

## 乾燥杜仲投与による鶏免疫活性向上効果の検討

桑守正範<sup>1</sup>・内田光教<sup>2</sup>・目瀬守男<sup>1</sup>

<sup>1</sup>美作大学短期大学部栄養学科, 岡山県津山市北園町 50 708-8511

<sup>2</sup>タカラ産業株式会社杜仲開発部, 岡山県津山市国分寺 118-4 708-0843

杜仲葉全画分, 杜仲葉非水溶性画分のいずれかを家禽後期肥育用飼料に 3% 混入したものを実験飼料とし, 生後 100 日の「おかやま地どり」に 21 日間投与した。対照として一般飼料で飼育した群も設けた。健康状態の指標として全血ヘマトクリット値を, ストレス負荷の指標として全血偽好酸球 (heterophil)//リンパ球 (lymphocyte) 比 (H/L 比) を測定した。また免疫反応の指標として末梢血マクロファージの貪食能, ならびに走化性を, NK 細胞活性の指標として末梢血リンパ球における CD8 $\alpha^+$  細胞の発現を測定した。

実験飼料投与により, 体重増加量, 全血ヘマトクリット値に有意差は見られず, 健康状態における変化は観察されなかった。また, 実験飼料投与により, ストレスの指標となる全血中の H/L 比が低下したことから, 乾燥杜仲投与によるストレス軽減効果の可能性が示唆された。末梢血マクロファージの貪食能ならびに走化性は対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した。一方, CD8 $\alpha^+$  細胞の発現も, 対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した。これらの結果により, 乾燥杜仲投与による免疫能活性化効果の可能性が示唆された。

キーワード: おかやま地どり, 杜仲, 免疫, リンパ球, CD8 $\alpha^+$

### 緒 言

杜仲は多くの機能性を有するが, 中でも杜仲ゲニポシド酸による血圧降下作用が知られて以来, 杜仲からの有効成分の抽出と同定が行われてきた。一般的に知られている機能性成分としては, 先述の分離されたゲニポシド酸やクロロゲン酸などがある (Takamura *et al.*, 2007)。また, 杜仲からは摂食量を減らす一方で筋肉量を増加させる働きのある Asperuloside (ASP) も分離されている (Nakamura *et al.*, 1997; 矢崎ら, 1998; 中里ら, 1996; 駒井ら, 1989; CalisI *et al.*, 2002)。我々はかねてから乾燥杜仲葉を「おかやま地どり」に投与し, 可食部の成分組成に与える影響の検討を行ってきており, 脂肪量の低下, ならびに多価不飽和脂肪酸割合の増加という結果を得ている (目瀬ら, 2007)。また飼育を重ねた結果, 乾燥杜仲葉を投与した群でいくつかの注目すべき変化を観察した。その内の一つが乾燥杜仲葉を投与した際の疾病罹患率の減少である。杜仲には先述の機能性成分の他に, ベクチンやグッタペルカをはじめとする多種多様な食物繊維を含んでいる。著者らはこのおかやま地どりの疾病罹患率の低下の原因として杜仲食物繊維に注目し, それを実証することを目的として以

下の実験を行った。

生体免疫システムの中で消化管免疫は重要な役割を担っている。消化管の免疫担当組織である腸間膜リンパ組織 (GALT: gut associated lymphoid tissue) は, 外界からの細菌やウイルスといった異物に対して, 主に IgA を介した局所免疫を担っていることが知られている。

近年になって, 食物繊維 (Dietary fiber: DF) そのものの経口投与による腸間膜リンパ節の挙動や, 抗体産生の応答に対する影響についての研究が報告されはじめた (Lim *et al.*, 1997)。Kudoh らも菌類子実体に含まれる難消化性糖質の経口投与により, 消化管粘膜中の B リンパ球発現の割合が増加することを認めている (Kudoh *et al.*, 1998)。抗腫瘍活性についての経口投与実験例としては Nanba らによるシイタケ粉末を用いた報告 (Nanba *et al.*, 1987) や Ohkuma らによる EA6 についての報告がある (Ohkuma *et al.*, 1982, 1983)。しかし, これまでに杜仲そのものを経口投与した場合の消化管免疫に対する影響を調べた報告はない。そこで我々は摂取形態の 1 モデルとして杜仲乾燥粉末をおかやま地どりに経口投与し, ワクチン接種条件下で免疫応答にどのような影響を及ぼすかを検討した。

