

オニオコゼ好中球の形態学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): devil stinger; Inimicus japonicus; neutrophil; morphology; cytochemistry 作成者: 近藤, 昌和, 安本, 信哉, 池田, 至, 高橋, 幸則 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2012025

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



オニオコゼ好中球の形態学のおよび細胞化学的特徴

近藤昌和^{*}, 安本信哉, 池田 至, 高橋幸則

Morphological and Cytochemical Characteristics of Neutrophil from Devil Stinger *Inimicus japonicus*

Masakazu Kondo^{*}, Shinya Yasumoto, Itaru Ikeda and Yukinori Takahashi

Abstract : Three types of granules, eosinophilic granule (α G), chromophobic granule (β G) and basophilic granule (γ G) were observed in the cytoplasm of a single neutrophil from devil stinger *Inimicus japonicus*. The α G was round or oval and stained orange with Giemsa, but not with May-Grünwald (MG) and MG-Giemsa (MGG). On the other hand, the γ G was stained light blue with not only Giemsa but also MG and MGG. Alkaline phosphatase was detected in the neutrophil as granular positive, but, acid phosphatase, β -glucuronidase and some esterases were negative. Peroxidase activity was observed in the β G.

Key words : devil stinger, *Inimicus japonicus*, neutrophil, morphology, cytochemistry

緒 言

魚類における好中球顆粒の種類や存在様式は魚種によって多様であることが知られている¹⁻²⁸⁾。肉鰭綱肺魚亜綱のアフリカハイギョ *Protopterus annectens* を除いて¹⁸⁾, 無鰭類のヌタウナギ *Eptatretus burgeri* や, 条鰭綱腕鰭亜綱ポリプテルス目のビキール *Polypterus endlicheri* および種々の真骨魚類 (条鰭綱) では, 好中球顆粒は好酸性 (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) の組み合わせからなる^{1-17,19-28)}。 α 顆粒は多条件下 Romanowsky 型染色特性 (Multiple Romanowsky-type Stain Characteristics, MRSC) の違いから 2 種類に大別され, May-Grünwald (MG) 染色で染まるが, Giemsa 染色では染色されない (以後, MG+G- と略記。以下, 染色性の違いを同様の略記法により記す。) α 1 顆粒と, MG+G+ の α 2 顆粒に分類されている²⁷⁾。また, β 顆粒は Giemsa 染色によって赤紫色の桿状中心芯を有する β 2 顆粒と, 桿状中心芯が認められない β 1 顆粒に細分される²⁸⁾。さらに, γ 顆粒は MG+G+ の γ 1 顆粒, MG-G+ の γ 2 顆粒および MG+G- の γ 3 顆粒の 3 種類に大別されているが²⁷⁾,

γ 3 顆粒は, MG 染色と MG-Giemsa (MGG) 染色で青色を呈する γ 3a 顆粒と, MG 染色では青色を, MGG 染色では条件によって青色または赤紫色を呈する γ 3b 顆粒に細分されている²⁸⁾。

ヌタウナギの好中球には γ 1 顆粒のみが観察されており¹⁴⁾, ビキールでは, 好中球に 2 種類の α 顆粒 (α 1 顆粒と α 2 顆粒) と γ 2 顆粒が存在する¹³⁾。一方, 真骨魚類は α 顆粒, β 顆粒および γ 顆粒の組み合わせの違いから 4 群に大別され (I 群, α 顆粒 + β 顆粒 + γ 顆粒; II 群, α 顆粒 + β 顆粒; III 群, β 顆粒のみ; IV 群, β 顆粒 + γ 顆粒)²⁸⁾, 上述した α 顆粒や γ 顆粒の種類の違いによって複数の下位群に分類されている²⁸⁾。また, 好中球におけるペルオキシダーゼ (PO) 活性の局在部位の違いも下位群を分類する指標とされている²⁸⁾。

魚類における好中球顆粒の多様性を明らかにするために, カサゴ *Sebastes marmoratus*²⁶⁾ (メバル亜科カサゴ属) やタケノコメバル *Sebastes oblongus*²⁷⁾ (メバル亜科メバル属) と同様にカサゴ目フサカサゴ科に属するが, 亜科が異なるオニオコゼ *Inimicus japonicus* (オニオコゼ亜科オニオコゼ属) の好中球の形態学的特性を調べたところ, 既報の

