

# タイノエに寄生されたマダイにおける新たな好中球型： 第4種および第5種好中球

近藤昌和<sup>†</sup>, 安本信哉

## New Neutrophil Types in Red Seabream *Pagrus major* Infested with *Ceratothoa verrucosa*: Fourth and Fifth Neutrophil Types

Masakazu Kondo<sup>†</sup> and Shinya Yasumoto

**Abstract** : We report the morphology and cytochemistry of new neutrophil types (fourth type, N-4<sup>th</sup>, fifth type, N-5<sup>th</sup>) from *Ceratothoa verrucosa* (Cv)-infested red seabream *Pagrus major* with morphological abnormalities. The number of Cv in each infested fish was one (usual parasitism). The N-4<sup>th</sup> and N-5<sup>th</sup> were observed in the infested fish with mouth insufficiency (MI; Mouth closure was incomplete) and with MI plus exophthalmos (ocular proptosis), respectively. The bulging eyes contained bubbles. The first (N-1<sup>st</sup>), second (N-2<sup>nd</sup>) and third (N-3<sup>rd</sup>) neutrophil types have been reported from Cv-infested fish showing usual parasitism without morphological abnormality, unusual parasitism with MI, and super-unusual parasitism with MI plus exophthalmos, respectively. Therefore, the N-4<sup>th</sup> and N-5<sup>th</sup> will be the intermediate types (N-4<sup>th</sup>, between N-1<sup>st</sup> and N-2<sup>nd</sup>; N-5<sup>th</sup>, between N-1<sup>st</sup> and N-3<sup>rd</sup>).

**Key words** : *Ceratothoa verrucosa*, red seabream, *Pagrus major*, neutrophil, morphology

### 緒言

タイノエ *Ceratothoa verrucosa* が口腔に1または2個体寄生しているマダイ *Pagrus major* (通常寄生魚) では、未寄生魚とは異なる特徴を有する好中球 (第1種好中球 neutrophil-1<sup>st</sup>, N-1<sup>st</sup>) が血液中に出現する<sup>1,2)</sup>。また、タイノエが口腔に多数寄生したマダイ (異常寄生魚) には、通常寄生魚とは異なる好中球 (第2種好中球 neutrophil-2<sup>nd</sup>, N-2<sup>nd</sup>) が認められ<sup>3)</sup>、寄生が口腔のみならず鰓蓋内面や鰓葉上などにも認められるマダイ (超異常寄生魚) では第1種好中球および第2種好中球とは異なる第3種好中球 (neutrophil-3<sup>rd</sup>, N-3<sup>rd</sup>) が観察される<sup>4)</sup>。異常寄生魚では宿主の口が開放状態、すなわち口の閉鎖不全 (mouth insufficiency, MI) が起こり<sup>3)</sup>、超異常寄生魚ではMIとともに眼球突出 (exophthalmos) と、突出した眼球中の気

泡が認められる<sup>4)</sup>。MIならびに眼球突出は、多数のタイノエの寄生によって通常寄生魚が異常寄生魚や超異常寄生魚になる前に観察される現象であるが<sup>3,4)</sup>、これらの形態異常が好中球形態に及ぼす影響は明らかではない。

通常寄生魚を飼育していたところ、MIを示す個体とMIおよび眼球突出を呈する個体が出現した。これらの形態異常魚 (前者を異常魚A、後者を異常魚Bとする) の好中球を調べたところ、異常魚Aの好中球は異常魚Bのそれとは異なること、両異常魚の好中球は既報の第1種、第2種および第3種好中球とも異なることが明らかとなった。本稿では、異常魚Aの好中球を第4種好中球 (neutrophil-4<sup>th</sup>)、異常魚Bの好中球を第5種好中球 (neutrophil-5<sup>th</sup>) としてここに報告する<sup>\*1)</sup>。

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

<sup>†</sup> 別刷り請求先 (corresponding author): kondom@fish-u.ac.jp

\*1 本研究の一部は、令和元年度日本魚病学会秋季大会 (2019年 9月12日) において報告した[215: 近藤昌和, 安本信哉: タイノエが寄生したマダイにおける好中球の形態変化 (プログラムおよび講演要旨, 22)]。

