

オカヤドカリ4種およびヤシガニの血球分類：ヤシガニで見つかった新たな多血球性分類群

近藤昌和[†], 安本信哉, 高橋幸則

Classification of Hemocytes in Four Species of Land Hermit Crabs (*Coenobita*) and Coconut Crab (*Birgus latro*): A New Classification Group of Polyhemocytic Crustaceans Found in Coconut Crab

Masakazu Kondo[†], Shinya Yasumoto and Yukinori Takahashi

Abstract : Morphological characteristics of hemocytes from Coenobitidae (Paguroidea, Anomura, Decapoda, Crustacea) were examined by light microscopy. Two types of hemocytes (granulocytes) were observed in each Coenobitidae, but the composition of hemocytes were different between coconut crab *Birgus latro* and land hermit crabs (*Coenobita cavipes*, *C. purpureus*, *C. rugosus*, *C. violascens*). Each *Coenobita* had chromophobic granulocyte and eosinophilic granulocyte. This composition (group IV) were similar to that of Caridea (*Caridina*, *Macrobrachium*, *Palaemon*, *Alpheus*) and Stenopodidea (*Stesnopus*), but differed from other anomuras such as Paguridae (Paguroidea; *Pagurus*, *Spiropagurus*; group II) and Lithodidae (Lithodoidea; *Paralithodes*; group II). On the other hand, *Birgus* had basophilic and eosinophilic granulocyte and eosinophilic granulocyte. This composition (new group, VI) is the first record in polyhemocytic crustaceans.

Key words : Coenobitidae, Crustacea, hemocyte, morphology, diversity

緒 言

著者らは前報^{1,2)}までに、甲殻類を血球の種類数に基づいて、3つのグループに分けることを提案した。すなわち、血液中を循環する血球を持たない甲殻類を無血球性甲殻類 hemocyteless crustacean とし、1種類の血球のみを有する甲殻類を単血球性甲殻類 monohemocytic crustacean、複数の血球種を有する甲殻類を多血球性甲殻類 polyhemocytic crustacean とした^{1,2)}。無血球性甲殻類はさらに偽無血球性甲殻類と真無血球性甲殻類に細分され、前者には循環血球は観察されないが、組織上や組織中に細胞の系譜としては血球に相当すると考えられる血球様の顆粒細胞が認められ

る。一方、後者には血球も血球様顆粒細胞も観察されない。また、単血球性甲殻類は真単血球性甲殻類と偽単血球性甲殻類に分類され、前者には鰓脚類(鰓脚綱)や顎脚類(顎脚綱)のほかには原始的な軟甲類(軟甲綱)であるコノハエビ類(コノハエビ亜綱薄甲目)が属し、後者には真軟甲類(軟甲綱真軟甲亜綱)に属する単血球性甲殻類(ニホンイサザアミ *Neomysis japonica* (フクロエビ上目アミ目)、カクレエビ *Conchodytes nipponensis* (ホンエビ上目十脚目 Decapoda))を配置した。多血球性甲殻類は、血球種の組成に基づいて群分けされ、これまで5つの群(I~V群)が報告されている。多血球性甲殻類には軟甲類のシャコ類(トゲエビ亜綱口脚目)と真軟甲類が属する。

以上の各グループに属する甲殻類の分類学的位置から、甲殻類の系統と血球形態の関係について以下の仮説を提唱した²⁾。仮説：①甲殻類の祖先種は1種類の血球を有する真単血球性甲殻類であった。②現生の甲殻類において血液循環の乏しい種では循環血球を有さず、血球は組織上または組織中に血球様顆粒細胞として存在し（偽無血球性甲殻類）、体制が極端に退化した種では血球も血球様顆粒細胞も持たない（真無血球性甲殻類）。③軟甲綱トゲエビ亜綱と同綱真軟甲亜綱の共通の祖先種において「血球の種類数の増加（血球種の複数化）」が起こり、その血球種組成はI群であった（多血球性甲殻類の出現）。④I群の祖先種から分岐した各動物群において、「血球の種類数の減少（血球種の単純化）」が起こり、血球種の組成に多様性が生じた（各群の多血球性甲殻類と偽単血球性甲殻類の出現）。これらの仮説を検証するためには、さらに多くの甲殻類について調べる必要がある。

