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

シベリアチョウザメの顆粒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): Siberian sturgeon; Acipenser baerii; granulocyte; morphology; cytochemistry 作成者: 近藤, 昌和, 酒井, 麻帆, 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/2012058

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

本論文　　Journal of National Fisheries University　63　(4)　262 − 270　(2015)

シベリアチョウザメの顆粒球の形態学的および細胞化学的特徴

近藤昌和†，酒井麻帆，安本信哉，高橋幸則

Morphological and Cytochemical Characteristics of Granulocytes from Siberian Sturgeon *Acipenser baerii*

Masakazu Kondo†, Maho Sakai, Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract:Three types of granulocytes, neutrophil, eosinophil and small eosinophilic granulocyte, were observed in peripheral blood of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. The neutrophil had three types of granules, eosinophilic granule (αG; orange), chromophobic granule (βG) and basophilic granule (γG; light blue) in the cytoplasm. These granules were round or oval, but the maximum diameter was different each other (αG, ≦0.3 μm; βG, ≦1.5 μm; γG, ≦0.4 μm). The nucleus of the neutrophil showed polymorphism, round, oval, kidney and multi-lobes (to five lobes). Alkaline phosphatase (AlP), acid phosphatase (AcP), β-glucronidase (β-Glu) and some esterases were detected as positive granules. Peroxidase (PO) activity was not observed in the neutrophil. Eosinophil had polymorphic nucleus and two types of eosinophilic granules (EG), large EG (LEG) and small EG (SEG). Both granules were round or oval and the diameter of LEG (≦1.1 μm) was larger than SEG (≦0.4 μm). The former was stained orange, the latter showed brick color. In eosinophil, AcP, β-Glu and some esterases were positive, but AlP and PO were negative. Small eosinophilic granulocyte was small sized cell with condensed nucleus and some eosinophilic granules. The cell was round to oval, and had high nuclear to cytoplasmic ratio. The morphology and staining characteristics of the granules were similar to LEG of eosinophil. No enzyme activities were detected in the granulocyte. Phagocytosis against zymosan particles was observed in only neutrophil.

Key words：Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*, granulocyte, morphology, cytochemistry

緒　言

著者らはこれまでに，多条件下 Romanowsky 型染色評価法（Multiple Romanowsky-type Stain Valuation, MRSV）を各種魚類の好中球に適用し，好中球顆粒の多様性を明らかにしてきた[1-30]。すなわち，肉鰭綱肺魚亜綱のアフリカハイギョ *Protopterus annectens* を除いて[18]，無顎類のヌタウナギ *Eptatretus burgeri*，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（条鰭綱新鰭亜綱）では，好中球の顆粒組成は，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）の組み合せとして表現されることが明らかとなった[1-17,19-30]。また，α 顆粒と γ 顆粒は多条件下 Romanowsky 型染色特性（Multiple Romanowsky-type Stain Characteristics, MRSC）の違いから[28,29]，β 顆粒は桿状中心芯とペルオキシダーゼ（PO）活性の有無によって 3 種類に大別されることを報告した[30]。

本研究では，シベリアチョウザメ *Acipenser baerii*（条鰭

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

綱軟質亜綱）の好中球の形態学的および細胞化学的特性を明らかにし，これまでに著者らが報告した各種魚類[1-30]の好中球と比較した。また，好中球以外に2種類の顆粒球が認められたことから，それら顆粒球についても形態学的および細胞化学的特徴を明らかにした*。

材料および方法

広島県内の養殖業者から購入したシベリアチョウザメ幼魚を水産大学校の飼育施設に搬入し，1ヶ月以上馴致飼育したのちに実験に供した（水温18.0 ± 1.0℃）。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。採血時の体重は約160 gであった。血液塗抹標本の作製，多条件下Romanowsky型染色評価法（Table 1）および各種細胞化学染色法は近藤・高橋[15]に，zymosan粒子を標的物とする貪食試験は近藤ら[19]にしたがった。

結　果

シベリアチョウザメの血液中には3種類の顆粒球（好中球，好酸球，小型好酸性顆粒球）が観察されたが，好塩基球は認められなかった。好中球には3種類の，好酸球には2種類の，小型好酸性顆粒球には1種類の顆粒が認められた。Zymosanに対する貪食能は好中球のみに認められた。

