

## ドコサヘキサエン酸の *in vivo* における 免疫賦活作用について<sup>\*1</sup>

末綱邦男<sup>\*2</sup>・長友洪太<sup>\*3</sup>・前川敬世<sup>\*4</sup>・中島 滋<sup>\*5</sup>・芝 聡子<sup>\*5</sup>・陳 俊栄<sup>\*6</sup>・山内文男<sup>\*6</sup>

### Immunological Effects of a Docosahexaenoic Acid *in vivo*

Kunio Suetsuna,<sup>\*2</sup> Kōta Nagatomo,<sup>\*3</sup> Keisei Maekawa,<sup>\*4</sup> Sigeru Nakajima,<sup>\*5</sup> Satoko Shiba,<sup>\*5</sup>  
Chen Jing-rong,<sup>\*6</sup> and Fumio Yamauchi<sup>\*6</sup>

The tuna orbital oil rich in docosahexaenoic acid (DHA) was investigated on the alveolar macrophage (AM) phagocytosis and natural killer cell (NK) activity in rats. AM phagocytosis and NK activity of rats fed DHA oil diet were significantly higher than those of rats fed corn oil. Furthermore, peripheral lymphocytes from rabbits, orally administered 200 mg of DHA per kilogram of body weight, had significantly increased response to Con A, the T-cell mitogen. Antibody response to sheep red blood cells increased in spleen cells from C57BL/6 mice, orally administered 200 mg of DHA per kilogram of body weight. It was suggested that the tuna oil rich in *n*-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) contained strongly biologically active compounds, and the administration of DHA prepared from tuna orbital oil might be related to the immunostimulating effects.

### 1 緒 言

「老化」とは、細菌や異物の生体侵入に対する生物の適応能力が低下し、生体防御調節失調に陥り易くなった状態といえよう。とくに最近の高齢化社会に向かう中で、「老化」に伴う生体防御低下で起こる感染症や癌を克服することは人類にとって大きな課題といえる。<sup>1)</sup>

一方、これまでグリーンランドに住むエスキモー人についての疫学的研究から魚油あるいは魚食が高脂血症や動脈硬化症の予防に効果があることが報告されており、<sup>2-4)</sup> 日本

人の主要な蛋白質源および脂質源である魚肉、魚油が重要視され、食品成分の生理活性機能についての研究が進められている。

先に、著者らはイワシ筋肉由来、タチウオ筋肉由来およびカゼイン由来のペプチド食のラット細胞性免疫能におよぼす影響を、これら未消化の蛋白食との比較において検討した。<sup>5)</sup>

今回、ドコサヘキサエン酸（以下 DHA と略す）による生体防御効果を解明するため、非特異的機構における細胞性因子の中でマクロファージ、ナチュラルキラー（以下

水産大学校研究業績 第1463号, 1993年9月29日受付.

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No.1463. Received. Sep. 29, 1993.

\*1 平成4年度日本水産学会春季大会（東京）ならびに1993年度日本農芸化学会大会（仙台）にて発表.

\*2 水産大学校製造学科食品製造工学講座 (Laboratory of Food Engineering and Processing, Department of Food Science and Technology, Shimonoseki University of Fisheries).

\*3 練習船耕洋丸 (Training Ship Kōyō-Marū, Shimonoseki University of Fisheries).

\*4 徳島大学医学部 (Faculty of Medicine, Tokushima University).

\*5 聖カタリナ女子大学社会福祉学部 (Faculty of Social Welfare, St. Catherine Women's College).

\*6 東北大学農学部 (Faculty of Agriculture, Tohoku University).