魚種^{1-4,9,12,13,15-17,24,25,27)}とは染色性の異なる α 顆粒が認められたので, 細胞化学的特徴とともにここに報告する。

材料および方法

下関市沿岸で釣獲されたオニオコゼ(体重約95g)を実験に用いた。飼育期間中は, 市販の配合飼料(マリン6号,

林兼産業)を適宜給餌した。なお, 実験時の水温は23.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ Cであった。

血液塗沫標本の作製, 多条件下 Romanowsky 型染色評価法(Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV)(Table 1) および各種細胞化学染色法は近藤・高橋¹⁵⁾にしたがった。

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

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

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 $1/150$ M PB.

PN, preparation number.

結 果

オニオコゼの好中球は長径 11.5 ~ 16.0 μm (短径 9.0 ~ 11.5 μm) の円形, 卵円形または楕円形であり, 細胞質には 3 種類の顆粒 (α 顆粒, β 顆粒, γ 顆粒) が認められた (Fig. 1)。 α 顆粒と γ 顆粒の MRSC を Table 2 に示す。 α 顆粒は長径 0.5 μm 以下の円形または卵円形であった。 α 顆粒は Giemsa 染色では淡橙色を示したが, MG 染色および MGG 染色標本には観察されなかった。 β 顆粒は円形または卵円形であり (長径 1.0 μm 以下), MRSV のいずれの染色条件においても明瞭な色調を示さなかった。 γ 顆粒は長径 0.3 μm 以下の円形または卵円形であった。 γ 顆粒は MRSV のいずれの染色条件においても淡青色を示した。多くの魚種

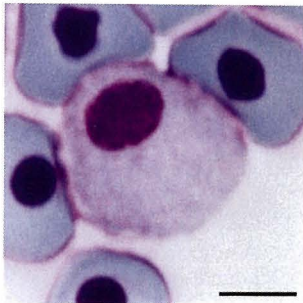


Fig. 1. Neutrophil of devil stinger *Inimicus japonicus*. Giemsa stain (preparation number =22) (See Table 1). Bar=5 μm .

の好中球に観察されている Y 小体⁹⁾は, オニオコゼには認められなかった。円形から卵円形の核が偏在していたが, 分葉核を有する好中球は観察されなかった。

細胞化学的特徴

オニオコゼの好中球の細胞化学的特徴を Table 3 に示す。アルカリ性フォスファターゼ (AIP) は, 円形または卵円形 (長径 0.5 μm 以下) の陽性顆粒として多数観察された (Fig. 2A)。しかし, 酸性フォスファターゼ, β -グルクロニダーゼ, α -ナフチルアセテートエステラーゼ, α -ナフチルプチレートエステラーゼおよびナフトール AS-D クロロアセテートエステラーゼは, いずれも検出されなかった。PO は, 円形または卵円形の陽性顆粒 (長径 1.0 μm 以下) として多数観察された (Fig. 2B)。核には PO 陽性反応は検出されなかった。

円形または卵円形の periodic acid Schiff 反応 (PAS) 陽性顆粒 (長径 0.3 μm 以下) が多数観察され, 細胞質基質も PAS 弱陽性であった (Fig. 2C)。細胞質基質は α -アミラーゼ処理によって PAS 陰性を呈し, 顆粒は同処理後も陽性であった (Fig. 2D)。アルシアンブルー染色では陽性部位は観察されなかった。また, トルイジンブルー (TB) 染色によって核が青染され, 円形または卵円形で淡青色の陽性顆粒 (長径 0.3 μm 以下) が多数観察された (Fig. 2E)。

Table 2. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of α and γ granules in the neutrophil of devil stinger *Inimicus japonicus*

