

牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）於 Sprague-Dawley 大鼠之 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗

王志源¹，古幸宜^{2*}，蔡岳廷^{2#}

勝華科技股份有限公司，台中市¹；台美檢驗科技有限公司，新北市²，台灣

摘要

牛樟菇 (*Antrodia cinnamomea*) 是台灣珍貴真菌種，具多種健康效益包括抗氧化、抗腫瘤、保護肝功能及抗發炎等功效，本試驗係依據衛生福利部食品藥物管理署公告之健康食品安全性評估方法，進行大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗，評估「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」對大鼠可能產生之毒性影響，作為重複使用安全性之參考。本試驗共設置 4 組試驗組，分別為對照組、低、中及高劑量組，每組使用雄性及雌性 Sprague-Dawley (SD) 品系大鼠各 10 隻，試驗物質以口服管餵方式連續 90 天投予，劑量分別為 30 mg/kg B.W.、37.5 mg/kg B.W. 及 40.0 mg/kg B.W.。試驗結果顯示，所有試驗大鼠於臨床症狀觀察、體重變化、攝食量分析及眼睛檢查，均無顯現異常變化；尿液學檢查、血液學檢查及血清生化檢查，均未顯現出任何與試驗物質有關之臨床毒性反應；病理解剖、肉眼病理學檢查以及組織病理學檢查結果顯示，均無顯現試驗物質相關之病理變化。綜合以上實驗結果，「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」對大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗之無毒性顯示之劑量 (No-Observed-Adverse-Effect Level, NOAEL) 為 40.0 mg/kg B.W.。

關鍵字：牛樟芝子實體萃取物、90 天重複劑量亞慢性毒性試驗、無毒性顯示之劑量 (NOAEL)

前言

牛樟芝 (*Antrodia cinnamomea*) 為台灣特有藥用真菌種，又稱樟菇、樟芝、牛樟芝，屬真菌界 (*Fungi*)，擔子菌門 (*Basidiomycota*)，擔子菌綱 (*Basidiomycetes*)，多孔菌目 (*polyporales*)，多孔菌科 (*Polyporaceae*)，台芝屬 (*Taiwanofungus*)，以寄生型態生長於高海拔的牛樟樹 (*Cinnamomum kanehirae*) 腐朽的中

空心材中^[1-2]，牛樟菌菌絲體為孢子發芽後形成的單核菌絲體 (mycelium)，吸取基質養份生長至一定階段，長成雙異核的子實體 (fruiting body)，牛樟菌子實體成長緩慢而外型多樣包括板狀或鐘狀，表面呈鮭紅色、紅褐色、黃褐色甚或黑色等^[3-4]。台灣民間普遍認為牛樟芝有解毒、治療腹痛、改善高血壓、抗癌等功效，素有「森林紅寶石」盛名^[3]。

牛樟菌生物活性成份包括有三萜類化合物 (triterpenoids)、多醣體 (polysaccharides)、腺苷 (adenosine)、超氧歧化酵素 (superoxide dismutase; SOD)、維生素 (如 Vit B、菸鹼酸)、麥角固醇 (ergosterol)、及凝集素 (lectin)^[4]，研究指出牛樟菇萃取物中的多醣體，具

* 同第一作者具有相等的貢獻度

通訊地址：台美檢驗科技有限公司

24890 新北市新莊區五工五路 21 號 蔡岳廷

電話：886-(02)2298-1887

E-mail：amber.gu@superlab.com.tw

有清除自由基、還原能力及螯合亞鐵離子而展現抗氧化功效^[5-6]。抗腫瘤方面，Yeh 等人研究指出牛樟芝子實體萃取物中的麥角甾烷型化合物(egrostane)於結腸癌細胞株 HT-29、HCT-116 及 SW-480 具細胞毒殺作用，於乳腺癌細胞 MDA-MB-231 表現細胞毒性^[7]；Cherng 等人研究證實，牛樟芝子實體萃取物中 antcin A 於血癌細胞 (P-388 murine leukemia) 有抑制生長的作用^[8]；Chen 等人研究指出，牛樟菇子實體中 MMH01 分子於人類骨髓性白血病細胞及胰腺癌細胞，會藉由細胞週期的調控及活化，誘導細胞凋亡及壞死，進而抑制癌細胞生長^[9]；Tu 等人研究證實，牛樟菇子實體中的 4,7-Dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole 會啟動 P53/p27/Kip1 蛋白的訊息傳導，誘導癌細胞死亡，而達到抗腫瘤功效^[10]；Lin 等人研究指出，牛樟菇子實體中 camphorataimide B 分子經由細胞週期的調控機制，抑制乳癌細胞生長^[11]。抗發炎方面，Hseu 等人研究證實，牛樟菇萃取物會抑制 iNOS、COX-2 及 NF- κ B 等發炎因子的訊息傳導，而達到抗發炎作用^[12]，Lu 等人研究發現三萜類化合物 antcin A 會模擬糖皮質激素 (glucocorticoids) 作用進入細胞核啟動抗發炎機制，進而展現免疫調節作用^[13]。

野生牛樟芝相當稀少取得不易，目前市面上牛樟芝相關產品多以人工方式培植，包括液體發酵法、固體培養法、和椴木式固態栽培法，不同培植方式養成的牛樟菌，其生物活性成份會因不同的生化代謝途徑而有所差異^[2-4]，本試驗即針對勝華科技股份有限公司提供之「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）The Fruiting body extract of *Antrodia cinnamomea*」，依照 1999 年行政院衛生福利部食字第 88037803 號公告健康食品安全性評估方法^[14]，進行 90 天餵食毒性試驗，進行大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗，以作為重複食用安全性之參考。

材料與方法

試驗物質

勝華科技股份有限公司（台中市，台灣）提供「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」，該萃取物為採集自牛樟椴木栽培之一兩以上牛樟芝子實體，經 95% 食用酒精多次萃取與乾燥而得之，物質形態為橘紅色粉末狀，存放於冷藏(5±3°C)。

試驗物質配製

本試驗共設置對照組投予逆滲透水，低、中及高劑量組分別投予試驗物質 30 mg/kg B.W.、37.5 mg/kg B.W. 與 40.0 mg/kg B.W.，每日秤取適量之試驗物質以逆滲透水分別配製為 3.00 mg/mL、3.75 mg/mL 及 4.00 mg/mL 懸浮液。

試驗動物

Sprague-Dawley (SD) 大鼠購自樂斯科生物科技股份有限公司（宜蘭縣，台灣），5 週齡，經 7 天檢疫及環境適應期，試驗前進行臨床觀察確保動物健康狀況無任何異常；雄性及雌性大鼠分開飼養，每 2 隻大鼠飼養於不銹鋼籠架中，以水瓶方式提供充分經高溫高壓滅菌之逆滲透水，飼料為 MFG (Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo, Japan)，飼育房溫度範圍為 22 ± 3°C，溼度範圍為 55 ± 15%，並以 12 小時為光暗週期進行飼養。本動物試驗經台美檢驗科技有限公司實驗動物照護及使用委員會審查同意執行。

90 天亞慢性毒性試驗流程

本試驗依照行政院衛生福利部食字第 88037803 號公告健康食品安全性評估方設計^[14]，每組使用雄雌大鼠各十隻；試驗期間，各劑量組分別以餵食針投予「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之低、中及高劑

量，連續 90 天；檢測項目包括，投予試驗物質前及試驗結束時進行眼睛檢查，試驗期間，每日進行試驗動物臨床觀察，每週測量試驗動物體重及攝食量，試驗完成後，採集尿液、血液及臟器，進行尿液檢查、血液學分析、血清生化分析及組織病理學檢查。

