

カスザメの好中球の形態学および細胞化学的特徴

近藤昌和[†], 前川幸平, 安本信哉

Morphological and Cytochemical Characteristics of Neutrophils from Japanese Angelshark *Squatina japonica*

Masakazu Kondo[†], Kouhei Maekawa and Shinya Yasumoto

Abstract : Three types of granulocytes were observed in peripheral blood of Japanese angelshark *Squatina japonica* (Squatinae, Squatiniformes, Squalimorphii, Elasmobranchii). The neutrophil was the only phagocytic granulocyte and had two types of granules (neutrophil granule, NG; type A, NG-A; type B, NG-B) with stratified structure. The NG-A was long-elliptic shape, and consisted of three layers: Eosinophilic rod-shaped inner layer (L0), eosinophilic middle layer (L1) with long-spindle outline, and basophilic outer layer (L2). The NG-B was round or oval, and both inner (L0) and outer (L1) layers of this granule was chromophobic. Several lysosomal enzymes were detected in NG-B, but the positive site was different among enzymes. Alpha-naphthyl acetate esterase, α -naphthyl butyrate esterase and naphthol AS-D chloroacetate esterase (NASDCAE) were detected in the L0 of NG-B. According to the acid phosphatase positive site, NG-B were classified into three types: NG-B with positive L0 (negative L1), NG-B with negative L0 (positive L1) and NG-B with positive L0 (strongly) and L1. Furthermore, the L0 of NG-B around nucleus showed positive reaction to periodic acid Schiff reaction after digestion with α -amylase. The neutrophils lacked alkaline phosphatase, β -glucuronidase and peroxidase. The L0 and L1 of NG-A showed positive reaction to Sudan black B and NASDCAE.

Key words : shark, *Squatina japonica*, granulocyte, morphology, cytochemistry

緒 言

軟骨魚類（綱）は全頭亜綱と板鰓亜綱に分類され、前者はギンザメ目のみからなる¹⁾。一方、板鰓類はエイ区とサメ区に大別され、後者はネズミザメ上目とツノザメ上目に二分される¹⁾。前報において、エイ区に属するアカエイ *Dasyatis akajei*（トビエイ目アカエイ科）の血液中には4種類の顆粒球が存在することを明らかにした^{2,3)}。それらのうち、貪食能を有するのは1種類の顆粒球であり、好中球に相当すると考えられた²⁾。本研究では、板鰓類における顆粒球の形態および種類の多様性を明らかにする研究の一環として、サメ区のツノザメ上目Squalimorphiiカスザメ目Squatinaeカスザメ科Squatinaeに属するカスザメ *Squatina japonica*について、好中球の形態学および細胞

化学的特性を報告する*。

材料および方法

山口県西方の響灘において刺網漁で捕獲されたカスザメ2尾（体重: No. 1, 4.8 kg; No. 2, 2.0 kg）を水産大学の飼育施設に搬入し、1週間馴致飼育したのちに実験に供した。飼育期間中は無給餌とした。採血時の水温は19.0°C（No. 1）および23.0°C（No. 2）であった。キナルジンで麻酔後、尾部血管から採血した。血液塗抹標本の作製、MRSV（Table 1）および各種細胞化学染色法は近藤・高橋⁴⁾に、パン酵母の細胞壁由来のzymosan粒子に対する貪食試験は近藤ら⁵⁾にしたがった。

水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

[†]別刷り請求先 (corresponding author): kondom@fish-u.ac.jp

*本研究の一部は、平成29年度日本魚病学会春季大会（2017年 3月11日）において報告した[319: 近藤昌和, 前川幸平, 安本信哉: カスザメの好中球の形態学的特徴（プログラムおよび講演要旨, 43）]。

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

カスザメの血液中には3種類の顆粒球が観察された。それらのうち、zymosan粒子に対する貪食は好中球にのみ認められた。好中球にはアルシアンブルー、オイルレッドOおよびズダンIII染色では陽性所見は観察されなかった。また、アルカリ性フォスファターゼ (AIP), β -グルクロニダーゼ (β -Glu) およびペルオキシダーゼ (PO) は検出されなかった。

