水産研究・教育機構 機関リポジトリ
FRA Japan Fisheries Research and Education Agency Institutional Repository

コノハエビとオオシロピンノの血球の形態学的特徴

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産大学校 公開日: 2024-10-11 キーワード (Ja): キーワード (En): crustacea; hemocyte; morphology; diversity; phylogeny; evolution 作成者: 近藤, 昌和, 高橋, 幸則 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2011977

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

本論文 Journal of National Fisheries University 60 (3) 137-143 (2012)

コノハエビとオオシロピンノの血球の形態学的特徴

近藤昌和†，高橋幸則

Morphological Characterization of Hemocytes of Leaf Shrimp *Nebalia japonensis* and Pea Crab *Pinnotheres sinensis*

Masakazu Kondo† and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological characteristics of hemocytes from leaf shrimp *Nebalia japonensis* and pea crab *Pinnotheres sinensis* were examined by light microscopy. Only a single type of hemocyte, granulocyte, were observed in the hemolymph of the leaf shrimp. The hemocyte was spindle to oval in shape and characterized by the presence of numerous small granules. The granules were round (≦0.3 μm in diameter) and classified into two types, eosinophilic granule and basophilic granule. On the other hand, two types of hemocytes, eosinophilic small granulocytes and eosinophilic large granulocytes, were observed in the hemolymph of the pea crab. The former had small-sized (round to oval, ≦0.5 μm) eosinophilic granules, and the latter had large-sized (round to oval, ≦1.5 μm) eosinophilic granules. Based on the present results and those of other crustaceans previously reported, we make a speculation about the evolutional process of crustacean hemocytes.

Key words : crustacea, hemocyte, morphology, diversity, phylogeny, evolution

緒　言

著者らはこれまでに，甲殻類[*1]の血球をMay-Grünwald (MG) 染色性の違いに基づいて分類してきた[2-9]。その結果，鰓脚綱サルソストラカ亜綱無甲目のブラインシュリンプ *Artemia salina*[2,3] とホウネンエビ *Branchinellites kugenumaensis*[3]，同綱葉脚亜綱背甲目のアジアカブトエビ *Triops numidicus*[3]，同亜綱双殻目タマカイエビ亜目のトゲカイエビ *Leptestheria kawachiensis*[4]，同目枝角亜目のミジンコ *Daphnia pulex*[*2]，顎脚綱鰓尾亜綱のチョウ *Argulus japonicus*[5]，同綱貝虫亜綱ミオドコパ上目ミオドコピダ目のウミホタル *Vargula hilgendorfii*[6]，同綱鞘甲亜綱蔓脚下綱完胸上目有柄目のエボシガイ *Lepas anatifera*[7] および同上目無柄目のアカフジツボ *Megabalanus rosa*[8] の血球は1種類であり，細胞質中に顆粒を有することが明らかとなった。しかし，顆粒の形状や染色性には動物種による違いが認められている。一方，軟甲綱の甲殻類では，複数種の血球が血液中に観察され，4つのグループ（Ⅰ～Ⅳ型）に区分されている[9]。すなわち，8種類の血球が観察されるⅠ型，4種類の血球が認められるⅡ型，3種類の血球が見られるⅢ型および2種類の血球を有するⅣ型に分けられる[9]。このうち，Ⅰ型には，真軟甲亜綱ホンエビ上目十脚

2011年10月11日受付．Received October 11,2011

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

*1 本論文における甲殻類の分類体系および用語は大塚・駒井（2008）[1] に依った。

*2 近藤昌和，稲川裕之，友永　進，高橋幸則：鰓脚甲殻類の血球．日本比較免疫学会第18回学術集会講演要旨，13（A1）（2006）

*3 近藤昌和，友永　進，高橋幸則：端脚甲殻類の血球．日本比較免疫学会第19回学術集会講演要旨，43（C9）（2007）

目の中で原始的な甲殻類であるクルマエビ類（クルマエビ *Marsupenaeus japonicus*，アカエビ *Metapenaeopsis barbata*，サルエビ *Trachysalambria curvirostris*）とともに[9]，真軟甲亜綱フクロエビ上目等脚目のフナムシ *Ligia exotica* やオカダンゴムシ *Armadillidium vulgare*[9),*3]，同上目端脚目のカギメリタヨコエビ *Melita koreana*[*3]，および軟甲綱トゲエビ亜綱口脚目のシャコ類（シャコ *Oratosquilla oratoria*，トゲシャコ *Harpiosquilla harpax*）が含まれることから[9]，Ⅰ型は軟甲綱類の血球の原型ではないかと推察される。