オカヤドカリ科 Coenobitidae（十脚目抱卵亜目 Pleocyemata 異尾下目 Anomura ヤドカリ上科 Paguroidea）に属する数種の甲殻類の血球を観察したところ、ホンヤドカリ科 Paguridae（ヤドカリ上科）のヤマトホンヤドカリ *Pagurus japonicus* とゼンマイヤドカリ *Spiropagurus spiriger*、ならびにタラバガニ科 Lithodidae のタラバガニ *Paralithodes camtschaticus*（タラバガニ上科 Lithodea）¹⁾ といった異尾類とは異なる血球種の組成が認められた。また、オカヤドカリ科の中でも、オカヤドカリ類 *Coenobita* とヤシガニ *Birgus latro* では血球種の組成が異なっており、ヤシガニでは既知の分類群（I～V群）に当てはまらなかったものでここに報告する。

材料および方法

実験には下関市内の熱帯魚店で購入した体重 35 g 前後のオカヤドカリ類 4 種（オカヤドカリ *C. cavipes*、ムラサキオカヤドカリ *C. purpureus*、ナキオカヤドカリ *C. rugosus*、コムラサキオカヤドカリ *C. violascens*）³⁾ および沖縄県の採集業者から購入したヤシガニ（体重約 450 g）を用いた。いずれも室温（20℃）で1週間以上飼育したのち実験に供した。なお、飼育期間中は、オカヤドカリ類にはクルマエビ用配合飼料（育成用Σ（P-2）、林兼産業）を、ヤシガニにはマダイ *Pagrus major* の切り身を適宜給餌した。

近藤ら¹⁾にしたがって第4脚の基部より血液を採取した。オカヤドカリ類には宿貝を 70℃の湯に浸して、宿貝から出た個体を用いた。血液塗真抹標本に May-Grünwald 染色

を施して観察した¹⁾。

結 果

オカヤドカリ類 4 種（オカヤドカリ、ムラサキオカヤドカリ、ナキオカヤドカリ、コムラサキオカヤドカリ）の血球は、いずれも顆粒を有する顆粒球であり、顆粒の染色性の違いから難染色性顆粒球（chromophobic granulocyte, CG）と好酸性顆粒球（eosinophilic granulocyte, EG）の 2 種類に同定された（Figs. 1A, 1B）。このことから、4 種のオカヤドカリの血球種組成は多血球性の IV 群に分類された。オカヤドカリ類の CG と EG の細胞体の形状は 4 種ともに円形、卵円形、楕円形、桿形または紡錘形であり、大きさは様々であった（CG: 長径 7.0～20.0 μm, 短径 6.0～10.0 μm; EG: 長径 7.0～20.5 μm, 短径 6.0～9.0 μm）。核は両血球種ともに卵円形から桿形であり（CG: 長径 6.0～10.5 μm, 短径 3.0～7.0 μm; EG: 長径 6.5～12.5 μm, 短径 4.0～6.0 μm）、細胞の中央またはやや偏在して存在した。また、核内には血球種を問わず濃青色を呈する粒子状のヘテロクロマチンが多数観察された。難染色性顆粒と好酸性顆粒はともに長径 1.0 μm 以下の円形または卵円形であった。

ヤシガニでは 2 種類の顆粒球、好塩基性好酸性顆粒球（basophilic and eosinophilic granulocyte, BEG）および好酸性顆粒球（eosinophilic granulocyte, EG）が観察された（Figs. 1C, 1D）。この顆粒球の組み合わせは既報¹⁾の血球種組成とは異なっていたことから、ヤシガニを新たな群（VI 群）に分類した。ヤシガニ BEG は細胞質に好塩基性顆粒と好酸性顆粒の両者を有する血球であり、両顆粒ともに長径 1.0 μm 以下の円形または卵円形であった。一方、ヤシガニ EG には円形または卵円形の好酸性顆粒（長径 1.0 μm 以下）のみが観察された。両血球種ともに細胞体は円形、卵円形、楕円形、桿形または紡錘形であり、大きさは様々であった（BEG: 長径 7.5～26.0 μm, 短径 7.0～11.5 μm; EG: 長径 9.5～25.0 μm, 短径 6.0～14.0 μm）。核は両血球種ともに卵円形から桿形であり（BEG: 長径 6.0～12.0 μm, 短径 3.0～6.0 μm; EG: 長径 6.0～14.0 μm, 短径 3.0～6.0 μm）、細胞の中央またはやや偏在して存在した。また、血球種を問わず核内には濃青色を呈する粒子状のヘテロクロマチンが多数観察された。

