

## アカエイの非貪食性顆粒球の形態学および細胞化学的特徴

近藤昌和<sup>†</sup>, 東川将基, 平山尋暉, 安本信哉, 高橋幸則

### Morphological and Cytochemical Characteristics of Non-phagocytic Granulocytes from Whip Stingray *Dasyatis akajei*

Masakazu Kondo<sup>†</sup>, Shouki Higashikawa, Hiroki Hirayama, Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

**Abstract:** Three types of non-phagocytic granulocytes, basophil, eosinophil and small eosinophilic granulocyte, were observed in peripheral blood of whip stingray *Dasyatis akajei* (Dasyatidae, Myliobatiformes, Batoidea, Elasmobranchii). Basophils had four types of granules (BG) in the cytoplasm. The type A BG (BG-A) were rod-shaped and stained light blue with May-Grünwald. Other types (type B: BG-B) were round and show red (BG-Ba), violet (BG-Bb) or purple (BG-Bc). The BG-Ba were localized around nucleus. Two types of granules were observed in eosinophils. One was rod-shaped eosinophilic granules (EG-A), and other was round chromophobic (EG-B). Small eosinophilic granulocytes also had two types of granules (SEG): SEG-A, subangular to angular in shape and eosinophilic; SEG-B, round chromophobic. All types of non-phagocytic granulocytes lacked alkaline phosphatase,  $\beta$ -glucuronidase and peroxidase. However, acid phosphatase (AcP) and several types of esterase were detected in those granulocytes. Both EG-A and SEG-A were hematoxylin (Mayer's) positive, but positive reaction in AcP staining preparation was different: EG-A, positive; SEG-A, negative.

**Key words:** stingray, *Dasyatis akajei*, non-phagocytic granulocyte, morphology, cytochemistry

## 緒 言

前報において著者らはアカエイ *Dasyatis akajei* (板鰐亜綱エイ目トビエイ目アカエイ科) 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<sup>1)</sup>。その結果, アカエイ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<sup>1)</sup>。アカエイの血液中には好中球以外に顆粒球として好塩基球, 好酸球および小型好酸性顆粒球が観察されるが, 貪食能は好中球のみ認められた。本研究では好中球以外の貪食能を示さない (非貪食性) 顆粒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

アカエイ (体重約8 kg) を水温 $19.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$  で1週間馴致飼育したのちに実験に供した。飼育期間中は, マダイ *Pagrus major* の切り身を適宜給餌した。キナルジンで麻酔後, 心臓から採血した。血液塗抹標本の作製, MRSV (Table 1) および各種細胞化学染色法は前報<sup>1)</sup> にしたがった。

## 結 果

アカエイの血液中の3種類の非貪食性顆粒球 (好塩基球, 好酸球, 小型好酸性顆粒球) に, アルシアンブルー, オイルレッドOおよびズダンIII染色では陽性所見が観察されな

かった。また、アルカリ性フォスファターゼ (AIP),  $\beta$ -グルクロニダーゼ ( $\beta$ -Glu) およびペルオキシダーゼ (PO) は検出されなかった。

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

PN	Condition <sup>1,2</sup>	PN	Condition <sup>1,2</sup>
1	MG : DW	42	G : <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:20, 15 min
2	: 5 mM PB, pH5.0	43	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:20, 60 min
3	: 5 mM PB, pH6.0	44	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:100, 15min
4	: 5 mM PB, pH7.0	45	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:100, 60min
5	: 5 mM PB, pH8.0	46	MGG : DW, 1:20, 15 min
6	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH5.0	47	: DW, 1:20, 60 min
7	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH6.0	48	: DW, 1:100, 15 min
8	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH7.0	49	: DW, 1:100, 60 min
9	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH8.0	50	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min
10	G : DW, 1:20, 15 min	51	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min
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, 15min
14	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15min	55	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min
15	: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60min	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, 15min
18	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15min	59	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min
19	: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60min	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, 15min
22	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15min	63	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min
23	: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60min	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	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH5.0, 1:20, 15min
26	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15min	67	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH5.0, 1:20, 60min
27	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60min	68	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH5.0, 1:100, 15 min
28	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min	69	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH5.0, 1:100, 60 min
29	: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min	70	: <sup>1</sup> / <sub>15</sub> M PB, pH6.0, 1:20, 15 min
30	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH5.0, 1:20, 15 min	71	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:20, 60 min
31	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH5.0, 1:20, 60min	72	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:100, 15 min
32	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	73	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:100, 60 min
33	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	74	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:20, 15min
34	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:20, 15min	75	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:20, 60min
35	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:20, 60min	76	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:100, 15 min
36	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	77	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:100, 60 min
37	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	78	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:20, 15 min
38	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:20, 15 min	79	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:20, 60 min
39	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:20, 60 min	80	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:100, 15min
40	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	81	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH8.0, 1:100, 60min
41	: <sup>1</sup> / <sub>150</sub> M PB, pH7.0, 1:100, 60 min		

