

餵食松杉靈芝對 BALB/c 小鼠免疫調節的影響

陳妙齡¹ 林金源² 林璧鳳^{1*}

¹ 臺灣大學 生化科技學系暨微生物與生化學研究所

² 中興大學 食品暨應用生物學系

(接受刊載日期: 中華民國九十五年五月十日)

本研究目的為探討靈芝子實體對動物整體免疫反應的影響, 分別以管餵方式給予 BALB/c 小鼠補充松杉靈芝 YK01 與 YK07 兩種產品六週後, 測定吞噬細胞及自然殺手細胞活性, 分析血清抗體濃度, 以及脾臟細胞的增生能力與細胞激素之分泌量, 以評估松杉靈芝對於全身性免疫反應之調節作用。結果顯示, 松杉靈芝 YK01 可以顯著的增加週邊血液中吞噬細胞含量、活化自然殺手細胞、促進 IgM 與 IgG 抗體生成, 同時能促進脾臟細胞分泌 IL-2, 而抑制 IL-4 分泌。松杉靈芝 YK07 則顯著促進血清 IgG 與 IgA 的生成、脾臟 T 細胞的增生, 且同樣促進 IL-2 分泌且抑制 IL-4 的分泌。此外, 補充松杉靈芝均顯著的降低肝臟 TBARS 的含量, 降低脂質過氧化的程度。由以上結果得知, 不同的松杉靈芝產品, 對於免疫反應的調節功效與免疫反應指標的影響有所不同。不過, 整體而言, 本研究所使用的松杉靈芝產品, 可顯著降低肝臟過氧化物指標, 對於適應性免疫反應具有活化與調節的作用。

關鍵字: 松杉靈芝, 自然殺手細胞活性, 吞噬作用, 免疫調節。

The Immunomodulatory Effects of *Ganoderma tsugae* Supplementation on Immune Responses of BALB/c Mice

Miaw-Ling Chen¹, Jin-Yuarn Lin² and Bi-Fong Lin^{1*}

¹ Department of Biochemical Science and Technology, Institute of Microbiology and Biochemistry, College of Life Science, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

² Department of Food Science and Biotechnology, College of Agriculture and Natural Resources, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan

(Accepted for publication: May 10, 2006)

To investigate the immunomodulatory effect of fruit body of *Ganoderma tsugae* on immune responses in animal model, BALB/c mice were tube-fed with different *Ganoderma tsugae* products YK01 and YK07 daily for 6 weeks and killed for further analysis of phagocytic activity, natural killer cell activity, serum antibody, and cell proliferation and cytokine secretion of splenocytes. The results showed that the low dosage YK01 group significantly increased NK cell activity, the percentage of granulocyte, immunoglobulin (Ig) G and M. T cell proliferation and IL-2 secretion of splenocytes were significantly higher but IL-4 secretion was lower in the *Ganoderma tsugae* YK01 group. Furthermore, *Ganoderma tsugae* could decrease the lipid peroxidation level in mice liver. The YK07 group had significantly higher serum IgG and IgA, T cell proliferation and IL-2 secretion of splenocytes, but lower IL-4 secretion. In addition, both YK01 and YK07 significantly decreased hepatic TBARS values, suggesting their antioxidant effect. Therefore, different *Ganoderma tsugae* products may exert different effects on immune responses. However, the products used in this study both showed antioxidant effect and immunomodulatory effect on adaptive immune response.

Key words: *Ganoderma tsugae*, NK cell activity, Phagocytosis, Immunoregulation.

前言

免疫反應包含了自然免疫反應 (Innate immunity) 與適應性免疫反應 (Adaptive

immunity), 自然免疫力係指先天性具有的防禦能力, 主要由吞噬細胞與自然殺手細胞的活化, 來對抗感染源。適應性免疫反應即指當免疫細胞遭遇到感染源後, 會特定對此感

* Corresponding author. E-mail: bifong@ntu.edu.tw

染源產生專一性的反應，其中包括 T 細胞活化並分泌細胞激素，與 B 細胞生成抗體⁽¹⁾。因此，可由測定吞噬細胞活性、自然殺手細胞活性、細胞激素的分泌與抗體的生成等，評估整個動物體在免疫系統上的免疫功能與調節⁽²⁾。

目前，探討飲食對免疫調節的影響逐漸為熱門的研究課題，期能藉由營養保健，提升體內對抗感染的能力，或減少過敏的傾向。其中，靈芝是備受矚目的食材之一。已有許多研究証實，靈芝具有降血壓⁽³⁾、抑制膽固醇合成⁽⁴⁾、抗氧化⁽⁵⁾、抑制發炎反應⁽⁶⁾、抗腫瘤活性⁽⁷⁾、活化免疫細胞^(8,9)等生理功能。許多研究指出靈芝多醣是較具有免疫調節功能的成分，Hsu 等人⁽⁸⁾明確的指出，靈芝多醣藉由 NF- κ B 的訊息傳遞路徑活化單核球。靈芝多醣亦可以藉由抗原呈獻細胞的活化，進而活化 T 細胞分泌細胞激素^(9,10)。此外，靈芝多醣以腹腔注射方式給予小鼠，可以促使小鼠抗體的生成與 B 細胞的增生⁽¹¹⁾。

