



計劃編號：DOH92-TD-1012

第 1012 號

行政院衛生署 92 年度委託研究計畫

樟芝對懷孕母鼠與胎鼠的致基因毒性與抗基因毒性研究

委託研究成果報告

執行機構：中國醫藥學院中國醫學研究所

研究主持人：江素瑛、謝慶良、高尚德

研究人員：張儷齡、裴詩雨

執行期間：91年8月1日至92年7月31日

## 目 錄

一、	中英摘要	3
二、	前言	4
三、	材料與方法	4
四、	結果與討論	6
五、	結論與建議	10
六、	參考文獻	10

## 一、摘要

樟芝為台灣所特有之一種食、藥兩用高等真菌，目前仍缺乏樟芝對孕鼠與胎鼠之安全性與生理活性的相關研究。本研究利用偵測染色體傷害之微核技術來探討樟芝對於孕鼠與其胎鼠之潛在遺傳毒性，並評估樟芝對化學與輻射致癌物所誘發遺傳損傷之拮抗效果。ICR 母鼠於懷孕第六天到第十七天每日以胃管餵食樟芝菌絲體發酵液 0.3g/kg、1g/kg、3g/kg；另一組(n=6)孕鼠於最後一個劑量的樟芝餵食後兩個小時，以腹腔注射給予化學致癌物 N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) 90mg/kg，各組孕鼠均於孕期第十九日解剖、採血作抹片，以計數孕鼠與胎鼠周邊血網狀紅血球的微核發率。結果顯示 ENU 不僅使孕鼠微核發生率增高，並且會通過胎盤屏障使胎鼠微核發生率增加，但胎鼠之微核發生率明顯低於孕鼠。連續餵食樟芝組之孕鼠與其胎鼠微核發生率、孕鼠在餵藥過程中體重增加率、懷孕母鼠所懷平均胎鼠數目與胎鼠平均重量，與陰性對照組比較並無統計上顯著差異，即樟芝對孕鼠與其胎鼠不會產生明顯毒性。進一步研究樟芝是否對 ENU 誘發的遺傳損傷有保護作用，結果發現 1g/kg 與 3g/kg 樟芝可明顯降低 ENU 誘發的微核發生率，對孕鼠的抑制率為 62%及 54%，對胎鼠的抑制率為 68%及 36%。然而樟芝對 6Gy 游離輻射所誘發的遺傳損傷並無抑制效果。總實驗結果顯示樟芝於本實驗所使用之劑量對孕鼠沒有明顯的遺傳毒性，也不會透過胎盤引起胎鼠染色體損傷，樟芝並對化學致癌物誘發的遺傳毒性有明顯的保護作用。

關鍵詞：樟芝、安全性、遺傳毒性、微核、N-ethyl-N-nitrosourea、輻射、孕鼠、胎鼠

*Antrodia camphorata*, a rare and expensive fungus, is one of Traditional Chinese Medicines and the health foods. It is of great concern referring to its genotoxic potential to pregnant women and their fetuses. In this study, we determined the potential genotoxic and anti-genotoxic effects of aqueous extracts from *Antrodia camphorata* mycelia (ACM) in pregnant ICR mice and their fetuses by examining the formation of micronuclei (MN), a marker of chromosome damage. Four experimental groups were conducted. For the negative control group, the pregnant mice were given with distilled water only daily from gestation day (GD) 6 through GD 17. For the positive control group, N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) was given by intraperitoneal injection (i.p.) at a dose of 90 mg/kg on GD 17 after water treatment from GD 6 to 17. For ACM genotoxicity group, ACM (0.3g/kg, 1g/kg and 3g/kg) were given daily by

