兴起而发展起来的。资产阶级在反对中世纪宗教统治中提倡科学和理性，主张人的自由解放，这对于医学的发展有着积极的影响，使医学从神学的束缚中解放出来。一些医学家冲破了教会的禁令，用唯物主义的观点对人体进行解剖和研究。16世纪比利时医学家维萨里敢于向宗教神权挑战，在进行尸体解剖的基础上，出版了《人体构造》一书，用事实驳斥了圣经上关于“上帝抽出亚当的一根肋骨而创造了夏娃”的传说，纠正了古希腊盖伦学说的200余处错误，给了人们新的人体科学认识，使解剖研究工作得到了公认，成为近代人体解剖学的奠基人。原来认为尸体解剖是不道德的观点，在科学的发展中有了较快的改变。到今天，这种用于医学目的的尸体解剖再也不会被人们视为不道德的了，更有一些人出于对发展医学科学事业的关心，自愿在死后将遗体捐献给医学研究，博得了社会的敬重和赞誉。

人体解剖的发展对尸体的需求，以及现代医学发展中器官移植的需要，产生了尸体和移植体的来源问题。这中间存在着医学道德与医学科学发展的矛盾。目前，西方资本主义社会都是以征购、出售、捐赠、交换等几种办法作为尸体和移植体的来源。怎样是合乎道德的，哪些是不合乎道德的，都是需要研究解决的问题。随着我国医学科学的发展，这类问题也已经碰到，需要以正确的道德原则来加以协调。

毫无疑问，经死者生前自愿或死者亲属同意作为捐赠的尸体和器官，在办理合法手续后再进行尸体解剖或采用某种器官用作医学目的的，应该说是合乎道德的。反之，如果不经死者生前或死后家属的同意，又未办理合法手续或由特定部门批准，而擅自进行尸体解剖和摘取器官的，应该说是合乎道德的。当然，当医学上需要作解剖，对医学发展有利，而死者家属不同意时，仍要依靠医务工作者做科学的说服工作，在坚持知情同意的医学道德原则下给予妥善处理。

社会主义医德反对那种尸体一点动不得的封建伦理道德观念，因为它不利于医学科学的发展，但是这不等于说可以不尊重尸体，不尊重死者生前或死后亲属正当的意愿。从发展医学，维护人类利益出发，社会主义医德要求爱护尸体和尊重尸体，特别是对自愿捐献者来说，更应予以尊重。因为，无论是捐献的还是有偿提供的，他们都为医学科学的研究和发展作出了贡献。认识这点，对于医学院校学生来说是十分必要的。在尸体解剖过程中，应当保持严肃认真的态度，秩序井然，不可嬉笑，体现出作为一个医务人员应有的道德修养，培养自己应有的良好学风和在将来工作中对待病人极端负责的态度。在社会主义社会，如何对待尸体和器官移植体的来源问题，应该既有利于医学科学的发展，又必须符合社会主义医德要求的原则，坚持两者的辩证统一。

在我们进行人体实验时，实验的对象是多层次的。从纵向看包括了胚胎、胎儿、新生儿、儿童、成年人、老年人。从横向看有正常人（包括男人、女人）以及各类不同疾病的患者，也有一些特殊人员，如收容人员和囚犯等。不同的人体实验对象在生前所体现的道德价值可能是不一样的，但是有一点是共同的，即在人体实验时必须保护和尊重人体的价值和尊严。

在实验中，每个实验者，包括教师、学生和技术人员都必须尊重和爱护人体材料，严禁肆意损毁和破坏。这不仅是尊重尸体和人体材料贡献者，而且体现了实验者的价值观和道德观。

第七节 实验室规则与制度

实验室规则

1. 实验室应保持安静和整洁，做到讲文明，以提高教学和实验效果。
2. 实验室提供每人一个座位、一架显微镜和组织学切片，同学们应按自己的编号取用。
3. 实验前应先检查所用的显微镜和切片是否完好，如有损坏，立即报告教师和登记，以便检查和补充。
4. 显微镜属贵重仪器，严禁私自更换显微镜和拆卸镜头。
5. 组织学切片不得乱弄，必须小心爱护，如果打碎，则需赔偿。
6. 实验完毕后，应把显微镜、组织切片等放回原处，并及时打扫卫生，以保持室内整洁。
7. 爱护公物，包括桌子、凳子、门窗、日光灯、镜柜等一切公共财物。

二、实验注意事项

（一）实验前——做好准备工作

1. 上实验课前，必须先复习好理论和预习实验指导，以便正确利用实验时间，提高实验效率。
2. 实验前应带实验指导、实验报告、铅笔（普通 HB 铅笔及红、蓝色笔各一支，禁止使用