NK と略す) 細胞について, 実験動物の免疫能に対する DHA の影響をみた。すなわち, DHA に富むマグロ油を用いた食餌でラット飼育した場合, ラット肺胞マクロファージ (以下 AM と略す) のオプソニン化羊赤血球 (以下 SRBC と略す) に対する貪食能, およびラット脾細胞の NK 細胞活性を検討した。

さらに, 抗原特異的機構における細胞性因子 (感作 T リンパ球) および体液性因子 (抗体) について, 実験動物の免疫能に対する DHA の影響をみた。すなわち, マグロ眼組織から抽出精製された市販の DHA をウサギに経口投与した場合, ウサギ末梢血リンパ球のコンカナバリン A (Con A) に対する幼若化反応, および C57BL/6 マウスに経口投与した場合の抗体産生能を検討した。

## 2 実験方法

### 2.1 マグロ油の調製

クロマグロ *Thumus thynnus orientalis* の眼組織オモジネイトを減圧冷却遠心分離 ( $10^{-3}$  Torr,  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000rpm) することにより無味無臭, 無色透明のマグロ油を得た。脂肪酸組成は, Prevot & Mordret 法のエステル化改良法<sup>6)</sup>でメチルエステル化した後, ガスクロマトグラフ (GLC; 島津 GC-14A 型) で測定した。検出器は FID を使用し, カラムとしては 10%DEGS(Shimalite W 60-80 mesh) を詰めたガラスカラム (3 m × 3 mm) を用いた。注入口ならびに検出器の温度は  $230^{\circ}\text{C}$ , カラム温度は  $210^{\circ}\text{C}$  で行った。キャリアーガスは窒素 (40 ml/min) を用いた。GLC で得られた各脂肪酸メチルエステルのピーク面積より多価不飽和脂肪酸 (以下 PUFA と略す) 含量を算出した。

### 2.2 ラットの免疫能におよぼすマグロ油食の影響

特異病原体に感染していない 4 週齢のフィッシャー系雄ラット (株静岡実験動物) を用い, Table 1 に示す 2 群 (1 群 12 匹) の食餌で 4 週間飼育した。脂質源として *n*-3 系 PUFA を主要脂質とするマグロ油, および *n*-6 系 PUFA を主要脂質とするコーン油を用い, 各脂質量が 10% になるように配合したカゼイン食 (蛋白質含量 20%) を飼育用飼料とした。<sup>7)</sup>

ネブタール麻酔下でラットの右腎動脈を切断して脱血後, 無菌的に免疫担当臓器である脾臓および胸腺を摘出し, それぞれの重量を測定し, 5% 牛胎児血清 (以下 FCS と略す) を含む RPMI 1640 培地 (日水製薬社製) 中で氷冷保存

Table 1. Composition of the experimental diets

Ingredients	Group	
	CORN OIL <sup>1)</sup>	DHA OIL <sup>2)</sup>
Casein	20	20
Tuna oil	0	10
Corn oil	10	0
Corn starch	55	55
Cellulose	10	10
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	1	1
Salt mixture <sup>3)</sup>	4	4

1) Corn oil containing diet.

2) DHA containing diet.

3) Prepared by Oriental Yeast Co. Ltd.

した。摘出した脾臓および胸腺を RPMI 1640 培地を含むシャーレ内で無菌的にステンレススチール製のスクリーンに通すことにより, 脾臓および胸腺細胞に各々単離し, 0.2% 酢酸で希釈後, 単離した細胞数を血球計算盤上で測定した。

同様に, ネブタール麻酔下で動物の両腎動脈を切断し, 脱血後開胸し, 唾液腺および結合組織を除去した後, 気管を露出させた。翼静針付注入セットのチューブを気管内に挿入した後, 生理食塩水 ( $37^{\circ}\text{C}$ ) 5 ml で肺洗浄を繰り返し, ラット 1 匹当たり肺洗浄液 50 ml を得た。洗浄液を遠心分離 (1800rpm, 10min) し, 沈殿物を培地で任意に希釈後, 血球計数盤上で AM 数を測定した。5% FCS を含む RPMI 1640 培地で AM の濃度が  $2 \sim 5 \times 10^5$  cells/ml になるよう調整した。

