

アカメのリンパ球, 単球および好酸球の染色特性

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Staining Characteristics of Lymphocyte, Monocyte and Eosinophil from Japanese Lates, *Lates japonicus*

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological characteristics of leukocytes (lymphocyte, monocyte and eosinophil) excluding neutrophil from Japanese lates (*Lates japonicus*) peripheral blood were examined using multiple Romanowsky-type stain (May-Grünwald (MG), Giemsa and MG-Giemsa) valuation. Lymphocyte had round to lobule-shaped nucleus with coarse chromatin-mesh. The cytoplasm contained some basophilic granules (lymphocyte basophilic granules, LBG). Monocyte had round to kidney-shaped nucleus with fine chromatin-mesh and the monocyte major granule (MMG) in the cytoplasm. Eosinophil had round to lobule-shaped nucleus and three types of granules, eosinophilic granule (EG), basophilic granule (BG) and azurophilic granule (AG) in the cytoplasm. The EG was stained orange with MG but not with Giemsa and MG-Giemsa. The BG showed light blue with all Romanowsky-type stain. The AG showed reddish purple with Giemsa and MG-Giemsa or colorless with MG. The color tone of AG may be due to the metachromatic reaction by azure B in Giemsa (metaazurophilic). Cytochemical characteristics of these leukocytes were also examined.

Key words : Japanese lates, *Lates japonicus*, leukocytes, morphology, cytochemistry

緒 言

前報において著者らはアカメ *Lates japonicus* (スズキ目スズキ亜目アカメ科) の好中球の形態学的特徴を多条件下 Romanowsky 型染色評価法 (MRSV) によって明らかにし, これまでに報告した各種魚類と比較した¹⁾。その結果, アカメの好中球には既報の各種魚類の好中球とは異なる形態学的特徴が認められた¹⁾。MRSV は希釈液の種類, 希釈比率および染色時間を変えて Romanowsky 型染色 (メイ・グリーンワルド (MG), ギムザ (G) および MGG 染色) を血液塗沫標本に施して, 染色性の違いから形態学的特徴を評価する方法であるが, 本法はいくつかの魚種では好中球以外の白血球にも適用されている²⁻⁴⁾。アカメの血液中には好中球以外にリンパ球, 単球および好酸球が観察され,

特に好酸球に興味深い特徴が認められた。本研究では好酸球とともにリンパ球と単球の形態学および細胞化学的特徴について報告する。

材料および方法

前報¹⁾で作成した染色標本を観察に供し, リンパ球, 単球および好酸球の MRSV 特性ならびに細胞化学的特性について調べた。MRSV の各種染色条件を Table 1 に示す。

結 果

アカメの血液中には好中球の他にリンパ球, 単球および好酸球が観察されたが, 好塩基球は認められなかった。ア

Table 1. Staining conditions of multiple Romanowsky-type stain valuation

Condition ^{1,2}	PN ³	Condition ^{1,2}	PN ³
MG: DW	1	G : $\frac{1}{150}$ M PB, pH8.0, 1:20, 15 min	42
: 5 mM PB, pH5.0	2	: $\frac{1}{150}$ M PB, pH8.0, 1:20, 60 min	43
: 5 mM PB, pH6.0	3	: $\frac{1}{150}$ M PB, pH8.0, 1:100, 15min	44
: 5 mM PB, pH7.0	4	: $\frac{1}{150}$ M PB, pH8.0, 1:100, 60min	45
: 5 mM PB, pH8.0	5	MGG: DW, 1:20, 15 min	46
: $\frac{1}{15}$ M PB, pH5.0	6	: DW, 1:20, 60 min	47
: $\frac{1}{15}$ M PB, pH6.0	7	: DW, 1:100, 15 min	48
: $\frac{1}{15}$ M PB, pH7.0	8	: DW, 1:100, 60 min	49
: $\frac{1}{15}$ M PB, pH8.0	9	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min	50
G : DW, 1:20, 15 min	10	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min	51
: DW, 1:20, 60 min	11	: 5 mM PB, pH5.0, 1:100, 15 min	52
: DW, 1:100, 15 min	12	: 5 mM PB, pH5.0, 1:100, 60 min	53
: DW, 1:100, 60 min	13	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15min	54
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min	14	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min	55
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min	15	: 5 mM PB, pH6.0, 1:100, 15 min	56
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:100, 15 min	16	: 5 mM PB, pH6.0, 1:100, 60 min	57
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:100, 60 min	17	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15min	58
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15min	18	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min	59
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min	19	: 5 mM PB, pH7.0, 1:100, 15 min	60
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:100, 15 min	20	: 5 mM PB, pH7.0, 1:100, 60 min	61
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:100, 60 min	21	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15min	62
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15min	22	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min	63
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min	23	: 5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min	64
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:100, 15 min	24	: 5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min	65
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:100, 60 min	25	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH5.0, 1:20, 15min	66
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15min	26	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH5.0, 1:20, 60min	67
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min	27	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	68
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min	28	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	69
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min	29	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH6.0, 1:20, 15 min	70
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH5.0, 1:20, 15 min	30	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH6.0, 1:20, 60 min	71
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH5.0, 1:20, 60min	31	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	72
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	32	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	73
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	33	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH7.0, 1:20, 15min	74
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH6.0, 1:20, 15min	34	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH7.0, 1:20, 60min	75
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH6.0, 1:20, 60min	35	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	76
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	36	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH7.0, 1:100, 60 min	77
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	37	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH8.0, 1:20, 15 min	78
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH7.0, 1:20, 15 min	48	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH8.0, 1:20, 60 min	79
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH7.0, 1:20, 60 min	39	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH8.0, 1:100, 15min	80
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	40	: $\frac{1}{15}$ M PB, pH8.0, 1:100, 60min	81
: $\frac{1}{150}$ M PB, pH7.0, 1:100, 60 min	41		

