

タケノコメバル好中球の形態学および細胞化学的特徴

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Morphological and Cytochemical Characteristics of Neutrophil from Oblong Rockfish *Sebastes oblongus*

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological and cytochemical characteristics of neutrophil in the oblong rockfish *Sebastes oblongus* were examined by light microscopy. Two types of granules, chromophobic granule (β G) and basophilic granule (γ G) were observed in the neutrophil. The β G contained rod-shaped central core (RCC) which was stained purple with Giemsa and peroxidase (PO) negative. Surrounding part of RCC (substance of β G) was not stained with Romanowsky-type stain and PO positive. The γ G was stained light blue with May-Grünwald (MG) and MG-Giemsa, but not stained with Giemsa.

Key words : oblong rockfish, *Sebastes oblongus*, neutrophil, morphology, cytochemistry

緒 言

著者らはこれまでに、多条件下 Romanowsky 型染色評価法 (Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV) を各種魚類の好中球に適応し、形態学的特徴を明らかにするとともに、細胞化学的特徴についても調べ、好中球顆粒の種類や存在様式が多様であることを報告した¹⁻²⁷⁾。肉鰭綱肺魚亜綱のアフリカハイギョ *Protopterus annectens* では染色条件の違いによって種々の染色性を示す汎染色性顆粒のみが認められるが¹⁸⁾、魚類を含む脊椎動物の原始の系統の現生種であるスタウナギ *Eptatretus burgeri* や、条鰭綱の中で最も早期に出現したとされる腕鰭亜綱ポリプテルス目のピキール *Polypterus endlicheri* および種々の真骨魚類 (条鰭綱) では好中球顆粒は好酸性 (好エオシン性) 顆粒 (α 顆粒)、難染色性顆粒 (β 顆粒) および好塩基性顆粒 (γ 顆粒) の組み合わせからなる^{1-17,19-26)}。 α 顆粒は MRSV による染色特

性 (Multiple Romanowsky-type Stain Characteristics, MRSC) の違いから 2 種類に大別され²⁴⁾、May-Grünwald (MG) 染色で染まるが、Giemsa 染色では染色されない (MG+G- と表記) α 1 顆粒と、両染色でともに染色される (MG+G+) α 2 顆粒に分類されている^{24,27)}。また、染色性の違いから、 γ 顆粒は MG+G+ の γ 1 顆粒、MG-G+ の γ 2 顆粒および MG+G- の γ 3 顆粒の 3 種類に分類されている^{26,27)}。スタウナギの好中球には γ 1 顆粒のみが観察されており¹⁴⁾、ピキールでは、好中球に 2 種類の α 顆粒 (α 1 顆粒、 α 2 顆粒) と γ 2 顆粒が存在する¹³⁾。一方、真骨魚類は α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒の組み合わせの違いから 4 群 (I 群、 α 顆粒 + β 顆粒 + γ 顆粒; II 群、 α 顆粒 + β 顆粒; III 群、 β 顆粒のみ; IV 群、 β 顆粒 + γ 顆粒)²⁷⁾ に大別され、さらに、 α 顆粒や γ 顆粒の種類の違いによって複数の下位群に分類されている²⁷⁾。また、前報²⁷⁾において、好中球におけるペルオキシダーゼ (PO) 活性の局在部位の違いを “a” と “b” で表し (a,

