

図説組織学実習

金沢大学教授

本陣良平著



實習學組織說圖

金沢大学教授
本陣良平著



南江堂

著者紹介

本陣 良平 ほんじん りょうへい

1921 年 10 月 石川県小松市に生る

1942 年 3 月 第四高等学校卒業

1945 年 9 月 金沢医科大学(現金沢大学医学部)卒業,
副手

1946 年 4 月 三重県立医学専門学校講師

1948 年 2 月 同教授

1948 年 4 月 金沢医科大学助教授

1950 年 6 月 医学博士

1956 年 1 月 金沢大学医学部教授(現在にいたる)

1971 年 4 月 金沢大学医学部附属神経情報研究施設長
を併任(現在にいたる)

1973 年 4 月~74 年 4 月 日本解剖学会会頭

1980 年 4 月 金沢大学医学部部長

日本解剖学会理事

日本電子顕微鏡学会評議員

日本神経病理学会評議員

日本臨床電子顕微鏡学会評議員

日本細胞生物学会評議員

日本実験動物学会評議員

(著書)

組織学入門, 南山堂, 1965.

医学・生物学のための電子顕微鏡学入門, 朝倉書店,
1968.

人体の解剖学, 南山堂, 1972.

人体発生学入門, 朝倉書店, 1973.

(分担著書)

基礎医学最近の進歩, 第3集, 医歯薬出版, 1958.

脳腫瘍, 医学書院, 1959.

新組織学, 医学書院, 1962.

Morphology of Neurogia, Igaku Shoin, 1963.

脳の生化学, 医学書院, 1964.

生物物理学講座 9, 膜の生物物理, 吉岡書店, 1966.

眼科最近の進歩 '71, 医歯薬出版, 1971.

Recent Progress in Electron Microscopy of Cells and
Tissue, Igaku Shoin, 1976.

著作権者と
の契約によ
り検印省略

図説組織学実習

定価 4,800 円

1980 年 4 月 1 日 第 1 刷発行

著 者 本 陣 良 平
発 行 者 小 立 武 彦
印 刷 所 合資会社 真 興 社
製 本 所 誠光社製本印刷株式会社

発 行 所 株式会社 南 江 堂

本店 (113) 東京都文京区本郷三丁目 42 番 6 号

電話 (03) 811-7234(代)・振替東京 2-149

支店 (604) 京都市中京区寺町通御池南

電話 (075) 221-7841(代)・振替京都 5050

乱丁や落丁の場合にはおとりかえします。



Printed and Bound in Japan

© Ryohei Honjin 1980

3047-211251-5626

序

組織学学習の最良の方途は、系統講義によって、生体微構造に関する俯瞰的な理解を、学生に把握させるとともに、光顕標本や電顕写真を直接鏡検観察させ、その実態を具象的に理解させるにある。医学校において組織学学習を課する理由もまたここにある。しかしながら、医学の最近における目覚ましい進歩は、学際領域の拡大とその独立をもたらし、その結果、組織学に配分される授業時間が、次第に減少される傾向にある。しかも一方、組織学の研究法、とくに電子顕微鏡や組織化学的方法が、最近急速に進歩したため、組織学は全分野にわたって著しい進展をとげ、学習の対象とすべき事項が、にわかに増大した。これを限られた実習時間内に学習し、生体微構造理解の効果をあげるには、学生の自己学習の援助として、適切な実習手引書を必要とする。

本書は、上記のような現状に鑑みて編まれたもので、実は、従来金沢大学医学部において、組織学実習にさいして、学生に与えてきた実習指導のための印刷物を、南江堂出版部の和泉隆之氏のお勧めに従って加筆増補し、新たに顕微鏡写真ならびに説明を付したものである。実習指導にあたってもっとも苦心する点は、実習時間の制限に起因する教材標本の取捨で、従来行なわれたような、比較組織学的な光顕教材の羅列は許されないので、これを必要なもののみに限り、代わって電顕写真や組織化学標本を多数採り入れ、また少数ではあるが発生学標本も付け加え、医学の現状ならびに将来の要請にそうよう配慮した。本書の中の写真は、すべて金沢大学医学部において、組織学実習のさいに、学生が実際に鏡検観察する標本によるもので、引出し線を付して具体的な説明を付してあるから、実習を離れて、単独に本書を使用しても、おそらく組織学の講義や自己学修のさいの細胞組織学図譜として、生体微構造の把握理解を助け、能率的な学習に役立つであろう。

本書の出版にいたるまでの、煩瑣な校正や印刷業務に関して、南江堂ならびに印刷所の多くの方々が示された御厚意は、忘れ得ないところである。著者はその御尽力に改めて敬意を表し、感謝の念を新たにしたい。また、校正にさいして御協力いただいた、山下利夫助教授、東元瑞子講師、北出雅恵助手に、厚く感謝します。