然而，以上靈芝之免疫調節功能研究大多是採用體外培養的方式進行，或以注射的方式給予。雖然已有許多研究証實靈芝之免疫調節功能，但目前仍缺乏完整的餵食動物研究，探討靈芝補充對於全身性免疫反應之調節作用。在傳統的中藥醫學，靈芝被喻為「上藥」，於疾病的治療上流傳已久，靈芝為真菌界靈芝屬，其中以赤芝(*Ganoderma lucidum*)為此屬的代表種，常見使用於藥材、食材與研究當中，然而，台灣保健食品市場上，松杉靈芝(*Ganoderma tsugae*)亦常見使用於保健食品當中，然而，關於松杉靈芝對於動物的整體免疫調節功能方面，目前仍少有研究加以証實。因此，本研究採用松杉靈芝產品作為研究材料，以經口餵食的研究方式，藉以探討松杉靈芝對於全身性之免疫調節功能。

材 料 與 方 法

一、試驗方法

1. 動物餵食

自台大動物中心購進六週大的 BALB/c 雌鼠，每隻小鼠分別飼養於不鏽鋼籠中，室溫控制於 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，光暗循環時間各為 12 小時，自由攝食飲水及飼料，購入後先餵 chow diet 適應環境，小鼠八週大時則依體重隨機分組，開始分別管餵松杉靈芝產品，*Ganoderma tsugae* YK01 和 *Ganoderma tsugae*

YK07 (雙鶴集團勇健工業公司，台南)，每週六天，每週記錄攝食量及體重二次以紀錄小鼠之生長情形，每二週以眼窩採血收集血清，以進行非特異性抗體分析，管餵七週後進行犧牲，分析免疫反應相關指標。

2. 動物餵食劑量

松杉靈芝 YK01 及 YK07 額外管餵食劑量，是依據試驗動物與人體表面積比等效劑量換算比率表中，小鼠與人體表面積之比值為 0.0026，松杉靈芝 YK01 的建議攝取量為每人每天 4.5 g 時，換算成每隻小鼠則為每天 11.7 mg，以此劑量為 1 倍之餵食劑量，即為低劑量組，另以 5 倍劑量為高劑量組。松杉靈芝 YK07 的建議攝取量為每人每天 7.58 g 時，換算成每隻小鼠為每天 19.7 mg，以此劑量為 1 倍之劑量，即為低劑量組，5 倍劑量為高劑量餵食組。

二、Malonyldialdehyde (MDA) 含量分析

取約 0.4 g 的肝臟加入冰冷的 0.01 M potassium-phosphate buffer，以均質機均質成 25% (w/v) 之均質液。取 1 mL 均質液加入 1 mL 10% Trichloroacetic acid (TCA) 震盪均勻， $1,500 \times g$ 離心 10 分鐘以去除蛋白質，取 1 mL 上清液或各濃度標準液 1,1,3,3-tetra-methoxy propane (TMP 溶液)，加入 1 mL 2-thiobarbituric acid (TBA) 溶液 (Sigma) 及 0.1 mL butylated hydroxytoluene (BHT) 溶液震盪均勻，於 50°C 水浴反應一小時，冷卻後加入 2 mL isobutanol 混合，以 $1,500 \times g$ 離心 10 分鐘，取上清以螢光光度計 (Hitachi F-2000, Tokyo, Japan) 測定 excitation 515 nm 及 emission 550 nm 之值。

三、吞噬細胞活性分析

本試驗採用 PHAGO-TEST kit (ORPEGEN® Pharma, Heidelberg, Germany) 進行吞噬細胞之活性分析。血樣分別取 50 μL 加至對照管及樣品管的試管底部，冰浴 10 分鐘，加入 10 μL *E. coli*-FITC 菌體震盪均勻，對照管置於冰浴中，樣品管置於 37°C 水浴 30 分鐘後移至冰浴中。加入 50 μL 的 quenching 溶液震盪均勻，再加入 washing 溶液 1.5 mL， $250 \times g$ 離心 10 分鐘清洗二次，加入 1 mL lysing 溶液於室溫下反應 20 分鐘，以 $250 \times g$ 離心 10 分鐘清洗一次，加入 100 μL 之 DNA staining 溶液冰浴

避光反應 10 分鐘，以細胞流式計數儀 (Flow cytometry, FACScan, Becton Dickinson, Mountain View, CA) 進行分析。