¹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

β 顆粒のみ; b, β 顆粒と核), 下位群を表す大文字のアルファベットに続いて記すとともに, PO 活性局在部位の違いも群を下位群に分類する指標とすることを提案した。この方法により, 真骨魚類の I 群は, $\alpha 2$ 顆粒, β 顆粒および $\gamma 1$ 顆粒からなり PO 活性が β 顆粒のみに認められる (以後, $\alpha 2\beta 1a$ と表記。以下, 顆粒の存在様式を同様に略記。) I -Aa 群 (アジアアロワナ *Scleropages formosus*¹²⁾, ナイルティラピア *Oreochromis niloticus*^{3,24)}, マアジ *Trachurus japonicus*²⁵⁾ と $\alpha 2\beta 2a$ の I -Ba 群 (ウナギ *Anguilla japonica*¹⁵⁾, コイ *Cyprinus carpio*^{1,2,24)}, イサキ *Parapristipoma trilineatum*^{4,24)}, ブリ *Seriola quinqueradiata*¹⁷⁾, カンパチ *S. dumerili*²⁵⁾, ヒラマサ *S. lalandi*²⁵⁾ に分類される²⁷⁾。II 群は $\alpha 2\beta a$ の II -Aa 群 (トラフグ *Takifugu rubripes*⁹⁾, クサフグ *T. niphobles*²⁷⁾, カワハギ *Stephanolepis cirrhifer*²⁷⁾, $\alpha 2\beta b$ の II -Ab 群 (コモンフグ *Takifugu poecilonotus*²⁷⁾ および $\alpha 1\beta a$ の II -Ba 群 (マダイ *Pagrus major*¹⁶⁾) の三つの下位群に分けられ²⁷⁾。III 群は βa の III -a 群 (ノーザンパイク *Exos lucius*¹¹⁾, ブルーギル *Lepomis macrochirus*⁶⁾, スズキ *Lateolabrax japonicus*¹⁰⁾, ヒラスズキ *L. latus*¹⁰⁾, メジナ *Girella punctata*^{5,7)}, ヒラメ *Paralichthys olivaceus*⁷⁾, マコガレイ *Pleuronectes yokohamae*²³⁾, マツカワ *Veraspermoseri*²³⁾ と βb の III -b 群 (アユ *Plecoglossus altivelis*⁸⁾, ボラ *Mugil cephalus*²⁰⁾, メナダ *Chelon haematocheilus*²¹⁾, マハタ *Epinephelus septemfasciatus*¹⁹⁾ に²⁷⁾。IV 群は $\gamma 1\beta a$ の IV -Aa 群 (アカメ *Lates japonicus*²²⁾) と $\gamma 3\beta a$ の IV -Ba 群 (カサゴ *Sebastes marmoratus*²⁶⁾) に分類される²⁷⁾。

魚類における好中球顆粒の多様性を明らかにするために, カサゴと同様にカサゴ目フサカサゴ科メバル亜科に属し, 属がカサゴとは異なるタケノコメバル *Sebastes oblongus* の好中球の形態学および細胞化学的特性を調べたところ, 既報の魚種とは染色性において異なる β 顆粒と γ 顆粒が認められたのでここに報告する。

材料および方法

吉見湾 (下関市) で釣獲したタケノコメバル (体重約 80 g) を, 水産大学の飼育施設に搬入し, 流水条件下で 1 週間以上飼育したのち実験に供した。飼育期間中は, 市販の配合飼料 (マリン 6 号, 林兼産業) を適宜給餌した。なお, 実験時の水温は $23.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ であった。

血液塗沫標本の作製, MRSV (Table 1) および各種細胞化学染色法は近藤・高橋¹⁵⁾ に従った。

結 果

タケノコメバルの好中球には 2 種類の顆粒 (β 顆粒, γ 顆粒) と Y 小体⁹⁾ が認められた (Fig. 1)。 β 顆粒は円形または卵円形であり (長径 $1.5 \mu\text{m}$ 以下), 顆粒の中心に長径 $1.5 \mu\text{m}$ 以下, 短径 $0.5 \mu\text{m}$ 以下の赤紫色を呈する桿状の芯 (桿状中心芯) が観察された (Fig. 1A)。桿状中心芯の周囲にあたる β 顆粒の実質は, MRSV のいずれの染色条件においても明瞭な色調を示さなかった。 γ 顆粒は長径 $0.3 \mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形であった (Fig. 1B)。桿状中心芯および γ 顆粒の MRSC を Table 2 に示す。Y 小体は種々の形態 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) を示し, MRSV のいずれの染色条件においても青色から淡青色を呈した。種々の形態の核が偏在しており, 二分葉状の分葉核も観察された。