### 材料と方法

#### 1-1. 試料と一般成分分析

実験に供した乾燥杜仲葉 (小林製薬: 中国四川省産) は焙煎・乾燥後, ミキサーにて粉末状にしたものを実験用試料 (30~60 メッシュ) とした (杜仲葉全画分試料)。またゲニポシド酸やクロロゲン酸などの水溶性機能性成分, ベクチンなど水溶性食物繊維

2009年7月2日受付, 2010年1月20日受理

連絡者: 桑守正範

〒708-8511 岡山県津山市北園町 50

美作大学短期大学部栄養学科

Tel: 0868-22-7718

Fax: 0868-23-6936

Email: kuwamori@mimasaka.ac.jp

といった水溶性成分の影響を検討するため、熱湯抽出を行った後の乾燥杜仲葉を再乾燥させたもの（杜仲葉非水溶性画分試料）も試料とした。各杜仲試料の一般成分分析は常法（五訂日本食品標準成分表分析マニュアル，1997）により、食物繊維はLeeらによる方法でそれぞれ分析した（Lee *et al.*, 1990）。

### 1-2. グッタペルカの定量

杜仲生葉を採取直後、液体窒素で急冷し、エタノールに浸漬した。その後ミキサーにより破碎し、粉末化した。その後、エタノールを溶媒として用いたソックスレー抽出を行い、さらにトルエンを溶媒に用いてソックスレー抽出を行った。

ここまでの操作で得られた「粗」杜仲グッタペルカを精製するべく、トルエンとメタノールを用いた溶媒沈殿精製をこの後3回繰り返した。さらにここで得られた生成物に、熱ノルマルヘキサソを用いた再沈殿精製をさらに施すことによって、より精製された杜仲グッタペルカを得た（Luo J, 2009）。

## 2. 実験動物および飼育方法

杜仲葉全画分試料、および杜仲葉非水溶性画分試料を家禽後期肥育用飼料に3%混入したものを実験飼料とした。対照として、家禽後期肥育用飼料のみを与えたグループを設けた。各グループの鶏数は10羽から12羽とした。100日齢時に体重が均等になるように対照群、杜仲葉全画分試料投与群、杜仲葉非水溶性画分試料投与群に分け、その後3週間それぞれの実験飼料で飼育を行った。なお、杜仲葉非水溶性画分試料にはゲニボシド酸は含まれない（Table 1 参照）。

### 3. 感作

ワクチンプログラムは生後7日目にニューカッスル病ワクチン、14日目に伝染性ファブリキウス嚢病ワクチン、24日目にニューカッスル病+伝染性気管支炎ワクチン、48日目に再びニューカッスル病ワクチン投与を飲料水にて行った（Fig. 1）。

### 4. 分析方法

飼育終了後、断頭による放血により採血を行った。断頭は速やかに行われ、動物に苦痛を与えることはなかった。また常法（五訂日本食品標準成分表分析マニュアル，1997）により、各食用部位の総脂質量、コレステロール量、および脂肪酸組成を測定した。

乾燥杜仲葉投与の健康状態に与える影響はマイクロヘマトクリット法による全血ヘマトクリット値測定で検討した。また、乾燥杜仲葉投与のストレス反応に与える影響はメイ・ギムザ染色による偽好酸球/リンパ球比で検討した（平原ら，2008）。乾燥杜仲葉投与の免疫活性に与える影響は蛍光ラテックスビーズ法による血中マクロファージ貪食能測定と、ケモキシンSチャンパー法による血中マクロファージ走化性の測定で検討した（Abasy *et al.*, 2002）。

### 5. 末梢血からのリンパ球の分離および分析

末梢血からのリンパ球の分離およびNK細胞の活性を反映するCD8 $\alpha^+$ 細胞の測定はkushimaらの方法に従った（Kushima *et al.*, 2003）。全血は先述の通り、断頭による放血によりヘパリン処理されたシリンジで採血を行った。全血に低張液を加え、溶血させた後、Ficol-paque（Amersham Pharmacia Biotech, USA）を用いた濃度勾配溶液を50 $\times$ gにて30分遠心分離を行い、末梢血単核細胞（PBMC）を得た。得られた細胞集団は10%牛胎児血清を含んだIsocove's modified Dulbecco's medium（FBS-