コノハエビ *Nebalia japonensis* は軟甲綱コノハエビ亜綱薄甲目に属し，最も原始的な軟甲類とされている[1]。コノハエビの血球を観察したところ，血球は1種類の顆粒球として認められた。また，オオシロピンノ *Pinnotheres sinensis*（十脚目抱卵亜目短尾下目）の血球は2種類に分類され，Ⅰ～Ⅳ型のいずれにも当てはまらなかった。本研究では，コノハエビとオオシロピンノの血球形態を報告するとともに，甲殻類の系統と血球の関係（血球の進化）について考察する[*4]。

材料および方法

実験動物

水産大学校の屋外水槽の排水路に自然繁殖していたコノハエビ（全長約1 cm）と，吉母漁港において採取されたムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* に寄生していたオオシロピンノ（甲幅約1.5 cm）を実験に用いた。コノハエビは採取後，直ちに実験に供した。また，オオシロピンノはムラサキイガイから摘出後，水温23℃で1週間馴致したのち実験に供した。なお，飼育期間中は，2日おきに飼育水を半量交換するとともに，市販のクルマエビ用配合飼料（エビアン協和，協和発酵）を粉砕して適宜給餌した。

血液塗抹標本の作成

コノハエビを滅菌海水で洗浄後，ゼラチン処理したスライドガラス上に載せた。これに氷冷した固定液（2%グルタールアルデヒド，2%パラフォルムアルデヒドおよび10%（w/v）スクロースを含む0.2 Mカコジル酸ナトリウム緩衝液（pH7.4））を滴下し，直ちに尾部を切断して流出した血液を固定液と混合した。これを前報[6]と同様の方法によって処理して塗抹標本を作製した。また，風乾せずに封入した標本を位相差顕微鏡によって観察した。

オオシロピンノからの採血は近藤の方法[9]に準じて行った。すなわち，前述の固定液をプラスチック製注射器に入れて氷水中で冷却後，第5歩脚基部から注射針を挿入して囲心腔より血液を採取した（固定液：血液＝19：1）。これをプラスチック製試験管に移し，転倒混和後，氷水中で15分間固定した。Auto Smear CF-12D（Sakaura）を用いて1,000 rpmで5分間遠心してゼラチン処理スライドガラスに血球を付着させ，風乾して血液塗抹標本とした。

ＭＧ染色

既報の操作[9]に準じて以下のようにMG染色を行った。塗抹標本を蒸留水で洗浄後（10分間×3回），風乾し，これにMG液（原液）を1.5 *ml* 載せ，5分後にリン酸緩衝液（1/15 M, pH5.0）1.5 *ml* を追加・混和して10分間染色した。蒸留水で軽く水洗し，風乾後，合成樹脂で封入して光学顕微鏡で観察した。

結　果

コノハエビ

流出血液を固定後，位相差顕微鏡で観察したところ，卵円形から紡錘形の血球が観察され，いずれの血球にも多数の微細な顆粒が認められた（Fig. 1A）。MG染色したところ，血球はただ1種類の顆粒球として識別された（Fig. 1B）。血球は長径8.0～13.0 μm であり，核は長径5.0～7.5 μm，短径3.0～5.0 μm の卵円形または楕円形で，血球のほぼ中央に位置した。核のクロマチン網は不明瞭であり，粗大で青色を呈する粒子状ヘテロクロマチンが核内に3，4個