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 $\frac{1}{150}$ M PB.

³Preparation number.

カメ白血球のMRSV特性をTable 2に、細胞化学的特徴をTable 3に示した。

リンパ球

リンパ球は長径5.0～7.5 μm の円形または卵円形であった(Fig. 1A)。細胞に占める核の割合は高く、いずれのリンパ球にも細胞質に長径0.4 μm 以下の円形または卵円形の顆粒(リンパ球塩基好性顆粒, Lymphocyte Basophilic Granule, LBG)が少数観察された。LBGはいずれの染色条件において青色を呈した。

核の多くは長径4.0～5.5 μm の円形または卵円形であり、細胞内にやや偏在していた。核の染色質網は荒く、粗大な濃縮染色質が観察された。MG染色では濃縮染色質は青色を示した。蒸留水およびpH5.0のリン酸緩衝液を希釈液に用いたG染色では、希釈率1:100において、15分間の染色では濃縮染色質は青色を呈した。しかし、他の染色条件では、濃縮染色質は赤紫色であった。MGG染色では、いずれの条件においても濃縮染色質は赤紫色を示した。分葉核(2分葉まで)を有する小型の細胞も稀に観察された(Fig. 1B)。この細胞は染色質網の形態および染色性からリンパ球に同定された。

細胞質基質はほとんど全ての染色条件において青色を呈したが、1/15 Mのリン酸緩衝液を用いたMG染色では、pH5.0で橙色を呈し、pH6.0および7.0では染色されなかった(難染性)。

観察した全てのリンパ球は、periodic acid Schiff反応(PAS)に陰性であった。アルシアンブルー(AB)染色でも陽性部位は観察されなかったが、蒸留水に溶解したトルイジンブルー(TB)による染色では核および細胞質基質が陽性(青色)であり、また、円形または卵円形で青色の陽性顆粒(長径0.4 μm 以下)が少数観察された(Fig. 1C)。オイルレッドO(ORO)およびズダンⅢ(SⅢ)染色では陽性部位は観察されなかった。しかし、ズダンブラックB(SBB)染色ではいずれのリンパ球にも、直径0.3 μm 以下の円形の弱陽性顆粒が少数観察された(Fig. 1D)。また、細胞質基質もSBB弱陽性であった。酸性フォスファターゼ(AcP)は長径0.5 μm 以下の円形の陽性顆粒として約40%のリンパ球に少数観察された(Fig. 1E)。 β -グルクロニダーゼ(β -Glu)染色では、約40%のリンパ球に不定形(円形、卵円形、コマ形、三日月形)の陽性顆粒が少数観察された(Fig. 1F)。 α -ナフチルアセテートエステラーゼ(α NAE)およびナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ(NASDCAE)はともに円形または卵円形の陽性顆粒(長径0.2 μm 以下)として少数観察された(Figs. 1G, 1H)。アルカリ性フォスファターゼ(AIP)、 α -ナフチルプチレートエステラーゼ(α NBE)、およびペルオキシダーゼ(PO)活性は検出されなかった。

