

マハタの単球二次顆粒の染色性

近藤昌和[†], 近藤啓太, 高橋幸則

Staining Properties of Monocyte Minor Granules in Sevenband Grouper, *Epinephelus septemfasciatus*

Masakazu Kondo[†], Keita Kondo and Yukinori Takahashi

Abstract : Staining characteristics of monocyte minor granules (MmG) in sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* were examined by light microscopy. The color of MmG (reddish purple with May-Grünwald (MG) and MG-Giemsa) was orthochromatic after staining with EY and MB. This result indicates that the reddish purple color of MmG were not metachromtic by basic dye (MB), but formed by combination of EY and MB.

Key words : sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, monocyte, granule, staining characteristics

哺乳類, 鳥類, 爬虫類および両生類の単球には, 赤紫色のアズール顆粒が観察されるが¹⁻⁵⁾, 魚類では一般に, 単球にはアズール顆粒は認められていない⁶⁾。マハタ *Epinephelus septemfasciatus* の単球には, May-Grünwald (MG) 染色およびMG-Giemsa (MGG) 染色によって赤紫色を示す直径0.4 μ m以下の円形顆粒が存在し, 単球二次顆粒 (Monocyte Minor Granule, MmG) と称されている⁷⁾。本顆粒のMG染色性とMGG染色性は同じであり, Giemsa(G) 染色では染色されないことから, 単球二次顆粒はMG染色中に赤紫色に染色されると考えられている (Fig. 1)⁷⁾。しかし, MG液のいずれの成分によって単球二次顆粒が赤紫色に染色されるのかは不明である。MG液はエオシン酸メチレンブルーのメタノール溶液であり, 染色時の水溶液中ではエオシンY (EY) とメチレンブルー (MB) に解離する。本研究では, MG染色時の染色液中に共存している2種類の色素 (EYとMB) をそれぞれ単独で用いて, 単球二次顆粒の赤紫色に対する両色素の寄与を推定した。その結果, 赤紫色に染色される顆粒を単純にアズール顆粒と称することは不適當であることが明らかとなったのでここに報告する。

ヘパリンを入れた注射器を用いてマハタ (平均体重78.6 g) の尾柄部から採血し, 血液塗沫標本を作製した。EYと

MBそれぞれの飽和無水メタノール溶液を血液塗沫標本上に1.5ml載せて5分間固定したのち, リン酸緩衝液 ($1/15$ M, pH8.0) を同量追加混和して10分間染色した。その結果, MmGはEYでは橙色を (Fig. 2A), MBでは青色を呈した (Fig. 2B)。この染色結果から, 単球二次顆粒の赤紫色は, EYとMBの色調が混合することによって生ずると考えられた。一般にG染色やMGG染色によって赤紫を呈する

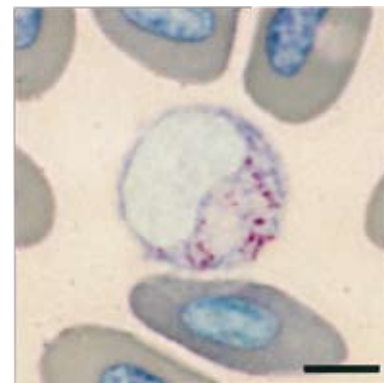


Fig. 1. MmG of monocyte in sevenband grouper. Smear was stained with May-Grünwald (MG) stain. After fixation and staining for 5 min with MG concentrated-solution, the smear was stained again for 10 min in MG diluted with phosphate buffer ($1/15$ M, pH8.0). MmG show reddish purple. Bar= 5 μ m.

2010年12月15日受付. Received December 15, 2010.

水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University).

[†]連絡先 (Corresponding author).

白血球顆粒はアズール顆粒と称されており, G染色液中のアズールB (AB) によって染色されるとされている。ABは水溶液中では青色であることから⁸⁾, ABによって生ずる赤紫色は, ABが異調染色性を示したことによるものと言える。MBもABと同様に水溶液中では青色を呈し⁹⁾, 被染色物によっては, MBも異調染色性を示す^{10,12)}。したがって, 赤紫色の顆粒をアズール顆粒と呼ぶ場合には, ABによる異調染色性を確認する必要があると考える。マハタ単球の単球二次顆粒の赤紫色は, EYとMBの混色によって生じたと考えられ, アズール顆粒ではないと言える。