## 材料および方法

タイノエが寄生しているマダイを下関市沿岸の響灘（親海域は日本海）で2018年の7月から10月に釣獲し、水産大学の屋外水槽に搬入して海水かけ流しで飼育した。同年12月26日にMIが認められる個体1尾（個体a: 体重46.3 g; 尾又長12.6 cm; 取り上げ時の水温15.0℃; タイノエ1個体が寄生; この個体はのちに異常魚B-1となる）を取り上げ、屋内のガラス製水槽（水温16.5℃; ヒーターは設置していないので、室温の影響を受ける）へ搬入し飼育を継続した。眼球突出と眼球内における気泡は、右眼球では2019年1月27日に（水温20.4℃）、左眼球では3月24日に確認された（水温21.1℃）。個体a（異常魚B-1）からの採血は5月25日に行った（採血時: 体重, 52.1 g; 尾又長14.0 cm; 取り上げ時の水温21.0℃）。2019年1月17日に屋外水槽（水温13.6℃）の寄生魚9尾を屋内のポリプロピレン製水槽へ移動し、水温15℃で飼育した。同年3月4日から水温を1日1℃ずつ上昇させ、水温20℃で育成した。3月13日にこの水槽内で眼球が突出した個体が1尾確認され（個体bとする）、同23日にこれを

取り上げて屋内ガラス製水槽（水温21.8℃; ヒーターは設置していない）へ移した（体重98.8 g; 尾又長16.6 cm; タイノエ1個体が寄生; この個体はのちに異常魚B-2となる）。この時、個体bはすでにMIとなっており、突出した眼球内に気泡が認められた。個体b（異常魚B-2）からの採血は5月15日に行った（採血時: 83.2 g; 尾又長17.1 cm; 取り上げ時の水温20.7℃）。2019年4月13日から、寄生魚8尾を収容した屋内ポリプロピレン製水槽の水温を1日1℃ずつ上昇させ、水温25℃で育成した。同年6月2日に屋内ガラス製水槽（水温25.0℃; ヒーター設置）へ移し、飼育を継続した。MIを示す個体が認められたので（眼球は突出していない）、7月6日に3尾 [いずれもタイノエが1個体寄生; 異常魚A-1, 228.5 g (尾又長21.7 cm); 異常魚A-2, 138.0 g (尾又長18.3cm); 異常魚A-3, 182.5 g (尾又長21.2 cm)] から採血した。飼育期間中は市販の配合飼料（マリン3号および同6号, 林兼産業）を適宜給餌した。採血前に試験魚はキナルジンで麻酔した。採血、血液塗抹標本の作製および各種細胞化学染色法は前報<sup>1-6)</sup>と同様に行った。

**Table 1.** Comparison of neutrophil granules from red seabream infested with *Ceratomyxa verrucosa*

Staining <sup>*1,*2</sup>	Origin of neutrophils, type of granules and reaction <sup>*3</sup>												
	Fish without <i>C. verrucosa</i> <sup>*a</sup>			Fish infested with <i>C. verrucosa</i>									
	oG-1	oG-2		First type: Neutrophil-1 <sup>st,*b</sup>						Second type: Neutrophil-2 <sup>nd,*c</sup>			
L0		L1	eoG-1 <sup>Cv1st</sup>	eoG-2 <sup>Cv1st</sup>		iG <sup>Cv1st</sup>		eoG-1 <sup>Cv2nd</sup>	eoG-2 <sup>Cv2nd</sup>				
	C	E	C	C	E	C	L0	L1	C	E	C	E	C
MGG	C	E	C	C	E	C			C	E	C	E	C
AIP	-	-	-	-	-	-					-	-	-
AcP	-	+	-	-	-	-			-	-	-	+	-
β-Glu	-	+ <sup>*4</sup>	-	-	+ ↑	-			-	-	-	+ <sup>*4</sup>	-
α-NAE	-	+	-	-	+	-			-	-	-	+	-
α-NBE	-	+	-	-	+	-			-	-	-	+	-
CAE	-	+	-	-	+	-			-	-	-	+	-
PO	+	-	+	+	-	+			+	-	+	-	+
			(SF: +)						(SF: +)				(SF: -)
SBB	+	-	+	-	-	-			-	-	-	-	-
			(SF: -)										
Hem	-	-	-	-	-	-			-	-	-	+	-
ORO, S-III	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-
Hem	-	-	-	-	-	-			-	-	-	+	-

<sup>\*1</sup>MGG, May-Grünwald-Giemsa; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β-Glu, β-glucuronidase; α-NAE, α-naphthyl acetate esterase; α-NBE, α-naphthyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase; SBB, Sudan black B; ORO, oil red O; S-III, sudan III; Hem, hematoxylin stain (Mayer's; counter stain).