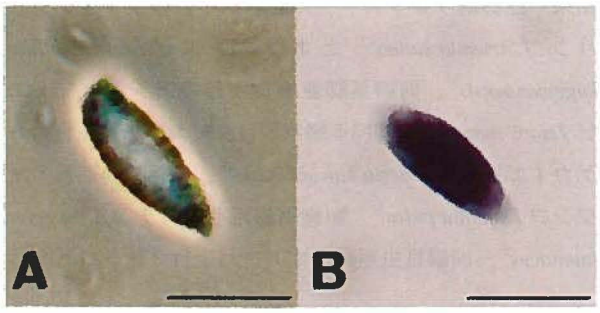

Fig. 1. Hemocytes of leaf shrimp. A, phase contrast; B, May-Grünwald stain. Note many cytoplasmic granules (A). Two types of round granules, basophilic granule and eosinophilic granule were observed in a hemocyte (B). Bars=10 μm

[*4] 本研究の一部は，平成16年度第2回日本水産学会中国・四国支部例会において報告した（近藤昌和，稲川裕之，高橋幸則：6. コノハエビの血球．平成16年度第2回日本水産学会中国・四国支部例会講演要旨集，(2004)）。

散在していた。細胞質基質は染色されなかった。血球中には2種類の顆粒（好酸性顆粒と好塩基性顆粒）が観察された。両顆粒ともに直径0.3 μm以下の円形であった。好酸性顆粒は赤色を呈し，細胞質の核に近い領域に多数観察された。一方，好塩基性顆粒は淡青色を示し，細胞膜に近い細胞質領域に認められたが，顆粒数は好酸性顆粒よりも少なかった。

オオシロピンノ

オオシロピンノの血球は顆粒の大きさの違いから2種類の好酸性顆粒球に分類された（Fig. 2）。好酸性小顆粒球（eosinophilic small granulocyte, ESG）は長径10.0～14.0 μmの楕円形から紡錘形の血球であった（Fig. 2A）。核は卵円形から楕円形であり（長径6.0～8.0 μm，短径4.0～5.0 μm），多くの場合，細胞の中央に位置した。粒子状のヘテロクロマチンが多数観察された。本血球の顆粒は長径0.5 μm以下の円形または卵円形であり，MG染色により濃赤色を呈した。好酸性大顆粒球（eosinophilic large granulocyte, ELG）はESGよりも大きく（長径15.0～18.0 μm），楕円形から紡錘形であった（Fig. 2B）。核は卵円形から楕円形であり（長径5.0～7.0 μm，短径3.0～4.0 μm），ESGの核よりも小型であり，多くの場合，細胞の中央に位置した。粒子状のヘテロクロマチンが少数観察された。ELGの顆粒は長径1.5 μm以下の円形または卵円形であり，MG染色により淡赤色を呈した。

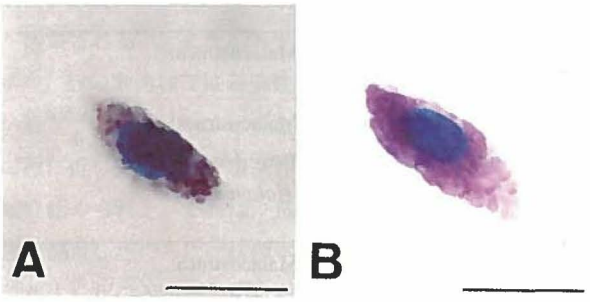

Fig. 2. Hemocytes of pea crab. May-Grünwald stain. A, eosinophilic small granulocyte; B, eosinophilic large granulocyte. Bars=10 μm.

