

アジ科魚類（マアジ、カンパチ、ヒラマサ）の好中球の形態学的および細胞化学的特徴

近藤昌和[†], 安本信哉, 秋吉佑樹, 高橋幸則

Morphological and Cytochemical Characteristics of Neutrophil from Carangid Fishes, Jack-mackerel *Trachurus japonicus*, Greater Amberjack *Seriola dumerili* and Yellowtail Amberjack *S. lalandi*

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto, Yuuki Akiyoshi and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological and cytochemical characteristics of neutrophil in Carangid fishes, jack-mackerel (*Trachurus japonicus*), greater amberjack (*Seriola dumerili*) and yellowtail amberjack (*S. lalandi*), were examined by light microscopy. Three types of granules, eosinophilic granule (α G), chromophobic granule (β G) and basophilic granule (γ G) were observed in the neutrophils of these fish species. Multiple Romanowsky-type stain valuation revealed that α Gs of these fish species were stained eosinophilic with May-Grünwald (MG), but not with Giemsa. Eosinophilic stain of the α G was disappeared by Giemsa after MG. The β Gs were unstained by Romanowsky-type stain and peroxidase-positive. The γ G of greater amberjack and yellowtail amberjack were stained light blue with Giemsa, but unstained with MG. On the other hand, the γ Gs of jack-mackerel were stained not only with Giemsa, but also with MG.

Key words : *Trachurus japonicus*, *Seriola dumerili*, *Seriola lalandi*, neutrophil, morphology, cytochemistry

緒 言

魚類の好中球顆粒の種類は、多様であることが報告されている¹⁻²⁴⁾。著者らは前報¹⁾において、ブリ *Seriola quinqueradiata* の好中球の形態学的および細胞化学的特徴を調べ、ブリの好中球には好酸性（好エオシン性）顆粒（ α 顆粒）、難染性顆粒（ β 顆粒）および好塩基性顆粒（ γ 顆粒）の3種類の顆粒が存在することを明らかにした。また、ブリの α 顆粒は酸性条件下のMay-Grünwald (MG) 染色によって橙色を呈するが、Giemsa染色では染まらず、MG-Giemsa (MGG) 染色では染色性が低下すること、 β 顆粒にはアルカリ性フォスファターゼ (AIP) とペルオキシダーゼ (PO) が、 γ 顆粒には α -ナフチルアセテートエステラーゼ (α -NAE) が検出されることを報告した¹⁾。

本研究では、魚類における好中球顆粒の多様性を明らかにするために、ブリと同様にアジ科に属し、水産増養殖対象となっているマアジ *Trachurus japonicus*、カンパチ *S. dumerili* およびヒラマサ *S. lalandi* の好中球の形態学的および細胞化学的特性を明らかにし、これまでに報告した各種魚類と比較した。

材料および方法

水産大学の飼育施設に搬入したマアジ（体重約80 g）、カンパチ（体重約280 g）およびヒラマサ（体重約2 kg）を、流水条件下で1週間以上飼育したのち実験に供した。カンパチは下関市内の養魚施設から入手した。マアジは吉母港（下関市）で、ヒラマサは蓋井島（下関市）周辺で釣獲した。飼育期間中は、市販の配合飼料（マリン6

号, 林兼産業)を適宜給餌した。なお, 実験時の水温は
17.0±1.0℃であった。

血液塗沫標本の作製, 多条件下Romanowsky型染色評価

法 (Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV)

(Table 1) および各種細胞化学染色法は近藤・高橋¹⁶⁾に
したがった。

Table 1. Staining conditions of multiple Romanowsky-type stain valuation

PN	Condition ^{1,2}	PN	Condition ^{1,2}
1	MG : DW	42	G : ¹ / ₁₅₀ M PB, pH8.0, 1:20, 15 min
2	: 5 mM PB, pH5.0	43	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH8.0, 1:20, 60 min
3	: 5 mM PB, pH6.0	44	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH8.0, 1:100, 15min
4	: 5 mM PB, pH7.0	45	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH8.0, 1:100, 60min
5	: 5 mM PB, pH8.0	46	MGG : DW, 1:20, 15 min
6	: ¹ / ₁₅ M PB, pH5.0	47	: DW, 1:20, 60 min
7	: ¹ / ₁₅ M PB, pH6.0	48	: DW, 1:100, 15 min
8	: ¹ / ₁₅ M PB, pH7.0	49	: DW, 1:100, 60 min
9	: ¹ / ₁₅ M PB, pH8.0	50	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min
10	G : DW, 1:20, 15 min	51	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min
11	: DW, 1:20, 60 min	52	: 5 mM PB, pH5.0, 1:100, 15 min
12	: DW, 1:100, 15 min	53	: 5 mM PB, pH5.0, 1:100, 60 min
13	: DW, 1:100, 60 min	54	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15min
14	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min	55	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min
15	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min	56	: 5 mM PB, pH6.0, 1:100, 15 min
16	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:100, 15 min	57	: 5 mM PB, pH6.0, 1:100, 60 min
17	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:100, 60 min	58	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15min
18	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15min	59	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min
19	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min	60	: 5 mM PB, pH7.0, 1:100, 15 min
20	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:100, 15 min	61	: 5 mM PB, pH7.0, 1:100, 60 min
21	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:100, 60 min	62	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15min
22	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15min	63	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min
23	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min	64	: 5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min
24	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:100, 15 min	65	: 5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min
25	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:100, 60 min	66	: ¹ / ₁₅ M PB, pH5.0, 1:20, 15min
26	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15min	67	: ¹ / ₁₅ M PB, pH5.0, 1:20, 60min
27	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min	68	: ¹ / ₁₅ M PB, pH5.0, 1:100, 15 min
28	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min	69	: ¹ / ₁₅ M PB, pH5.0, 1:100, 60 min
29	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min	70	: ¹ / ₁₅ M PB, pH6.0, 1:20, 15 min
30	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH5.0, 1:20, 15 min	71	: ¹ / ₁₅ M PB, pH6.0, 1:20, 60 min
31	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH5.0, 1:20, 60min	72	: ¹ / ₁₅ M PB, pH6.0, 1:100, 15 min
32	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	73	: ¹ / ₁₅ M PB, pH6.0, 1:100, 60 min
33	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	74	: ¹ / ₁₅ M PB, pH7.0, 1:20, 15min
34	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH6.0, 1:20, 15min	75	: ¹ / ₁₅ M PB, pH7.0, 1:20, 60min
35	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH6.0, 1:20, 60min	76	: ¹ / ₁₅ M PB, pH7.0, 1:100, 15 min
36	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	77	: ¹ / ₁₅ M PB, pH7.0, 1:100, 60 min
37	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	78	: ¹ / ₁₅ M PB, pH8.0, 1:20, 15 min
38	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH7.0, 1:20, 15 min	79	: ¹ / ₁₅ M PB, pH8.0, 1:20, 60 min
39	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH7.0, 1:20, 60 min	80	: ¹ / ₁₅ M PB, pH8.0, 1:100, 15min
40	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	81	: ¹ / ₁₅ M PB, pH8.0, 1:100, 60min
41	: ¹ / ₁₅₀ M PB, pH7.0, 1:100, 60 min		

¹MG, May-Grünwald stain (after fixation and staining for 5 min with MG concentrated-solution, the smear was stained again for 10 min in MG diluted (1:1) with various solution); G, Giemsa stain (after fixation with absolute methanol for 5 min, the smear was air-dried and then stained with Giemsa diluted with various solution); MGG, May-Grünwald・Giemsa stain (after staining with MG stain, the smear was stained with diluted Giemsa solution); DW, distilled water; PB, phosphate buffer; 1:20 and 1:100, dilution ratio (Giemsa:diluent); 15 min and 60 min, time of Giemsa stain.

²Diluent for Giemsa of MGG stain were DW, 0.5 mM PB or ¹/₁₅₀ M PB.

PN, preparation number.