gavage from GD 6 to 17. For ACM chemoprevention group, mice were pretreated with ACM daily from GD 6 to 17. Two hours after the last dose of ACM, ENU was given by i.p at a dose of 90 mg/kg. Blood samples were collected on GD 19 to examine the frequencies of MN in maternal and fetal peripheral reticulocytes (RET) under fluorescence microscope. Treatment of ACM even at the dose of 3g/Kg had no overt toxicity and did not induce a statistically significantly increase in frequencies of micronucleated reticulocytes in maternal and fetal blood. ENU induced marked increase of micronucleated reticulocytes. Pretreatment of ACM at the dose of 1g/kg and 3g/kg resulted in statistically significant decrease in the frequencies of ENU-induced micronucleated reticulocytes, with an inhibition ratio of 62% and 54% in the maternal blood, 68% and 36% in the fetal blood, respectively. These data suggests that ACM possess the chemopreventive effects with no observable cytotoxicity in ICR mice and their fetuses.

**Keywords** : Antrodia camphorata, safety, genotoxic, N-ethyl-N-nitrosourea , micronuclei, pregnant mice, fetal mice

## 二、前言

樟芝又名牛樟菇(*Antrodia camphorate*)，為多孔菌科(Polyporaceae)著生於老牛樟樹幹函洞內壁台灣所特有之多年生蕈菌類。樟芝為一種食、藥兩用高等真菌，傳統上用於治療腹痛、高血壓、皮膚癢與肝癌(Chang & Chou, 1995; 臧穆, 1990)。樟芝被認為對腫瘤的治療有一定療效，亦可作為保肝、抗氧化保健食品(Hseu *et al*, 2002, Hsiao *et al*, 2003)，因其可能具有的生物藥理活性與潛在臨床應用價值，已日益被人們所重視，目前當務之急為對樟芝的藥理活性進行有系統的科學研究，尤其是其安全性的評估，以確保大眾的健康。

對於樟芝是否會對懷孕母鼠與胎鼠遺傳物質有不良影響，則目前仍未見有相關研究報告。為了給一般大眾與臨床用藥提供科學的實驗數據，本計畫期望利用科學實驗方法對孕鼠與胎鼠進行樟芝致遺傳毒理測試，以期對樟芝安全性做更進一步的探究，將評估妊娠期間若長期接觸樟芝，是否會誘發懷孕母鼠與胎鼠產生遺傳毒性，此遺傳毒性有潛在的危險性最後演變成母鼠腫瘤、子代畸形、遺傳疾病、嬰兒或兒童期腫瘤。另將探討樟芝是否可拮抗化學或輻射致癌劑所引起的遺

傳損傷作用。

### 三、材料與方法

#### 2.1 體內微核試驗

##### A. 材料：

1. 實驗動物：本實驗所使用的動物為 ICR 小鼠，購自國科會，水與食物都充分供應。雌性交配年齡為 7-8 週大，將小鼠按雌：雄(3：1)的比例合籠交配，交配日視為懷孕第零日。
2. 樟芝樣品：將採用購自新竹食品工業發展研究所菌種中心所生產之樟芝菌絲體人工培養發酵液為研究材料。
3. 化學致癌物乙基亞硝酸尿素(N-ethyl-N-nitrosourea, ENU):ENU 為人工合成，常被用於基因毒性研究的陽性對照組。

##### B. 方法：

1 給藥途徑：實驗分為四大組，每組 6 隻老鼠，每組分別於懷孕第六天到第十七天，每日以胃管餵食不同測試物，1.陰性對照組(negative control)：以等量去離子水餵食母鼠；2.陽性對照組(positive control)：除餵食等量去離子水外，第十七日餵食後兩小時，以腹腔注射(ip)給予致癌物質 ENU 90 mg/kg；3. 樟芝餵藥組：餵食樟芝以檢測樟芝是否具有遺傳毒性，劑量為 0.3g/kg、1g/kg、3g/kg；4. 樟芝預防組：除餵食樟芝外，於餵食最後一個樟芝劑量後兩小時以腹腔注射 ENU，藉以檢測中樟芝對於預防遺傳毒性是否有所幫助，各組均於第十九日解剖母鼠並取出胎鼠，作微核測試。

