

生物顕微鏡での明視野観察において、両側斜光証明により立体視を得る手法の実用化

内山 孝蔵（名古屋大学全学技術センター・生物生体技術支援室）

UCHIYAMA Kouzou : Practical application of a method to obtain stereopsis by bilateral oblique light proof in bright field observation with a biological microscope.

1. 目的

病理診断、生物組織観察などで使用される正立型の顕微鏡での観察時に、厚み(10 μ m 程度)のある組織では細胞が重なってどちらが上下なのか観察に苦慮することがある。そんな時に手軽に立体視を可能にする物があればよいのではないかと相談があり、実現可能かどうか実験、試作をしてみるようになった。その過程と結果をここに示す。

2. 方法

正立型の顕微鏡は通常、下部から真っすぐな光を集光コンデンサで収束させてレンズを通し、プリズムで像を複製して接眼部に届ける。つまり双眼型の顕微鏡で見る像は同一のものである。

また、人間が視覚によって立体を認識するためには右と左の両眼それぞれに左右差がある画像を入力してそれを立体であると認識させる必要がある。

ディスプレイなどの表示経路が一つしかない場合、人間が連続した像だと誤認する速度(60fps 以上)で左右像を表示させたうえで偏光グラスなどでそれぞれの目に別々の左右差がある画像を表示させるなどの方法がとられる。

そして、正立顕微鏡の集光レンズに偏らせた光を当てると、位相差像が生まれる。この方法を応用すれば、光路が一系統しかない正立顕微鏡でも左右の接岸部に別々の像を用意することが可能となる。

- 1) 左右像を得るための斜光照明として、本来の光源を左右から制限し、白色 LED(LA504W3CA2C02M) を交互に点滅させる事で光軸を偏らせて、左右像を作り出す。
- 2) 接眼レンズ部分に遮光 LCD(ADA-3627)を設置し、交互に動かす事でシャッターとして機能させる。
- 3) この両機能を Arduino UNO R3 を用いて 60fsp 以

上で動かす事で左右接眼それぞれに交互に左右にずれた像を映し出す。

作成した実機を写真に示す。(図 1)

ユニバーサル基盤中央に顕微鏡本体光源を通すスリットを開け、左右に白色 LED を 5 個ずつ配置した。

Arduino の電流値が小さいので複数の LED を点灯させるのにコンデンサ(KSC1815YTA)で 9V で制御している。物理スイッチと可変抵抗、各接続用のコネクタも配置した。

次いで接眼部は LCD をケースに詰め込み、接眼レンズにかぶせる形とした。

Arduino は LED、LCD を以下に記した交互に明滅させるコードを ArduinoIDE で組み込んで使用する。

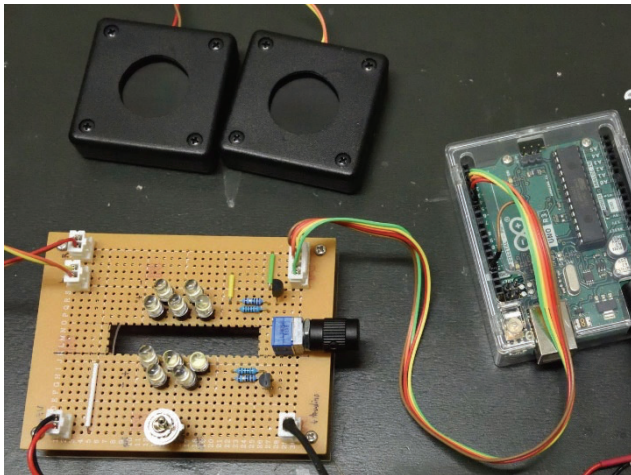
```
Void setup() //デジタルピン 2-5 までの有効化
{
  pinMode(2, OUTPUT);
  pinMode(3, OUTPUT);
  pinMode(4, OUTPUT);
  pinMode(5, OUTPUT);
}
Void loop() //繰り返し開始
{
  //左点灯 右視野
  digitalWrite(2, HIGH); //左用 LED on
  digitalWrite(3, LOW); //右用 LED off
  digitalWrite(4, HIGH); //左用 LCD on
  digitalWrite(5, LOW); //右用 LCD off
  delay(8); //8ms 待ち

  //右点灯 左視野
  digitalWrite(2, LOW); //左用 LED off
  digitalWrite(3, HIGH); //右用 LED on
```

```
digitalWrite(4, LOW); //左用 LCD off
digitalWrite(5, HIGH); //右用 LCD on
delay(8); //8ms 待ち
}
```