四、自然殺手細胞活性分析

YAC-1 細胞株作為標靶細胞，將 1×10^6 cells/mL 標靶細胞以 $100 \mu\text{Ci}$ 之 Cr^{51} 進行標定四小時，再移除殘餘之 Cr^{51} 。於 U 型底 96 孔盤中加入 1×10^4 cells/mL 標定完成之標靶細胞，實驗值為分別加入 4×10^6 cells/well (E/T ratio 40)，或 8×10^6 cells/well (E/T ratio 80) 之腹腔細胞進行毒殺試驗所得之 Cr^{51} 釋放量。另以 12 N 之 HCl 破壞細胞，使 Cr^{51} 釋出作為最高釋放值，以培養液培養標靶細胞作為背景值。培養四小時後收集上清液，以 γ -counter 計算 Cr^{51} 的釋放量，結果以 Cr^{51} 釋出百分比來表示，毒殺活性 % = (試驗值 - 背景值) / (最高釋放值 - 背景值) $\times 100$ 。

五、血清中非特異性 IgA, IgM 與 IgG 抗體之測定

血清中免疫球蛋白之濃度是利用 radial immunodiffusion (RID) 法，取適當稀釋之血清及標準品 $5 \mu\text{L}$ 放入免疫擴散套組 (Radial Immunodiffusion kit, BIND A RID, UK) 之培養孔中，室溫靜置反應 24 小時後，測量樣品槽中沈澱環直徑之大小，以直徑之平方值代入標準曲線中，即可換算求得血清中免疫球蛋白之濃度。

六、脾臟細胞培養與細胞激素測定

1. 細胞收集與培養

在無菌操作下取出脾臟，置於含適量 TCM 培養基的培養皿內，將脾臟磨碎使成細胞之懸浮液，靜置五分鐘後取出上清液，以 $350 \times g$ 離心七分鐘，取下層細胞，拍散細胞後加入 1 mL 之 ACK lysis buffer 靜置一分鐘，再加入 5 mL 之 HBSS buffer，離心去除 buffer 清洗三次後，以 TCM 培養基使細胞成懸浮液。計算細胞總數後調整細胞數至 1×10^7 cells/mL，於 24 well 培養盤中注入 0.5 mL 之細胞懸浮液，加入培養液或含裂殖素 (LPS 或 PHA, Sigma) 之培養液，5% CO_2 ，37℃ 之條件下培養 48 小時後，收取其上清液進行細胞激素之分析。

2. 細胞增生能力測定

增生能力之測定方法是以 1×10^6 cells/well 之脾臟細胞，加入 $100 \mu\text{L}$ /well 之 PHA ($10 \mu\text{g}/\text{mL}$) 或 LPS ($10 \mu\text{g}/\text{mL}$) 共同培養 72 小時後，直接加入 $10 \mu\text{L}$ 之 MTT 溶液 ($5 \text{ mg}/\text{mL}$) 培養 3 小時後， $500 \times g$ 離心 10 分鐘去除培養液後，再加入 $100 \mu\text{L}$ /well 之 0.04 N isopropanol，震盪 30 分鐘後測量 540 nm 之吸光值。結果以 S.I. (stimulation index) 值表示，S.I. = (刺激值 - 背景值) / (未刺激值 - 背景值)。

3. 細胞激素含量分析

細胞激素含量採用酵素連結免疫分析法 (ELISA)，於 96 孔盤 (Nunc-Immuno plate) 加入含細胞激素單株抗體 (PharMingen, San Diego, CA) 的 0.1 M carbonate buffer $100 \mu\text{L}$ /well，靜置於 4℃，隔夜以 PBST 清洗，加入 $200 \mu\text{L}$ /well 1% BSA/PBS，室溫反應 30 分鐘，再加入樣品或標準品 $100 \mu\text{L}$ /well，室溫反應二小時並清洗後，再加入適當濃度連結生物素的抗細胞激素抗體 $100 \mu\text{L}$ /well，室溫反應一小時，加入 $100 \mu\text{L}$ /well 之 avidin-peroxidase (PIERCE, Rockford, IL, USA)，室溫反應 30 分鐘，最後 $100 \mu\text{L}$ /well 受質 ABTS (Sigma, St. Louis, MO, USA) 進行呈色反應，測定 415 nm 之吸光值，最後以標準曲線計算樣品之細胞激素含量。

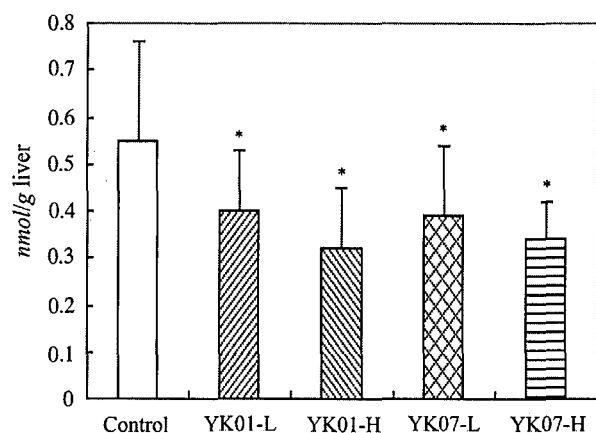
七、統計方法

試驗結果是以平均值 $\pm$ 標準偏差 (mean $\pm$ SD) 表示，數據之統計分析是採用 unpaired Student's t-test 之統計方法分析各組間差異之顯著性。以 SAS windows 6.12 版 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 之統計分析軟體進行數據之統計分析。