PN	Number		PN	Number		PN	Number		PN	Number	
	α	γ		α	γ		α	γ		α	γ
1	-	++	22	-	++	43	-	++	64	-	++
2	-	++	23	+	++	44	-	++	65	-	++
3	-	++	24	-	++	45	-	++	66	-	++
4	-	++	25	+	++	46	-	++	67	-	++
5	-	++	26	+	++	47	-	++	68	-	++
6	-	++	27	+	++	48	-	++	69	-	++
7	-	++	28	-	++	49	-	++	70	-	++
8	-	++	29	+	++	50	-	++	71	-	++
9	-	++	30	-	++	51	-	++	72	-	++
10	-	++	31	+	++	52	-	++	73	-	++
11	+	++	32	-	++	53	-	++	74	-	++
12	-	++	33	-	++	54	-	++	75	-	++
13	+	++	34	-	++	55	-	++	76	-	++
14	-	++	35	+	++	56	-	++	77	-	++
15	+	++	36	-	++	57	-	++	78	-	++
16	-	++	37	-	++	58	-	++	79	-	++
17	+	++	38	-	++	59	-	++	80	-	++
18	-	++	39	+	++	60	-	++	81	-	++
19	+	++	40	-	++	61	-	++			
20	-	++	41	+	++	62	-	++			
21	+	++	42	-	++	63	-	++			

PN, preparation number (See Table 1); ++, many; +, some; -, not observed.

オイルレッドOおよびズダンⅢ染色では陽性所見は観察されず、ズダンブラックB (SBB) 染色によって円形または卵円形で淡黒色の陽性顆粒 (長径 $0.3 \mu\text{m}$ 以下) が多数観察された (Fig. 2F)。

考 察

オニオコゼの好中球には α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒が観察された。 α 顆粒はGiemsa染色標本に認められたが、MGおよびMGG染色標本では観察されなかった。これま

でに魚類好中球の α 顆粒にはMG+G-の α_1 顆粒と、MG+G+の α_2 顆粒が知られている^{24,27}。しかし、オニオコゼの α 顆粒の染色性は、MG-G+であり、既報の魚種の α 顆粒とは異なっていた。このことから、オニオコゼの α 顆粒を新たな種類の α 顆粒として分類することが可能であると考えられる。すでに γ 顆粒ではMG+G+の γ_1 顆粒、MG-G+の γ_2 顆粒およびMG+G-の γ_3 顆粒の3種類に大別されている^{27,28}。したがって、 α 顆粒においても、MG+G+の α_1 顆粒、MG-G+の α_2 顆粒およびMG+G-の α_3 顆粒とすることを提唱する (Table 4)。すなわち、これまでの α_2 顆粒

Table 3. Summary of reactions of devil stinger *Inimicus japonicus* neutrophil to cytochemical tests

Test	Positive site (shape, number and positive site)
Periodic acid Schiff reaction (PAS)	G (round or oval, many, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, eq γG); H
PAS after digestion with α -amylase	G (round or oval, many, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, eq γG)
Alcian blue (pH1.0)	—
Alcian blue (pH2.5)	—
Toluidine blue in distilled water	G (round or oval, many, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, eq γG); N
Sudan black B	G (round or oval, many, $\phi \leq 0.3 \mu\text{m}$, eq γG)
Sudan III	—
Oil red O	—
Alkaline phosphatase	G (round or oval, many, $\phi \leq 0.5 \mu\text{m}$)
Acid phosphatase	—
β -Glucuronidase	—
α -Naphthyl acetate esterase	—
α -Naphthyl butyrate esterase	—
Naphthol AS-D chloroacetate esterase	—
Peroxidase	G (round or oval, many, $\phi \leq 1.0 \mu\text{m}$, eq βG)

G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; —, non detection; βG , β granule; γG , γ granule; eq, equivalent to.