これらをオリンパス BX41 に組み込んで3~9 μ の組織で立体視を確認した。

図 1



3. 結果

立体視は可能だったが、どうしても主観になってしまうので数値化は難しく、また動画としてもフレームレートと視覚化の問題もあり評価が難しい。

立体視が可能であると示すものとして、幾つかの写真と画像を示す。

高フレームレートのデジカメ(960fps)で撮影した動画から切り出した写真の一部を並べた物である。おおよそ 16 コマ(16.6ms)で交互に明滅しているのが確認できる。接眼部については光源として利用した LED ライトの明滅に影響を受けているのでわかりにくいですが、同期しているのが見て取れる。(図 2)

左右 LED 点灯時と、無点灯(本来の光源のみ)時の顕微鏡画像(マウス腎臓の糸球体, HE 染色 3 μ m)の差分を二値化して重ねた画像である。(imagej にて作成)

左右像それぞれ斜照明によって像にずれが生じているのがわかる。(図 3, 図 4)

4. 考察

環境として正立顕微鏡本体に依存する部分が多く、他機種、および他種の顕微鏡でテストしなければ十分に立体視が可能であるとは決定できないが、簡便な一つの手段としては有用に思う。

図 2

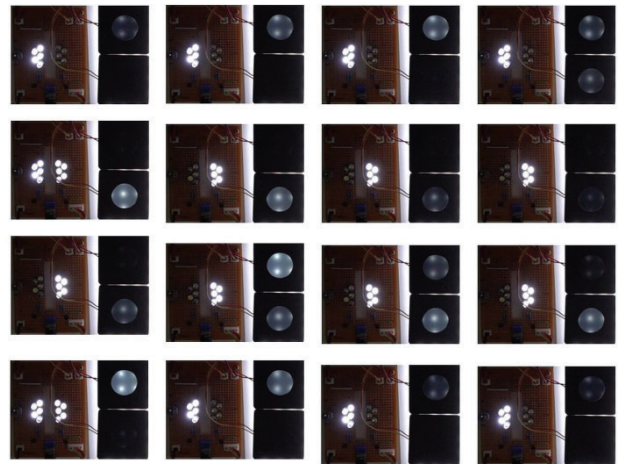


図 3

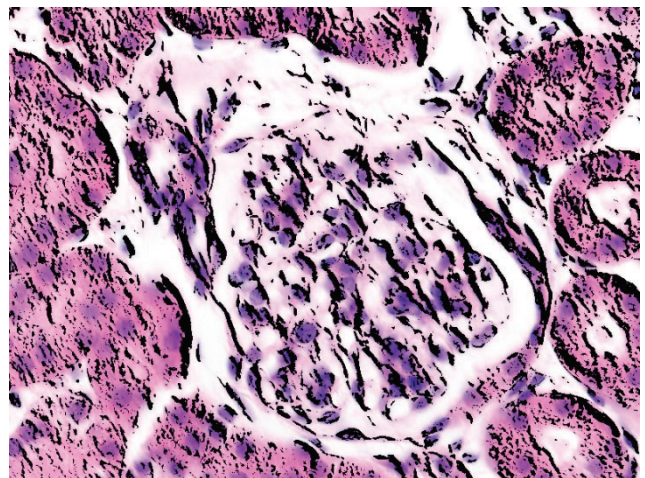
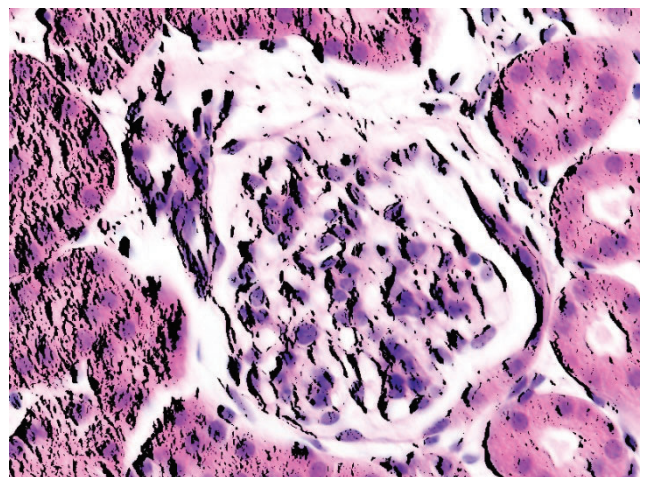


図 4



5. 謝辞

名古屋大学医学部医学研究科腫瘍病理学講座教授

榎本篤 先生

藤田医科大学医学部病理学講座教授

浅井直也 先生