臨床症狀觀察

試驗期間每日進行臨床觀察，並記錄投予試驗物質後試驗大鼠是否顯現異常臨床症狀或死亡情形，所有異常臨床症狀或死亡情形均須記錄。

眼睛檢查

所有動物在試驗開始前及試驗結束犧牲前一日均須進行眼睛檢查，先以肉眼觀察試驗動物眼睛外觀之異常，再使用檢眼鏡 (Ophthalmoscope) 檢查眼睛內部構造，並記錄所有異常症狀。

體重及攝食量

試驗期間每週測量各組大鼠體重及攝食量 1 次。

尿液分析

動物犧牲前以代謝籠採集尿液檢體，利用尿液檢測分析儀 (PU-4010, ARKRAY Core Laboratory, Japan) 分析各組大鼠尿液之比重 (specific gravity, SG)、顏色 (color)、蛋白質 (protein)、尿膽素原 (urobilinogen)、酸鹼值 (pH)、酮體 (ketone body)、膽紅素 (bilirubin)、葡萄糖 (glucose)、亞硝酸鹽 (nitrite)、潛血 (occult blood) 及白血球酯酶 (Leukocyte esterase)。將尿液離心進行尿沉渣顯微鏡檢查，包括白血球 (white blood cell, WBC)、紅血球 (red blood cell, RBC) 及上皮細胞 (epithelial cell, EP) 細胞種類、尿結晶 (crystals) 及微生物。

血液學檢查

試驗動物經隔夜禁食以二氧化碳犧牲，由下腔靜脈採集血液，利用全自動血球分析儀 (XE-1800i, Sysmex, Canada) 分析以下項目：血球容積比 (hematocrit, Hct)、血紅素量 (hemoglobin, Hb)、紅血球數 (RBC)、白血球數 (WBC)、血小板數 (platelet count)、平均紅血球容積 (mean corpuscular volume, MCV)、平均紅血球血紅素 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、淋巴球 (lymphocyte)、嗜中性球 (neutrophil) 及單核球 (monocyte)。凝血酶原時間 (prothrombin time, PT) 另以全自動血液凝固分析儀 (CA-1500, Sysmex, Canada) 檢測。

血清生化檢查

血液檢體離心後分離出血清以血清生化分析儀 (7070 Autoanalyzer, Hitachi, Japan) 分析：鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、麩氨酸氨基轉氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、丙麩氨轉肽酶 (gamma-glutamyl transpeptidase, γ -GT)、白蛋白 (albumin)、球蛋白 (globulin)、血總蛋白質 (total protein, TP)、總膽紅素 (total bilirubin, TBIL)、肌酸酐 (creatinine, Creti)、血中尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、葡萄糖 (glucose)、膽固醇 (cholesterol)、三酸甘油酯 (triglyceride, TG)、無機磷 (phosphorus)、鈣離子 (calcium)、氯離子 (chloride)、鉀離子 (potassium) 及鈉離子 (sodium)。

肉眼病變檢查及臟器重量分析

試驗動物犧牲後進行解剖，以肉眼檢查大鼠外觀、口腔、顱腔及胸、腹腔內各組織及器官，並採集大鼠各臟器，其中腦 (brain)、心臟 (heart)、腎臟 (kidney)、肝臟 (liver)、脾臟 (spleen)、腎上腺 (adrenal gland)、睪丸

(testis) 或卵巢(ovary)組織，去除周邊脂肪組織後分別記錄其絕對重量，並計算各臟器與體重(試驗第 91 天)之比值(organ weight relative body weight ratios)，即臟器相對重量比率(%) = 臟器重量(g) ÷ 體重(g) × 100%。各臟器組織以 10% 中性福馬林溶液進行固定及保存，各組大鼠睪丸及眼睛則以 modified Davidson's solution 固定 24 小時後，再以 10% 中性福馬林溶液保存。

組織病理學檢查

將所採集的對照組及高劑量組雄鼠及雌鼠之各組織器官製作病理切片^[15]。將完成福馬林溶液固定之各組織器官經粗修後，再經脫水、澄清、石臘浸潤及包埋等步驟處理，製成石臘組織塊，再以石臘組織切片機(RM 2145, Leica, Germany)切成 2~5 μm 厚度之組織切片，以 Hematoxylin & Eosin (H&E) 染色，於光學顯微鏡(BX51, Olympus, Japan)下觀察各臟器之組織病理變化；組織病理變化描述及評估標準。若高劑量組中某種器官及/或組織發現與試驗物質有關之病變，則中劑量組及低劑量組動物該器官及/或組織，均須進行組織病理學檢查。

依據 Shackelford 等人(2002)之方法^[16-17]，病變之嚴重度分成五級：1、2、3、4 與 5 級，這些分別代表病變極微(minimal)、輕度(slight)、中度(moderate)、中度嚴重(moderately severe) 與極度嚴重(severe/high)變化。病變發生率於表 12，病變代表性照片於圖 1。

數據整理與分析

實驗數據以平均值(mean)及標準差(standard deviation, S.D.)表示。動物之體重、攝食量、臟器重量、血液學分析及血清生化分析等數據，均利用 SPSS 統計軟體中單因子變異數分析(One-Way ANOVA)及 Duncan's multiple range test 分析各組別間數據之差異

性，並以 p 值小於 0.05 作為顯著差異水準。

結 果

臨床觀察及眼睛檢查

各劑量組及對照組大鼠於試驗期間，每日臨床觀察均未出現任何異常之臨床症狀，活動正常、毛皮維持光澤無掉毛現象，並所有大鼠均存活至試驗結束。眼睛檢查於投予試驗物質前及試驗結束時進行，各劑量及對照組之雄雌大鼠眼睛檢查均無發現任何異常。

試驗動物體重及攝食量

動物體重於試驗期間每週紀錄一次，結果顯示，對照組及各劑量組大鼠皆正常增重，雄鼠高劑量組於第 7 週體重與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，其餘各劑量組與對照組相比無統計差異 ($p > 0.05$) (表 1~2)。

攝食量於試驗期間每週紀錄一次，結果顯示，部分組別於第 8~10 週與對照組相比較高 ($p > 0.05$)，其餘試驗期間，雌雄大鼠的攝食量於各劑量組與對照組間無統計差異 ($p > 0.05$) (表 3~4)。

臟器肉眼病變及臟器重量

臟器肉眼病變檢查結果顯示，各劑量組雄雌大鼠及對照組均無發現與試驗物質有關之肉眼病變。臟器重量分析結果顯示，雄鼠高劑量組心臟與對照組相比較重 ($p < 0.05$)，其餘各劑量組雄雌大鼠之臟器相對重量與對照組無統計差異 ($p > 0.05$) (表 5)。

血液學分析

雄鼠方面，低劑量組白血球(white blood cell, WBC)、單核球(monocyte)與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，中劑量組白血球(white blood cell, WBC)、血紅蛋白(hemoglobin)、平均紅血球血紅素濃度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、單核球

(monocyte)、嗜酸性白血球(eosinophil)與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，高劑量組血小板(platelet)與對照組相比較高($p < 0.05$)、單核球(monocyte)、嗜酸性白血球(eosinophil)與對照組相比較低($p < 0.05$)，其餘項目各劑量組與對照組相比無統計差異($p > 0.05$) (表6)。

雌鼠方面，低、中、高劑量組平均紅血球血紅素濃度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，中劑量嗜酸性白血球 (eosinophil)與對照組相比較低($p < 0.05$)，高劑量組嗜中性球(neutrophil)與對照組相比較低($p < 0.05$)，其餘項目各劑量組與對照組相比無統計差異 ($p > 0.05$) (表7)。