1980 年 1 月

金沢大学医学部，解剖学教室にて

本 陣 良 平 識

目

次

第1章 顕微鏡観察法

I 顕微鏡の種類とその用法の概要	2
1. 分解能	2
2. 視野の深さ	5
3. コントラスト	5
4. 暗視野照明法	6
5. 位相差顕微鏡	6
6. 干渉顕微鏡	7
7. 偏光顕微鏡	7
8. 紫外線顕微鏡と紫外線顕微分光 光度計	8
9. 螢光顕微鏡	8
10. X線顕微鏡	8
11. 電子顕微鏡	8
12. X線回折法, 電子回折法, X線 分光微小分析装置	9
II 組織標本作製法	10
1. 固定	10
2. 包埋, 薄切および凍結法	10
3. 染色法	11
III 細胞組織化学的方法	13
1. 蛋白質とアミノ酸	13
2. 酵素活性	13
3. 含水炭素	13
4. 脂質	14
5. 核酸および核蛋白質	14
6. 無機塩類と金属イオン	14
7. オートラジオグラフィ	15
8. 定量的組織化学および 細胞分画法	15
IV 生体および超生体検査法	16
1. 生体外表からの直接観察	16
2. 透明室装置	16
3. 生体内の組織の直接観察	16

4. X線回折法	16
5. 顕微解剖法	16
6. 生体および超生体染色法	16
7. 組織培養法	17
V 文 献	18

第2章 細胞学および組織学総論

I 細胞	19
1. ウサギの肝細胞	19
a. 新鮮肝細胞	19
b. 1% 酢酸滴下の肝細胞	19
c. 新鮮肝細胞の位相差顕微鏡 観察	19
d. 肝細胞の電顕像	20
2. 小胞体	20
a. 粗面小胞体	20
b. 滑面小胞体	20
3. ミトコンドリア	22
a. イモリ肝細胞ミトコンドリアの 光顕像	22
b. マウス肝細胞ミトコンドリアの 電顕像	22
4. ゴルジ装置	23
a. ウサギ神経細胞のゴルジ装置の 光顕像	23
b. マウス胃腺細胞のゴルジ装置の 電顕像	23
5. 中心小体	24
a. 中心小体の横断電顕像	24
b. 中心小体の縦断電顕像	25
6. リゾソーム	25
7. ミクロビリー	25
a. マウス小腸絨毛の表面像	26
b. マウス絨毛上皮のミクロビリー の表面像(臨界点乾燥)	27

v

c. マウス絨毛上皮のマイクロビリー の表面像(自然乾燥).....27	f. コリンエステラーゼ活性の検出...39
d. マウス絨毛上皮のマイクロビリー の透過型電顕像.....27	II 上皮組織.....41
8. 絨毛.....28	1. ヒト唾液中の剝離した口腔上皮 細胞.....41
a. マウス卵管上皮細胞の絨毛の 電顕像.....28	a. 新鮮な剝離した扁平上皮細胞.....41
b. 絨毛の横断.....29	b. ヨード・ヨードカリ液滴下の 上皮細胞.....41
c. マウス卵管の絨毛の外観.....29	c. 新鮮な扁平上皮細胞の位相差 顕微鏡観察.....41
9. デスモゾームと嵌合.....29	d. 新鮮な扁平上皮細胞の微分干涉 顕微鏡観察.....41
a. マウス食道上皮のデスモゾーム と嵌合.....29	2. カエル口蓋粘膜の絨毛運動.....42
b. マウス小腸上皮のデスモゾーム と嵌合.....31	3. 分離した柱状上皮細胞.....42
10. 基底翻入.....31	4. マウス小腸上皮細胞.....43
11. ピノサイトーシス小胞.....31	5. 単層扁平上皮と結合線.....43
12. 分泌小胞.....32	a. マウスの腸間膜の中皮とその 結合線.....43
13. 核.....33	b. カエル腸間膜の中皮細胞の電顕 観察.....44
a. マウス神経細胞の核.....34	6. 重層扁平上皮の電顕観察.....44
b. マウス骨芽細胞の核の面視.....34	III 結合組織.....45
14. 細胞分裂.....34	1. 孵化3日のニワトリ胚子の胎生 結合組織.....45
a. サンショウウオ口蓋上皮の細胞 分裂.....34	2. ヒトの臍帯の胎生結合組織.....46
b. 核分裂時の染色体の断面の 電顕像.....35	3. 細網結合組織.....46
15. 固定細胞のヘムアラウン・エオジ ン染色像.....35	4. 疎性結合組織.....47
a. カエルの肝細胞.....35	a. 新鮮な疎性結合組織.....47
b. サルの卵母細胞.....35	b. 新鮮疎性結合組織の位相差 顕微鏡観察.....47
16. 細胞組織化学.....36	c. 新鮮疎性結合組織に酢酸滴下.....47
a. DNA 検出のための Feulgen 反応.....36	d. 疎性結合組織の伸展固定観察.....47
b. DNA と RNA の検出のメチル 緑・ピロニン染色.....37	5. 結合組織中の細胞.....48
c. 多糖類検出の PAS 反応.....38	a. 線維細胞の電顕観察.....48
d. アルカリ性フォスファターゼ 活性の検出.....38	b. 組織球の電顕観察.....49
1) Gomori-高松法.....38	c. 形質細胞の電顕観察.....49
2) アリザリン赤法.....39	d. 肥満細胞の電顕観察.....50
e. コハク酸脱水素酵素活性の検出...39	6. ウサギ皮下疎性結合組織の 液腔系.....51
	7. 膠原線維.....51
	a. ラットの尾の腱の膠原線維.....51