好中球

好中球は長径約13.0 μmの円形または卵円形であり，核の染色質網は荒く，粗大な濃縮染色質が多数観察された。核は偏在し，円形，卵円形，腎臓形から分葉（最大5分葉）と様々な形態を示した。細胞質には3種類の顆粒（α顆粒，β顆粒，γ顆粒）が観察された（Figs. 1A, 1B）。

α顆粒とγ顆粒のMRSCをTable 2に示す。α顆粒は長径0.3 μm以下の円形または卵円形であり，細胞質に多数散在していた。本顆粒は種々の染色条件下で淡橙色を呈したが，特に，蒸留水または酸性（pH5.0とpH6.0）のリン酸緩衝液を用いたMG染色およびpH5.0の$^{1}/_{15}$ Mリン酸緩衝液を用いてGiemsa染色液の希釈率を1:100としたMGG染色によって多数観察された。β顆粒は円形または卵円形であり（長径1.5 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0.4 μm以下の円形または卵円形であった。本顆粒はMRSVのいずれの染色条件においても淡青色を示した。多くの魚種の好中球に観察されている好塩基性の不定形小体（Y小体[9]）も観察された。本小体の個数は好中球ごとに異なっていたが，全く観察されないものは稀であった。本小体はいずれの染色条件においても青色を呈した。

好中球には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）が多数観察された（Fig. 2A; Table 3）。この陽性顆粒はα-アミラーゼ処理によって消失した。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るとともに，円形または卵円形で淡青色の陽性顆粒（長径0.4 μm以下）が観察された（Fig. 2B）。また，種々の形態を示す陽性部位が少数認められた。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0.5 μm以下）が少数観察された（Fig. 2C）。アルカリ性フォスファターゼ（AlP）は，円形（直径0.5 μm以下）の陽性顆粒として多数観察された（Fig. 2D）。酸性フォスファターゼ（AcP）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，β-グルクロニダーゼ（β-Glu）は円形または卵円形（長径0.4 μm以下）の陽性顆粒として少数認められた。α-ナフチルアセテートエステラーゼ（α-NAE）は直径0.5 μm以下の円形の陽性顆粒として多数観察された（Fig. 2D）。α-ナフチルブチレートエステラーゼ（α-NBE）およびナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ（NASDCAE）はともに円形または卵円形（長径0.5 μm以下）の陽性顆粒として多数認められた。POは好中球において検出されなかった（Table 3）。

好中球にzymosanに対する貪食能が認められた（Fig. 1C）。

好酸球

好酸球は長径約16.0 μmの円形または卵円形であり，好中球と同様に核は偏在し，様々な形態（円形から5分葉）を示した。核の染色質網は荒く，粗大な濃縮染色質が多数観察された。細胞質には2種類の顆粒（大型好酸性顆粒large eosinophilic granule（LEG），小型好酸性顆粒small eosinophilic granule（SEG））が観察された（Fig. 3）。両顆粒ともに円形または卵円形であり，LE顆粒はいずれの好酸球にも，SE顆粒は約80%の好酸球に，MRSVのいずれの染色条件においても認められた。LE顆粒は好酸球の主

* 本研究の一部は，平成26年度日本魚病学会春季大会（2014年 3月30日）（312: 近藤昌和，酒井麻帆，安本信哉，高橋幸則：シベリアチョウザメの顆粒球の形態学的特徴（プログラムおよび講演要旨集，42）において報告した。

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			

[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.
PN, preparation number.

Fig. 1. Neutrophils of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. A, May-Grünwald (MG; PN=2); B, MG-Giemsa (MGG; PN=62); C, phagocytosis of zymosan particles (MGG; PN=53). PN, preparation number (See Table 1). Bars=5 μm.