結 果

マアジ、カンパチおよびヒラマサの好中球には3種類の顆粒 (α 顆粒, β 顆粒, γ 顆粒) とY小体 (安本小体, Yasumoto body (Y-body)) が認められた (Fig. 1)。これら魚種の α 顆粒と γ 顆粒の多条件下Romanowsky型染色特性 (Multiple Romanowsky-type Stain Characteristics, MRSC) をTable 2に示す。いずれの魚種においても, β 顆粒は円形または卵円形であり (マアジ, 長径1.0 μm 以下; カンパチとヒラマサ, 長径0.5 μm 以下), MRSVのいずれの染色条件においても明瞭な色調を示さなかった。また, いずれの魚種においても, Y小体は種々の形態 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) を示し, MRSVのいずれの染色条件においても青色から淡青色を呈した。なお, いずれの魚種においても種々の形態の核が偏在していたが, カンパチとヒラマサでは分葉核 (二分葉まで) も認められたのに対して, マアジでは分葉核は観察されなかった。

α 顆粒のMRSC

マアジの α 顆粒は淡橙色を呈する円形または卵円形の顆粒であり (長径0.3 μm 以下), pH5.0のリン酸緩衝液を希釈液に用いたMG染色標本で多数観察された。また, pH6.0~8.0の高濃度 ($1/15$ M) 緩衝液を用いたMG染色では, 少数の α 顆粒が認められた。しかし, 蒸留水およびpH6.0~8.0の低濃度 (5 mM) 緩衝液を用いたMG染色標本には α 顆粒は認められなかった。カンパチおよびヒラマサの α 顆粒は円形または卵円形 (長径0.2 μm 以下), あるいは桿形 (長径0.5 μm 以下, 短径約0.2 μm) であり, 橙色を呈した。本顆粒は, いずれの希釈液を用いた場合にも, MG染色標本で多数観察された。いずれの魚種においても α 顆粒はGiemsa染色標本には認められなかった。また, MGG染色では, 染色される (観察される) α 顆粒の数が減少する傾向がいずれの魚種においても認められた。

γ 顆粒のMRSC

いずれの魚種においても γ 顆粒は長径0.3 μm 以下の円形または卵円形であった。カンパチおよびヒラマサの γ 顆粒はMG染色標本には観察されなかった。しかし, マアジの γ 顆粒は, 蒸留水および低濃度緩衝液を希釈液に用いたMG染色標本に多数認められた。また, マアジの γ 顆粒は, 高濃度緩衝液を希釈液に用いたMG染色では, pH7.0

および8.0において多数観察されたが, pH5.0および6.0では認められなかった。いずれの魚種においても, Giemsa染色およびMGG染色によって, 希釈液の種類, Giemsa原液の希釈率ならびにGiemsa染色時間にかかわらず, 多数の γ 顆粒が観察された。

細胞化学的特徴

マアジ, カンパチおよびヒラマサの好中球の細胞化学的特徴をTable 3に示す。AIPはマアジには検出されなかったが, カンパチおよびヒラマサでは円形または卵円形 (長径0.5 μm 以下) の陽性顆粒として, 前者では少数が観察され (Fig. 3A), 後者では細胞質に充満していた (Fig. 4A)。酸性フォスファターゼ (AcP) はいずれの魚種においても円形または卵円形の陽性顆粒として観察されたが, マアジでは長径0.2 μm 以下で多数, カンパチでは長径0.3 μm 以下で少数, ヒラマサでは長径1.0 μm 以下で少数認められた (Figs. 2A, 3B, 4B)。 β -グルクロニダーゼはいずれの魚種の好中球にも検出されなかった。 α -NAEは, いずれの魚種の好中球にも多数の円形または卵円形の陽性顆粒として多数観察されたが, マアジとヒラマサでは長径0.2 μm 以下 (Figs. 2B, 4C) であったのに対して, カンパチでは, 長径0.3 μm 以下であった (Fig. 3C)。 α -ナフチルブチレートエステラーゼ (α -NBE) はマアジおよびヒラマサに認められ, 前者では直径0.2 μm 以下の (Fig. 2C), 後者では長径0.3 μm 以下の円形または卵円形の陽性顆粒として多数観察された (Fig. 4D)。ナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ (NASDCAE) もカ

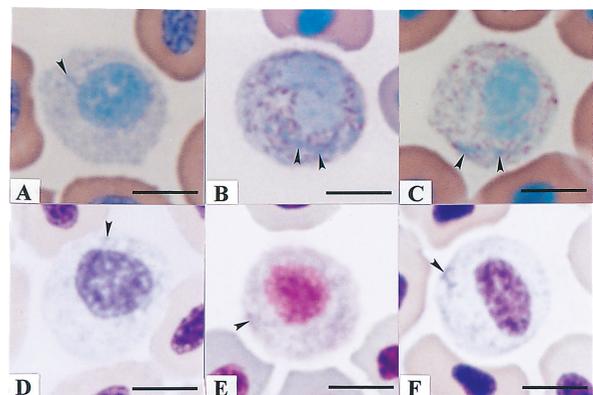


Fig. 1. Neutrophils of Carangid fishes. A & D, jack-mackerel; B & E, greater amberjack; C & F, yellowtail amberjack. Smears were stained with May-Grünwald (A-C; PN=2) or Giemsa (D-F; PN=13). PN, preparation number (See Table 1). Arrowheads show Y-body. Bars = 5 μm .

ンパチでは検出されず、マアジおよびヒラマサで認められたが、マアジでは長径0.3 μm 以下の円形または卵円形の陽性顆粒として多数観察されたのに対して (Fig. 2D)、ヒラマサでは長径0.2 μm 以下の円形または卵円形の陽性顆粒として少数認められた (Fig. 4E)。POはいずれの魚種においても円形または卵円形の陽性顆粒 (マアジ, 長径

1.0 μm 以下; カンパチとヒラマサ, 長径0.5 μm 以下) として認められ, 細胞質に充満していた (Figs. 2E, 3D, 4F)。いずれの魚種においても核にはPO陽性反応は検出されなかった。

円形または卵円形のperiodic acid Schiff反応 (PAS) 陽性顆粒が, いずれの魚種にも多数観察され, 細胞質基質も

Table 2. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of α and γ granules in the neutrophils of jack-mackerel (*Trachurus japonicus*, *Tj*), greater amberjack (*Seriola dumerili*, *Sd*) and yellowtail amberjack (*S. lalandi*, *Sl*)

PN	Number of granules observed in preparation						PN	Number of granules observed in preparation					
	<i>Tj</i>		<i>Sd</i>		<i>Sl</i>			<i>Tj</i>		<i>Sd</i>		<i>Sl</i>	
	α	γ	α	γ	α	γ		α	γ	α	γ	α	γ
1	-	++	++	-	++	-	42	-	++	-	++	-	++
2	++	++	++	-	++	-	43	-	++	-	++	-	++
3	-	++	++	-	++	-	44	-	++	-	++	-	++
4	-	++	++	-	++	-	45	-	++	-	++	-	++
5	-	++	++	-	++	-	46	-	++	+	++	++	++
6	++	-	++	-	++	-	47	-	++	+	++	+	++
7	+	-	++	-	++	-	48	-	++	+	++	++	++
8	+	++	++	-	++	-	49	-	++	+	++	++	++
9	+	++	++	-	++	-	50	+	++	+	++	++	++
10	-	++	-	++	-	++	51	-	++	+	++	++	++
11	-	++	-	++	-	++	52	++	++	++	++	++	++
12	-	++	-	++	-	++	53	-	++	++	++	++	++
13	-	++	-	++	-	++	54	-	++	+	++	++	++
14	-	++	-	++	-	++	55	-	++	+	++	++	++
15	-	++	-	++	-	++	56	-	++	++	++	++	++
16	-	++	-	++	-	++	57	-	++	++	++	++	++
17	-	++	-	++	-	++	58	-	++	+	++	+	++
18	-	++	-	++	-	++	59	-	++	+	++	-	++
19	-	++	-	++	-	++	60	-	++	+	++	++	++
20	-	++	-	++	-	++	61	-	++	+	++	+	++
21	-	++	-	++	-	++	62	-	++	+	++	-	++
22	-	++	-	++	-	++	63	-	++	+	++	-	++
23	-	++	-	++	-	++	64	-	++	+	++	+	++
24	-	++	-	++	-	++	65	-	++	+	++	+	++
25	-	++	-	++	-	++	66	+	++	+	++	++	++
26	-	++	-	++	-	++	67	-	++	+	++	++	++
27	-	++	-	++	-	++	68	++	++	++	++	++	++
28	-	++	-	++	-	++	69	+	++	+	++	++	++
29	-	++	-	++	-	++	70	-	++	++	++	+	++
30	-	++	-	++	-	++	71	-	++	+	++	+	++
31	-	++	-	++	-	++	72	-	++	++	++	++	++
32	-	++	-	++	-	++	73	-	++	++	++	++	++
33	-	++	-	++	-	++	74	-	++	-	++	-	++
34	-	++	-	++	-	++	75	-	++	-	++	-	++
35	-	++	-	++	-	++	76	-	++	++	++	+	++
36	-	++	-	++	-	++	77	-	++	+	++	+	++
37	-	++	-	++	-	++	78	-	++	-	++	-	++
38	-	++	-	++	-	++	79	-	++	-	++	-	++
39	-	++	-	++	-	++	80	-	++	++	++	+	++
40	-	++	-	++	-	++	81	-	++	+	++	+	++
41	-	++	-	++	-	++							