抗血清を用いてオプソニン化後,  $7.4\text{MBq } ^{51}\text{Cr}$  でラベルされた SRBC (デンカ生研社製) 0.2 ml と上記調整した AM 1 ml とを培養 ( $37^{\circ}\text{C}$ , 2h) することにより SRBC を AM に貪食させた。培養混液に蒸留水を加えて AM に貪食されていない SRBC を溶血破壊し, 遠心分離 (1800rpm, 10min) して上澄を除去した後, 沈殿物をリン酸緩衝液で 2 回洗浄した。洗浄後の沈殿物に 0.1N NaOH 0.1 ml を加え溶解し, その溶液の放射能をガンマーカウンター (ARC-361 型, Aloka 社製) で測定し, その値から AM に貪食された SRBC の放射能を測定した。

$3.7\text{MBq } ^{51}\text{Cr}$  でラベルした腫瘍細胞 (Moloney virus-induced T-cell Lymphoma; YAC-1) を標的細胞とし, エフェクター細胞と標的細胞の比 (E/T 比) が 100:1 又は 200:1 の割合で培養 (5%  $\text{CO}_2$ ,  $37^{\circ}\text{C}$ , 4h) した。上澄を採取しガンマーカウンター (ARC-361 型) で放射能を測定し, NK 細胞活性として Percent specific lysis<sup>8)</sup> (% lysis) を求めた。

### 2.3 ウサギの免疫能におよぼす DHA 投与の影響

成熟雄性日本白色種ウサギ (KBL: JW, SPF, 体重2.0kg, 株北山ラベス) を1週間予備飼育後, 幼若化反応の実験に供した。飼育を, 温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 湿度 $55 \pm 5.5\%$ に保った飼育室内の金属製個別ケージで行い, 飼料としてはRC4 (オリエンタル酵母社製) を1日120g 給餌し, 水は自家揚水を自由に摂取させた。1群3匹のウサギを用い, マグロ眼組織から調整されたDHA (和光純薬社製, 純度98%) を $200\text{mg}/\text{kg} \cdot \text{日}$ , 30日間連続経口投与した。対照群にはDHAの代わりに, ウサギ1匹当り生理食塩水5mlを投与した。体重測定を3日毎に行い, 投与開始および最終投与の翌日, 各ウサギ耳静脈からヘパリン処理した注射器で血液10mlを採取した。

ヘパリンを加えた末梢血より比重速心法で単核球を分離し, 分離した単核球をリン酸緩衝液で洗浄後, 血球数が $5 \times 10^5 \text{cells}/\text{ml}$ となるよう10%FCSを含むRPMI 1640培地で調整し, この細胞浮遊液0.5mlを24穴培養用プレートに分注した。次に10%FCSを含むRPMI 1640培地で調製したCon A ( $0.0625\text{mg}/\text{ml}$ ) 0.5mlを24穴培養用プレートに分注し培養 ( $5\% \text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$ , 72h) した。培養後のリンパ球浮遊液に細胞可溶化剤 (sodium laurylsulfate) と蛍光試薬 (ethidium bromide) を加え, EIA リーダー (バイオラッド社製) で蛍光強度 ( $\text{Ex} = 525\text{nm}$ ,  $\text{Em} = 600\text{nm}$ ) を測定した。Con Aを加えた系のリンパ球の総蛍光量を $I_2$ , Con Aを加

えない系のリンパ球の総蛍光量を $I_1$ とし, 刺激指数 (SI) を $\text{SI} = I_2/I_1$ で表した。

### 2.4 マウスの免疫能におよぼす DHA 投与の影響

雄性5週齢マウス (Slc; C57BL/6, 体重20.5g, 日本エスエルシー(株)) を1週間予備飼育した後, マウス脾細胞の抗体産生能の実験に供した。飼育条件は幼若化反応実験と同様に行い飼料としてMF (オリエンタル酵母社製) を給餌した。1群6匹のマウスを用い, マグロ眼組織から調整されたDHAを $200\text{mg}/\text{kg} \cdot \text{日}$ , 10日間連続経口投与した。DHA最終投与の5日後, マウス尾静脈にSRBC  $5 \times 10^8 \text{cells}/\text{ml}$ を0.2ml投与して免疫反応を行った。免疫5日後, ネプタール麻酔下で開胸, 脾臓を摘出した。摘出した脾臓をEMEM培地 (Eagle's minimal essential medium, 日水製薬社製) 中で穏やかに磨砕し, 単一細胞浮遊液を得た。この脾臓細胞をリン酸緩衝液で3回洗浄後, EMEM培地に浮遊させ $2.5 \times 10^6 \text{cells}/\text{ml}$ に調整した。上記脾臓細胞浮遊液と50%SRBC浮遊液およびモルモット補体 (デンカ生研社製) を8:1:1の割合で混合し, Cunninghamら<sup>9)</sup>の方法に準じて反応 ( $37^\circ\text{C}$ , 90min) させた後, 溶血斑のプラーク (plaque forming cell; PFC) を測定した。

