

ヌタウナギ好中球の2種類の顆粒

近藤昌和[†], 安本信哉Two Types of Granules in Neutrophils from the Inshore Hagfish *Eptatretus burgeri*Masakazu Kondo[†] and Shinya Yasumoto

Abstract : Two types of stratified (two-layered) granules (type 1, G-1; type 2, G-2) were observed in the neutrophils of the inshore hagfish *Eptatretus burgeri*. The G-1 consisted of chromophobic inner layer (L0) and basophilic outer layer (L1). On the other hand, the G-2 had basophilic L0 and chromophobic L1. The L0 of G-1 showed positive reaction to α -naphthyl butyrate esterase.

Key words : granule, neutrophil, hagfish, *Eptatretus burgeri*

著者らはこれまでに、様々な魚類の好中球に多条件下 Romanowsky型染色評価法 (Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV) を適用し、好中球顆粒の特徴を調べてきた (近藤ら^{1,2)} を参照)。マダイ *Pagrus major* の好中球顆粒については当初、好酸性顆粒 (α 顆粒) と難染性顆粒 (β 顆粒) の2種類を報告した³⁾。しかし、後に α 顆粒はその周囲に難染性領域を持つことが明らかとなり、現在では、マダイの好中球顆粒は β 顆粒に相当する β G-1 と、エオシン好性の芯様構造 (α 顆粒に相当) とその周囲の難染性領域からなる β G-2 の2種類に分類されている⁴⁾。前報において著者らは、MRSV をヌタウナギ *Eptatretus burgeri* の好中球に適用し、好中球には1種類の好塩基性顆粒 (γ 顆粒)

が存在するとした⁵⁾。前報⁵⁾に用いた標本を再度詳細に観察したところ、この解釈は正しくなく、ヌタウナギの好中球には2種類の顆粒が存在し、ともに2層 (芯様構造である内層をL0、L0の周囲の外層をL1と称す) からなる成層構造を有することが明らかとなったのでここに報告する。MRSVで設定した81種類の染色条件のうち (近藤ら³⁾の Table 1を参照)、唯一の染色条件[標本番号preparation number (PN) 51]において、好中球に2種類の成層顆粒が観察された (Fig. 1A)。この染色条件は5 mMリン酸緩衝液 ($\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$; pH5.0) を希釈液に用いたMay-Grünwald-Giemsa染色である。すなわち、血液塗沫標本上にMay-Grünwald液 (Sigma) を1.5 ml載せて5分間固定後、

Table 1. Cytochemical characteristics of neutrophil granules from inshore hagfish *Eptatretus burgeri*

Staining ^{*1,*2}	Type of granules and reaction ^{*3}			
	G-1		G-2	
	L0	L1	L0	L1
MGG	C	B	B	C
α -NBE	+	-	-	-

^{*1}MGG, May-Grünwald-Giemsa; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase.

^{*2}All types of granules showed negative reaction to other tests (alkaline phosphatase, acid phosphatase, β -glucuronidase, α -naphthyl acetate esterase, naphthol AS-D chloroacetate esterase, peroxidase, periodic acid Schiff reaction, alcian blue (pH1.0, pH2.5), toluidine blue in distilled, Sudan black B, oil red O, Sudan III).

^{*3}L0, layer 0; L1, layer 1; C, chromophobic; B, basophilic; +, positive; -, negative (non-detection).

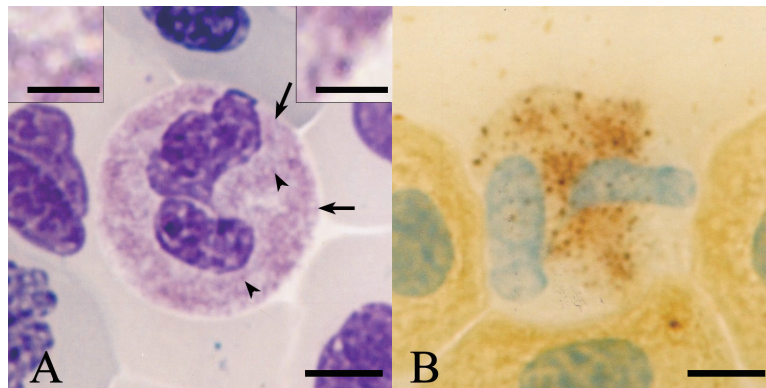


Fig. 1. Neutrophils from inshore hagfish *Eptatretus burgeri*. A, May-Grünwald-Giemsa [PN=51 (See Kondo et al. 2019²⁾). Note two types of granules, type 1 (G-1) and type 2 (G-2). The G-1 (arrows; upper left inset) consist of chromophobic inner layer (L0) and basophilic outer layer (L1). The G-2 (arrowheads; upper right inset) consist of basophilic L0 and chromophobic L1. The L1 of G-1 and L0 of G-2 show purple in this staining condition. Generally, L0 of G-1 is larger than L0 of G-2; B, α -naphthyl butyrate esterase (positive reaction was detected in L0 of G-1). Counter stain in B, hematoxylin (Mayer). Bars: A & B, 5 μ m; insets in A, 1 μ m.