考　察

本研究によって，コノハエビには1種類の顆粒球が，オオシロピンノには2種類の顆粒球が存在することが明らかとなった。コノハエビは最も原始的な軟甲類と考えられており[1]，血球種が1種類であることは，軟甲類よりも早期に出現した鰓脚類や顎脚類と同様であった。このことから，コノハエビは血球種数からもみても原始的であるといえる。一方，オオシロピンノには2種類の顆粒球が存在したが，近藤が前報[9]で示したⅠ～Ⅳ型のいずれの型にも当てはまらなかった。したがって，オオシロピンノに見られた2種類の顆粒球を有する甲殻類は新たな型，Ⅴ型とするのが妥当と考える。本研究と既報の結果から，甲殻類を血球の種類数に基づいて，2つのグループに分けることを提案したい。すなわち，1種類の血球を有する甲殻類を「単血球型甲殻類（Monohemocytic crustacean）＝単血球類，＝単血球群（Monohemocytic group）」とし，複数の血球種を有する甲殻類を「多血球型甲殻類（Polyhemocytic crustacean）＝多血球類，＝多血球群（Polyhemocytic group）」とする（Table 1）。単血球類には鰓脚類のブラインシュリンプ，ホウネンエビ，アジアカブトエビ，トゲカイエビおよびミジンコと，顎脚類のチョウ，ウミホタル，エボシガイおよびアカフジツボならびに軟甲類のコノハエビが含まれる（Table 1）。一方，多血球類は近藤が示したⅠ～Ⅳ型[9]と，本研究においてオオシロピンノの割り当てられたⅤ型に細分され，いずれもコノハエビを除く軟甲類が属する。Ⅰ型にはトゲエビ亜綱口脚目のシャコとトゲシャコ，真軟甲亜綱フクロエビ上目等脚目のフナムシとオカダンゴムシ，同上目端脚目のカギメリタヨコエビ，真軟甲亜綱ホンエビ上目十脚目根鰓亜目クルマエビ下目のクルマエビ，アカエビおよびサルエビ，同目抱卵亜目アナジャコ下目のニホンスナモグリ *Callianassa japonica* とアナジャコ *Upogebia major*，同亜目短尾下目のキンセンガニ *Matuta lunaris*，マメコブシガニ *Philyra pisum*，イシガニ *Charybdis japonica*，フタホシイシガニ *C. bimaculata*，ガザミ *Portunus trituberculatus*，タイワンガザミ *P. pelagicus*，ノコギリガザミ *Scylla serrata* およびオウギガニ *Leptodius exaratus* が属する（Table 1）。Ⅱ型には十脚目抱卵亜目ザリガニ下目のアメリカンロブスター *Homarus americanus*，同亜目イセエビ下目のイセエビ *Panulirus japonicus* および同亜目異尾下目のヤマトホンヤドカリ *Pagurus japonicus* が含まれる（Table 1）。また，Ⅲ型には十脚目抱卵亜目ザリガニ下目のザリガニ *Cambaroides japonicus* とアメリカザリガニ *Procambarus clarkia*，同亜目短尾下目のモクズガニ *Eriocheir japonicus*，イソガニ *Hemigrapsus sanguineus*，ケフサイソガニ *H. penicillatus*，ヒライソガニ *Gaetice depressus*，サワガニ *Geothelphusa dehaani*，スナガニ *Ocypode stimpsoni* およびアカテガニ *Holometopus haematocheir* が属し，Ⅳ型には十脚目抱卵亜目オトヒメ

Table 1. Classification of crustaceans based on the hemocyte types

		Taxonomic group and species	Reference[#]
Monohemocytic group		Anostraca, Sarosostraca, Branchiopoda: *Artemia salina*, *Branchinellites kugenumaensis*	2, 3, 9
		Notostraca, Phyllopoda, Branchiopoda: *Triops numidicus*	3, 9
		Laevicaudata, Diplostraca, Phyllopoda, Branchiopoda: *Leptestheria kawachieusis*	4
		Cladocera, Diplostraca, Phyllopoda, Branchiopoda: *Daphnia pulex*	a
		Arguloida, Branchiura, Maxillopoda : *Argulus japonicus*	5, 9
		Myodocopida , Myodocopa, Ostracoda, Maxillopoda: *Vargula hilgendorfii*	6
		Pedunculata, Thoracida, Cirripedia, Thecostraca, Maxillopoda: *Lepas anatifera*	7, 9
		Sessilia, Thoracida, Cirripedia, Thecostraca, Maxillopoda: *Megabalanus rosa*	8, 9
		Leptostraca, Phyllocarida, Malacostraca: *Nebalia japonensis*	b
Polyhemocytic group	Group I (Type I)	Stomatopoda, Hoplocarida, Malacostraca: *Oratosquilla oratoria*, *Harpiosquilla harpax*	9
		Isopoda, Peracarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Ligia exotica*, *Armadillidium vulgare*	9, c
		Amphipoda, Peracarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Melita koreana*	c
		Penaeidea, Dendrobranchiata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Marsupenaeus japonicus*, *Metapenaeopsis barbata*, *Trachysalambria curvirostris*	9
		Thalassinidea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Callianassa japonica*, *Upogebia major*	9
		Brachyura, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Matuta lunaris*, *Philyra pisum*, *Charybdis japonica*, *C. bimaculata*, *Portunus trituberculatus*, *P. pelagicus*, *Scylla serrata*, *Leptodius exaratus*	9
	Group II (Type II)	Astacidea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Homarus americanus*	9
		Palinuridea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca *Panulirus japonicus*	
		Anomura, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Pagurus japonicus*	
	Group III (Type III)	Astacidea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Cambaroides japonicus*, *Procambarus clarkia*	9
		Brachyura, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Eriocheir japonicus*, *Hemigrapsus sanguineus*, *H. penicillatus*, *Gaetice depressus*, *Geothelphusa dehaani*, *Ocypode stimpsoni*, *Holometopus haematocheir*	
	Group IV (Type IV)	Stenopodidea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Stenopus hispidus*	9
		Caridea, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Caridina japonica*, *C. denticulate*, *C. leucosticte*, *Macrobrachium formosense*, *M. japonicus*, *M. rosenbergii*, *M. nipponense*, *Palaemon paucidens*, *P. ortmanni*, *Alpheus brevicristatus*, *A. lobidens lobidens*	
	Group V (Type V)	Brachyura, Pleocyemata, Decapoda, Eucarida, Eumalacostraca, Malacostraca: *Pinnotheres sinensis*	b