<sup>1</sup>MG, 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.

<sup>2</sup>Diluent for Giemsa of MGG stain were DW, 0.5 mM PB or <sup>1</sup>/<sub>150</sub> M PB.  
PN, preparation number.

## 好塩基球

アカエイの好塩基球は長径約15.0  $\mu\text{m}$ の円形または卵円形であり、核は偏在し、様々な形態（円形から3分葉）を示した（Fig. 1）。核の染色質網は荒く、粗大な濃縮染色質が観察された。好塩基球の顆粒（basophil granule, BG）は形状の違いから、桿状（長径1.5  $\mu\text{m}$ 以下、短径0.5  $\mu\text{m}$ 以下）のA型（BG-A）と、円形または卵円形（長径0.6  $\mu\text{m}$ 以下）のB型（BG-B）の2種類に大別された。また、BG-Bは多条件下Romanowsky型染色特性（Multiple Romanowsky-type Stain Characteristics, MRSC）の違いから3種類（a型, BG-Ba; b型, BG-Bb; c型, BG-Bc）に分類

された（Table 2）。BG-Aは細胞質に豊富に存在し、 $1/15$  Mリン酸緩衝液を用いたMay-Grünwald（MG）染色によって淡青色を示したが（Fig. 1A）、他の染色条件では難染性であった。BG-BaはpH8.0の5 mMリン酸緩衝液およびpH5.0~8.0の $1/15$  Mリン酸緩衝液を用いたMG染色によって赤色を呈した。また、一部の条件ではGiemsa染色やMG-Giemsa（MGG）染色によっても赤色に染色された。本顆粒は核の周囲に少数局在していた（Fig. 1A）。BG-Bbは青紫色を呈する顆粒であり、細胞質に少数散在していた（Fig. 1B）。本顆粒は多くの条件のMG、GiemsaおよびMGG染色標本で認められた。BG-Bcは赤紫色を示す顆粒