<sup>\*2</sup>All types of granules showed negative reaction to other tests [periodic acid Schiff reaction (PAS), alcian blue (pH1.0, pH2.5), toluidine blue in distilled].

<sup>\*3</sup>oG-1, ordinary chromophobic granule type 1; oG-2, ordinary chromophobic granule type 2; eoG-1<sup>Cv1st</sup>, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-1<sup>st</sup> observed after infestation with *C. verrucosa* (oaiCv); eoG-2<sup>Cv1st</sup>, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-1<sup>st</sup> oaiCv; iG<sup>Cv1st</sup>, inducible chromophobic granule of neutrophil-1<sup>st</sup> oaiCv; eoβG-1<sup>Cv2nd</sup>, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-2<sup>nd</sup> oaiCv; eoβG-2<sup>Cv2nd</sup>, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-2<sup>nd</sup> oaiCv; L0, layer 0; L1, layer 1; C, chromophobic; E, eosinophilic; +, positive; -, negative (non-detection); ↑, increase of positive site; SF, spot formation.

<sup>\*4</sup>A few of L0 were positive.

<sup>\*5</sup>Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

<sup>\*6</sup>Kondo et al. (2017)<sup>6)</sup>; <sup>\*b</sup>Kondo et al. (2017)<sup>1)</sup>; <sup>\*c</sup>Kondo et al. (2018)<sup>3)</sup>.

結果および考察

MIを示す異常魚A (3尾) の好中球はいずれも第4種好中球に、MIと眼球突出を呈する異常魚B (2尾) ではないずれも第5種好中球に同定された。第4種好中球および第5種好中球には2種類の顆粒、すなわちMay-Grünwald-Giemsa染色によって難染色性を示す顆粒と、顆粒の中心を取り囲むエオシン好性層 (L0) とその周辺の難染色性層 (L1) からなる成層顆粒が認められた (Figs. 1A & 2A)。これらの顆粒の構造は、未寄生魚の好中球に観察される2種類の好中球顆粒 (通常型顆粒 ordinary chromophobic granule, oG; 1型, oG-1; 2型, oG-2)<sup>56)</sup>や、タイノエが寄生したマダイの第1種、第2種および第3種好中球に観察される2種類の異常型顆粒 (extraordinary chromophobic granule, eoG; 1型, eoG-1; 2型, eoG-2) に類似していた<sup>1-4)</sup>。しかし、第4種好中球に観察される未寄生魚のoG-1に類似した顆粒を除いて、第4種好中球および第5種好中球の顆粒は、未寄生魚およびタイノエ寄生魚の顆粒とは細胞化学的特徴が異なっていた (Table 1)。また、通常寄生魚の第1種好中球に観察される誘導型顆粒 (inducible chromophobic

granule, iG) は第4種および第5種好中球には認められなかった。第4種好中球の顆粒をoG-1<sup>Cv4th</sup>およびeoG-2<sup>Cv4th</sup>、第5種好中球の顆粒をeoG-1<sup>Cv5th</sup>およびeoG-2<sup>Cv5th</sup>と呼ぶこととする。

