

アカエイの好中球顆粒と好酸球顆粒の構造について

近藤昌和[†], 東川将基, 安本信哉, 高橋幸則

On the Structure of Neutrophil Granules and Eosinophil Granules from Whip Stingray *Dasyatis akajei*

Masakazu Kondo[†], Shouki Higashikawa, Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : On the basis of our new observations, we propose the structure of granules in neutrophil and eosinophil of whip stingray *Dasyatis akajei*. The neutrophil granules (NG) were classified into two types (type A, NG-A; type B, NG-B). The NG-A consisted of eosinophilic granule core (layer 0 + layer 1) and chromophobic surrounding of core (mantle; layer 2). The core had stratified structure: Eosinophilic inner (layer 0) and outer core (layer 1). The NG-B was made up of chromophobic granule core (layer 0) and mantle (layer 1). The eosinophil had two types of granules, eosinophil granules (EG; type A, EG-A; type B, EG-B). The EG-A consisted of granule core (layer 0 + layer 1) and chromophobic mantle (layer 2). The core had stratified structure: Chromophobic inner core (layer 0) and eosinophilic outer core (layer 1). The EG-B was chromophobic and non-stratified granule. The outer cores (layer 1) of NG-A and EG-A were stained with hematoxylin (Mayer).

Key words : stingray, *Dasyatis akajei*, neutrophil, eosinophil, granule, structure

前報において著者らは軟骨魚類板鰓亜綱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 (好中球, 好塩基球, 好酸球, 小型好酸性顆粒球) が存在することを報告した^{1,2)}。アカエイの好中球には芯構造 (以後, 顆粒核と称する) とその周囲の領域 (以後, マントルと称す) からなる2種類の顆粒, すなわち, エオシン好性の顆粒核と難染性のマントルからなる β G-Aと, 顆粒核とマントルがともに難染性を示す β G-Bが観察された¹⁾。また, 好酸球には難染性の顆粒核とエオシン好性のマントルからなる顆粒 (EG-A) と, 成層構造が認められない難染性顆粒 (EG-B) の2種類が認められると報告した²⁾。次報で我々は板鰓亜綱サメ区のカスザメ *Squatina japonica* (ツノザメ上目カスザメ目カスザメ科) の顆粒球について報告するが^{3,4)}、カスザメの好中球にもアカエイと同様に2種類の顆粒が認められる。しかし, アカエイの β G-Aに相当すると考えられるカスザメ好中球の顆

粒は, ともにエオシン好性の内核と外核からなる顆粒核と, 好塩基性のマントルから構成されていた³⁾。前報^{1,2)}に用いた標本を再度詳細に観察したところ, アカエイの β G-Aにおいても顆粒核は内核と外核から構成されることが明らかとなったのでここに報告する。なお, 前報¹⁾で採用したアカエイの2種類の好中球顆粒の呼称 (β G-Aと β G-B) は, ともに難染性の領域を有することに由来するが, カスザメではアカエイの β G-Aに相当する顆粒には難染性領域は認められないことから³⁾、以後, β G-Aと β G-Bをそれぞれ好中球顆粒 (neutrophil granule, NG) のA型とB型とし, NG-AおよびNG-Bと略記する。アカエイの好中球を観察する過程で, 好酸球の顆粒についても新たな知見が得られたので, あわせて報告する。

多条件下Romanowsky型染色評価法 (Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV) で設定した81種類の染色条件のうち (近藤ら^{1,4)}のTable 1を参照), 一部

の染色条件[標本番号preparation number (PN) 42と43]を除いて, 塗沫標本上の崩壊した好中球 (lysed neutrophil) のNG-Aのうち, 十分伸展していると考えられる顆粒において, エオシン好性の顆粒核内に, 桿形および円形で難染色性の構造が認められた (Fig. 1A; PN48, 蒸留水を希釈液に用いたMay-Grünwald-Giemsa染色標本)。また, PN42と43, すなわち, $1/15$ M リン酸緩衝液 (pH8.0) を蒸留水で10倍希釈し, これにGiemsa原液 (Merck) を1:20 (Giemsa原液: 希釈液) の割合で滴下・混合した染色液を用いて15分間 (PN42) または60分間 (PN43) 染色した標本において, エオシン好性 (淡赤色) の桿形および円形の構造が認められた (Fig. 1B)。これら構造体の形状および大きさは, Fig. 1Aにおける顆粒核内の難染色性構造と類似していた。また, 本構造内には難染色性構造は観察されなかった。以