[#]a, Kondo, M., H. Inagawa, S. Tomonaga and Y. Takahashi: Hemocytes of Branchiopoda (Crustacea). Proceedings of 18th Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology, 13 (A1) (2006); b, present report; c, Kondo, M., S. Tomonaga and Y. Takahashi: Hemocytes of Amphipoda (Crustacea). Proceedings of 19th Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology, 43 (C9) (2007).

エビ下目のオトヒメエビ *Stenopus hispidus*，同亜目コエビ下目のヤマトヌマエビ *Caridina japonica*，ミナミヌマエビ *C. denticulate*，ミゾレヌマエビ *C. leucosticte*，ミナミテナガエビ *Macrobrachium formosense*，ヒラテテナガエビ *M. japonicus*，オニテナガエビ *M. rosenbergii*，テナガエビ *M. nipponense*，スジエビ *Palaemon paucidens*，アシナガスジエビ *P. ortmanni*，テッポウエビ *Alpheus brevicristatus* およびイソテッポウエビ *A. lobidens lobidens* が，Ⅴ型には十脚目抱卵亜目短尾下目のオオシロピンノが含まれる（Table 1）。

コノハエビの血球は卵円形から紡錘形であった。ブラインシュリンプ，ホウネンエビ，アジアカブトエビ，トゲカイエビおよびミジンコの血球は円形から楕円形であり[2-4),*2]，チョウでは紡錘形である[5)]。また，ウミホタル血球の形状は卵円形または紡錘形であるが，時に偽足を有する[6)]。一方，エボシガイでは，糸状の細胞質突起を有する円形または卵円形であり[7)]，アカフジツボでは，偽足を有する不定形である[8)]。したがって，コノハエビ血球の形状は，鰓脚類や顎脚類のチョウと類似しているといえる。しかし，コノハエビの血球内顆粒の形態学的特徴は，鰓脚類や顎脚類と異なっていた（Table 2）。コノハエビ血球には2種類の顆粒（好酸性顆粒と好塩基性顆粒）が観察され，両顆粒ともに直径0.3 μm以下の円形であった。ブラインシュリンプとウミホタルの血球にも2種類の顆粒が観察されるが，前者には大型の好酸性顆粒と小型の難染性顆粒が[2,3)]，後者には大型の難染性顆粒と小型の好塩基性顆粒が観察される[6)]。また，トゲカイエビでは両染性顆粒のみが[4)]，他の動物種では難染性顆粒のみが血球に認められている[3,5,7,8),*2]。コノハエビの血球中では好酸性顆粒が細胞質の核に近い領域に，好塩基性顆粒が細胞膜に近い細胞質領域に認められた。これは，電子顕微鏡標本用の固定液と血液を混合したのちに塗抹標本を作製したために，標本に厚みが生じたことから，焦点を変えることによって両顆粒の存在部位の違いが推測できることによる。ブラインシュリンプとウミホタルの血球も，コノハエビの場合と同様に塗抹標本を作製しているが，2種類の顆粒の存在部位に違いは認められていない[2,3,6)]。以上のように，コノハエビの血球は，形状は鰓脚類や顎脚類のチョウと類似するが，血球内顆粒の染色性は顎脚類および鰓脚類とは異なっていた。