第4種好中球のoG-1<sup>Cv4th</sup>には各種リゾチーム酵素は認められず (Figs. 1B-1D)、顆粒全体がペルオキシダーゼ (PO) およびズダン黒B (SBB) 陽性であった (Figs. 1E & 1G)。一方、eoG-2<sup>Cv4th</sup>のL0には各種リゾチーム酵素が検出されたが、陽性像はL0内のL0よりも狭い領域 (L0-0) に限定されていた (Figs. 1B-1D)。また、β-グルクロニダーゼ陽性のL0-0が多数観察された (Fig. 1C)。eoG-2<sup>Cv4th</sup>のL1はPO陽性であり (Fig. 1E)、『斑』 [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出現する褐色の斑 (spot)] の形成も認められた (Fig. 1F)。eoG-2<sup>Cv4th</sup>のL1はSBB陽性を示した。本顆粒はオイルレッドO (ORO) およびズダンIIIに陽性反応を示さなかったが、染色後の核染色 (マイヤーのヘマトキシリン染色) でL0-0が青染された (Fig. 1H)。第5種好中球のeoG-1<sup>Cv5th</sup>もoG-1<sup>Cv4th</sup>と同様に各種リゾチーム酵素は検出されず (Figs. 2B & 2C)、顆粒全体がペルオキシダーゼ (PO) であったが (Fig. 2D)、ズダン黒B

Table 1. Cont.

Staining <sup>*1,*2</sup>	Origin of neutrophils, type of granules and reaction <sup>*3</sup>								
	Third type: Neutrophil-3 <sup>rd</sup>			Fish infested with <i>C. verrucosa</i>			Fifth type: Neutrophil-5 <sup>th</sup>		
	eoG-2 <sup>Cv3rd</sup>			Fourth type: Neutrophil-4 <sup>th</sup>			eoG-2 <sup>Cv5th</sup>		
eoG-1 <sup>Cv3rd</sup>	L0	L1	eoG-1 <sup>Cv4th</sup>	L0	L1	eoG-1 <sup>Cv5th</sup>	L0	L1	
MGG	C	E	C	C	E	C	C	E	C
AIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AcP	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-
β-Glu	-	+ <sup>*4,*5</sup>	-	-	+ ↑ <sup>*5</sup>	-	-	+ ↑ <sup>*5</sup>	-
α-NAE	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-
α-NBE	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-
CAE	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-
PO	+	-	+	+	-	+	+	-	+
		(SF: +)			(SF: +)			(SF: -)	
SBB	-	-	-	+	-	+	-	-	-
				(SF: -)					
Hem	-	+	-	-	-	-	-	+ <sup>*5</sup>	-
ORO, S-III	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hem	-	+	-	-	+ <sup>*5</sup>	-	-	+ <sup>*5</sup>	-

\*1 MGG, May-Grünwald-Giemsa; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β-Glu, β-glucuronidase; α-NAE, α-naphthyl acetate esterase; α-NBE, α-naphthyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase; SBB, Sudan black B; ORO, oil red O; S-III, sudan III; Hem, hematoxylin stain (Mayer's; counter stain).

\*2 All types of granules showed negative reaction to other tests [periodic acid Schiff reaction (PAS), PAS after digestion with α-amylase, alcian blue (pH1.0, pH2.5), toluidine blue in distilled].

\*3 eoβG-1<sup>Cv3rd</sup>, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-3<sup>rd</sup> oaiCv; eoβG-2<sup>Cv3rd</sup>, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-3<sup>rd</sup> oaiCv; oG-1<sup>Cv4th</sup>, ordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-4<sup>th</sup> oaiCv; eoG-2<sup>Cv4th</sup>, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4<sup>th</sup> oaiCv; eoG-1<sup>Cv5th</sup>, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-5<sup>th</sup> oaiCv; eoG-2<sup>Cv5th</sup>, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-5<sup>th</sup> oaiCv; L0, layer 0; L1, layer 1; C, chromophobic; E, eosinophilic; +, positive; -, negative (non-detection); ↑, increase of positive site; SF, spot formation.

\*4 A few of L0 were positive.