単球

単球は長径9.0～12.0 μm の円形または卵円形であつ

Table 2. Color of leukocytes from Japanese lates

PN	Lymphocyte			Monocyte			Neutrophil ¹					Eosinophil					
	N	H	LBG	N	H	MMG	N	H	β G	γ G	Yb	N	H	AG	BG	EG	
1	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	Cl
2	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	O
3-5	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	Cl
6	B	O	B	B	O	B	B	O	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	O
7,8	B	Cl	B	B	Cl	B	B	O	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	O
9	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	B	Cl	B	O
10,11	RP	B	B	RP	B	B	B	RP	B	Cl	B	B	RP	B	RP	B	Cl
12	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	RP	B	Cl
13-15	RP	B	B	RP	B	B	B	RP	B	Cl	B	B	RP	B	RP	B	Cl
16	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	RP	B	Cl
17-31	RP	B	B	RP	B	B	B	RP	B	Cl	B	B	RP	B	RP	B	Cl
32	B	B	B	B	B	B	B	B	B	Cl	B	B	B	B	RP	B	Cl
33-45	RP	B	B	RP	B	B	B	RP	B	Cl	B	B	RP	B	RP	B	Cl
46-81	RP	B	B	RP	B	B	B	RP	B	Cl	B	B	RP	B	RP	B	Cl

PN, preparation number (Table 1); N, nucleus (heterochromation); H, hyaloplasm; LBG, lymphocyte basophilic granule; MMG, monocyte major granule; β G, β granule (chromophobic granule); γ G, γ granule (basophilic granule); Yb, Yasumoto body; AG, azurophilic granule; BG, basophilic granule; EG, eosinophilic granule; B, blue; Cl, colorless; O, orange; RP, reddish purple.

¹Kondo et al. 2012.

た (Fig. 2A)。細胞に占める核の割合は低く、いずれの単球にも細胞質に不定形 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) の顆粒 (単球主要顆粒, Monocyte Major Granule, MMG) が多数観察された。本顆粒はいずれの希釈液を用いても, Romanowsky 型染色によって青色を呈した。

核は長径 6.7 ~ 9.0 μm の円形からソラマメ形であり, 細胞内にやや偏在していた。核の染色質網は細かく, 小型の濃縮染色質が観察された。濃縮染色質の MRSV 特性はリンパ球のそれと同じであった。また, 細胞質基質の MRSV 特性もリンパ球と同様であった。

球の細胞質には, 円形 (直径 0.2 μm 以下) の PAS 陽性

Table 3. Cytochemical reactivities of leukocytes from Japanese lates

Test ¹	Positive site (shape, size ($\leq\mu\text{m}$) and number) ²			
	Lymphocyte	Monocyte	Neutrophil ³	Eosinophil
PAS	—	G (r (0.2), af)	G (r to o (0.3), m); H	G (r to o (0.3), s, eq BG); H
PAS- α A	—	—	—	G (r to o (0.3), s, eq BG); H
AB (pH1.0)	—	—	—	—
AB (pH2.5)	—	—	—	—
TB	G (r to o (0.4), s, eq LBG); H; N	G (am, m, eq MMG); H; N	G (am (af, eq Yb); r to o (0.3, m, eq γ G)); N	G (r to o (0.3), s, eq BG); H; N
SBB	G (r (0.3), af); H	G (am, m, eq MMG); H	G (r to o (0.3), m); H	G (r to o (0.3), s, eq BG); H
SIII	—	—	—	—
ORO	—	—	—	—
AIP	—	—	G (r to o (0.3), m, eq γ G); H	—
AcP	G (+ (40%) (r to o (0.5), af))	G (r to o (0.5), m)	G (r to o (0.5), m)	G (r to o (1.0), s)
β -Glu	G (+ (40%) (am, af))	G (r to o (0.5), m)	G (r, o and rod (0.6), m)	—
α -NAE	G (r to o (0.2), af)	G (r to o (0.3), m)	G (r to o (0.3), m)	G (r to o (0.3), s, eq BG)
α -NBE	—	—	G (r to o (0.3), m)	—
NASDCAE	G (r to o (0.2), af)	G (r to o (0.4), m)	G (r to o (0.3), m)	G (r to o (0.3), s, eq BG)
PO	—	—	G (r to o (0.5), m, eq β G)	G (r to o (0.3), s, eq BG); H

¹PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after α -amylase digestion; AB, alcian blue; TB, toluidine blue; SBB, sudan black B; SIII, sudan III; ORO, oil red O; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β -Glu, β -glucuronidase; α -NAE, α -naphthyl acetate esterase; α -NBE, α -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase.

²G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; r, round; o, oval; am, amorphous; m, many; s, some; af, a few; —, non detection; eq, equivalent to; LBG, lymphocyte basophilic granule; MMG, monocyte major granule; β G, β granule (chromophobic granule); γ G, γ granule (basophilic granule); Yb, Yasumoto body; BG, basophilic granule.

³Kondo et al. 2012.