β 顆粒の桿状中心芯の MRSC

桿状中心芯は MG 染色標本には観察されなかった。しかし, Giemsa 染色では, 希釈液に蒸留水を用いた場合にのみ, いずれの好中球にも赤紫色の桿状中心芯が多数認められた (Fig. 1A)。また, MG-Giemsa (MGG) 染色では, 希釈液に蒸留水を用いた場合にのみ少数の好中球に赤紫色の桿状中心芯が観察されたが, その数は少なく, 小型であり, 多くの好中球では桿状中心芯は認められなかった (Fig. 1B)。

γ 顆粒の MRSC

γ 顆粒は MG 染色では, MRSV のいずれの染色条件においても淡青色を示したが, Giemsa 染色標本には観察されなかった (Fig. 1A)。また, MGG 染色では MG 染色と同様に, 淡青色を呈した (Fig. 1B)。

細胞化学的特徴

タケノコメバルの好中球の細胞化学的特徴を Table 3 に示す。アルカリ性フォスファターゼ (AIP), 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), α -ナフチルブチレートエステラーゼ (α -NBE), ナフトール AS-D クロロアセテートエステラーゼ (NASDCAE) はいずれも円形または卵円形 (長径 $0.3 \mu\text{m}$ 以下) の陽性顆粒として観察され (Figs. 2A-2E), α -NBE 陽性顆粒は少数であったが, 他の酵素陽性顆粒は多数認められた。また, AIP 染色の核染色に用いたサフラニン O によって, 桿状の陽性顆粒が多数観察された (Fig. 2A)。 β -グルクロニダーゼは検出されなかった。PO 活性は円形または卵円形の陽性顆粒 (長径 $1.5 \mu\text{m}$ 以下) として多数観察された

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, 15 min
4		: 5 mM PB, pH7.0	45		: $1/_{150}$ M PB, pH8.0, 1:100, 60 min
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, 15 min
10	G	: DW, 1:20, 15 min	51		: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60 min
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, 15 min
14		: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15 min	55		: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60 min
15		: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60 min	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, 15 min
18		: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15 min	59		: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60 min
19		: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60 min	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, 15 min
22		: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15 min	63		: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60 min
23		: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60 min	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, 15 min
26		: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15 min	67		: $1/_{15}$ M PB, pH5.0, 1:20, 60 min
27		: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60 min	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, 60 min	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, 15 min
34		: $1/_{150}$ M PB, pH6.0, 1:20, 15 min	75		: $1/_{15}$ M PB, pH7.0, 1:20, 60 min
35		: $1/_{150}$ M PB, pH6.0, 1:20, 60 min	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, 15 min
40		: $1/_{150}$ M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	81		: $1/_{15}$ M PB, pH8.0, 1:100, 60 min
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.

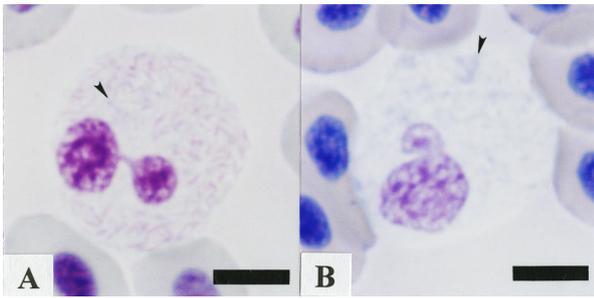


Fig. 1. Neutrophil of oblong rockfish *Sebastes oblongus*. Multiple Romanowsky-type stain. A, Giemsa (PN=10); B, May-Grünwald · Giemsa (PN=46); PN, preparation number (See Table 1). Note rod-shaped central core of β granule in A (reddish purple) and basophilic granule in B (light blue). Arrowheads show Y-body. Bars=5 μ m.