血清生化分析

雄鼠方面，中劑量組麩氨酸氨基轉氨酶(aspartate transaminase, AST)、鉀離子(potassium)與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，鈉離子(sodium)與對照組相比較高($p < 0.05$)，其餘項目各劑量組與對照組相比無統計差異 ($p > 0.05$) (表8)。

雌鼠方面，低劑量組尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、麩氨酸氨基轉氨酶(aspartate transaminase, AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、三酸甘油酯(triglyceride)、鉀離子(potassium)與對照組相比較低 ($p < 0.05$)，膽固醇(cholesterol)與對照組相比較高($p < 0.05$)。中劑量組尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、麩氨酸氨基轉氨酶(aspartate transaminase, AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、三酸甘油酯(triglyceride)、鉀離子(potassium)與對照組相比較低($p < 0.05$)，高劑量組尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、三酸甘油酯(triglyceride)與對照組相比較低($p < 0.05$)，膽固醇(cholesterol)、鈣離子(Calcium)與對照組相比較高 ($p < 0.05$) (表9)。

尿液分析

尿沉渣顯微鏡檢及尿液生化常規檢查結果顯示，雄雌大鼠各劑量組與對照組比均無顯著異常 (表10~11)。

組織病理學判讀

對照組及高劑量組組織病理判讀結果顯示 (表12)：

哈氏腺：單核炎症細胞浸潤(mononuclear cell infiltration)發生率於雄鼠對照組、雄鼠高劑量組及雌鼠高劑量組分別為 1/10、1/10 及 2/10，病變嚴重性均為局部極微 (圖1A)。色素增多(increased pigmentation)發生率於高劑量組雄鼠及高劑量組雌鼠各可見 1 隻的發生，病變嚴重性均為極微 (圖1B)；以上病理變化之積分於組間均無統計差異 ($p > 0.05$)。

胰臟：脂肪浸潤(adipocytes infiltration)發生率僅於對照組雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性為極微。

肝臟：肝細胞質空泡，大泡性(hepatocellular cytoplasmic vacuolation, macrovesicular)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 5/10 及 4/10，雌鼠對照組及高劑量組均為 3/10，病變嚴重性均為極微 (圖1C)。混合性炎症細胞浸潤(mixed type inflammatory cell infiltration)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 5/10 及 6/10，雌鼠對照組為 4/10，病變嚴重性均為散發極微 (圖1D)。肝細胞壞死(necrosis)發生率僅於高劑量雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性極微；以上病理變化之積分於組間均無統計差異($p > 0.05$)。

脾臟：髓外造血(extramedullary hematopoiesis)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 6/10 及 7/10，於雌鼠對照組及高劑量組分別為 3/10 及 7/10，病變嚴重性均為極微 (圖1E)。

腎上腺：腎上腺皮質束狀區細胞質空泡

(cytoplasmic vacuolation, zona fasciculata)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 4/10 及 2/9 (圖 1F); 以上病理變化之積分於組間均無統計差異($p > 0.05$)。

甲狀腺：單核炎症細胞浸潤(mononuclear cell infiltration)發生率僅於高劑量雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性為局部極微，此病理變化之病理積分組間無統計差異($p > 0.05$)。

心臟：心肌單核炎症細胞浸潤(mononuclear cell infiltration, myocardium)發生率僅於高劑量雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性為局部極微，此病理變化之病理積分組間無統計差異 ($p > 0.05$)。

腎臟：慢性進展性腎病(chronic progressive nephropathy)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 3/10 及 1/10，於雌鼠對照組為 1/10，病變嚴重性均為極微 (圖 1G)。單核細胞浸潤，間質(mononuclear cell infiltration, interstitial)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 2/10 及 3/10，於雌鼠對照組及高劑量組均為 2/10，病變嚴重性均為極微 (圖 1H)。

腎臟囊泡 (cyst) 發生率僅於對照組雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性為極微；以上病理變化之積分於組間均無統計差異($p > 0.05$)。

股骨：脂肪細胞增多，骨髓(increased adipocytes, bone marrow)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 6/10 及 5/10，於雌鼠對照組及高劑量組分別為 2/10 及 1/10，病變嚴重性均為極微 (圖 1I)，此病理變化之病理積分組間無統計差異($p > 0.05$)。前列腺：單核炎症細胞浸潤(mononuclear cell infiltration)發生率於雄鼠對照組及高劑量組分別為 4/10 及 3/10，病變嚴重性均為極微 (圖 1J)，此病理變化之病理積分組間無統計差異($p > 0.05$)。

副睪：精液肉芽腫，副睪尾(spermatic granuloma, cauda) 發生率僅於對照組雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性極微。單核炎症細胞浸潤，副睪頭(mononuclear cell infiltration, caput)病變發生率僅於高劑量組雄鼠可見 1 隻的發生，病變嚴重性為極微；以上病理變化之積分於組間均無統計差異($p > 0.05$)。

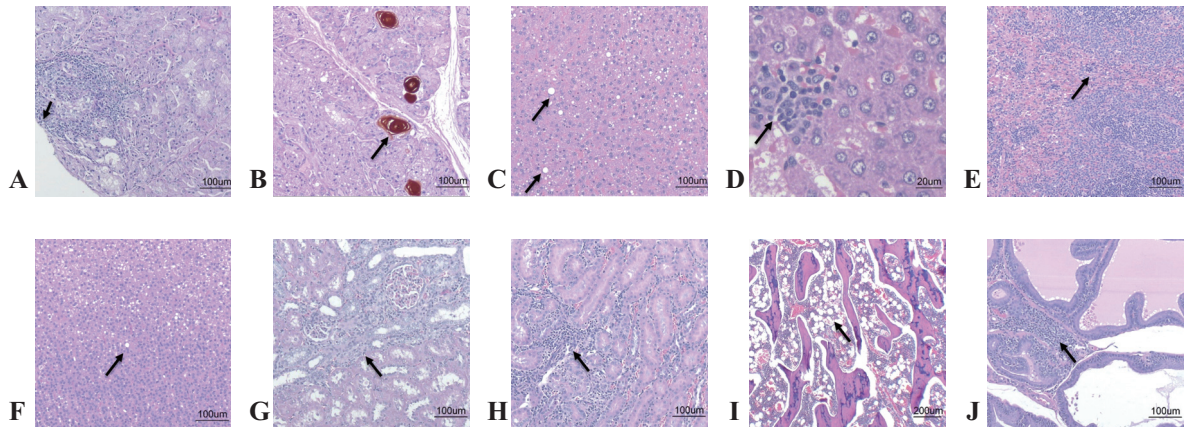


圖 1. 「牛樟芝子實體萃取物(牛樟椴木栽培)」大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗之非特异性組織病理學變化。

本試驗所見病變為大鼠非特异性組織病理學變化，包含 A：哈氏腺單核炎症細胞浸潤 (100x, animal ID 31F)；B：哈氏腺色素增多 (100x, animal ID 33M)；C：肝臟細胞質空泡 (100x, animal ID 08M)；D：肝臟混合性炎症細胞浸潤 (400x, animal ID 39M)；E：脾臟髓外造血 (100x, animal ID 40F)；F：腎上腺細胞質空泡 (100x, animal ID 10M)；G：腎臟慢性進展性腎病 (100x, animal ID 06M)；H：腎臟單核炎症細胞浸潤 (100x, animal ID 34M)；I：股骨脂肪細胞增多 (40x, animal ID 07M)；J：前列腺單核炎症細胞浸潤 (100x, animal ID 04M) (箭頭標示為病變處，H&E 染色)。