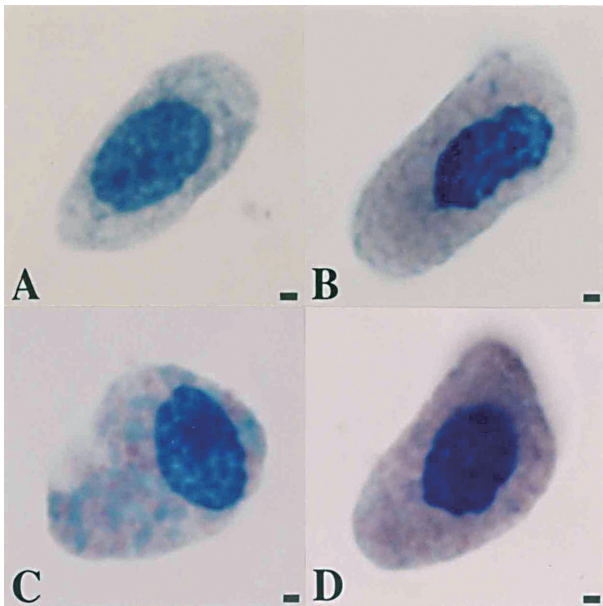


Fig. 1. Hemocytes of land hermit crab *Coenobita cavipes* (A & B; hemocyte classification group IV) and coconut crab *Birgus latro* (C & D; hemocyte classification group VI). A, chromophobic granulocyte (CG); B, eosinophilic granulocyte (EG); C, basophilic and eosinophilic granulocyte (BEG); D, eosinophilic granulocyte (EG). May-Grünwald stain. Bars=1 μm .

考 察

これまでに多血球性甲殻類の血球分類群として5つの群 (I ~ V 群) が報告されている¹⁾。I 群にはトゲエビ亜綱口脚目のシャコ類 (*Oratosquilla*, *Harpisquilla*)、真軟甲亜綱フクロエビ上目等脚目のワラジムシ亜目 (*Ligia*, *Armadillidium*, *Porcellio*) と有扇亜目 (*Mothocya*, *Rhexanella*)、同上目の端脚目 (*Melita*)、真軟甲亜綱ホンエ

ビ上目十脚目根鰓亜目 Dendrobranchiata クルマエビ下目 Penaeidea のクルマエビ科 (*Marsupenaeus*, *Metapenaeopsis*, *Trachysalambria*)、同目抱卵亜目アナジャコ下目 Thalassinidea のスナモグリ科 (*Callianassa*) とアナジャコ科 (*Upogebia*)、同亜目短尾下目 Brachyura のカラッパ科 (*Matuta*)、コブシガニ科 (*Philyra*)、ガザミ科 (*Charybdis*, *Portunus*, *Scylla*, *Thalamita*) およびオウギガニ科 (*Leptodius*, *Sphaerozius*) が含まれる。II 群には抱卵亜目ザリガニ下目 Astacidea アカザエビ科 (*Homarus*)、同亜目イセエビ下目 Achelata イセエビ科 (*Panulirus*)、同亜目異尾下目ヤドカリ上科ホンヤドカリ科のヤマトホンヤドカリとゼンマイヤドカリならびに同下目タラバガニ上科タラバガニ科のタラバガニが属する。III 群には抱卵亜目ザリガニ下目アメリカザリガニ科 (*Cambaroides*, *Procambarus*)、短尾下目のイワガニ科 (*Eriocheir*, *Hemigrapsus*, *Gaetice*, *Chiromantes*, *Pachygrapsus*)、サワガニ科 (*Geothelphusa*) およびスナガニ科 (*Ocypode*) が、IV 群には抱卵亜目オトヒメエビ下目 Stenopodidea オトヒメエビ科 (*Stenopus*)、同亜目コエビ下目 Caridea のヌマエビ科 (*Caridina*)、テナガエビ科 (*Palaemon*, *Macrobrachium*) およびテッポウエビ科 (*Alpheus*) が含まれる。また、フクロエビ上目等脚目ミズムシ亜目 (*Asellus*) も IV 群に分類されている。V 群には短尾下目カクレガニ科 (*Pinnotheres*) が属する。

