

ホソウミチヨウ *Argulus caecus* (甲殻亜門顎脚綱鰓尾亜綱チョウ目) の血球の形態学的特徴

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Morphological Characterization of Hemocytes of Marine Fish Louse *Argulus caecus* (Arguloidea, Branchiura, Maxillopoda, Crustacea)

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological characteristics of hemocyte in marine fish louse *Argulus caecus* were examined. Only a single type of hemocyte, chromophobic granulocyte, was observed in the hemolymph of the fish louse. This cell was round to spindle-shaped one and characterized by the presence of numerous round chromophobic granules ($\leq 0.5 \mu\text{m}$ in diameter) and dull light reddish purple hyaloplasm.

Key words : *Argulus caecus*, crustacea, hemocyte, morphology, diversity

著者らは前報¹⁾で、甲殻類における血球の進化について以下のように推察した：①甲殻類の祖先種は1種類の血球を有し、軟甲類の祖先種においても血球種は1種類であった；②原始的軟甲類であるコノハエビ類について出現した他の軟甲類の共通の祖先種において血球の種類数の増加が起こり、その型は、シャコ類（トゲエビ亜綱）や原始的十脚目のクルマエビ類（真軟甲亜綱）および等脚目ワラジムシ亜目や端脚目といったフクロエビ類（真軟甲亜綱）にも広く認められるI型であった；③現生十脚甲殻類は、血球の種類の違いから少なくとも5つの型に区別されるが、原始的十脚目のクルマエビ類がI型であり、十脚目は単系統であるとされていることから²⁾、他の型（II～V型）の出現は、十脚目の中で起こった多様性によるものである。しかし、等脚目ミズムシ亜目のミズムシ *Asellus hilgendorffii* では、十脚類のIV型と同様に難染色顆粒球と好酸性顆粒球の2種類の血球が観察された³⁾。このことは、推察①と推察②の「原始的軟甲類であるコノハエビ類について出現した他の軟甲類の共通の祖先種において血球の種類数の増加が起こった」を否定しないが、推察③は否定されることとなり、推察②の「コノハエビ類を除く他の軟甲類の共通の

祖先種における型はI型である」との考えにも再考を要することを示している³⁾。

推察①の根拠として、現生の鰓脚類、顎脚類および原始的軟甲類であるコノハエビ *Nebalia japonensis* では血球が1種類であることがあげられている¹⁾、この推察に用いた鰓脚類は5種（2亜綱3目）、顎脚類は4種（3亜綱4目）、軟甲類1種（1亜綱1目）に過ぎず¹⁾、今後、さらなる知見によって、この推察は改変されるものと思われる。著者らは既に顎脚綱鰓尾亜綱チョウ目のチョウ *Argulus japonicus* について血球の形態学的特徴を報告した⁴⁾。本研究では、同属のホソウミチヨウ *Argulus caecus* の血球の形態について報告する。

実験には下関市沿岸にて釣獲されたクサフグ *Takifugu niphobles* の背鰭に寄生していたホソウミチヨウ（全長約8 mm）を用いた（Fig. 1）。ホソウミチヨウをゼラチン処理したスライドガラス上に載せ、これに氷冷した固定液（2%グルタルアルデヒド、2%パラフォルムアルデヒドおよび10%（w/v）スクロースを含む0.2 M カコジル酸ナトリウム緩衝液（pH7.4））を滴下し、直ちに腹部末端をメスで切除し、流出した血液を固定液と混合した。これを

前報⁴⁾と同様の方法によって処理して塗抹標本を作製した。塗抹標本を蒸留水で洗浄後(10分間×3回), 風乾し, これにMay-Grünwald (MG) 液を1.5 ml載せ, 5分後にリン酸緩衝液 ($1/15$ M, pH5.0) を1.5 ml追加・混和して10分間染色した。蒸留水で軽く水洗し, 風乾後, 合成樹脂で封入して光学顕微鏡で観察した。また, 風乾せずに少量のグリセリンで封入した標本を位相差顕微鏡で観察した。

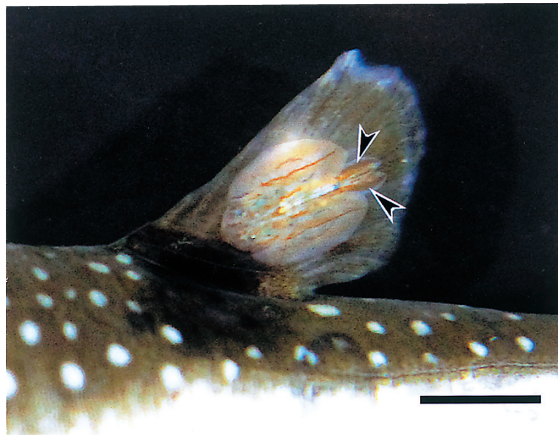


Fig. 1. Marine fish louse *Argulus caecus* attached to dorsal fin of grass puffer *Takifugu niphobles*. Arrowheads show abdomen. Bar = 5 mm.

