

マダイ好中球の有芯顆粒の構造: 顆粒における観察光の散乱様現象に基づく一考察

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Structure of Neutrophil Pithy Granules from Red Seabream *Pagrus major*: Possible Explanations from Light Scattering- like Phenomenon by the Granules under the Light Microscopic Observations

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract: In this paper, we speculate about morphological characteristics of pithy granules in neutrophils from red seabream based on the results of analysis of optic phenomena found in the granules stained with peroxidase stain (diaminobenzidine method). This granules consist of two-layer core (inner core and outer core) and surrounding of the core (mantle). The wave length of incident brown light entered outer core through the PO-positive (brown) surrounding is resolved and change to white light. The light lighten inner core, and then 'strong light' radiate from inner core. This radiation lighten PO-positive surrounding (PPS). As the result, PO-positive reaction is not found in almost all part of the PPS. From the inner core, 'weak light' with fixed width, probably correspond to diameter of inner core, also radiate. Weak light don't mix with strong light. The PPS lighted by weak light show PO-positive and is recognized to spot under microscope.

Key words: granule, neutrophil, *Pagrus major*, red seabream

マダイ *Pagrus major* の好中球には2種類の顆粒が観察される^{1,2)}。このうちエオシン好性の芯とその周囲から構成される顆粒(以後、有芯顆粒と称す)では、難染性の周囲にペルオキシダーゼ(PO)活性が認められる^{1,2)}。本顆粒のPO染色像において、芯の上方(対物レンズ側)に斑が観察された²⁾。この斑の色調はPO陽性を示す色調(茶色)に類似し、円形であった。また、斑の直径は芯の直径よりも短かった。これらのことから、斑は芯直下のPO陽性の周囲を通過した光が、芯で集光されて生じると推察した²⁾。タイノエ *Ceratothoa verrucosa* に寄生されたマダイの好中球にも有芯顆粒が観察される³⁾。しかし、寄生魚における有芯顆粒のPO染色像は未寄生魚のそれとは異なり、明瞭なPO陰性の芯が認められず、斑も形成されなかった。また、寄生魚では芯上方の周囲にもPO陽性像が観察されたが、未寄生魚

では同じ部位には陽性反応は認められなかった³⁾。寄生魚においても芯はPO陰性であると考えられたが、寄生魚の有芯顆粒のPO染色像を説明するモデルでは、未寄生魚のPO染色像を説明できなかった³⁾。

本稿では未寄生魚の有芯顆粒のPO染色標本を再度詳細に観察し、その特徴を述べるとともに、有芯顆粒がそれらの特徴を示すために必要な構造を考察した。その結果、有芯顆粒の芯は2層構造からなると考えられた。これまで、有芯顆粒の構造は芯とその周囲からなる^{1,3)}、地球の地質学的構造(内核と外核からなる核と、核の周囲のマンテルを構成要素とする)との類似から、有芯顆粒の芯を顆粒核(granule core)と呼び、2層構造からなる顆粒核のうち中心部を顆粒内核(granule inner core)、その外側を顆粒外核(granule outer core)とする。なお、記

述を簡単にするために、顆粒内核と顆粒外核は単に内核および外核と呼ぶ。また、顆粒核を取り巻く領域の呼称を、これまでの周囲からマントル (mantle) に変更した。