++, many; +, some; -, not observed.

PN, preparation number (See Table 1).

PAS弱陽性であった (Figs. 2F, 3E, 4G)。陽性顆粒の長径は、アマジで0.5 μm 以下であり、カンパチとヒラマサでは0.3 μm 以下であった。いずれのPAS陽性部位も α -アマミラーゼ処理によって完全に消失した。いずれの魚種においてもアルシアンブルー染色では陽性部位は観察されなかった。トルイジンブルー (TB) 染色によって、いずれの魚種の好中球も核が青染され、種々の形態 (円形、卵円形、桿形、コマ形、三日月形、紐状) を示す青色の陽性顆粒

が少数観察された (Figs. 2G, 3F, 4H)。また、マアジでは円形または卵円形のTB陽性顆粒 (長径0.3 μm 以下) が多数認められた (Fig. 2G)。オイルレッドOおよびズダンⅢ染色ではいずれの魚種においても陽性部位は観察されなかった。いずれの魚種においても、ズダンブラックB (SBB) 染色によって円形または卵円形の陽性顆粒が観察されたが、マアジとヒラマサでは長径0.3 μm 以下であったのに対して、カンパチでは長径0.5 μm 以下であった。また、マアジとカンパチのSBB陽性顆粒は多数認められたが、ヒラマサでは少数観察された (Figs. 2H, 3G, 4I)。

考 察

近年、MRSVによって各種魚類の好中球顆粒の染色性が調べられており、魚類の好中球顆粒の種類は、魚種によって多様であることが報告されている¹⁻²⁴⁾。魚類を含む脊椎動物の原始の系統とされているスタウナギ類に属するスタウナギ *Eptatretus burgeri* の好中球には γ 顆粒のみが観察されており¹⁵⁾、肉鰭綱肺魚亜綱のアフリカハイギョ *Protopterus annectens* では染色条件の違いによってエオシン好性、正調メチレンブルー好性または異調アズール好性を示す汎染色性顆粒のみが認められている¹⁸⁾。また、真骨魚類とともに糸鰭綱に含まれる腕鰭亜綱ポリプテルス目の *Polypterus endlicheri* では、好中球に2種類の α 顆粒と γ 顆粒が存在する¹⁴⁾。一方、真骨魚類は好中球顆粒の種類数の違いから4群に大別される。すなわち、 α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒の3種類の顆粒が好中球に観察されるI群 (アジアアロワナ *Scleropages formosus*、ウナギ *Anguilla japonica*、コイ *Cyprinus carpio*、ナイルティラピア *Oreochromis niloticus*、イサキ *Parapristipoma trilineatum*、ブリ)^{1-5, 13, 16)}、 α 顆粒と β 顆粒が認められるII群 (トラフグ *Takifugu rubripes*、マダイ *Pagrus major*)^{10, 17)}、 β 顆粒のみを有するIII群 (アユ *Plecoglossus altivelis*、ノーザンパイク *Exos lucius*、ボラ *Mugil cephalus*、メナダ *Chelon haematocheilus*、オオクチバス *Micropterus salmoides*、ブルーギル *Lepomis macrochirus*、ズズキ *Lateolabrax japonicus*、ヒラスズキ *L. latus*、タイリクスズキ *L. sp.*、メジナ *Girella punctata*、マハタ *Epinephelus septemfasciatus*、ヒラメ *Paralichthys olivaceus*、マコガレイ *Pleuronectes yokohamae*、マツカワ *Verasper moseri*)^{6-9, 11, 12, 19-21, 23)}、 β 顆粒と γ 顆粒が存在するIV群 (アカメ *Lates japonicus*) に分類されている²²⁾。

魚類の好中球の α 顆粒は2種類に大別されており²⁴⁾、MG

Table 3. Summary of reactions of neutrophil to cytochemical tests in jack-mackerel *Trachurus japonicus*, greater amberjack *Seriola dumerili* and yellowtail amberjack *S. lalandi*

Test ¹	Fish and positive site (shape and number) ²		
	<i>T. japonicus</i>	<i>S. dumerili</i>	<i>S. lalandi</i>
PAS	G (r or o, m, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$); H	G (r or o, m, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$); H	G (r or o, m, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$); H
PAS- α A	—	—	—
AB pH1.0	—	—	—
AB pH2.5	—	—	—
TB	G (r or o, m, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, pr γ ; am, af, eq Y); N G (r or o, m, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, pr α and γ)	G (am, af, eq Y); N G (r or o, m, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$, eq β)	G (am, af, eq Y); N G (r or o, s, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$)
SBB	—	—	—
SIII	—	—	—
ORO	—	—	—
AIP	—	G (r or o, s, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$) G (r or o, s, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$)	G (r or o, m, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$, eq β) G (r or o, s, $\phi \leq 1.0 \mu\text{m}$)
AcP	—	—	—
β -Glu	G (r or o, m, $\phi \leq 0.2 \mu\text{m}$)	—	—
α -NAE	G (r or o, m, $\phi \leq 0.2 \mu\text{m}$)	—	—
α -NBE	G (r or o, m, $\phi \leq 0.2 \mu\text{m}$)	—	—
NASDCAE	G (r or o, m, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, pr α and γ)	—	—
PO	G (r or o, m, $\phi \leq 1.0 \mu\text{m}$, eq β)	G (r or o, m, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$, eq β)	G (r or o, m, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$, eq β)

¹PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after α -amylase digestion; AB, alcian blue; TB, toluidine blue; SBB, sudan black B; SIII, sudan III; ORO, oil red O; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β -Glu, β -glucuronidase; α -NAE, α -naphthyl acetate esterase; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase.

²—, non detection; G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; Y, Yasumoto body; α , eosinophilic granule; β , chromophobic granule; γ , basophilic granule; r, round; o, oval; am, amorphous; m, many; s, some; af, a few; eq, equivalent to; pr, probably eq.

