

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

運動訓練對樹突狀細胞發育及免疫功能之影響

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2413-H-034-004-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：中國文化大學體育學系

計畫主持人：江界山

共同主持人：陳景星，陳裕仁，吳慧君

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 20 日

運動訓練對樹突狀細胞發育及免疫功能之影響

The Effect of Exercise Training on the Development and Immune
Function of Dendritic Cells in Fisher 344 Rats

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 91-2413-H-034-004

執行期間：91 年8 月1 日至92 年7 月31 日

計畫主持人：江界山 中國文化大學體育學系

共同主持人：陳裕仁 馬偕紀念醫院放射腫瘤科

陳景星、吳慧君 中國文化大學體育學系

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：中國文化大學

中 華 民 國 92 年 10 月 20 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

運動訓練對樹突狀細胞發育及免疫功能之影響

The Effect of Exercise Training on the Development and Immune Function of Dendritic Cells in Fisher 344 Rats

計畫編號：NSC 91-2413-H-034-004

執行期限：91 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

主持人：江界山 中國文化大學體育學系

共同主持人：陳裕仁 馬偕紀念醫院放射腫瘤科

陳景星、吳慧君 中國文化大學體育學系

一、摘要

樹突狀細胞 (dendritic cell, DC) 為有效率的抗原呈獻細胞，可直接破壞腫瘤的生長，亦能有效刺激 T 淋巴球而達到抗腫瘤之效果，DC 為當前免疫治療的有效方法之一，惟目前尚未有研究證實運動訓練對 DC 之影響。本研究目的在探討五週的運動週期運動訓練對大鼠 DC 的發育數量、表面抗原、抑制 U937 細胞生長和抑制 YAC-1 細胞生長的影響。本研究將 10 隻週齡 6-8 週、體重 150-180 公克的 Fischer 344 雄性大鼠，隨機分成運動組 (EG, n=5) 與不運動組 (NEG, n=5)。本研究為大鼠設計為期五週的運動訓練週期 (periodization training program)，在電動跑步機上進行漸進的跑步運動負荷，運動強度從 10 m/min 漸增至 25m/min；跑步時間則由 15 分鐘漸增至 35 分鐘，訓練的最後一週增加坡度 2%；每天運動訓練前、後，各以 5m/min 運動 1 分鐘進行暖身及恢復活動，每週三則以前一天負荷的 50% 進行動態恢復。運動訓練後取大鼠大腿骨髓加入 GM-CSF、IL-4 及 LPS 以培養樹

突狀細胞；在進行抗 U937 癌細胞生長及抑制 YAC-1 細胞生長研究上，則抽取兩組大鼠心臟血液 10c.c.，分離血中單核細胞 (免疫 mononuclear cells, MNC)，並取脾臟細胞，用不同劑量的植物凝血素 (phytohemagglutinin, PHA) 製備條件培養液 (conditioned medium, CM)，進而觀察其對白血病 U937 細胞株及淋巴瘤 YAC-1 細胞株的抑制作用。所得之各項資料以獨立樣本 t 檢定考驗 EG 與 NEG 各變項等的差異，並以 $p = .05$ 為顯著水準。結果發現五週的週期運動訓練對大鼠 DC 的生長發育達顯著差異水準 ($p < .05$)，但對 DC 的表面抗原則未達顯著的差異；在單核細胞培養液對 U937 的抑制率中，EG 與 NEG 在 PHA 濃度 $50 \mu\text{g/ml}$ 達顯著差異 ($p < .05$)；在脾臟細胞條件培養液對 YAC-1 的抑制率中，在 PHA 濃度 $20 \mu\text{g/ml}$ 及 $40 \mu\text{g/ml}$ 時，達顯著性差異 ($p < .05$)。運動訓練可促進大鼠 DC 的生長發育、抑制白血病 U937 及淋巴瘤 YAC-1 細胞株的生長。

