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

カレイ類(マコガレイ,マツカワ)の好中球の形態学的および細胞化学的特徴

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): flatfish; Pleuronectes yokohamae; Verasper moseri; neutrophil; morphology; cytochemistry 作成者: 近藤, 昌和, 安本, 信哉, 高橋, 幸則 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2011993

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

Journal of National Fisheries University 61 (2) 43－49 (2012)

カレイ類（マコガレイ，マツカワ）の好中球の形態学的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 Flatfishes (Marbled Sole *Pleuronectes yokohamae*, Barfin Flounder *Verasper moseri*)

Masakazu Kondo†, Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological and cytochemical characteristics of neutrophil from flatfishes (marbled sole *Pleuronectes yokohamae*, barfin flounder *Verasper moseri*) were examined by light microscopy. The shape of neutrophils in both fish was round to oval (8.0-11.0 μm in diameter) and the nucleus round to lobule-shaped. Only one type of granules, chromophobic granules (β G) were observed in the neutrophil of both fish. The β G was round to oval (≦0.5 μm in diameter), unstained by Romanowsky type stain (May-Grünwald (MG), Giemsa and MG-Giemsa) and peroxidase positive. In both fish, the Yasumoto body was also found in the neutrophil.

Key words : flatfish, *Pleuronectes yokohamae*, *Verasper moseri*, neutrophil, morphology, cytochemistry

緒　言

魚類の好中球顆粒の種類数は，魚種によって多様であることが報告されている[1-22]。真骨魚類は好中球顆粒の種類数の違いから４群に大別される。すなわち，好酸性（好エオシン性）顆粒（α顆粒），難染性顆粒（β顆粒）および好塩基性顆粒（γ顆粒）の３種類の顆粒が好中球に認められるⅠ群，好中球にα顆粒とβ顆粒が観察されるⅡ群，β顆粒のみを有するⅢ群およびβ顆粒とγ顆粒が好中球に存在するⅣ群に分類されている[22]。Ⅰ群には，原始的な魚類であるアジアアロワナ*Scleropages formosus*，ウナギ*Anguilla japonica*およびコイ*Cyprinus carpio*が含まれることから[2,12,15]，Ⅰ群の好中球は真骨魚類好中球の原型であると推察されている[15]。また，Ⅱ群にはトラフグ*Takifugu rubripes*とマダイ*Pagrus major*が含まれるが[9,16]，α顆粒の染色性が両魚種間で異なることから，Ⅱ-A群（トラフグ）とⅡ-B群（マダイ）に細分されている[16]。Ⅲ群には，アユ*Plecoglossus altivelis*，ノーザンパイク*Exos lucius*，ボラ目魚類（ボラ*Mugil cephalus*，メナダ*Chelon haematocheilus*），各種スズキ目魚類（オオクチバス*Micropterus salmoides*，ブルーギル*Lepomis macrochirus*，スズキ*Lateolabrax japonicus*，ヒラスズキ*L. latus*，タイリクスズキ*L. sp.*，メジナ*Girella punctata*，マハタ*Epinephelus septemfasciatus*）およびスズキ目から派生したとされるカレイ目[23]のヒラメ*Paralichthys olivaceus*が含まれることから[5-8,10,11,19-21]，β顆粒のみを好中球が有する点は，現生真骨魚類のうち正真骨下区[24]の魚類に広範囲にわたって受け継がれている形質と考えられる。しかし，スズキ目のナイルティラピア*Oreochromis niloticus*，イサキ*Parapristipoma trilineatum*およびブリ*Seriola quinqueradiata*はⅠ群に[3,4,17]，また，マダイは上述のようにⅡ-B群に属する[16]。さらに，スズキ目のアカメ*Lates japonicus*はⅣ群に分類されている[22]。したがって，スズキ目魚類は，好中球内顆粒の種類数に基づいて判断すると，その多様性が推察される。