本研究の結果、オカヤドカリ類には4種ともに2種類の血球、すなわち難染性顆粒球と好酸性顆粒球が観察され、その血球種の組成から多血球性の IV 群に分類された。一方、ヤシガニには好塩基性好酸性顆粒球と好酸性顆粒球が認められたが、これらの血球種からなる分類群はこれまで報告がないことから、新たに VI 群を設定した。好塩基性

Table 1. Comparison of morphological characteristics of hemocytes from polyhemocytic crustaceans (May-Grünwald staining preparation, modified from Kondo et al.¹⁾)

	Classification groups according to hemocyte composition					
	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	Group VI
Hemocyte type ¹ , granule ² (staining, shape, size (μm)) and other characters ³	BFG (B, r, ≤ 0.3)	SBC; ag; bh	CG (C, r, ≤ 1.0)			
	BP (B, a few, r, 0.5); bh			CG (C, r to o, ≤ 1.0)	ESG (E, r, ≤ 0.5)	BEG (B & E, r to o, ≤ 1.0)
	BG (B, r, 0.3-0.5)	CG (C, r or rod, ≤ 1.0)				
	CSG (C, r, 0.3-0.5)	ESG (E, r, ≤ 0.5)	ESG (E, r, ≤ 0.5)			
	CLG (C, r, 0.5-1.0)	ELG (E, r, ≤ 1.0)	ELG (E, r, 1.0-3.0)	EG (E, r to o, ≤ 1.0)	ELG (E, r to o, ≤ 1.5)	EG (E, r to o, ≤ 1.0)
	BEG (B & E, r, 0.3-0.5)					
	EGf (E, r, 0.5-1.0)					
	EGd (E, r, 0.5-1.0)					

¹BEG, basophilic and eosinophilic granulocyte; BFG, basophilic fine granular cell; BG, basophilic granulocyte; BP, basophilic plasma cell; CG, chromophobic granulocyte; CLG, chromophobic large granulocyte; CSG, chromophobic small granulocyte; EG, eosinophilic granulocyte; EGf, eosinophilic granulocyte with fine chromatin-meshed nucleus; EGd, eosinophilic granulocyte with dense nucleus; ELG, eosinophilic large granulocyte; ESG, eosinophilic small granulocyte; SBC, small basophilic cell.

²B, basophilic; C, chromophobic; E, eosinophilic; r, round; o, oval.

³bh, basophilic hyaloplasm; ag, agranular.

好酸性顆粒球という名称はI群を構成する8種類の血球の一つにも採用されているが¹⁾, 顆粒の形状は異なっていた (Table 1)。オカヤドカリ類とヤシガニの血球分類群は、同じ異尾類のヤマトホンヤドカリとゼンマイヤドカリ (ともにホンヤドカリ科; II群) およびタラバガニ上科タラバガニ科のタラバガニ (II群) とは異なっていた。

十脚目の系統樹⁴⁾と血球分類群を Fig. 2 に示す。この図から十脚目の系統と血球分類群の関連は読み取れないが、緒言でも言及した仮説④: [I群の祖先種から分岐した各動物群において、「血球の種類数の減少 (血球種の単純化)」が起こり、血球種の組成に多様性が生じた] は否定されない。

ヤドカリ上科とタラバガニ上科の系統樹⁵⁾および血球型を Fig. 3 に示した。ヤドカリ上科はツノガイヤドカリ科 Pylochelidae, オキヤドカリ科 Parapaguridae, ヤドカリ科 Diogenidae, オカヤドカリ科およびホンヤドカリ科から構成され、タラバガニ上科はイボトゲガニ科 Hapalogastridae とタラバガニ科から成る⁵⁾。ホンヤドカリ科はヤドカリ上科に分類されるが、本科はタラバガニ上科と単系統群を形