が (Fig. 2F), その中心には桿状の陰性部位が認められた。核にも PO 陽性反応が検出された。

円形または卵円形の periodic acid Schiff 反応 (PAS) 陽性顆粒 (長径 0.3 μ m 以下) が多数観察され, 細胞質基質も PAS 弱陽性であった (Fig. 2G)。いずれの PAS 陽性部位も α -アミラーゼ処理によって完全に消失した。アルシアンブルー染色では陽性部位は観察されなかった。トルイジンブルー (TB) 染色によって, 核が青染され, 種々の形態 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) を示す青色の

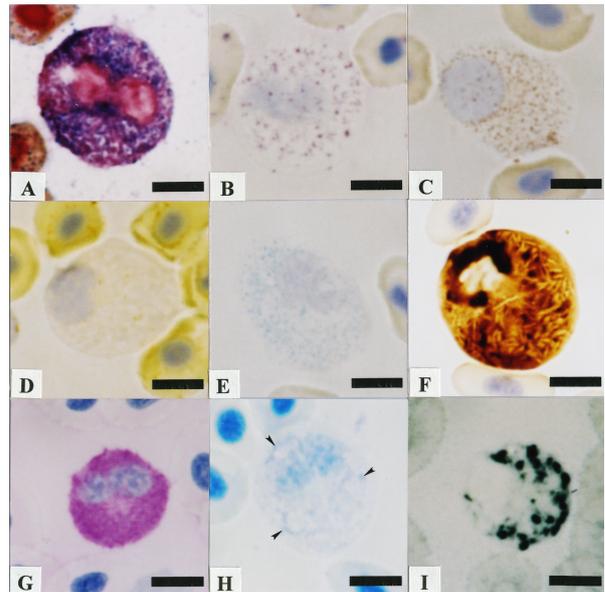


Fig. 2. Cytochemistry of neutrophil in oblong rockfish *Sebastes oblongus*. A, alkaline phosphatase (rod-shaped central core of β granule is stained with nuclear stain (safranin O)); B, acid phosphatase; C, α -naphthyl acetate esterase; D, α -naphthyl butyrate esterase; E, naphthol AS-D chloroacetate esterase; F, peroxidase; G, periodic acid Schiff reaction; H, toluidine blue in distilled water; I, sudan black B. Arrowheads show Y-body. Bars=5 μ m. blue). Arrowheads show Y-body. Bars=5 μ m.

Table 2 Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of γ granule and rod-shaped central core (RCC) of β granule in the neutrophil of oblong rockfish *Sebastes oblongus*

PN	Number										
	RCC	γ									
1	-	++	22	-	-	43	-	-	64	-	++
2	-	++	23	-	-	44	-	-	65	-	++
3	-	++	24	-	-	45	-	-	66	-	++
4	-	++	25	-	-	46	±	++	67	-	++
5	-	++	26	-	-	47	±	++	68	-	++
6	-	++	27	-	-	48	±	++	69	-	++
7	-	++	28	-	-	49	±	++	70	-	++
8	-	++	29	-	-	50	-	++	71	-	++
9	-	++	30	-	-	51	-	++	72	-	++
10	++	-	31	-	-	52	-	++	73	-	++
11	++	-	32	-	-	53	-	++	74	-	++
12	++	-	33	-	-	54	-	++	75	-	++
13	++	-	34	-	-	55	-	++	76	-	++
14	-	-	35	-	-	56	-	++	77	-	++
15	-	-	36	-	-	57	-	++	78	-	++
16	-	-	37	-	-	58	-	++	79	-	++
17	-	-	38	-	-	59	-	++	80	-	++
18	-	-	39	-	-	60	-	++	81	-	++
19	-	-	40	-	-	61	-	++			
20	-	-	41	-	-	62	-	++			
21	-	-	42	-	-	63	-	++			

PN, preparation number (See Table 1); ++, many; ±, some or not observed; -, not observed.