結果與討論

一、松杉靈芝活化吞噬細胞

給予松杉靈芝 YK01 與 YK07 產品補充，BALB/c 小鼠的生長與攝食效應均未受顯著的影響 (數據未示)。如圖一所示，松杉靈芝 YK01 與 YK07 的補充，顯著的降低肝臟 TBARS 濃度，可降低肝臟脂質過氧化的情形，有抗氧化的功能。有研究指出，赤芝多醣可以顯著的降低 MDA 含量與含氧自由基的生成，並增加 Mn-SOD



圖一 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠肝臟 TBARS 值的影響

Fig. 1. The effect of *Ganoderma tsugae* products YK01 and YK07 on hepatic TBARS values of female BALB/c mice. Data are mean $\pm$ SD of 12 mice per group. *Significant difference at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test. (L: low dose, H: high dose, see Table 1)

活性⁽¹²⁾。此外，Mau 等人⁽¹³⁾的研究也指出松杉靈芝的甲醇萃取物，具有高度的抗氧化活性。本研究以松杉靈芝產品餵食小鼠七週後，即有顯著降低肝臟脂質过氧化物的能力，顯示靈芝在抗氧化方面的功效，值得進一步探討。

在免疫反應中，吞噬細胞的活化是防禦系統的第一防線，參與吞噬反應的細胞包含有顆粒性球與單核球。如表一所示，低劑量組松杉靈芝 YK01 的補充，可以顯著的增加週邊血液顆粒性球的數量，YK07 的補充尚無顯著的影響。不過，松杉靈芝補充對於顆粒性球的吞噬活性，無顯著的影響。有一些研究指出，靈芝多醣可透過 PI3K、p38MAPK 與 PKC 訊息傳遞路徑，對於吞噬細胞具有趨化活性⁽¹⁴⁾。此外，靈芝多醣亦可活化單核球，促使 IL-1 β 及 TNF α 等細胞激素分泌^(8,15)。本研究的 YK01 在低劑量時對吞噬細胞的數量比例與活性，較有提升的作用，意喻飲食因子對免疫細胞的作用，並無隨劑量越高而效用越強的現象。

二、松杉靈芝活化自然殺手細胞活性

對於腫瘤細胞與受病毒感染的細胞而言，主要是由自然殺手細胞進行辨認與毒殺⁽¹⁾，有研究指出，飲食的改變可以顯著的影響自然殺手細胞的活性⁽¹⁶⁾。松杉靈芝補充對於自然殺手細胞之毒殺活性的影響如圖二所示，YK01 的補充，可以促使自然殺手細胞活性增加，其中低劑量組達顯著性差異。此外，

表一 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠週邊血液顆粒球吞噬能力之影響

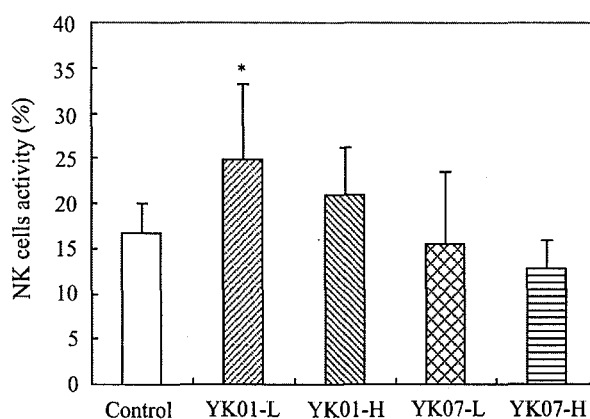
Table 1. The effects of *Ganoderma tsugae* products YK01 and YK07 on phagocytosis of granulocytes from peripheral blood of female BALB/c mice

Group ¹	n	Granulocyte % ²	Phagocytic activity
Control	10	48.66 $\pm$ 16.49 ³	9.74 $\pm$ 5.30
YK01-L	10	66.20 $\pm$ 17.36*	11.14 $\pm$ 4.02
YK01-H	10	45.73 $\pm$ 18.07	7.49 $\pm$ 3.89
YK07-L	10	47.34 $\pm$ 17.63	8.72 $\pm$ 4.87
YK07-H	10	54.61 $\pm$ 17.54	10.81 $\pm$ 6.06

1 YK01-L, low dose group (11.7 mg/mouse/day *Ganoderma tsugae* YK-01). YK01-H, high dose group (58.5 mg/mouse/day *Ganoderma tsugae* YK-01). YK07-L, low dose group (19.7 mg/mouse/day *Ganoderma tsugae* YK-07). YK07-H, high dose group (98.5 mg/mouse/day *Ganoderma tsugae* YK-07).