ホソウミチョウの血球は1種類の顆粒球に分類された (Figs. 2, 3)。細胞体は円形, 卵円形, 楕円形, 桿形または紡錘形であり, 位相差顕微鏡では多数の円形顆粒が充満しているのが観察されたが, 顆粒の輪郭は不明瞭であった (Fig. 2)。また, 核は識別されなかった。MG染色標本において, 顆粒は明瞭な染色性を示さず難染色性であった (Fig. 3)。また, 顆粒は直径 $0.5 \mu\text{m}$ 以下の円形であった。細胞体の長径は $5.5\sim 12.5 \mu\text{m}$, 短径は $3.0\sim 6.3 \mu\text{m}$ であり, 核は円形から短楕円形であった (長径 $3.3\sim 5.0 \mu\text{m}$, 短径 $2.3\sim 3.5 \mu\text{m}$)。核は細胞の中央またはやや偏在して存在し, 濃青色を呈する粒子状のヘテロクロマチンが多数観察された。細胞質基質はくすんだ淡赤紫色を呈した。

本研究によって, ホソウミチョウの血液中には1種類の顆粒球 (難染色性顆粒球) が存在することが明らかとなった。この結果は上述の推察①を支持する。チョウの血球も1種類の顆粒球に分類されており⁴⁾, 顆粒はホソウミチョウと同様に直径 $0.5 \mu\text{m}$ 以下の円形であり難染色性であると報告されている⁴⁾。しかし, 細胞体はチョウでは楕円形または紡錘形であるのに対して⁴⁾, ホソウミチョウでは円

形, 卵円形, 楕円形, 桿形または紡錘形と多様であった。また, 核の形状も両種で若干異なり, チョウでは卵円形または短楕円形であるが⁴⁾, ホソウミチョウでは円形から短楕円形であった。両種の間最も顕著な違いは細胞質基質の色調であり, チョウでは青色であるのに対して, ホソウミチョウでは淡赤紫色であった。MG液はエオシン酸メチレンブルーのメタノール飽和溶液であり, 染色時にはエオシンとメチレンブルーに解離する。エオシンは橙色であり, メチレンブルーは青色であることから, チョウの細胞質基質の青色は, メチレンブルーが正調染色性を示したと考えられる。一方, ホソウミチョウの細胞質基質の赤紫色は, メチレンブルーが異調染色性を示した可能性と⁵⁾, エオシンとメチレンブルーによる混色の結果生じた可能性があり⁶⁾, この染色性に関与する色素の同定にはさらなる検討が必要である。

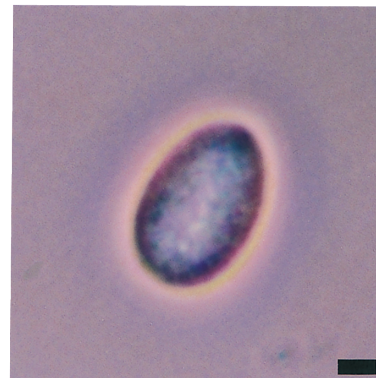


Fig. 2. Hemocyte of marine fish louse *Argulus caecus*. Phase contrast. Bar = $2.5 \mu\text{m}$.

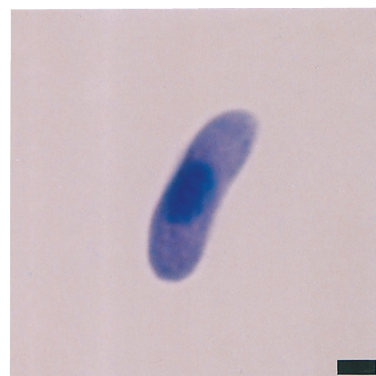


Fig. 3. Hemocyte of marine fish louse *Argulus caecus*. May-Grünwald stain. Note chromophobic granules and reddish purple hyaloplasm. Bar = $2.5 \mu\text{m}$.

文 献

- 1) 近藤昌和, 高橋幸則: コノハエビとオオシロピンノの血球の形態学的特徴. 水大校研報, 60, 137-143 (2012)
- 2) 大塚 攻, 駒井智幸: 甲殻亜門, 石川良輔 (編), 節足動物の多様性と系統. 裳華房, 東京, 172-275 (2008)
- 3) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: ミズムシ (甲殻亜門等脚目ミズムシ亜目) の血球の形態学的特徴. 水大校研報, 61, 79-80 (2012)
- 4) 近藤昌和, 友永 進, 高橋幸則: 甲殻綱鰓尾類チョウ (*Argulus japonicus*) 血球の形態学のおよび細胞化学的性状. 水大校研報, 51, 45-52 (2003)
- 5) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: メナダの単球二次顆粒の染色性. 水大校研報, 59, 223-225 (2011)
- 6) 近藤昌和, 近藤啓太, 高橋幸則: マハタの単球二次顆粒の染色性. 水大校研報, 60, 33-34 (2011)