#### 2 微核測試：

玻片備置：吸取新鮮配製 Acridine Orange (AO)滴於戴玻片上，以蓋玻片推片使塗抹均勻，晾乾後置入收藏盒避光 4°C 保存。

採血：孕鼠以乾淨剪刀剪斷鼠尾末端，點滴血液於覆有 AO 的玻片上，每隻老鼠重複採血兩片，玻片水平放置於 4°C。胎鼠採取斷頭方式採血，其他步驟與孕鼠同。

微核玻片觀察：以螢光顯微鏡 488 nm (藍光)，400x 來觀察視野中所見單層均勻血球分佈為標準。尋找網狀紅血球(reticulocytes, RETs)，計算 RET 佔紅血球比例總數，及計算每 2000 個 RET 中有多少個含有微核的 RET，以千分率表現其出現率。(Kondo and Ozawa, 1992)

微核抑制率

$$= (\text{陽性對照組微核數} - \text{試驗組微核數}) / (\text{陽性對照組微核數} - \text{陰性組微核數}) \times 100\%$$

## 2.2 輻射老屬微核分析

### A. 材料：

- 1 實驗動物：動物以 ICR 公鼠，週齡 6~8 週，體重 28~36 g，由台大動物中心或國科會提供，飲水及飼料皆充足。
- 2 輻射之機型：SL Series Linear Accelerator Operator Manual (PHILIPS UK)，由中國醫藥大學附設醫院腫瘤治療科提供，使用條件為 6 MEV，4 Gy/min，標的物距離為 100 cm。

### B. 方法：

將 ICR 公鼠隨機分配，分別餵食不同劑量的樟芝，對照組則為食 Milli-Q 無菌水；30 分鐘後給予 6 Gy 的游離輻射，並於給藥後 48 小時採鼠尾血。

## 2.3 統計分析方法

同一隻母鼠或胎鼠製作兩片玻片，由兩位不知道處理條件的工作人員各自計算微核發生率，相加後再平均。所有實驗結果以平均值 ± 標準差 (Mean ± SD) 表示，並以單因子變異數分析 (One-way analysis of variance, ANOVA) 比較數組資料間數值分布之變異情形，當 ANOVA 檢定達統計顯著意義時，進一步透過薛費 (Scheffe) 事後檢定方法比較各實驗組相對於實驗控制組是否具統計上之顯著差異，當統計機率值小於 0.05 ( $p < 0.05$ ) 時表示具有統計上之顯著差異。

## 四、結果與討論

一般認為突變是多因子多步驟致癌發生過程中一個相當重要的事件，突變常常會造成染色體的傷害，而微核是檢測染色體傷害的一個重要指標 (Heddle *et al*, 1983, Ning *et al*, 1991)。先前報告指出經過 Arecoline (檳榔生物鹼) 暴露的懷孕母鼠，其胎兒會經胎盤 (transplacental) 暴露於 Arecoline，因此在胎兒血中可偵測到細胞遺傳 (cytogenetic) 傷害，如微核 (micronuclei) 的形成增加 (Sinha and Rao, 1985)。妊娠時期的暴露於有害化學物品，母體與子代都可能發生體細胞突變，也有潛在發生癌症的危機 (Karube *et al*, 1989)。

### 4.1 樟芝對孕鼠與胎鼠的致遺傳毒性研究

陽性對照組 ENU 投藥後 48 小時於 1000 個 RET 中孕鼠微核平均數為 35.2 個，明顯高於陰性對照組的 2.0 個( $P < 0.05$ )。如表 4-1 所示，於懷孕第六日至第十七日，每日以胃管餵食 0.3g/kg、1.0g/kg 及 3.0g/kg 劑量的樟芝，樟芝對孕鼠周邊網狀紅血球微核發生率，和陰性對照組比較並無明顯差異，統計分析後結果可得知樟芝並不會導致微核率的增加( $P > 0.05$ )。