陽性顆粒が少数観察された (Fig. 2H)。また、円形または卵円形の TB 陽性顆粒 (長径 0.3 μm 以下) が多数認められた (Fig. 2H)。オイルレッド O およびズダンⅢ染色では陽性部位は観察されなかったが、ズダンブラック B (SBB) 染色に

よって円形または卵円形の陽性顆粒 (長径 1.0 μm 以下) が少数観察された (Fig. 2I)。

Table 3 Summary of reactions of oblong rockfish *Sebastes oblongus* neutrophil to cytochemical tests

Test	Positive site (shape, number and positive site)
Periodic acid Schiff reaction (PAS)	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm); H
PAS after digestion with α-amylase	—
Alcian blue (pH1.0)	—
Alcian blue (pH2.5)	—
Toluidine blue in distilled water	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm, eq γG; amorphous, a few, eq Yb); N
Sudan black B	G (round or oval, some, φ ≤ 1.0 μm)
Sudan III	—
Oil red O	—
Alkaline phosphatase	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm, eq γG)
Acid phosphatase	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm, eq γG)
β-Glucuronidase	—
α-Naphthyl acetate esterase	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm, eq γG)
α-Naphthyl butyrate esterase	G (round or oval, some, φ ≤ 0.3 μm)
Naphthol AS-D chloroacetate esterase	G (round or oval, many, φ ≤ 0.3 μm, eq γG)
Peroxidase	G (oval, many, φ ≤ 1.5 μm, eq βG*)

G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; —, non detection; βG, β granule; γG, γ granule; Yb, Yasumoto body; eq, equivalent to.

*Substance of βG was positive, but rod-shaped central core of the granule was negative.

考 察

タケノコメバルの好中球には β 顆粒と γ 顆粒が観察された。また、β 顆粒には Giemsa 染色によって赤紫色を呈する桿状中心芯が存在した。これまで著者らが報告した魚種において、桿状中心芯を有する β 顆粒は認められていないことから、桿状中心芯が観察されない β 顆粒を β1 顆粒に、桿状中心芯を有する β 顆粒を β2 顆粒に分類することを提唱する (Table 4)。

Table 4 Staining characteristics of chromophobic granules (β granules)

Staining	Type of β granules			
	β1		β2	
	Substance	RCC	Substance	RCC
May-Grünwald	-	U	-	-
Giemsa	-	U	-	+(P)

RCC, rod-shaped central core; +, positive; -, negative; U, unidentified; P, purple.

桿状中心芯が MG 染色では染まらず、Giemsa 染色によって赤紫色を呈したことから、この色調は MG 染色液中にはなく、Giemsa 染色液に存在するアズール B に起因すると考えられる。また、アズール B は青色の塩基性色素であることから、桿状中心芯の赤紫色はアズール B が異調染色性を呈した結果によると推察される。一方、MGG 染色

標本には桿状中心芯はほとんど観察されなかった。その原因として、塗沫標本の固定法の違いが挙げられ、以下の二つの可能性が考えられる：① MGG 染色の固定 (MG 原液 (エオシン酸メチレンブルーの飽和メタノール溶液) による) 時に桿状中心芯の赤紫色を呈する成分が溶出した；② Giemsa 染色前に行なうメタノール固定時に、ある成分が溶出したことにより桿状中心芯が赤紫色に染色されるようになった。桿状中心芯が MGG 染色標本にほとんど観察されない理由の説明にはさらなる検討が必要である。

タケノコメバルの γ 顆粒は MG および MGG 染色標本に認められたが、Giemsa 染色では染まらなかったことから γ3 顆粒に同定された。これまでに好中球に γ3 顆粒を有する魚種としてカサゴが報告されている²⁶⁾。しかし、タケノコメバルの γ3 顆粒の染色性は、カサゴのそれとは異なっていた。すなわち、カサゴの γ3 顆粒が MG 染色では淡青色を、MGG 染色では淡青色ないし赤紫色を呈するのに対して²⁶⁾、タケノコメバルの γ3 顆粒は MG 染色および MGG 染色によって淡青色を示した。この染色性の違いから、γ3 顆粒を細分し、タケノコメバルの γ3 顆粒を γ3a 顆粒、カサゴのそれを γ3b 顆粒とすることを提唱する (Table 5)。