好中球は長径約20.0 μm の円形または卵円形であり、核の染色質網は細かく、小型の濃縮染色質が散在していた。核は偏在し、核の輪郭に凹凸が顕著であった。通常単核であったが、分葉核 (最大3分葉) も認められた。好中球には貪食能が認められ、細胞質には2種類の顆粒 (好中球顆粒 neutrophil granule, NG) が観察された (Fig. 1)。いずれの条件のRomanowsky型染色標本においても両顆粒は認められ、細胞質内に多数散在していた。また、多くの魚種の好中球に観察されている好塩基性の不定形小体 (Y小体^{4,5)}) は認められなかった。

好中球顆粒のうち、顆粒内にエオシン好性の芯様構造を有するA型顆粒 (NG-A) は長楕円形 (長径2.0 μm 以下、短径0.8 μm 以下) であり (Figs. 1A, 1B; Table 2), 3層からなる成層構造を有していた。エオシン好性の芯様構造は、顆粒の中心を囲む層 (L0) と、L0を囲むL1から構成されており、L0とL1はともにエオシン好性を示した (Figs. 1C, 1D; Table 2)。L0は長径0.8 μm 以下、短径0.2 μm 以下の桿形であり、L1の輪郭は長紡錘形 (長径1.0 μm 以下、短径0.3 μm 以下) であった。L1の周囲には染色条件によって難染色性または好塩基性 (淡青色) を示すL2が観察された (Figs. 1C, 1D; Table 2)。L0およびL1の長軸方向の中心線は多くの場合、顆粒の中心線と一致していたが、稀に顆粒内に偏在していた。好中球に貪食されたzymosan粒子はしばしば淡橙色を呈した (Fig. 1E)。EG-Aはperiodic acid Schiff (PAS) 反応陰性であった (Figs. 1F, 1G; Table 3)。しかし、ズダン黒B (SBB) 染色によってL0とL1が陽性反応を示した (Figs. 1H, 1I)。また、酸性フォスファターゼ (AcP), α -ナフチルアセテートエステラーゼ (α -NAE) および α -ナフチルプチレートエステラーゼ (α -NBE) は本顆粒に検出されなかったが (Figs. 1J-1L), ナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ (NASDCAE) 活性がL0とL1に認められた (Figs. 1M, 1N; Table 3)。

類円形 (円形から卵円形; 長径1.5 μm 以下) のB型顆粒

(NG-B) は、いずれの条件のRomanowsky型染色標本においても難染色性であった。Romanowsky型染色標本では識別できないが、各種細胞化学染色の結果、NG-Bには2層からなる成層構造が認められた。NG-Bのほぼ中央に存在する類円形のL0 (長径1.0 μm 以下) には α -NAE, α -NBEおよびNASDCAEが検出された (Figs. 1K-1N; Table 3)。また、NG-BにはAcP活性も認められたが、局在性の違いからNG-Bは3種類に分類された。すなわち、①L0のみにAcPが検出されるNG-B, ②L0を囲む層 (L1) のみに本酵素が認められるNG-B, ③L0 (強陽性) とL1の両方に本酵素活性が検出されるNG-Bに大別された (Fig. 1J)。③のNG-Bは主に細胞核周辺に認められた。また、細胞核周辺のNG-Bでは、L0がPAS陽性であり、その陽性反応は α -アミラーゼ消化後も消失しなかった (Figs. 1F, 1G)。本顆粒はSBB染色には陰性であった。

好中球には円形または卵円形のPAS反応陽性顆粒 (長径0.8 μm 以下) が多数観察され (Fig. 1F; Table 2), 細胞質基質も弱陽性を示したが、これらの陽性部位は α -アミラーゼ処理によって完全に消失した (Fig. 1G)。

考 察

カスザメには3種類の顆粒球が認められたが、貪食能を有する顆粒球は好中球のみであった。好中球には2種類の顆粒 (NG-AとNG-B) が観察され、いずれも成層構造を有する顆粒 (成層顆粒) であることが明らかとなった。アカエイでは4種類の顆粒球が認められているが^{2,3)}, 貪食能を有する顆粒球は好中球のみであり²⁾, 好中球には2種類の成層顆粒が観察されている^{2,6)}。カスザメ好中球のNG-A (NG-A^{Sy}) はアカエイ好中球のNG-A (NG-A^{Da}) と同様に3層構造を有しており⁶⁾, L0とL1はNG-A^{Sy}およびNG-A^{Da}ともにエオシン好性であった。また、カスザメのNG-B (NG-B^{Sy}) もアカエイ (NG-B^{Da}) と同様にともに難染色性のL0とL1からなる2層構造を有していた。これらのことから、カスザメとアカエイの好中球は類似していると考えられる。しかし、両種の好中球の間に違いも認められた。NG-Aの最外層であるL2の染色性はアカエイでは難染色性であるのに対して⁶⁾, カスザメでは塩基好性であった。また、NG-A^{Sy}のL0とL1はSBB陽性かつNASDCAE陽性であったが、NG-A^{Da}は両染色に対して陰性である²⁾。さらに、NG-A^{Da}のL1はヘマトキシリン染色によって陽性反応を示すが⁶⁾, NG-A^{Da}ではいずれの層においても同染色に対して陰性であった。