關鍵字：運動訓練、樹突狀細胞、抗原呈獻細胞、動態恢復

Abstract

Dendritic cells (DCs) are potent antigen-presenting cells and can promote antitumor immunity in vivo when pulsed with tumor antigen, however, no studies indicated that exercise training affects DCs functions. The purpose of this study was to investigate the effect of a 5-week periodization exercise training on the count and immune function of DCs, the study also intend to identify the inhibition of U937 cells growth by mononuclear cells conditioned medium (MNC-CM) and the inhibition of YAC-1 cells growth by spleen cell conditioned medium (S-CM). The male Fisher 344 (F344) rats were served as the experiment subjects and were divided into two groups: exercise group (EG, n=5) and non-exercise group (NEG, n=5). The training protocol consists of running on a motor-driven treadmill at 0° incline 6 days/week for 5 weeks, during which the running time was increased from 15 to 35 min/day and treadmill speed was gradually increased from 10 to 25 m/min, and increased the gradient by 2% at the last week. Warm up and recovery were conducted at 5m/min for 1min before and after exercise training and active recovery (AR) is set as 50% intensity of previous day. Group differences of all variables were evaluated by the independent t-test and the significant level was set at $p = .05$. The results of this study showed that the count of DCs increase significantly ($p < .05$), no significant were found in surface antigen of CD80、CD86 ($p > .05$). The proliferation of U937 cells was significantly inhibited by MNC-CM with PHA at $50 \mu\text{g/ml}$ ($p < .05$), and the proliferation of YAC-1 cells was significantly inhibited by S-CM with PHA at $20 \mu\text{g/ml}$ and $40 \mu\text{g/ml}$ ($p < .05$). It was concluded that a 5-week exercise training promotes the count of DCs and enhances the

anti-tumor capabilities.

Keyword : DENDRITIC CELL,
EXERCISE EFFECTS,
IMMUNE FUNCTION

二、研究背景

癌症(Malignant neoplasm, 惡性腫瘤)自從 1982 年起第一次躍登國人十大死因第一名後, 即蟬連了十大死因之首達 19 年之久(行政院衛生署, 2001), 從癌症死亡率的不斷提昇, 癌症對於國人生命的威脅日漸嚴重, 因而如何有效地預防及治療癌症已成為刻不容緩的重要課題。

人體免疫系統的主要功能為辨識外來的抗原, 並經由免疫細胞的活化, 產生保護人體的作用, 然而腫瘤細胞是由正常細胞不斷增生卻沒有進一步分化所引起的, 免疫系統不易辨識之(季匡華, 2000)。近幾年來, 對於癌症發展出許多的治療方法, 免疫療法便是一項具有潛力的治療方式, 而目前最熱門的話題之一就是樹突狀細胞免疫治療(季匡華, 2000; Timmerman, 1999)。

樹突狀細胞(dendritic cell)為非常有效的抗原呈現細胞(antigen presenting cells, APCs)。生物體內針對腫瘤細胞最有效之免疫反應為細胞毒殺性淋巴球反應(cytotoxic T-lymphocytes, CTLs response), 而要誘導專一性 CTLs 的產生必須藉由抗原呈現細胞先將特定抗原呈現給 CTLs, 使 CTLs 針對帶有此特定抗原之細胞進行毒殺作用, 而樹突狀細胞則是目前已知最有潛力之 APCs。

規律且適度的運動訓練有助於提昇人體的免疫系統, 且愈來愈多流行病學的研究顯示身體活動與某些癌症

的發生率呈現負相關。運動被認為可預防癌症的發生，是因為時常運動者會有較佳的體適能的緣故(Sternfeld, 1992)，因此本研究探討運動訓練對於樹突狀細胞的作用，期望能證實運動訓練之免疫效用，以提供推展全民運動的動機。

三、研究的重要性與目的

規律適度的運動促進免疫系統之功能已獲得證實，樹突狀細胞為免疫反應最初的啟動者，而目前尚未有研究探討運動訓練對樹突狀細胞的發育及其免疫功能的影響，因此本研究即在藉由探討運動訓練是否能顯著的促進樹突狀細胞的數量、形態學、刺激淋巴球的增生及抗腫瘤的能力，以提供運動能提昇免疫力並作為癌症之輔助療法的重要佐證。研究目的如下：

