タイノエに寄生されたマダイにおける新たな好中球型 第4種および第5種好中球

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): Ceratothoa verrucosa; red seabream;
	Pagrus major; neutrophil; morphology
	作成者: 近藤, 昌和, 安本, 信哉
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2012160

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



タイノエに寄生されたマダイにおける新たな好中球型: 第4種および第5種好中球

近藤昌和[†],安本信哉

New Neutrophil Types in Red Seabream *Pagrus major*Infested with *Ceratothoa verrucosa*: Fourth and Fifth Neutrophil Types

Masakazu Kondo[†] and Shinya Yasumoto

Abstract: We report the morphology and cytochemistry of new neutrophil types (fourth type, N-4th; fifth type, N-5th) from *Ceratothoa verrucosa* (*Cv*)- infested red seabream *Pagrus major* with morphological abnormalities. The number of *Cv* in each infested fish was one (usual parasitism). The N-4th and N-5th were observed in the infested fish with mouth insufficiency (MI; Mouth closure was incomplete) and with MI plus exophthalmos (ocular proptosis), respectively. The bulging eyes contained bubbles. The first (N-1st), second (N-2nd) and third (N-3rd) neutrophil types have been reported from *Cv*-infested fish showing usual parasitism without morphological abnormality, unusual parasitism with MI, and super-unusual parasitism with MI plus exophthalmos, respectively. Therefore, the N-4th and N-5th will be the intermediate types (N-4th, between N-1st and N-2nd,

Key words: Ceratothoa verrucosa, red seabream, Pagrus major, neutrophil, morphology

緒言

タイノエCeratothoa verrucosaが口腔に1または2個体寄生しているマダイPagrus major (通常寄生魚)では、未寄生魚とは異なる特徴を有する好中球 (第1種好中球neutrophil-1st, N-1st)が血液中に出現する^{1.2}。また、タイノエが口腔に多数寄生したマダイ (異常寄生魚)には、通常寄生魚とは異なる好中球 (第2種好中球neutrophil-2nd, N-2nd)が認められ³、寄生が口腔のみならず鰓蓋内面や鰓葉上などにも認められるマダイ (超異常寄生魚)では第1種好中球および第2種好中球とは異なる第3種好中球 (neutrophil-3rd, N-3rd)が観察される⁴。異常寄生魚では宿主の口が開放状態、すなわち口の閉鎖不全 (mouth insufficiency, MI)が起こり³、超異常寄生魚ではMIとともに眼球突出 (exophthalmos)と、突出した眼球中の気

泡が認められる⁴。MIならびに眼球突出は,多数のタイノ エの寄生によって通常寄生魚が異常寄生魚や超異常寄生魚 になる前に観察される現象であるが^{3.4},これらの形態異常 が好中球形態に及ぼす影響は明らかではない。

通常寄生魚を飼育していたところ、MIを示す個体とMIおよび眼球突出を呈する個体が出現した。これらの形態異常魚(前者を異常魚A、後者を異常魚Bとする)の好中球を調べたところ、異常魚Aの好中球は異常魚Bのそれとは異なること、両異常魚の好中球は既報の第1種、第2種および第3種好中球とも異なることが明らかとなった。本稿では、異常魚Aの好中球を第4種好中球(neutrophil-4th)、異常魚Bの好中球を第5種好中球(neutrophil-5th)としてここに報告する*¹。

水產大学校生物生產学科(Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

[†]別刷り請求先 (corresponding author): kondom@fish-u.ac.jp

^{*1}本研究の一部は、令和元年度日本魚病学会秋季大会(2019年9月12日)において報告した[215:近藤昌和,安本信哉:タイノエが寄生したマダイにおける好中球の形態変化(プログラムおよび講演要旨,22)。