本研究では，魚類の好中球顆粒における存在様式の多様性をさらに探求するために，カレイ目カレイ科に属するマコガレイ*Pleuronectes yokohamae*とマツカワ*Verasper moseri*の好中球の形態学的特徴を多条件下Romanowsky型染色評価　法（Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV）によって解析し，これまでに報告した各種魚類と

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

比較するとともに，細胞化学的特徴を調べたのでここに報告する。

材料および方法

実験魚（マコガレイ，体重約660 g；マツカワ，体重約1 kg）はいずれも水産大学校の飼育施設に搬入後，流水条件下で1週間馴致飼育したのち実験に供した。飼育期間中は無給餌とした。なお，実験時の水温はマコガレイで15℃，マツカワで13℃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（2009）[15]に従った。

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

Condition[1,2]	PN[3]	Condition[1,2]	PN[3]
MG: DW	1	G : 1/150 M PB, pH8.0, 1:20, 15 min	42
: 5 mM PB, pH5.0	2	: 1/150 M PB, pH8.0, 1:20, 60 min	43
: 5 mM PB, pH6.0	3	: 1/150 M PB, pH8.0, 1:100, 15 min	44
: 5 mM PB, pH7.0	4	: 1/150 M PB, pH8.0, 1:100, 60 min	45
: 5 mM PB, pH8.0	5	MGG: DW, 1:20, 15 min	46
: 1/15 M PB, pH5.0	6	: DW, 1:20, 60 min	47
: 1/15 M PB, pH6.0	7	: DW, 1:100 , 15 min	48
: 1/15 M PB, pH7.0	8	: DW, 1:100 , 60 min	49
: 1/15 M PB, pH8.0	9	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15 min	50
G : DW, 1:20, 15 min	10	: 5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60 min	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, 15 min	54
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 15 min	14	: 5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60 min	55
: 0.5 mM PB, pH5.0, 1:20, 60 min	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, 15 min	58
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 15 min	18	: 5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60 min	59
: 0.5 mM PB, pH6.0, 1:20, 60 min	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, 15 min	62
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 15 min	22	: 5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60 min	63
: 0.5 mM PB, pH7.0, 1:20, 60 min	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	: 1/15 M PB, pH5.0, 1:20, 15 min	66
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 15 min	26	: 1/15 M PB, pH5.0, 1:20, 60 min	67
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:20, 60 min	27	: 1/15 M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	68
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 15 min	28	: 1/15 M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	69
: 0.5 mM PB, pH8.0, 1:100, 60 min	29	: 1/15 M PB, pH6.0, 1:20, 15 min	70
: 1/150 M PB, pH5.0, 1:20, 15 min	30	: 1/15 M PB, pH6.0, 1:20, 60 min	71
: 1/150 M PB, pH5.0, 1:20, 60 min	31	: 1/15 M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	72
: 1/150 M PB, pH5.0, 1:100, 15 min	32	: 1/15 M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	73
: 1/150 M PB, pH5.0, 1:100, 60 min	33	: 1/15 M PB, pH7.0, 1:20, 15 min	74
: 1/150 M PB, pH6.0, 1:20, 15 min	34	: 1/15 M PB, pH7.0, 1:20, 60 min	75
: 1/150 M PB, pH6.0, 1:20, 60 min	35	: 1/15 M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	76
: 1/150 M PB, pH6.0, 1:100, 15 min	36	: 1/15 M PB, pH7.0, 1:100, 60 min	77
: 1/150 M PB, pH6.0, 1:100, 60 min	37	: 1/15 M PB, pH8.0, 1:20, 15 min	78
: 1/150 M PB, pH7.0, 1:20, 15 min	38	: 1/15 M PB, pH8.0, 1:20, 60 min	79
: 1/150 M PB, pH7.0, 1:20, 60 min	39	: 1/15 M PB, pH8.0, 1:100, 15 min	80
: 1/150 M PB, pH7.0, 1:100, 15 min	40	: 1/15 M PB, pH8.0, 1:100, 60 min	81
: 1/150 M PB, pH7.0, 1:100, 60 min	41		

[1]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.