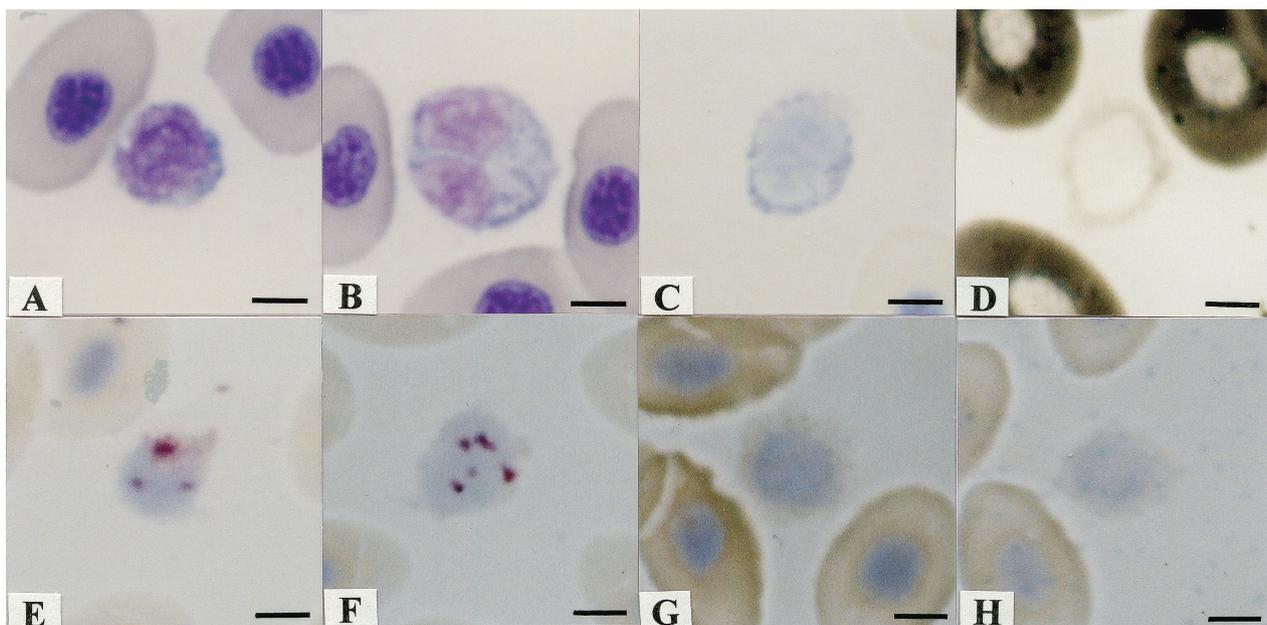


Fig. 1. Lymphocytes of Japanese lates. A and B, May-Grünwald · Giemsa stain (PN 72 in Table 1; B, lobular nucleus); C, toluidine blue in distilled water; D, sudan black B; E, acid phosphatase; F, β -glucuronidase; G, α -naphthyl acetate esterase; H, naphthol AS-D chloroacetate esterase. Bars=2.5 μm .