未寄生魚の有芯顆粒のPO染色像は以下の特徴を有していた。

1. 顆粒核にはPO陽性反応は全く認められない (文献2の Figs. 1H, 1L参照)。
2. マントルにおいてPO陽性反応が確認できる領域は、顆粒が最も大きく観察される時の断面 (以後、赤道面と称す) およびそこからわずかに上下した範囲に限られる。
3. 顆粒核の上方 (対物レンズ側) および下方 (コンデンサー側) のマントルにはPO陽性反応は確認できない。
4. マントルにPO陽性反応が認められない焦点では、非常に明るい無色の円盤 (以後、光円盤と称す) が観察され、その中心は顆粒核の中心を顕微鏡のコンデンサー側から対物レンズ側に通る垂直線上に位置した。光円盤は有芯顆粒の中心から上下に離れるほど直径が長くなった。
5. 斑はほとんど全ての有芯顆粒で観察され (斑が認められない有芯顆粒は稀である)、顆粒核の上方のみならず下方にも出現し (上方のみあるいは下方のみに斑が観察される有芯顆粒は認められない)、その出現様式から“移動斑”と“突然斑”の2種類に分類される。斑が観察される有芯顆粒の多くに移動斑が認められる。
6. 移動斑とはPO陽性反応を示すマントルからの一部から出現する斑であり、焦点を上方あるいは下方に移動するにしたがって、顆粒核の垂直線上へ直線状に移動する。移動斑の出現場所はランダムであり、顆粒核の上方を移動する斑と下方を移動する斑は、顆粒核の中心に対して点对称の位置から出現する。
7. 突然斑とは、移動斑の出現をともなわず、言わば“突然”に顆粒核の垂直線上に出現する斑である。
8. いずれの斑もその直径は顆粒核のそれよりも短い。
9. 顆粒核の垂直線上に斑が観察される焦点では、光円盤の直径は有芯顆粒のそれと同程度またはそれよりも大きい (垂直線上に位置する斑を以後、中心斑と呼ぶ; 文献2の Figs. 1H, 1L参照)。

前報において、斑 (上方の中心斑に相当) は顆粒核直下のPO陽性のマントルを通過した光が、顆粒核で集光されて生じると推察したが²⁾、その場合、斑の周辺には光があたり暗くなるはずである。しかし、斑の周辺には光円盤が形成されてむしろ明るかった (光円盤の中心に斑が形成

される)。したがって、この推察は正しくない。

PO染色した標本において、PO陽性部位を通過する光は、PO陽性反応の色に対応する波長を有し、それ以外の波長の光はPO陽性部位を通過しないであろう。顆粒核がPO陰性でマントルがPO陽性である有芯顆粒にPO染色を施すと、PO陽性のマントルを通過した光がPO陰性の顆粒核に入射することになるが、顆粒核にはPO陽性反応は全く認められなかった。このことは、PO陽性を示す光の波長が顆粒核において高度に分解され、様々な波長の光からなる白色光に変化することを示していると考えられる。

有芯顆粒のPO陽性反応を示す部位は、顕微鏡下ではリング状に認められる。この像が実体であるならば、マントルのPO陽性部位は顆粒核に相当する球状の構造体を嚮のように取り巻くこととなる。標本中で顆粒の方向性はランダムであると考えられるので、PO陰性の球状体に帯状のPO陽性部位が認められてもおかしくない。しかしながらこのような像は全く観察されなかった。したがって、マントルは顆粒核を余すところなく取り巻いており、顆粒核の上方および下方のマントルは本来PO陽性であるものの、その陽性反応像が観察されなくなっていると考えられる。

有芯顆粒に観察される中心斑のほとんどは移動斑をともなっていた。移動斑はPO陽性反応を示すマントルから現れること、斑の色調はマントルのPO陽性像と類似することから、移動斑とは、本来PO陽性のマントルがPO陰性に見える領域において、PO陽性に見える箇所に対応すると考えられる。すなわち、移動斑が認められる有芯顆粒においては、PO陽性反応が観察される領域は、赤道面付近のマントルと、これから顆粒核の垂直線に向かって伸びる帯状のマントルであり (帯状のPO陽性マントルは顆粒核の中心に対して点对称の位置から上下に伸びる)、移動斑は帯状のPO陽性マントルの断面を観察したものと言える。突然斑もマントルのPO陽性反応が島状に観察されたものと解釈される。

本来PO陽性の部位がPO陰性として認められ、この領域の一部にPO陽性像が観察されることから、2種類の白色光の存在が予想される: ① “強い光”, PO陽性反応が認められなくなる光; ② “弱い光”, PO陽性反応が認められる光。すなわち、PO陽性反応が認められなくなっている領域のマントルには強い光が、陽性反応が観察される領域には弱い光が照射されていると考えられる。