タケノコメバルの γ3a 顆粒は MG 染色によって淡青色を示すことから、本顆粒は正調メチレンブルー好性であると考えられる。メチレンブルーは Giemsa 染色液中にも存在

Table 5 Staining characteristics of basophilic granules (γ granules)

Staining	Type of γ granules			
	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3a$	$\gamma 3b$
May-Grünwald	+(B)	-	+(B)	+(B)
Giemsa	+(B)	+(B)	-	-
MGG	+(B)	+(B)	+(B)	+(B and/or P)

MGG, May-Grünwald + Giemsa; +, positive; -, negative; B, blue; P, purple

するが, $\gamma 3a$ 顆粒は Giemsa 染色標本には観察されなかった。このことは, $\gamma 3a$ 顆粒中の正調メチレンブルー好性を示す成分は, Giemsa 染色前に行うメタノール固定中に溶出することを示唆している。また, MG 染色および MGG 染色時には, メタノール溶液である MG 原液で固定を行なうことから, MG 液中のエオシン酸メチレンブルーによって, $\gamma 3a$ 顆粒の成分が固定されたと推察される。

各種細胞化学染色結果からタケノコメバルの好中球の各顆粒および Y 小体の成分を次のように推定した (Table 3)。PAS 陽性顆粒は $\beta 2$ 顆粒とは大きさが異なる。一方, $\gamma 3a$ 顆粒とは形状と大きさが類似するが, 数は $\gamma 3a$ 顆粒よりも多かった。また, PAS 陽性顆粒は α -アミラーゼにより完全に消化されることから, グリコーゲンを主成分とする構造

物であると考えられ, $\beta 2$ 顆粒および $\gamma 3a$ 顆粒とは異なると考えられる。TB 染色によって種々の形態を示す青色の粗大な陽性部位は, 形態学的特徴から Y 小体に相当すると考えられる。また, 微細な TB 陽性顆粒の形態学的特徴は $\gamma 3a$ 顆粒に類似することから, $\gamma 3a$ 顆粒も TB 陽性であると考えられる。SBB 陽性顆粒は形態学的特徴と陽性顆粒数が $\beta 2$ 顆粒および $\gamma 3a$ 顆粒とは異なることから, SBB 陽性物質の存在部位は確定できない。 α -NBE 陽性顆粒は形状と大きさが $\gamma 3a$ 顆粒に類似するが, 数は $\gamma 3a$ 顆粒よりも少ない。一方, AIP, AcP, α -NAE および NASDCAE 陽性顆粒は形態学的特徴および数の類似性から $\gamma 3a$ 顆粒に相当すると考えられる。PO 陽性顆粒は円形または卵円形であり, 大きさが $\beta 2$ 顆粒に類似することから, PO 活性は $\beta 2$ 顆粒に存在すると考えられる。また, $\beta 2$ 顆粒の中心に認められた PO 陰性の桿状部位は, 形態学的特徴から桿状中心芯に相当すると考えられる。AIP 染色標本の核染色に用いたサフランin O によって, 桿状の陽性顆粒が多数観察された。この陽性顆粒も形態学的特徴から桿状中心芯であると考えられる。

Table 6. Grouping of teleostei fishes based on the granule composition and PO positive site of neutrophil