表 4-1. 樟芝對孕鼠與胎鼠周邊網狀紅血球的致遺傳毒性研究

Group	MNRET/ 1000RETs	MNRET/ 1000RETs
	孕鼠(n=6)	胎鼠 (n=12)
(1)CTRL(水)	2.0 ± 0.4	2.3 ± 1.0
(2)ENU90mg/kg	35.2 ± 2.3*	11.7 ± 1.4*
(3)樟芝 0.3g/kg	2.0 ± 0.1	3.8 ± 0.3
(4)樟芝 1.0g/kg	2.5 ± 0.1	3.1 ± 0.9
(5)樟芝 3.0g/kg	1.9 ± 0.4	1.9 ± 0.9

\*與陰性對照組比較微核率有顯著的增加 ( $P < 0.05$ )。

我們也觀察胎鼠是否有致遺傳毒性作用，如表 4-1 所示，樟芝並不會導致胎鼠微核率的增加 ( $P > 0.05$ )。陽性對照組 ENU 會通過胎盤使胎鼠微核率增加，但胎鼠之微核發生率明顯低於孕鼠( $P < 0.05$ )。

由圖 4-1 得知，5 個實驗組於懷孕期間其體重增加情形並無統計上明顯差異，可知此次實驗中餵食樟芝對於孕鼠體重增加情形並無影響( $P > 0.05$ )，然值得注意的是 ENU 組對於孕鼠體重增加情形也無影響( $P > 0.05$ )。

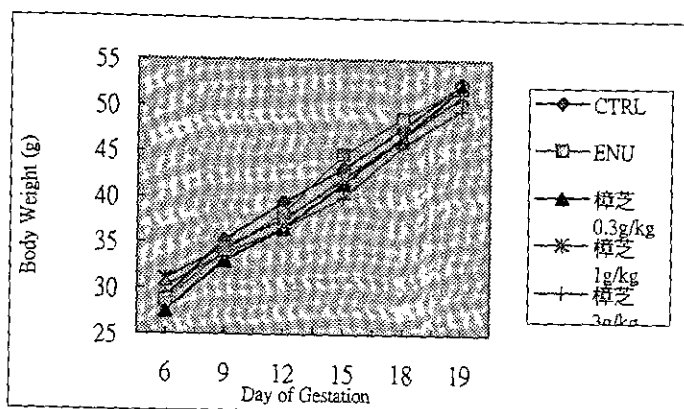


圖 4-1: 樟芝對母鼠懷孕期間體重增加情形的影響

表 4-2 為各實驗組別懷孕母鼠平均胎鼠數目(隻)與胎鼠平均重量(克)，經統計各組間並無差異性，得知樟芝並不會導致胎鼠數目及體重的異常( $P > 0.05$ )，然值得注意的是 ENU 組對於胎鼠數目及體重情形也無影響( $P > 0.05$ )。

表 4-2. 各實驗組別懷孕母鼠所懷平均胎鼠數目與胎鼠平均重量

Group	胎鼠數目 (隻)	胎鼠重量 (克)
(1)CTRL(水)	$12.3 \pm 1.8$	$1.1 \pm 0.3$
(2)ENU90mg/kg	$11.9 \pm 1.2$	$1.1 \pm 0.5$
(3)樟芝 0.3g/kg	$12.5 \pm 0.7$	$1.0 \pm 0.3$
(4)樟芝 1g/kg	$11.5 \pm 0.7$	$1.0 \pm 0.1$
(5)樟芝 3g/kg	$11.2 \pm 1.2$	$1.1 \pm 0.1$