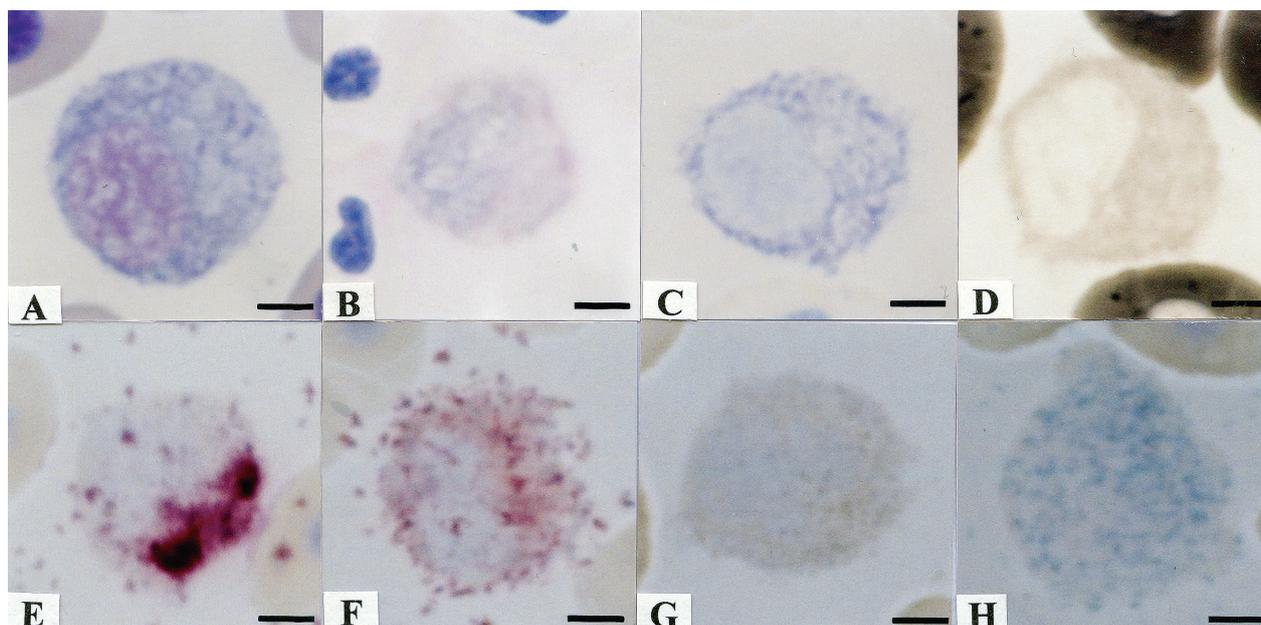


Fig. 2. Monocytes of Japanese lates. A, May-Grünwald · Giemsa stain (PN 72 in Table 1); B, periodic acid Schiff reaction; C, toluidine blue in distilled water; D, sudan black B; E, acid phosphatase; F, β -glucuronidase; G, α -naphtyl acetate esterase; H, naphthol AS-D chloroacetate esterase. Bars=2.5 μ m.

顆粒が少数観察され (Fig. 2B), α -アミラーゼ処理 (α -A) によって完全に消失した。細胞質基質は PAS 陰性であった。AB 染色では陽性部位は観察されなかった。TB 染色によって、種々の大きさの青色の不定形陽性顆粒 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) が多数観察された (Fig. 2C)。また, 核および細胞質基質も青色を呈した。ORO および S III 染色では陽性部位は観察されなかった。SBB 染色では細胞質基質が弱陽性であり, 不定形 (円形, 卵円形, 桿形, コンマ形, 三日月形, 紐状) の陽性顆粒がいずれの単球にも認められた (Fig. 2D)。AcP 染色および β -Glu 染色では長径 $0.5\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の陽性顆粒が多数観察された (Figs. 2E, 2F)。長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の α NAE 陽性顆粒が多数観察された (Fig. 2G)。NASDCAE は長径 $0.4\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の陽性顆粒として多数認められた (Fig. 2H)。AIP, α NBE および PO は検出されなかった。

好酸球

好酸球は円形または卵円形で, 長径は $9.0\sim 13.0\mu\text{m}$ であった。核は偏在し, 多くは円形または卵円形であったが (長径 $5.0\sim 6.0\mu\text{m}$), 稀に分葉核も観察された。染色質網は荒く, 粗大な濃縮染色質が見られた。細胞に占める核の割合は低かった。濃縮染色質の MRSV 特性は, リンパ球や単球のそれと同じであった。細胞質基質はいずれ

の染色条件でも青色を呈した。好酸球には橙色のエオシン好性顆粒 (eosinophilic granule, EG) が認められた (Fig. 3A)。本顆粒は長径 $0.6\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形であり, 細胞質に充満していた。EG は 5mM のリン酸緩衝液を希釈液に用いた MG 染色では pH5.0 の場合に, $1/15\text{M}$ のリン酸緩衝液を希釈液に用いた MG 染色ではいずれの pH においても橙色を示した。しかし, 他の染色条件では EG は難染性であった (Fig. 3B)。好酸球には EG とともに好塩基性顆粒 (basophilic granule, BG) とアズール好性顆粒 (azurophilic granule, AG) が観察された (Fig. 3B)。BG は長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の顆粒であり, いずれの染色条件においても青色を呈した。AG も長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形であったが, BG よりも数は少なかった。AG は MG 染色標本では観察されず, G 染色および MGG 染色において赤紫色の顆粒として認められた (Table 2)。

いずれの好酸球にも PAS 陽性顆粒が少数観察された (Fig. 3C)。この陽性顆粒は長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形であった。細胞質基質も PAS 弱陽性であった。いずれの陽性部位も α -A によって消失しなかった (Fig. 3D)。TB 染色では, 長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の青色の陽性顆粒が少数観察された (Fig. 3E)。核は青色を呈し, 細胞質基質は淡青色を示した。SBB 染色では長径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形の陽性顆粒が少数観察