材料および方法

タイノエが寄生しているマダイを下関市沿岸の響灘(親 海域は日本海)で2018年の7月から10月に釣獲し、水産大 学校の屋外水槽に搬入して海水かけ流しで飼育した。同年 12月26日にMIが認められる個体1尾(個体a: 体重46.3 g; 尾 叉長12.6 cm; 取り上げ時の水温15.0℃; タイノエ1個体が寄 生; この個体はのちに異常魚B-1となる) を取り上げ、屋内 のガラス製水槽(水温16.5℃;ヒーターは設置していない ので、室温の影響を受ける)へ搬入し飼育を継続した。眼 球突出と眼球内における気泡は、右眼球では2019年1月27 日に(水温20.4℃), 左眼球では3月24日に確認された(水 温21.1℃)。個体a (異常魚B-1) からの採血は5月25日に行っ た (採血時: 体重, 52.1 g; 尾叉長14.0 cm; 取り上げ時の水温 21.0℃)。2019年1月17日に屋外水槽(水温13.6℃)の寄生 魚9尾を屋内のポリプロピレン製水槽へ移動し、水温15℃ で飼育した。同年3月4日から水温を1日1℃ずつ上昇させ, 水温20℃で育成した。3月13日にこの水槽内で眼球が突出 した個体が1尾確認され(個体bとする), 同23日にこれを

取り上げて屋内ガラス製水槽(水温21.8℃;ヒーターは設 置していない) へ移した(体重98.8 g: 尾叉長16.6 cm; タイ ノエ1個体が寄生; この個体はのちに異常魚B-2となる)。こ の時、個体bはすでにMIとなっており、突出した眼球内に 気泡が認められた。個体b (異常魚B-2) からの採血は5月 15日に行った (採血時: 83.2 g; 尾叉長17.1 cm; 取り上げ時 の水温20.7℃)。2019年4月13日から、寄生魚8尾を収容し た屋内ポリプロピレン製水槽の水温を1日1℃ずつ上昇さ せ、水温25℃で育成した。同年6月2日に屋内ガラス製水槽 (水温25.0℃; ヒーター設置) へ移し, 飼育を継続した。 MIを示す個体が認められたので(眼球は突出していない), 7月6日に3尾 [いずれもタイノエが1個体寄生; 異常魚A-1, 228.5 g (尾叉長21.7 cm); 異常魚A-2, 138.0 g (尾叉長 18.3cm); 異常魚A-3, 182.5 g (尾叉長21.2 cm)] から採血 した。飼育期間中は市販の配合飼料(マリン3号および同6 号, 林兼産業) を適宜給餌した。採血前に試験魚はキナル ジンで麻酔した。採血、血液塗抹標本の作製および各種細 胞化学染色法は前報¹⁻⁶⁾と同様に行った。

Table 1. Comparison of neutrophil granules from red seabream infested with Ceratothoa verrucosa

<u>r</u>	O in the first of											
-	Origin of neutrophils, type of granules and reaction*3											
	Fish without C. verrucosa*a			Fish infested with C. verrucosa								
Staining* ^{1,*2}				First type: Neutrophil-1 ^{st*b}					Second type: Neutrophil-2 ^{nd*c}			
	oG-1 -	oG-2		eoG	$eoG-2^{Cv1st}$		iG^{Cvlst}		eoG	eoG-2 ^{Cv2nd}		
		L0	L1	-1^{Cvlst}	L0	L1	L0	L1	-1^{Cv2nd}	L0	L1	
MGG	С	Е	С	С	E	С	С	Е	С	Е	С	
				1			(SF:+)					
AlP	_	-	_	-	_	_		_	_	_	_	
AcP	_	+	_	-	_	_	_	_	_	+	_	
β-Glu	_	+*4	_	<u> </u>	+ ↑	_	_	_	_	+ *4	-	
α-NAE	_	+	-	<u> </u>	+	-	_	-	-	+	_	
α -NBE	_	+	_	<u>:</u> –	+	-	_		-	+	_	
CAE	_	+	_	-	+	_	_	· -	_	+	-	
PO	+	_	+	+	_	+	+	-	+	_	+	
	(SF:+)			(SF:-)					(SF:-)			
SBB	+	_	+	-	_		_	_		_	_	
		(SF	:-)	!								
Hem		_	_	-	_	_	_	_	_	+	-	
ORO, S-III	-	-	_	-	_	_	_	_	-	-	_	
Hem	_	_	_	-	_	_	_	_	_	+	_	

^{*}¹MGG, May-Grünwald·Giemsa; AlP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β-Glu, β-glucuronidase; α-NAE, α-naphtyl acetate esterase; α-NBE, α-naphtyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase; SBB, Sudan black B; ORO, oil red O; S-III, sudan III; Hem, hematoxylin stain (Mayer's; counter stain).