### 2.5 統計学的処理

すべての測定値について平均および標準偏差を求め, t検定を行った。

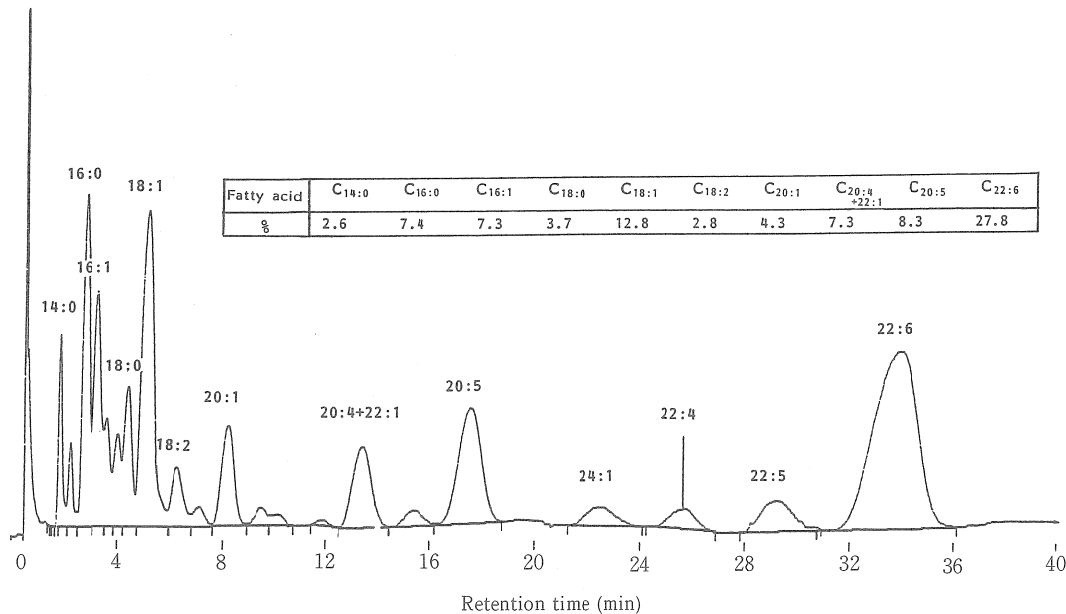


Fig. 1. Fatty acid composition of tuna orbital oil.

### 3 結 果

#### 3.1 マグロ油の脂肪酸組成

Fig. 1 にマグロ油の脂肪酸組成の結果を示した。マグロ油の脂肪酸組成は, C<sub>14:0</sub> 2.6%, C<sub>16:0</sub> 7.4%, C<sub>16:1</sub> 7.3%, C<sub>18:0</sub> 3.7%, C<sub>18:1</sub> 12.8%, C<sub>18:2</sub> (n-6系 PUFA) 2.8%, C<sub>20:1</sub> 4.3%, C<sub>20:4 + 22:1</sub> 7.3%, C<sub>20:5</sub> (n-3系 PUFA) 13.2%および C<sub>22:6</sub> (n-6系 PUFA) 27.8%であった。また、対照群として用いたコーン油の脂肪酸組成は, C<sub>16:0</sub> 13.1%, C<sub>18:0</sub> 2.1%, C<sub>18:1</sub> 24.4%, C<sub>18:2</sub> (n-6系 PUFA) 59.1%および C<sub>18:1</sub> (n-3系 PUFA) 1.3%であった。これらの結果、マグロ眼組織を減圧冷却遠心分離して得たマグロ油の脂肪酸の中で DHA 含量は27.8%であり比較的高い値を示した。