[2]Diluent for Giemsa of MGG stain were DW, 0.5 mM PB or 1/150 M PB.

[3]Preparation number.

結　果

マコガレイおよびマツカワの好中球にはβ顆粒が観察されたが（Fig. 1），α顆粒とγ顆粒は認められなかった。また，いずれの好中球にもY小体（安本小体，Yasumoto body（Y-body））が認められた。マコガレイおよびマツカワの好中球の細胞化学的特徴をTable 2に示す。

両カレイ類の好中球はともに長径8.0～11.0 μmの円形または卵円形であり，細胞に占める核の割合は低く，核は円形から分葉核（2分葉まで）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（Fig. 1）。

両魚種ともにβ顆粒は円形または卵円形で，長径が0.5 μm以下であり，細胞質に充満していた。本顆粒はいずれの条件のRomanowsky型染色においても明瞭な色調を示さず難染性であった。Y小体は円形，卵円形，桿形，コンマ形，三日月形，紐状など形態および大きさは多様であり，その数は好中球ごとに異なっていたが，Y小体が全く観察されない好中球は認められなかった。同小体はいずれの染色条件においても青色を呈した（Fig. 1）。

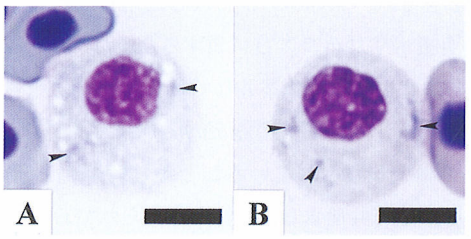

Fig. 1. Neutrophil of flatfishes (marbled sole *Pleuronectes yokohamae* (A) and barfin flounder *Verasper moseri* (B)) stained with May-Grünwald·Giemsa stain (PN 48 in Table 1). Note chromophobic granules (β granules) and Y-body (arrowheads). Bars = 5 μm.

マコガレイの好中球にはアルカリ性フォスファターゼ（AlP），酸性フォスファターゼ（AcP），β-グルクロニダーゼ（β-Glu），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）およびペルオキシダーゼ（PO）活性が検出された（Fig. 2）。また，periodic acid Schiff反応（PAS）およびトルイジンブルー（TB）染色陽性であった（Fig. 2）。AlPは円形または卵円形（長径0.3 μm以下）の陽性顆粒として少数観察された（Fig. 2A）。AcPは円形または卵円形（長径0.2 μm以下）の陽性顆粒として少数観察された（Fig. 2B）。β-Gluは長径0.2 μm以下の円形または卵円形陽性顆粒として極めて少数認められた（Fig. 2C）。α-NAE，α-NBEおよびNASDCAEはいずれも長径0.2 μm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. 2D-2F）。POは円形または卵円形の陽性顆粒（長径0.5 μm以下）として認められ，細胞質に充満していた（Fig. 2G）。核にはPO陽性反応は検出されなかった。微細（長径0.3 μm以下）な円形または卵円形のPAS陽性顆粒が，いずれの好中球にも多数観察され，細胞質基質もPAS弱陽性であった（Fig. 2H）。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（AB）染色では陽性部位は観察されなかった。TB

Table 2. Summary of reactions of neutrophil to cytochemical tests in flatfishes (marbled sole *Pleuronectes yokohamae* and barfin flounder *Verasper moseri*)