^{*}All types of granules showed negative reaction to other tests [periodic acid Schiff reaction (PAS), alcian blue (pH1.0, pH2.5), toluidine blue in distilled].
*OG-1, ordinary chromophobic granule type 1; oG-2, ordinary chromophobic granule type 2; eoG-1^{Cvlst}, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-1St observed after infestion with *C. verrucosa* (oaiCv); eoG-2^{Cvlst}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-1St oaiCv; inducible chromophobic granule of neutrophil-1St oaiCv; eoβG-1^{Cv2nd}, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-2nd oaiCv; eoβG-2^{Cv2nd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-2nd oaiCv; eoβG-1^{Cv2nd}, extraordinary chromophobic; E, eosinophilic; +, positive; -, negative (non-detection); ↑, increase of positive site; SF, spot formation.

^{*4}A few of L0 were positive.

^{*5} Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

^{***}Kondo et al. (2017)⁶]; ***Kondo et al. (2017)¹]; ***Kondo et al. (2018)³].

結果および考察

MIを示す異常魚A (3尾) の好中球はいずれも第4種好 中球に、MIと眼球突出を呈する異常魚B(2尾)ではいず れも第5種好中球に同定された。第4種好中球および第5種 好中球には2種類の顆粒、すなわちMay-Grünwald·Giemsa 染色によって難染色性を示す顆粒と、顆粒の中心を取り囲 むエオシン好性層 (L0) とその周辺の難染色性層 (L1) からなる成層顆粒が認められた (Figs. 1A & 2A)。これ らの顆粒の構造は、未寄生魚の好中球に観察される2種類 の好中球顆粒(通常型顆粒ordinary chromophobic granule, oG; 1型, oG-1; 2型, oG-2) 5.6)や、タイノエが寄生し たマダイの第1種、第2種および第3種好中球に観察される2 種類の異常型顆粒 (extraordinary chromophobic granule, eoG: 1型, eoG-1: 2型, eoG-2) に類似していた¹⁴⁾。しかし、 第4種好中球に観察される未寄生魚のoG-1に類似した顆粒 を除いて、第4種好中球および第5種好中球の顆粒は、未寄 生魚およびタイノ工寄生魚の顆粒とは細胞化学的特徴が異 なっていた (Table 1)。また、通常寄生魚の第1種好中球 に観察される誘導型顆粒 (inducible chromophobic

granule, iG) は第4種および第5種好中球には認められな かった。第4種好中球の顆粒をoG-1^{Cv4th}およびeoG-2^{Cv4th}. 第 5種好中球の顆粒をeoG-1^{Cv5th}およびeoG-2^{Cv5th}と呼ぶことと する。

第4種好中球のoG-1^{Cv4th}には各種リソゾーム酵素は認めら れず (Figs. 1B-1D), 顆粒全体がペルオキシダーゼ (PO) およびズダン黒B (SBB) 陽性であった (Figs. 1E &1G)。 一方.eoG-2^{Cv4th}のL0には各種リソゾーム酵素が検出され たが、陽性像はL0内のL0よりも狭い領域(L0-0)に限定 されていた (Figs. IB-ID)。また、β-グルクロニダーゼ陽 性のLO-Oが多数観察された (Fig. 1C)。eoG-2^{Cv4th}のL1はPO 陽性であり (Fig. 1E), '斑'[顕微鏡の焦点を移動させる ことで、LOの上方および下方に出現する褐色の斑(spot)] の形成も認められた (Fig. 1F)。eoG-2^{Cv4th}のL1はSBB陽性 を示した。本顆粒はオイルレッドO(ORO) およびズダン IIIに陽性反応を示さなかったが、染色後の核染色(マイ ヤーのヘマトキシリン染色)でLO-Oが青染された(Fig. 1H)。第5種好中球のeoG-1^{Cv5th}もoG-1^{Cv4th}と同様に各種リソ ゾーム酵素は検出されず (Figs. 2B & 2C), 顆粒全体がペ ルオキシダーゼ (PO) であったが (Fig. 2D)、ズダン黒B