表 1. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雄鼠體重變化

試驗週數	平均體重(g) ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
試驗前	215.8 ± 13.3	215.7 ± 6.8	215.0 ± 12.1	215.4 ± 9.2
第 1 週	269.0 ± 13.8	259.5 ± 6.4	264.7 ± 15.9	261.9 ± 12.0
第 2 週	323.4 ± 16.7	309.1 ± 8.0	317.6 ± 18.7	310.2 ± 14.1
第 3 週	364.8 ± 20.6	350.6 ± 11.6	362.4 ± 22.6	348.8 ± 15.8
第 4 週	395.4 ± 20.0	381.4 ± 14.5	391.5 ± 28.6	375.8 ± 18.2
第 5 週	426.3 ± 21.0	414.7 ± 16.4	426.8 ± 36.8	407.7 ± 22.5
第 6 週	446.4 ± 23.8	437.1 ± 18.3	451.5 ± 27.1	424.4 ± 24.4
第 7 週	473.8 ± 28.0	459.7 ± 15.1	474.6 ± 31.1	448.4 ± 29.2*
第 8 週	485.6 ± 29.0	481.7 ± 23.7	498.5 ± 33.9	467.4 ± 31.5
第 9 週	500.5 ± 31.4	503.9 ± 26.6	516.9 ± 34.9	486.9 ± 35.8
第 10 週	521.0 ± 32.3	519.1 ± 27.1	529.5 ± 35.0	498.5 ± 36.1
第 11 週	529.7 ± 33.0	525.2 ± 25.8	539.8 ± 34.5	509.1 ± 37.8
第 12 週	543.5 ± 35.7	535.8 ± 24.3	549.6 ± 35.4	521.7 ± 41.1
第 13 週	554.9 ± 34.8	550.4 ± 30.1	565.3 ± 36.4	534.3 ± 42.0
禁食後 ^b	522.8 ± 34.5	515.2 ± 28.3	559.8 ± 58.1	496.4 ± 39.8

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n = 10。^b 大鼠犧牲前經隔夜禁食後之空腹平均體重。*與對照組比較具顯著性差異($p < 0.05$)。

表 2. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雌鼠體重變化

試驗週數	平均體重(g) ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
試驗前	189.6 ± 12.2	189.5 ± 8.0	189.3 ± 11.4	189.4 ± 7.6
第 1 週	208.5 ± 15.5	205.0 ± 13.0	204.5 ± 15.8	202.8 ± 12.0
第 2 週	227.8 ± 23.7	225.0 ± 15.5	225.2 ± 22.5	219.3 ± 14.2
第 3 週	244.0 ± 21.9	241.0 ± 18.0	238.3 ± 20.8	235.9 ± 14.0
第 4 週	258.6 ± 25.5	254.9 ± 22.0	256.7 ± 28.7	254.0 ± 19.3
第 5 週	264.9 ± 28.5	264.9 ± 25.6	262.1 ± 28.5	259.8 ± 19.9
第 6 週	273.1 ± 30.6	271.7 ± 22.7	271.0 ± 33.0	266.4 ± 19.2
第 7 週	283.6 ± 33.4	283.9 ± 24.5	281.4 ± 37.2	278.2 ± 22.3
第 8 週	287.3 ± 34.8	292.0 ± 27.0	287.0 ± 38.3	284.9 ± 21.7
第 9 週	291.8 ± 36.6	296.9 ± 27.6	293.1 ± 40.0	290.2 ± 24.3
第 10 週	294.3 ± 36.3	299.6 ± 27.6	295.3 ± 40.4	293.4 ± 23.4
第 11 週	296.5 ± 36.9	303.2 ± 28.3	297.6 ± 41.0	296.5 ± 23.1
第 12 週	299.3 ± 37.9	306.2 ± 28.8	300.3 ± 41.3	300.3 ± 22.8
第 13 週	300.4 ± 37.9	309.2 ± 29.3	303.2 ± 43.3	303.2 ± 22.5
禁食後 ^b	278.9 ± 34.8	286.2 ± 26.4	281.4 ± 41.3	278.7 ± 26.1

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n = 10。^b 大鼠犧牲前經隔夜禁食後之空腹平均體重。

表 3. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雄鼠攝食量

試驗週數	平均攝食量(g/rat/day) ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
第 1 週	22.0 ± 2.1	20.2 ± 1.2	21.8 ± 1.7	21.3 ± 0.8
第 2 週	27.0 ± 1.7	25.7 ± 1.1	26.8 ± 1.4	26.5 ± 0.7
第 3 週	27.5 ± 1.9	26.4 ± 1.3	27.6 ± 1.4	26.7 ± 0.7
第 4 週	25.8 ± 1.8	26.0 ± 0.8	26.0 ± 1.3	25.7 ± 1.4
第 5 週	26.0 ± 2.9	26.4 ± 1.6	27.5 ± 3.9	27.0 ± 1.5
第 6 週	25.7 ± 1.8	25.5 ± 1.2	25.0 ± 5.3	25.4 ± 1.8
第 7 週	25.7 ± 1.6	26.4 ± 1.1	27.4 ± 1.9	27.0 ± 1.4
第 8 週	26.0 ± 1.8	26.8 ± 1.8	28.8 ± 1.5*	27.7 ± 1.1
第 9 週	23.7 ± 1.5	25.1 ± 1.7	26.8 ± 1.5*	25.6 ± 1.6
第 10 週	26.1 ± 1.8	26.2 ± 1.4	27.8 ± 1.3	27.1 ± 1.2
第 11 週	25.2 ± 1.6	25.1 ± 1.3	27.1 ± 1.5	26.7 ± 1.2
第 12 週	24.7 ± 1.8	24.9 ± 1.3	26.7 ± 1.6	26.1 ± 1.4
第 13 週	21.7 ± 1.8	21.4 ± 1.1	23.0 ± 1.2	21.8 ± 1.8

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n = 5（每個鼠籠飼養 2 隻大鼠）。* 與對照組比較具顯著性差異（ $p < 0.05$ ）。

表 4. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雌鼠攝食量

試驗週數	平均攝食量(g/rat/day) ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
第 1 週	15.1 ± 1.2	15.5 ± 1.2	15.2 ± 1.0	15.5 ± 1.7
第 2 週	18.1 ± 2.9	18.5 ± 1.0	18.4 ± 1.7	18.2 ± 2.2
第 3 週	18.3 ± 1.8	15.3 ± 6.0	18.2 ± 1.5	19.0 ± 1.7
第 4 週	18.2 ± 1.8	19.1 ± 1.7	19.0 ± 2.0	20.0 ± 2.3
第 5 週	17.5 ± 2.2	19.2 ± 1.5	18.5 ± 2.0	19.6 ± 2.9
第 6 週	18.5 ± 2.0	18.9 ± 1.2	18.6 ± 2.0	19.7 ± 1.3
第 7 週	17.5 ± 1.7	18.6 ± 1.1	18.3 ± 1.9	19.7 ± 1.7
第 8 週	17.5 ± 1.6	18.6 ± 1.6	18.0 ± 1.9	18.7 ± 1.1
第 9 週	16.8 ± 1.9	18.5 ± 1.0	18.1 ± 1.8	18.6 ± 1.6
第 10 週	16.2 ± 1.8	18.2 ± 0.6*	17.5 ± 1.4	18.6 ± 1.5*
第 11 週	17.2 ± 2.0	18.2 ± 1.0	18.2 ± 2.3	18.5 ± 1.1
第 12 週	17.2 ± 1.9	18.4 ± 1.0	17.8 ± 1.3	18.7 ± 1.3
第 13 週	14.4 ± 1.7	15.9 ± 1.2	15.8 ± 1.4	15.6 ± 0.7