同量のリン酸緩衝液を添加・混和して10分間染色し、ついでGiemsa染色液 [前述の緩衝液を蒸留水で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] で60分間染色した。

スタウナギの2種類の好中球顆粒のうち、難染色性のL0と好塩基性のL1からなる顆粒を1型顆粒 (G-1) とし、好塩基性のL0と難染色性のL1からなる顆粒を2型顆粒 (G-2) とする (Fig. 2)。G-1のL0はG-2のL0よりも大型であるが、一部のG-1とG-2ではL0が同じ大きさであった。G-1のL1が明瞭な好塩基性を示す染色条件はPN51のみであり、この条件ではL1が赤紫色を呈する。一方、G-2のL0は多くの染色条件で淡青色を呈するが⁵⁾、PN51ではG-1のL1と同様に赤紫色を示した。前報では、PN51の標本で好中球の細胞

質において赤紫を呈するのは細胞質基質であるとした⁵⁾。本研究の結果、G-1における赤紫色のL1とG-2の赤紫色のL0をとともに細胞質基質であると、また、G-1のL0を染色性が低下した γ 顆粒 (本報告におけるG-2のL0に相当) であると誤認したと思われる。

スタウナギの好中球には α -naphthyl butyrate esterase活性が粒子状に観察されるが (Fig. 1B)⁵⁾、本酵素活性の局在部位は陽性粒子の大きさからG-1のL0に相当すると考えられる (Table 1)。

文 献

- 1) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: アミアの顆粒球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **64**, 196-203 (2016) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of granulocytes from bowfin *Amia calva*. *J Nat Fish Univ*, **64**, 196-203 (2016) (in Japanese with English abstract)]
- 2) 近藤昌和, 立石航平, 平山尋暉, 安本信哉, 高橋幸則: ドチザメ科サメ類 (ドチザメ, ホシザメ, シロザメ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **67**, 141-151 (2019) [Kondo M, Tateishi K, Hirayama H, Yasumoto S, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophils from Triakidae sharks (banded houndshark *Triakis scyllium*, star-spotted smooth-hound *Mustelus manazo* and spotless

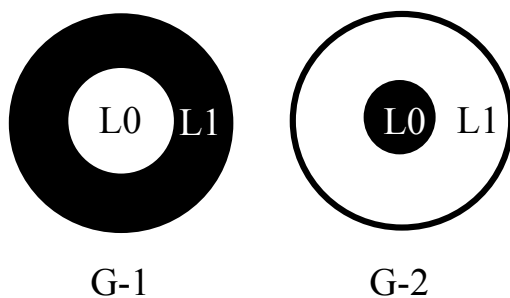


Fig. 2. Structure of two types of neutrophil granules from inshore hagfish. G-1, type 1; G-2, type 2; L0, layer 0 (inner layer); L1, layer 1 (outer layer). □, chromophobic; ■, basophilic.

- smooth-hound *M. griseus*). *J Nat Fish Univ*, **67**, 141-151 (2019) (in Japanese with English abstract)]
- 3) 近藤昌和, 坂口隆亮, 金丸俊介, 柏村直宏, 高橋幸則: マダイ好中球の形態学のおよび細胞化学的特徴. 水大校研報, **58**, 15-22 (2009) [Kondo M, Sakaguchi T, Kanamaru S, Kashiwamura N, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophils from red sea-bream, *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **58**, 15-22 (2009) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 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)
- 5) 近藤昌和, 高橋幸則: スタウナギ好中球の形態学のおよび細胞化学的特徴. 水大校研報, **57**, 299-308 (2009) [Kondo M, Takahashi Y: Morphological and cytochemical characteristics of neutrophil from hagfish, *Eptatretus burgeri*. *J Nat Fish Univ*, **57**, 299-308 (2009) (in Japanese with English abstract)]