Table 1 Cont

	Origin of neutrophils, type of granules and reaction*3										
Staining*1.*2	Fish infested with <i>C. verrucosa</i>										
	Third ty	pe: Neutrop	hil-3 ^{rd*d}		ype: Neutron	hil-4th*e	Fifth type: Neutrophil-5 ^{th*e}				
	eoG-1 ^{Cv3rd} -	eoG-2 ^{Cv3rd}		oG-1 ^{Cv4th}	eoG-2 ^{Cv4th}		eoG-1 ^{Cv5th}	eoG-2 ^{Cv5th}			
		L0	L1	0G-1	L0	L1	eoG-1	L0	L1		
MGG	С	E	C	С	E	С	С	E	С		
AlP						<u>-</u>			<u>-</u>		
AcP	_	+ * ⁵	_	_	+ *5	_	_	+ * ⁵	_		
β-Glu	_	+ *4, *5	_	<u> </u>	+ ↑* ⁵	_	_	+ ↑* ⁵	_		
α-NAE	_	+ * ⁵	_	<u> </u>	+ * ⁵	_	_	+ * ⁵	-		
α-NBE	_	+ * ⁵	_	-	+ * ⁵	_	_	+* ⁵	_		
CAE	_	+*5	_	_	+ * ⁵	_	_	+ * ⁵	_		
PO	+	_	+	+	_	+	+	_	+		
	(SF:+)			(SF:+)			(SF:-)				
SBB	_	_	_	+	_	+	_	<u> </u>			
				(SF:-)							
Hem	_	+	_	_	_	_	-	+ *5	_		
ORO, S-III	_	_	_	_	_	_	_	_`	-		
Hem	_	+	_	_	+ * ⁵	_	_	+ * ⁵	_		

^{*}¹MGG, May-Grünwald·Giemsa; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; β-Glu, β-glucuronidase; α-NAE, α-naphtyl acetate esterase; α-NBE, α -naphtyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase; SBB, Sudan black B; ORO, oil red O; S-III, sudan III; Hem, hematoxylin stain (Mayer's; counter stain).

²All types of granules showed negative reaction to other tests [periodic acid Schiff reaction (PAS), PAS after digestion with a-amylase, alcian blue (pH1.0,

pH2.5), toluidine blue in distilled]. ¹³eoβG-1^{Co3rd}, extraordinary chromophobic granule type 1 of neutrophil-3rd oaiCv, eoβG-2^{Co3rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-3rd oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4rd}, extraordinary chromophobic granule type 2 of neutrophil-4th oaiCv, eoG-2^{Co4} 5th oaiCv, L0, layer 0; L1, layer 1; C, chromophobic; E, cosinophilic; +, positive; -, negative (non-detection); †, increase of positive site; SF, spot formation. ⁴A few of L0 were positive.

^{*5}Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

^{*}dKondo & Yasumoto (2019)4); *epresent report.

(SBB) は陰性であった(Fig. 2E)。eoG-2^{Cv4th}と同様にeoG-2^{Cv5th}のL0-0には各種リソゾーム酵素が局在しており(Figs. 2B & 2C),多数の β -グルクロニダーゼ(β -Glu)陽性のL0-0が認められた(Fig. 2C)。eoG-2^{Cv5th}のL1はPO陽性でであったが(Fig. 2D),'斑'の形成は観察されなかった。eoG-2^{Cv5th}はSBB,OROおよびズダンIIIに陰性であったが,これらの染色後の核染色によってL0-0が青染された(Fig. 2E; Table 1)。

第4種好中球のSBB染色標本において、G-2のL0がヘマトキシリンで染色されない理由として、第4種好中球のG-2のL1がSBB陽性であるため、SBB染色後のヘマトキシリン染色ではヘマトキシリンがSBBに染色されたL1を通過できず、L0に到達しないと考えられる。

タイノ工寄生魚において, 第1種好中球は形態異常を示さない通常寄生魚に観察され^{1.2}, 第2種好中球はMIを示し, 多数のタイノエが口腔に限定的に寄生している異常寄生魚