b. 膠原細線維の電顕像	51	a. 赤血球の算定	67
8. 腱	52	b. 白血球の算定	68
a. ヒトの腱の横断	52	c. メランジュールの洗浄	69
b. ヒトの腱の縦断	52	V 筋組織	70
c. マウス腱の横断電顕観察	52	1. 平滑筋組織	70
9. ウシの大動脈の弾性網	52	a. 分離した平滑筋細胞	70
10. 脂肪組織	54	b. 平滑筋細胞の電顕観察	70
a. ウサギ大網のズダンⅢ染色	54	2. 心筋組織	71
b. ウサギ大網の OsO_4 処理	54	a. ヒトの心筋組織の縦断	71
11. 軟骨組織	55	b. ヒトの心筋組織の横断	71
a. ガラス軟骨, ヒトの肋軟骨	55	c. 心筋細胞の電顕観察	71
b. 弾性軟骨, ヒトの耳介軟骨	55	3. 骨格筋組織	72
c. 線維軟骨, ヒトの椎間円板	56	a. 新鮮な骨格筋線維	72
d. ガラス軟骨の電顕像	56	b. 新鮮骨格筋線維に酢酸滴下	73
12. 骨組織	56	c. 分離した筋原線維	73
a. 長骨横断面の研磨標本, ヒトの 上腕骨	56	d. ヒトの骨格筋組織の横断	73
b. 扁平骨の研磨標本, ヒトの 頭頂骨	57	e. ヒトの骨格筋組織の縦断	74
c. 脱灰骨, ヒトの脛骨骨体の横断	58	f. 骨格筋線維の電顕観察 (弱拡大)	74
d. 軟骨性骨化, ウサギ胎児の 後肢骨の縦断	59	g. 骨格筋線維の電顕観察 (強拡大)	74
e. 結合組織性骨化, ヒト胎児の 頭蓋冠	59	VI 神経組織	76
f. 骨細胞の電顕像, マウス新生仔 の頭蓋冠	61	1. 多極神経細胞	76
IV 血液	62	2. 神経細胞の電顕観察	76
1. ヒトの血液	62	3. KMnO_4 固定の神経細胞	77
a. 新鮮な血液	62	4. 新鮮な有髄および無髄神経線維	77
b. 溶血現象	62	a. マウス坐骨神経の有髄および 無髄神経線維	77
c. 血液の塗抹標本	63	b. Ranvier 絞輪の銀化による 観察	78
d. 塗抹標本の油浸系観察	64	c. 有髄神経線維の偏光顕微鏡 観察	78
2. 血球の電顕観察	64	5. 固定した神経線維	78
a. 好中球	64	a. OsO_4 固定のウサギ迷走神経	78
b. 好酸球	64	b. ウサギ坐骨神経の横断	78
c. リンパ球	64	c. オスミウム髄鞘染色を施した カエルの坐骨神経	79
d. 血小板	66	d. 末梢神経の横断電顕観察	79
e. 巨核球	67	e. 末梢有髄神経線維の横断電顕 観察	79
f. 赤血球の走査型電顕像	67		
3. 血球数の算定	67		

f. 末梢神経束の横断電顕観察	80	c. ウサギの葉状乳頭	100
g. 中枢神経有髄線維の横断電顕観察	81	d. 味蕾の電顕観察	102
h. Ranvier 絞輪の電顕観察	82	e. ヒトの舌扁桃	102
i. Schmidt-Lanterman 切痕の電顕観察	82	4. 口蓋扁桃	102
6. 神経膠細胞の電顕像	83	5. 唾液腺	103
a. 星状膠細胞	83	a. ヒトの耳下腺	103
b. 小膠細胞	84	b. ヒトの顎下腺	103
c. 稀突起膠細胞	84	c. ヒトの舌下腺	104
7. 神経終末の電顕観察	84	d. マウス顎下腺の線条部(唾液管)の電顕観察	104
a. 中枢神経内の終末	84	6. 食道	104
b. 運動終板	84	7. 胃 体	105
第3章 組織学各論		a. ヒトの胃体	105
VII 脈管系	87	b. マウスの胃腺の主細胞と壁細胞の電顕観察	107
1. 心 臓	87	c. マウス胃腺の電顕観察	108
a. ヒト心臓の縦断	87	8. 幽門部	110
b. ヒト心臓の横断	87	9. 小 腸	110
c. ヒト心臓の心外膜	87	a. ヒトの十二指腸	112
2. 動 脈	88	b. ヒトの空腸	115
a. ヒトの大動脈の横断	88	c. ヒトの回腸	115
b. 動脈の電顕観察	89	d. ヒトの腸腺(陰窩)の電顕観察	115
3. 静 脈	89	10. 大 腸	115
4. 毛細血管の電顕観察	89	a. ヒトの結腸の横断	116
5. 脾 臓	90	b. マウス結腸上皮の電顕観察	117
a. ヒトの脾臓	90	c. マウス結腸陰窩の杯細胞の電顕観察	118
b. 脾洞の電顕観察	92	d. マウス結腸筋層間神経叢(Auerbach)の電顕像	118
6. リンパ節	93	e. マウス結腸漿膜の電顕観察	119
a. ヒトのリンパ節	93	11. 虫 垂	119
b. リンパ節周辺洞の電顕観察	93	12. 肛門管	119
c. 毛細血管後静脈の電顕観察	94	13. 肝 臓	121
VIII 消化器系	95	a. ヒトの肝臓	121
1. 口 唇	95	b. ブタの肝臓	124
2. 歯	96	c. イヌの肝臓の血管墨汁注入標本	124
a. ヒトの歯の発生	96	d. マウス肝細胞および毛細胆管の電顕観察	124
b. 成人の脱灰歯	97	e. マウス肝臓 Disse 腔の電顕	
3. 舌	99		
a. ヒトの前舌	99		
b. ヒトの有郭乳頭	100		