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n = 5（每個鼠籠飼養 2 隻大鼠）。* 與對照組比較具顯著性差異（ $p < 0.05$ ）。

表 5. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗各組臟器相對重量

臟器	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
雄鼠				
睪丸	0.653 ± 0.056	0.659 ± 0.043	0.639 ± 0.082	0.696 ± 0.069
腎上腺	0.011 ± 0.002	0.012 ± 0.002	0.016 ± 0.009	0.014 ± 0.004
脾臟	0.151 ± 0.024	0.157 ± 0.012	0.144 ± 0.022	0.148 ± 0.018
腎臟	0.756 ± 0.066	0.735 ± 0.035	0.716 ± 0.066	0.789 ± 0.051
心臟	0.335 ± 0.035	0.336 ± 0.022	0.323 ± 0.033	0.370 ± 0.040*
腦	0.415 ± 0.037	0.431 ± 0.024	0.391 ± 0.035	0.430 ± 0.045
肝臟	3.128 ± 0.314	3.129 ± 0.188	2.968 ± 0.342	3.276 ± 0.403
雌鼠				
卵巢	0.034 ± 0.007	0.036 ± 0.011	0.030 ± 0.007	0.037 ± 0.005
腎上腺	0.029 ± 0.003	0.031 ± 0.005	0.029 ± 0.003	0.030 ± 0.004
脾臟	0.195 ± 0.024	0.194 ± 0.017	0.190 ± 0.026	0.191 ± 0.029
腎臟	0.845 ± 0.090	0.826 ± 0.055	0.831 ± 0.046	0.828 ± 0.090
心臟	0.430 ± 0.079	0.402 ± 0.040	0.397 ± 0.056	0.384 ± 0.033
腦	0.744 ± 0.078	0.710 ± 0.086	0.720 ± 0.081	0.730 ± 0.077
肝臟	3.240 ± 0.207	3.235 ± 0.240	3.191 ± 0.261	3.341 ± 0.170

^a 所有數據均以 Mean ± S.D.表示，n = 10。* 與對照組比較具顯著性差異(p<0.05)。正常參考範圍：雄鼠心臟相對重量 = 0.36 ± 0.04。

表 6. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雄鼠各項血液學檢查

項 目	血液學分析 ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
WBC (10 ³ /μL)	13.2 ± 1.1	11.5 ± 1.9*	10.3 ± 2.5*	12.3 ± 1.1
RBC (10 ⁶ /μL)	10.2 ± 1.0	9.8 ± 0.9	9.5 ± 0.8	9.9 ± 0.7
Hemoglobin (g/dL)	18.0 ± 1.6	17.4 ± 1.3	16.5 ± 1.3*	17.3 ± 1.2
Hematocrit (%)	49.4 ± 4.7	48.8 ± 3.0	46.6 ± 3.4	48.5 ± 2.8
MCV (fL)	48.6 ± 1.8	49.8 ± 2.1	49.5 ± 1.8	48.9 ± 0.9
MCH (pg)	17.8 ± 1.0	17.8 ± 0.6	17.5 ± 0.5	17.4 ± 0.3
MCHC (g/dL)	36.5 ± 1.6	35.7 ± 0.9	35.3 ± 0.6*	35.6 ± 0.6
Platelet (10 ³ /μL)	1,026.3 ± 206.5	1,036.2 ± 120.5	1,180.4 ± 160.5	1,223.2 ± 195.9*
Neutrophil (%)	18.7 ± 7.8	19.1 ± 6.0	20.2 ± 5.4	15.9 ± 5.2
Lymphocyte (%)	74.6 ± 8.1	75.0 ± 6.3	75.1 ± 5.7	79.1 ± 5.0
Monocyte (%)	5.0 ± 0.8	4.1 ± 1.3*	3.7 ± 0.6*	3.9 ± 0.8*
Eosinophil (%)	1.5 ± 0.3	1.6 ± 0.5	0.7 ± 0.3*	1.0 ± 0.7*
Basophil (%)	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
PT (sec.)	13.0 ± 2.2	13.0 ± 0.9	12.9 ± 1.9	14.6 ± 2.2

^a 所有數據均以 Mean ± S.D.表示，n=10。*與對照組比較具顯著性差異(p<0.05)。正常參考範圍：WBC=6.0~19.0 10³/μL，Hemoglobin=14.0~17.0 g/dL，MCHC=31.0~38.0 g/dL，Platelet=800~1200 10³/μL，Levine *et al.*, 2001，Monocyte=1.1~4.1%，Eosinophil=0.7~2.0%，Giknis M.L.A. and Clifford C.B.，2006。

表 7. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗雌鼠各項血液學檢查

項目	血液學分析 ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
WBC (10 ³ /μL)	9.7 ± 3.2	8.0 ± 1.7	9.3 ± 2.6	7.9 ± 1.7
RBC (10 ⁶ /μL)	8.8 ± 0.6	8.9 ± 0.7	8.9 ± 0.6	8.3 ± 2.0
Hemoglobin (g/dL)	16.6 ± 1.1	16.7 ± 1.0	16.4 ± 1.0	15.3 ± 3.4
Hematocrit (%)	46.6 ± 3.2	47.5 ± 2.5	47.1 ± 2.7	44.0 ± 9.3
MCV (fL)	52.9 ± 1.5	53.4 ± 2.0	53.3 ± 1.5	54.5 ± 5.5
MCH (pg)	18.9 ± 0.7	18.8 ± 0.7	18.6 ± 0.5	18.9 ± 1.6
MCHC (g/dL)	35.7 ± 0.7	35.1 ± 0.6*	34.8 ± 0.3*	34.7 ± 0.6*
Platelet (10 ³ /μL)	1,064.5 ± 240.2	1,107.3 ± 171.6	1,076.9 ± 155.5	1,042.0 ± 350.4
Neutrophil (%)	14.5 ± 4.3	13.7 ± 2.0	13.0 ± 4.2	10.4 ± 3.3*
Lymphocyte (%)	79.3 ± 5.2	80.3 ± 2.3	81.7 ± 4.7	83.2 ± 4.2
Monocyte (%)	4.7 ± 1.0	4.4 ± 0.6	4.2 ± 1.1	5.0 ± 1.2
Eosinophil (%)	1.3 ± 0.4	1.3 ± 0.3	1.0 ± 0.3*	1.0 ± 0.4
Basophil (%)	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
PT (sec.)	9.6 ± 0.3	9.5 ± 0.2	9.4 ± 0.2	9.5 ± 0.3

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n=10。*與對照組比較具顯著性差異(p < 0.05)。正常參考範圍：MCHC=31.0~38.0 g/dL，Levine *et al.*, 2001，Neutrophil = 7.7~14.2%，Eosinophil = 0.6~1.6%。