染色で染まるが, Giemsa染色では染色されない α 1顆粒と, MG染色でもGiemsa染色でも染まる α 2顆粒に分類されている (Table 4)²⁴⁾。また, γ 顆粒はMG染色にもGiemsa染色にも染まる γ 1顆粒と, MG染色では染まらずGiemsa染色で染まる γ 2顆粒に分類されている (Table 5)²⁴⁾。ヌタウナギの γ 顆粒は γ 1顆粒であり²⁴⁾, *P. endlicheri*の好中球には α 1顆粒と α 2顆粒の両方が存在し, γ 顆粒は γ 2顆粒に同定される²⁴⁾。また, 真骨魚類のI群は α 2顆粒と γ 1顆粒を有するI-A群 (アジアアロワナ, ナイルティラピア) と, α 2顆粒と γ 2顆粒を有するI-B群 (ウナギ, コイ, イサキ, ブリ) に細分される²⁴⁾。さらに, 真

骨魚類のII群では α 1顆粒を有するII-B群 (マダイ) と α 2顆粒を持つII-A群 (トラフグ) に細分され²⁴⁾, IV群のアカメの γ 顆粒は γ 1顆粒である²⁴⁾。マアジ, カンパチおよびヒラマサの好中球の α 顆粒は, 魚種によって条件は異なるものの, いずれの魚種においてもMG染色によって染色されたが, Giemsa染色では染色されず, MGG染色では観察される α 顆粒の数が減少した。これらの染色性から, マアジ, カンパチおよびヒラマサの α 顆粒は α 2顆粒に同定される。カンパチおよびヒラマサの γ 顆粒はMG染色標本には観察されなかった。しかし, マアジの γ 顆粒は, 限られた条件ではあるもののMG染色標本に認められ

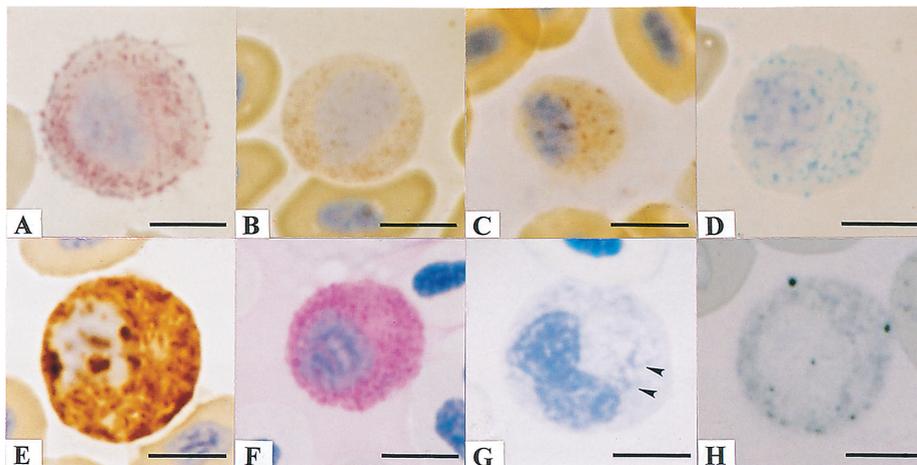


Fig. 2. Cytochemistry of jack mackerel neutrophil. A, acid phosphatase; B, α -naphthyl acetate esterase; C, α -naphthyl butyrate esterase; D, naphthol AS-D chloroacetate esterase; E, peroxidase; F, periodic acid Schiff reaction; G, toluidine blue in distilled water; H, sudan black B. Arrowheads show Y-body. Bars = 5 μ m.

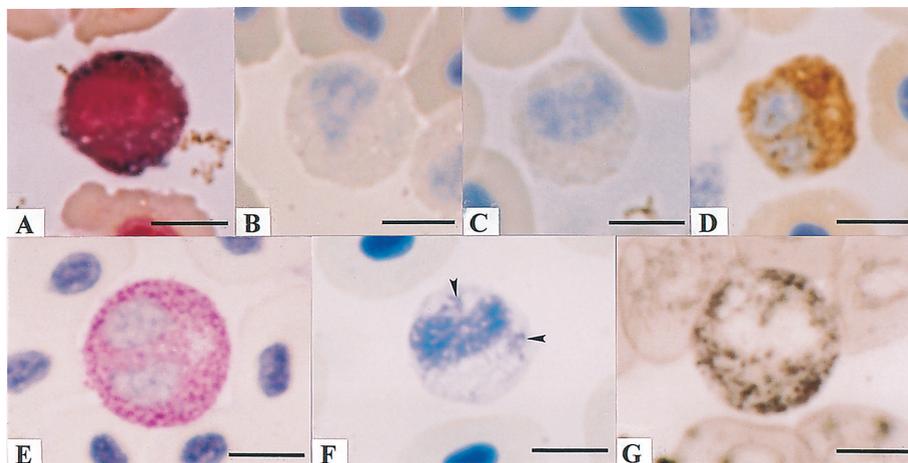


Fig. 3. Cytochemistry of greater amberjack neutrophil. A, alkaline phosphatase; B, acid phosphatase; C, α -naphthyl acetate esterase; D, peroxidase; E, periodic acid Schiff reaction; F, toluidine blue in distilled water; G, sudan black B. Arrowheads show Y-body. Bars = 5 μ m.

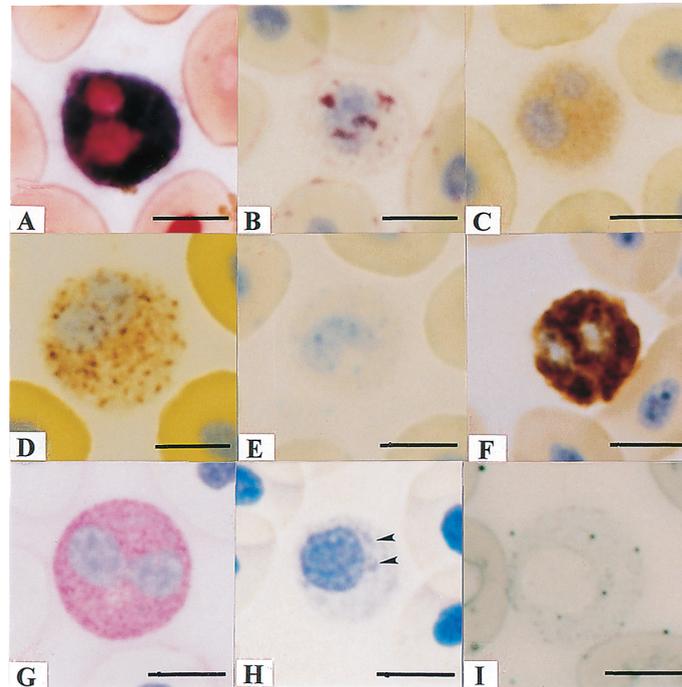


Fig. 4. Cytochemistry of yellowtail amberjack neutrophil. A, alkaline phosphatase; B, acid phosphatase; C, α -naphthyl acetate esterase; D, α -naphthyl butyrate esterase; E, naphthol AS-D chloroacetate esterase; F, peroxidase; G, periodic acid Schiff reaction; H, toluidine blue in distilled water; I, sudan black B. Arrowheads show Y-body. Bars = 5 μ m.

た。また、いずれの魚種においてもGiemsa染色によって γ 顆粒が観察された。以上のことから、マアジの γ 顆粒は γ 1顆粒に、カンパチおよびヒラマサの γ 顆粒は γ 2顆粒に同定される。したがって、マアジはI-A群に、カンパチとヒラマサはブリと同様にI-B群に分類される。

カンパチとヒラマサの3種類の顆粒は、両魚種間で形状および大きさが類似しており、両魚種の β 顆粒と γ 顆粒は同属のブリのそれらと同様の形態を示した (Table 6)。しかし、ブリの α 顆粒が長径0.5~1.0 μ m、短径約0.2 μ mの桿形であるのに対して¹⁾、カンパチとヒラマサの α 顆粒は長径0.2 μ m以下の円形または卵円形あるいは桿形 (長径0.5 μ m以下、短径約0.2 μ m)であった。マアジの γ 顆粒はブリ、カンパチおよびヒラマサと同様の形態であったが、マアジの β 顆粒は長径1.0 μ m以下であり、ブリ、カンパチおよびヒラマサの β 顆粒よりも大型であった。また、マアジの α 顆粒は長径0.3 μ m以下の円形または卵円形であり、 γ 顆粒と同じ形態を示した。さらに、マアジにはブリ、カンパチおよびヒラマサで認められる桿形の α 顆粒は観察されなかった。

