喫煙と血清中Leukotriene B₄ の関係

柳 澤 裕 子, 長 井 辰 男

北里大学衛生学部分子識別学研究室

The Relationship between Serum Leukotriene B₄ and Smoking

Yuko YANAGISAWA and Tatsuo NAGAI

Department of Molecular Identification, Kitasato University School of Hygienic Sciences, Kanagawa

Abstract Leukotriene B₄ (LTB₄), an arachidonic acid metabolite released by neutrophils, is involved in the regulation of the host immune response to antigenic stimulation. Furthermore, LTB₄ affects the chemokinesis, aggregation, and enzyme release of neutrophils and stimulates activity of cytotoxic T cells, natural killer cells and suppressor T cells.

On the other hand, smoking typically results in inflammatory stimulation of the lung, and long-term smoking can cause chronic stimulation.

In this paper, we report the measurement of LTB₄, IgG, IgA, IgM, IgD and IgE in sera of cigarette smokers who did not have an allergic reaction (group 1), non-smokers who also had no history of allergy (group 2) and non-smokers who had delicate allergic conditions (group 3). The mean LTB₄ concentration in serum of group 1 was nearly 3.3-fold greater than in group 2 and 2-fold greater than in group 3, being 430 ± 55 (Mean $\pm$ S.D.), 130 ± 22 and 220 ± 14 pg/ml, respectively. Concentrations of IgG, IgA, IgM, IgD and IgE of all volunteers were in the normal healthy range. The mean concentration of IgE in the serum of group 1 did not change significantly within one day. It was 35 ± 4 IU/ml in the morning, 34 ± 4 IU/ml in the afternoon, 31 ± 2 IU/ml in the evening and 32 ± 4 IU/ml the next morning. But in group 3 the IgE concentration changed significantly within one day, being < 25 IU/ml in the morning, 97 ± 7 IU/ml in the afternoon, 97 ± 7 IU/ml in the evening and 25 ± 14 IU/ml the next morning. The IgE concentration in the serum of group 2 showed the same tendency as group 3. For all groups the LTB₄ concentration in the serum changed during the day, that is LTB₄ in the afternoon was higher than LTB₄ in the morning. But the LTB₄ in the evening was almost the same as in the morning, and remained so until the next morning.

We also measured nicotine and its metabolites in each volunteer's urine. We could detect nicotine and its metabolite, cotinine in urine of group 1, and a slight quantity of nicotine in urine of group 2 and group 3.

Thus, it appears that the production and release of LTB₄ are promoted by antigens which are inhaled through smoking and that LTB₄ can be increased in serum by passive smoking as can IgE.

Key words : Smoking (喫煙), Leukotriene B₄ (ロイコトリエンB₄), IgE, Allergy (アレルギー), Nicotine (ニコチン)

はじめに

喫煙の有害性については、1980年にWHOが第32回世界保健デーに掲げたスローガン「喫煙か健康か、選ぶのはあなた」(“Smoking or Health, the Choice is Yours.”)で示され、世界中が熟知しているところである。しかし、日本では公共の場所における喫煙に対し制限を加える法令^{1,2)}および通達^{3,4)}が出されている一方で、たばこの宣伝が依然行われているなど、喫煙に対する態度が一環しておらず、さほど関心が高まったとは思われない。アメリカにおいては、喫煙者は公園など屋外で喫煙しているのが現状であり、このほど「21世紀初頭までに、タバコのない米国にする」という目標を掲げ、大掛かりな禁煙運動を各地方自治体の衛生局と国立がん研究所が中心になって実施することを発表した⁵⁾。また、アメリカ^{6,7)}、カナダ⁸⁾、オーストラリア⁹⁾などは、喫煙防止に関するプログラムを小学生の教育過程に導入し、その効果が得られたことを報告している。このように諸外国における禁煙に対する関心は、国全体が丸となってその対策を練るほど高まっている点が日本と異なる状況である。

喫煙が及ぼす人体への影響については、既に肺がん、心疾患^{10,11)}および脳卒中^{12,13)}などの疾患との関連性が報告されている。また、それらを裏付ける赤血球増多症¹⁴⁾および血管内コレステロールの沈着を防止するHDLコレステロールの低下¹⁵⁾などについて多くの研究者によって報告されている。しかし、喫煙による免疫機構への影響に関する報告は少ない。