#### 4.2 樟芝對孕鼠與胎鼠化學遺傳損傷的影響

現今人們除了致力減少致癌因子的暴露外，並期望能找尋對癌生成有抑制作用的化學物質，以供腫瘤高危險人群作為預防用藥。在癌的形成過程中，若投于某些有效的阻斷因子，可望阻止癌的發生與演進。即以化學預防劑來減少基因損傷或突變，可能可以預防致癌、預防老化、或者是預防癌症的再復發。在某些被當成飲料食用的植物中，如咖啡或綠茶，被認為可產生化學預防功效(Hasegawa *et al*, 1995)。

探討樟芝本身對孕鼠是否具有抗遺傳毒性作用，由表 4-3 中可得知 ENU 的陽性對照組其孕鼠微核發生率為  $36.8 \pm 1.6(\%)$ ，顯著高於陰性對照組。與陽性對照組相比，餵食 0.3g/kg 樟芝的懷孕母鼠微核數並無明顯下降，經統計後不具意義( $P > 0.05$ )。然而餵食 1g/kg 樟芝及 3g/kg 樟芝的懷孕母鼠微核的發生率有明顯減少的趨勢，其抑制率各達 62% 與 54%，具有統計意義( $P < 0.005$ )。



表 4-3 . 樟芝對孕鼠化學遺傳損傷的影響

Group	MNRET /1000RETs	抑制率
(1)CTRL(水)	2.0 ± 0.4	
(2)ENU90mg/kg	36.8 ± 1.6	
(3)樟芝 0.3g/kg+ENU	31.8 ± 3.9	12%
(4)樟芝 1g/kg + ENU	15.3 ± 2.5	62%*
(5)樟芝 3g/kg + ENU	17.9 ± 3.0	54%*

\*與陽性對照組比較微核率有顯著的減少 (P < 0.05)。

表 3-4 . 樟芝對胎鼠化學遺傳損傷的影響

Group	MNRET /1000 RETs	抑制率
(1)CTRL(水)	2.0 ± 0.6	
(2)ENU90mg/kg	11.7 ± 1.8	
(3)樟芝 0.3g/kg+ ENU	8.5 ± 0.8	33%*
(4)樟芝 1g/kg + ENU	5.1 ± 0.8	68%*
(5)樟芝 3g/kg + ENU	8.2 ± 1.9	36%*

\*與陽性對照組比較微核率有顯著的減少 (P < 0.05)。

由表 4-3 與表 4-4 中可得知給予 ENU 的陽性對照組其 RET 微核發生率在孕鼠中為 36.8 ± 1.6(%)及在胎鼠中 11.7 ± 1.8(%)，與陰性對照組相較之下微核發生率增加，可知 ENU 不僅使孕鼠微核發生率增高，並且通過胎盤屏障使胎鼠微核發生率增加。餵食樟芝 0.3g/kg、樟芝 1g/kg 及樟芝 3g/kg 與陽性對照組相比之下，胎鼠周邊網狀紅血球微核的發生率有明顯減少的趨勢(P < 0.005)。餵食樟芝 0.3g/kg、樟芝 1g/kg 及樟芝 3g/kg 對胎鼠的微核抑制率分別為 33%、68% 及 36%，其中又以 1g/kg 樟芝+ENU 組的效果最好。

### 4.3 樟芝對老鼠輻射遺傳損傷的影響

實驗小鼠於輻射後 24、48 及 72 小時採血，進行周邊血的微核測試，其結果發現在 48 小時微核產生率最高，約為  $50.8 \pm 1.1$ ，因此使用 48 小時做為輻射後的時間點。樟芝對輻射細胞微核產生的影響，如表 3-7 所示。發現餵食樟芝 30 分鐘後照射 6 Gy 的游離輻射，其微核生成率與陽性對照組比較，並無明顯下降的趨勢，因此對老鼠無明顯輻射保護的效果。