	Fish and positive site (shape and number)	
	P. yokohamae	*V. moseri*
Periodic acid Schiff reaction (PAS)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.3$ μm); H	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.3$ μm); H
PAS after digestion with α-amylase	−	−
Alcian blue (pH1.0)	−	−
Alcian blue (pH2.5)	−	−
Toluidine blue (in distilled water)	G (am, af, eq Y-body); N	G (am, af, eq Y-body); N
Sudan black B	−	−
Sudan III	−	−
Oil red O	−	−
Alkaline phosphatase	G (r or o, s, $\phi \leqq 0.3$ μm); H	−
Acid phosphatase	G (r or o, s, $\phi \leqq 0.2$ μm)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.3$ μm)
β-Glucronidase	G (r or o,af, $\phi \leqq 0.2$ μm)	−
α-Naphtyl acetate esterase	G (r or o, s, $\phi \leqq 0.2$ μm)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.2$ μm)
α-Naphtyl butyrate esterase	G (r or o, s, $\phi \leqq 0.2$ μm)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.2$ μm)
Naphthol AS-D chloroacetate esterase	G (r or o, s, $\phi \leqq 0.2$ μm)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.2$ μm)
Peroxidase	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.5$ μm, eq βG)	G (r or o, m, $\phi \leqq 0.5$ μm, eq βG)

−, non detection; G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; Y-body, Yasumoto body; βG, β granule; r, round; o, oval; am, amorphous; m, many; s, some; af, a few; eq, equivalent to.

染色によって，いずれの好中球にも種々の形態（円形，卵円形，桿形，コンマ形，三日月形，紐状）を示す青色の陽性顆粒が少数観察された（Fig. 2I）。また，核も青染された。オイルレッドO（ORO），ズダンⅢおよびズダンブラックB（SBB）染色では陽性部位は観察されなかった。

マツカワの好中球にはAcP，α-NAE，α-NBE，NASDCAEおよびPOが認められた（Fig. 3）。しかし，AlPおよびβ-Gluは検出されなかった。また，PASおよびTB染色陽性であった（Fig. 3）。AcPは円形または卵円形（長径0.2 μm以下）の陽性顆粒として多数観察された（Fig. 3A）。α-NAE，α-NBEおよびNASDCAEはいずれも長径0.2 μm以下の円形または卵円形の陽性顆粒として多数観察された（Figs. 3B-3D）。POは円形または卵円形の陽性顆粒（長径0.5 μm以下）として認められ，細胞質に充満していた（Fig. 3E）。核にはPO陽性反応は検出されなかった。PAS陽性顆粒は微細（長径0.3 μm以下）な円形または卵円形であり，多数観察された（Fig. 3F）。細胞質基質もPAS弱陽性であった（Fig. 3F）。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。TB染色によって，いずれの好中球にも種々の形態（円形，卵円形，桿形，コンマ形，三日月形，紐状）を示す青色の陽性顆粒が少数観察された（Fig. 3G）。核もTBによって青染された。AB，ORO，ズダンⅢおよびSBB染色では陽性部位は観察されなかった。

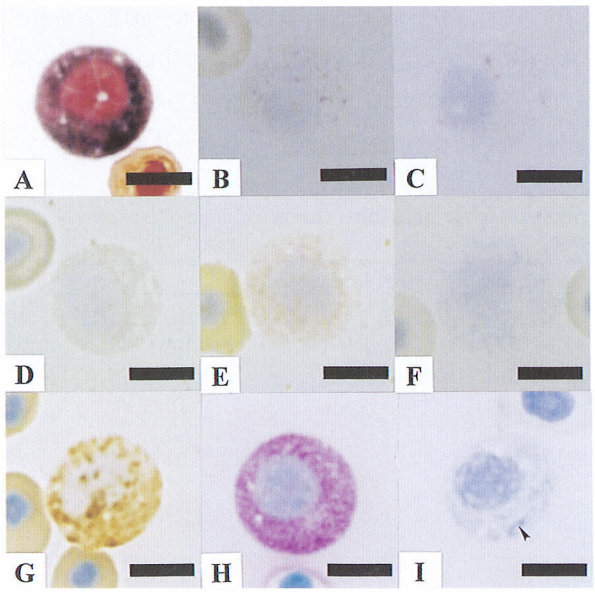

Fig. 2. Cytochemistry of marbled sole *Pleuronectes yokohamae* neutrophil. A, alkaline phosphatase; B, acid phosphatase; C, β-glucronidase; D, α-naphtyl acetate esterase; E, α-naphthyl butyrate esterase; F, naphthol AS-D chloroacetate esterase; G, peroxidase; H, periodic acid Schiff reaction; I, toluidine blue in distilled water. Arrowhead shows Y-body. Bars = 5 μm.