今回著者らは、既述の背景をもとに我々を取り巻く環境因子の代表として喫煙に焦点をあて、その免疫系へ及ぼす影響に関する研究を企図した。その第一報として喫煙が免疫応答の役割を担っている物質の1つであるLeukotriene B₄ (LTB₄)へ及ぼす影響について検討したので報告する。

被検対象および方法

1. 被検対象

アレルギー症状を示さず、1日20本ないし60本の喫煙を5年以上継続した志願者で健康診断上何ら異常を認められなかった者を喫煙者群とした。その喫煙者群をグループ1 (n=10)、アレルギーの既往歴を持たない健康志願者の非喫煙者群をグループ2 (n=14)およびアレルギー性皮膚炎の患者で非喫煙者をアレルギーを持つ非喫煙者群、グループ3 (n=5)とした。

これらのグループはすべて男性で、その年齢は各々

グループ1が32.4±9.6 (Mean±S.D.)歳、グループ2が23.5±2.8歳およびグループ3が28.0±2.2歳であった。喫煙者は実験を開始した6:00から終了の23:00まで平常通り各人の意志で自由に喫煙した。これらの被検者は実験開始から終了までの間、同一の場所で過ごし、同一内容の常食を摂取した。ただし、水分の摂取は各自の意志に任せた。

2. 被検試料

LTB₄および免疫グロブリン濃度の日内変動の推移を知るために、各グループより朝、昼、夜および翌朝採取した血清および尿を被検試料として用いた。採取した被検試料は、実験に用いるまで-20℃で保存した。

3. LTB₄の測定

1) LTB₄の抽出: 被検試料を2 molの塩酸を用いてpH3.5~4.0に調整した。これをPowellの方法¹⁶⁾に準拠し、Sep-Pak C₁₈ カートリッジカラム (Water Associates, Milford, MA)に通すことにより、LTB₄画分を抽出した。

その手技の概略を以下に示した。

- ① Sep-Pak C₁₈ カートリッジカラムにmethanol 2ml, イオン交換水 5 mlの順に流し、樹脂を活性化させた。
 - ② 既述の塩酸処理試料 1 mlを流し、LTB₄をカラムに吸着させた後、イオン交換水、10% ethanol, n-hexaneの順に各 5 mlずつカラムに通し不純物を除去した。
 - ③ カートリッジに吸着したLTB₄をmethyl formate 5mlで溶出した。
 - ④ 溶出したLTB₄画分をスチームで加温し、溶媒を蒸発させた。これを0.5mlの緩衝液(0.1%ゼラチン添加 50mmol Tris-HCl, pH8.6)に溶解し、-20℃で保存した。
- 2) ラジオイムノアッセイ: LTB₄の定量は、抗LTB₄抗体に対する³HをラベルしたLTB₄とラベルしていないLTB₄の競合結合反応を応用したLeukotriene B₄ [³H] assay system (Amersham International plc: Amersham UK)を用いて行った。当該抗体は特異性が高く、他のアラキドン酸代謝産物との交差反応が低いことを確認して用いた(Table 1)。

標準試料および既述の方法で調製した被検試料を液体シンチレーションカウンター(Beckman, LS5000 TD型)で³Hを4分間計測し、cpmで表示した。但し、200pg/0.2mlを超えた濃度のものは、希釈して測定した。

得られた結果は、以下に示す計算式で%B/B₀値に換算した。

$$\%B/B_0 = \frac{\text{Standard or Sample cpm} - \text{NSB cpm}}{\text{Bo cpm} - \text{NSB cpm}} \times 100$$

Table 1 Specificity of antiserum

Compound	%Cross-reactivity (50%B/Bo displacement)
LTB ₄	100
20-OH-LTB ₄	3.90
LTC ₄	<0.03
LTD ₄	<0.03
LTE ₄	<0.03
5 (S)-HETE	<0.04
12 (S)-HETE	<0.07
15 (S)-HETE	<0.04
5 (R)-HETE	<0.04
12 (R)-HETE	0.40
15 (R)-HETE	<0.04
HHT	<0.05
TXB ₂	<0.04
PGF _{2α}	<0.05
6-Keto-PGF _{1α}	<0.04
Arachidonic acid	<0.04

Fig. 1 Calibration curve for Leukotriene B₄

但し, Bo=Zero Standard Tube

NSB=Non-Specific Binding Tube

この値を標準曲線に照合して被検試料中のLTB₄濃度を得た。

3) 標準曲線の作成: 定量に用いた標準曲線 (Fig. 1) は, 1.6~200pg/0.2mlのLTB₄標準溶液を調製し, 既述の方法で測定した。この値を縦軸は%B/Bo, 横軸はLTB₄濃度 (pg/0.2ml)の片対数グラフにプロットし, 標準曲線を得た。