に認められる³。また、第3種好中球はMIと眼球突出(眼 球内に気泡を含む)を起こし、多数のタイノエが口腔以外 にも寄生する超異常寄生魚に見られる4。MIや眼球突出は 異常寄生や超異常寄生が起こる前にすでに通常寄生魚で観 察されている34。したがって、第4種好中球は第1種好中球 を有する通常寄生魚が、第2種好中球を持つ異常寄生魚に なる過程に、第5種好中球は第1種好中球を有する通常寄生 魚が、第3種好中球を持つ超異常寄生魚になる過程で出現 する好中球であると言える。第1種好中球と第4種好中球の 違いは、通常寄生魚がMIを起こした場合の変化であり、 第4種好中球と第2種好中球の間のそれは、MIを起こした 通常寄生魚に多数のタイノエが寄生した場合の変化である (第5種好中球の場合には、前文の第4種を'第5種'に、第 2種を'第3種'に変更し、MIを'MIと眼球突出'とする)。 以上の観点から各種好中球を比較すると以下の様になる (以後, 各種oG-1とeoG-1は単にG-1と, oG-2と各種eoG-1は

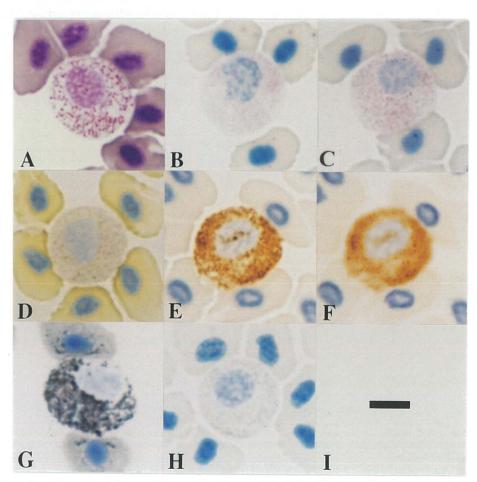


Fig. 1. Fourth neutrophil type from red seabream infected with *Ceratothoa verrucosa*. A, May-Grünwald Giemsa; B, acid phosphatase; C, β-glucuronidase; D, α -naphtyl butyrate esterase. E & F, peroxidase [same cells in E & F with different focus. The oG-1^{CN4th} and L1 of eoG-2^{CN4th} show positive reaction. Note spot (brown) formation in F]; G, Sudan black B (The oG-1^{CN4th} and L1 of eoG-2^{CN4th} show positive reaction); H, Oil red O (negative reaction. Note hematoxylin positive inner area of L0 (L0-0) in eoG-2^{CN4th}). I, scale bar (5 μm) which is adapted to all figures (A-H) in Fig. 2. Note positive L0-0 in B-D.

単にG-2と表記する)。

1. 第1種好中球1,2)と第4種好中球の比較

通常寄生魚がMIを起こした場合、第1種好中球に存在し た誘導型顆粒が形成されなくなる。第1種好中球ではG-2の L0は酸性ホスファターゼ (AcP) 陰性であるが、第4種好 中球では未寄生魚の好中球と同様にAcP陽性になる。しか し、局在部位は未寄生魚ではL0であったのに対して⁶⁾、第 4種好中球ではL0-0となる。β-Glu陽性のG-2は第1種好中球, 第4種好中球ともに、未寄生魚6に比べて多数であるが、局 在部位は第1種好中球のL0から、第4種好中球のL0-0へと変 化する。各種エステラーゼ活性の局在性もβ-Gluと同様に 第1種好中球と第4種好中球で異なる。POは第1種好中球、 第4種好中球ともにG-1とG-2のL1に認められるが、第1種好 中球では観察されない斑が、第4種好中球では未寄生魚と 同様に形成される。第1種好中球はSBB陰性であるが、第4 種好中球では未寄生魚⁶と同様にG-1とG-2のL1が陽性反応 を示す。第4種好中球のG-2のL0-0はヘマトキシリン陽性で あるが、未寄生魚6と第1種好中球では陰性である。

2. 第4種好中球と第2種好中球3の比較

MIを起こして第4種好中球を有するようになった通常寄生魚に、多数のタイノエが寄生した場合、第2種好中球が出現する。第2種好中球ではβ-Glu陽性のG-2が減少し、局