成する⁵⁾。ヤマトホンヤドカリとゼンマイヤドカリ (ともにホンヤドカリ科) およびタラバガニ科のタラバガニはいずれもII群に分類されていることから¹⁾, ホンヤドカリ科+タラバガニ上科ではII群が一般的かもしれない。なお, Fig. 3 のホンヤドカリ科の *Pagurus* にはヤマトホンヤドカリは含まれていないことから⁵⁾, *Pagurus* の血球分類群はII?とした。また, ゼンマイヤドカリが所属する属 (*Spiropagurus*) は系統解析に用いられていないので⁵⁾, Fig. 3 には反映していない。一方, 本研究におけるオカヤドカリ類とヤシガニはともにオカヤドカリ科に分類されるが (Fig. 3), 血球種の組成はそれぞれIV群とVI群に分類された (Fig. 3 の *Coenobita* には本研究で用いた4種類のオカヤドカリ類は含まれていないので, *Coenobita* の血球分類群はIV?とした)。これまでに同じ科に属するものの、属間で血球種の組成が異なる例は、コエビ下目テナガエビ科で知られており、本科の *Palaemon* と *Macrobrachium* はIV群であるが、*Conchodytes* では血球種は1種類であり、偽単血球性甲殻類に分類されている¹⁾。

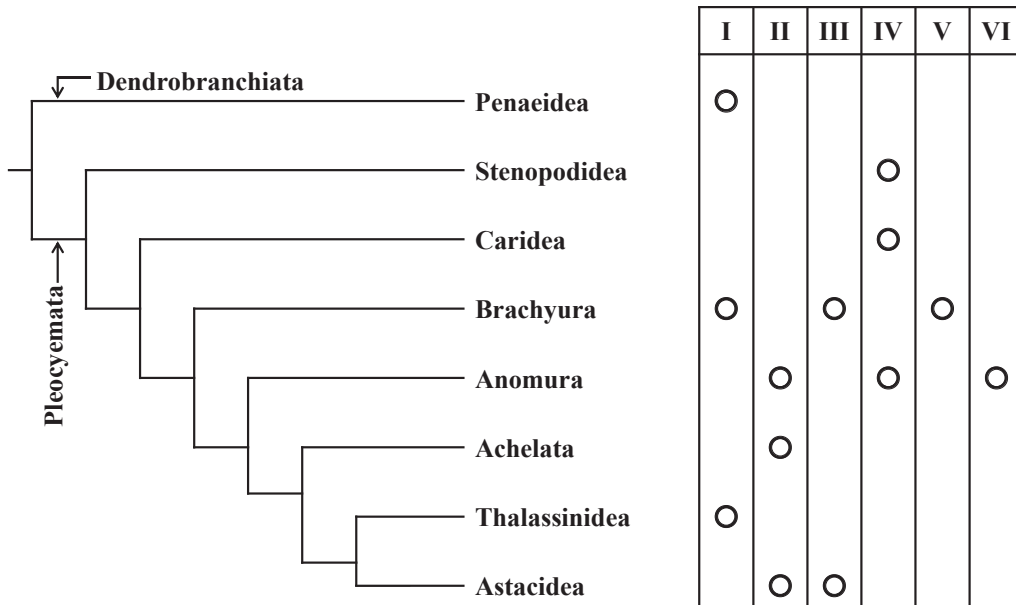


Fig. 2. Phylogenetic trees of decapods modified from Crandall et al.⁴⁾ (fig. 2) and hemocyte classification group (I-VI) of polyhemocytic decapods modified from Kondo et al.¹⁾ (fig. 10).