水彩笔)、橡皮等进入实验室,所用铅笔应预先削好。

3. 实验前先检查所用之显微镜和标本片,是否有破损和缺失

(二) 实验时——认真做好实验

1. 实验时讲文明,不迟到,不早退,爱护公共财物。

2. 实验时,按实验指导进行实验,按时完成作业。如实验已完,仍应留在实验室内复习组织学切片,不得随意离开实验室。

3. 实验时不私自更换显微镜,不拆卸镜头,不损坏切片等。

4. 示教标本不得随意移动。

5. 显微镜镜头如不清洁,可用擦镜纸擦拭,但要注意节约。禁止用手指或手帕等擦显微镜镜头。

(三) 实验后——做好清洁工作

1. 实验结束,将实验报告交给老师。

2. 实验后应把显微镜和组织学切片放回原处,并把实验室整理干净。

三、物品管理制度

(一) 损坏组织切片和大体标本

制作组织切片和大体标本是需要成本的,因此应当珍惜。随意损坏组织切片和大体标本应当适当予以赔偿。组织切片赔偿价为每张拾元。大体标本的损坏赔偿视标本损坏情况以及标本珍贵程度而定。

(二) 损坏显微镜

显微镜是观察组织微观结构的重要工具,属于精密仪器,应当爱护和小心使用。若造成显微镜镜头或其他部件损坏,由形态实验中心酌情议定赔偿价格。

(三) 损坏实验室其他公物

如桌凳、门窗等公共财物因不遵守课堂秩序损坏者,应报有关部门议价赔偿。

(陈季强 杨友金 朱晞)

第二部分 人体形态学实验基础

第一章 基本组织学实验

实验一 上皮组织

(EPITHELIAL TISSUE)

【实验目的和要求】

1. 掌握单层扁平、单层柱状、复层扁平、假复层纤毛上皮的光镜结构及其分布。
2. 掌握上皮细胞在电镜下的特殊结构及细胞间的连接。
3. 了解变移上皮的组织特点。

【实验用品和标本】

组织切片。

【实验内容和方法】

上皮组织是由大量紧密排列的上皮细胞和少量的细胞间质所组成。根据上皮细胞的形态和排列层次可把上皮分为各种类型的单层上皮和复层上皮。

一、切片观察

(一) 单层扁平上皮 (simple squamous epithelium)

1. 表面观

切片名：蛙的肠系膜平铺标本，AgNO₃染色。

目的：认识单层扁平上皮表面观的形态特点。

肉眼观察 标本小 呈浅褐色 厚薄不一 颜色深浅不同(参见彩图 2)。

低倍观察：选择标本最薄处，即染成浅黄色的区域进行观察。主要特点是：细胞紧密排列，呈多边形互相镶嵌；细胞间呈锯齿形或波浪形的黑线即细胞间质；细胞核呈椭圆形，色浅。

高倍观察：在低倍镜下观察到的各种结构更为清楚。有时可见核偏位，这是因为铺片时牵拉标本所致。

2. 侧面观

切片名：人小肠纵切面，HE染色。

目的：认识单层扁平上皮（间皮，mesothelium）的侧面观（参见彩图 3）结合示教的单层扁平上皮表面观，建立起单层扁平上皮的完整概念。

肉眼观察：这是人小肠纵切面，呈长方形，切片一边平整，即间皮面；相对的一面高低凹凸不平，为黏膜面，可观察单层柱状上皮，如图 7 所示。

低倍观察：在切片平整面，见到一条细长红线，即为间皮，它是一层很薄的结构，胞质染成红色，细胞界线不清楚，并且一端游离，另一端与结缔组织连接。

高倍观察：间皮细胞有核部位较厚，细胞核呈较扁的椭圆形，紫蓝色，核与核之间相隔一定距离。若见细胞核呈圆形并紧密排列在一起，这是取材时人为造成间皮皱缩所致，若局部无间皮见到，这是制片过程中间皮脱落所致。

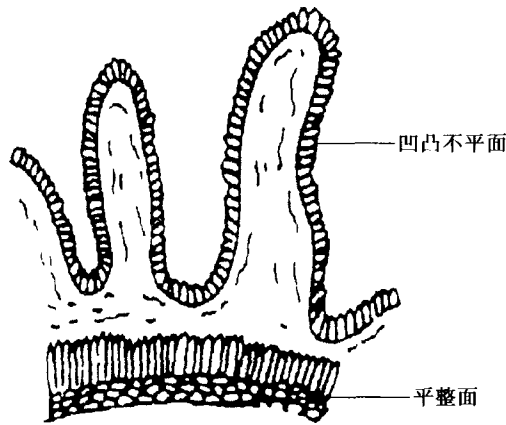


图 7 小肠纵切面

（二）单层柱状上皮 (simple columnar epithelium)

切片名：人小肠纵切面，HE 染色。

目的：认识单层柱状上皮的形态特点及纹状缘。

低倍观察：

- (1) 先用肉眼连同低倍镜观察切片高低不平一面；
- (2) 在高低不平侧的表面可见一层排列整齐的细胞就是单层柱状上皮（参见彩图 4）；
- (3) 上皮一面朝向肠腔，这是游离面，另一面和结缔组织相连即基底面，挑选结构清楚的上皮用高倍镜观察。

高倍观察：

- (1) 上皮由一层柱状细胞紧密排列而成；
- (2) 上皮细胞核呈椭圆形，垂直并近基膜一端，注意核和胞质在体积上的比例（为何单层上皮偶可见多层胞核？）；
- (3) 柱状细胞之间夹有少量空泡状的细胞，即杯状细胞，其核呈三角形，色深位于基底端；
- (4) 在柱状上皮游离面上可见一条折光率强、均质红线状的纹状缘（striated border 电镜下纹状缘为何种结构？）。