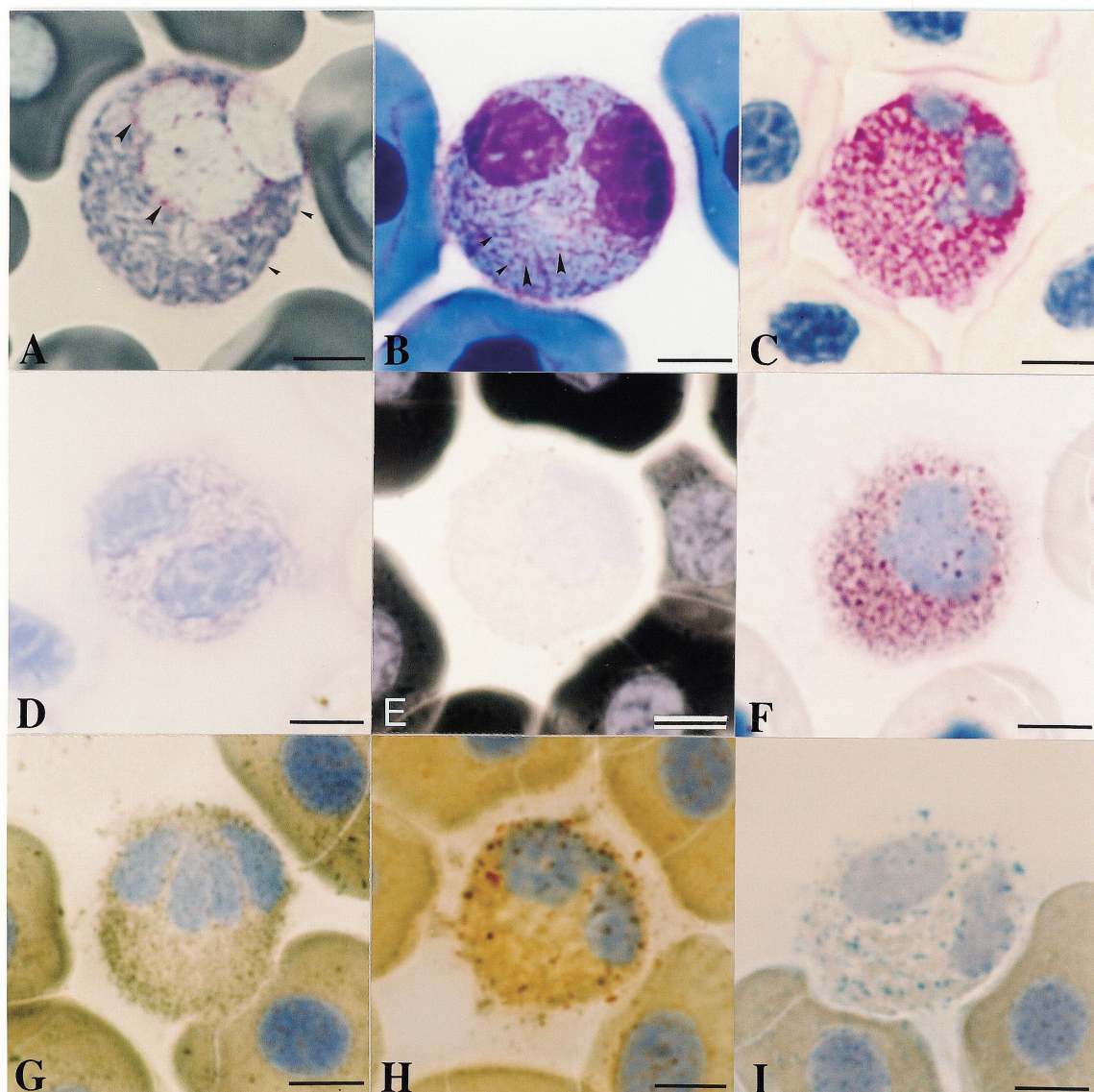