観察	124
f. マウス肝臓の断面の走査型	
電顕観察	124
14. 胆 嚢	125
15. 膵 臓	125
a. ヒトの膵臓	125
b. ヒト膵臓外分泌腺房の電顕	
観察	128
c. ヒト膵臓外分泌部の電顕観察	128
d. ヒト Langerhans 島の電顕観察	128
IX 呼吸器系	129
1. 下鼻甲介	129
2. 気 管	129
3. 肺	130
a. ヒトの肺	130
b. イヌの肺	133
c. イヌの肺の血管墨汁注入標本	133
d. マウス肺胞壁の電顕観察	133
e. マウス肺の電顕観察	133
X 泌尿器系	134
1. 腎 臓	134
a. ヒトの腎臓	134
b. イヌの腎臓の血管墨汁注入	
標本	139
c. マウス糸球体の電顕観察	139
d. マウス腎小体薄切片の電顕	
観察	139
e. マウス尿管管主部上皮細胞の	
内腔側の電顕観察	140
f. マウス尿管管主部上皮細胞の	
基底側の電顕観察	140
g. マウス尿管管介在部の電顕	
観察	141
h. マウスの傍糸球体装置の電顕	
観察	141
i. マウス糸球体の表面の走査型	
電顕観察	141
2. 尿 管	141
3. 膀 胱	142
XI 男性生殖器系	144

1. 精 巣	144
a. ヒトの精巣	144
b. マウス曲精細管の電顕観察	147
c. マウス精子の電顕観察	147
d. マウス精巣の間細胞の電顕	
観察	147
e. マウス曲精細管基底部の電顕	
観察	147
f. マウス曲精細管内腔側の電顕	
観察	147
2. 精巣上体	148
a. ヒトの精巣輸尿管と精巣上	
体管	148
b. マウス精巣上体管の電顕観察	149
3. 精管と精囊	149
4. 前立腺と尿道前立腺部	150
5. 陰茎の横断	151
6. 陰茎亀頭	152
XII 女性生殖器系	153
1. 卵 巣	153
a. ヒトの卵巣	153
b. イヌの卵巣	157
c. マウス卵巣の二次卵胞内の	
卵母細胞の電顕観察	157
d. マウス卵巣二次卵胞の電顕	
観察	157
2. 卵 管	157
3. 子 宮	159
4. 胎 盤	160
XIII 内分泌系	163
1. 下垂体	163
a. ヒトの下垂体	163
b. マウス下垂体の電顕観察	167
2. 甲状腺	167
a. ヒトの甲状腺	167
b. マウス甲状腺小胞の電顕観察	168
c. マウス甲状腺の電顕観察	168
3. 胸 腺	168
a. ヒト胎児の胸腺	169
b. 成人の胸腺	169

c. マウス胸腺 Hassall 小体の 電顕観察	170
4. 副 腎	171
a. ヒトの副腎	171
b. マウス副腎皮質束状帯細胞の 電顕観察	174
c. マウス副腎髄質のクロム親性 細胞の電顕観察	174
d. マウス副腎髄質の電顕観察	174
5. 松果体	174
6. 上皮小体	175
XIV 神経系	177
1. 大 脳	177
a. ヒトの大脳	177
b. ヒトの大脳の髄鞘染色標本の 観察	178
c. マウス大脳錐体細胞の Golgi クロム銀化法観察	179
d. マウス大脳の軸索-細胞体 シナプスの電顕観察	180
e. マウス大脳の軸索-樹状突起 シナプスの電顕観察	181
f. マウス大脳の毛細血管周囲の 電顕観察	181
2. 小 脳	182
a. ヒトの小脳	182
b. ヒトの小脳の髄鞘染色標本の 観察	183
c. マウス小脳 Purkinje 細胞の クロム銀化法観察	184
3. 脊 髄	184
a. ヒトの脊髄	184
b. ヒトの脊髄の髄鞘染色標本の 観察	184
c. ウシ脊髄の Klüver-Barrera 染色標本の観察	185
4. 脈絡叢の電顕観察	185
5. 脊髄神経節	185
a. ヒトの脊髄神経節	185
b. マウス迷走神経節状神経節の	