#### 3.2 ラットの免疫能におよぼすマグロ油食の影響

DHA に富むマグロ油を添加した食餌群 (以下 DHA OIL

食群と略す), および対照群としてコーン油を添加した食餌群 (以下 CORN OIL 食群と略す) で, ラットを3週間飼育した後の, 体重および免疫担当臓器である脾臓および胸腺の重量を Table 2 に示した。この結果, 両群とも順調な成長を示し臓器重量にも有意差は認められなかった。表中にはあわせて, 脾細胞0.1g 当りの脾細胞数, 胸腺0.1g 当りの胸腺細胞数およびラット体重100g 当りの AM 数を示した。この結果, 脾細胞数および胸腺細胞数は両群間で有意差は認められなかったが, AM 数は CORN OIL 食群に比べ DHA OIL 食群で高度に有意差 ( $p < 0.01$ ) を示した。

4 週間飼育後のラットのオプソニン化 SRBC に対する AM 貪食能を Table 3 に示した。この結果, AM 貪食能は CORN OIL 食群に比べ DHA OIL 食群で高度に有意差 ( $p < 0.01$ ) を示した。表中にはあわせてラット脾臓, 胸腺細胞の NK 細胞活性を示したが, この結果, NK 細胞活性はエフェクター細胞と標的細胞の比 (E/T) 100:1 または 200:1 いずれの割合においても, CORN OIL 食群に比べ DHA OIL 食群で有意差 ( $P < 0.05$ ) を示した。

**Table 2.** Body weight, spleen and thymus weights, and numbers of splenocytes, thymocytes and alveolar macrophages in rats fed corn oil or DHA containing diets

Group	Body weight (g)	Spleen (g)	Thymus (g)	Splenocytes ( $\times 10^7$ cells/0.1g of spleen)	Thymocytes ( $\times 10^8$ cells/0.1g of thymus)	Alveolar macrophages ( $\times 10^6$ cells/100g of B.W.)
CORN OIL <sup>1)</sup>	229.3 ± 6.1	0.50 ± 0.02	0.34 ± 0.02	5.44 ± 1.21	3.09 ± 0.62	1.16 ± 0.20
DHA OIL <sup>2)</sup>	223.0 ± 16.1	0.49 ± 0.02	0.33 ± 0.04	6.62 ± 1.78	2.93 ± 0.99	1.69 ± 0.28
t-value	1.27	1.22	0.77	1.90	0.47	5.34**

1) Corn oil containing diet.

2) DHA containing diet.

Data represent means ± SD (n=12).

Significantly different (\*\*p<0.01).

**Table 3.** Phagocytosis of alveolar macrophages and natural killer cells activity in rats fed corn oil or DHA containing diets

Group	Phagocytosis (cpm)	NK activity (% lysis)	
		E/T (100:1)	E/T (200:1)
CORN OIL <sup>1)</sup>	7170 ± 1600	13.50 ± 2.51	7.51 ± 1.95
DHA OIL <sup>2)</sup>	9090 ± 1350	15.91 ± 2.14	9.08 ± 1.55
t-value	3.18**	2.53*	2.18*

1) Corn oil containing diet.

2) DHA containing diet.

Data represent means ± SD (n=12).

Significantly different (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

#### 3.3 ウサギの免疫能におよぼす DHA 投与の影響

ウサギに DHA (200mg/kg) を経口投与した後の Con A 刺激による末梢血リンパ球の幼若化反応についての結果を Table 4 に示した。30日間投与後のウサギ体重については DHA 投与群と CONTROL 群との間に有意差は認められず, 両群とも順調な成長を示した (データを示していない)。幼若化反応は DHA 投与前の SI 値 6.0 ± 2.6 から投与後の SI 値 40.0 ± 3.0 と上昇し高度に有意差 ( $p < 0.001$ ) が認められた。CONTROL 群の場合投与前後の SI 値に有意差は認められなかった。