\*5 Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

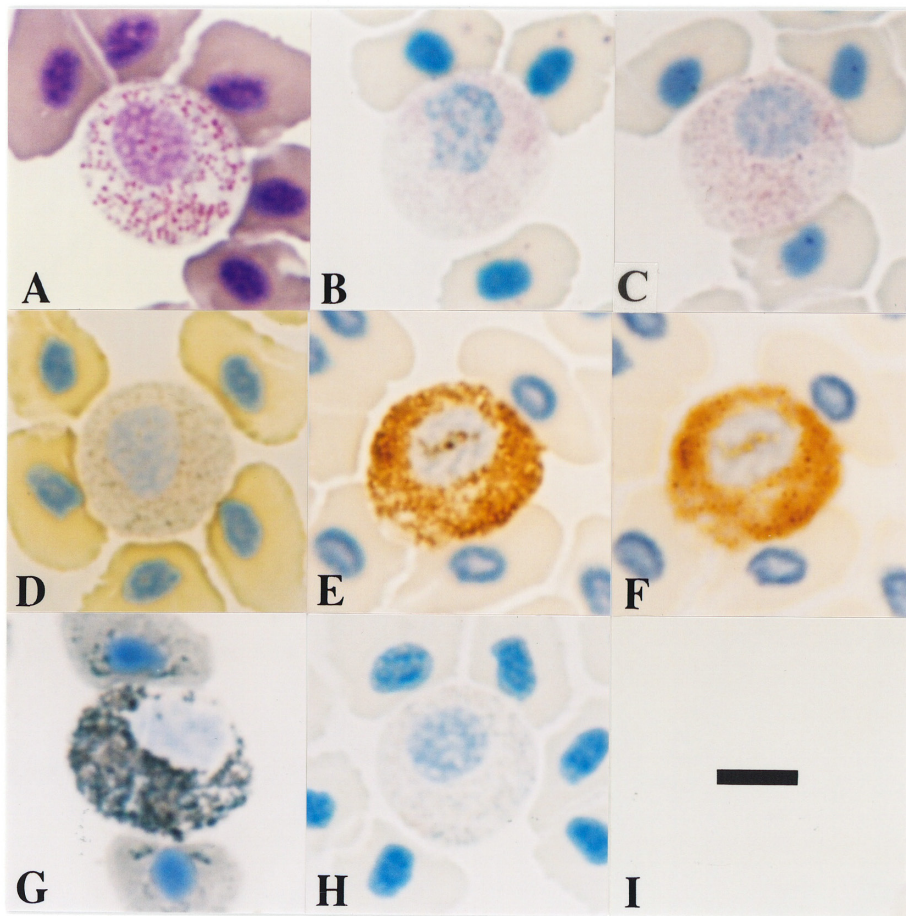
\*6 Kondo & Yasumoto (2019)<sup>4)</sup>; \*c present report.

(SBB) は陰性であった (Fig. 2E)。eoG-2<sup>Cv4th</sup>と同様にeoG-2<sup>Cv5th</sup>のL0-0には各種リゾソーム酵素が局在しており (Figs. 2B & 2C), 多数のβ-グルクロニダーゼ (β-Glu) 陽性のL0-0が認められた (Fig. 2C)。eoG-2<sup>Cv5th</sup>のL1はPO陽性であったが (Fig. 2D), '斑'の形成は観察されなかった。eoG-2<sup>Cv5th</sup>はSBB, OROおよびズダンIIIに陰性であったが, これらの染色後の核染色によってL0-0が青染された (Fig. 2E; Table 1)。

第4種好中球のSBB染色標本において, G-2のL0がヘマトキシリンで染色されない理由として, 第4種好中球のG-2のL1がSBB陽性であるため, SBB染色後のヘマトキシリン染色ではヘマトキシリンがSBBに染色されたL1を通過できず, L0に到達しないと考えられる。

タイノエ寄生魚において, 第1種好中球は形態異常を示さない通常寄生魚に観察され<sup>1,2)</sup>, 第2種好中球はMIを示し, 多数のタイノエが口腔に限定的に寄生している異常寄生魚

に認められる<sup>3)</sup>。また, 第3種好中球はMIと眼球突出 (眼球内に気泡を含む) を起こし, 多数のタイノエが口腔以外にも寄生する超異常寄生魚に見られる<sup>4)</sup>。MIや眼球突出は異常寄生や超異常寄生が起こる前にすでに通常寄生魚で観察されている<sup>3,4)</sup>。したがって, 第4種好中球は第1種好中球を有する通常寄生魚が, 第2種好中球を持つ異常寄生魚になる過程に, 第5種好中球は第1種好中球を有する通常寄生魚が, 第3種好中球を持つ超異常寄生魚になる過程で出現する好中球であると言える。第1種好中球と第4種好中球の違いは, 通常寄生魚がMIを起こした場合の変化であり, 第4種好中球と第2種好中球の間のそれは, MIを起こした通常寄生魚に多数のタイノエが寄生した場合の変化である (第5種好中球の場合には, 前文の第4種を '第5種' に, 第2種を '第3種' に変更し, MIを 'MIと眼球突出' とする)。以上の観点から各種好中球を比較すると以下の様になる (以後, 各種oG-1とeoG-1は単にG-1と, oG-2と各種eoG-1は