池田ら(1985)は, メタノール固定したマハタ血液塗沫標本にLeishman-Giemsa染色を施して観察しているが¹¹⁾, その単球には単球二次顆粒が認められない⁷⁾。池田ら(1985)は, Leishman液(エオシン酸メチレンブルーを1%含むメタノール溶液)をあらかじめ緩衝液で希釈してから用いている¹¹⁾。マハタの単球二次顆粒はメタノール固定したのちにMGG染色した場合においても赤紫色を示すが, メタノール固定した標本をG染色しても染色されない⁷⁾。G液中には, MBとABとともにエオシン酸メチレンブルーとエオシン酸アズールBが含まれており, 染色時には, 緩衝液等で希釈して用いることから, エオシン酸メチレンブルーとエオシン酸アズールBが解離する。したがって, G染色液中にはEY, MBおよびABが存在することとなる。しかし, マハタの単球二次顆粒はG染色では染色されない⁷⁾。これらのことから, マハタの単球二次顆粒の赤紫色を呈する成分はメタノール固定時に溶出しないが, メタノールに溶解した色素でなくては, 染色されないのではないかと推察される。

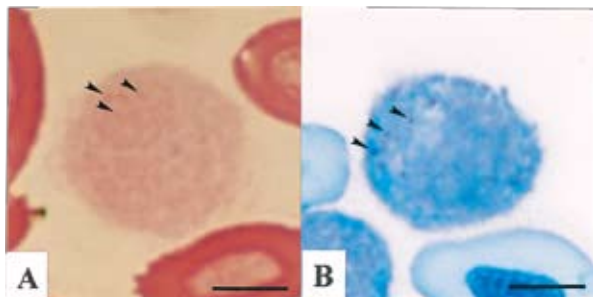


Fig. 2. MmG of monocyte in sevenband grouper. Smear was stained with eosin Y(A) or methylene blue(B) according to May-Grünwald stain. After fixation and staining for 5 min with saturated dye in absolute methanol, the smear was stained again for 10 min in each dye diluted with phosphate buffer ($1/15$ M, pH8.0). MmG (arrowheads) show orange(A) or blue(B). Bars = 5 μ m.

哺乳類, 鳥類, 爬虫類および両生類の単球には, 赤紫色の顆粒が存在し, アズール顆粒と称されている¹⁻⁵⁾。しかし, 本研究で明らかになったように, 色調(赤紫色)のみでアズール顆粒と称するのは不適當と考えられ, 染色標本上の赤紫色の顆粒を, アズール顆粒と称することには注意を要すると言える。

文 献

- 1) Parmley R T : Mammals. In : Rowley A F, Ratcliffe N A (eds) Vertebrate Blood Cells. Cambridge University Press, Cambridge, 337-424 (1988)
- 2) Dieterlen-Lievre F : Birds. In : Rowley A F, Ratcliffe N A (eds) Vertebrate Blood Cells. Cambridge University Press, Cambridge, 257-336 (1988)
- 3) Sypek J, Borysenko M : Reptiles. In : Rowley A F, Ratcliffe N A (eds) Vertebrate Blood Cells. Cambridge University Press, Cambridge, 211-256 (1988)
- 4) Turner R J : Amphibians. In : Rowley A F, Ratcliffe N A (eds) Vertebrate Blood Cells. Cambridge University Press, Cambridge, 129-209 (1988)
- 5) 古田恵美子, 中村弘明, 山口恵一郎: マクロファージの系統発生. 高橋 潔, 内藤 眞, 竹屋元裕(編), 生命を支えるマクロファージ. 文光堂, 東京, 32-53 (2001)
- 6) Rowley A F, Hunt T C, Page M, Mainwaring G : Fish. In : Rowley A F, Ratcliffe N A (eds) Vertebrate Blood Cells. Cambridge University Press, Cambridge, 19-127 (1988)
- 7) 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)
- 8) The Merck Index (12th ed.) : Azure B. Merck & Co., Inc., NJ, 159 (1996)
- 9) The Merck Index (12th ed.) : Methylene blue. Merck & Co., Inc., NJ, 1035 (1996)
- 10) 西 国広, 阿南健一, 須田正洋: 染色法-普通染色またはRomanowsky染色による形態の違いについて-. Medical Technology, 19, 630-636 (1991)
- 11) 池田彌生, 尾崎久雄, 瀬崎啓次郎: マハタ. 魚類血液図鑑, 緑書房, 東京, 66-67 (1986)
- 12) 近藤昌和, 林 裕之, 高橋幸則: メナダの単球二次顆粒の染色性. 水大校研報, 59, 223-225 (2011)