考　察

本研究の結果から，マコガレイおよびマツカワの好中球には1種類の顆粒（β顆粒）とY小体が存在し，これらの魚種はⅢ群に属することが明らかとなった。

β顆粒はこれまでに著者らが報告した全ての真骨魚類（アジアアロワナ，ウナギ，コイ，アユ，ノーザンパイク，ナイルティラピア，イサキ，ボラ，メナダ，アカメ，オオクチバス，ブルーギル，スズキ，ヒラスズキ，タイリクスズキ，メジナ，マハタ，マダイ，ブリ，ヒラメ，トラフグ）で認められているが[1-12,15-17,19-22]，魚類を含む脊椎動物の原始的な系統とされているヌタウナギ類に属するヌタウナギ*Eptatretus burgeri*や，肉鰭綱肺魚亜綱のアフリカハイギョ*Protopterus annectens*および真骨魚類とともに条鰭綱に含まれ，条鰭綱の中で最も祖先的と考えられている腕鰭亜綱ポリプテルス目に属する*Polypterus endlicheri*の好中球にはβ顆粒は観察されていない[13,14,18]。

Y小体はヌタウナギや*P. endlicheri*とともに各種真骨魚類の好中球に観察されていることから[3-17,19-22]，同小体は魚類の好中球に共通する構造物と考えられており[22]，マコガレイおよびマツカワの好中球にもY小体が観察されたことはこの考えを支持している。

マコガレイおよびマツカワの好中球のPASおよびTB染色性はともにカレイ目ヒラメ科のヒラメの好中球と類似し

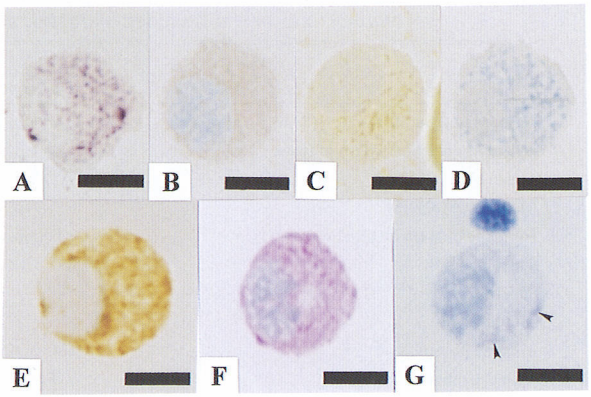

Fig. 3. Cytochemistry of barfin flounder *Verasper moseri* neutrophil. A, acid phosphatase; B, α-naphtyl acetate esterase; C, α-naphthyl butyrate esterase; D, naphthol AS-D chloroacetate esterase; E, peroxidase; F, periodic acid Schiff reaction; G, toluidine blue in distilled water. Arrowheads show Y-body. Bars = 5 μm.

Table 3. Comparison of cytochemical characteristics of neutrophils from various fish species

Test[1]	Fish and type of cytoplasmic granule[2]									
	Eb	*Pa*	*Pe*	*Sf*	*Aj*	*Pla*	*El*	*Mc*	*Ch*	*Laj*
	γ	P	α1, α2, γ	α, β, γ	α, β, γ	β	β	β	β	β, γ
PAS	+(H, G)	+(P)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)
PAS-αA	−	+(P)	−	−	−	−	−	±(H)	±(H)	−
AB pH1.0	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
AB pH2.5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
TB	+(N, Y)	+(N, P)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(H, N, Y)	+(H, N, Y)	+(N, γ, Y)
SBB	−	−	+(α1)	+(G)	+(G)	−	+(G)	+(H, G)	+(H, G)	±(H, G)
SⅢ	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
ORO	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
AlP	−	−	+(α1)	−	−	−	−	−	−	+(H, γ)
AcP	−	+(P)	+(α1)	−	+(γ)	−	+(β)	+(G)	+(G)	+(G)
β-Glu	−	−	+(α1)	−	+(G)	−	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
α-NAE	−	+(P)	+(α1)	+(G)	+(γ)	−	+(G)	+(H, G)	+(H, G)	+(G)
α-NBE	+(γ)	+(P)	+(α1)	+(G)	+(γ)	−	+(G)	−	+(H, G)	+(G)
NASDCAE	−	+(P)	+(α1)	+(γ)	+(G)	−	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
PO	−	−	−	+(β)	+(β)	+(N, β)	+(β)	+(N, β)	+(N, β)	+(β)