Table 1. 杜仲葉および熱湯抽出済み杜仲葉の一般成分（100g中の含有量）

	杜仲葉全画分試料	杜仲葉非水溶性画分試料
水分	1.3 g	3.8 g
たんぱく質	13.1 g	11.4 g
脂質	5.3 g	6.3 g
灰分	11.6 g	8.5 g
糖質	52.6 g	52.5 g
食物繊維	41.8 g	33.7 g
グッタペルカ	0.78 g	0.80 g
ゲニボシド酸	308 mg	—

### ワクチンプログラム

(投与は飲水投与)

	7	14	24	48(日齢)
	NB	IBD	NB	ND
ND:ニューカッスル病				
NB:ND+伝染性気管支炎				
IBD:伝染性ファブリキウス嚢病				

Fig. 1. おかやま地どりワクチンプログラム

IMDM)で3回洗浄した。CD8 $\alpha^+$ 細胞発現は、FITCで標識されたモノクローナル抗体を用い、フローサイトメーター（COLTER EPICS EI-ITE, COLTER, USA）にて測定した。

### 6. 統計処理

各群間の平均値の有意差検定はYukumus statistical library（Yukumus, Tokyo, Japan）を用い、Duncan's multiple range test（Duncan DB, 1955）にて行った。

## 結 果

### 1. 杜仲葉および熱湯抽出済み杜仲葉の一般成分

本実験で用いた杜仲葉の一般成分をTable 1に示した。杜仲葉全画分試料はタンパク質13.1%、食物繊維41.8%、グッタペルカ0.78%であり、杜仲葉非水溶性画分試料はタンパク質11.4%、食物繊維33.7%、グッタペルカ0.80%であった。

### 2. 体重増加量

杜仲葉全画分試料投与、および杜仲葉非水溶性画分試料投与により、体重上昇の抑制が見られたが有意差は認められなかった（Table 2）。

### 3. 全血ヘマトクリット値

各実験群間に全血ヘマトクリット値に有意差は見られず、健康状態の変化は観察されなかった（Table 3）。

### 4. 血液中の偽好酸球とリンパ球の比率（H/L比）

杜仲葉全画分試料投与、および杜仲葉非水溶性画分試料投与により、ストレスの指標となる血液中の偽好酸球とリンパ球の比率

Table 2. おかやま地どりの各飼料における体重測定結果 (kg)

	100 日齢	121 日齢
対照群	3.10±0.25	3.32±0.31
杜仲葉全画分試料投与群	3.08±0.18	3.11±0.25
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	3.12±0.16	3.15±0.25

Table 3. 鶏全血ヘマトクリット値 (%)

対照群	30.3±2.0
杜仲葉全画分試料投与群	30.1±1.8
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	29.5±1.6

値は平均±標準誤差で示した (n=10 to 12)

Table 4. 血液中の偽好酸球とリンパ球の比率 (H/L 比)

対照群	0.41±0.01 <sup>a</sup>
杜仲葉全画分試料投与群	0.32±0.01 <sup>b</sup>
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	0.34±0.01 <sup>b</sup>

値は平均±標準誤差で示した (n=10 to 12)  
異符号間で有意差を認めた (p<0.05)

(H/L 比) が対照群と比較して有意に低下した (Table 4)。

### 5. マクロファージ食食能

免疫反応の指標となるマクロファージの食食能は対照群が 46±3%, 杜仲葉全画分試料投与群が 58±3%, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群が 56±2% であり, 対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した (Table 5)。一方, 走化性も対照群が 49±2%, 杜仲葉全画分試料投与群が 57±3%, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群が 55±2% であり, 対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した (Table 6)。

### 6. NK 細胞活性

免疫反応の指標となる NK 細胞の活性は CD8α<sup>+</sup> 細胞の測定を持って検討した。CD8α<sup>+</sup> 細胞の発現は対照群が 16±1.5%, 杜仲葉全画分試料投与群が 29±2.1%, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群が 26±2.0% であり, 対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した (Table 7)。