Table 2. Summary of multiple Romanowsky-type staining characteristics of α and γ granules in the neutrophil of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*

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

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

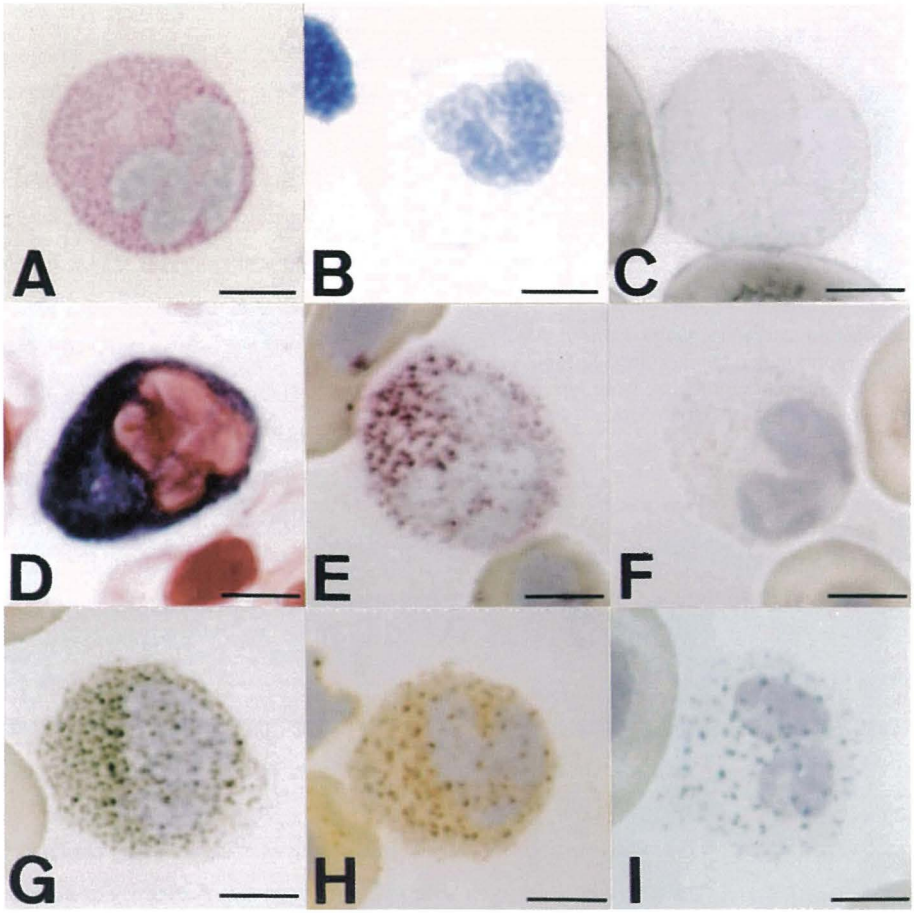

Fig. 2. Cytochemistry of neutrophils from Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. A, periodic acid Schiff reaction; B, toluidine blue in distilled water; C, sudan black B; D, alkaline phosphatase; E, acid phosphatase; F, β-glucronidase; G, α-naphtyl acetate esterase; H, α-naphtyl butyrate esterase; I, naphthol AS-D chloroacetate esterase. Bars=5 μm.

要な顆粒であり，長径 1.1 μm 以下であり橙色を呈した。SE 顆粒は赤橙色を示す長径 0.4 μm 以下の顆粒であり，好酸球 1 個あたり 10 個以下の範囲で観察された。

好酸球に PAS 陽性顆粒は認められなかったが，細胞質基質が弱陽性であった。(Fig. 4A; Table 3)。この陽性反応は α- アミラーゼによる前処理によって消失しなかった。アルシアンブルー染色による陽性部位は観察されなかった。また，TB 染色によって核のみが青染された（Fig. 4B)。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，SBB 染色によって細胞質基質が陽性であったが，陽性顆粒は観察されなかった（Fig. 4C)。AcP は円形または卵円形（長径 1.1 μm 以下）の陽性顆粒として多数観察された（Fig. 4D)。β-Glu は長径 1.0 μm 以下の不定形の陽性顆粒（円形，卵円形および紐状）として少数認められた（Fig. 4E)。α-NAE は長径 0.3 μm 以下の，α-NBE および NASDCAE はともに長径 0.5 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. 4F-4H)。AlP と PO は検出されなかった (Table 3)。

小型好酸性顆粒球

本顆粒球は長径約 8.5 μm の円形または卵円形であり，卵円形または半月形の核を有していた。核の染色質は濃縮しており，染色質網は不明瞭であった。また，核は偏在し，核細胞質比率は高かった。細胞質には 1 種類の好酸性顆粒が観察された（Fig. 5)。

本顆粒は長径 1.1 μm 以下の円形または卵円形であり，MRSV のいずれの染色条件においても橙色を呈した。本顆粒球は種々の細胞化学染色に陰性であり，TB 染色によって核のみが青染された（Table 3)。

Fig. 3. Eosinophil of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. May-Grünwald・Giemsa (preparation number, 46; See Table 1). Note two types of eosinophilic granules, large types and small types (brick color; arrowheads). Bar=5 μm.