依據先前文獻與目前已進行的樟芝毒理學安全性的學術報告研究顯示，於沙門菌逆突變測試(Ames Test)與體外染色體結構變異分析(Chromosome aberration assay)，所有測試濃度，在加或不加大鼠肝臟酵素代謝系統(S9)的處理下，樟芝皆不具致突變性(陳勁初, 2001; 陳啟禎, 2001; 陳秀雯, 2001)。動物體內微核分析(*In vivo* Micronucleus Test)結果發現高劑量組與陰性對照組無顯著差異(陳啟禎, 2001; 陳秀雯, 2001)。於急性口服毒性測試中，2000mg/kg 的用量下並無死亡例子，且解剖時也未發現主要臟器有異常現象(陳啟禎, 2001)。大鼠 28 天口服毒性試驗發現連續餵食三組劑量樟芝(3000, 2000, 1000mg/kg 及對照組)28 天後，均不造成與此測試藥物有關之 SD 大白鼠死亡，屍體解剖亦無病變，2000 與 1000mg/kg 樟芝組血清生化學之變化與對照組並無差異性(劉宗榮, 2001)，然而 3000mg/kg 樟芝組會造成雄性老鼠平均紅血球容積下降、平均紅血球血色素量下降，而血中總蛋白、葡萄糖、LDH、磷增加，血中  $K^+$  下降(林文川, 2001)。另於致畸試驗，樟芝各劑量組與對照組之懷孕雌鼠體重增加量、修正後體重(試驗終結體重子宮重)與飼料消耗量並無差異性。試驗終結(G20)，肉眼檢查內臟器官並未發現任何病變。胎鼠之外觀、內臟及骨骼檢查結果顯示，樟芝發酵原液之處理並未造成任何畸胎現象(蔡明憲, 2001)。

本計劃主持人研究室前年的國科會保健食品研究計畫結果顯示，於體外哺乳類細胞基因突變測試，無論是否有加入 S9 混和物，樟芝處理組的 *tk* 基因突變率並沒有顯著高於陰性對照組(江素瑛, 2001)。以胃管餵食小鼠 300 mg/kg、1000 mg/kg 和 3000 mg/kg 劑量的樟芝(每天一次共 15 次或 28 次)，觀察小鼠體重並無減輕現象，樟芝組老鼠其脾臟淋巴細胞 *hprt* 基因的突變機率與陰性對照組老鼠比較並無顯著差異。綜合以上結果顯示，樟芝於本實驗所使用之劑量對老鼠並不具致基因突變性。

本實驗主要以微核來測試樟芝對於孕鼠及胎鼠是否可能造成遺傳物質傷害，及樟芝對於 ENU 所造成的遺傳傷害是否有保護效果。總實驗結果顯示樟芝於本實驗所使用之劑量對孕鼠沒有明顯的遺傳毒性，也不會透過胎盤引起胎鼠染色體損傷，樟芝並對化學致癌物誘發的遺傳毒性有明顯的保護作用，是具有化學防護效果的保健食品。此結果將可作為評估樟芝安全性的重要依據，以維護懷孕婦女與其後代的健康。

## 五、計畫成果自評

鑑於樟芝已日益受人們所重視而服用，目前當務之急為對樟芝的安全性進行有系統的科學研究，以確保大眾的健康。我們進行樟芝致基因毒性測試，顯示樟芝於本實驗所使用之劑量，甚至以 3g/kg 樟芝於懷孕第六天到第十七天每日連續餵食，對孕鼠與胎鼠並不具遺傳毒性，同時發現樟芝於孕鼠與胎鼠對化學致癌物誘發的遺傳損傷有保護作用，結果顯示是個本身不具細胞毒性且有很好化學防護效果的常用保健食品。為了開發藥用資源與確保民眾用藥安全，將來仍需要進行更長期的毒性測試，以提供作為一般用量及禁忌症之參考，並維護消費者的健康。本年度的計劃研究成果報告已著手撰寫相關實驗結果的文章準備投稿國外期刊。