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

[2]*Eb*, *Eptatretus burgeri* (hagfish)[14]; *Pa*, *Protopterus annectens* (African lungfish)[18]; *Pe*, *Polypterus endlicheri*[13]; *Sf*, *Scleropages formosus* (Asian arowana)[12]; *Aj*, *Anguilla japonica* (Japanese eel)[15]; *Pla*, *Plecoglossus altivelis* (ayu)[8]; *El*, *Exos lucius* (northern pike)[11]; *Mc*, *Mugil cephalus* (gray mullet)[20]; *Ch*, *Chelon haematocheilus* (redlip mullet)[21]; *Laj*, *Lates japonicus* (Japanese lates)[22]; α, eosinophilic granule; α1, α type 1; α2, α type 2; β, chromophobic granule; γ, basophilic granule; P, panchromatophilic granule; Y, Yasumoto body; H, hyaloplasm; G, granular; N, nucleus; −, negative; ±, weakly positive; +, positive.

Table 3. *Cont.*

Test[1]	Fish and type of cytoplasmic granule[2]									
	Lm	*Lj*, *Ll*	*Es*	*Sq*	*Gp*	*Pm*	*Py*	*Vm*	*Po*	*Tr*
	β	β	β	α, β, γ	β	α, β	β	β	β	α, β
PAS	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)	+(H, G)
PAS-αA	−	−	+(H)	−	−	−	−	−	−	−
AB pH1.0	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
AB pH2.5	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
TB	+(N, Y)	+(N, Y)	+(H, N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)	+(N, Y)
SBB	+(G)	+(G)	+(H, G)	+(β)	+(G)	+(β)	−	−	+(G)	+(G)
SⅢ	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
ORO	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
AlP	−	−	+(H, G)	+(β)	+(H, G)	−	+(H, G)	−	−	−
AcP	−	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)	+(α)	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
β-Glu	−	−	+(G)	−	−	+(G)	+(G)	−	−	−
α-NAE	−	+(G)	+(H, G)	+(γ)	+(G)	+(α)	+(G)	+(G)	+(G)	+(G)
α-NBE	−	−	+(H, G)	−	−	+(G)	+(G)	+(G)	−	+(G)
NASDCAE	−	+(G)	+(G)	−	−	+(α)	+(G)	+(G)	−	+(G)
PO	+(β)	+(β)	+(N, β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)	+(β)

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

[2]*Lm*, *Lepomis macrochirus* (bluegill)[6]; *Lj*, *Lateolabrax japonicus* (Japanese seabass)[10]; *Ll*, *Lateolabrax latus* (seabass)[10]; *Es*, *Epinephelus septemfasciatus* (sevenband grouper)[19]; *Sq*, *Seriola quinqueradiata* (Japanese amberjack)[17]; *Gp*, *Girella punctata* (rudderfish)[5,7]; *Pm*, *Pagrus major* (red sea-bream)[16]; *Py*, *Pleuronectes yokohamae* (marbled sole, present report); *Vm*, *Verasper moseri* (barfin flounder, present report); *Po*, *Paralichthys olivaceus* (Japanese flounder)[7]; *Tr*, *Takifugu rubripes* (tiger puffer)[9]; α, eosinophilic granule; β, chromophobic granule; γ, basophilic granule; Y, Yasumoto body; H, hyaloplasm; G, granular; N, nucleus; −, negative; +, positive.