考　察

シベリアチョウザメの好中球にはα顆粒，β顆粒およびγ顆粒が観察された。α顆粒はMG，GiemsaおよびMGG染色のそれぞれにおいて，いくつかの条件下で観察されることから，その染色性はMG+G+と表記され，前報[29]の分類法により，α1顆粒と同定される。また，γ顆粒はいずれの染色条件においても観察されることから，MG+G+のγ1顆粒[28]と同定される。さらに，β顆粒には，タケノコメバル *Sebastes oblongus* の好中球で観察された桿状中心芯[28]は認められず，PO活性も検出されなかったことからβ0顆粒[30]に分類される。

各種細胞化学染色結果からシベリアチョウザメ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失したことから，グリコーゲンを主成分とする構造物であり，いずれの顆粒にも相当しないと思われる。また，SBB陽性顆粒は，その大きさがいずれの顆粒とも異なる。一方，TB陽性顆粒のうち，微細な陽性顆粒は形態学的特徴（形状と大きさ）と顆粒数がγ1顆粒に類似することから，γ1顆粒はTB陽性であると考えられる。また，不定形のTB陽性顆粒はY小体に相当すると思われる。AlP陽性顆粒は形態学的特徴において，AcP陽性顆粒はその大きさにおいて，いずれの顆粒とも異なることから両酵素の存在部位は確定できない。一方，β-Glu陽性顆粒は形態学的特徴と顆粒数がγ1顆粒に類似することから，γ1顆粒はβ-Glu陽性であると考えられる。各種エステラーゼ陽性顆粒は，その大きさがいずれの顆粒とも異なることから，存在部位は確定できない。

シベリアチョウザメは軟質亜綱に属するが，その好中球にはα1顆粒，β0顆粒およびγ1顆粒が認められることから，本魚種は新鰭亜綱の真骨魚類のI群に包含することが可能である。コノシロ *Konosirus punctatus* の好中球もβ0顆粒を有するが[30]，α顆粒は2種類存在することから他のI群魚類と区別するためにI-Z群を設定した[30]。しかし，シベリアチョウザメではα顆粒は1種類であることから新