細胞化学的特性からマアジ、カンパチおよびヒラマサの

好中球の各顆粒およびY小体の成分を次のように推定した (Tables 3, 7)。マアジのPAS陽性顆粒は α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒とは大きさが異なる。一方、カンパチとヒラマサのPAS陽性顆粒は γ 顆粒と形状、大きさおよび数が類似する。しかし、いずれの魚種においてもPAS陽性顆粒は α -アミラーゼにより完全に消化されることから、グリコーゲンを主成分とする構造物であると考えられ、 α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒とは異なると思われる。いずれの魚種においても、TB染色によって種々の形態を示す青色の粗大な陽性部位が観察された。この陽性部位は形態学的特徴からY小体に相当すると思われる。また、マアジの好中球には微細なTB陽性顆粒が観察され、その形態学的特徴は α 顆粒と γ 顆粒に類似する。しかし、TB陽性顆粒の数は α 顆粒と γ 顆粒を足した数よりも少ないことから、 α 顆粒と γ 顆粒のどちらかがTB陽性であると考えられる。いずれの魚種においても好中球にSBB陽性顆粒が観察されたが、マアジのSBB陽性顆粒は形態学的特徴が α 顆粒と γ 顆粒に類似しており、陽性顆粒の数は α 顆粒と γ 顆粒を足した数に相当することから、 α 顆粒と γ 顆粒がSBB陽性であると思われる。カンパチのSBB陽性顆粒は形態学的特徴

と数からβ顆粒に相当すると考えられるが, ヒラマサのSBB陽性顆粒は形態学的特徴がγ顆粒に類似するものの, 数はγ顆粒よりも少ないことから, 存在部位は確定できない。カンパチとヒラマサのAIP陽性顆粒はともに形態学的

特徴がβ顆粒に類似し, ヒラマサでは数もβ顆粒の数に類似していることから, ヒラマサのAIP陽性顆粒はβ顆粒に相当すると思われる。しかし, カンパチのAIP陽性顆粒の数はβ顆粒よりも少ないことから, カンパチのAIP陽性顆

Table 4. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of α granule in fish neutrophils

PN	Fish, type and number of α granules observed in each staining preparation ¹⁻³												
	<i>Pe</i>		<i>Sf</i>	<i>Aj</i>	<i>Cc</i>	<i>On</i>	<i>Pt</i>	<i>Tj</i>	<i>Sq</i>	<i>Sd</i>	<i>Sl</i>	<i>Pm</i>	<i>Tr</i>
	α1	α2	α2	α2	α2	α2	α2	α2	α2	α2	α2	α1	α2
1	++	-	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++	-
2	++	-	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
3	++	-	++	++	++	-	++	-	++	++	++	++	++
4	++	-	++	++	++	-	++	-	++	++	++	++	+
5	++	-	++	++	-	-	-	-	++	++	++	++	+
6	++	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
7	++	-	-	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++
8	++	+	-	+	+	-	-	+	+	++	++	++	+
9	++	+	-	+	-	-	-	+	+	++	++	++	+
10	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
11	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
12	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
13	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
14	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
18	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
20	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
21	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
22	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
24	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
25	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
26	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
28	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
29	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
40	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
41	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-

¹*Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁴⁾; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹³⁾; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)¹⁶⁾; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)²⁴⁾; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)²⁴⁾; *Pt*, *Parapristipoma trilineatum* (striped grunt)²⁴⁾; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹⁾; *Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report); *Pm*, *Pagrus major* (red sea-bream)¹⁷⁾; *Tr*, *Takifugu rubripes* (tiger puffer)¹⁰⁾.

²α1, α granule type 1; α2, α granule type 2.

³++, many; +, some; -, not observed.

PN, preparation number (See Table 1).

粒の存在部位は確定できない。マアジおよびヒラマサのAcP陽性顆粒は α 顆粒, β 顆粒および γ 顆粒とは大きさが異なる。また, カンパチのAcP陽性顆粒は γ 顆粒とは大きさが類似するが, 数が γ 顆粒よりも少ない。いずれの魚種

においても α -NAE陽性顆粒が観察されたが, マアジとヒラマサの α -NAE陽性顆粒はこれら魚種の α 顆粒, β 顆粒および γ 顆粒とは大きさが異なる。一方, カンパチの α -NAE陽性顆粒は形態学的特徴および数の類似性から γ 顆

Table 4. Cont.

PN	Fish, type and number of α granules observed in each staining preparation ¹⁻³												
	<i>Pe</i>		<i>Sf</i>	<i>Aj</i>	<i>Cc</i>	<i>On</i>	<i>Pt</i>	<i>Tj</i>	<i>Sq</i>	<i>Sd</i>	<i>Sl</i>	<i>Pm</i>	<i>Tr</i>
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 1$	$\alpha 2$									
42	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
43	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
44	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
45	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
46	++	-	+	+	++	-	-	-	+	+	++	++	+
47	++	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	++	+
48	++	-	++	++	++	-	+	-	++	+	++	++	+
49	++	-	++	+	++	-	-	-	+	+	++	++	+
50	++	-	++	++	++	+	-	+	+	+	++	++	++
51	++	-	+	++	+	-	-	-	+	+	++	++	+
52	++	-	++	++	++	+	+	+	++	++	++	++	++
53	++	-	+	++	++	-	-	-	+	++	++	++	++
54	++	-	-	++	+	-	-	-	+	+	++	++	++
55	++	-	-	++	-	-	-	-	-	+	++	++	+
56	++	-	+	++	+	-	+	-	+	++	++	++	++
57	++	-	-	++	+	-	-	-	+	++	++	++	++
58	++	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	++	++
59	++	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	++	+
60	++	-	-	++	+	-	+	-	+	+	++	++	++
61	++	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	++	+
62	++	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	++	+
63	++	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	++	-
64	++	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	++	+
65	++	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	++	-
66	++	-	-	+	++	+	-	+	-	+	++	++	-
67	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	++	++	-
68	+	-	-	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++
69	+	-	-	+	++	-	-	+	+	+	++	++	++
70	+	-	-	+	+	-	-	-	-	++	+	++	-
71	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	++	-
72	++	-	-	++	+	-	+	-	++	++	++	++	++
73	++	-	-	++	+	-	-	-	+	++	++	++	++
74	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-
75	++	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-
76	++	+	-	+	-	-	-	-	+	++	+	++	-
77	++	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	++	-
78	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-
79	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-
80	-	+	-	+	-	-	-	-	+	++	+	++	-
81	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	++	-

¹*Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁴⁾; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹³⁾; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)¹⁶⁾; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)²⁴⁾; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)²⁴⁾; *Pt*, *Parapristipoma trilineatum* (striped grunt)²⁴⁾; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹⁾; *Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report); *Pm*, *Pagrus major* (red sea-bream)¹⁷⁾; *Tr*, *Takifugu rubripes* (tiger puffer)¹⁰⁾.

² $\alpha 1$, α granule type 1; $\alpha 2$, α granule type 2.

³++, many; +, some; -, not observed.

PN, preparation number (See Table 1).

粒に相当すると考えられる。 α -NBE陽性顆粒がマアジとヒラマサの好中球に観察され、前者では大きさが α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒とは異なることから、存在部位は確定できない。しかし、後者では形態学的特徴および数の類似

性から γ 顆粒に相当すると考えられる。NASDCAE陽性顆粒も α -NBE陽性顆粒と同様にマアジとヒラマサの好中球に観察された。マアジのNASDCAE陽性顆粒は形態学的特徴が α 顆粒と γ 顆粒に類似しており、陽性顆粒の数は

Table 5. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of γ granule in fish neutrophils