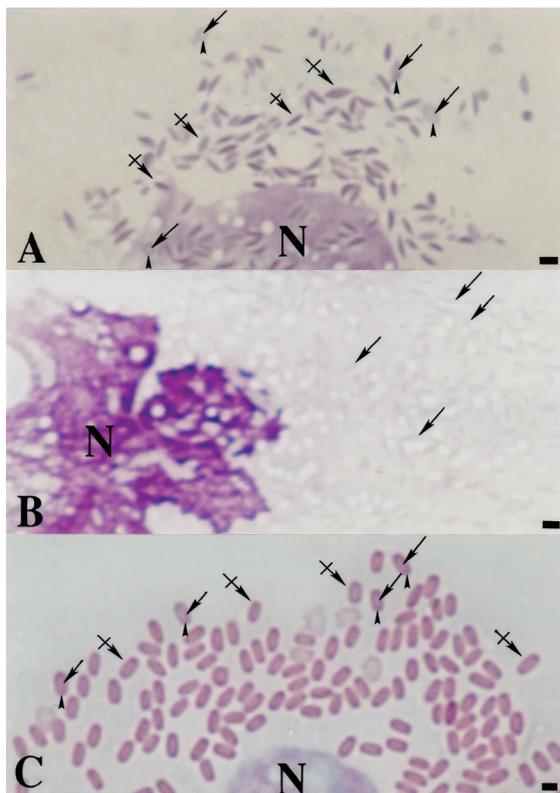


Fig. 1. Lysed neutrophils (A & B) and eosinophil (C) of whip stingray. A, May-Grünwald-Giemsa (MGG; PN=48); B, Giemsa (PN=43); C, MGG (PN=48). In the neutrophil granule (NG-A; A) and eosinophil granule (EG-A; C) which extended well, three-layer structure was recognized [arrows, inner core (layer 0; chromophobic); arrowheads, outer core (layer 1; eosinophilic); crossed arrows, mantle (layer 2; chromophobic)]. The layer 0 of NG-A showed eosinophilic (arrows in B) in a limited condition (PN=42 & 43). PN=preparation number (See Table 1 in Kondo et al.¹⁾). N, nucleus of lysed cell. Bars=1 μ m.

上の観察結果から, PN42および43で観察されるエオシン好性構造は, 他の染色条件において顆粒核内に観察される難染色性構造に相当すると考えられる。したがって, NG-Aはエオシン好性の内核と外核からなる顆粒核と, 難染色性のマントルから構成されると言える (なお, これらの呼称は, 本報の後段において変更される)。

崩壊した好酸球 (lysed eosinophil) の観察から, EG-Aは三層からなる成層構造を有することが明らかとなった。すなわち, 顆粒の中心から①難染色性領域, ②エオシン好性領域および③最外層の難染色性領域から構成されていた。前報²⁾において難染色性の顆粒核およびエオシン好性のマントルと呼んだ構造は, それぞれ前述の①と②に相当すると考えられる。なお, 好酸球の①は, MRSVのいずれの染色条件においても難染色性を示した。

アカエイ好中球のNG-Aと好酸球のEG-Aはともに三層構造を有する成層顆粒であり, NG-Aにおいては前報¹⁾の顆粒核内に, EG-Aでは前報²⁾のマントルの外に新たな構造が認められた。これらのことから, 今後, 成層顆粒の各部位の名称には‘顆粒核’や‘マントル’を用いず, 顆粒の中心 (実体ではなく単に座標としての中心) を囲む領域を, 中心を囲む層としてlayer 0 (L0) と名付け, L0を囲む層をL1, L1を囲む層をL2として, 以後, 各層をLにアラビア数字を付して呼ぶこととする。したがって, アカエイ好中球のNG-Aはエオシン好性のL0, エオシン好性のL1および難染色性のL2から構成され, 好酸球のEG-Aは難染色性のL0, エオシン好性のL1および難染色性のL2からなると言える。好中球にはNG-Aの他にNG-Bが存在するが, 本顆粒は難染色性のL0と難染色性のL1から構成されることとなる。

NG-AとEG-Aにはヘマトキシリン陽性部位が存在するが^{1,2)}, 前報^{1,2)}に用いた標本を再検討したところ, 陽性反応はどちらの顆粒においてもエオシン好性のL1に局在した。

文 献

- 1) 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)]

- 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)]
- 3) 近藤昌和, 前川幸平, 安本信哉: カスザメの好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **66**, 123-129 (2018) [Kondo M, Maekawa K, Yasumoto S: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophils from Japanese angelshark *Squatina japonica*. *J Nat Fish Univ*, **66**, 123-129 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 近藤昌和, 前川幸平, 安本信哉: カスザメ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, **66**, 131-139 (2018) [Kondo M, Maekawa K, Yasumoto S: Morphological and cytochemical characteristics of non-phagocytic granulocytes from Japanese angelshark *Squatina japonica*. *J Nat Fish Univ*, **66**, 131-139 (2018) (in Japanese with English abstract)]