Table 4. Con A - blastogenesis (cpm) of circulating lymphocytes in rabbits administered DHA

Group	Pre-administration			Post-administration <sup>1)</sup>		
	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	S.I. <sup>2)</sup>	I <sub>2</sub>	I <sub>1</sub>	S.I. <sup>2)</sup>
CONTROL	8834.7 ± 977.7	1099.3 ± 166.1	8.1 ± 0.4	2206.7 ± 1353.2	415.3 ± 158.8	5.0 ± 1.7
DHA	4108.0 ± 1504.1	873.7 ± 634.2	6.0 ± 2.6	34332.0 ± 12674.3	861.3 ± 348.2	40.0 ± 3.0
t-value			1.38			17.58***

1) After administration of DHA for 30 days.

2) Stimulation index (I<sub>2</sub>/I<sub>1</sub>); I<sub>2</sub>, Counts of culture (1 ml) with Con A, I<sub>1</sub>, Counts of culture (1 ml) without Con A.

Data represent means ± SD (n = 3).

Significantly different (\*\*\*) p < 0.001.

Table 5. Plaque forming cells (PFC) in spleen cells of mice administrated DHA

Group	PFC/10 <sup>6</sup> spleen cells
CONTROL	493.3 ± 170.2
DHA	1050.0 ± 298.2
t-value	2.81*

Data represent means ± SD (n = 6).

Significantly different (\*) p < 0.05.

### 3.4 マウスの免疫能におよぼすDHA投与の影響

マウス (C57BL/6) に DHA (200mg/kg) を投与した後のマウス脾細胞の抗体産生能を Table 5 に示した。10日間投与後の体重および脾重量については、DHA 投与群と CONTROL 群との間に有意差は認められず、両群とも順調な成長を示した (データを示していない)。

DHA 投与群の抗体産生細胞数は 1050.0 ± 298.2 であり、CONTROL 群の抗体産生細胞数 493.3 ± 170.2 に比べ有意 (p < 0.05) に上昇した。

## 4 考 察

栄養と免疫については、Cooper ら<sup>13)</sup> が低栄養状態の細菌感染抵抗性について、また、坂本ら<sup>11)</sup> が栄養状態と補体系との関連について、さらに、岸野ら<sup>12,13)</sup> が栄養とマクロファージとの関連について研究している。しかし、細胞性免疫能については、栄養状態やマウス、ラットの週齢、その状態での飼育期間、測定する指標さらには測定法等の相違によって異なった結果が得られるものと考えられる。既

報<sup>5)</sup> においても、イワシ筋肉由来のペプチド食群ならびにカゼイン由来のペプチド食群において、それら蛋白質食群に比べて成長の遅延がみられ、蛋白質-エネルギー栄養失調症 (protein energy malnutrition)<sup>14)</sup> の様相を呈した。今回のラットの実験では、DHA 油食群およびコーン油食群ともに順調な体重増加を確かめ、malnutrition の現象は観察されなかった。

最近、低蛋白食餌のマウス免疫能に及ぼす影響として腹腔マクロファージの貪食能が低下するとの報告<sup>15)</sup> がみられた。また、低栄養状態ではコルチコステロイドの分泌が増加するといわれており、<sup>16)</sup> さらに、このステロイドは NK 細胞活性を低下させるという<sup>17)</sup> 報告がみられた。今回の細胞性免疫能に関する実験で、栄養状態には問題が無いことから、脂質源としてのマグロ油 (n-3 系 PUFA) とコーン油 (n-6 系 PUFA) の違いによりラット AM 貪食能および YAC-1 細胞に対する NK 活性に有意差が生じたと思われる。このように、DHA を豊富に含むマグロ油をラットに与えることにより、AM 貪食能や NK 細胞活性が高まる効果が認められたことから、ヒトの場合にも、脂質源としてマグロ油 (n-3 系 PUFA) を用いれば、細胞性免疫機能を向上させる可能性が高い。