在部位はAcPや各種エステラーゼとともに,第4種好中球とは異なりL0である(第4種好中球ではL0-0)。両好中球種の間にPOの局在性に変化は見られないが,第4種好中球に観察された斑は,第2種では形成されない。また,第4種好中球で陽性であったSBBが,第2種好中球では陰性である。第4種好中球と同様に第2種好中球でもG-2はヘマトキシリン陽性であるが、陽性部位は第4種好中球ではL0-0であるのに対して第2種好中球ではL0である。

3. 第1種好中球1,2)と第5種好中球の比較

通常寄生魚がMIと気泡をともなう眼球突出を起こした場合,第4種好中球と同様に第1種好中球に存在した誘導型顆粒が形成されなくなる。また,各種リソゾーム酵素の局在性の変化は第4種好中球と同じである。POは第1種好中球,第4種好中球と同様にG-1とG-2のL1に認められるが,第1種好中球では観察されず,第4種好中球では未寄生魚6と同様に認められる斑が,第5種好中球では形成されない。第1種好中球はSBB陰性であり,第4種好中球では未寄生魚6と同様にG-1とG-2のL1が陽性反応を示すが,第5種好中球ではG-1,G-2ともにSBB陰性である。第5種好中球のG-2のL0-0は第4種好中球と同様にヘマトキシリン陽性である。

4. 第5種好中球と第3種好中球4)の比較

MIと眼球突出を起こして第5種好中球を有するように

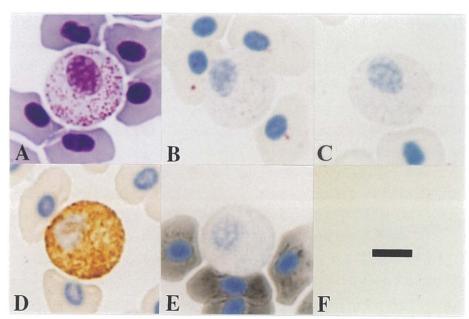


Fig. 2. Fifth neutrophil type from red seabream infected with Ceratothoa verrucosa. A, May-Grünwald·Giemsa; B, acid phosphatase; C, β-glucuronidase; D, peroxidase [The oG-2^{C·5th} and L1 of eoG-2^{C·5th} show positive reaction, however, spot was not formed]; E, Sudan black B (negative reaction. Note hematoxylin positive inner area of L0 (L0-0) in eoG-2^{C·5th}); F, scale bar (5 μm) which is adapted to all figures (A-E) in Fig. 3. Note positive L0-0 in B & C.

なった通常寄生魚に、多数のタイノエが寄生した場合、第3種好中球が出現する。第3種好中球ではβ-Glu陽性のG-2の数は第5種好中球と同様に多いが、局在部位はAcPや各種エステラーゼとともに、第5種好中球とは異なりLOである。第5種好中球と第3種好中球の間には、POの局在性に変化は認められないが、第5種好中球では形成されない斑が、第3種好中球では認められる。第5種好中球と第3種好中球のG-2はヘマトキシリン陽性であるが、陽性部位は第5種好中球ではLOであるのに対して第3種好中球ではLOである。

5. 第4種好中球と第5種好中球の比較

第4種好中球はMIとなった通常寄生魚(異常魚A)に、 第5種好中球はMIと眼球突出を起こした通常寄生魚(異常 魚B)に観察される。MIののちに眼球突出が起こるのであ れば、第4種好中球を有する異常魚Aが眼球突出を起こす ことで、好中球は第5種好中球になると言える。本研究に おける異常魚A-1と、第3種好中球が認められた個体では⁴⁾、 MIが眼球突出よりも先に起こった。したがって、異常魚 の好中球が第4種好中球から第5種好中球へ変化することは 有り得る*²。両好中球を比較すると、第4種好中球のPO染 色標本に観察される斑が、第5種好中球では形成されず、 SBB染色性が陽性(第4種好中球)から陰性(第5種好中球) になる。