2 Granulocyte % was gate percentage of total cells collected by FACScan analysis. Phagocytic activity were FITC-mean obtained by FACScan analysis.

3 Values are mean $\pm$ SD. *Significant difference at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test.



圖二 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠自然殺手細胞活性之影響

Fig. 2. The effect of *Ganoderma tsugae* product YK01 and YK07 on the activity of natural killer cells from the peritoneal exudate cells. The effector-to-target (E:T) cell ratio was 80. Data are mean $\pm$ SD of 10 mice per group. *significantly different at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test. (L: low dose, H: high dose, see Table 1)

本研究曾以更低劑量 (5.85 mg/mouse/day) 的 YK01 補充，亦可以顯著的增加自然殺手細胞活性，其毒殺活性約為 25.8%⁽¹⁷⁾。YK07 產品的補充則無顯著的影響。

有關於靈芝對自然殺手細胞的研究，Gao

等人⁽⁷⁾的研究指出，靈芝多醣的補充可以促進癌症病患週邊血液自然殺手細胞表面分子 CD56⁺ 的表現。靈芝醣蛋白區分物以體外培養的方式，亦可以顯著的增加 CD56⁺ NK T 細胞的數量⁽¹⁸⁾。動物模式試驗方面，曾有報告指出赤芝與松杉靈芝的菌絲體顯著的促進脾臟自然殺手細胞的活性⁽¹⁹⁾，靈芝酸的補充亦可顯著的提高脾臟自然殺手細胞的活性⁽²⁰⁾。以上大多數的研究多採用脾臟細胞進行自然殺手細胞活性分析^(16, 19, 21)，本研究則採用腹腔細胞進行自然殺手細胞活性分析，也獲相同的結果，因而能節省脾臟細胞使用數量，有利於其他細胞培養與增生等必要試驗的進行。