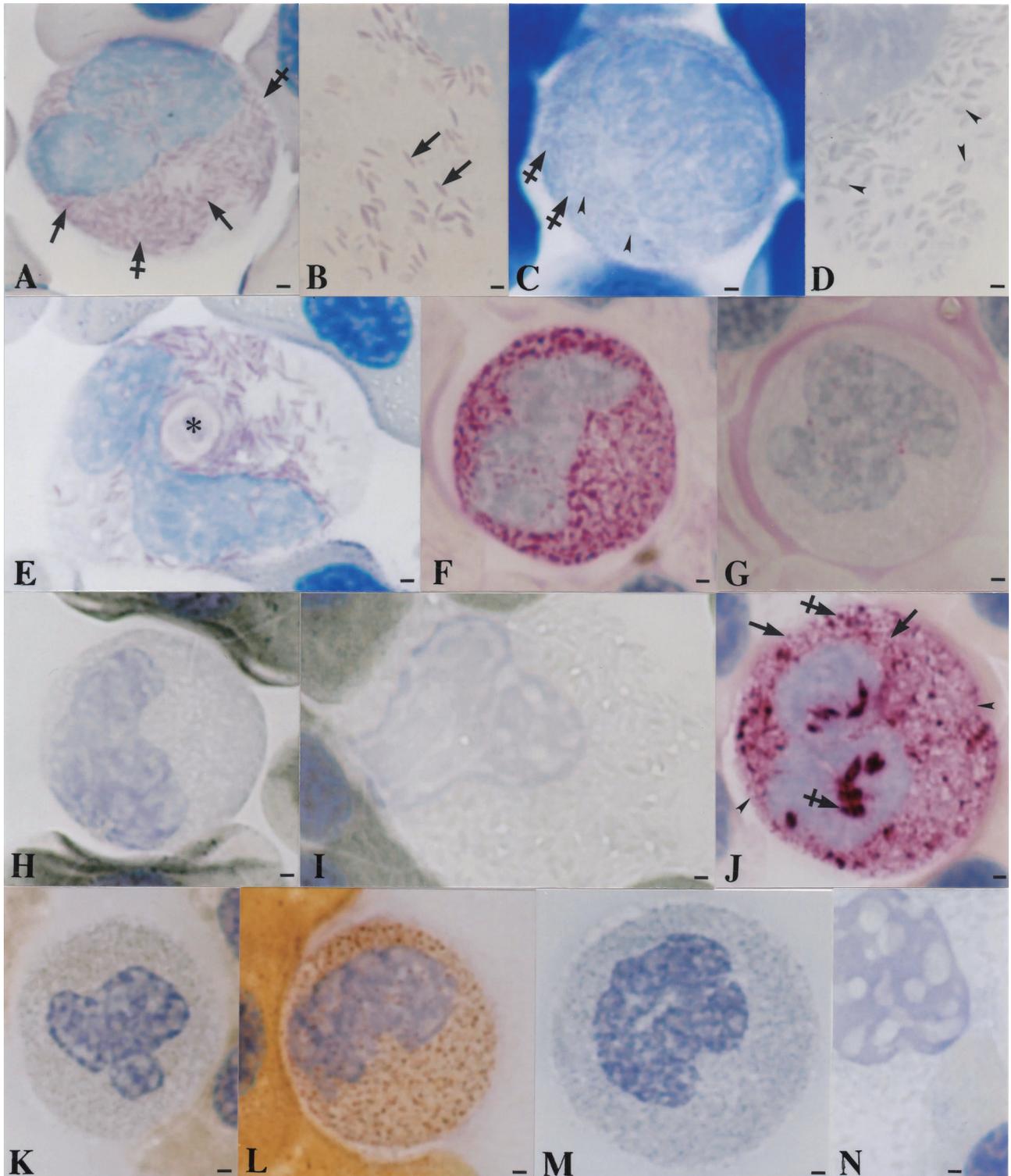


Fig. 1. Type A granulocytes (neutrophils) of Japanese angelshark. A-D, May-Grünwald (MG; A & B, PN=6; C & D, PN=1; A & C, intact cell; B & D, lysed cell). Note long-elliptic stratified granules (neutrophil granule type A, NG-A) with three-layer structure (layer, L; L0, L1 and L2) and round stratified granules (neutrophil granule type B, NG-B; crossed arrows) with two-layer structure (L0 and L1). The NG-A consists of eosinophilic core (arrows in A & B) and surrounding area (L2) of the core. The core is made up of inner (L0; arrowheads in C & D) and outer (L1) layers. The L2 shows chromophobic (A & B) or basophilic (C & D). The NG-B consists of chromophobic L0 and L1. E, phagocytosis of zymosan particles (MG; PN=2; *, zymosan particle); F, periodic acid Schiff reaction (PAS); G, PAS after digestion with α -amylase (Note positive reaction in the L0 of NG-B around nucleus); H & I, Sudan black B [H, intact cell; I, lysed cell]. Note positive reaction in the core (L0 + L1) of NG-A; J, acid phosphatase [Three types of positive NG-B are shown. Arrows, NG-B with positive L0 (negative L1); arrowheads, NG-B with positive L1 (negative L0); crossed arrows, NG-B with positive L0 (strongly positive) and L1]; K & L, non-specific esterase (K, α -naphthyl acetate esterase; L, α -naphthyl butyrate esterase. Both enzymes are localized in the L0 of NG-B); M & N, naphthol AS-D chloroacetate esterase (M, intact cell; N, lysed cell). Note positive reaction in the core (L0 + L1) of NG-A and L0 of NG-B). PN, preparation number (See Table 1). Bars=1 μ m.

Table 2. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of long-elliptic stratified granules (NG-A) with three-layer structure (inner, L0; middle, L1; outer, L2) in the neutrophil of Japanese angelshark

| PN | Color and Number | | | PN | Color and Number | | | PN | Color and Number | | |