オオシロピンノには2種類の顆粒球が観察された。近藤は軟甲類を血球形態の違いに基づいてⅠ～Ⅳ型に分類しており[9)]，各血球の名称を和名および英名で記している。しかし，英名の略記はⅠ型の血球にのみ示している。また，異なる型の間に同じ名称の血球があり，今後の議論に混乱が生じる可能性がある。そこで，以後，血球の名称は基本的に近藤の前報[9)]に準ずるものの，英名の略記においては，略称の前に型名（ローマ数字の大文字）をつけることとしたい。さらに，Ⅰ型の血球のうち，2種類の好酸性顆粒球はⅠ型好酸性顆粒球（cosinophilic granulocyte-type Ⅰ（EG-type Ⅰ））およびⅡ型好酸性顆粒球（eosinophilic granulocyte-type Ⅱ（EG-type Ⅱ））と称されているが[9)]，このⅠ型およびⅡ型は，前述のⅠ～Ⅳ型のⅠ型およびⅡ型と混同されると思われるので，ローマ数字からアラビア数字に変更したい（Ⅰ型を1型に，Ⅱ型を2型に変更する）。また，近藤がⅠ型のある種類の血球に命名した「両染性顆粒球（amphophilic granulocyte（AG））」[9)]は，1血球内に好塩基性顆粒と好酸性顆粒の両者を有する血球であるが，「両染性」という名称はトゲカイエビの血球の顆粒にも用いられている[4)]。トゲカイエビの両染性顆粒の「両染性」とは，同一顆粒が条件によって酸性色素にも塩基性色素にも染色されることを意味しており[4)]，Ⅰ型の両染性顆粒球の「両染性」とは異なることから，今後混乱が生じると考え，以後，Ⅰ型の両染性顆粒球を「好塩基性好酸性顆粒球（basophilic and eosinophilic granulocyte）」と名称変更したい。以上の変更点を考慮した各型の各種血球の形態学的特徴，特に顆粒の染色性と大きさをTable 3に示す。Ⅰ型の8種類の血球は，好塩基性微細顆粒細胞（basophilic fine granular cell（ⅠBFG）），好塩基性形質細胞（basophilic plasma cell（ⅠBP））、好塩基性顆粒球basophilic granulocyte（ⅠBG））、難染性小顆粒球（chromophobic small granulocyte（ⅠCSG））、難染性大顆粒球（chromophobic large granulocyte（ⅠCLG））、好塩基性好酸性顆粒球（basophilic and cosinophilic granulocyte（ⅠBEG）），1型好酸性顆粒球（eosinophilic granulocyte-type 1（ⅠEG1））および2型好酸性顆粒球（cosinophilic granulocyte-type 2（ⅠEG2））となる。また，4種類の血球が認められるⅡ型では，小型好塩基性細胞（small basophilic cell（ⅡSBC）），難染性顆粒球（chromophobic granulocyte（ⅡCG）），好酸性小顆粒球（eosinophilic small granulocyte（ⅡESG））および好酸性大顆粒球（eosinophilic large granulocyte（ⅡELG））に分類される。Ⅲ型の3種類の血球は，難染性顆粒球（chromophobic granulocyte（ⅢCG）），好酸性小顆粒球（cosinophilic small granulocyte（ⅢESG））および好酸性大顆粒球（eosinophilic large granulocyte（ⅢELG））となり，Ⅳ型の血球は難染性顆粒球（chromophobic granulocyte（ⅣCG））と好酸性顆粒球（cosinophilic granulocyte（Ⅳ EG））

Table 2. Comparison of morphological characteristics of granules in hemocytes from monohemocytic crustaceans (May-Grünwald staining preparation)