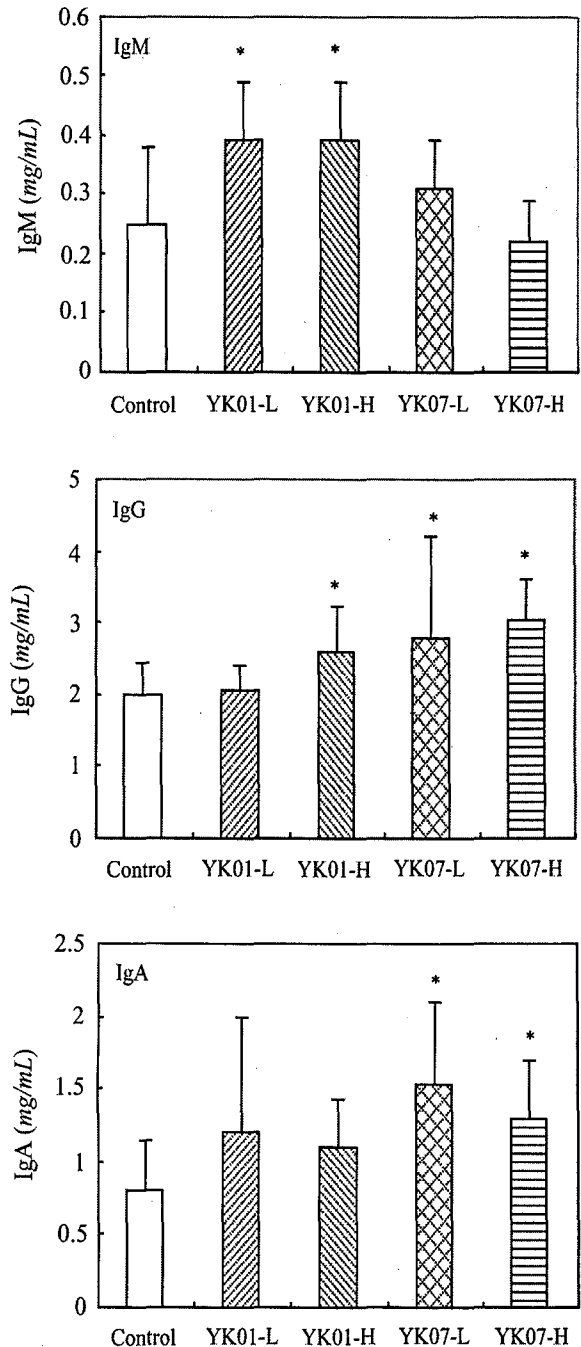
三、松杉靈芝促進抗體生成

在適應性免疫反應方面，血清抗體的濃度是評估指標之一，松杉靈芝對抗體生成的影響如圖三所示，相較於控制組，松杉靈芝 YK01 低劑量與高劑量組皆顯著促進血清 IgM 生成，YK07 則無顯著的影響。已知 IgM 的生成主要是參與補體系統的活化，松杉靈芝 YK01 促使 IgM 抗體的生成，且可以增加週邊血液中的吞噬細胞，因此推測 YK01 具有活化補體的能力，而有助於吞噬能力增加。IgG 抗體生成方面，高劑量 YK01 與 YK07 餵食，皆顯著的促進血清中 IgG 濃度。血清 IgG 抗體在適應性免疫反應，扮演重要角色，可迅速中和外來抗原，消滅感染。松杉靈芝補充顯著增加血清 IgG 濃度，顯示有助於活化適應性免疫力。在 IgA 抗體生成方面，餵食松杉靈芝 YK07 小鼠，血清 IgA 的含量顯著高於控制組，可能有助於黏膜免疫力。

近年來也有研究指出，靈芝多醣可以促使 B 細胞增生與活化，並增加抗體的生成^(11, 22)。淋巴細胞以靈芝多醣體外培養處理下，主要可透過 B 細胞內 PKC 的表現，促使 B 細胞的增生與抗體的生成⁽²³⁾。不過，本研究餵食松杉靈芝 YK01 與 YK07 的小鼠，脾臟細胞在 B 細胞裂殖素 LPS 刺激下，B 細胞增生能力均無顯著影響(圖四)，顯示靈芝 YK01 與 YK07 的補充，並未顯著促進 B 細胞的增生，故可能主要是活化 B 細胞，促使抗體的生成。

四、松杉靈芝調節 T 淋巴細胞

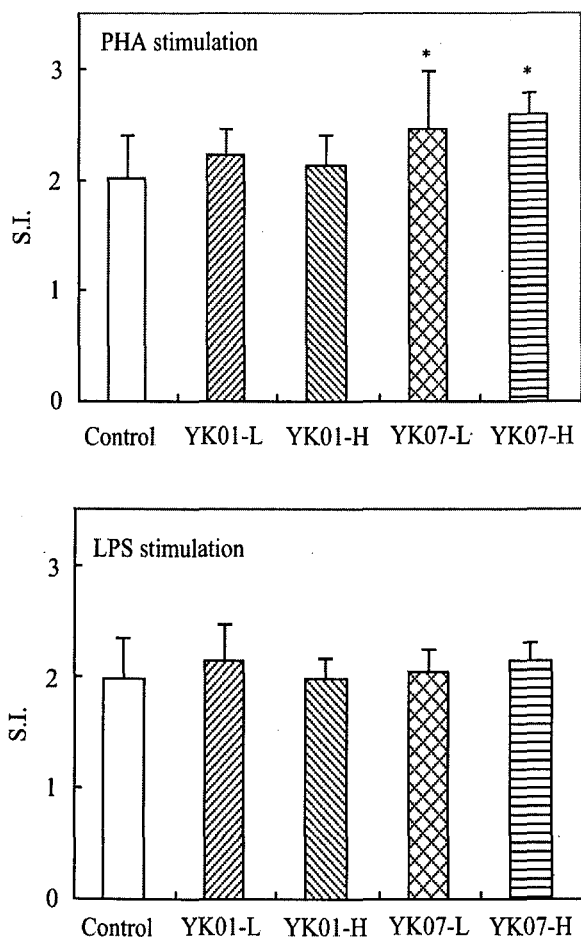
如圖四所示，在 T 細胞裂殖素 PHA 的刺激下，只有松杉靈芝 YK07 補充組的 T 細胞增生



圖三 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠血清抗體生成之影響

Fig. 3. The effect of *Ganoderma tsugae* YK01 and YK07 on serum IgA, IgG and IgM antibodies content of BALB/c mice. Data are mean $\pm$ SD of 12 mice per group. *Significant difference at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test. (L: low dose, H: high dose, see Table 1)

能力顯著的高於控制組，顯示 YK07 具促進 T 細胞增生的作用。在脾臟細胞分泌細胞激素的能力方面，如表二所示，松杉靈芝 YK01 與低劑量 YK07 的補充，皆可促進自發性 Th1 細胞激素 IL-2 的分泌，高劑量 YK01 組與 YK07 兩組，



圖四 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠脾臟細胞增生能力之影響

Fig. 4. The effect of *Ganoderma tsugae* YK01 and YK07 on the PHA and LPS stimulated splenocytes proliferation of BALB/c mice. Data are mean $\pm$ SD of 10 mice per group. *Significant difference at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test. (L: low dose, H: high dose, see Table 1)