- (一) 探討運動訓練對樹突狀細胞數量的影響。
- (二) 探討運動訓練對樹突狀細胞表面抗原的影響。
- (三) 探討運動訓練對大鼠單核細胞培養液抑制 U937 細胞生長的影響。
- (四) 探討運動訓練對大鼠脾臟細胞條件培養液抑制 YAC-1 細胞生長的影響。

四、文獻探討

(一) 樹突狀細胞的功能、特性與抗腫瘤之作用

1973 年，Steinman 及 Cohn 由小鼠之淋巴器官裡，發現一種新種類的細胞，因其外形呈突觸樹枝狀，因此命名為樹突狀細胞(dendritic cell, DC)。

樹突狀細胞是有效的抗原呈現細胞(antigen-presenting cells)，分布於各

種組織中，當樹突狀細胞移行到淋巴器官時，能有效刺激 T 淋巴球(Steinman, 1991)，尤其可以呈現抗原給非活性(quiescent)、未成熟(naive)、或記憶型(memory)的 T 淋巴球(Banchereau, 1998)。樹突狀細胞獲致抗原的方式有很多種，包括：細胞溶解物質(cell lysates)、蛋白質、生類、DNA 均可以進入樹突狀細胞。

影響樹突狀細胞生長發育的因素有很多，其中重要的調控因子為顆粒細胞-巨噬細胞叢聚刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)，研究已證實 GM-CSF 為試管實驗中樹突狀細胞自行生長發育而持續生存數天至數星期的必要條件(Markowitz, 1990；Inaba, 1992；Scheicher, 1992)。

樹突狀細胞依據分化的程度，將其分成未成熟與成熟兩類，可以從表現的功能加以判斷(Labeur, 1999)。未成熟的樹突狀細胞和成熟的樹突狀細胞具有不同的選擇性吞噬細胞的能力(selective phagocytic activity)，未成熟的樹突狀細胞具有吞噬細胞、捕獲抗原的能力，細胞表面表現少量的 MHC class I、MHC class II 及共同刺激因子(co-stimulatory molecules)；而成熟的樹突狀細胞會降低抗原吞噬能力，表現大量的 MHC class I、MHC class II 及共同刺激因子，活化增強了抗原呈現能力(季匡華，2000；Derk, 1997；Colin, 1997)。未成熟的樹突狀細胞在脂質多醣體(lipopolysaccharide, LPS)、接觸性過敏原(contact)、細菌、病毒、細胞產物如單核細胞培養液(monocyte - conditioned medium；MCM)、TNF- α 、IL-1、PGE2、

TNF- α (Macatonia, 1987 ; Bhardwaj, 1994 ; MacPherson, 1995 ; Roake, 1995 ; De Smedt, 1996 ; Rescigno, 1998 ; Bender, 1998 ; Sparwasser, 1998 ; Verdijk, 1999 ; Cella, 1999) 及 CD40L(Caux, 1994; Cella, 1996)的刺激下，會漸漸分化為成熟樹突狀細胞。1998年，Albert 及 Sauter 指出，未成熟的樹突狀細胞吞噬能力是成熟樹突狀細胞的五倍(Albert, 1998)。而陳茂良(1999)的研究以成熟的樹突狀細胞作為材料，探討樹突狀細胞對 T 淋巴球受到腫瘤細胞所放出不同的抑制免疫性細胞間素 (immunosuppressive cytokines)抑制後的影響結果顯示成熟的樹狀細胞對刺激 T 淋巴球具有較好的能力。

目前臨床研究所使用的樹突狀細胞是以未成熟的樹狀細胞為主，而使樹突狀細胞所表現的 MHC 分子上具有腫瘤細胞特有的 polypeptides (Nestle, 1998; Robert, 1996; Porgador, 1995; Mayordomo, 1995)，再經由樹突狀細胞刺激人體 T 淋巴球，來使癌症病患自己產生對抗腫瘤細胞的能力。2000年 Suater 及 Albert 指出，將未成熟的樹突狀細胞暴露在懷死的腫瘤細胞中，會造成成熟特異性標記 (maturation-specific markers)及共同刺激因子的表現量上升，且此種樹突狀細胞有能力去誘發抗原特異性 CD4⁺及 CD8⁺ T 細胞，而啟動免疫反應。