Group	Subgroup	Granule	PO	Species and references
I	I -Aa	$\alpha 2, \beta 1, \gamma 1$	$\beta 1$	Asian arowana <i>Scleropages formosus</i> ¹²⁾ , Nile tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> ^{3,24)} , jack-mackerel <i>Trachurus japonicus</i> ²⁵⁾
	I -Ba	$\alpha 2, \beta 1, \gamma 2$	$\beta 1$	Japanese eel <i>Anguilla japonica</i> ¹⁵⁾ , common carp <i>Cyprinus carpio</i> ^{1,2,24)} , striped grunt <i>Parapristipoma trilineatum</i> ^{4,24)} , Japanese amberjack <i>Seriola quinqueradiata</i> ¹⁷⁾ , greater amberjack <i>S. dumerili</i> ²⁵⁾ , yellowtail amberjack <i>S. lalandi</i> ²⁵⁾
II	II -Aa	$\alpha 2, \beta 1$	$\beta 1$	tiger puffer <i>Takifugu rubripes</i> ⁹⁾ , grass puffer <i>T. niphobles</i> ²⁷⁾ , threadsail filefish <i>Stephanolepis cirrhifer</i> ²⁷⁾
	II -Ab	$\alpha 2, \beta 1$	$\beta 1, N$	finepatterned puffer <i>Takifugu poecilonotus</i> ²⁷⁾
	II -Ba	$\alpha 1, \beta 1$	$\beta 1$	red sea-bream <i>Pagrus major</i> ¹⁶⁾
III	III -a	$\beta 1$	$\beta 1$	northern pike <i>Exos lucius</i> ¹¹⁾ , bluegill <i>Lepomis macrochirus</i> ⁶⁾ , Japanese seabass <i>Lateolabrax japonicus</i> ¹⁰⁾ , seabass <i>L. latus</i> ¹⁰⁾ , rudderfish <i>Girella punctata</i> ^{5,7)} , Japanese flounder <i>Paralichthys olivacea</i> ⁷⁾ , marbled sole <i>Pleuronectes yokohamae</i> ²³⁾ , barfin flounder <i>Verasper moseri</i> ²³⁾
	III -b	$\beta 1$	$\beta 1, N$	ayu <i>Plecoglossus altivelis</i> ⁸⁾ , gray mullet <i>Mugil cephalus</i> ²⁰⁾ , redlip mullet <i>Chelon haematocheilus</i> ²¹⁾ , sevenband grouper <i>Epinephelus septemfasciatus</i> ¹⁹⁾
IV	IV -Aa	$\beta 1, \gamma 1$	$\beta 1$	Japanese lates <i>Lates japonicus</i> ²²⁾
	IV -Ba	$\beta 1, \gamma 3b$	$\beta 1$	marbled rockfish <i>Sebastes marmoratus</i> ²⁶⁾
	IV -Ca	$\beta 2, \gamma 3a$	$\beta 2^*$	oblong rockfish <i>Sebastes oblongus</i> ^{**}

$\alpha 1$, eosinophilic granule (α granule) type 1; $\alpha 2$, α granule type 2; β , chromophobic granule; $\gamma 1$, basophilic granule (γ granule) type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2; $\gamma 3$, γ granule type 3; PO, peroxidase; N, nucleus.

*Rod-shaped central core was negative.

**Present report.

これまでに、 β 顆粒を有する魚種では、本顆粒は PO 陽性であると考えられている^{6-12,15-17,19-27}。タケノコメバルにおいても β 顆粒は PO 陽性であると推測された。PO 活性はタケノコメバルの好中球の核にも検出された。これまでに II -Ab 群 (コモンフグ) と III -b 群 (アユ, ボラ, メナダ, マハタ) において PO 活性が核に検出されている^{8,19-21,27}。

タケノコメバルの好中球には β 顆粒と γ 顆粒が認められることから、本魚種は IV 群に分類されるが、タケノコメバルの β 顆粒と γ 顆粒は既報の魚種の β 顆粒 ($\beta 1$ 顆粒) および γ 顆粒 ($\gamma 1$ 顆粒, $\gamma 2$ 顆粒, $\gamma 3$ 顆粒 ($\gamma 3b$ 顆粒)) とは異なり $\beta 2$ 顆粒と $\gamma 3a$ 顆粒であることから、他の IV 群魚類と区別するために IV -C 群を設定することを提案する。また、タケノコメバルの好中球の PO 陽性部位は β 顆粒と核であったことから、タケノコメバルは IV -Cb 群に分類される (Table 6)。