電顕観察	186
6. 自律神経節	187
a. ヒトの交感神経節	187
b. ウサギの交感神経節の鍍銀 標本	187
7. 末梢神経	187
a. ヒトの末梢神経の横断	187
b. ウサギ脊髄神経の鍍銀標本 の観察	188
c. マウス骨盤神経の神経束横断面 の全視野の電顕観察	188
8. 知覚神経の終末小体, Grandry 小体と Herbst 小体	188
9. 自律神経の終末網の組織化学的 検出, マウス頰板筋の神経終末 のカテコールアミン蛍光証明	189
XV 感覚器系	191
1. 眼球と視神経	191
a. ヒト眼球の前半部	191
b. ヒト眼球の後半部	194
c. フナ網膜の杆状体細胞の外節 と内節の電顕観察	198
d. マウス角膜上皮表面の走査型 電顕観察	198
e. メダカ水晶体の切断面の 走査型電顕観察	198
f. マウス視神経の横断面の全視野 の電顕観察	198
2. 眼 瞼	199
3. 内 耳	201
4. 皮 膚	204
a. ヒトの頭皮, 毛の横断	204
b. ヒトの頭皮, 毛の縦断	207
c. ヒトの指頭	207
d. ヒト胎児の爪	208
e. ヒト頭髮表面の走査型電顕 観察	208

和文索引	209
欧文索引	215

第 1 章

顕微的観察法

組織学 (Histologia) は、特殊な方向に分化した細胞の群を意味する組織 (Textus) のギリシア語 histos と、学あるいは知識を意味する語 logia とに由来し、広く動植物を構成する組織の構造機能を研究対象とする学で、解剖学 (Anatomia) の一分科である。

解剖学は、16 世紀末の複合顕微鏡の発明、前世紀末の可視光顕微鏡の完成、さらに今世紀後半における電子顕微鏡の生体検索への応用によって、顕微鏡を利用する研究方向 (顕微解剖学) に、大きな発展を示し、生命現象の根本的理解を目指す、医学生物学の一翼を担うにいたった。顕微解剖学は、対象によって、細胞 (Cellula) を取り扱う細胞学 (Cytologia)、組織 (Textus) を取り扱う組織学総論 (Histologia generalis)、臓器 (Organa) あるいは臓器の系統 (Systema) を取り扱う組織学各論 (Histologia specialis) に区分される。しかし今日、広い意味で使用される組織学という名称は、顕微解剖学のこれらの全分野を包含し、肉眼観察による系統解剖学の基礎をなすのみならず、生化学、生理学、病理学、さらに広く各臨床医学の基礎をなすものである。

組織学実習にさいして、方法論的に重要な 2 つの面がある。第 1 は、顕微的方法すなわち使用する顕微鏡の種類とその特性であり、第 2 は、研究目的に応じて、鏡検するのに好適な状態に組織を処理する組織学的な標本作製法、すなわち、固定、包埋、薄切、染色などの手技である。しかしこれら 2 つの面は、互いに密接に関連し、実際の研修にあたって、その目的に応じて選ばれるべきものである。

I 顕微鏡の種類と その用法の概要

顕微鏡使用にあたって、常に留意すべき3つの重要事項がある。第1は、顕微鏡の分野能 (resolution) であり、第2は、視野の深さ (depth of field) であり、第3は、像のコントラスト (contrast) である。

1. 分解能

隣りあって存する2点の被検体を、離れて存する異なった2点として識別しうる能力を分解能といい、識別しうる2点間の最短距離をもって示す。ヒトの肉眼には分解能の限界があり、正常な眼で約 0.1 mm である。その理由は、第1に、感光単位としての視細胞が、小さいとはいえ、細胞単位の大きさをもつことである。錐状体細胞が一層にぎっしりならんで、もっともよくものがみえる網膜中心窩における錐状体細胞の直径は 0.0045~0.0054 mm である。網膜に投影された2点が、2点として識別されるためには、2点からくる光が、2個の錐状体細胞をそれぞれ別個に刺激し、しかもこのさい、刺激される2個の細胞の間に、刺激されない細胞が、少なくとも1個介在することを要する。このような条件を満たすためには、2点と眼を結ぶ角度、すなわち最小視角が、約1分以上でなければならない。第2に、ヒトが通常近業を営む距離が約 25 cm (明視の距離) であり、極度の調節で明視できる最短距離、すなわち近点距離が、若年のものでも高々 8 cm にすぎず、これより眼に近付けた物体は、明視することができない。近点距離は年とともに大きくなり、通常 45 歳で 40 cm、50 歳で 100 cm をこえる。したがって、肉眼で識別できる2点の実際上の距離は、上記の最小視角1分の、眼から 25 cm の距離における2点間の距離 0.073 mm (約 0.1 mm) である。

眼の分解能より接近して位置する2点を識別するためには、試料と眼の間に、ルーペや顕微鏡を挿入し、2点の存する局所の拡大像を作り、拡大された試料の像における2点の距離が、眼の分解能より大となれば、2点を2点として識別できる。同様なことは光学顕微鏡写真や、電子顕微鏡写真についてもいえる。したがって顕微鏡は、試料検索の目的に応じて、適当な分解能をもたねばならない。

普通の光学顕微鏡は、可視光 (波長 3,970~7,600 Å) を使用し、その光学系は、集光レンズ、対物レンズ、接眼レンズからなる。顕微鏡の分解能は、もっぱら、対物レンズによって形成される像の性質がどうであるかにかかっている。接眼レンズは、対物レンズによって作られた像を、