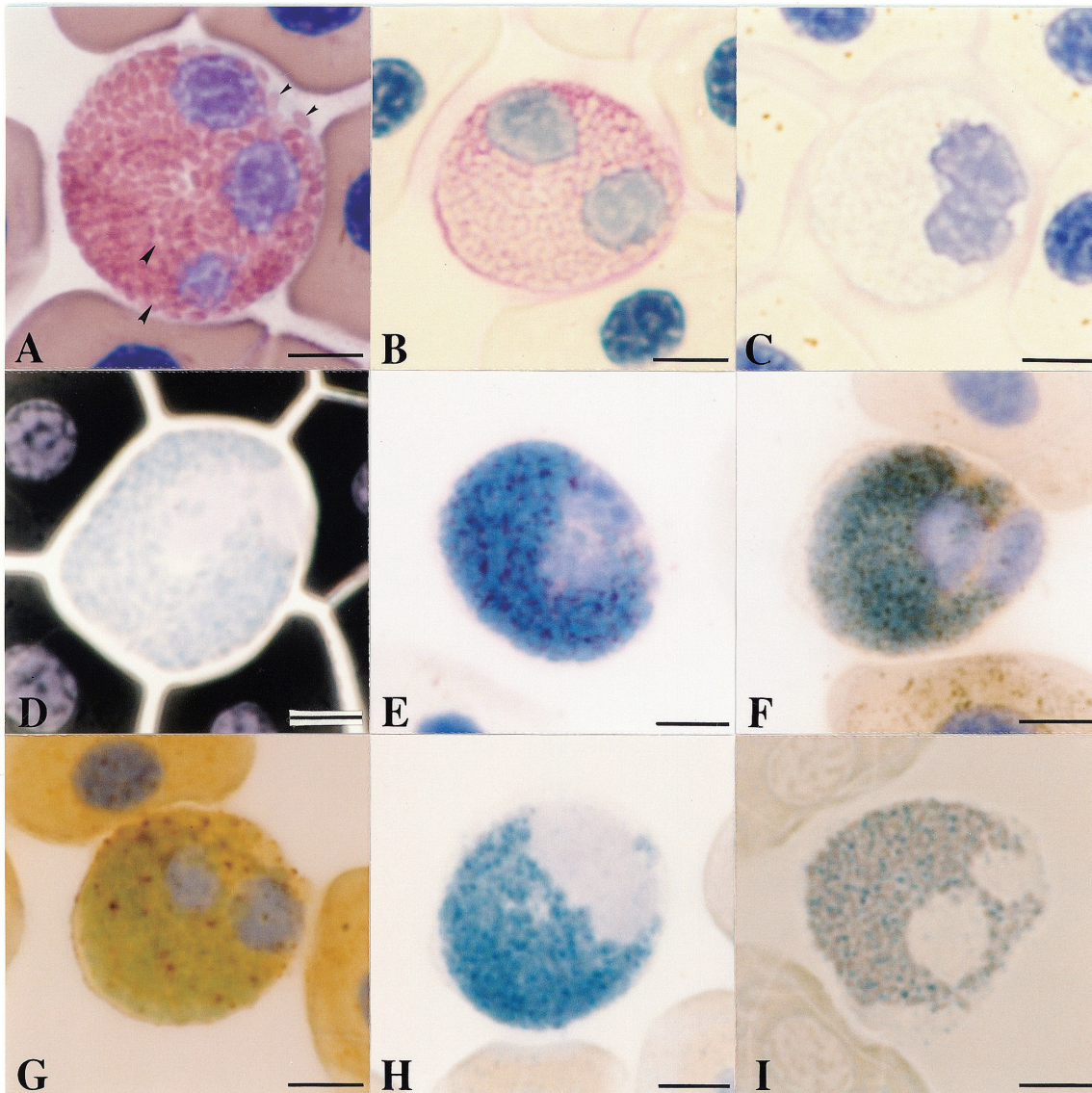