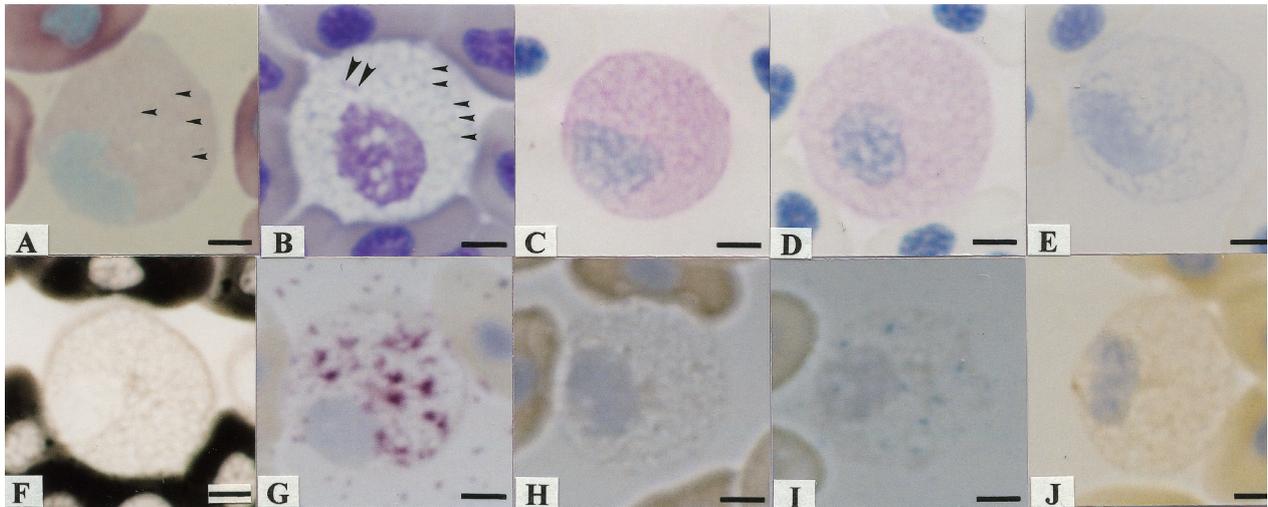


Fig. 3. Eosinophils of Japanese lates. A, May-Grünwald (MG) stain (PN 6 in Table 1); B, MG · Giemsa stain (PN 66 in Table 1); C, periodic acid Schiff reaction (PAS); D, PAS after α -amylase digestion; E, toluidine blue in distilled water; F, sudan black B; G, acid phosphatase; H, α -naphthyl acetate esterase; I, naphthol AS-D chloroacetate esterase; J, peroxidase. Note eosinophilic granules (orange in A and colorless in B). Arrowheads indicate basophilic granules (large arrowheads) and azurophilic granules (small arrowheads). Bars=2.5 μ m.

された (Fig. 3F)。また、細胞質基質も弱陽性であった。AcP 陽性顆粒は長径 1.0 μ m 以下の円形または卵円形として少数認められた (Fig. 3G)。 α NAE, NASDCAE および PO はいずれも長径 0.3 μ m 以下の円形または卵円形の陽性顆粒として少数観察された (Figs. 3H-3J)。細胞質基質も PO 陽性であった。 β -Glu, AIP および α NBE は検出されなかった。

考 察

アカメの血液中には好中球とともに、リンパ球、単球および好酸球が観察された。好中球以外の白血球に MRSV が適用された魚種として、ボラ *Mugil cephalus*, メナダ *Chelon haematocheilu* およびマハタ *Epinephelus septemfasciatus* が挙げられる^{2,4)}。これらのうち、ボラとメナダにはリンパ球、単球および好中球が観察されており^{2,3)}、マハタではこれら3種類の白血球とともに、2種類の好酸球が認められている⁴⁾。

リンパ球

アカメのリンパ球の細胞質には顆粒状構造物が少数観察された。この構造物は明瞭な粒子状であったことから、本報告では顆粒 (LBG) として扱う。ボラ、メナダおよびマハタのリンパ球にも LBG が認められており^{2,4)}、ボラとメナダでは約 70% のリンパ球において円形または卵円形の

LBG が少数観察されている^{2,3)}。一方、マハタではいずれのリンパ球にも少数の円形または卵円形の LBG が観察されている⁴⁾。メナダとマハタの LBG は MRSV のほとんどの染色条件において青色を呈するが^{3,4)}、メナダの LBG は蒸留水を用いた G 染色において、希釈率を 1 : 20、染色時間を 1 時間とした場合にのみ赤紫色を呈する³⁾。また、マハタの LBG は蒸留水を用いた G 染色において、希釈率を 1 : 20 とした場合、染色時間にかかわらず赤紫色を示す⁴⁾。しかし、アカメの LBG はボラと同様に、いずれの染色条件においても青色を呈した²⁾。アカメのリンパ球の核の多くは円形または卵円形であったが稀に分葉核も観察された。ボラ、メナダおよびマハタのリンパ球の核はいずれも円形または卵円形であり、分葉核は認められていない^{2,4)}。

アカメのリンパ球には TB 陽性顆粒が観察された。この陽性顆粒は形状、大きさおよび数から LBG に相当すると考えられる。SBB, AcP, β -Glu, α NAE および NASDCAE 陽性顆粒も観察されたが、SBB, α NAE および NASDCAE 陽性顆粒は大きさおよび数が LBG とは異なる。また、AcP および β -Glu 陽性顆粒はともに約 40% のリンパ球にしか観察されず、大きさや形状からも LBG に相当するとは言えない。