## 考 察

本実験条件下において, 杜仲葉全画分試料, 杜仲葉非水溶性画分試料投与により, 体重上昇の抑制傾向が見られたものの, 全血ヘマトクリット値においても有意差は認められず, 各実験群間に健康状態の変化は観察されなかった。一方, 杜仲葉全画分試料, 杜仲葉非水溶性画分試料投与により, ストレスの指標となる血液中の偽好酸球とリンパ球の比率 (H/L 比) が低下したことから, 乾燥杜仲葉投与によるストレス軽減効果の可能性が示唆された。

Table 5. マクロファージ食食能 (%)

対照群	46±3 <sup>a</sup>
杜仲葉全画分試料投与群	58±3 <sup>b</sup>
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	56±2 <sup>b</sup>

値は平均±標準誤差で示した (n=10 to 12)  
異符号間で有意差を認めた (p<0.05)

Table 6. マクロファージ走化性 (%)

対照群	49±2 <sup>a</sup>
杜仲葉全画分試料投与群	57±3 <sup>b</sup>
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	55±2 <sup>b</sup>

値は平均±標準誤差で示した (n=10 to 12)  
異符号間で有意差を認めた (p<0.05)

Table 7. 末梢血からのリンパ球の CD8α<sup>+</sup> 細胞の発現 (%)

対照群	16±1.5 <sup>a</sup>
杜仲葉全画分試料投与群	29±2.1 <sup>b</sup>
杜仲葉非水溶性画分試料投与群	26±2.0 <sup>b</sup>

値は平均±標準誤差で示した (n=10 to 12)  
異符号間で有意差を認めた (p<0.05)

また, 杜仲葉水溶性画分の有無に関わらず, H/L 比が低下したことから, この効果は杜仲葉の非水溶性画分によるものであることが示唆された。

免疫反応の指標となるマクロファージの食食能は対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した。一方, 走化性も対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に上昇した。免疫反応の指標となる NK 細胞の活性は末梢血リンパ球における CD8α<sup>+</sup> 細胞数の測定を持って検討したが, CD8α<sup>+</sup> 細胞の発現も対照群と比較して杜仲葉全画分試料投与群, 杜仲葉非水溶性画分試料投与群ともに有意に増加した。

これらの結果により, 乾燥杜仲葉投与によるストレスの軽減, ならびに免疫能活性化効果の可能性が示唆された。また, 杜仲葉水溶性画分の有無に関わらず, マクロファージ食食能, 走化性, ならびに CD8α<sup>+</sup> 細胞の発現が活性化されたことから, これらの効果はいずれも杜仲葉のこの効果は杜仲葉の水溶性機能性成分であるゲニポシド酸や杜仲に多く含まれるペクチンなどの水溶性食物繊維によるものではなく, グッタペルカをはじめとする非水溶性画分によるものであることが示唆された。

グッタペルカのような難消化性の, いわゆる非水溶性食物繊維には前述のように免疫賦活作用のある成分が存在するが, その多くは多糖類である。最近, 食物繊維の中にも消化管免疫に対して影響を及ぼすものがあるという研究結果が発表された。Lim らは水溶性食物繊維の中でペクチンを経口投与することにより血清中の IgG, IgA の濃度が増加し, アレルギーの要因であるといわれている IgE の濃度を低下させるという全身性免疫への影響のほ

か、腸管膜リンパ節中のリンパ球が産生するIgA濃度の増加およびIFN- $\gamma$ やTNF- $\alpha$ などのサイトカインの増加という局所免疫である消化管免疫への影響の可能性を示唆したが、キトサンは血清中のIgAを減少させると報告している(Lim *et al.*, 1997)。これに対し、MiguelらおよびMaedaらはキチン質が免疫賦活効果のあることを報告している(Miguel *et al.*, 1992; Maeda *et al.*, 1992)。Kudohらは、菌類子実体(しいたけなど)の難消化性糖質の経口投与による消化管粘膜中の $\kappa$ -light chainおよびIgA発現細胞の割合の増加を認めている(Kudoh *et al.*, 1998)。食物繊維の一種である $\beta$ -D-グルカンやEAGの抗腫瘍活性の発現については宿主の免疫機能を賦活することによって起こるとされている(駒井ら, 1989)。このような免疫賦活作用が消化管粘膜の中でも発現されているとすれば、杜仲食物繊維の経口投与は消化管粘膜免疫に対して影響を及ぼすことは十分考えられる。