Fig. 1. Basophils of whip stingray *Dasyatis akajei*. A, May-Grünwald (PN=9; small arrowheads, BG-A; large arrowheads, BG-Ba); B, May-Grünwald · Giemsa (PN=63; small arrowheads, BG-Bb; large arrowheads, BG-Bc); C, periodic acid Schiff reaction; D, toluidine blue in distilled water; E, Sudan black B; F, acid phosphatase; G,  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase; H,  $\alpha$ -naphthyl butyrate esterase; I, naphthol AS-D chloroacetate esterase. PN, preparation number (See Table 1). Bars=5  $\mu\text{m}$ .





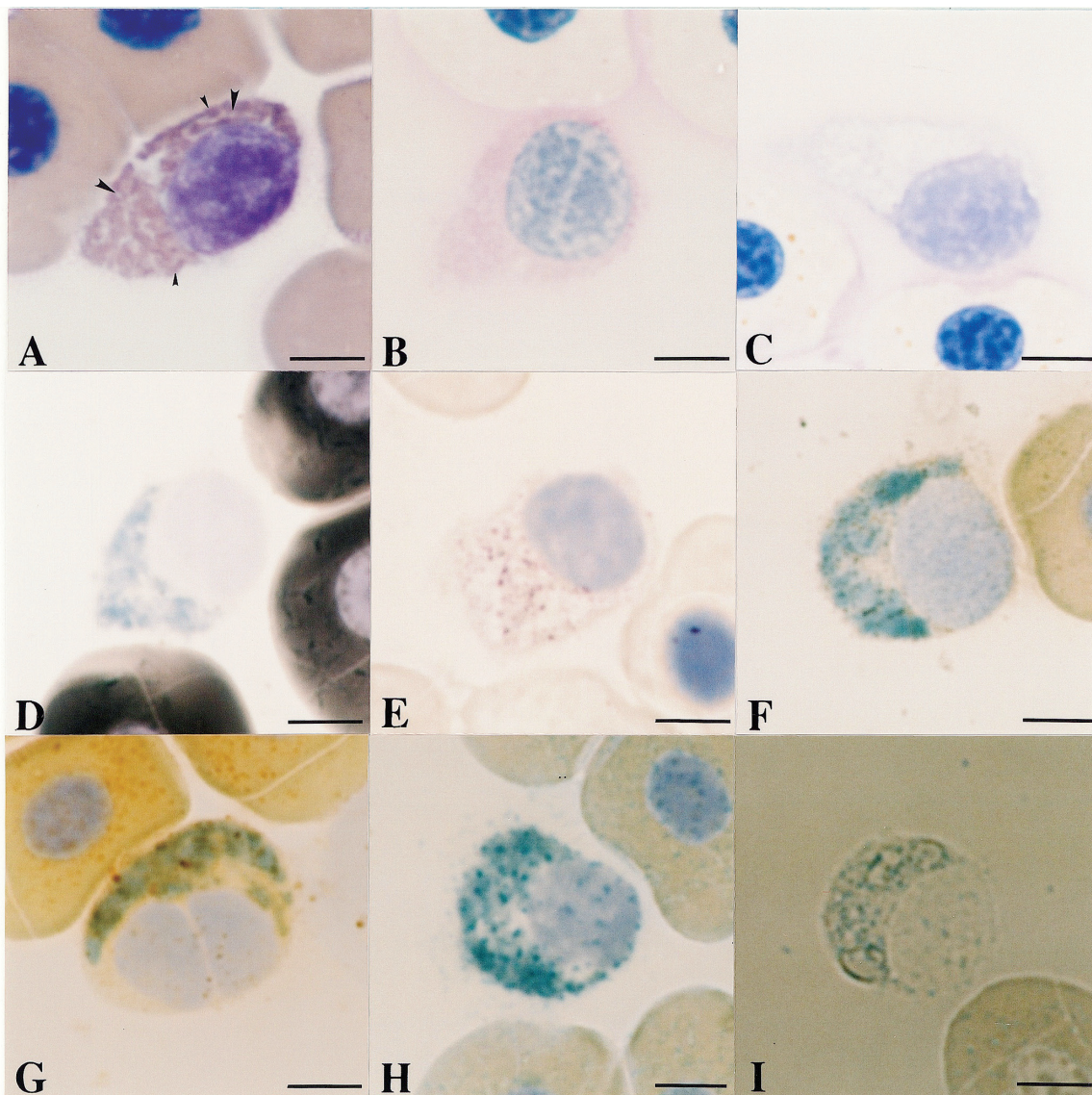
**Fig. 2.** Eosinophils of whip stingray *Dasyatis akajei*. A, May-Grünwald · Giemsa (PN=63; small arrowheads, EG-A; large arrowheads, EG-B); B, periodic acid Schiff reaction; C, toluidine blue in distilled water; D, Sudan black B; E, acid phosphatase; F,  $\alpha$ -naphtyl acetate esterase; G,  $\alpha$ -naphtyl butyrate esterase; H & I, naphthol AS-D chloroacetate esterase (H, with counter stain (Mayer's hematoxylin); I, without counter stain). The EG-A was stained with hematoxylin (D-H). PN, preparation number (See Table 1). Bars=5  $\mu$ m.

**Table 2.** Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of four types of basophil granules (BG) in whip stingray *Dasyatis akajei*

PN	Type and number of BG			
	BG-A	BG-Ba	BG-Bb	BG-Bc
1-4	—	—	+	++
5	—	+	—	—
6-9	++	+	—	—
10-43	—	—	+	++
44, 45	—	+	—	—
46-64	—	—	+	++
65	—	+	+	++
66-81	—	—	+	++

PN, preparation number (See Table 1); BG-A, type A (rod-shaped light blue granule); BG-B, type B (round granule); BG-Ba, red; BG-Bb, violet; BG-Bc purple; ++, many; +, some; —, not observed.





**Fig. 3.** Small eosinophilic granulocytes of whip stingray *Dasyatis akajei*. A, May-Grünwald · Giemsa (PN=63; small arrowheads, SEG-A; large arrowheads, SEG-B); B, periodic acid Schiff reaction; C, toluidine blue in distilled water; D, Sudan black B; E, acid phosphatase; F,  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase; G,  $\alpha$ -naphthyl butyrate esterase; H & I, naphthol AS-D chloroacetate esterase (H, with counter stain (Mayer's hematoxylin); I, without counter stain). The SEG-A was stained with hematoxylin (D, F-H) except for E. PN, preparation number (See Table 1). Bars=5  $\mu$ m.