著しく拡大するが、接眼レンズの拡大によって、像中にはなんら新しい構造は現れない。

単一のレンズの結像には、種々の収差 (aberration) がある。光学ではこれを、次の7つの収差に区別している。① 回折収差、② 球面収差、③ 色収差、④ 非点収差、⑤ 湾曲収差、⑥ 歪曲収差、⑦ コーマ収差。このうち、② 以下はレンズの光学的特性に基づく欠点であり、屈折率の異なる種々のガラスや、明礬、螢石などで作った凸レンズや凹レンズを、巧みに組み合わせて、ほとんど無害の程度にまで減少させることができる (レンズ収差の補正)。しかし、① は光そのものが示す回折効果に起因し、試料の物点が、像では点とならず、Airy 円板となるために生ずる収差で、補正によって除くことができない。このことが、光学顕微鏡の分解能に限界がある根本原因である。光学顕微鏡の分解能 d は次式で求められる。

$$d = \frac{\lambda}{n \sin \alpha} = \frac{\lambda}{NA}$$

ここに λ は波長、 α は開角で、レンズの半径が物点に張る角度、 n は物点とレンズの間の媒質の屈折率で、高倍率レンズではガラスと同じ屈折率の油が使用される (図 1)。 $n \sin \alpha$ は開口数 (NA) と呼ばれる。実用的には、光学顕微鏡の分解能は、約 0.4μ である。レンズ軸に対して角 α の方向から斜光照明すると、2 倍の開角が得られるので、分解能は $1/2$ となる (0.2μ)。

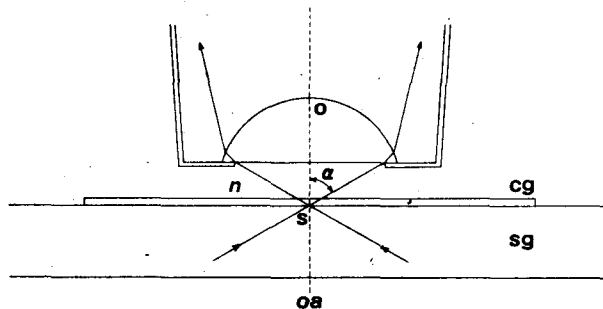


図 1. 対物レンズの開角. α は開角, n は対物レンズ (o) とカバーガラス (cg) の間の媒質の屈折率 (この場合はツエーダー油で, $n=1.515$, これはガラスとはほぼ等しい屈折率である), sg はスライドガラス, s は試料の物点, oa は光軸.

理論的には、集光レンズの開口数は、対物レンズの開口数と同一であることを要する。いかに大きな開口数をもった対物レンズを使用しても、集光レンズの開口数が小であると、実際に対物レンズにはいる光束の開角が小となり、分解能は悪くなる。しかし実用的には、散乱光を少なくしてコントラストをあげるため、集光レンズの絞りをわずかに絞って、集光レンズの開口数を、対物レンズの開口数よりわずかに小さくして使用するとよい。

現在一般によく使用されているアクロマート対物レンズは、可視光のうち、黄緑 ($5,600 \text{ \AA}$) について球面収差が補正され、同時に赤 ($6,563 \text{ \AA}$) と青 ($4,861 \text{ \AA}$) の2色について、軸上色収差が補正されている。カラー写真に使われるアポクロマート対物レンズは、球面収差が赤と黄緑の

2色について、軸上色収差が赤、青、紫 ($4,308 \text{ \AA}$) の3色について補正されている。倍率色収差は接眼レンズによって補正され、このような接眼レンズを補正接眼レンズという。したがっ

表 1. レンズの開口数・視野の深さ・倍率・焦点距離の相関

アクロマート対物レンズ (NA)	視野の深さ (μ)	倍率 ($\times$)	焦点距離 (mm)
0.2 ~ 0.3	10	10	16
0.65 ~ 0.85	1 ~ 2	40	4
1.2 ~ 1.3	0.5	100	2

て、一般的にはホイヘンス接眼レンズが使用されるが、アポクロマート対物レンズ使用のさいには、補正接眼レンズを併用せねばならない。なお、白黒の顕微鏡写真撮影のさいには、レンズ設計上の標準にあわせて、黄緑のフイ

ルターを使わねばならない。表 1 に、各種の対物レンズの開口数、視野の深さ、倍率、焦点距離を示す。

照明は、高輝度の光源を、視野いっぱいに拡げるように、集光する必要がある。そのために、光源の近くに補助の凸レンズを置き、光源からの光を平行光束として集光レンズに入れ、光源の像が試料面にできるようにすると、強い照明が得られる。この照明法を臨界照明という。しかし臨界照明法では、もし光源の輝度に不揃いなむらがあると、そのまま像面の明るさの斑となるので、この場合には、補助レンズによって、光源の像を集光レンズの絞りの面に結ばせるようにすれば、光源の像が試料面から無限遠にできるようになり、像面のむらを除くことができる。この照明法を Köhler 照明という。また表面観察のため、対物レンズの横から光を入れて、プリズムで光を落射させ、対物レンズを集光と観察の両用に使う。金属顕微鏡（ウルトロパーク）がある。