	Species[1]									
	As	*Bk*	*Tn*	*Lk*	*Dp*[2]	*Aj*	*Vh*	*La*	*Mr*	*Nj*
Staining and shape (size, μm)[3]	Two type E, r (2) or o (2-3 × 1-2); C, r (<0.5)	One type C, r (≦0.3)	One type C, r (≦0.5)	One type A, r to o (1.4 in length)	One type C, r (≦0.5)	One type C, r (<0.5)	Two type B, r (<0.5); C, r (1.0)	One type C, r (<0.5)	One type C, r (0.5)	Two type B, r (≦0.3); E, r (≦0.3)
Sample[4]	BS	BS	BS	BS	TS	BS	BS	BS	BS	BS

[1]*As*, *Artemia salina* (brine shrimp)[2,3)], *Bk*, *Branchinellites kugenumaensis* (fairy shrimp)[3)], *Tn*, *Triops numidicus* (todpole shrimp)[3)], *Lk*, *Leptestheria kawachieusis* (clam shrimp)[4)], *Dp*, *Daphnia pulex* (water flea); *Aj*, *Argulus japonicus* (fish louse)[5)], *Vh*, *Vargula hilgendorfii* (seed shrimp)[6)], *La*, *Lepas anatifera* (ship barnacle)[7)], *Mr*, *Megabalanus rosa* (balanomorph barnacle)[8)], *Nj*, *Nebalia japonensis* (leaf shrimp, present report).

[2]Kondo, M., H. Inagawa, S. Tomonaga and Y. Takahashi (2006) Hemocytes of Branchiopoda (Crustacea). Proceedings of 18th Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology, 13 (A1).

[3]A, amphophilic; B, basophilic; C, chromophobic; E, eosinophilic; o, oval; r, round.

[4]BS, blood smear; TS, tissue section (paraffin embedded section).

Table 3. Comparison of morphological characteristics of hemocytes from polyhemocytic crustaceans (May-Grünwald staining preparation)

	Group (Type)[1]				
	I (Eight types of hemocytes)	II (Four types of hemocytes)	III (Three types of hemocyte)	IV (Two types of hemocytes)	V (Two types of hemocytes)
Hemocyte type[2], staining of granule[3] (shape[4], size (μm)) and other charcters	I BFG; B (r, ≦0.3)	II SBC; agranular; basophilic hyaloplasm	III CG; C (r, ≦1.0)	IV CG; C (r to o, ≦1.0)	V ESG; E (r, ≦0.5)
	I BP; B (a few, r, 0.5); basophilic hyaloplasm	II CG; C (r or rod-shaped, ≦1.0)	III ESG; E (r, ≦0.5)	IV EG; E (r to o, ≦1.0)	V ELG; E (r to o, ≦1.5)
	I BG; B (r , 0.3-0.5)	II ESG; E (r, ≦0.5)	III ELG; E (r, 1.0-3.0[5])		
	I CSG; C (r , 0.3-0.5)	II ELG; E (r, ≦1.0)			
	I CLG; C (r , 0.5-1.0)				
	I BEG; E (r, 0.3-0.5) and B (r, 0.3-0.5)				
	I EG1; E (r, 0.5-1.0); fine chromatin-meshed nucleus				
	I EG2; E (r, 0.5-1.0); dense nucleus				

[1]See Table 1.

[2]BEG, basophilic and eosinophilic granulocyte; BFG, basophilic fine granular cell; BG, basophilic granulocyte; BP, basophilic plasma cell; CG, chromophobic granulocyte; CLG, chromophobic large granulocyte; CSG, chromophobic small granulocyte; EG, cosinophilic granulocyte; EG1, eosinophilic granulocyte-type 1; EG2, cosinophilic granulocyte-type 2; ELG, eosinophilic large granulocyte; ESG, eosinophilic small granulocyte; SBC, small basophilic cell.

[3]B, basophilic; C, chromophobic; E, eosinophilic.

[4]r, round; o, oval.

[5]The length was measured from the Fig. I -5c of Kondo[9)].