受 PHA 活化的 IL-2 分泌量顯著高於控制組。同時, Th2 細胞激素 IL-4 自發性的分泌顯著較低, YK01 高劑量組也顯著抑制 PHA 刺激下 IL-4 的分泌, 顯示有利於免疫平衡的調節作用, 增加可抵抗病毒、細菌和原蟲的 Th1 免疫反應, 而減少造成過敏的 Th2 免疫反應⁽²⁴⁾。

關於靈芝對 T 細胞影響方面的研究, 有研究指出, 受放射線傷害小鼠給予補充靈芝多醣, 可顯著促進脾臟 T 細胞的增生, 並增加 CD4⁺ 與 CD8⁺ T 細胞數量⁽²⁵⁾。Bao 等人⁽¹¹⁾ 的研究亦証實靈芝多醣可顯著促進 T 細胞的增生。由於 T 細胞的活化需要抗原呈獻細胞的協助, Lin 等人進一步指出靈芝多醣可活化樹突細胞分泌 IL-12, 而活化 T 細胞分泌 IFN γ , 使傾向 Th1 免疫反應⁽⁹⁾。本試驗的松杉靈芝補充除

表二 松杉靈芝補充對 BALB/c 小鼠脾臟細胞激素生成之影響

Table 2. The effect of *Ganoderma tsugae* YK01 and YK07 on cytokine productions from splenocytes of BALB/c mice

Group ¹	Mitogen	
	Spontaneous	PHA10
	IL-2 (units/10 ⁶ cells)	
Control	0.90 $\pm$ 0.09	1.68 $\pm$ 0.36
YK01-L	1.00 $\pm$ 0.14 ²	1.99 $\pm$ 1.12
YK01-H	1.12 $\pm$ 0.10 ²	2.28 $\pm$ 0.60 ²
YK07-L	1.07 $\pm$ 0.17 ²	2.85 $\pm$ 1.34 ²
YK07-H	0.89 $\pm$ 0.10	2.55 $\pm$ 0.64 ²
	IL-4 (pg/10 ⁶ cells)	
	Control	4.46 $\pm$ 0.24
	YK01-L	4.30 $\pm$ 0.68
	YK01-H	3.80 $\pm$ 0.44 ²
	YK07-L	4.12 $\pm$ 0.50 ²
	YK07-H	4.02 $\pm$ 0.20 ²
		7.40 $\pm$ 1.13

1 Splenocyte at a concentration of 5×10^6 cells/mL were cultured with medium in the absence or presence of 10 μ g/mL PHA for 48 hrs. Values are mean $\pm$ SD of 10 mice per group.

2 Significantly different at the 0.05 level compared with control group by Student's *t*-test. (L: low dose, H: high dose, see Table 1)

了可促使 IL-2 分泌, 自發性 IL-4 分泌也較低。已知 IL-4 分泌增加會促使 IgE 抗體的生成, 因而造成過敏反應的發生。本研究室另以松杉靈芝產餵食過敏性氣喘小鼠, 結果顯示, 松杉靈芝具有減緩呼吸道發炎的作用⁽²⁶⁾, 顯示松杉靈芝有利於降低 Th2 反應, 調節 Th1 與 Th2 免疫反應的平衡。

結 論

本研究以兩種松杉靈芝產品進行小鼠餵食試驗顯示, 兩種產品皆可降低肝臟過氧化物指標, 具抗氧化功能, 促進 IgG 抗體生成, 以及促進脾臟細胞分泌 IL-2 而抑制自發性 IL-4 分泌, 均具調節免疫平衡的作用。此外, YK01 亦增加血清 IgM 的含量, 促使吞噬細胞與自然殺手細胞的活化。而 YK07 顯著促進血清 IgA 的含量, 以及脾臟 T 細胞的增生能力。因此, 二種松杉靈芝產品對免疫反應的影響指標略有不同, 推測可能兩種靈芝在多醣類與三萜類上的成份與比例有所不同, 值得進一步探討。