電子顕微鏡の対物レンズの分解能も、理論的には、上記の光学顕微鏡の場合と同様である。しかし実際には大きな差がある。加速電圧 50 kV のときの電子線の波長は $0.055 \text{ \AA}$ である。波長 $5,600 \text{ \AA}$ の黄緑の光線を使用する光学顕微鏡の回折収差による分解能の限界が 0.2μ とすると、この場合の電子線の波長は光線の波長の $1/100,000$ に相当するから、もし電子顕微鏡の対物レンズの諸収差の補正が上手にされて、光顕におけると同様なレンズの収差補正が可能となるならば、電顕では $0.02 \text{ \AA}$ の分解能が期待されてよいはずである。しかし現段階で電子顕微鏡の分解能は $2 \text{ \AA}$ で、これは回折収差のみの分解能の約 100 倍も大きな値である。その理由は、電子レンズには光顕の凹レンズに相当するものがなく、球面収差の補正ができないためである。しかしそれでも、電顕の分解能の限界は、光顕のその $1/1,000$ であり、微構造検索にとって飛躍的な進歩である。

顕微鏡写真は、鏡筒長を長くしたり、写真的に拡大引き伸しをすることによって、何倍にも拡大することができる。しかし写真をみて、これを判読するのはヒトであるから、像に本来存在する詳細を、肉眼で見分けうる拡大以上に拡大しても無意味である。つまり、顕微鏡の分解能の限界に等しい距離はなれている 2 点が、眼の分解能の限界に等しい距離はなれた 2 点として拡大された像を得れば、必要にして十分である。このような倍率を最大有効倍率と呼ぶ。ヒトの眼の分

解能の限界は、すでに述べたように 0.1 mm である。光顕の分解能を 0.2μ 、電顕の実用的分解能を $5\text{ \AA}$ とし、明視の距離 (25 cm) で顕微鏡写真が観察されたとすると、光顕、電顕のそれぞれの最大有効倍率は、それぞれ 500 倍および $200,000$ 倍である。眼に無理をかけないで写真を観察するために、眼の分解能を 0.2 mm としても、最大有効倍率はそれぞれ $1,000$ 倍と $400,000$ 倍である。

2. 視野の深さ

視野の深さは、焦点の合っている試料内の光軸方向の厚みの範囲である。光学顕微鏡では、眼で鏡検する場合、弱拡大の対物レンズのときは、眼の調節作用がかなり働くが、強拡大の対物レンズは、眼の調節作用の関与は少なく、顕微鏡写真撮影の場合には、眼のときのような調節作用がまったくない。

光学顕微鏡の視野の深さは比較的小さい。普通の肉眼による鏡検では、視野の深さが小であっても差しつかえない。むしろこのことを大きな利点として利用できる。なぜならば、微動装置を使って、レンズ系を上下させて、順次種々の試料面に準焦し、試料内の種々の深さにおける構造を観察し、試料の三次元的構造を把握できるからである。これに反し、光学顕微鏡の写真撮影にさいしては、上記の眼の調節作用も微動装置による順次準焦も不可能であるから、検索目的とする構造を分解するに足るレンズ群中で、もっとも開角の小さな拡大の弱いレンズを用い、できるだけ視野の深さを大とするように配慮する必要がある。

電子顕微鏡の視野の深さは比較的大きく、生物材料の通常の切片の厚み ($500\text{ \AA}$ 前後) では、切片のどこかに準焦があてば、試料切片の厚さ全部が視野の深さにはいり、準焦があてている。したがって電顕写真判読にさいして、試料切片の全層にわたって上下に位置している微構造が、全部1層の写真面に投影されて影像を形成していることを銘記すべきである。

3. コントラスト

顕微観察にあたっては、像における近接部位間のコントラストが十二分にあって、その部位を識別できなければならない。すなわち、物点の明るさないし色が、それを取り巻く周囲の部位の明るさないし色と、異なることが必要で、この両者の差がコントラストである。コントラストがなければ、分解能や視野の深さが適当であっても、物体をその周囲から区別して認知することができない。

ヒトの眼の区別する明るさの差異を ΔI とすると、明るさ区別の閾値 $\Delta I/I$ は、中等度の明るさで、Weber の法則に従ってほぼ恒常で、約 0.02 (2%) である。この 2% という値は限界の数値で、実際には 10% 以上であることが望ましい。元来、ヒトの眼は明暗のわずかの差を認知するのに敏感ではない。これに反し、ヒトの眼は光の波長差、すなわち色に対してきわめて敏感で、わずかの波長差を、色の差異として識別できる。色の差異すなわち物体による特定波長の

光の吸収の差異があると、同じ明るさでも、はっきりと区別が可能となる。

コントラストと一口にいうが、試料による吸収、反射、屈折、散乱、回折、偏光、螢光など、光量子や電子と物質との間の反応が、種々の程度でコントラストの成立に寄与している。生体試料の微構造では、光顕検索の場合、**光の吸収差**がもっとも重要なコントラスト要因であり、電顕検索の場合、**電子線の散乱差**が主なる要因である。生活物質は、色素のような例外を除けば、色の差がなく、密度の差による屈折の差も著しくなく、構成原子団の電子散乱差も著しくない。そのためコントラストをよくする補助手段がとられる。