4. 免疫グロブリンの測定

IgG, IgAおよびIgMはネフェロメトリー法¹⁷⁾, IgDはSRID法¹⁸⁾, IgEはEIA法¹⁹⁾でそれぞれ測定した。

5. ニコチンおよびその代謝産物の測定

被検試料からのニコチンおよびその代謝産物の抽出は, 長井らの方法²⁰⁾に準拠して行った。尿中のニコチンおよびその代謝産物のニコチンの抽出方法に関するシェーマをFig. 2に示した。得られた抽出液をGas Chromatography (GC; GC-14A型, Shimadzu Co. Ltd)およびGas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS; GC-MS-QP-1000型, Shimadzu Co. Ltd)を用いて同定した。その分析条件をTable 2に示した。

結 果

1. LTB₄および諸種免疫グロブリンの検出限界

LTB₄濃度が明らかな健康人由来の無処置血清に一定

Fig. 2 The method used for extraction of nicotine and its metabolites from urine

Table 2 Assay of nicotine and its metabolites

After extraction, we analyzed samples with gas-chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) under these conditions.

GC: Gas-chromatography:

GC-14A (Shimadzu Co. Ltd.)

Column: DB-1 (Megabore, J&W Co. Ltd.)

30m × 0.550mm i.d.

Carrier gas: Helium, 8ml/min.

Column temp.: 80°C → 300°C

Injection temp.: 250°C

Separation temp.: 250°C

GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry

(GC-MS): GC-MS-QP-1000

(Shimadzu Co. Ltd.)

Column: DB-1 (Megabore, J&W Co. Ltd.)

Carrier gas: Helium, 5ml/min.

Ionization energy: 70eV

Column temp.: 120°C

Injection temp.: 210°C

Separation temp.: 250°C

量のLTB₄を加え既述の方法で測定した。その後、無処理血清に当初から含有していたLTB₄を差し引いて回収率を求めた。その値は90.5%であった。また、LTB₄, IgG, IgA, IgM, IgDおよびIgEの検出限界は、それぞれ8 pg/ml, 100mg/dl, 15mg/dl, 10mg/dl, 1.0mg/dlおよび25IU/mlであった。

2. LTB₄および免疫グロブリンの血清中濃度

グループ1, グループ2およびグループ3の血清中におけるLTB₄および諸種免疫グロブリン濃度は朝, 昼, 夜および翌朝に採血した被検試料を用いて定量した。各グループにおけるLTB₄およびIgEの日内変動をFig. 3に示した。

LTB₄の濃度はいずれのグループにおいても午後に最高値を示した。その値は, グループ1が430 ± 55pg/ml (Mean ± S.D.), グループ2が130 ± 22pg/mlおよびグループ3が220 ± 14pg/mlであった。しかし夜はそれぞれ225 ± 25pg/ml, 46 ± 9 pg/mlおよび125 ± 9 pg/mlで,

Fig. 3 The relationship between Leukotriene B₄ and immunoglobulin E (IgE) in human serum over one day

朝のそれぞれの値 240 ± 47 pg/ml, 36 ± 13 pg/ml および 140 ± 12 pg/ml と同程度の濃度となり翌朝までその濃度を保った。その濃度は、すべての時間帯においてグループ1, グループ3 およびグループ2の順に有意(検査したすべての時間帯において各 $p < 0.001$)に高値を示した。

各グループにおける血清中諸種免疫グロブリン濃度を測定した結果をTable 3に示した。すべてのグループにおいて血清中免疫グロブリン濃度は、正常値範囲内であった。また、血清中IgG, IgM, IgAおよびIgD濃度は、すべてのグループにおいてほとんど日内変動を示さなかった。

グループ1の血清中IgE濃度の日内変動はほとんど認められなかったが、その他のグループにおいては日内変動を示した。グループ2の血清中IgE濃度はタバコの煙に暴露する前は14名中2名検出限界以下の者が含まれていたが、グループ3では被検者のすべてが検出限界以下であった。グループ2および3は、昼には最高値を示した。その値は、グループ2が 88 ± 8 IU/ml (Mean $\pm$ S.D.) およびグループ3が 99 ± 7 IU/mlであった。グループ2は、夜には実験を開始した朝と同程度の濃度になり、その状態が翌朝まで続いた。グループ3は昼の高い値が夜まで持続した。しかし、翌朝は他のグループと同程度の濃度になった。