PN	Fish, type and number of γ granules observed in each staining preparation ¹⁻³											
	<i>Eb</i>	<i>Pe</i>	<i>Sf</i>	<i>Aj</i>	<i>Cc</i>	<i>Laj</i>	<i>On</i>	<i>Pt</i>	<i>Tj</i>	<i>Sq</i>	<i>Sd</i>	<i>Sl</i>
	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 2$	$\gamma 2$
1	++	-	-	-	-	++	-	-	++	-	-	-
2	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
3	++	-	-	-	-	++	+	-	++	-	-	-
4	++	-	-	-	-	++	++	-	++	-	-	-
5	++	-	++	-	-	++	++	-	++	-	-	-
6	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	++	++	-	++	-	-	-
9	-	-	+	-	-	++	++	-	++	-	-	-
10	++	+	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++
11	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
12	++	-	+	+	+	++	+	+	++	++	++	++
13	++	+	+	++	++	++	+	+	++	++	++	++
14	++	+	++	+	+	++	+	-	++	++	++	++
15	++	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++
16	++	-	+	+	+	++	+	-	++	++	++	++
17	++	+	+	+	++	++	+	-	++	++	++	++
18	++	+	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++
19	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++
20	++	-	+	+	+	++	+	-	++	++	++	++
21	++	+	++	+	++	++	+	-	++	++	++	++
22	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
23	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
24	++	-	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
25	++	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
26	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
27	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
28	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
29	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
30	++	+	++	++	++	++	-	-	++	++	++	++
31	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++
32	++	-	++	+	+	++	-	-	++	++	++	++
33	++	+	++	+	++	++	+	-	++	++	++	++
34	++	+	++	++	++	++	-	-	++	++	++	++
35	++	+	++	++	++	++	+	+	++	++	++	++
36	++	-	++	+	+	++	-	-	++	++	++	++
37	++	+	++	+	++	++	-	-	++	++	++	++
38	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
39	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
40	++	-	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++
41	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

¹*Eb*, *Eptatretus burgeri* (hagfish)¹⁵; *Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁴; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹³; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)¹⁶; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)²⁴; *Laj*, *Lates japonicus* (Japanese lates)²²; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)²⁴; *Pt*, *Parapristipoma trilineatum* (striped grunt)²⁴; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹¹; *Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report).

² $\gamma 1$, γ granule type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2.

³++, many; +, some; -, not observed.

PN, preparation number (See Table 1).

α 顆粒と γ 顆粒を足した数に相当することから、 α 顆粒と γ 顆粒がNASDCAE陽性であると思われる。一方、ヒラマサのNASDCAE陽性顆粒は形態学的特徴および数が α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒のいずれとも異なる。いずれの魚

種においてもPO陽性顆粒は円形または卵円形で細胞質に充満していること、大きさが β 顆粒に類似することから、PO活性は β 顆粒に存在すると考えられる。

これまでに、各種魚類の好中球の細胞化学的特徴が調べ

Table 5. Cont.

PN	Fish, type and number of γ granules observed in each staining preparation ¹⁻³											
	<i>Eb</i>	<i>Pe</i>	<i>Sf</i>	<i>Aj</i>	<i>Cc</i>	<i>Laj</i>	<i>On</i>	<i>Pt</i>	<i>Tj</i>	<i>Sq</i>	<i>Sd</i>	<i>Sl</i>
	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 2$	$\gamma 2$
42	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
43	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
44	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
45	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
46	++	-	+	++	-	++	++	+	++	++	++	++
47	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
48	++	-	+	+	-	++	+	+	++	++	++	++
49	++	-	+	+	-	++	+	+	++	++	++	++
50	++	-	+	+	-	++	-	-	++	++	++	++
51	++	-	++	+	++	++	-	+	++	++	++	++
52	++	-	+	-	-	++	-	-	++	++	++	++
53	++	-	++	-	-	++	-	-	++	++	++	++
54	++	-	+	+	-	++	++	-	++	++	++	++
55	++	-	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++
56	++	-	+	+	-	++	+	-	++	++	++	++
57	++	-	++	+	+	++	+	-	++	++	++	++
58	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
59	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
60	++	-	++	++	+	++	+	++	++	++	++	++
61	++	-	++	++	+	++	+	++	++	++	++	++
62	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
63	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
64	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
65	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
66	++	-	+	+	-	++	-	-	++	++	++	++
67	++	-	+	+	++	++	-	+	++	++	++	++
68	++	-	+	-	-	++	-	-	++	++	++	++
69	++	-	+	-	-	++	-	-	++	++	++	++
70	++	-	++	+	+	++	++	-	++	++	++	++
71	++	-	++	+	++	++	++	+	++	++	++	++
72	++	-	++	+	-	++	+	-	++	++	++	++
73	++	-	++	+	+	++	+	-	++	++	++	++
74	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
75	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
76	++	-	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++
77	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
78	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
79	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
80	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
81	++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

¹*Eb*, *Eptatretus burgeri* (hagfish)¹⁵; *Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁴; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹³; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)¹⁶; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)²⁴; *Laj*, *Lates japonicus* (Japanese lates)²²; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)²⁴; *Pt*, *Parapristipoma trilineatum* (striped grunt)²⁴; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹; *Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report).

² $\gamma 1$, γ granule type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2.

³++, many; +, some; -, not observed.

PN, preparation number (See Table 1).

られているが (Table 7), 陽性反応の存在部位が推定されているものは少ない。しかし, β 顆粒を有する魚種では, 本顆粒がPO陽性であると考えられている^{1, 7-13, 16, 17, 19-24})。マアジ, カンパチおよびヒラマサにおいても β 顆粒がPO陽

性であると推測された。PO活性の局在部位の違いから, 真骨魚類のⅢ群はⅢ-A群 (ノーザンパイク, ブルーギル, スズキ, ヒラスズキ, メジナ, ヒラメ, マコガレイ, マツカワ) とⅢ-B群 (アユ, ボラ, メナダ, マハタ) に細分され

Table 6. Comparison of morphological characteristics (shape and diameter (μm)) of neutrophil granules in various fish species

Fish ¹	Type of cytoplasmic granule ^{2,3}					
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	$\gamma 1$	$\gamma 2$	P
<i>Eb</i>	—	—	—	r or o (≤ 0.5)	—	—
<i>Pa</i>	—	—	—	—	—	r or o (0.4-0.5), rod (1.0-1.5) [*]
<i>Pe</i>	r (0.3), rod (0.8) [*]	r (0.3)	—	—	r or o (≤ 0.5)	—
<i>Sf</i>	—	rod or s (1.0) [*]	r or o (≤ 0.5)	r or o (≤ 0.3)	—	—
<i>Aj</i>	—	r or o (0.3), rod (≤ 1.0) [*]	r or o (≤ 0.6)	—	r or o (≤ 0.3)	—
<i>Cc</i>	—	r (≤ 0.3)	r or o (0.5)	—	r or o (≤ 0.4)	—
<i>Pla</i>	—	—	r or o (≤ 0.5)	—	—	—
<i>El</i>	—	—	r or o (≤ 0.5)	—	—	—
<i>Mc</i>	—	—	r or o (≤ 0.8)	—	—	—
<i>Ch</i>	—	—	r or o (≤ 0.8)	—	—	—
<i>Laj</i>	—	—	r or o (≤ 0.5)	r or o (≤ 0.3)	—	—
<i>Ms, Lm</i>	—	—	r or o (0.5-1.0)	—	—	—
<i>Lj, Ll, Lsp</i>	—	—	r or o (≤ 1.0)	—	—	—
<i>Es</i>	—	—	r or o (≤ 1.0)	—	—	—
<i>On</i>	—	r (≤ 0.3)	r or o (0.5-1.0)	r or o (≤ 0.3)	—	—
<i>Pt</i>	—	rod (0.5-1.0) [*]	r or o (0.5-1.0)	—	r or o (≤ 0.3)	—
<i>Tj</i>	—	r or o (≤ 0.3)	r or o (≤ 1.0)	r or o (≤ 0.3)	—	—
<i>Sq</i>	—	rod (0.5-1.0) [*]	r or o (≤ 0.5)	—	r or o (≤ 0.3)	—
<i>Sd</i>	—	r or o (≤ 0.2), rod (≤ 0.5) [*]	r or o (≤ 0.5)	—	r or o (≤ 0.3)	—
<i>Sl</i>	—	r or o (≤ 0.2), rod (≤ 0.5) [*]	r or o (≤ 0.5)	—	r or o (≤ 0.3)	—
<i>Gp</i>	—	—	r or o (0.5-1.1)	—	—	—
<i>Pm</i>	r or o (≤ 0.4)	—	r or o (≤ 0.5)	—	—	—
<i>Py</i>	—	—	r or o (≤ 0.5)	—	—	—
<i>Vm</i>	—	—	r or o (≤ 0.5)	—	—	—
<i>Po</i>	—	—	r or o (0.5-1.0)	—	—	—
<i>Tr</i>	—	r or o (0.5), rod (≤ 1.5) [*]	r or o (≤ 1.0)	—	—	—