アカメのリンパ球は PAS 陰性であった。ボラでは約 10% のリンパ球において、 α -A によって消失する PAS 陽性顆粒が観察されている²⁾。また、いずれのリンパ球においても細胞質基質は PAS 陽性であるが、 α -A によって消

失しない²⁾。メナダにおいても約10%のリンパ球に α -Aによって消失するPAS陽性顆粒が存在するが、細胞質基質はPAS陰性である³⁾。一方、マハタでは約30%のリンパ球に α -A耐性のPAS陽性顆粒が観察されるが、PAS陽性の細胞質基質は α -Aによって消失する⁴⁾。

TB染色によってアカメのリンパ球の核、細胞質基質および顆粒が青色に染色され、陽性顆粒は円形または卵円形(長径 $0.4\mu\text{m}$ 以下)で少数であったことから、LBGに相当すると考えられる。ボラ、メナダおよびマハタのリンパ球においても、核、細胞質基質およびLBGがTBによって青色を呈すとされている^{2,4)}。

アカメのいずれのリンパ球にも、直径 $0.3\mu\text{m}$ 以下の円形のSBB陽性顆粒が少数観察され、細胞質基質も弱陽性であった。ボラ、メナダおよびマハタのリンパ球においても細胞質基質は弱陽性であるが、陽性顆粒の形状および存在率は魚種によって異なり、ボラでは不定形の陽性顆粒がいずれのリンパ球にも観察され²⁾、メナダではいずれのリンパ球においても円形の陽性顆粒が見られる³⁾。しかし、マハタでは約20%のリンパ球に陽性顆粒が観察され、その形状は円形である⁴⁾。

AcP陽性顆粒はボラ、メナダおよびマハタのいずれのリンパ球にも観察されているが^{2,4)}、アカメでは約40%のリンパ球に認められた。また、 β -Glu活性も、約40%のアカメリンパ球に観察されたが、ボラでは約80%のリンパ球に²⁾、メナダでは約70%のリンパ球に³⁾、マハタでは約30%のリンパ球に観察されている⁴⁾。エステラーゼ染色性(α NAE、 α NBEおよびNASDCAE)は魚種によって異なり、アカメではいずれのリンパ球にも α NAEおよびNASDCAE陽性顆粒が観察されたが、 α NBEは認められなかった。一方、ボラではNASDCAEが約60%のリンパ球に陽性であるが、 α NAEと α NBEは検出されない²⁾。また、メナダではいずれのエステラーゼ活性も検出されておらず³⁾、マハタでは α NAEと α NBEは陽性であるが、NASDCAEは検出されていない⁴⁾。アカメのリンパ球にはボラ、メナダおよびマハタのリンパ球と同様にAIPとPOは検出されなかった^{2,4)}。

単球

アカメの単球には不定形のMMGが多数観察された。本顆粒はいずれの希釈液を用いても、Romanowsky型染色によって青色を呈した。ボラとメナダの単球にもアカメと同様のMMGが認められている^{2,3)}。しかし、マハタのMMGは、MGおよびMGG染色では青色を呈するが、G染色で

は青紫色である⁴⁾。メナダの約90%の単球には濃赤色の単球二次大顆粒と赤色の単球二次小顆粒も存在し³⁾、マハタの単球には赤紫色の単球二次顆粒が認められている⁴⁾。しかし、アカメの単球にはこれらと同様の二次顆粒は観察されなかった。

アカメの単球には、円形のPAS陽性顆粒が少数観察された。この陽性顆粒は形状、大きさおよび数からMMGとは異なり、 α -Aによって完全に消失することから、グリコーゲンからなる構造物であると考えられる。ボラでは約20%の単球にPAS陽性顆粒が観察されるが、 α -Aによって消失しない²⁾。また、メナダ単球にも α -A耐性のPAS陽性顆粒が報告されている³⁾。さらに、マハタではいずれの単球にもPAS陽性顆粒が観察され、 α -Aによって消失しない⁴⁾。アカメ単球の細胞質基質はボラと同様にPAS陰性であった²⁾。しかし、メナダおよびマハタの細胞質基質はPAS陽性であり、 α -Aによって消失しない^{3,4)}。

不定形のTBおよびSBB陽性顆粒がアカメのいずれの単球にも多数観察された。これらの陽性顆粒はMMGに相当すると思われる。ボラ、メナダおよびマハタにおいても単球のTB陽性顆粒は不定形であり、多数観察されることからMMGが陽性反応を示していると考えられている^{2,4)}。しかし、ボラ、メナダおよびマハタの単球のSBB陽性顆粒はMMGとは断言できないとされている^{2,4)}。