の2種類に分類される。オオシロピンノの血球は顆粒の大きさの違いから2種類の好酸性顆粒球に分類された。好酸性小顆粒球（eosinophilic small granulocyte（以後，VESGと称す））の顆粒は長径0.5 μm以下の円形または卵円形であり，好酸性大顆粒球（eosinophilic large granulocyte（以後，VELGと称す））の顆粒は長径1.5 μm以下の円形または卵円形であった。軟甲類のⅠ～Ⅳ型のうち，好酸性顆粒のみを有する血球は，7種類知られているが[9]，ⅠEG1とⅠEG2の顆粒は直径0.5～1.0 μmの円形，ⅣEGの顆粒は長径1.0 μm以下の円形から卵円形であり[9]，VESGやVELGとは大きさが異なる。ⅡESGとⅢESGの顆粒はともに直径0.5 μm以下の円形であり[9]，VESGの顆粒と類似する。しかし，ⅡELGとⅢELGの顆粒は，前者では直径1.0 μm以下の円形であるのに対して，後者では直径1.0～3.0 μmの円形であり[9,*5]，VELGとは大きさが異なる。

近藤は，鰓脚類と顎脚類の血球が1種類であり，軟甲類は血球の種類数から4つの型に分類されることを示したが（Table 1参照）[9]，甲殻類の系統と血球の関係（血球の進化）については言及していない。本研究で得られたコノハエビとオオシロピンノの血球形態と種類数および既報から，以下の様な甲殻類血球の進化が考えられる。

甲殻類の祖先種は1種類の血球を有し，鰓脚類や顎脚類では，現生種においても血球は1種類である。軟甲類の祖先種においても血球種は1種類であり，この形質は原始的軟甲類の現生種であるコノハエビに受け継がれている。しかし，コノハエビ類についで出現した他の軟甲類の共通の祖先種では血球の種類数の増加が起こり，その型は，シャコ類（トゲエビ亜綱）や原始的十脚目のクルマエビ類および等脚目や端脚目といったフクロエビ類にも広く認められるⅠ型であろう。十脚目では血球の種類の違いから少なくとも5つの型に区別されるが，原始的十脚目のクルマエビ類がⅠ型であり，十脚目は単系統であるとされていることから[1]，他の型（Ⅱ～Ⅴ型）は，十脚目の中で起こった多様性であろう。

十脚目は単系統であるとされているが[1]，十脚目に見られる5つの型の中には，一つの型に異なる下目の種が含まれる場合がある（Table 1）。また，同じ下目の種が異なる型に含まれることもある（Table 1）。このことは，十脚目の単系統性を否定しないが，各下目の単系統性を支持しない。血球の型をそのまま下目に当てはめることが妥当か否かを明らかにするためには，さらに多くの甲殻類について調べなくてはならない。また，血球形態の違いと機能の関係については不明な点が多く残されており，今後明らかにする必要がある。

文　献

1）大塚　攻，駒井智幸：甲殻亜門，石川良輔（編），節足動物の多様性と系統．裳華房，東京，172-275（2008）

2）近藤昌和，高橋幸則，友永　進：ブラインシュリンプの血球．水大校研報，**50**, 141-150（2002）

3）近藤昌和，高橋幸則，友永　進：ホウネンエビとアジアカブトエビ（甲殻亜門鰓脚類）の血球．水大校研報，**51**，31-36（2002）

4）近藤昌和，稲川裕之，友永　進，高橋幸則：トゲカイエビ（甲殻亜門鰓脚綱貝甲目）の血球．水大校研報，**54**，153-157（2006）

5）近藤昌和，友永　進，高橋幸則：甲殻綱鰓尾類チョウ（*Argulus japonicus*）血球の形態学的および細胞化学的性状．水大校研報，**51**，45-52（2003）

6）近藤昌和，友永　進，高橋幸則：ウミホタル（甲殻亜門貝虫類）の血球．水大校研報，**57**，175-182（2009）

7）近藤昌和，友永　進，高橋幸則：エボシガイの血球．水大校研報，**50**，67-73（2002）

8）近藤昌和，友永　進，高橋幸則：アカフジツボの血球．水大校研報，**51**，73-78（2003）

9）近藤昌和：クルマエビの血球および定住性食細胞に関する研究．九州大学大学院博士学位論文，生資環博乙第40号，107 pp＋正誤表p 1（2003）

*5文献[9]ではⅢELGの顆粒の大きさを1.0～5.0 μmと記しているが，図（Fig. Ⅰ-5c）のスケールから見ても明らかに間違いであるので，ここではスケールから読み取った値を示した。