¹*Eb*, *Eptatretus burgeri* (hagfish)¹⁵; *Pa*, *Protopterus annectens* (African lungfish)¹⁸; *Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁴; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹³; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)⁶; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)^{2,3}; *Pla*, *Plecoglossus altivelis* (ayu)⁹; *El*, *Exos lucius* (northern pike)¹²; *Mc*, *Mugil cephalus* (gray mullet)²⁰; *Ch*, *Chelon haematocheilus* (redlip mullet)²¹; *Laj*, *Lates japonicus* (Japanese lates)²²; *Ms*, *Micropterus salmoides* (large mouth bass)⁷; *Lm*, *Lepomis macrochirus* (bluegill)⁷; *Lj*, *Lateolabrax japonicus* (Japanese seabass)¹¹; *Ll*, *Lateolabrax latus* (seabass)¹¹; *Lsp*, *Lateolabrax* sp. (seabass, TA-I-RI-KU-SU-ZU-KI (Japanese name))¹¹; *Es*, *Epinephelus septemfasciatus* (sevenband grouper)¹⁹; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)⁴; *Pt*, *Parapristipoma trilineatum* (striped grunt)⁵; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹; *Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report); *Gp*, *Girella punctata* (rudderfish)⁶; *Pm*, *Pagrus major* (red sea-bream)¹⁷; *Py*, *Pleuronectes yokohamae* (marbled sole)²³; *Vm*, *Verasper moseri* (barfin flounder)²³; *Po*, *Paralichthys olivaceus* (Japanese flounder)⁸; *Tr*, *Takifugu rubripes* (tiger puffer)¹⁰.

² $\alpha 1$, α granule type 1; $\alpha 2$, α granule type 2; β , β granule; $\gamma 1$, γ granule type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2; P, panchromatophilic granule; —, not observed; r, round; o, oval; s, spindle.

³Diameter in length.

Table 7. Comparison of cytochemical characteristics of neutrophils from various fish species

Test ¹	Fish and type of cytoplasmic granule ²								
	<i>Eb</i>	<i>Pa</i>	<i>Pe</i>	<i>Sf</i>	<i>Aj</i>	<i>Cc</i>	<i>Pla</i>	<i>El</i>	<i>Mc</i>
	$\gamma 1$	P	$\alpha 1, \alpha 2, \gamma 2$	$\alpha 2, \beta, \gamma 1$	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$	β	β	β
PAS	+(H, G)	+(P)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)
PAS- α A	—	+(P)	—	—	—	—	—	—	\pm (H)
AB pH1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AB pH2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
TB	+(N, Y)	+(N, P)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(H, N, Y)
SBB	—	—	+($\alpha 1$)	+(G)	+(G)	—	—	+(G)	+(H, G)
SIII	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ORO	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AIP	—	—	+($\alpha 1$)	—	—	—	—	—	—
AcP	—	+(P)	+($\alpha 1$)	—	+(γ)	+(G)	—	+(β)	+(G)
β -Glu	—	—	+($\alpha 1$)	—	+(G)	+(G)	—	+(G)	+(G)
α -NAE	—	+(P)	+($\alpha 1$)	+(G)	+(γ)	—	—	+(G)	+(H, G)
α -NBE	+(γ)	+(P)	+($\alpha 1$)	+(G)	+(γ)	+(G)	—	+(G)	—
NASDCAE	—	+(P)	+($\alpha 1$)	+(γ)	+(G)	+(G)	—	+(G)	+(G)
PO	—	—	—	+(β)	+(β)	+(β)	+(N, β)	+(β)	+(N, β)

¹PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after α -amylase digestion; AB, alcian blue; TB, toluidine blue; SBB, sudan black B; SIII, sudan III; ORO, oil red O; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β -Glu, β -glucuronidase; α -NAE, α -naphthyl acetate esterase; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase.
²*Eb*, *Epiplatys burgeri* (bagfish)¹⁹; *Pa*, *Protopterus annectens* (African lungfish)¹⁹; *Pe*, *Polypterus endlicheri*¹⁹; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)¹⁹; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)¹⁹; *Cc*, *Cyprinus carpio* (common carp)¹⁹; *Pla*, *Plecoglossus altivelis* (ayu)¹⁹; *El*, *Exocoetis* (northern pike)¹⁹; *Mc*, *Mugil cephalus* (gray mullet)¹⁹; $\alpha 1$, α granule type 1; $\alpha 2$, α granule type 2; β , β granule; $\gamma 1$, γ granule type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2; P, P granule; Y, Yasumoto body; H, hyaloplasm; G, granular; N, nucleus; —, non detection; \pm , weakly positive; +, positive.

Table 7. Cont. 1

Test ¹	Fish and type of cytoplasmic granule ²								
	<i>Ch</i>	<i>Laj</i>	<i>Lm</i>	<i>Lj, Ll</i>	<i>Es</i>	<i>On</i>	<i>Pt</i>	<i>Tj</i>	<i>Sq</i>
	β	$\beta, \gamma 1$	β	β	β	$\alpha 2, \beta, \gamma 1$	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$	$\alpha 2, \beta, \gamma 1$	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$
PAS	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)
PAS- α A	\pm (H)	—	—	—	+(H)	—	—	—	—
AB pH1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AB pH2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
TB	+(H, N, Y)	+(N, γ , Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(H, N, Y)	+(N, γ , Y)	+(N, Y)	+(N, G, Y)	+(N, Y)
SBB	+(H, G)	\pm (H, G)	+(G)	+(G)	+(H, G)	+(G)	—	+(G)	+(β)
SIII	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ORO	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AIP	—	+(H, γ)	—	—	+(H, G)	—	—	—	+(β)
AcP	+(G)	+(G)	—	+(G)	+(G)	+(α)	+(G)	+(G)	+(G)
β -Glu	+(G)	+(G)	—	—	+(G)	+(G)	+(G)	—	—
α -NAE	+(H, G)	+(G)	—	+(G)	+(H, G)	+(G)	—	+(G)	+(γ)
α -NBE	+(H, G)	+(G)	—	—	+(H, G)	+(G)	—	+(G)	—
NASDCAE	+(G)	+(G)	—	+(G)	+(G)	—	—	+(G)	—
PO	+(N, β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(N, β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)

¹PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after α -amylase digestion; AB, alcian blue; TB, toluidine blue; SBB, sudan black B; SIII, sudan III; ORO, oil red O; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β -Glu, β -glucuronidase; α -NAE, α -naphthyl acetate esterase; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase.
²*Ch*, *Chelon haematochelus* (redlip mullet)²¹; *Laj*, *Lates japonicus* (Japanese lates)²¹; *Lm*, *Lepomis macrochirus* (bluegill)²¹; *Lj*, *Lateolabrax japonicus* (Japanese seabass)¹⁹; *Ll*, *Lateolabrax latipes* (seabass)¹⁹; *Es*, *Epinephelus septemfasciatus* (sevenband grouper)¹⁹; *On*, *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia)¹⁹; *Pt*, *Parapristigoma trilineatum* (striped grunt)¹⁹; *Tj*, *Trachurus japonicus* (jack-mackerel, present report); *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)¹⁹; $\alpha 2$, α granule type 2; β , β granule; $\gamma 1$, γ granule type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2; Y, Yasumoto body; H, hyaloplasm; G, granular; N, nucleus; —, non detection; \pm , weakly positive; +, positive.