**Fig. 1.** Fourth neutrophil type from red seabream infected with *Ceratomyxa verrucosa*. A, May-Grünwald-Giemsa; B, acid phosphatase; C, β-glucuronidase; D, α-naphtyl butyrate esterase. E & F, peroxidase [same cells in E & F with different focus. The oG-1<sup>Cv4th</sup> and L1 of eoG-2<sup>Cv4th</sup> show positive reaction. Note spot (brown) formation in F]; G, Sudan black B (The oG-1<sup>Cv4th</sup> and L1 of eoG-2<sup>Cv4th</sup> show positive reaction); H, Oil red O (negative reaction. Note hematoxylin positive inner area of L0 (L0-0) in eoG-2<sup>Cv4th</sup>). I, scale bar (5 μm) which is adapted to all figures (A-H) in Fig. 2. Note positive L0-0 in B-D.



単にG-2と表記する)。

### 1. 第1種好中球<sup>1,2)</sup>と第4種好中球の比較

通常寄生魚がMIを起こした場合、第1種好中球に存在した誘導型顆粒が形成されなくなる。第1種好中球ではG-2のL0は酸性ホスファターゼ (AcP) 陰性であるが、第4種好中球では未寄生魚の好中球と同様にAcP陽性になる。しかし、局在部位は未寄生魚ではL0であったのに対して<sup>6)</sup>、第4種好中球ではL0-0となる。β-Glu陽性のG-2は第1種好中球、第4種好中球ともに、未寄生魚<sup>6)</sup>に比べて多数であるが、局在部位は第1種好中球のL0から、第4種好中球のL0-0へと変化する。各種エステラーゼ活性の局在性もβ-Gluと同様に第1種好中球と第4種好中球で異なる。POは第1種好中球、第4種好中球ともにG-1とG-2のL1に認められるが、第1種好中球では観察されない斑が、第4種好中球では未寄生魚と同様に形成される。第1種好中球はSBB陰性であるが、第4種好中球では未寄生魚<sup>6)</sup>と同様にG-1とG-2のL1が陽性反応を示す。第4種好中球のG-2のL0-0はヘマトキシリン陽性であるが、未寄生魚<sup>6)</sup>と第1種好中球では陰性である。

### 2. 第4種好中球と第2種好中球<sup>3)</sup>の比較

MIを起こして第4種好中球を有するようになった通常寄生魚に、多数のタイノエが寄生した場合、第2種好中球が出現する。第2種好中球ではβ-Glu陽性のG-2が減少し、局

在部位はAcPや各種エステラーゼとともに、第4種好中球とは異なりL0である (第4種好中球ではL0-0)。両好中球種間にPOの局在性に变化は見られないが、第4種好中球に観察された斑は、第2種では形成されない。また、第4種好中球で陽性であったSBBが、第2種好中球では陰性である。第4種好中球と同様に第2種好中球でもG-2はヘマトキシリン陽性であるが、陽性部位は第4種好中球ではL0-0であるのに対して第2種好中球ではL0である。

### 3. 第1種好中球<sup>1,2)</sup>と第5種好中球の比較

通常寄生魚がMIと気泡をとまなう眼球突出を起こした場合、第4種好中球と同様に第1種好中球に存在した誘導型顆粒が形成されなくなる。また、各種リソゾーム酵素の局在性の变化は第4種好中球と同じである。POは第1種好中球、第4種好中球と同様にG-1とG-2のL1に認められるが、第1種好中球では観察されず、第4種好中球では未寄生魚<sup>6)</sup>と同様に認められる斑が、第5種好中球では形成されない。第1種好中球はSBB陰性であり、第4種好中球では未寄生魚<sup>6)</sup>と同様にG-1とG-2のL1が陽性反応を示すが、第5種好中球ではG-1、G-2ともにSBB陰性である。第5種好中球のG-2のL0-0は第4種好中球と同様にヘマトキシリン陽性である。