整理許多的研究結果指出，樹突狀細胞有下列幾點特性：1.樹突狀細胞具有攝取(take up)、切割(process)、呈現(present)抗原的能力。2.樹突狀細胞具有與 T 淋巴球作用及直接刺激、引

起 T 淋巴球反應的能力。3.由靜脈注射進入之樹突狀細胞，會向主要的淋巴組織器官移動，如：脾臟及淋巴結。4.介白素 12 號(Interleukin-12, IL-12)及細胞表面之共同刺激因子 (co-stimulatory factor)都藉由與 B7 之受體 CD28 互相作用，誘導有效力之免疫反應。5.藉由專一性 CD4⁺T 細胞可達到抗腫瘤效應。

在最近的癌症治療研究方面，樹突狀細胞已被作為免疫治療的工具之一(Timmerman, 1999; Nair, 1992)。由於樹突狀細胞具有活化未成熟 T 淋巴球的能力已被證實，樹突狀細胞以羧氨酸(peptides)、細胞溶解(cell lysates)或 RNA 的形式攜帶抗原，而活化免疫以誘發細胞傳導免疫反應以對抗癌症(Mayordomo, 1995; Schuler, 1997; Zitrogl, 1996; Boczkowski, 1996)。過去研究證實樹突狀細胞可藉由刺激腫瘤專一性的 T 淋巴球而達到其抗腫瘤之效果(Schuler, 1997);另有一些研究指出注射載有腫瘤抗原的樹突狀細胞會提昇 T 淋巴球的活性，且可以破壞腫瘤的形成並顯著地延長壽命(De Veerman, 1999; Song, 1997; Ashley, 1997)。而在一些臨床試驗的結果中證實以樹突狀細胞輸送載有腫瘤抗原的羧氨酸，對於治療癌症病患已有促進的效果(Nestle, 1998)。已有研究以老鼠腫瘤實驗模型證實注射載有特殊抗原的樹突狀細胞可以減少腫瘤的生長(Labeur, 1999; Yung, 1997)。

由於樹突狀細胞可以招致 TNF- α 及表現膜 FasL(Verhasselt, 1997)及高水平的含氮氧化物(Lu, 1996)，因此認為樹突狀細胞可能參與先天性防禦免疫以對抗一些傳染病媒介及惡性腫

瘤。樹突狀細胞可以潛入人體的腫瘤中(Thurnher, 1996; Zeid, 1993; Becker, 1992)破壞腫瘤的生長。

近年來，癌症之死亡率一直居高不下，對於癌症的預防，各界莫不投入大量的金錢與人力，企圖降低罹患率及死亡率。樹突狀細胞刺激 T 淋巴球之能力與對抗腫瘤之效果已獲得證實，且樹突狀細胞為啟動免疫反應之重要因子。因此本研究藉由探討規律的運動訓練對樹突狀細胞的作用，期望證實運動訓練能作為預防癌症的重要手段。

(二) 運動對免疫系統之作用

人體免疫系統可大略分為兩大部分，即自然(先天性)免疫(Nature, Innate immunity)和適應性(後天性)免疫(Adaptive, Acquired immunity)，前者屬於非特異性作用(Nonspecific)，後者則具有專一性(specific)的免疫記憶作用。

免疫反應最初都由白血球(leucocytes)所引發，因此評定血液中白血球數量的改變是衡量免疫功能的指標之一(Shephard, 1994)，白血球的數量增加表示人體免疫系統防禦病毒或細菌的能力增強；反之，若數量減少而低於安靜時即表示免疫系統防禦病毒的功能衰弱。

規律適度的運動有助於免疫功能的提昇(Shinkai, 1996; Shinkai, 1995; Rhind, 1994; LaPerriere, 1994; Mazzeo, 1994)。Nieman 等人(1993)的研究發現長期維持運動習慣且擁有良好體能的年長女性(65-84 歲)血液中 T 細胞經植物血液凝集素(phytohemagglutinin, PHA)之刺激後其增殖率，以及自然殺手細胞的活性