一方、Moorow ら<sup>18)</sup> は、マサバから抽出された脂肪の投与により自己免疫疾患のマウスの生存率が高まったことを報告した。このことは魚油由来のエイコサペンタエン酸、DHA、リノレン酸などの PUFA 投与によって活性化ヘルパー T 細胞の機能の低下、またはサプレッサー T 細胞の機能的な上昇による自己抗体産生能の調節への影響を示唆した。今回、DHA の単独経口投与によりウサギ末梢血リンパ球の Con A に対する幼若化能が高まり、また、マウス脾細胞の抗体産生能が向上した。しかしながら、今回の実験で検出される抗体産生細胞は IgM クラスの抗体を産生する細胞な

ので、今後、各抗体サブクラスに対する抗血清を用いる間接法、すなわち各サブクラス別の抗体産生細胞の検出についての検討が必要であろう。

今回の動物を用いた免疫賦活作用の実験から、*n*-3系 PUFA 脂質投与では食細胞やNK細胞を中心とする非特異的生体防御機構としての細胞性免疫能は上昇するものと考えられた。また、T細胞の幼若化反応や、T細胞およびB細胞の協調による抗体産生能の上昇にみられる特異的免疫機構に及ぼす影響がみられたことから、DHAの免疫賦活作用が考えられた。

## 5 要 約

宿主細胞性免疫への影響を食餌脂質の成分の面から検討した。ドコサヘキサエン酸 (DHA) に富むマグロ油を添加した食餌でラットを飼育した場合、ラット肺胞マクロファージのオプソニン化羊赤血球に対する貪食能ならびに脾細胞のナチュラルキラー細胞活性は、コーン油を添加した対照群のそれに比べ有意に高い値を示した。さらに、DHAのウサギやマウスへの単独経口投与により、ウサギでの幼若化能やマウスでの抗体産生能が高まったことから、*n*-3系多価不飽和脂肪酸としてのDHAは免疫賦活作用を有すると結論できた。

## 文 献

- 1) 村上浩紀・大村浩久：化学と生物, **25**, 268-274 (1987).
- 2) J. Dyerberg, H. O. Bang, and N. Hjprne: *Am. J. Clin. Nutr.*, **28**, 958-966 (1975).
- 3) J. Dyerberg and H. O. Bang: *Lancet*, **1**, 433-435 (1979).
- 4) H. O. Bang and J. Dyerberg: *Adv. Nutr. Res.*, **3**, 1-6 (1980).
- 5) 末綱邦男・前川敬世・陳俊栄・山内文男：水産大研究報告, **41**, 33-41 (1992).
- 6) A. F. Prevot and F. X. Mordret: *Rev. Fse. Gras.*, **23**, 409-423 (1976).
- 7) 科学技術庁資源調査会：食品成分表, 9版, 第一出版, 東京, 1990, p256, 292.
- 8) 月刊 Medical Technology：細胞性免疫機能検査のすべて, 1版, 医歯薬出版, 東京, 1988, p.155.
- 9) A. J. Cunningham and A. Szenberg: *J. Immunology*, **14**, 599-604 (1968).
- 10) W. C. Cooper, R. A. Cood, and T. Mariani: *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 647-664 (1974).
- 11) M. Sakamoto: *Jpn. J. Exp. Med.*, **45**, 183-189 (1975).
- 12) S. Moriguchi, S. Sone, and Y. Kishino: *J. Nutr.*, **113**, 40-46 (1983).
- 13) S. Moriguchi, M. Toba, and Y. Kishino: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **35**, 49-59 (1989).
- 14) 岸野泰雄：栄食誌, **44**, 79-88 (1991).
- 15) 柳井稔・大森俊弘・川西悟生・光山正雄：栄食誌, **45**, 249-255 (1992).
- 16) H. McFarlane: *Clin. Exp. Immunol.*, **13**, 153-164 (1973).
- 17) W. E. Seaman and T. D. Gindhart: *Arthritis Rheum.*, **22**, 1234-1240 (1979).
- 18) W. J. W. Morrow, Y. Ohashi, J. Hall, J. Pribnow, S. Hirose, T. Shirai, and J. A. Levy: *J. Immunol.*, **136**, 3857-3863 (1985).