|----|------------------|----|----|----|------------------|----|----|----|------------------|----|----|
| | L0 | L1 | L2 | | L0 | L1 | L2 | | L0 | L1 | L2 |
| 1 | R | — | B | 28 | <u>O</u> | O | — | 55 | O | —0 | — |
| 2 | <u>R</u> | R | — | 29 | O | — | B | 56 | <u>O</u> | O | — |
| 3 | <u>R</u> | R | — | 30 | <u>R</u> | R | — | 57 | <u>O</u> | O | — |
| 4 | R | — | B | 31 | R | — | B | 58 | O | — | B |
| 5 | R | — | B | 32 | <u>R</u> | R | — | 59 | O2 | — | B |
| 6 | <u>R</u> | R | — | 33 | <u>R</u> | R | — | 60 | O | — | B |
| 7 | <u>R</u> | R | — | 34 | R | — | B | 61 | O | — | B |
| 8 | R | —0 | — | 35 | R | — | B | 62 | — | — | B |
| 9 | R | —0 | — | 36 | <u>R</u> | R | — | 63 | — | — | B |
| 10 | O | — | B | 37 | <u>R</u> | R | — | 64 | O | —0 | — |
| 11 | O1 | — | B | 38 | R | — | B | 65 | O2 | — | B |
| 12 | <u>O</u> | O | — | 39 | R | — | B | 66 | <u>R</u> | R | — |
| 13 | <u>O</u> | O | — | 40 | <u>R</u> | R | B | 67 | <u>R</u> | R | — |
| 14 | <u>O</u> | O | — | 41 | <u>R</u> | R | B | 68 | <u>R</u> | R | — |
| 15 | O | — | B | 42 | R | — | B | 69 | <u>R</u> | R | — |
| 16 | <u>O</u> | O | — | 43 | — | — | B | 70 | R | —0 | — |
| 17 | <u>O</u> | O | — | 44 | <u>R</u> | R | B | 71 | R | —0 | — |
| 18 | O | — | B | 45 | <u>R</u> | — | B | 72 | <u>R</u> | R | — |
| 19 | O | — | B | 46 | O | —0 | — | 73 | <u>R</u> | R | — |
| 20 | <u>O</u> | O | — | 47 | O | —0 | — | 74 | R1 | — | B |
| 21 | <u>O</u> | O | — | 48 | <u>O</u> | O | — | 75 | R1 | — | B |
| 22 | O1 | — | B | 49 | <u>O</u> | O | — | 76 | <u>R</u> | R | B |
| 23 | O1 | — | B | 50 | O | —0 | — | 77 | R | R | B |
| 24 | <u>O</u> | O | — | 51 | O | —0 | — | 78 | R1 | — | B |
| 25 | <u>O</u> | O | — | 52 | <u>O</u> | O | — | 79 | R1 | — | B |
| 26 | — | — | B | 53 | <u>O</u> | O | — | 80 | <u>R</u> | R | B |
| 27 | — | — | B | 54 | O | —0 | — | 81 | R2 | — | B |