乾燥杜仲葉の割合を変化させておかやま地どりに与える予備実験の結果、飼料中の乾燥杜仲葉割合の上昇に伴い、食餌摂取量が減少することが判明しており、今回の3%という投与レベルは食餌摂取量に有意な変化を示さない上限であった。この食餌摂取量の低下は乾燥杜仲葉の飼料中割合の増加がおかやま地どりに対する投与試料の嗜好性を悪化させることによるものであると考えられる。今後はグッタペルカなどの杜仲中非水溶性画分そのものを投与することで杜仲中非水溶性画分投与量を増加させ、その際の末梢血マクロファージやリンパ球におけるCD8 $\alpha^+$ 細胞の応答を検討していく方針である。

## 謝 辞

本研究を進めるに当たり、乾燥杜仲葉を提供して下さった小林製菓株式会社、ならびにご指導頂きました大阪大学大学院工学研究科の中澤慶久先生、小林昭雄先生に謝意を表します。

## 引用文献

- Abasy ElM, Motobu M, Shimura K, Kang NKJ, Koge CB, Onodera K and Hirota Y. Immunostimulating and growth-promoting effect of sugar cane extract (SCE) in chickens. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 : 1061-1063. 2002.
- Calis I, Kirmizibekmez H, Tasdemir D and Ireland CM. Iridoid Glycosides from *Globularia davisiana*. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 50 : 678-680. 2002.
- Duncan D B. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11 : 1-42. 1955.
- 平原敏史・新村 毅・江口祐輔・植竹勝治・田中智夫. 産卵鶏の6つの飼育システムにおける生産性と生理・免疫反応の比較. *日本家畜管理学会*, 44 : 150-151. 2008.
- 駒井功一郎・杉 徹・辻井郁雄・三浦睦・浜田昌之. Asperuloside およびその関連配糖体の生長抑制作用と作用機構. *雑草研究*, 別号 28 : 27-28. 1989.
- Kudoh K, Shimizu J, Wada M, Takita T, Kanke Y and Innami T. Effect of indigestible saccharides on B lymphocytes response of intestinal mucosa and fermentation in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 44 : 103-112. 1998.
- Kushima K, Fujita M, Shigeta A, Horiuchi H, Matsuda H and Furusawa S. Flow Cytometric Analysis of Chicken NK Activity and Its Use on the Effect of Restraint Stress. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65 : 995-1000. 2003.
- Lee SC and Hicks VA. *New developments in dietary fiber*. Plenum press, 237. 1990.
- Lim BO, Yamada K, Nonaka M, Kumamoto Y, Hung P and Sugano M. Dietary Fibers Modulate Indices of Intestinal Immune Function in Rats. *Journal of Nutrition*, 127 : 663-667. 1997.
- Studies on the antioxidant activity and phenolic compounds of enzyme-assisted water extracts from *Du-zhong* (*Eucommia ulmoides* Oliv.) leaves.
- Luo J, Tian C, Xu J, Sun Y. Studies on the antioxidant activity and phenolic compounds of enzyme-assisted water extracts from *Du-zhong* (*Eucommia ulmoides* Oliv.) leaves. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24 : 1280-1287. 2009
- Maeda M, Murakami H, Ohta H and Tajima M. Stimulation of IgM production in human-human hybridoma. HB4C5 cells by chitosan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56 : 427-431. 1992.
- 目瀬守男・富樫 颯. 平成の大合併と地域社会の再編・活性化—岡山県の事例—第1版. 166-171頁. 明文書房. 東京. 2007.
- 科学技術庁資源調査会食品成分部会編. 五訂日本食品標準成分表分析マニュアル. (社)資源協会. 1997
- Miguel SAG, Fazely F, Koch JA and Vercellotti SV. Ruprecht Ruth M.N-Carboxymethylchitosan-N,O-sulfate as an anti-HIV-1 agent. *Biochemical and biophysical research communications*, 174 : 489-496. 1992.
- Nakamura T, Nakazawa Y, Onizuka S, Satoh S, Chiba A, Sekihashi K, Miura A, Yasugahira N and Sasaki YF. Antimutagenicity of Tochu tea (an aqueous extract of *Eucommia ulmoides* leaves) : - I. The clastogen-suppressing effects of Tochu tea in CHO cells and mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 388 : 7-20. 1997.
- 中里光男・小川仁志・牛山博文・小林千種・只野敬子・川合由華・立石恭也・田村行弘・松 俊夫. 杜仲葉を主原料とした健康食品中のゲニポンド酸及びカフェインの分析. *食品衛生学雑誌*, 37 : 43-350. 1996.
- Nanba H and Kuroda H. Antitumor mechanisms of orally administered shiitake fruit bodies. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 35 : 2459-2464. 1987.
- Nanba H, Mori K, Toyomasu T and Kuroda H. Antitumor action of shiitake (*Lentinus edodes*) fruit bodies orally administered to mice. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 35 : 2453-2458. 1987.
- Ohkuma T, Otagiri K, Ikekawa T and Tanaka S. Augmentation of antitumor activity by combined cryo-destruction of sarcoma 180 and protein-bound polysaccharide, EA6, isolated from *Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. in ICR mice. *JOURNAL OF PHARMACOBIO-DYNAMICS*, 5 : 439-444. 1982.
- Ohkuma T, Tanaka S and Ikekawa T. Augmentation of host's immunity by combined cryodestruction of sarcoma 180 and administration of protein-bound polysaccharide, EA6, isolated from *Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing. in ICR mice. *JOURNAL OF PHARMACOBIO-DYNAMICS*, 6 : 88-95. 1983.
- Takamura C, Hirata T, Yamaguchi Y, Ono M, Miyashita H, Ikeda T and Nohara T. Studies on the chemical constituents of green leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv. *Journal of Natural Medicines*, 61 : 220-221. 2007.
- 矢崎廣久・福島悦子・加瀬信明・竹田敏晴. 杜仲葉の生理活性成分に関する調査. *千葉衛研報告*, 22号 : 5-9. 1998.