以上の各種好中球間に見られる変化を説明するために は, 少なくとも4種類の因子 (α因子, β因子, γ因子, δ因子) が必要である。なお、染色性の陽性と陰性の違い はその被染色物質の発現の有無と考え, 陽性部位の数の増 減は発現量の違いと解釈することとする。α因子はPO染 色標本上における斑形成を阻害する物質と定義する。β因 子はヘマトキシリン染色に陽性の物質である。 γ 因子と δ 因子はリソゾーム酵素やβ因子と相互作用してこれらの局 在性を変化させる物質であり, γ因子はリソゾーム酵素と は作用するが、 β 因子とは反応せず、 δ 因子は β 因子と相 互作用する物質である (δ因子がリソゾーム酵素と反応す るか否かは断定できない)。未寄生魚のPO染色標本におい て形成される斑は、タイノエの寄生によって出現する第1 種, 第2種および第5種好中球では観察されない。この現象 を説明するために、これら3種類の好中球では α 因子がG-2 に蓄積することで斑が形成されなくなると考えることとす る。第2種から第5種好中球のG-2のL0またはL0-0はヘマト

キシリン陽性であることから、β因子はこれらの好中球に 共通して発現すると言える。また、第2種から第5種好中球 を有する寄生魚ではいずれもMIが起こっていることから、 口の閉鎖不全がβ因子の発現に関わっていると推察され る。未寄生魚と第1種および第2種好中球では、リソゾーム 酵素はG-2のL0に局在し、第3種から第5種好中球ではL0内 の狭い領域であるL0-0に検出された。しかし、β因子の局 在部位は第2種好中球と第3種好中球ではL0であるのに対 して、第4種好中球と第5種好中球ではL0-0であった。これ らの違いを γ 因子と δ 因子を用いて説明する。MIを起こ した通常寄生魚(異常魚A)ではγ因子とδ因子が発現し τ G-2に蓄積することで、 γ 因子がリソゾーム酵素と、 δ 因子がβ因子と相互作用してリソゾーム酵素とβ因子の局 在部位をともにLOからLO-Oに変える。異常魚Aに多数のタ イノエが寄生すると γ 因子と δ 因子の発現が止まり、リソ ゾーム酵素とβ因子の局在部位はL0となる。γ因子とδ因子はMIと眼球突出を起こした異常魚Bにおいても発現す るため、第5種好中球におけるリソゾーム酵素とβ因子の 局在部位は第4種好中球と同様にL0-0であるが、異常魚B に多数のタイノエが寄生した場合. ν 因子は発現するがδ 因子の発現は止まるために、リソゾーム酵素はL0-0に、β 因子はL0に検出される。

文 献

- 1) 近藤昌和, 窪田太貴, 前川幸平, 安本信哉, 高橋幸則: タイノエに寄生されたマダイの好中球顆粒. 水大校研報, 65, 203-206 (2017) [Kondo M, Kubota T, Maekawa K, Yasumoto S, Takahashi Y: Neutrophil granules of red seabream *Pagrus major* parasitized with *Ceratothoa* verrucosa. J Nat Fish Univ, 65, 203-206 (2017) (in Japanese with English abstract)]
- 2) 近藤昌和,安本信哉,高橋幸則:タイノエに寄生されたマダイの頭腎と脾臓に観察される顆粒球について.水大校 研 報,66,199-201 (2018) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: On the granulocytes observed in head kidney and spleen of red seabream *Pagrus major* parasitized with *Ceratothoa verrucosa*. *J Nat Fish Univ*,66, 199-201 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 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イに観察される第2の好中球、水大校研報,66,209-

^{*&}lt;sup>2</sup>2019年夏に釣獲され、現在育成中の通常寄生魚2尾では、MIは認められないものの、気泡をともなった眼球が突出している。

- 214 (2018) [Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Second neutrophil type observed in red seabream *Pagrus major* with parasitized *Ceratothoa verrucosa. J Nat Fish Univ*, **66**, 209-214 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 近藤昌和,安本信哉: タイノエに寄生されたマダイの第 3の好中球: 症例報告. 水大校研報, 67, 223-229 (2019) [Kondo M, Yasumoto S: Third neutrophil type in red seabream Pagrus major infected with Ceratothoa verrucosa: A case report. J Nat Fish Univ, 67, 223-229 (2019) (in Japanese with English abstract)]
- 5) 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)
- 6) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Cytochemical characteristics of neutrophil granules from red seabream *Pagrus major. J Nat Fish Univ.* **65**, 141-145 (2017)