表 8. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗雄鼠各項血清生化檢查

項目	血清生化分析 ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
Glucose (mg/dL)	251.0 ± 43.8	288.1 ± 59.5	286.6 ± 68.4	300.1 ± 57.7
BUN (mg/dL)	14.9 ± 1.9	14.8 ± 1.3	15.8 ± 1.5	16.1 ± 6.7
Creatinine (mg/dL)	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.0
AST (U/L)	155.4 ± 62.2	130.6 ± 30.1	112.1 ± 26.0*	138.0 ± 38.7
ALT (U/L)	55.8 ± 23.0	50.4 ± 17.8	42.3 ± 13.9	47.7 ± 17.9
Total protein (g/dL)	7.1 ± 0.5	6.9 ± 0.4	6.8 ± 0.4	6.8 ± 0.5
Albumin (g/dL)	5.0 ± 0.5	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.3	4.9 ± 0.8
ALP (U/L)	105.6 ± 18.5	123.4 ± 29.7	111.1 ± 28.9	143.1 ± 24.2*
γ-GT (U/L)	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0
Cholesterol (mg/dL)	85.0 ± 17.9	89.9 ± 16.8	79.7 ± 16.2	78.3 ± 17.9
Triglyceride (mg/dL)	62.6 ± 23.1	51.0 ± 17.3	46.8 ± 16.4	45.0 ± 25.1
Calcium (mg/dL)	11.3 ± 1.1	11.3 ± 0.6	11.4 ± 0.7	11.6 ± 0.9
Phosphorus (mg/dL)	12.6 ± 1.3	13.6 ± 1.7	12.7 ± 0.8	13.7 ± 1.5
Sodium (meq/L)	150.3 ± 3.5	150.9 ± 3.1	154.7 ± 2.9*	151.1 ± 5.0
Potassium (meq/L)	9.7 ± 2.0	9.6 ± 1.9	7.7 ± 0.7*	8.6 ± 1.4
Chloride (meq/L)	91.5 ± 5.4	90.6 ± 3.0	89.4 ± 4.2	91.4 ± 4.7
Globulin (g/dL)	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.2	2.3 ± 0.2
Total bilirubin (mg/dL)	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04

^a 所有數據均以 Mean ± S.D. 表示，n=10。*與對照組比較具顯著性差異(p < 0.05)。正常參考範圍：AST= 45.0~100.0 U/L，ALP = 50.0~150.0 U/L，Sodium = 140.0~153.0 meq/L，Potassium = 4.0~7.0 meq/L。

表 9. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗雌鼠各項血清生化檢查

項 目	血清生化分析 ^a			
	對照組 0 mg/kg	低劑量組 30 mg/kg	中劑量組 37.5 mg/kg	高劑量組 40 mg/kg
Glucose (mg/dL)	179.7 ± 70.2	195.0 ± 43.6	216.2 ± 50.1	233.1 ± 75.1
BUN (mg/dL)	19.3 ± 5.1	14.9 ± 1.6*	13.9 ± 2.2*	14.6 ± 1.2*
Creatinine (mg/dL)	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
AST (U/L)	149.4 ± 41.3	86.9 ± 16.6*	87.1 ± 19.0*	124.5 ± 55.1
ALT (U/L)	51.4 ± 37.1	27.3 ± 5.4*	23.9 ± 4.7*	38.0 ± 27.5
Total protein (g/dL)	7.8 ± 1.0	7.7 ± 0.3	7.4 ± 0.4	7.7 ± 0.8
Albumin (g/dL)	5.9 ± 1.0	5.7 ± 0.3	5.4 ± 0.4	5.9 ± 0.7
ALP (U/L)	57.3 ± 8.0	61.9 ± 11.9	66.9 ± 10.6	66.9 ± 16.2
γ-GT (U/L)	< 2.0	< 2.0	< 2.0	< 2.0
Cholesterol (mg/dL)	90.2 ± 22.7	111.0 ± 19.9*	104.2 ± 15.4	113.0 ± 13.3*
Triglyceride (mg/dL)	57.5 ± 30.8	31.4 ± 9.8*	30.7 ± 21.7*	30.1 ± 9.6*
Calcium (mg/dL)	11.3 ± 0.7	11.7 ± 0.3	11.5 ± 0.5	12.2 ± 0.7*
Phosphorus (mg/dL)	10.9 ± 0.7	11.1 ± 1.0	11.1 ± 0.7	11.8 ± 1.4
Sodium (meq/L)	144.4 ± 3.8	143.0 ± 4.4	144.1 ± 2.6	141.5 ± 6.4
Potassium (meq/L)	9.9 ± 1.1	8.6 ± 1.5*	7.8 ± 0.8*	10.4 ± 1.1
Chloride (meq/L)	100.5 ± 3.7	98.2 ± 3.0	97.7 ± 1.8	98.6 ± 5.5
Globulin (g/dL)	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.3
Total bilirubin (mg/dL)	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04

^a 所有數據均以 Mean ± S.D.表示，n=10。*與對照組比較具顯著性差異 (p < 0.05)。正常參考範圍：BUN=12.0~20.0 mg/dL，AST=45.0~100.0 U/L，ALT=10.0~50.0 U/L，Cholesterol=50.0~100.0 mg/dL，Triglyceride=50.0~200.0 mg/dL，Calcium=9.8~12.0 mg/dL，Potassium=4.7~8.5 meq/L。

表 10. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗尿液顯微鏡檢查

項 目	對照組 0 mg/kg		低劑量組 30 mg/kg		中劑量組 37.5 mg/kg		高劑量組 40 mg/kg			
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌		
細胞 種類	RBC	0--1 (hpf)	10/10 ^a	9/10	10/10	10/10	9/10	9/10	10/10	10/10
		2--5 (hpf)	0/10	1/10	0/10	0/10	1/10	1/10	0/10	0/10
	WBC	0--1 (hpf)	9/10	9/10	7/10	10/10	7/10	9/10	7/10	10/10
		2--5 (hpf)	1/10	1/10	3/10	0/10	3/10	1/10	3/10	0/10
	EP	0--1 (hpf)	10/10	7/10	9/10	7/10	7/10	7/10	7/10	6/10
		2--5 (hpf)	0/10	3/10	1/10	3/10	3/10	3/10	3/10	4/10
尿 結 晶	None found	0/10	9/10	4/10	9/10	4/10	8/10	3/10	5/10	
	Triple phosphates	10/10	1/10	5/10	1/10	6/10	2/10	7/10	5/10	
	Uric acid	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	

^a 發生率 (n/n)：個別分析結果之動物隻數/每組檢查之動物隻數。

表 11. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗尿液各項生化檢查

項 目		對照組 0 mg/kg		低劑量組 30 mg/kg		中劑量組 37.5 mg/kg		高劑量組 40 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Color	Yellow	6/10 ^a	6/10	7/10	6/10	9/10	7/10	5/10	8/10
	Pale yellow	4/10	4/10	3/10	4/10	1/10	3/10	5/10	2/10
Clarity	Clear	6/10	5/10	4/10	5/10	6/10	6/10	6/10	6/10
	Light turbid	3/10	3/10	2/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10
	Turbid	1/10	2/10	4/10	2/10	1/10	1/10	1/10	1/10
Glucose	Negative	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	500 mg/dL	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Bilirubin	Negative	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	1+	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Ketone body	Negative	3/10	10/10	7/10	8/10	6/10	6/10	0/10	9/10
	Trace	6/10	0/10	3/10	2/10	3/10	4/10	10/10	1/10
	≥ 15 mg/dL	1/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
Specific gravity	≤ 1.015	0/10	2/10	0/10	1/10	2/10	1/10	2/10	2/10
	1.005~1.030	10/10	8/10	10/10	8/10	8/10	9/10	8/10	8/10
	≥ 1.030	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10
pH	≤ 6.0	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	6.0~8.0	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	≥ 8.0	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Protein	Negative	0/10	6/10	1/10	5/10	2/10	4/10	2/10	7/10
	15 mg/dL	1/10	1/10	5/10	3/10	2/10	1/10	4/10	3/10
	30 mg/dL	8/10	1/10	3/10	1/10	5/10	5/10	4/10	0/10
	100 mg/dL	1/10	2/10	1/10	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10
Urobilin -ogen	Normal	7/10	8/10	5/10	9/10	6/10	7/10	8/10	8/10
	≥ 2.0	3/10	2/10	5/10	1/10	4/10	3/10	2/10	2/10
Nitrite	Negative	10/10	8/10	10/10	7/10	8/10	7/10	10/10	6/10
	1+	0/10	1/10	0/10	2/10	2/10	3/10	0/10	3/10
	2+	0/10	1/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	1/10
Occult blood	Negative	10/10	9/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	Trace	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Leu. esterase	Negative	2/10	8/10	1/10	8/10	2/10	5/10	1/10	10/10
	25 mg/dL	1/10	1/10	3/10	2/10	1/10	1/10	2/10	0/10
	75 mg/dL	4/10	0/10	2/10	0/10	1/10	2/10	0/10	0/10
	250 mg/dL	1/10	0/10	1/10	0/10	5/10	2/10	5/10	0/10
	500 mg/dL	2/10	1/10	3/10	0/10	1/10	0/10	2/10	0/10