顆粒核で分解されて生じた光が強い光であるならば、その光は顆粒核を通過してマントルに到達し、そのPO陽

性反応を認められなくするであろう。この場合、斑は形成されない。また、生じた光が弱い光の場合、マンツルのPO染色像はいずれの部位においても陽性反応を示してしまう。強い光と弱い光が混合している場合、その光は強い光として作用すると考えられる。有芯顆粒のPO染色像を説明するためには、強い光の一部が弱い光に置き換わっている放射を考えなくてはならない。ここで、顆粒核内には内核部と外核部が存在すると仮定すると、有芯顆粒のPO染色像の形成は以下のように説明される。

顆粒核の下方に位置するPO陽性のマンツルを通過した光は、顆粒核の外核で波長分解されて白色光（弱い光）となる。弱い光に照射された内核からは逆円錐状に強い光が放射される。この放射は各焦点において光円盤として観察され、この光に照射された顆粒核上方のマンツルはPO陰性像として観察される。内核からは弱い光も放射されるが、弱い光は強い光とは混ぜせず、照射されたマンツルはPO陽性反応を示す。このPO陽性反応部位は上方の斑として観察される。内核から放射された強い光の一部は（多分、外核とマンツルの境界面で）反射されて内核を照射し、内核からは円錐状に下方に強い光が放射される。顆粒核下方のマンツルはこの光に照射され、PO陰性として観察される。また、内核から下方に放射される弱い光によってマンツルの一部がPO陽性反応を示し下方の斑として認められる。

有芯顆粒の多くに移動斑が観察され、少数の有芯顆粒には突然斑が認められる。また、斑が形成されない有芯顆粒も少数存在する。これらの斑形成を説明するためには内核の構造に方向性があると考えるのが妥当と思われる。すなわち、顆粒核の垂直線（光の進行方向）に対する内核の角度によって、①内核から弱い光がある幅と角度を持って放射される、②弱い光はある直径を持って内核から上方に直進する、③弱い光は放射されない。①では移動斑が観察され、②では突然斑となる。③の場合には斑は観察されない。①の角度は内核から放射される強い光の1/2になると予想される。また、①の幅と②の直径は内核の直径と関連するのではないと思われる。内核に方向性があるとすると、顆粒核の上方と下方に認められる移動斑が、点対称の位置から出現することを説明できる。一方、斑の種類および有無に関わらず、有芯顆粒に光円盤が認められることから、外核には方向性がないと考えられる。

上記のモデルにおいて、外核で波長分解されて生じた光がもしも強い光である場合、強い光の一部は外核を通過し

て顆粒核上方のマンツルに到達する。この場合、移動斑の出現はPO陽性反応を示すマンツルからではなく、このマンツルから離れた所からになる。しかし、このような移動斑の出現は観察されない。また、下方から外核を通過した光が、内核に集光される場合には、赤道付近のリング状のPO陽性マンツルに接する外核が暗部として観察されると予想されるが、そのような像は認められない。

以上のモデルによって、顆粒核の上方および下方のマンツルの大部分にPO陽性像が観察されないことと、上方および下方に各種の斑が形成されることが説明できる。また、このモデルが正しいとすると、内核から放射される強い光は外核を通過しても強い光として作用すると推察される。これまでに報告された各種染色標本には、顆粒核に内核と外核が存在することを明瞭に示唆する像は観察されていない^{1,2)}。また、電子顕微鏡観察によって顆粒に核が存在することは認められているが⁴⁾、核内部の詳細については言及されておらず不明である。

タイノエに寄生されたマダいの有芯顆粒では、顆粒核はPO陰性と判断されるが、顆粒核に明瞭な陰性像は観察されず、斑は形成されない。これらのことは、寄生魚では外核における波長分解がないかまたは非常に弱いこと、内核が形成されていないことを示唆すると考えられる。

文 献

- 1) 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)
- 2) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Cytochemical characteristics of neutrophil granules from red seabream *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 141-145 (2017)
- 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いの好中球顆粒. 水大校研報, **65**, 185-188 (2017)
- 4) Watanabe T, Kamijo A, Narita H, Kitayama K, Ohta H, Kubo N, Moritomo T, Kono M, Furukawa K: Resident peritoneal cells of red sea bream *Pagrus major*. *Fish Sci*, **61**, 937-941 (1995)