**Table 3.** Summary of reactions of whip stingray *Dasyatis akajei* granulocytes to cytochemical tests

Test <sup>1</sup>	Positive site (shape, number and positive site) <sup>2</sup>			
	Neutrophil*	Basophil	Eosinophil	Small eosinophilic granulocyte
PAS	G (r or o, many); H	G (r or o, many); H	G (r or o, some); H	G (r or o, a few); H
PAS- $\alpha$ A	—	—	—	—
AB (pH1.0)	—	—	—	—
AB (pH2.5)	—	—	—	—
TB	G (amorphous, a few, eq YB); N	G (r or o, purple, many, eq BG-Bc); N	G (r or o, many, eq EG-B); N	G (r or o, a few); N
SBB	G (r or o, many, eq core of $\beta$ G-B)	G (r or o, some, eq BG-B)	G (r or o, many, eq EG-B)	G (r or o, a few)
Sudan III	—	—	—	—
Oil red O	—	—	—	—
AIP	—	—	—	—
AcP	G (r or o, many, eq core of $\beta$ G-B)	G (r or o, many, eq BG-B)	G (r or o, many, eq EG-B)	G (r or o, some, eq SEG-B)
$\beta$ -Glu	—	—	—	—
$\alpha$ -NAE	G (r or o, many, eq core of $\beta$ G-B)	G (r or o, many, eq BG-B)	G (r or o, many, eq EG-B)	G (r or o, some eq SEG-B)
$\alpha$ -NBE	G (r or o, many, eq surrounding of core of $\beta$ G-B)	G (r or o, some, eq BG-B)	G (r or o, some, eq EG-B)	G (r or o, some eq SEG-B)
NASDCAE	G (r or o, many, eq core of $\beta$ G-B)	G (r or o, many, eq BG-B)	G (r or o, many, eq EG-B)	G (r or o, some eq SEG-B)
Peroxidase	—	—	—	—

<sup>1</sup>PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- $\alpha$ A, PAS after digestion with  $\alpha$ -amylase; AB, alcian blue; TB, toluidine blue in distilled water; SBB, Sudan black B; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase;  $\beta$ -Glu,  $\beta$ -glucuronidase;  $\alpha$ -NAE,  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase;  $\alpha$ -NBE,  $\alpha$ -naphthyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase.

<sup>2</sup>G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; —, not detected; r, round; o, oval;  $\beta$ G-B, neutrophil granule type B (chromophobic); BG-B, basophil granule type B; BG-Bc, BG-B type c (purple); EG-B, eosinophil granule type B (chromophobic); SEG-B, type B granule of small eosinophilic granulocyte (chromophobic); Yb, Yasumoto body; eq, equivalent to.

\*Kondo et al.<sup>1)</sup>

であり, 細胞質に多数観察された (Fig. 1B)。BG-Bcが染色される条件はBG-Bbと同じであった。

periodic acid Schiff (PAS) 反応によって多数の陽性顆粒が観察され, 細胞質基質も陽性であったが,  $\alpha$ -アミラーゼ消化によって陽性反応は顆粒, 細胞質ともに完全に消失した (Fig. 1C; Table 3)。トルイジンブルー (TB) 染色によって多数の, ズダン黒B (SBB) 染色では少数の陽性顆粒が認められた (Figs. 1D, 1E)。TB陽性顆粒は円形または卵円形であり, 赤紫色を呈した。酸性フォスファターゼ (AcP) および各種エステラーゼ ( $\alpha$ -ナフチルアセテートエステラーゼ,  $\alpha$ -NAE;  $\alpha$ -ナフチルブチレートエステラーゼ,  $\alpha$ -NBE; ナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ, NASDCAE) 活性が円形または卵円形の顆粒状に検出された (Figs. 1F-1I)。

### 好酸球

好酸球は長径約18.0  $\mu\text{m}$ の円形または卵円形であり, 核は偏在し, 様々な形態 (円形から3分葉) を示した。核の染色質網は荒く, 粗大な濃縮染色質が観察された。好酸球には2種類の顆粒 (eosinophil granule, EG) が認められた (A型, EG-A; B型, EG-B; Fig. 2A)。両顆粒はいずれの条件のRomanowsky型染色標本においても観察された。EG-Aは卵円形または桿状であり (長径2.0  $\mu\text{m}$ 以下, 短径0.5  $\mu\text{m}$ 以下), 好酸性を示した。また, 顆粒の中央部の染色性は外縁部に比べて弱かった。EG-Bは円形または卵円形であり (長径0.5  $\mu\text{m}$ 以下), いずれの染色条件においても明瞭な染色性を示さず難染性であった。