^a 發生率 (n/n)：個別分析結果之動物隻數/每組檢查之動物隻數。

表 12. 「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」之大鼠 90 天
重複劑量亞慢性毒性試驗組織病理評估

臟器	病理變化	組 別			
		對照組		高劑量組 ^a	
		雄鼠	雌鼠	雄鼠	雌鼠
哈氏腺	Mononuclear cell infiltration, focal, minimal	1/10 ^b (0.10±0.32) ^c	0/10 (0±0)	1/10 (0.10±0.32)	2/10 (0.20±0.42)
	Increased pigmentation, minimal	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	1/10 (0.10±0.32)	1/10 (0.10±0.32)
胰臟	Adipocytes infiltration, minimal	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)
肝臟	Hepatocellular cytoplasmic vacuolation, macrovesicular,	5/10 (0.50±0.53)	3/10 (0.30±0.48)	4/10 (0.40±0.52)	3/10 (0.30±0.48)
	Mixed type inflammatory cell infiltration, random, minimal	5/10 (0.50±0.53)	4/10 (0.40±0.52)	6/10 (0.60±0.52)	0/10 (0±0)
	Necrosis, focal, minimal	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)
脾臟	Extramedullary hematopoiesis, minimal	6/10 (0.60±0.52)	3/10 (0.30±0.48)	7/10 (0.70±0.48)	7/10 (0.70±0.48)
腎上腺	Cytoplasmic vacuolation, zona fasciculata, minimal	4/10 (0.40±0.52)	0/10 (0±0)	2/9 (0.22±0.44)	0/10 (0±0)
甲狀腺	Mononuclear cell infiltration, focal, minimal	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)
心臟	Mononuclear cell infiltration, myocardium, minimal	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)
腎臟	Chronic progressive nephropathy, minimal	3/10 (0.30±0.48)	1/10 (0.10±0.32)	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)
	Mononuclear cell infiltration, interstitial, minimal	2/10 (0.20±0.42)	2/10 (0.20±0.42)	3/10 (0.30±0.48)	2/10 (0.20±0.42)
	Cyst, present, minimal	1/10 (0.10±0.32)	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)	0/10 (0±0)
股骨	Increased adipocytes, bone marrow, minimal	6/10 (0.60±0.52)	2/10 (0.20±0.42)	5/10 (0.50±0.53)	1/10 (0.10±0.32)
前列腺	Mononuclear cell infiltration, focal, minimal	4/10 (0.40±0.52)	NA	3/10 (0.30±0.48)	NA
副睪	Spermatic granuloma, cauda, minimal	1/10 (0.10±0.32)	NA	0/10 (0±0)	NA
	Mononuclear cell infiltration, caput, minimal	0/10 (0±0)	NA	1/10 (0.10±0.32)	NA

^a 高劑量組: 40 mg/kg B.W.。 ^b 發生率: 個別分析結果之動物隻數/每組檢查之動物隻數 (n = 10)。 ^c 平均病理積分以 Mean ± S.D.表示, n = 10。

討 論

本試驗以大鼠 90 天重複劑量試驗評估「牛樟芝子實體萃取物(牛樟椴木栽培)」之毒性影響，試驗期間進行臨床觀察、體重與攝食量測量，試驗結束後，採集尿液、血液及臟器，進行血液學檢查、血清生化分析、尿液檢查及組織病理學檢查，以評估「牛樟芝子實體萃取物(牛樟椴木栽培)」於大鼠可能產生之毒性影響，作為重複食用安全性之參考。

臨床觀察及眼睛檢查均無顯現任何異常症狀，各劑量組大鼠之平均體重、平均攝食量及平均每日飼料利用率與對照組相比，於部分試驗週期出現統計差異，但並無持續效應，因此判斷該變化不具臨床生理意義。根據以上試驗結果，判斷試驗物質連續投予大鼠 90 天，於動物臨床症狀、動物體重及攝食量均無不良之臨床毒性症狀。

各劑量組和對照組大鼠之外觀、口腔、顱腔及胸、腹腔內各組織臟器，均未發現與試驗物質有關之肉眼病變。雄鼠中劑量組的腎上腺絕對重量及雄鼠高劑量組的心臟相對重量與對照組相比有統計差異，但仍於正常參考範圍值內或差距極微(腎上腺絕對重量：0.05~0.07 g，心臟相對重量：0.32~0.40)^[18]，以上臟器於病理報告中並無相關病理病變發生，因此不具臨床生理變化之顯著意義。

雄性及雌性大鼠於血液分析包括，白血球(WBC)、血紅蛋白(hemoglobin)、平均紅血球血紅素濃度(MCHC)、血小板(platelet)、單核球(monocyte)、嗜中性球(neutrophil)、嗜酸性白血球(eosinophil)與對照組相比有統計差異，但均於參考值範圍內或差距極微(雄鼠-WBC：6.0~19.0 $10^3/\mu\text{L}$ 、hemoglobin：14.0~17.0 g/dL、MCHC：31.0~38.0 g/dL 及 platelet：800~1,200 $10^3/\mu\text{L}$ ；monocyte：1.1~4.1% 及 eosinophil：0.7~2.0%；雌鼠-MCHC：31.0~38.0

g/dL；neutrophil：7.7~14.2% 及 eosinophil：0.6~1.6%)^[19-20]，以上分析結果，並無顯著劑量效應，且組織病理並無觀察到與試驗物質相關之特異性病變，因此判斷該變化不具臨床生理意義。

雄性及雌性大鼠於血液分析包括，尿素氮(BUN)、麩氨酸氨基轉氨酶(AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶(ALT)、膽固醇(cholesterol)、三酸甘油酯(triglyceride)、鈣離子(Calcium)、鈉離子(sodium)及鉀離子(potassium)與對照組相比有統計差異，但均仍於參考值範圍內或差距極微(雄鼠-AST：45.0~100.0 U/L、sodium：140.0~153.0 meq/L、potassium：4.0~7.0 meq/L；雌鼠-BUN：12.0~20.0 mg/dL、AST：45.0~100.0 U/L、ALT：10.0~50.0 U/L、cholesterol：50.0~100.0 mg/dL、triglyceride：50.0~200.0 mg/dL、calcium：9.8~12.0 mg/dL 及 potassium：4.0~7.0 meq/L)^[19]，且並沒有觀察到與試驗物質相關之顯著臨床生理變化或組織病變，因此判斷與試驗物質處理無關。