アカメの単球にはAcP、 β -Glu、 α NAEおよびNASDCAE陽性顆粒が多数観察されたが、形状がいずれも円形または卵円形であることからMMGに相当するとは言えない。また、アカメ単球にはAIP、 α NBEおよびPOは検出されなかった。ボラ、メナダおよびマハタの単球にも種々の酵素が検出されており、AcP、 β -GluおよびNASDCAEはこれらの魚種の単球にも認められ、POは陰性である^{2,4)}。しかし、ボラ単球ではAIPや α NBEとともに α NAEも陰性である²⁾。一方、メナダとマハタでは α NAEとともに α NBEも陽性であったが、メナダで陽性のAIPはマハタでは認められていない^{3,4)}。

好酸球

アカメの好酸球には長径 $0.6\mu\text{m}$ 以下の円形または卵円形のEGが認められた。マハタにはエオシン好性顆粒の形状が異なる2種類の好酸球が報告されており、第1種好酸球には直径 $0.3\sim 0.5\mu\text{m}$ のエオシン好性円形顆粒が、第2種好酸球には桿形(長径 $1.0\mu\text{m}$ 以下、短径 $0.5\mu\text{m}$ 以下)のエオシン好性桿形顆粒とともに微細(直径 $0.3\mu\text{m}$ 未満)なエオシン好性小円形顆粒が観察されている⁴⁾。アカメ好

酸球のEGは、マハタの2種類の好酸球の顆粒とは大きさや形状が異なる。また、EGは限られた条件のMG染色で橙色を示すのに対して、マハタの2種類の好酸球の顆粒はいずれも、全ての条件のRomanowsky型染色によって橙色を呈する⁴⁾。

EGはMG染色では橙色を呈するが、G染色およびMGG染色では難染性であった。同様の染色性は、真骨魚類のI群の好中球（I型好中球）とII-A群の好中球（II-A型好中球）に存在するエオシン好性顆粒（ α 顆粒）にも認められている⁵⁻¹¹⁾。

アカメの好酸球にはBGとAGも観察された。BGはいずれの染色条件においても青色を呈した。一方、AGはMG染色標本では観察されず、G染色およびMGG染色において赤紫色の顆粒として観察された。この赤紫色は、G染色液中に存在し、MG染色液中には無い色素であるアズールBによるものと思われる。また、アズールBは水溶液中では青色であることから¹²⁾、AGの赤紫色は、アズールBが異調染色性を示したことによるものと言える。マハタの2種類の好酸球にはBGやAGは観察されていない⁴⁾。

アカメの好酸球にはPAS陽性顆粒が少数観察された。この陽性顆粒は α -Aによって消失しないことからその主成分はグリコーゲンとは異なる。また、PAS陽性顆粒は長径0.3 μ m以下の円形または卵円形であることから、BGに相当すると思われる。TBおよびSBB染色陽性顆粒も形状、大きさおよび数からBGが染色されたものと考えられる。アカメの好酸球にはAcP、 α NAE、NASDCAEおよびPO陽性顆粒が観察された。このうち、AcP染色では好酸球のいずれの顆粒よりも大型の陽性顆粒が観察されることから、陽性部位の特定は困難である。しかし、 α NAE、NASDCAEおよびPOはいずれも長径0.3 μ m以下の円形または卵円形の陽性顆粒として観察されることから、BGが陽性部位であると推察される。マハタの2種類の好酸球の細胞化学的特性には違いはなく、 α -A耐性のPAS陽性顆粒が少数観察され、TBおよびSBB陽性顆粒も少数認められている⁴⁾。また、AcP、 β -Glu、 α NAEおよび α NBE陽性顆粒も観察されている⁴⁾。しかし、これらの陽性顆粒はマハタ好酸球の各種エオシン好性顆粒とは形状、大きさあるいは数が異なることから陽性部位は明らかではない⁴⁾。アカメの好酸球にはAIP、 β -Gluおよび α NBEは検出されなかった。一方、マハタの好酸球ではAIP、NASDCAEおよびPOは認められていない⁴⁾。

謝 辞

実験魚を提供していただいた水産大学校生物生産学科准教授 竹下直彦博士に感謝いたします。

文 献

- 1) 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)
- 2) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: ポ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)
- 3) 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)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 安本信哉, 近藤昌和, 高橋幸則: テラピア好中球顆粒のメイ-グリュンワルド・ギムザ染色性. 水大校研報, **51**, 79-86 (2003)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 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)
- 10) 近藤昌和, 坂口隆亮, 金丸俊介, 柏村直宏, 高橋幸則: ブリの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)
- 11) 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)
- 12) The Merck Index (12th ed.): Azure B. Merck & Co., Inc., NJ, 159 (1996)