## 六、重要參考文獻：

- Chang, T. T. and Chou, W. N. *Antrodia cinnamomea* sp. nov. on *Cinnamomum kanehirai* in Taiwan. *Mycological Research*. 99(6):756-758, 1995.
- Hasegawa, R., Chujo, T., Sai-Kato, K., Umemura, T., Tanimura, A. and Kurukawa, Y. Preventive effects of green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane. *Food & Chem. Toxicol.* 33: 961-970, 1995.
- Marnett, L.J. (2000) Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 21:361-370.
- Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, Salamone MF. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*. 123(1):61-118, 1983
- Hseu YC, Chang WC, Hseu YT, Lee CY, Yech YJ, Chen PC, Chen JY, Yang HL. Protection of oxidative damage by aqueous extract from *Antrodia camphorata* mycelia in normal human erythrocytes. *Life Sciences*. 71(4):469-82, 2002
- Hsiao G, Shen MY, Lin KH, Lan MH, Wu LY, Chou DS, Lin CH, Su CH, Sheu

- JR. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. 51(11):3302-8, 2003
- Karube, T., Odagiri, Y., Takemoto, K. and Watanabe, S. Analyses of transplacentally induced sister chromatid exchanges and micronuclei in mouse fetal liver cells following maternal exposure to cigarette smoke. *Cancer Research*. 49(13):3550-2, 1989
  - Kondo, K. and Ozawa, S.: Micronucleus tests with ethyl methanesulfonate in mouse peripheral blood reticulocytes stained supravivally using acridine orange-coated slides. *Mutation Research* 1992; 278: 109-111.
  - Ning, H., Kado, N.Y., Kuzmicky, P.A., and Hsieh, D.P.H.: Benzene-induced micronuclei formation in mouse fetal liver blood, peripheral blood, and maternal bone marrow cells. *Environmental and molecular mutagenesis* 1991; 18: 1-5.
  - Shimoi, K., Masuda, S., Furugori, M., Esaki, S., Kinoshita, N. Radioprotective effect of antioxidative flavonoids in gamma-ray irradiated mice. *Carcinogenesis*. 15(11):2669-72, 1994
  - Sinha, A. and Rao, A.R. Transplacental micronucleus inducing ability of arecoline, a betel nut alkaloid, in mice. *Mutation Research*. 158(3):193-4, 1985
  - 江素瑛，樟芝安全性之評估，90 年度保健食品研究開發計劃成果摘要，2001
  - 林文川，樟芝之藥理學研究，90 年度保健食品研究開發計劃成果摘要，2001
  - 陳秀雯、戴金華、謝馥如、傅麒麟、陳炎鍊、陳憶萱、陳勁初，樟芝發酵液凍乾成品之微核及染色體畸變試驗，中華保健食品學會第二屆第一次年會壁報論文摘要，2001
  - 陳勁初、陳建州、張基煌、毛正倫、喬長誠，姬松茸與樟芝菌絲體之毒性與致突變性之研究，中華保健食品學會第二屆第一次年會壁報論文摘要，2001
  - 陳啟禎，紅樟芝王產品之安全評估報告摘要表，2001
  - 楊秀芳、楊賢強、王立新：茶多酚清除活性氧自由基的效能及對腫瘤的化學預防作用。上海醫藥期刊。19(12)：29-31, 1998
  - 臧穆、蘇慶華：我國台灣產靈芝屬一新種---樟芝。雲南植物研究。12(4):395-396, 1990
  - 劉宗榮、陳清農、林文鑫、盛莉莎、黃仕政、陳勁初，樟芝對 Sprague-Dawley 大白鼠之連續投藥口服急性毒性，中華保健食品學會第二屆第一次年會壁報論文摘要，2001
  - 蔡明憲、楊明芬、陳巧文、陳清農、林文鑫、曾虹萍、陳勁初，大鼠致畸測試一樟芝發酵原液凍乾成品，中華保健食品學會第二屆第一次年會壁報論文摘要，2002