誌謝

本研究感謝戚祖沅、謝佳倩、洪永瀚、呂麗琴、陳孟嵐參與動物飼養與犧牲工作，謹誌謝忱。

參考文獻

- (1) C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport and J. D. Capra: Immunobiology: The immune system in health and disease. 4th ed. pp. 13-23. Garland, NY, USA (1999).
- (2) P. C. Calder and S. Kew: The immune system: a target for functional foods? *Brit. J. Nutr.*, **88**: S165-S176 (2002).
- (3) Y. Kabir, S. Kimura and T. Tamura: Dietary effect of *Ganoderma lucidum* mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats (SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **34**: 433-438 (1988).
- (4) H. Hajjaj, C. Mace, M. Roberts, P. Niederberger and L. B. Fay: Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**: 3653-3658 (2005).
- (5) J. M. Lee, H. Kwon, J. W. Lee, S. Y. Lee, S. J. Baek and Y. J. Surh: Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytother. Res.*, **15**: 245-249 (2001).
- (6) E. M. Giner-Larza, S. Manez, R. M. Giner-Pons, M. C. Recio and J. L. Rios: On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. *J. Ethnopharmacol.*, **73**: 61-69 (2000).
- (7) Y. Gao, S. Zhou, W. Jiang, M. Huang and X. Dai: Effects of Ganopoly® (A *Ganoderma lucidum* polysaccharide extract) on the immune functions in advanced-stage cancer patients. *Immuno. Inves.*, **32**: 201-215 (2003).
- (8) H. Y. Hsu, K. F. Hua, C. C. Lin, C. H. Lin, J. Hsu and C. H. Wong: Extract of Reishi polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein kinase signaling pathways. *J. Immunol.*, **173**: 5989-5999 (2004).
- (9) Y. L. Lin, Y. C. Liang, S. S. Lee and B. L. Chiang: Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induced activation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells by the NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase pathways. *J. Leukoc. Biol.*, **78**: 533-543 (2005).
- (10) H. S. Chen, Y. F. Tsai, S. Lin, C. C. Lin, K. H. Khoo, C. H. Lin and C. H. Wong: Studies on the immunomodulating and anti-tumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**: 5595-5601 (2004).
- (11) X. F. Bao, X. S. Wang, Q. Dong, J. N. Fang and X. Y. Li: Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochem.*, **59**: 175-181 (2002).
- (12) H. B. Zhao, S. Q. Lin, J. H. Liu and Z. B. Lin: Polysaccharide extract isolated from *Ganoderma lucidum* protects rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury. *J. Pharmacol. Sci.*, **95**: 294-298 (2004).
- (13) J. L. Mau, H. C. Lin and C. C. Chen: Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 6072-6077 (2002).
- (14) M. J. Hsu, S. S. Lee, S. T. Lee and W. W. Lin: Signaling mechanisms of enhanced neutrophil phagocytosis and chemotaxis by the polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum*. *Br. J. Pharmacol.*, **139**: 289-298 (2003).
- (15) C. H. Lieu, S. S. Lee and S. Y. Wang: The effect of *Ganoderma lucidum* on induction of differentiation in leukemic U937 cells. *Anticancer Res.*, **12**: 1211-1216 (1992).
- (16) W. M. Wu, B. L. Chiang, S. C. Chang and B. F. Lin: Dietary fish oil increases CD8⁺ T-cells and decreases autoreactive T-cell activity in autoimmune NZB/W F1 mice. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **34**: 41-49 (2001).
- (17) 陳妙齡：以松杉靈芝飼食 BALB/c 鼠探討腹腔免疫反應的功能評估指標。國立台灣大學農業化學研究所碩士論文，台北，台灣 (2000)。
- (18) C. M. Chien, J. L. Cheng, W. T. Chang, M. H. Tien, C. M. Tsao, H. Y. Chang, J. F. Hsieh, C. H. Wong and S. T. Chen: Polysaccharides of *Ganoderma lucidum* alter cell immunophenotypic expression and enhance CD56⁺ NK-cell cytotoxicity in cord blood. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**: 5603-5609 (2004).
- (19) S. J. Won, M. T. Lin and W. L. Wu: *Ganoderma tsugae* mycelium enhances splenic natural killer cell activity and serum interferon production in mice. *Japan. J. Pharmacol.*, **59**: 171-176 (1992).
- (20) C. Y. T. Zhou, Q. J. Ang, Y. Yan, Q. Guo, Y. Q. Bai and Y. J. Pan: Antitumor effect of Ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*. *Mycosystema.*, **232**: 275-279 (2004).
- (21) S. J. Won, S. S. Lee, Y. H. Ke and M. T. Lin: Enhancement of splenic NK cytotoxic activity by extracts of *Ganoderma lucidum* mycelium in mice. *J. Biomed. Lab. Sci.*, **2**: 201-213 (1989).
- (22) B. M. Shao, H. Dai, W. Xu, Z. B. Lin and X. M. Gao: Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **323**: 133-141 (2004).
- (23) J. Zhang, Q. Tang, M. Zimmerman-Kordmann, W. Reutter and H. Fan: Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum*. *Life. Sci.*, **71**: 623-638 (2002).
- (24) S. L. Swain, A. D. Weinberg, M. English and G. Huston: IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors. *J. Immunol.*, **145**: 3796-3806 (1990).
- (25) W. C. Chen, D. M. Hau, C. C. Wang, I. H. Lin and S. S. Lee: Effects of *Ganoderma lucidum* and krestin on subset T-cell in spleen of γ -irradiated mice. *Am. J. Chin. Med.*, **23**: 289-298 (1995).
- (26) J. Y. Lin, M. L. Chen, B. L. Chiang and B. F. Lin: *Ganoderma tsugae* supplementation alleviates bronchoalveolar inflammation in an airway sensitization and challenge mouse model. *Int. Immunopharmacol.*, **6**: 241-251 (2006).