### 4. 第5種好中球と第3種好中球<sup>4)</sup>の比較

MIと眼球突出を起こして第5種好中球を有するように

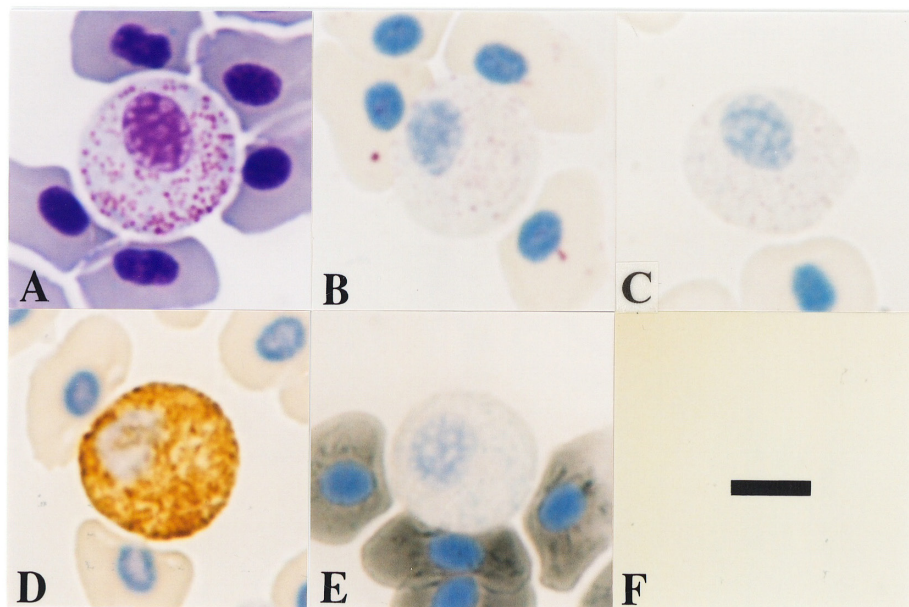


Fig. 2. Fifth neutrophil type from red seabream infected with *Ceratothoa verrucosa*. A, May-Grünwald-Giemsa; B, acid phosphatase; C, β-glucuronidase; D, peroxidase [The oG-2<sup>Cv5th</sup> and L1 of eoG-2<sup>Cv5th</sup> show positive reaction, however, spot was not formed]; E, Sudan black B (negative reaction. Note hematoxylin positive inner area of L0 (L0-0) in eoG-2<sup>Cv5th</sup>); F, scale bar (5 μm) which is adapted to all figures (A-E) in Fig. 3. Note positive L0-0 in B & C.

なった通常寄生魚に、多数のタイノエが寄生した場合、第3種好中球が出現する。第3種好中球では $\beta$ -Glu陽性のG-2の数は第5種好中球と同様に多いが、局在部位はAcPや各種エステラーゼとともに、第5種好中球とは異なりL0である。第5種好中球と第3種好中球の間には、POの局在性に変化は認められないが、第5種好中球では形成されない斑が、第3種好中球では認められる。第5種好中球と第3種好中球のG-2はヘマトキシリン陽性であるが、陽性部位は第5種好中球ではL0-0であるのに対して第3種好中球ではL0である。

### 5. 第4種好中球と第5種好中球の比較

第4種好中球はMIとなった通常寄生魚（異常魚A）に、第5種好中球はMIと眼球突出を起こした通常寄生魚（異常魚B）に観察される。MIののちに眼球突出が起こるのであれば、第4種好中球を有する異常魚Aが眼球突出を起こすことで、好中球は第5種好中球になると言える。本研究における異常魚A-1と、第3種好中球が認められた個体では<sup>4)</sup>、MIが眼球突出よりも先に起こった。したがって、異常魚の好中球が第4種好中球から第5種好中球へ変化することは有り得る<sup>\*2</sup>。両好中球を比較すると、第4種好中球のPO染色標本に観察される斑が、第5種好中球では形成されず、SBB染色性が陽性（第4種好中球）から陰性（第5種好中球）になる。