(cytotoxic activity)都不比運動的年長女性佳。Nieman(1995)等人的另一項研究也說明了男性也有類似的現象，他們比較了男性馬拉松選手及一般不運動的男性，其結果也發現男性馬拉松選手血液中自然殺手細胞活性高於不運動的男性達 57%。另一個為期 10 星期的有氧運動訓練的結果也顯示淋巴球中表面抗原呈現 CD2+, CD4+, CD8+ 及 CD20+ 的數量，經 10 週的有氧運動訓練而有顯著的增加。受測者固定運動負荷 150watts 時，其心跳率也從平均每分鐘 176 下降至 150 下，顯示心肺功能與免疫功能成正相關(LaPerriere, 1994)。Rhind 等人(1994)的研究也發現受過有氧訓練的受測者血液中白血球之總數、NK 細胞和顆粒白血球數量等都比未受訓練者多，但淋巴球卻有較少的現象，而 CD3+, CD19+ 及 CD4+/CD8+ 之比率則沒有差異。Shinkai 等人(1995)的研究更證實了經常從事慢跑活動的年長男性(平均年齡 63.8± 0.8)淋巴球對 PHA 等植物性增殖分裂原之刺激比不正常運動年長男性的淋巴球有較佳的增殖反應，介白素 2(IL-2)、介白素 4(IL-4)及干擾素 γ (IFN- γ) 等也有較高的合成速率。

相反的，過量的超負荷運動卻可能引起與上述結果完全迥異的抑制免疫現象(immunosuppression)，造成人體免疫功能的缺陷，而容易受細菌及病毒感染之威脅，而影響身體健康。Shek 等人(1995)的研究中讓 6 位男性自願者以 65%VO_{2max} 的運動強度在跑步機上跑 120 分鐘或體溫達 40°C 時停止跑步。運動後抽血分析結果發現這些受測者血液中 NK 細胞的數量減少

40%，並長達 7 天之久才漸次回升，而 CD4+，CD8+ 及 CD3+ 之數量在運動後 120 分鐘內也都是呈現低於運動前 60%。而 Nieman 等人(1995)以耗竭式(exhaustive)舉重運動為實驗設計，10 位擁有平均 9 年多的重量訓練經驗的選手，以 1RM 的 65%，每組 10 次，每次 6 秒鐘的水平蹲舉(parallel leg squat)速度，每回合間休息 3 分鐘至肌肉完全疲勞，運動後血液分析結果也顯示，運動後 NK 細胞活性顯著的低於運動前 40%達 2 小時之久。Northoff 等人(1994)回顧了多項有關運動對細胞激素的影響之研究，發現過度運動對細胞激素有明顯的抑制現象。Kajiure 等人(1995)的研究發現運動引起的各類淋巴球數量的減少時間短暫，而主要是受運動強度影響較大。Mackinnon 及 Hopper(1994)的研究也認為運動強度是上呼吸道黏膜免疫被抑制的重要因素。

綜合多項運動對人體免疫系統功能影響的研究結果，整理了免疫系統經運動訓練而產生的反應如下 (Shephard, 1994)：

(I)人體免疫系統對一次激烈或急性運動後典型反應：

1. 白血球數量：運動中最初會增加，運動後立即減少，最後又會回升。
2. 單核細胞數量：運動中及運動後皆會增加。
3. 淋巴球數量：T 細胞及 B 細胞運動中及運動後有時會增加。
4. 自然殺手細胞：自然殺手細胞之數量及活性最初會增加，稍後其數量及活性皆會一段時間下降，尤其是運動強度很重以及運動時間加長。
5. 免疫球蛋白：在人體內及體外之合

成皆會因耗竭式的運動而降低。

(II)免疫系統經耐力訓練之改變情形：

1. 白血球數量：安靜時沒有反應，某一程度的運動會有小反應。
2. 顆粒白血球數量：安靜時沒有改變。
3. 單核細胞數量：如果訓練很重，則吞噬能力會下降。
4. 淋巴球數量：安靜時 T 細胞及其同類細胞沒有改變，如果訓練很重，則安靜時及運動中都會減少。
5. 自然殺手細胞：適度訓練增加其安靜時之活性，如果訓練很重，則會減低其活性，IL-2 β 接受器密度會增加。
6. 免疫球蛋白：適度訓練會增加其濃度，訓練量太大則會降低安靜時免疫球蛋白濃度，而體外合成亦會減少。