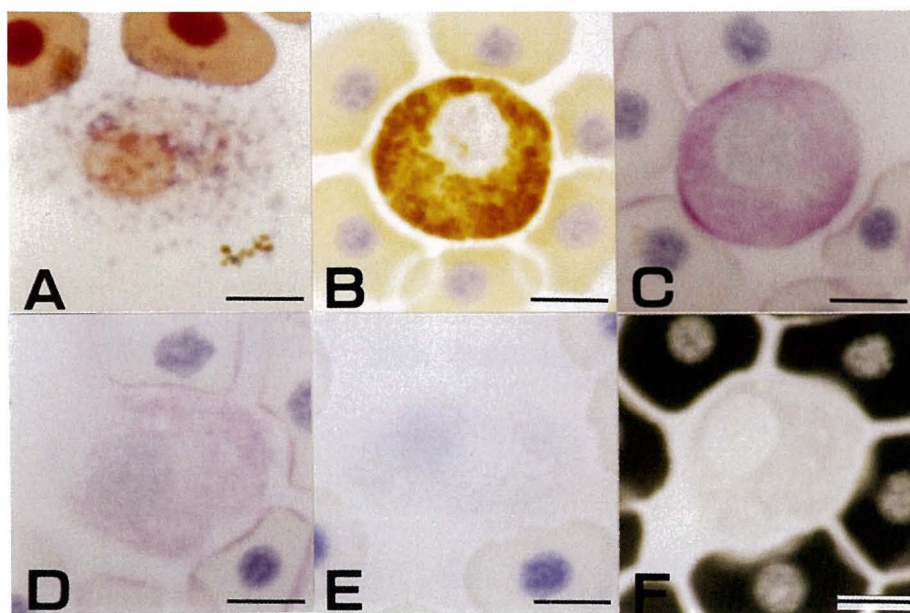


Fig. 2. Cytochemistry of neutrophil in devil stinger *Inimicus japonicus*. A, alkaline phosphatase; B, peroxidase; C, periodic acid Schiff reaction (PAS); D, PAS after α -amylase digestion; E, toluidine blue in distilled water; F, sudan black B. Bars= $5 \mu\text{m}$.

を $\alpha 3$ 顆粒に変更し、オニオコゼの好中球で観察された α 顆粒を $\alpha 2$ 顆粒としたい。

Table 4. Staining characteristics of eosinophilic granules (α granules)

Staining	Type of α granules		
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3^*$
May-Grünwald	+	-	+
Giemsa	+	+	-

+, positive; -, negative.

*Formerly $\alpha 2$.

オニオコゼ好中球の β 顆粒には、タケノコメバルの好中球で観察された桿状中心芯²⁸⁾は認められなかった。このことから、オニオコゼ好中球の β 顆粒は $\beta 1$ 顆粒に同定される。また、 γ 顆粒は MRSV のいずれの染色条件においても認められたことから、 $\gamma 1$ 顆粒に同定された。

各種細胞化学染色結果からオニオコゼの好中球の各顆粒を次のように推定した (Table 3)。PAS 陽性顆粒は α -アミラーゼにより消化されないことから、グリコーゲンを主成分とする構造物ではなく、 $\gamma 1$ 顆粒とは形状、大きさおよび数において類似することから、PAS 陽性顆粒は $\gamma 1$ 顆粒に相当すると思われる。TB 陽性顆粒および SBB 陽性顆粒

も形態学的特徴と顆粒数が $\gamma 1$ 顆粒に類似することから、 $\gamma 1$ 顆粒は TB および SBB 陽性であると考えられる。AIP 陽性顆粒は形態学的特徴において $\alpha 2$ 顆粒に類似するが、数は $\alpha 2$ 顆粒よりも多いことから AIP の存在部位は確定できない。PO 陽性顆粒は形態学的特徴および数において $\beta 1$ 顆粒に類似することから、PO 活性は $\beta 1$ 顆粒に存在すると考えられる。

これまでに、 β 顆粒を有する魚種では、本顆粒は PO 陽性であると考えられている^{6-12,15-17,19-28)}。オニオコゼにおいても β 顆粒 ($\beta 1$ 顆粒) は PO 陽性であると推測された。PO 活性はオニオコゼの好中球の核には検出されなかった。

オニオコゼの好中球には α 顆粒、 β 顆粒および γ 顆粒が認められることから、本魚種は I 群に分類される。しかし、 α 顆粒は既報の魚種の α 顆粒 ($\alpha 1$ 顆粒、 $\alpha 3$ 顆粒) とは異なり $\alpha 2$ 顆粒であることから、他の I 群魚類と区別するために I -C 群を設定することを提案する。また、オニオコゼ好中球の PO 陽性部位は $\beta 1$ 顆粒であり、核には検出されなかったことから、オニオコゼは I -Ca 群に分類される (Table 5)、その好中球は $\alpha 2\beta 1\gamma 1$ と表記される I -Ca 型であると言える。

Table 5. Grouping of teleostei fishes based on the granule composition and PO positive site of neutrophil