組織病理檢查結果顯示，對照組及高劑量組之各組織及器官均無明顯與試驗物質有關組織病理變化。部份大鼠哈氏腺單核炎症細胞浸潤、哈氏腺色素增多、胰臟脂肪浸潤、肝臟肝細胞質空泡、肝臟散發混合性炎症細胞浸潤、肝臟肝細胞壞死、脾臟髓外造血、心臟單核炎症細胞浸潤、腎上腺細胞質空泡、甲狀腺單核炎症細胞浸潤、腎臟慢性進展性腎病、腎臟間質單核細胞浸潤、腎臟囊泡、股骨骨髓脂肪細胞增多、前列腺單核炎症細胞浸潤、副睪精液肉芽腫、副睪單核炎症細胞浸潤等病變。以上病變於對照組及高劑量組病變程度及發生率並無正相關性^[21-24]，為非特異性病變與試驗物質無關。

本次試驗結果顯示，試驗期間各劑量組或對照組大鼠均無顯現任何異常臨床症狀。各劑量組大鼠均能正常增重，而眼睛檢查結

果顯示各組大鼠均無異常。試驗結束後，臨床病理檢驗分析之血液學檢查、血清生化、尿液檢查方面，少數項目雖有統計差異，且皆於參考值範圍內或差距極微，而相關臟器並未有與試驗物質相關病變，因此並不具臨床生理變化意義。病理解剖、肉眼病理學檢查以及組織病理學檢查結果顯示，各劑量組與對照組大鼠均無明顯組織病理變化。綜合以上結果，試驗物質「牛樟芝子實體萃取物（牛樟椴木栽培）」對大鼠 90 天重複劑量亞慢性毒性試驗之無毒性顯示之劑量 (NOAEL) 為 40.0 mg/kg B.W.。

參考文獻

1. 陳泰伊, 仲偉鑾, 肖萍, 洪新宇, 林定威, 許勝傑, 陳勁初。樟芝發酵液凍乾粉之 30 天短期慢性動物毒性評估。檢驗及品保雜誌 2012; 1:127-35。
2. Chen JC, Lin WH, Chen CN et al. Development of *Antrodia camphorate* mycelium with submerged culture. *Fungal Sci* 2001; 16:7-22.
3. 陳勁初, 林文鑫, 陳清農, 許勝傑, 黃仕政, 陳炎鍊。台灣特有真菌-樟芝菌絲體之開發, 真菌科學 2001; 16:7-22。
4. 陳啟楨, 蘇慶華, 藍明煌。樟芝固體栽培及其生物活性之研究。菌類科學 2001; 16:65-72。
5. Chen TQ, Fang ZW. Current status and advances in the research and development of *antrodia camphorate*. *Acta Edulis Fungi* 2003; 10: 55-6.
6. Lin ES, Yang CT, Chou HJ et al. Screening of antioxidant activities by the edible basidiomycete *Antrodia cinnamomea* strains in submerged culture. *J Food Biochem* 2010; 34: 1141-56.
7. Yeh CT, Roa YK, Yao CJ et al. Cytotoxic triterpenes from *Antrodia camphorata* and their mode of action in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Lett.* 2009; 285: 73-9.
8. Cherng IH, Chiang HC, Cheng MC et al. Three new triterpenoides from *Antrodia cinnamomea*. *J. Nat. Prod.* 1995; 58:365 - 71.
9. Chen YJ, Chou YJ, Chang TT. Compound MMH01 possesses toxicity against human leukemia and pancreatic cancer cells. *Toxicol in vitro* 2009; 23:418-24.
10. Tu SH, Wu CH, Chen LC et al. *In vivo* antitumor effects of 4,7-Dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole isolated from the fruiting body of *antrodia camphorata* through activation of the P53-mediated p27/kp1 signaling pathway. *J Agric Food Chem* 2012; 60:3612-8.
11. Lin WL, Lee YJ, Wang SM et al. Inhibition of cell survival, cell cycle progression, tumor growth and cyclooxygenase-2 activity in MDA-MB-231 breast cancer cells by camphoramide B. *Eur J Pharmacol* 2012; 680:8-15.
12. Hseu YC, Wu FY, Wu JJ et al. Anti-inflammatory potential of *Antrodia camphorata* through inhibition of iNOS, COX-2 and cytokines via the NF- κ B pathway. *Int Immunopharmacol* 2005; 5:1914-25.
13. Lu ZM and Xu ZH. Antcin A contributes to anti-inflammatory effect of Niuchangchih (*Antrodia camphorata*). *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32:981-2.
14. 行政院衛生福利部。健康食品安全性評估方法。衛署食字第 88037803 號。1999。行政院衛生福利部。台灣。
15. 劉振軒、何逸僊、張文發、祝志平、王琇真。H&E 染色。組織病理染色技術與圖譜。1996; 86-9。台灣養豬科學研究所, 竹南, 中華民國。
16. Shackelford C, Long G, Wolf J et al. Qualitative and quantitative analysis of nonneoplastic lesions in toxicology studies. *Toxicol Pathol* 2002; 30:93-6.
17. Mann PC, Hardisty JF, and Parker MD. Managing pitfalls in toxicology pathology. In Haschek WM, Rousseau CG, Wallig MA (eds). *Handbook of Toxicologic Pathology*. 2001:187-206. Academic Press, San Diego, CA, USA.
18. Piao Y, Liu Y, Xie X. Change trends of organ weight background data in Sprague Dawley rats at different ages. *J Toxicol Pathol* 2013; 26:29-34.
19. Levine BS. Animal Clinical Pathology. In Derelanko MJ, Hollinger MA (eds). *Animal Clinical Pathology In: Handbook of Toxicology*. 2nd ed., 2001:741-68. CRC press, Florida, USA.
20. Giknis MLA, Clifford CB. Clinical Laboratory Parameters for CrI: CD (SD) Rats. Charles River Laboratories, Wilmington, NC, USA. 2006.
21. Owen RA, Heywood R. Age-related variations in renal structure and function in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 1986; 14:158-67.
22. Rosol TJ, Yarrington JT, Latendresse J et al. Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *Toxicol Pathol* 2001; 29:41-8.
23. Dixon D, Alison R, Bach U et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *J Toxicol Pathol* 2014; 27:1-107.

24. King NW, Alroy J. Intracellular and extracellular depositions; degenerations. In Hones TC, Hunt RD,

King NW (eds). Veterinary Pathology 6th ed., 1997: 25-56. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA.

Subchronic Toxicity Assessments of Fruiting Body Extract of *Antrodia cinnamomea* in Sprague-Dawley Rats

Chih-Yuan Wang¹, Sing-Yi Gu^{2*}, Yueh-Ting Tsai^{2#}

¹Wintek Co., Ltd., Taichung ; ²Super Laboratory Co., Ltd., New Taipei City, Taiwan

Abstract

Antrodia cinnamomea, an edible fungus growing in Taiwan, has various health benefits, including antioxidation, antitumor, and immunomodulation. In this study, the extract of *Antrodia cinnamomea* fruiting body was tested for toxicity according to the safety assessment guidelines of health food published by the Food and Drug Administration, Ministry of Health and Welfare, Taiwan in 1999. Four groups (control, low, medium, and high) of Sprague-Dawley (SD) rats were used; each group consisted ten male and ten female SD rats. The extract was administered daily at a dose of 30 mg/kg B.W., 37.5 mg/kg B.W., and 40 mg/kg B.W. by oral gavage for 90 consecutive days. Results showed no abnormal changes in clinical signs, body

weight, food intake, and eyes of all rats tested. All parameters of urinalysis and hematology, serology, and biochemistry analyses were normal. Necropsy, gross anatomy, and histopathological examinations also revealed no tissue or organ damages in any of the rats. Based on these results, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of the extract of *Antrodia camphorata* fruiting body was determined to be 40 mg/kg B.W.

Keywords: Fruiting bodies of *Antrodia camphorata*, repeated dose 90-day subchronic toxicity study, no-observed-adverse-effect level (NOAEL)