## Effect of Feeding Dry *Eucommia ulmoides* to Immuno-Activities in Chickens

Masanori Kuwamori<sup>1</sup>, Mitsunori Uchida<sup>2</sup> and Morio Mese<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutrition Mimasaka University 50 Kitazono-cho Tsuyama-city Okayama 708-8511 Japan

<sup>2</sup> Takara Corporation 118-6 kokubunji Tsuyama-city Okayama 708-0843 Japan

We examined the activation of immunoactivity ability of eucommia ulmoides (*E. ulmoides*) leaves when *E. Ulmoides* leaves were fed to chickens for 21 days. The weight of the chicken was measured before the start of breeding and after the end of breeding. The peripheral blood was collected after the end of breeding. The hematocrit value and heterophil / lymphocyte ratio of peripheral blood were analyzed. Immunoactivity analyzed by measurement of phagocytosis with macrophages, macrophage chemotaxis, and NK cells activity in chicken's peripheral blood. The macrophage phagocytic capacity of peripheral blood was analyzed by the fluorescence latex bead method. The macrophage chemotaxis of peripheral blood was analyzed by the chemotaxis chamber method. NK cells activity measured by analysis of CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> cells by flow cytometry.

The weight gain decreased by *E. Ulmoides* feeding. There was no difference in the hematocrit value of peripheral blood. From these results, it was proved that there is no aggravation of the health condition accompanying weight reduction. As compared with the contrast group, the ratio of peripheral blood heterophil / lymphocyte increased significantly in the dry *E. Ulmoides* leaves feeding group and the boiled *E. Ulmoides* leaves feeding group. This result shows the stress mitigation effect of the dry *E. Ulmoides* leaves feeding.

As compared with the contrast group, the phagocytic capacity and chemotaxis of the macrophage of peripheral blood increased significantly in the dry *Eucommia Ulmoides* leaves feeding group and the boiled *E. Ulmoides* leaves feeding group. On the other hand, as compared with the contrast group, the dry *E. Ulmoides* leaves feeding group and the boiled *E. Ulmoides* leaves feeding group also increased discovery of the CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> cell significantly. The possibility of the activation effect of immunoactivity by dry *E. Ulmoides* leaves feeding was suggested by these results.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 47 : J22-J26, 2010)

**Key words** : Chicken, *Eucommia ulmoides*, CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>, Lymphocyte, Guttapercha