Group	Subgroup	Granule	PO	Species and references
I	I -Aa	$\alpha 3, \beta 1, \gamma 1$	$\beta 1$	Asian arowana <i>Scleropages formosus</i> ¹²⁾ , Nile tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> ^{3,24)} , jack-mackerel <i>Trachurus japonicus</i> ²⁵⁾
	I -Ba	$\alpha 3, \beta 1, \gamma 2$	$\beta 1$	Japanese eel <i>Anguilla japonica</i> ¹³⁾ , common carp <i>Cyprinus carpio</i> ^{1,2,24)} , striped grunt <i>Parapristipoma trilineatum</i> ^{4,24)} , Japanese amberjack <i>Seriola quinqueradiata</i> ¹⁷⁾ , greater amberjack <i>S. dumerili</i> ²⁵⁾ , yellowtail amberjack <i>S. lalandi</i> ²⁵⁾
	I -Ca	$\alpha 2, \beta 1, \gamma 1$	$\beta 1$	devil stinger <i>Inimicus japonicus</i> **
II	II -Aa	$\alpha 3, \beta 1$	$\beta 1$	tiger puffer <i>Takifugu rubripes</i> ⁹⁾ , grass puffer <i>T. niphobles</i> ²⁷⁾ , threadsail filefish <i>Stephanolepis cirrhifer</i> ²⁷⁾
	II -Ab	$\alpha 3, \beta 1$	$\beta 1, N$	finepatterned puffer <i>Takifugu poecilonotus</i> ²⁷⁾
	II -Ba	$\alpha 1, \beta 1$	$\beta 1$	red sea-bream <i>Pagrus major</i> ¹⁶⁾
III	III -a	$\beta 1$	$\beta 1$	northern pike <i>Exos lucius</i> ¹¹⁾ , bluegill <i>Lepomis macrochirus</i> ⁶⁾ , Japanese seabass <i>Lateolabrax japonicus</i> ¹⁰⁾ , seabass <i>L. latus</i> ¹⁰⁾ , rudderfish <i>Girella punctata</i> ^{5,7)} , Japanese flounder <i>Paralichthys olivaceus</i> ⁷⁾ , marbled sole <i>Pleuronectes yokohamae</i> ²³⁾ , barfin flounder <i>Verasper moseri</i> ²³⁾
	III -b	$\beta 1$	$\beta 1, N$	ayu <i>Plecoglossus altivelis</i> ⁸⁾ , gray mullet <i>Mugil cephalus</i> ²⁰⁾ , redlip mullet <i>Chelon haematocheilus</i> ²¹⁾ , sevenband grouper <i>Epinephelus septemfasciatus</i> ¹⁹⁾
IV	IV -Aa	$\beta 1, \gamma 1$	$\beta 1$	Japanese lates <i>Lates japonicus</i> ²²⁾
	IV -Ba	$\beta 1, \gamma 3b$	$\beta 1$	marbled rockfish <i>Sebastes marmoratus</i> ²⁶⁾
	IV -Cb	$\beta 2, \gamma 3a$	$\beta 2^*, N$	oblong rockfish <i>Sebastes oblongus</i> ²⁸⁾

$\alpha 1$, eosinophilic granule (α granule) type 1; $\alpha 2$, α granule type 2; $\alpha 3$, α granule type 3; $\beta 1$, chromophobic granule (β granule) type 1; $\beta 2$, β granule type 2; $\gamma 1$, basophilic granule (γ granule) type 1; $\gamma 2$, γ granule type 2; $\gamma 3a$, γ granule type 3a; $\gamma 3b$, γ granule type 3b; PO, peroxidase; N, nucleus.

*Rod-shaped central core was negative.

**Present report.

文 献

- 1) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: コイ好中球のメイ-グリウンワルド・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-グリウンワルド・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: メジナ的好中球顆粒. 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: ブリ的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)
- 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: 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)
- 21) 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)
- 22) 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)
- 23) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カレイ類 (マコガレイ, マツカワ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 43-49 (2012)
- 24) 近藤昌和, 安本信哉, 大野美和, 高橋幸則: コイ, ナイルティラピアおよびイサキの好中球顆粒. 水大校研報, **61**, 51-64 (2012)
- 25) 近藤昌和, 安本信哉, 秋吉佑樹, 高橋幸則: アジ科魚類 (マアジ, カンパチ, ヒラマサ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 87-101 (2013)
- 26) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カサゴ好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 103-113 (2013)
- 27) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: カワハギおよびフグ類 (クサフグ, コモンフグ) の好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 226-233 (2013)
- 28) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: タケノコメバル好中球の形態学および細胞化学的特徴. 水大校研報, **61**, 234-241 (2013)