従って、IgEの日内変動を比較した場合、グループ1ではほとんど認められず、グループ2ではタバコの煙に暴露した数時間後に上昇するが、グループ3と比較すると、IgE濃度が減少するまでの時間が著しく早いという特徴が認められた。一方、グループ3は他のグループと比較した場合、一度上昇した値が回復するまでにかなりの時間が要することが示唆された。

3. 尿中LTB₄濃度

喫煙によってLTB₄が尿中に排泄されるか否かを検討した。いずれのグループから採取した被検試料もLTB₄は検出限界(8 pg/ml)以下であった。従って、もし尿中にLTB₄が排泄されたとしても極めて微量である。

4. 尿中のニコチンおよびその代謝産物の同定

喫煙によって生体内に吸収されたニコチンおよびその代謝産物の尿中への排泄の有無を検査した。

GC上のピークがニコチンおよびコチニンであるということをGC/MSで同定した。グループ1の代表例をFig. 4および5に示した。

グループ1はすべての被検試料からニコチンが検出された。また、LTB₄の血清中濃度が顕著に上昇した午後の被検試料からニコチンの代謝産物であるコチニンがニコチンの約1/5量検出された。

グループ2および3は、夜のみニコチンが検出されたが、その量は、GCのチャート紙上のピークの大きさを比較した結果、グループ1より少なかった。

考 察

LTB₄は、5-lipoxygenase回路を経て生成されるアラキドン酸代謝産物の一種で(Fig. 6), 好中球やマクロファージから遊離²¹⁾, 抗原刺激に対する宿主の免疫応答制御の役割を担っている物質である。例えば、アレルギーで代表されるように、細胞に結合したIgEが抗原などにより2分子以上架橋された結果、これによって刺激されたメチルトランスフェラーゼが活性化することによって生じたアラキドン酸代謝産物の1つであることが知られている。また、LTB₄は炎症性刺激に対する免疫応答の際、肺胞内での単球とマクロファージの走化性に

Table 3 Concentrations of various immunoglobulins in human serum ($\bar{X} \pm S.D.$)

		IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Group 1 (n=10)	Morning	1610 $\pm$ 79 mg/dl	336 $\pm$ 55 mg/dl	212 $\pm$ 9 mg/dl	1.9 $\pm$ 1 mg/dl	35 $\pm$ 4 IU/ml
	Afternoon	1570 $\pm$ 126	295 $\pm$ 35	124 $\pm$ 43	1.6 $\pm$ 1	34 $\pm$ 4
	Evening	1540 $\pm$ 208	286 $\pm$ 28	112 $\pm$ 22	<1.0	31 $\pm$ 2
	Next Morning	1410 $\pm$ 204	258 $\pm$ 26	110 $\pm$ 23	<1.0	32 $\pm$ 4
Group 2 (n=14)	Morning	1440 $\pm$ 204	264 $\pm$ 62	197 $\pm$ 40	<1.0	28 $\pm$ 12
	Afternoon	1420 $\pm$ 145	243 $\pm$ 35	156 $\pm$ 38	1.4 $\pm$ 1	88 $\pm$ 8
	Evening	1370 $\pm$ 219	232 $\pm$ 25	144 $\pm$ 29	1.4 $\pm$ 1	35 $\pm$ 7
	Next Morning	1290 $\pm$ 239	211 $\pm$ 36	119 $\pm$ 14	<1.0	25 $\pm$ 11
Group 3 (n=5)	Morning	1360 $\pm$ 114	228 $\pm$ 40	189 $\pm$ 21	1.4 $\pm$ 1	<25.0
	Afternoon	1350 $\pm$ 181	217 $\pm$ 38	172 $\pm$ 25	1.2 $\pm$ 1	97 $\pm$ 7
	Evening	1280 $\pm$ 143	205 $\pm$ 26	160 $\pm$ 20	<1.0	97 $\pm$ 7
	Next Morning	1240 $\pm$ 150	188 $\pm$ 23	150 $\pm$ 23	<1.0	25 $\pm$ 14