PN, preparation number (See Table 1).

Color: B, light blue (basophilic); O, orange (eosinophilic); R, red (eosinophilic); —, not stained.

Number: 2, some; 1, a few; 0, not observed.

No Arabic number means many.

Under line means presumption because of difficulty to distinguish from L1.

Table 3. Summary of reactions of Japanese angelshark neutrophil to cytochemical tests

| Test | Positive site (shape and number) |
|--|--|
| Periodic acid Schiff reaction (PAS) | G (round or oval with or without negative surrounding, many); H |
| PAS after digestion with α -amylase | G (round or oval with negative surrounding, some, eq L0 of NG-B around nucleus) |
| Alcian blue (pH1.0) | — |
| Alcian blue (pH2.5) | — |
| Toluidine blue in distilled water | N |
| Sudan black B | G (long-spindle with negative surrounding, many, eq L0 and L1 of NG-A) |
| Sudan III | — |
| Oil red O | — |
| Alkaline phosphatase | — |
| Acid phosphatase | G [three types: round or oval with negative surrounding, many, eq L0 of NG-B; round or oval with negative core, many, eq L1 of NG-B; round or oval consist of positive core (strongly) and surrounding, eq entity NG-B around nucleus] |
| β -Glucuronidase | — |
| α -Naphthyl acetate esterase | G (round or oval with negative surrounding, many, eq L0 of NG-B) |
| α -Naphthyl butyrate esterase | G (round or oval with negative surrounding, many, eq L0 of NG-B) |
| Naphthol AS-D chloroacetate esterase | G (two types: round or oval with negative surrounding, many, eq L0 of NG-B; long-spindle with negative surrounding, many, eq L0 and L1 of NG-A) |
| Peroxidase | — |

G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; —, not detected; NG-A, neutrophil granule type A with three-layer structure (L0, L1 and L2); NG-B, neutrophil granule type B with two-layer structure (L0 and L1); eq, equivalent to.

NG-Bにおいてもカスザメとアカエイの間で違いが認められた。両種のNG-Bには各種ライソゾーム酵素 (AcP, α -NAE, α -NBE, NASDCAE) の活性が検出されるが, NG-B^{Da}のL0にはAcP, α -NAEおよびNASDCAEが, L1には α -NBEが局在するのに対して, NG-B^{Sy}では, α -NAE, α -NBE およびNASDCAEはL0に検出されるものの, AcPの局在性は一様ではなく, 個々のNG-B^{Sy}によって異なっていた。また, 核周辺のNG-B^{Sy}ではL0に α -アミラーゼ消化耐性のPAS陽性反応が検出されたが, 同反応はNG-B^{Da}には認められていない⁹⁾。さらに, NG-B^{Da}のL0はSBB陽性であるが⁹⁾, NG-B^{Sy}ではいずれの層も陰性であった。