文 献

- 1) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: コイ好中球のメイ-グリウンワルド・ギムザ染色性. 水大校研報, **50**, 109-117 (2002)
- 2) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: コイ好中球のアズール顆粒. 水大校研報, **51**, 17-29 (2002)
- 3) 安本信哉, 近藤昌和, 高橋幸則: テラピア好中球顆粒のメイ-グリウンワルド・ギムザ染色性. 水大校研報, **51**, 79-86 (2003)
- 4) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: イサキ好中球の顆粒. 水大校研報, **52**, 45-48 (2004)
- 5) 近藤昌和, 金丸俊介, 高橋幸則: メジナの好中球顆粒. 水大校研報, **52**, 67-71 (2004)
- 6) 近藤昌和, 柏村直宏, 金丸俊介, 稲川裕之, 高橋幸則: サンフィッシュ科魚類 (オオクチバス, ブルーギル) の好中球顆粒. 水大校研報, **53**, 197-202 (2005)
- 7) 近藤昌和, 金丸俊介, 柏村直宏, 稲川裕之, 高橋幸則: ヒラメおよびメジナ好中球顆粒の細胞化学的特徴. 水大校研報, **53**, 203-209 (2005)
- 8) 近藤昌和: 新琵琶湖産アユ冷水病総合対策緊急研究事業報告書 (細胞内病理態様解析, 平成 17 年度), 滋賀県, 1-15 (+表 1, 図 1-20), (2006)
- 9) 近藤昌和, 稲川裕之, 池田 至, 山元憲一, 高橋幸則: トラフグ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **55**, 133-139 (2007)
- 10) 近藤昌和, 稲川裕之, 高橋幸則: スズキ科魚類 (スズキ, ヒラスズキ, タイリクスズキ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **55**, 141-147 (2007)
- 11) 近藤昌和, 高橋幸則, 山元憲一: ノーザンパイク好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **56**, 317-321 (2008)
- 12) 近藤昌和, 高橋幸則: アジアアロワナの好中球顆粒. 水大校研報, **57**, 219-226 (2009)
- 13) 近藤昌和, 高橋幸則: ポリプテルス好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **57**, 283-297 (2009)
- 14) 近藤昌和, 高橋幸則: スタ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, **57**, 299-308 (2009)
- 15) 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)
- 16) 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および細胞化学的特徴. 水大校研報, **58**, 15-22 (2009)
- 17) 近藤昌和, 坂口隆亮, 金丸俊介, 柏村直宏, 高橋幸則: ブリ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **58**, 101-111 (2009)
- 18) 近藤昌和, 高橋幸則: アフリカハイギョ *Protopterus annectens* 好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **58**, 207-216 (2010)
- 19) 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)
- 20) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: ボラの白血球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **59**, 163-171 (2011)
- 21) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: メナダの白血球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **59**, 173-182 (2011)
- 22) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: アカメ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **60**, 85-93 (2012)
- 23) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カレイ類 (マコガレイ, マツカワ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 43-49 (2012)
- 24) 近藤昌和, 安本信哉, 大野美和, 高橋幸則: コイ, ナイルティラピアおよびイサキの好中球顆粒. 水大校研報, **61**, 51-64 (2012)

- 25) 近藤昌和, 安本信哉, 秋吉佑樹, 高橋幸則: アジ科魚類(マアジ, カンパチ, ヒラマサ)の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 87-101 (2013)
- 26) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カサゴ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 103-113 (2013)
- 27) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カワハギおよびフグ類(クサフグ, コモンフグ)の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 226-233 (2013)