PAS反応によって少数の陽性顆粒が観察され, 細胞質基質も弱陽性であったが,  $\alpha$ -アミラーゼ消化によっていずれの部位においても陽性反応は消失した (Fig. 2B; Table 3)。TB染色とSBB染色では多数の弱陽性顆粒が認められた (Figs. 2C, 2D)。本陽性顆粒は円形または卵円形であった。TB陽性顆粒は淡青色を呈した。AcPおよび各種エステラーゼ ( $\alpha$ -NAE,  $\alpha$ -NBE, NASDCAE) 活性が円形または卵円形の顆粒状に観察されたが (Figs. 2E-2I), AcP,  $\alpha$ -NAEおよびNASDCAE陽性顆粒は多く,  $\alpha$ -NBE陽性顆粒は少なかった。SBB, AcP,  $\beta$ -Gluおよび各種エステラーゼ染色後の核染色 (マイヤーのヘマトキシリン染色) によって大型の卵円形または桿状顆粒が青染した (Figs. 2D-2H)。しかし, PASおよびPO染色後のそれには染まらなかった。

### 小型好酸性顆粒球

本顆粒球 (small eosinophilic granulocyte, SE) は長径約13.0  $\mu\text{m}$ の卵円形または紡錘形であり, 核は偏在し, 通常円形から卵円形, まれに分葉 (2分葉) を示した。核の染色質網は荒く, 粗大な濃縮染色質が観察された (Fig. 3)。細胞質には2種類の顆粒 (SE granule, SEG) が認められた (A型, SEG-A; B型, SEG-B)。両顆粒はいずれの条件のRomanowsky型染色標本においても観察された。SEG-Aは角が明瞭でない多角形 (四角形から六角形) または卵円形の顆粒であり (長径1.5  $\mu\text{m}$ 以下, 短径1.0  $\mu\text{m}$ 以下), いずれの染色条件においても好酸性を示した。また, 顆粒の中央部と外縁部に染色性の違いは認められなかった。SEG-Bは円形または卵円形であり (長径0.5  $\mu\text{m}$ 以下), いずれの染色条件においても明瞭な染色性を示さず難染性であった (Fig. 3A)。

PAS反応によって少数の陽性顆粒が観察され, 細胞質基質も弱陽性であったが,  $\alpha$ -アミラーゼ消化によっていずれの部位においても陽性反応は消失した (Fig. 3B; Table 3)。TB染色とSBB染色では少数の弱陽性顆粒が認められた (Figs. 3C, 3D)。本陽性顆粒は円形または卵円形であった。TB陽性顆粒は淡青色を呈した。AcPおよび各種エステラーゼ活性が円形または卵円形の顆粒状に少数観察された (Figs. 3E-3I)。SBBおよび各種エステラーゼ染色後の核染色によって大型の卵円形または多角形顆粒が青染した (Figs. 1D, 3F-3H)。しかし, PAS, AcP,  $\beta$ -GluおよびPO染色後のそれには染まらなかった (Fig. 3E)。

## 考 察

アカエイには3種類の非貪食性顆粒球が認められた。好塩基球の4種類の顆粒は染色性が異なることから, それぞれ違う種類の顆粒と考えられる。各種酵素活性が小型の円形陽性顆粒として検出されることから, それら酵素は好塩基球のBG-Bに存在すると思われる。また, TB陽性顆粒とSBB陽性顆粒もBG-Bに相当すると推察されるが, TB陽性顆粒は異調染色性を示し, 赤紫色を呈した。このことから, TB陽性顆粒はRomanowsky型染色で赤紫色を呈するBG-Bcに相当すると言える。これまでに, アミア *Amia calva* とコノシロ *Konoshirus punctatus* にも好塩基球が観察されているが<sup>2,3)</sup>, アミアでは青紫色を呈する1種類の顆粒が存在し, この顆粒はPAS陽性, TBで淡青色を呈する。また, AcPと $\beta$ -Gluが微細顆粒状に検出されるが, 各種エステラー



ゼ活性は認められていない。一方、コノシロの好塩基球には3種類の顆粒が存在し、大型のA顆粒は赤紫色を、小型のB顆粒とC顆粒はそれぞれ赤紫色および淡青色を呈するとされている。また、AcPと $\beta$ -Gluが微細顆粒状に検出されるとともに、各種エステラーゼ染色にも陽性を示す。