Table 7. Cont. 2

Test ¹	Fish and type of cytoplasmic granule ²							
	<i>Sd</i>	<i>Sl</i>	<i>Gp</i>	<i>Pm</i>	<i>Py</i>	<i>Vm</i>	<i>Po</i>	<i>Tr</i>
	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$	$\alpha 2, \beta, \gamma 2$	β	$\alpha 1, \beta$	β	β	β	$\alpha 2, \beta$
PAS	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)
PAS- α A	—	—	—	—	—	—	—	—
AB pH1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
AB pH2.5	—	—	—	—	—	—	—	—
TB	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)
SBB	+(β)	+(G)	+(G)	+(β)	—	—	+(G)	+(G)
SIII	—	—	—	—	—	—	—	—
ORO	—	—	—	—	—	—	—	—
AIP	+(G)	+(β)	+(H, G)	—	+(H, G)	—	—	—
AcP	+(G)	+(G)	+(G)	+(α)	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
β -Glu	—	—	—	+(G)	+(G)	—	—	—
α -NAE	+(γ)	+(G)	+(G)	+(α)	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
α -NBE	—	+(γ)	—	+(G)	+(G)	+(G)	—	+(G)
NASDCAE	—	+(G)	—	+(α)	+(G)	+(G)	—	+(G)
PO	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)

¹PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after α -amylase digestion; AB, alcian blue; TB, toluidine blue; SBB, sudan black B; SIII, sudan III; ORO, oil red O; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β -Glu, β -glucuronidase; α -NAE, α -naphthyl acetate esterase; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase.
²*Sd*, *Seriola dumerili* (greater amberjack, present report); *Sl*, *Seriola lalandi* (yellowtail amberjack, present report); *Gp*, *Girella punctata* (rudderfish)¹⁹; *Pm*, *Pagrus major* (red sea-bream)¹⁹; *Py*, *Pleuronectes yokohamae* (marbled sole)¹⁹; *Vm*, *Verasper moseri* (barfin flounder)¹⁹; *Po*, *Paralichthys olivaceus* (Japanese flounder)¹⁹; *Tr*, *Takifugu rubripes* (tiger puffer)¹⁹; $\alpha 1$, α granule type 1; $\alpha 2$, α granule type 2; β , β granule; $\gamma 2$, γ granule type 2; Y, Yasumoto body; H, hyaloplasm; G, granular; N, nucleus; —, non detection; +, positive.

ており^{20, 21)}, 前者ではPO活性は β 顆粒に^{7, 8, 11, 12, 23)}, 後者ではPO活性が β 顆粒のみならず核にも検出されている^{9, 19-21)}。マアジ, カンパチおよびヒラマサの好中球の核はPO陰性であった。 β 顆粒はスタウナギ, アフリカハイギョおよび*P. endlicheri*の好中球には観察されておらず^{14, 15, 18)}, これら魚種の好中球はPO陰性であることから^{14, 15, 18)}, 魚類では好中球がPOを有するようになった時に, β 顆粒が出現したのではないかと推察され²⁴⁾, その時期は, 原始的な真骨魚類であるアジアアロワナにPOを有する β 顆粒が観察されることから, 少なくとも真骨魚類が出現した時にまで遡ると考えられている²⁴⁾。マアジ, カンパチおよびヒラマサにおいても β 顆粒がPO陽性であることは, この考えを支持している。

これまでに, アフリカハイギョとコイを除く魚類の好中球にY小体が観察されている^{1, 4-17, 19-23)}。コイにおいても, 病原細菌*Aeromonas hydrophila*に人為感染させることで, 本小体を有する好中球が血液中に出現することが報告されている²⁵⁾。Y小体を有する魚種では, 同小体はTB陽性であると考えられている (Table 6)^{1, 7-17, 19-24)}。また, *A. hydrophila*に人為感染させることで出現したコイのY小体もTB陽性である²⁵⁾。本研究の結果, マアジ, カンパチおよびヒラマサのY小体もTB陽性であることが明らかとなった。アカメとナイルティラピアでは γ 顆粒もTB陽性であると報告されている^{22, 24)}。しかし, γ 顆粒を有するスタウナギ, *P. endlicheri*, アジアアロワナ, ウナギ, コイ, イサキおよびブリでは, γ 顆粒にTB陽性反応は認められておらず^{1, 13-16, 24)}, 本研究においてもカンパチおよびヒラマサの γ 顆粒はTB陰性であった。なお, マアジに観察された円形から卵円形のTB陽性顆粒は上述したように, その数と大きさが α 顆粒と γ 顆粒に類似しており, いずれの種類の顆粒がTB陽性であるかは断定できない。しかし, マアジの γ 顆粒はMG染色液およびGiemsa染色液中の塩基性色素 (メチレンブルーとアズールBのいずれかまたは両方) に染まる顆粒であり, TBも塩基性色素であることから, マアジ好中球のTB陽性顆粒は γ 顆粒であると推察される (Tables 3, 7)。

謝 辞

実験魚を提供していただいた水産大学校生物生産学科教授 山元憲一博士ならびに実験魚の採取にご協力いただいた水産大学校食品化学科 (当時) 学生 加藤重太郎氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 近藤昌和, 坂口隆亮, 金丸俊介, 柏村直宏, 高橋幸則: ブリの好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 58, 101-111 (2009)
- 2) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: コイ好中球のメイ-グリュンワルド・ギムザ染色性. 水大校研報, 50, 109-117 (2002)
- 3) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: コイ好中球のアズール顆粒. 水大校研報, 51, 17-29 (2002)
- 4) 安本信哉, 近藤昌和, 高橋幸則: テラピア好中球顆粒のメイ-グリュンワルド・ギムザ染色性. 水大校研報, 51, 79-86 (2003)
- 5) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: イサキ好中球の顆粒. 水大校研報, 52, 45-48 (2004)
- 6) 近藤昌和, 金丸俊介, 高橋幸則: メジナの好中球顆粒. 水大校研報, 52, 67-71 (2004)
- 7) 近藤昌和, 柏村直宏, 金丸俊介, 稲川裕之, 高橋幸則: サンフィッシュ科魚類 (オオクチバス, ブルーギル) の好中球顆粒. 水大校研報, 53, 197-202 (2005)
- 8) 近藤昌和, 金丸俊介, 柏村直宏, 稲川裕之, 高橋幸則: ヒラメおよびメジナ好中球顆粒の細胞化学的特徴. 水大校研報, 53, 203-209 (2005)
- 9) 近藤昌和: 新琵琶湖産アユ冷水病総合対策緊急研究事業報告書 (細胞内病理態様解析, 平成17年度), 滋賀県, 1-15 (+表1, 図1-20), (2006)
- 10) 近藤昌和, 稲川裕之, 池田 至, 山元憲一, 高橋幸則: トラフグ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 55, 133-139 (2007)
- 11) 近藤昌和, 稲川裕之, 高橋幸則: スズキ科魚類 (スズキ, ヒラスズキ, タイリクスズキ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 55, 141-147 (2007)
- 12) 近藤昌和, 高橋幸則, 山元憲一: ノーザンバイク好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 56, 317-321 (2008)
- 13) 近藤昌和, 高橋幸則: アジアアロワナの好中球顆粒. 水大校研報, 57, 219-226 (2009)
- 14) 近藤昌和, 高橋幸則: ポリプテルス好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 57, 283-297 (2009)
- 15) 近藤昌和, 高橋幸則: スタウナギ好中球の形態学的

- および細胞化学的特徴. 水大校研報, 57, 299-308 (2009)
- 16) 近藤昌和, 高橋幸則: ウナギ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 58, 1-13 (2009)
- 17) 近藤昌和, 坂口隆亮, 金丸俊介, 柏村直宏, 高橋幸則: マダイ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 58, 15-22 (2009)
- 18) 近藤昌和, 高橋幸則: アフリカハイギョ *Protopterus annectens* 好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 58, 207-216 (2010)
- 19) 近藤昌和, 近藤啓太, 高橋幸則: マハタ白血球の形態学および細胞化学的特徴. 水産増殖, 58, 363-371 (2010)
- 20) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: ボラの白血球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 59, 163-171 (2011)
- 21) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: メナダの白血球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 59, 173-182 (2011)
- 22) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: アカメ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 60, 85-93 (2012)
- 23) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カレイ類 (マコガレイ, マツカワ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, 61, 43-49 (2012)
- 24) 近藤昌和, 安本信哉, 大野美和, 高橋幸則: コイ, ナイルティラピアおよびイサキの好中球顆粒. 水大校研報, 61, 51-64 (2012)
- 25) 近藤昌和, 高橋幸則: 病原細菌 *Aeromonas hydrophila* に感染したコイの好中球の安本小体. 水大校研報, 56, 323-327 (2008)