補助手段の主な2つの方向をあげると、**第1**は、試料の染色で、微構造の各部を構成する種々の分子や原子団が、それぞれ結合する色素を異にする性質を利用して、**分別色素による染色**を施して光顕下に観察するか、あるいは重金属塩による**選択的染色**を施して、電顕下に観察撮影する。**第2**は、**位相差法**で、試料中の分子あるいは原子団の間のわずかの位相差を、強度差すなわちコントラストに変えて、構造をみわけようとするもので、光学的に不均質な試料を直進する非回折光と、横にそれる回折光とにわけ、これを結像のさいに干渉させて、高度のコントラストを得る。この原理に基づく顕微鏡が位相差顕微鏡であり、さらに厳密な干渉装置を組み込んで、位相差法を定量化したのが、干渉顕微鏡である。以下、特殊な顕微鏡とその特色に触れる。

4. 暗視野照明法

集光レンズの中央を不透明にした**暗視野集光レンズ**を使用し、対物レンズに直接はいる光を遮り、光円錐によって斜めに試料を照射する。この方法によって、真暗な視野の中に、小さな顆粒物体が輝いてみえる。光が微粒子の表面で反射し、それが対物レンズにはいってみえるのである。径約 0.004μ の大きさのものまで検出できる。しかしこの方法では、被検体の形や大きさを論ずることはできない。

5. 位相差顕微鏡

多くの生きた細胞は、基本的に可視光に透明である。普通の顕微鏡によるとき、試料中の微構造の間に、色の差か、著明な屈折率ないし厚さの差があるとき像を認知しうる。したがって透明なものでは、コントラストを付けるために、絞りを絞ってみなければならない。しかしそれでは、著しく分解能を損い、不十分な像しか得られない。透明なものでも、それが光学的に不均質な場合、それを通過する非回折光と、横にそれる回折光とを、結像のさいにうまく干渉させると、わずかな位相差 (phase difference) を光の強度差すなわちコントラストに変えて構造をみうる (Zernike)。位相差顕微鏡の構造特徴は、集光レンズの前焦点面に**環状絞り**をおき、この環状絞りの像ができる対物レンズの後焦点面に、この像に重なるように非回折光の強い光を吸収する環状の吸収膜と、その周囲の回折光の通路に光の位相を $1/4$ 波長遅らせる位相膜とを組み合わせた**位相板** (回折板) がおかれたもので、残余の顕微鏡部分は、まったく普通の顕微鏡と変わる

ところがない。コントラストの強度は、位相膜の位置や吸収膜の吸収度を変えることによって、暗位相、明位相など種々のものが作られている。位相膜は単色光を用いたときに、もっともよいコントラストを示すので、通常 $5,400 \text{ \AA}$ の波長の光を通す緑色フィルターを使用する。

6. 干渉顕微鏡

干渉顕微鏡は、普通の顕微鏡に、干渉計を組み込んだもので、光源から発する光は2つの光線に分離され、1つは被検体を通過し、他の1つは被検体をまったく避けて通る。これら2種の光線は再び合して干渉をおこす。したがって、試料による正確な位相の変化、すなわち光学的距離 (optical path) の差を計測できる。計測の結果から、被検体屈折率があらかじめわかっているときにはその厚さが、あらかじめ厚さがわかっているときにはその屈折率を知ることができる。また封入剤をいろいろと変えて比較することによって、被検体の屈折率を知ることができる。

7. 偏光顕微鏡

この顕微鏡は、通常の白色光の代わりに、偏光 (polarized light) で試料を照明し、被検体の複屈折性を検する顕微鏡である。

光はあらゆる方向に振動する波と考えられ、ガラスのような物質を光が通っても、その振動方向に変化を受けないが、多くの結晶体や、毛、筋細胞、神経線維などのような類結晶構造をもつものを通過すると、光は互いに直交する2方向の光にわけられて進み、それぞれの光は速度、屈折率、吸収などを異にし、物体を出るときには、それぞれの光の間に位相の差のある互いに直交する2方向の光にわけられて出てくる。前者のような物質を、光学的に等方性 (単屈折性)、後者のような物質を異方性 (複屈折性) であるという。後者はさらに、構成分そのものが複屈折性で、分子配列が一定の方向性をもつ内部複屈折性 (固有複屈折性) のものと、非相称粒子が単に屈折率を異にする媒質中に、一定の規則正しい配列をしている形態複屈折性のものとに分けられる。

偏光は Nicol のプリズムまたは偏光板に光を通すと得られ、通過した光は、光学系の1つの面においてのみ振動する直線偏光となる。Nicol のプリズムには光の通過する1つの軸があり、2個のプリズムを、この軸を互いに直交する位置において、両者を通して光をあてると、光は第2のプリズムからはまったく出てこないで暗くなる。この状態を直交ニコル (crossed nicols) という。直交ニコルの状態に位置された2つのプリズム (偏光子と検光子) の間に、複屈折性の物質をおくと、偏光子を通過した直線偏光は、複屈折性の物質にはいて、互いに直交する位相差のある2つの光にわかれて進み、検光子にはいて振動方向を変えてこれを通過し、2波の合成波が複屈折性の物質の像として、暗い視野の中に認められる。

以上の理を光学顕微鏡の光路に組み込んだものが偏光顕微鏡である。被検体の複屈折性の記号 (正、負) を決めるためには、軸方向のわかっている石膏のような複屈折体の薄板を、コンベン