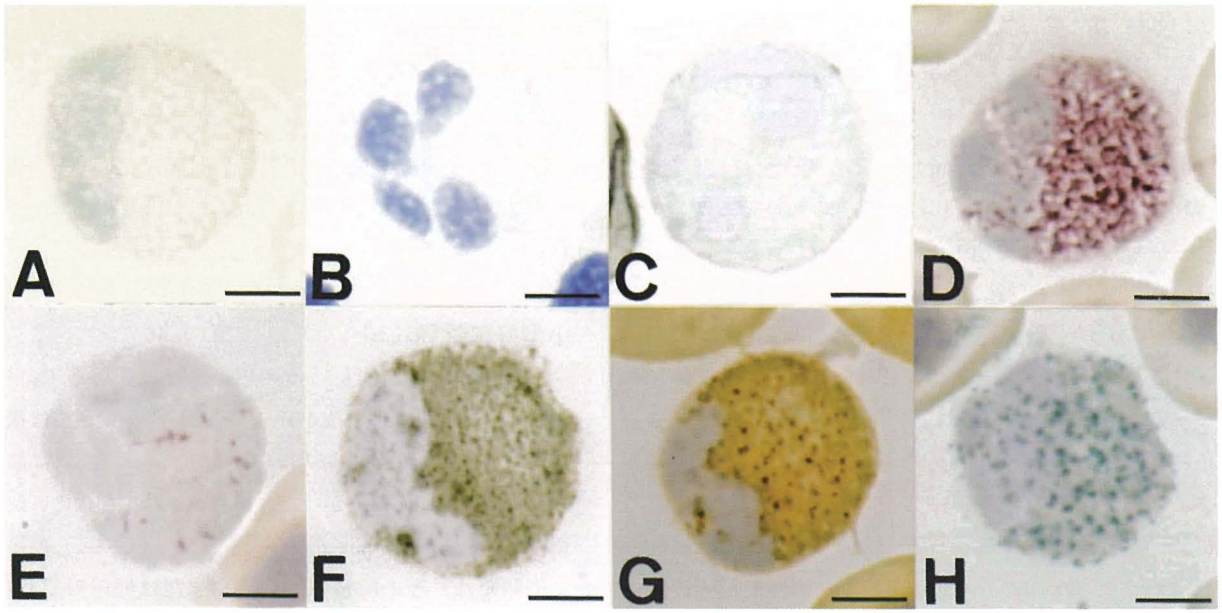

Fig. 4. Cytochemistry of eosinophils from Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. A, periodic acid Schiff reaction; B, toluidine blue in distilled water; C, sudan black B; D, acid phosphatase; E, β-glucronidase; F, α-naphtyl acetate esterase; G, α-naphtyl butyrate esterase; H, naphthol AS-D chloroacetate esterase. Bars=5 μm.

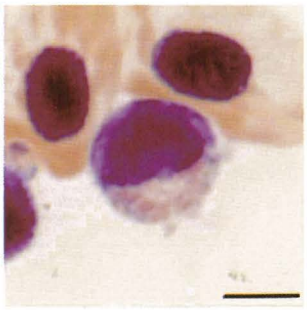

Fig. 5. Small eosinophilic granulocyte of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. Giemsa (preparation number, 37; See Table 1). Bar=5 μm.

たにI-D群を設ける。また，POが好中球に検出さないことからシベリアチョウザメはI-Dz群に分類され（Table 4），その好中球はα1β0γ1と表記されるI-Dz型であると言える。

好酸球には2種類の顆粒（LE顆粒，SE顆粒）が観察された。また，AcP，β-Gluおよび各種エステラーゼ陽性顆粒が認められたが，これら陽性顆粒のうち，AcP陽性顆粒は形態学的特徴と顆粒数においてLE顆粒に類似することから，LE顆粒はAcP陽性であると推察される（Table 3）。小型好酸性顆粒球の顆粒は形態学的特徴が好酸球のLE顆粒と類似していたが，細胞化学的特徴において大きく異なることから，好酸球とは異なる顆粒球と考えられる。

ショートノーズスタージョン *Acipenser brevirostrum* にも好中球と好酸球が観察されており，好塩基球もごく少数存在することが報告されている[31]。同種の好中球にはPO活性は検出されていないが，好酸球には本酵素活性が認められている[31]。また，シャベルノーズスタージョン *Scaphirhynchus platorynchus* には好中球（PO陰性であることから好異球と称されている[32]）と好酸球が存在し，両顆粒球ともPO陰性であるとされている[32]。本研究において，同様の陰性所見がシベリアチョウザメで示された。

Table 3. Summary of reactions of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* granulocytes to cytochemical tests

Test[1]	Positive site (shape, number and positive site)[2]		
	Neutrophil	Eosinophil	Small eosinophilic granulocyte
PAS	G (r or o, m, 0.3)	H	−
PAS-αA	−	H	−
AB (pH1.0)	−	−	−
AB (pH2.5)	−	−	−
TB	G (r or o, s, 0.4, eq γG; am, af, eq Yb); N	N	N
SBB	G (r or o, s, 0.5)	H	−
Sudan Ⅲ	−	−	−
Oil red O	−	−	−
AlP	G (r, m, 0.5)	−	−
AcP	G (r or o, m, 0.5)	G (r or o, m, 1.1, eq LEG)	−
β-Glu	G (r or o, s, 0.4, eq γG))	G (am, s, 1.0)	−
α-NAE	G (r, m, 0.5)	G (r or o, m, 0.5)	−
α-NBE	G (r or o, m, 0.5)	G (r or o, m, 0.5); H	−
NASDCAE	G (r or o, m, 0.5)	G (r or o, m, 0.5)	−
Peroxidase	−	−	−

[1]PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS-αA, PAS after digestion with α-amylase; AB, alcian blue; TB, toluidine blue in distilled water; SBB, sudan black B; AlP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β-Glu, β-glucronidase; α-NAE, α-naphtyl acetate esterase; α-NBE, α-naphtyl butyrate esterase; NASDCAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase.
[2]G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; − , not detected; r, round; o, oval; am, amorphous; m, many; s, some; af, a few; γG, γ granule; LEG, large eosinophilic granule; Yb, Yasumoto body; eq, equivalent to; Arabic numerals indicate the diameter (ø ≦ ; μm).