ていた（Table 3）。しかし，SBB染色ではヒラメの好中球に多数の陽性顆粒が観察されるのに対して[7]，マコガレイおよびマツカワの好中球はSBB陰性であった（Table 3）。酵素染色性にも魚種間で違いが認められ，AlPおよびβ-Gluはマコガレイでは陽性であったが，マツカワおよびヒラメでは陰性であった（Table 3）。また，ヒラメでは検出されないα-NAEとα-NBEが[7]，マコガレイおよびマツカワの好中球に認められた（Table 3）。

細胞化学的特性からマコガレイおよびマツカワの好中球のβ顆粒およびY小体の成分を次のように推定した。両魚

種ともにPAS陽性顆粒はβ顆粒とは大きさが異なる。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る。TB染色によって種々の形態を示す青色の陽性部位は形態学的特徴から，いずれの魚種においてもY小体に相当すると思われる。マコガレイ好中球のAlPおよびβ-Glu陽性顆粒は大きさおよび顆粒数がβ顆粒とは異なる。また，両魚種に認められたAcP，β-Glu，α-NAE，α-NBEおよびNASDCAE陽性顆粒は，大きさと数がβ顆粒とは異なる。しかし，PO陽性顆粒は両魚種ともに長径0.5μm以下の円形または卵円形で，細胞質に充満していることから，β顆粒に相当すると考えられる。

これまでに，各種魚類の好中球の細胞化学的特徴が調べられているが（Table 3），陽性反応を示す部位が推定されているものは少ない。しかし，β顆粒を有する魚種（アジアアロワナ，ウナギ，アユ，ノーザンパイク，ボラ，メナダ，アカメ，ブルーギル，スズキ，ヒラスズキ，メジナ，マハタ，マダイ，ブリ，ヒラメ，トラフグ）では，本顆粒がPO陽性であると考えられている[6-12,15-17,19-22]。真骨魚類のⅢ群はPO活性の局在部位の違いから，Ⅲ-A群（ノーザンパイク，ブルーギル，スズキ，ヒラスズキ，メジナ，ヒラメ）とⅢ-B群（アユ，ボラ，メナダ，マハタ）に細分されており[21]，前者ではPO活性はβ顆粒に，後者ではPO活性がβ顆粒と核に検出されている[21]。マコガレイとマツカワの好中球の核はPO陰性であった。したがって，両カレイ類は，ヒラメと同様にⅢ-A群に属すると言える。

Y小体を有する魚種（ヌタウナギ，*P. endlicheri*，アジアアロワナ，ウナギ，アユ，ノーザンパイク，ボラ，メナダ，アカメ，ブルーギル，スズキ，ヒラスズキ，メジナ，マハタ，マダイ，ブリ，ヒラメ，トラフグ）では，同小体はTB陽性であると考えられている[6-17,19-21]。マコガレイとマツカワにおいてもY小体はTB陽性であった。

本研究によって，マコガレイおよびマツカワの好中球には1種類の顆粒（β顆粒）とY小体が存在すること，β顆粒にはPOが，Y小体にはTB陽性物質が存在することが明らかとなった。

謝　辞

実験魚を提供していただいた水産大学校食品科学科准教授　前田俊道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：コイ好中球のメイ-グリュンワルド・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-グリュンワルド・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的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）の好中球の形態学的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的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的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：ヌタウナギ好中球の形態学的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的および

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的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：ブリの好中球の形態学的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*好中球の形態学的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的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的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的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的および細胞化学的特徴．水大校研報，60，85-93（2012）
23）Gill AC, Mooi RD：Phylogeny and Systematics of Fishes. *In*：Hart PJB, Reynolds JD（eds）Handbook of Fish Biology and Fisheries Vol. 1. Blackwell Publishing, Oxford, 15-42（2002）
24）矢部　衛：魚類の多様性と系統分類．松井正文（編），脊椎動物の多様性と系統．裳華房，東京，46-93（2006）