Fig. 4 Analysis of the typical smoker's urine by gas chromatography

に対して正の影響を与えている。喫煙は肺に対する代表的な炎症性刺激物質であり、長期間にわたる喫煙は慢性刺激となることが知られている。

著者らは今回、アレルギーを持たない喫煙者群、アレルギーを持たない非喫煙者群およびアレルギーを持つ非喫煙者群における血清中のLTB₄および免疫グロブリンの定量を行った。既述の3群が直接喫煙および間接喫煙の両方あるいは一方による影響を立証するため、喫煙に由来する尿中ニコチンおよびその代謝産物の検出および同定をGCおよびGC/MSを用いて行った。

グループ2および3の非喫煙者群に着目し、血清中LTB₄およびIgE濃度を測定したところ、いずれのグループも昼に最高値を示した。いずれの実験群も飲料水の摂取を自由としたほか、食事内容および就寝時間もほぼ同様で

ある。したがって、非喫煙者群の尿中ニコチンは、起床後喫煙者群の喫煙本数の増加によって発生した副流煙の吸入の結果生じたものであることが、各実験群の尿中からGCおよびGC/MSを用いたニコチンの検出および同定の結果、明らかになった。従って、血清中のLTB₄濃度が日中著しく上昇した原因は、間接喫煙に伴って生体内にIgEの誘導が惹起され、5-lipoxygenase回路を経て産生されたものと考えられる。しかし夜にはいずれの実験においても血清中LTB₄濃度が低下しているにもかかわらず非喫煙者アレルギー群の血清中IgE濃度は著しく高値を示した。このことから非喫煙者アレルギー群において、IgEの架橋はメチルトランスフェラーゼの活性化の引き金になるが、LTB₄の放出の持続性とは比較的關係の少ないことが示唆された。また、結果2に示したように、

Fig. 5 Analysis of the typical smoker's urine by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Fig. 6 Formation of the LTB₄ product from arachidonic acid

アレルギーの有無によってすべての時間帯で血清中LTB₄濃度に有意差を生じた(p<0.001)。これは、グループ3がアレルギー体質を示すことで抗原刺激に対する感受性が高かったことによるものと考えられる。

グループ3は他のグループと比較した場合、一度上昇したIgE値がもとの状態に回復するのにかなりの時間を要することが示唆された。従って、グループ3の間接喫煙による影響がグループ1および2より免疫学的に著しく強い影響を受けやすいものと考えられる。

一方、直接喫煙による血清中LTB₄およびIgE濃度の影響を考えると、検査したすべての時間帯において尿中からニコチンが検出され、一部にニコチンの代謝産物であるコチニンが検出された。GC上のピークの大きさを比較すると、喫煙本数の多い者のそれが顕著であった。従って、喫煙者は喫煙の際、主流煙および副流煙を吸入することにより、抗原をより多く取り込んでいる可能性を示唆するものである。これらの抗原の吸入により、I型アレルギー様作用が生体内で活性化されたために、喫

煙者群の血清中LTB₄濃度が検査したすべての時間帯において有意に高値を示したものと考えられる。

また、喫煙者群の血清中IgE濃度の日内変動が他群に比べて著しく少なかった。喫煙を繰り返しているにもかかわらず、血清中IgE濃度が上昇しないことから考えると、グループ2および3と異なり、タバコ由来の抗原に対する軽微な免疫寛容が起こっていることも考えられる。

近年国際的な喫煙に関する関心の焦点は、直接喫煙から間接喫煙に移っている。従って、当該研究の各グループの被検者数(n)は少ないが、著者らのデータは貴重な知見を提供できるものと思われる。

総 括

アレルギーを持たない喫煙者群(n=10)、アレルギーを持たない非喫煙者群(n=14)およびアレルギーを持つ非喫煙者群(n=5)について、血清中LTB₄濃度、免疫グロブリン濃度および尿中ニコチンおよびその代謝産物濃度の測定を行い、喫煙とそれらの関係を検討した。

喫煙者群の血清中LTB₄濃度は、1日のうち、午後に最高値を示し、他群より高値を示した。また、その濃度に日内変動が見られ、すべての群が同じ傾向を示した。

一方、血清中IgE濃度は非喫煙者群においては2群とも同じ傾向の日内変動を示したが、喫煙者群はほとんど日内変動を示さなかった。その濃度は当日の朝および翌朝は喫煙者群が非喫煙者群より高値を示したが、昼および夜は非喫煙者群が喫煙者群より高値を示した。

また、喫煙者群の尿中にニコチンおよびその代謝産物であるコチニンが、非喫煙者群の尿中に少量のニコチンが検出された。

以上の結果から、喫煙により吸入された抗原が免疫応答制御の一端を担っているLTB₄の産生および放出が促進していること、およびその副流煙の吸入によっても血清中IgE濃度が上昇し、それに伴ってLTB₄濃度が上昇することが示唆された。