板鰓類の好中球は一般に好異球と呼ばれており⁸⁾, 顆粒の染色性は好酸性 (エオシン好性) であるとされている⁹⁾。しかし, カスザメの好中球にはアカエイと類似した2種類の顆粒が認められ, NG-Aにはエオシン好性の層 (L0とL1) が観察される。したがって, 板鰓類の好中球において好酸性顆粒と認識されてきた構造物は顆粒ではなく層であると推察される。カスザメ上目にはカスザメが属するカスザメ目の他に, ツノザメ目, キクザメ目, ノコギリザメ目およびカグラザメ目が含まれる¹⁾。Hine and Wain (1987) は複数種のツノザメ目サメ類 (オシロザメ科1種, ツノザメ科2種, アイザメ科2種, オンデンザメ科2種, カラスザメ科2種, ヨロイザメ科1種) の顆粒球をeosinophil, eosinophilic granulocyteおよびneutrophilic granulocyteの3種類に分類しているが¹⁰⁾, 現在の分類基準ではeosinophilic granulocyteが好中球に相当すると考えられる。ツノザメ目サメ類のeosinophilic granulocyteの顆粒は細長く, エオシン好性であり⁹⁾, 顆粒内部には顆粒の長軸方向に整列した線維状の内容物が認められ, それが軸状の桿体を形成するとされている⁹⁾。桿体の染色性については言及されていないが⁹⁾, 桿体を顆粒の中心を囲む層 (L0) であると仮定すると, ツノザメ目サメ類のeosinophilic granulocyteの顆粒は2層からなると推察され, アカエイやカスザメのエオシン好性層を有するEG-Aが3層であることと異なる。また, ツノザメ目サメ類にはアカエイやカスザメで観察されるEG-Bは認められていない。ツノザメ目サメ類である*Etomopterus baxteri*のeosinophilic granulocyteは本研究のカスザメと同様にAIP, β -GluおよびPOは陰性であり, AcP, α -NAEおよびNASDCAE陽性とされている¹⁰⁾。しかし, *E. baxteri*では陰性の α -NBEが, カスザメでは陽性であった。

文 献

- 1) Heinicke MP, Naylor GJP, Hedges SB: Cartilaginous fishes (Chondrichthyes). *In*: Hedges SB, Kumar S (ed) *The Timetree of Life*. Oxford University Press, Oxford, 320-327 (2009)
- 2) 近藤昌和, 東川将基, 平山尋暉, 安本信哉, 高橋幸則: アカエイの好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **65**, 189-194 (2017) [Kondo M, Higashikawa S, Hirayama H, Yasumoto S, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophils from whip stingray *Dasyatis akajei*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 189-194 (2017) (in Japanese with English abstract)]
- 3) 近藤昌和, 東川将基, 平山尋暉, 安本信哉, 高橋幸則: アカエイの非貪食性顆粒球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **65**, 195-201 (2017) [Kondo M, Higashikawa S, Hirayama H, Yasumoto S, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of non-phagocytic granulocytes from whip stingray *Dasyatis akajei*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 195-201 (2017) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 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) [Kondo M, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophil from Japanese eel *Anguilla japonica*. *J Nat Fish Univ*, **58**, 1-13 (2009) (in Japanese with English abstract)]
- 5) 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) [Kondo M, Kondo K, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of leukocytes in sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture Sci*, **58**, 363-371 (2010) (in Japanese with English abstract)]
- 6) 近藤昌和, 東川将基, 安本信哉, 高橋幸則: アカエイの好中球顆粒と好酸球顆粒の構造について. 水大校研報, **66**, 195-197 (2018) [Kondo M, Higashikawa S, Yasumoto S, Takahashi Y: On the structure of neutrophil granules and eosinophil granules from whip stingray *Dasyatis akajei*. *J Nat Fish Univ*, **66**, 195-197 (2018) (in Japanese with English abstract)]

- 7) Walsh CJ, Luer CA: Elasmobranch hematology: Identification of cell types and practical applications. *In*: Smith M, Warmolts D, Thoney D, Hueter R (ed) The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays and their Relatives. Ohio Biological Survey, Ohio, 307-323 (2004)
- 8) Luer CA, Walsh CJ, Bodine AB: Recent advances in Elasmobranch immunology. *In*: Carrier JC, Musick JA, Heithaus MR (ed) Biology of Sharks and Their Relatives. CRC Press, New York, 403-420 (2012)
- 9) Hine PM, Wain JM: Composition and ultrastructure of elasmobranch granulocytes. I. Dogfishes (Squaliformes). *J Fish Biol*, **30**, 547-556 (1987)
- 10) Hine PM, Wain JM: The enzyme cytochemistry and composition of elasmobranch granulocytes. *J Fish Biol*, **30**, 465-475 (1987)