アカエイの好酸球には2種類の顆粒が認められた。好酸性で大型のEG-Aでは、顆粒の中心部の染色性が弱いことから芯構造を有し、その芯は難染色性であると推察される。TB陽性顆粒、SBB陽性顆粒および各種酵素活性陽性顆粒はいずれも小型で円形または卵円形であることから、難染色性のEG-Bに相当すると思われる。EG-Aには本研究で検討した各種細胞化学染色に対して陽性反応を示さなかったが、SBB染色と、POを除く各種酵素染色における核染色（マイヤーのヘマトキシリン染色）によって青染した。アカエイ好中球の $\beta$ G-Aの好酸性を示す芯も、ヘマトキシリンによって青染されるが、AcP染色標本では染色されない。アミアの好酸球には、好酸性の大型顆粒と好塩基性の小型顆粒が観察されており、両顆粒にPO活性が検出され、小型顆粒はPASおよびTB陽性である<sup>2)</sup>。また、AcPと $\beta$ -Gluが微細顆粒状に検出されるが、エステラーゼ活性は認められていない<sup>2)</sup>。シベリアアチョウザメ *Acipenser baerii* にも好酸球が同定されており<sup>4)</sup>、細胞質には大小2種類の好酸性顆粒が認められAcPが大型顆粒に局在する。また、 $\beta$ -Gluや各種エステラーゼ活性も顆粒状に検出されるが、POは陰性である。マハタ *Epinephelus septemfasciatus* には顆粒の形状が異なる2種類の好酸球が存在するが、顆粒はそれぞれ1種類と報告されている<sup>5)</sup>。アミラーゼに消化されないPAS陽性顆粒とともに、TB陽性顆粒とSBB陽性顆粒も認められ、AcP、 $\beta$ -Glu、 $\alpha$ -NAEおよび $\alpha$ -NBE活性が検出されているが、NASDCAEとPOは陰性である。また、マハタの好酸球は貪食を示す<sup>5)</sup>。

アカエイの血液中には小型好酸性顆粒球が観察された。この顆粒球はアカエイの好酸球に類似し、好酸性顆粒と難染色性顆粒を有していた。また、各種細胞化学特性も類似していた。しかし、好酸性顆粒の形状が両顆粒球で異なる。また、小型好酸性顆粒球の好酸性顆粒には、好酸球の好酸性顆粒で認められる顆粒中央における染色性の低下は見られなかった。さらに、好酸球の好酸性顆粒はAcP染色後のヘマトキシリン染色によって青染されるが、小型好酸性顆

粒球では染色されなかった。以上のことから、好酸球と小型好酸性顆粒球は異なる顆粒球であると解釈した。小型好酸性顆粒球の好酸性顆粒のヘマトキシリン染色性はアカエイ好中球の $\beta$ G-Aの好酸性を示す芯と同様であった。小型好酸性顆粒球の存在は、コノシロとシベリアアチョウザメでも報告されているが<sup>3,4)</sup>、前者には3種類の、後者には1種類の顆粒が認められている。

Hine and Wain (1987) はアカエイの近縁種 *D. breviceaudatus* を含む複数種のエイ類の顆粒球を eosinophil, eosinophilic granulocyte および neutrophilic granulocyte の3種類に分類しているが<sup>6)</sup>、これらはアカエイの好酸球、好中球および好塩基球に相当すると思われる。同じ著者による板鰓類の顆粒球の細胞化学による報告では、エイ類の種間で相違があるものの、いずれの顆粒球も $\beta$ -Gluは陰性である<sup>7)</sup>。

## 文 献

- 1) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: アカエイの好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **65**, 141-145 (2017)
- 2) 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)
- 3) 近藤昌和, 仲下 亮, 安本信哉, 高橋幸則: コノシロの顆粒球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **63**, 250-260 (2015)
- 4) 近藤昌和, 酒井麻帆, 安本信哉, 高橋幸則: シベリアアチョウザメの顆粒球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **63**, 262-270 (2015)
- 5) 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)
- 6) Hine PM, Wain JM: Composition and ultrastructure of elasmobranch granulocytes. II. Rays (Rajiformes). *J Fish Biol*, **30**, 557-565 (1987)
- 7) Hine PM, Wain JM: The enzyme cytochemistry and composition of elasmobranch granulocytes. *J Fish Biol*, **30**, 465-475 (1987)