本論文の要旨の一部は、The 8th International Congress of Immunology (Budapest in Hungary, 23-28 August 1992)において発表した²²⁾。

文 献

- 1) 鉄道営業法(明治33年法65号), これに基づく鉄道営業規則
- 2) 消防法(昭和23年法186号), これに基づく各地自治体の消防条例
- 3) 厚生省: 喫煙場所の制限について, 病第58号昭和53年4月28日. 医務局国立病院課長, 医務局国立療養所課長から各国立病院長, 各国立療養所長, 国立がんセンター総長, 国立循環器病センター総長あて通知
- 4) 厚生省: 医療機関におけるたばこの煙に関する配慮について, 医発第355号昭和59年4月5日. 医務局長より各都道府県知事あて通知
- 5) 朝日新聞: 「禁煙率15%以下に一米7年かけ禁煙運動一」, 1991年10月15日
- 6) Gordon, L.V. and Haynes, D.K.: Smoking-related attitude and behaviors of parents fourth grade students, *J. School Health*, **51**, 408-412 (1981).
- 7) Loe, R.M., Crouse, E., Cohen, J.D. and Fisher, E.B.: Patterns of change in adolescent smoking behavior and results of one year follow up of a smoking prevention program, *J. School Health*, **52**, 348-353 (1982).
- 8) Denson, R. and Stretch, S.: Prevention of smoking in elementary schools, *Can. J. Public Health*, **72**, 259-263 (1981).
- 9) Colouhoum, J. and Gullen, K.: Improved smoking habits in 12-to-14 year-old Busselton children after antismoking programmes, *Med. J. Aust.*, **1**, 586-587 (1981).
- 10) Doll, R. and Hill, A.B.: Mortality in relation to smoking: Ten years' observations on British doctors, *Brit. Med. J.*, **1**, 1399-1410 (1964).
- 11) Doll, R. and Peto, R.: Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors, *Brit. Med. J.*, **2**, 1525-1536 (1976).
- 12) 青木伸雄, 堀部博, 笠置文善: 喫煙と循環器病, 公衆衛生, **50**, 230-235 (1986).
- 13) WHO/MNH Task Force on Stroke and Other Cerebrovascular Disorders: Stroke-1989 Recommendations on stroke prevention, diagnosis and therapy, *Stroke*, **20**, 1407-1431 (1989).
- 14) Helman, N. and Rubenstein, L.S.: The effect of age, sex and smoking on erythrocytes and leukocytes, *Am. J. Clin. Pathol.*, **63**, 35-44 (1975).
- 15) 三澤京子, 松木秀明, 春日斉, 横山公道, 日野原茂雄: 健常者におけるHDL-コレステロールと喫煙, 肥満等に関する疫学的研究, 日衛誌, **44**, 725-732 (1989).

- 16) Powell, W.S.: Rapid extraction of arachidonic acid metabolites from biological samples using octadecylsilyl silica, *Methods Enzymol.*, **86**, 467-477 (1982).
- 17) 大谷英樹: 光散乱分析法—その原理と問題点について—, *臨床病理*, **27**, 757-761 (1979).
- 18) 河合忠: 血清蛋白, p.183, 医学書院, 東京(1977).
- 19) 河野均也, 熊坂一成, 橋本正勝, 土屋達行, 岡安大仁, 山口道也, 馬島徹, 小平賢治: Enzymeimmunoassay 法によるアレルゲン特異的IgE抗体の測定—Phadezyme RAST, EASTならびにRASTの比較検討—, *臨床免疫*, **15**, 145-154 (1983).
- 20) 長井敏明, 長井辰男, 百瀬隆人, 石山いく夫: 汗からの麻薬, 覚醒剤, 催眠剤の証明, *帝京医誌*, **1**, 145-151 (1978).
- 21) Fels, A.O.S., Pawloski, N.A., Carmer, E.B., King, T.K.C., Cohn, Z.A. and Scott, W.A.: Human alveolar macrophages produce leukotriene B₄, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 7866-7870 (1982).
- 22) Yanagisawa, Y. and Nagai, T.: Study on the relationship between leukotriene B₄ and smoking, *Abstracts of the 8th International Congress of Immunology*, 457 (1992).

(受付 1992年10月12日 受理 1993年4月1日)