Table 4. Grouping of Chondrostei and Neopterygii based on the granule composition and PO positive site of neutrophil

Group	Subgroup	Granule	PO	Species and references
I	I-Aa	α3, β1, γ1	β1	Asian arowana *Scleropages formosus*[12], Nile tilapia *Oreochromis niloticus*[3,24], jack-mackerel *Trachurus japonicus*[25]
	I-Ba	α3, β1, γ2	β1	Japanese eel *Anguilla japonica*[15], common carp *Cyprinus carpio*[1,2,24], striped grunt *Parapristipoma trilineatum*[4,24], Japanese amberjack *Seriola quinqueradiata*[17], greater amberjack *S. dumerili*[25], yellowtail amberjack *S. lalandi*[25]
	I-Ca	α2, β1, γ1	β1	devil stinger *Inimicus japonicus*[29]
	I-Dz	α1, β0, γ1	ND	Siberian sturgeon *Acipenser baerii***
	I-Zz	α1, α2, β0, γ1	ND	threadfin shad *Konosirus punctatus*[30]
II	II-Aa	α3, β1	β1	tiger puffer *Takifugu rubripes*[9], grass puffer *T. niphobles*[27], threadsail filefish *Stephanolepis cirrhifer*[27]
	II-Ab	α3, β1	β1, N	finepatterned puffer *Takifugu poecilonotus*[27]
	II-Ba	α1, β1	β1	red sea-bream *Pagrus major*[16]
III	III-a	β1	β1	northern pike *Exos lucius*[11], bluegill *Lepomis macrochirus*[6], Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*[10], seabass *L. latus*[10], rudderfish *Girella punctata*[5,7], Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[7], marbled sole *Pleuronectes yokohamae*[23], barfin flounder *Verasper moseri*[23]
	III-b	β1	β1, N	ayu *Plecoglossus altivelis*[8], gray mullet *Mugil cephalus*[20], redlip mullet *Chelon haematocheilus*[21], sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*[19]
IV	IV-Aa	β1, γ1	β1	Japanese lates *Lates japonicus*[22]
	IV-Ba	β1, γ3b	β1	marbled rockfish *Sebastiscus marmoratus*[26]
	IV-Cb	β2, γ3a	β2*, N	oblong rockfish *Sebastes oblongus*[28]

α1, eosinophilic granule (α granule) type 1; α2, α granule type 2; α3, α granule type 3; β0, chromophobic granule (β granule) type 0; β1, β granule type 1; β2, β granule type 2; γ1, basophilic granule (γ granule) type 1; γ2, γ granule type 2; γ3a, γ granule type 3a; γ3b, γ granule type 3b; PO, peroxidase; N, nucleus; ND, not detected.
*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（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）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）の好中球の形態学的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）の好中球の形態学的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的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）の好中球の形態学的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的および細胞化学的特徴．水大校研報，**61**, 234-241（2013）
29）近藤昌和，安本信哉，池田　至，高橋幸則：オニオコゼ好中球の形態学的および細胞化学的特徴．水大校研報，**62**, 69-74（2014）
30）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的および細胞化学的特徴．水大校研報，**63**, 250-260（2015）
31）Hine PM, Wain JM：Ultrastructural and cytochemical observations on the granulocytes of the sturgeon, *Acipenser brevirostrum* (Chondrostei). *J Fish Biol*, **33**, 235-245 (1988)
32）Palić D, Beck LS, Palić J, Andreasen CB：Use of rapid cytochemical staining to characterize fish blood granulocytes in species of special concern and determine potential for function testing. *Fish Shellfish Immunol*, **30**, 646-652（2011）