以上の各種好中球間に見られる変化を説明するためには、少なくとも4種類の因子（ $\alpha$ 因子、 $\beta$ 因子、 $\gamma$ 因子、 $\delta$ 因子）が必要である。なお、染色性の陽性と陰性の違いはその被染色物質の発現の有無と考へ、陽性部位の数の増減は発現量の違いと解釈することとする。 $\alpha$ 因子はPO染色標本上における斑形成を阻害する物質と定義する。 $\beta$ 因子はヘマトキシリン染色に陽性の物質である。 $\gamma$ 因子と $\delta$ 因子はリソゾーム酵素や $\beta$ 因子と相互作用してこれらの局在性を変化させる物質であり、 $\gamma$ 因子はリソゾーム酵素とは作用するが、 $\beta$ 因子とは反応せず、 $\delta$ 因子は $\beta$ 因子と相互作用する物質である（ $\delta$ 因子がリソゾーム酵素と反応するか否かは断定できない）。未寄生魚のPO染色標本において形成される斑は、タイノエの寄生によって出現する第1種、第2種および第5種好中球では観察されない。この現象を説明するために、これら3種類の好中球では $\alpha$ 因子がG-2に蓄積することで斑が形成されなくなると考えることとする。第2種から第5種好中球のG-2のL0またはL0-0はヘマト

キシリン陽性であることから、 $\beta$ 因子はこれらの好中球に共通して発現すると言える。また、第2種から第5種好中球を有する寄生魚ではいずれもMIが起こっていることから、口の閉鎖不全が $\beta$ 因子の発現に関わっていると推察される。未寄生魚と第1種および第2種好中球では、リソゾーム酵素はG-2のL0に局在し、第3種から第5種好中球ではL0内の狭い領域であるL0-0に検出された。しかし、 $\beta$ 因子の局在部位は第2種好中球と第3種好中球ではL0であるのに対して、第4種好中球と第5種好中球ではL0-0であった。これらの違いを $\gamma$ 因子と $\delta$ 因子を用いて説明する。MIを起こした通常寄生魚（異常魚A）では $\gamma$ 因子と $\delta$ 因子が発現してG-2に蓄積することで、 $\gamma$ 因子がリソゾーム酵素と、 $\delta$ 因子が $\beta$ 因子と相互作用してリソゾーム酵素と $\beta$ 因子の局在部位をともにL0からL0-0に変える。異常魚Aに多数のタイノエが寄生すると $\gamma$ 因子と $\delta$ 因子の発現が止まり、リソゾーム酵素と $\beta$ 因子の局在部位はL0となる。 $\gamma$ 因子と $\delta$ 因子はMIと眼球突出を起こした異常魚Bにおいても発現するため、第5種好中球におけるリソゾーム酵素と $\beta$ 因子の局在部位は第4種好中球と同様にL0-0であるが、異常魚Bに多数のタイノエが寄生した場合、 $\gamma$ 因子は発現するが $\delta$ 因子の発現は止まるために、リソゾーム酵素はL0-0に、 $\beta$ 因子はL0に検出される。

## 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 *Ceratomyxa 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: タイノエに寄生されたマダイの頭腎と脾臓に観察される顆粒球について. 水大校研報, **66**, 199-201 (2018) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: On the granulocytes observed in head kidney and spleen of red seabream *Pagrus major* parasitized with *Ceratomyxa verrucosa*. *J Nat Fish Univ*, **66**, 199-201 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 3) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: タイノエに寄生されたマダイに観察される第2の好中球. 水大校研報, **66**, 209-

<sup>\*2</sup>2019年夏に釣獲され、現在育成中の通常寄生魚2尾では、MIは認められないものの、気泡をともなった眼球が突出している。

- 214 (2018) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Second neutrophil type observed in red seabream *Pagrus major* with parasitized *Ceratothoa verrucosa*. *J Nat Fish Univ*, **66**, 209-214 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 近藤昌和, 安本信哉: タイノエに寄生されたマダイの第3の好中球: 症例報告. 水大校研報, **67**, 223-229 (2019) [Kondo M, Yasumoto S: Third neutrophil type in red seabream *Pagrus major* infected with *Ceratothoa verrucosa*: A case report. *J Nat Fish Univ*, **67**, 223-229 (2019) (in Japanese with English abstract)]
- 5) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Two types of granules in neutrophils from red sea-bream *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **64**, 269-271 (2016)
- 6) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Cytochemical characteristics of neutrophil granules from red seabream *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 141-145 (2017)