

## マダイ好中球の成層顆粒からの光の放射

近藤昌和<sup>†</sup>, 安本信哉, 高橋幸則

### Radiation of Light from Stratified Granules of Neutrophils in Red Seabream *Pagrus major*

Masakazu Kondo<sup>†</sup>, Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

**Abstract** : Neutrophils of red seabream *Pagrus major* contain stratified granules with eosinophilic core (layer 0, L0) and chromophobic surrounding area (mantle; layer 1, L1) of L0. After staining with peroxidase (PO)-detection methods (PO is localized in L1), dark brown visible light (long-wavelength light) radiate from L0 (PO-negative), and is recognized to 'spot' under light microscope. The light will radiate from inner structure of L0 (inner core, L0-0).

**Key words** : spot formation, peroxidase, granule, neutrophil, *Pagrus major*, red seabream

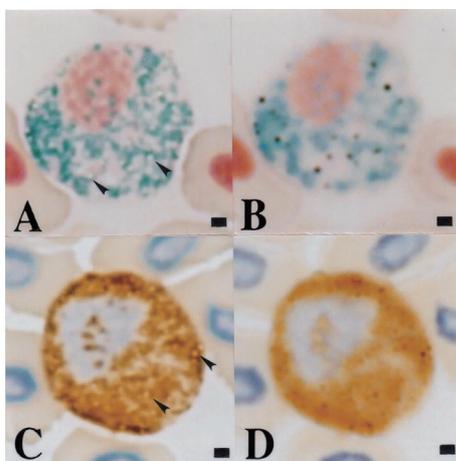
マダイ *Pagrus major* の好中球には2種類の顆粒が存在する。すなわち、全体が難染色性を示す顆粒と、エオシン好性の芯様構造（顆粒核<sup>1)</sup>; 以後、L0と称す）とその周囲の難染色性領域（マントル<sup>1)</sup>; 以後、L1と称す）から構成される顆粒（有芯顆粒<sup>1)</sup>; 以後、成層顆粒と称す）が認められる。これらのうち後者では、L1にペルオキシダーゼ（PO）活性が認められ、diaminobenzidine（DAB）法（陽性像は茶色）によるPO染色像において顕微鏡の焦点を移動させることで、L0の上方および下方に褐色の斑（spot）が出現する。前報<sup>1)</sup>では、この斑の出現にともなう種々の現象を詳述するとともに、それら現象を説明するために必要な成層顆粒の構造について考察した。その結果、本顆粒のL0は2層（顆粒内核と顆粒外核<sup>1)</sup>; 以後、それぞれをL0-0およびL0-1と称す）からなると考えられた。また、染色されたL1を通過した光はL1の色の光であり、これがL0-1を通過する間に波長が分解され白色光となり、この一部がL0-0に入ることによって、L0-0から‘強い光 strong light’と‘弱い光 weak light’が放射され、‘弱い光’に照射されたL1が可視化されたものが斑であると推察した（推察A）。

タイノエ症の原因寄生虫であるタイノエ *Ceratomyxa verruucosa* に寄生されたマダイの好中球には、未寄生魚では認められない構造を示す誘導型顆粒が出現する<sup>2)</sup>。この顆

粒はMay-Grünwald-Giemsa染色標本では、難染色性のL0とエオシン好性のL1からなり、顕微鏡の焦点を移動させることで、L0の上方に斑が形成される。上述の推察Aが正しいければ、L1がある色に染色された場合、形成される斑の色もL1の色に類似したものになるはずである。しかし、その色はL1の色（橙～赤）とは異なり、むしろ上述した未寄生魚の成層顆粒をPO染色（DAB法）した時に観察される斑と同じ色（褐色）であった<sup>2)</sup>。このことは、推察Aの‘弱い光に照らされたL1が可視化されたものが斑である’が正しくないことを示唆している。本稿では未寄生魚の成層顆粒をDAB法とは異なる方法でPO染色し、形成される斑の色を観察して斑の起源について考察した。

体重約150 gのマダイ（当歳魚）をキナルジンで麻酔したのち、ヘパリン処理した注射器を用いて尾部血管から採血した。血液塗抹標本を作製し、成書<sup>3)</sup>にしたがって  $\alpha$ -naphthol・brilliantcresyl blue ( $\alpha$ -N-BCB) 法（陽性像は青色）およびDAB法によるPO染色を施した。また、各PO染色のための固定を施したのち、核染色[ $\alpha$ -N-BCB法、サフランin O染色; DAB法、ヘマトキシリン染色（マイヤーの処方）]のみを行った標本も観察した。その結果、 $\alpha$ -N-BCB法とDAB法の間にPO陽性部位の違いはなく、成層顆粒のL1は前者では青色を、後者では茶色を呈した（Figs. 1A

& 1C)。また、斑の形成も認められ、その色は両者ともに褐色であった [Figs. 1B & 1D;  $\alpha$ -N·BCB法を施した標本における斑は、図 (Fig. 1B) では黒く見えるが、標本上では褐色である]。なお、核染色のみを施した標本では斑は観察されなかった。以上の観察結果から、斑は褐色の光(長波長光)がL1において可視化されたものであり、上述の推察Aのうち、'弱い光に照射されたL1が可視化されたものが斑である'との記述は誤りであると言える。本研究から、L0-0から放射される'弱い光'とは、低エネルギーの長波長光であることが明らかとなった。



**Fig. 1.** Red seabream neutrophils stained with peroxidase (PO)-stains: A & B,  $\alpha$ -naphthol·brilliant cresyl blue method (positive site, blue); C & D, diaminobenzidine method (positive site, brown). B & D, same cells in A & C with different focus (Note formation of spots with similar color (dark brown) in B & D). Arrowheads in A & C, stratified granules [PO-negative inner layer (L0) and PO-positive outer layer (L1)]. Counter stains: A & B, safranin O; C & D, hematoxylin (Mayer's). Bars=1  $\mu$ m.

## 文 献

- 1) 近藤昌和, 窪田太貴, 前川幸平, 安本信哉, 高橋幸則: タイノエに寄生されたマダイの好中球顆粒. 水大校研報, **65**, 203-206 (2017) [Kondo M, Kubota T, Maekawa K, Yasumoto S, Takahashi Y: Neutrophil granules of red seabream *Pagrus major* parasitized with *Ceratothoa verrucosa*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 203-206 (2017) (in Japanese with English abstract)]
- 2) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: マダイ好中球の有芯顆粒の構造: 顆粒における観察光の散乱様現象に基づく一考察. 水大校研報, **65**, 251-253 (2017) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Structure of neutrophil pithy granules from red seabream *Pagrus major*: Possible explanations from light scattering-like phenomenon by the granules under the light microscopic observations. *J Nat Fish Univ*, **65**, 251-253 (2017) (in Japanese with English abstract)]
- 3) 亀井喜恵子: ペルオキシダーゼ染色. 新染色法のすべて. 医歯薬出版, 東京, 276-282 (1999) [Kamei K: Peroxidase stain. *Shin-senshokuhou-no-subete*. Ishiyakushuppan, Tokyo, 276-282 (1999) (in Japanese)]