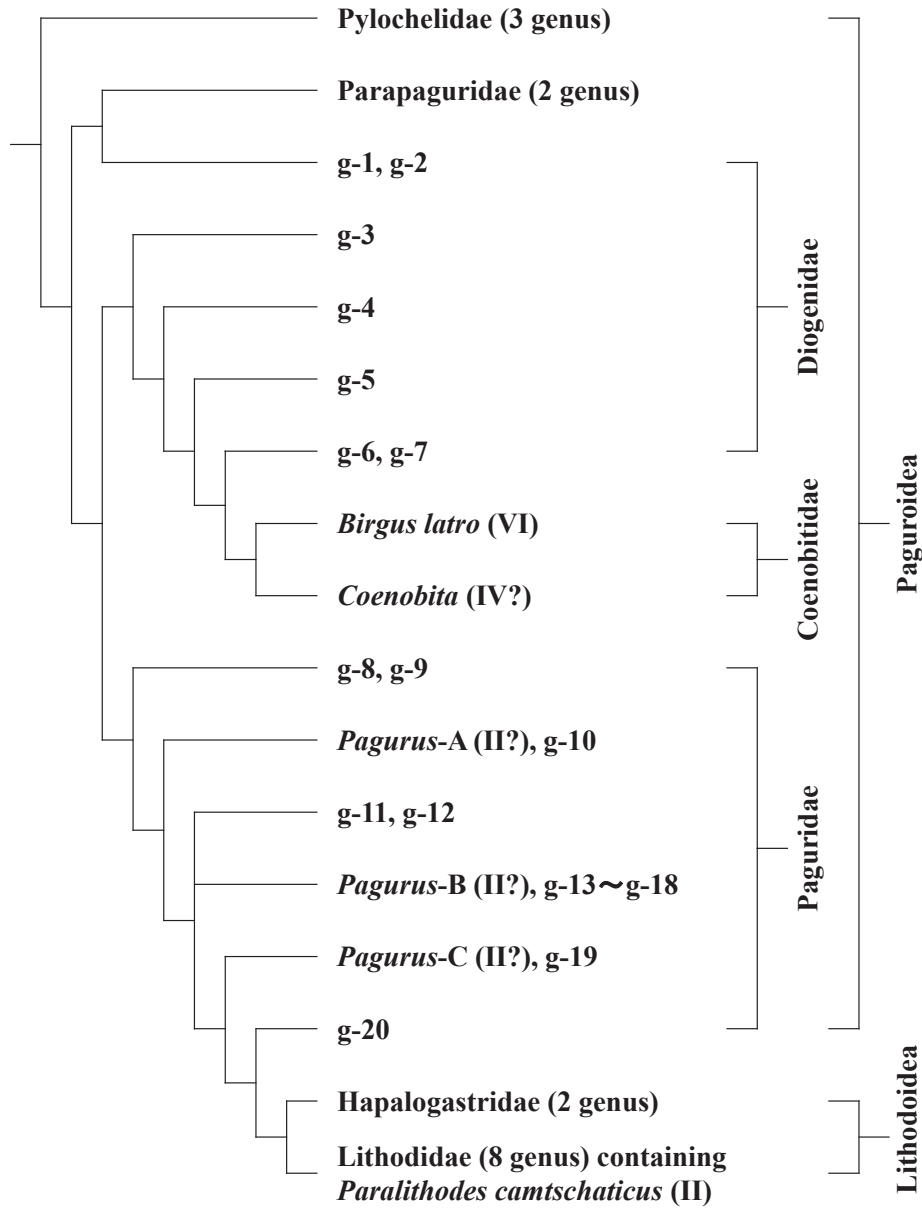


Fig. 3. Phylogenetic trees of anomuras (Paguroidea and Lithodoidea) modified and excerpted from Bracken-Grissom et al.⁵⁾ (fig. 1) and hemocyte classification group (II, IV, VI). g, genus; g-1~g-20, different genus each other; *Pagurus-A* ~ *Pagurus-C*, different species each other; II? & IV?, expected hemocyte classification group (because of the different species between Bracken-Grissom et al.⁵⁾ and our reports (present report and Kondo et al.¹⁾)).

文 献

- 1) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: 甲殻類における血球形態の多様性. 水大校研報, **63**, 33-48 (2014)
- 2) 近藤昌和, 安本信哉, 高橋幸則: 寄生性カイアシ類 *Acanthochondria eptatreti* (ポエキロストマ目ツブムシ科) の血球の形態学的特徴および響灘産ヌタウナギ *Eptaretus burgeri* における寄生状況. 水大校研報, **63**, 232-236 (2015)
- 3) 朝倉 彰: ヤドカリ類の分類学, 最近の話題—オカヤドカリ科. 海洋と生物, **26**, 83-89 (2004)
- 4) Crandall KA, Porter ML, Pérez-Losada M: Crabs, Shrimps, and Lobsters (Decapoda). *In*: Hedges SB, Kumar S (eds) The Timetree of Life. Oxford University Press, Oxford, 251-254 (2009)
- 5) Bracken-Grissom HD, Cannon ME, Cabezas P, Feldmann RM, Schweitzer CE, Ahyong ST, Felder DL, Lemaitre R, Crandall KA: A comprehensive and integrative reconstruction of evolutionary history for Anomura. *BMC Evol Biol*, **13**, 128 (pp. 28) (2013)