人體生理機制過度使用則耗損，適度使用則功能增強，免疫系統的功能亦不例外，適度運動可以促進其防禦疾病之功能，過度運動則會造成免疫功能抑制現象而引起感染疾病之危險。然而，運動訓練之“量”可能因個人體能情況而異，體能佳者，其疲勞閾值可能較高，可以承受較強且較長時間之運動訓練，免疫系統功能可能亦較不易被抑制或破壞，反之則否。因此，如何設計一套適度且安全的運動計劃？將是考驗著運動是否提昇免疫系統的主要關鍵。

(三) 運動對抗腫瘤之作用

癌症之形成主要始於人體細胞核內之去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的改變。原本 DNA 內的腫

瘤形成基因(oncogenes)及腫瘤抑制基因(tumor suppressor genes)相互合作正常的控制人體細胞的修補及死亡取代；當人體外界的破壞因素如：輻射線(radiation)、化學藥品(chemicals)及病毒(viruses)等，或是人體內部的因素，如免疫狀況(immune condition)、荷爾蒙(hormones)及基因突變(genetic mutations)等等傷害了這些基因，造成了這些基因的缺陷，最後即引起人體細胞成長為腫瘤(tumor)而形成癌症(Hoeger, 1997)。

近年來在流行病學的研究中，愈來愈多的證據顯示身體活動與降低各類癌症之總死亡率及減少某些癌症之發生率有關。

在所有的人體活動與癌症的研究中，以結腸癌與直腸癌的研究較多。1992年Sternfeld曾整理多篇人體活動與癌症的流行病學研究報告，在其探討的18篇研究結果中，有15篇研究結果指出人體活動與結腸癌呈負相關，但與直腸癌無關。1995年，Longnecker等人的研究發現激烈的休閒活動與減少右結腸癌確實有關，但對降低直腸癌沒有關係；Thune、Lund(1996)與Lee(1994)的研究也都有相同的結果。而且研究資料顯示這種效果具有劑量效應現象(dose-response effect)，意指只要人體總活動量增加至某一定量時才會有顯著的降低結腸癌罹患率之現象。

有關女性乳癌及生殖系統癌症與人體活動之研究，由於人體活動會影響女性荷爾蒙之分泌，間接影響了乳癌及生殖系統癌症的發生，因而引發了研究人員的興趣。Mittendorf等人於1988至1991年的研究以電話訪談進行

調查，結果顯示在14-22間只要有自訴(self-reported)參與激烈運動之女性，乳癌的罹患率即有適量降低；而與不活動的女性相比較，自訴至少一天從事一次激烈運動的女性其罹患乳癌之比率竟然少一半。且Thune(1997)的研究也發現較多的休閒活動與降低乳癌有關。至於子宮頸癌方面，Olson(1997)研究中比較在16歲時及訪談前20年有從事激烈運動的女性及沒有運動的女性，發現有運動的女性明顯的降低了子宮頸癌的罹患危險。

美國著名的Cooper有氧研究中心在1971至1989年間，以跑步機(treadmill)為年齡20-80歲的12,975位男性評估最大的心肺適能(cardiorespiratory fitness)，而在1982至1990年進行問卷調查，結果顯示高心肺適能與攝護腺癌呈負相關；此外，身體活動也與罹患攝護腺癌之危險呈負相關，每週因運動消耗大於1000大卡之男性對於降低攝護腺癌的罹患率有明顯的效果(Oliveria, 1996)。

目前研究證據顯示，運動對結腸癌、肺癌、乳癌、攝護腺癌、生殖系統的癌症等幾種癌症有正面的預防效果(Sternfeld, 1992；Lee, 1994；Giovannucci, 1995；Oliveria, 1996)。但身體活動對於癌症預防之確切機制尚不清楚。目前被提出的幾種可能機制及假設如下：

(I)適度運動促進人體免疫防禦能力：

運動對於促進免疫系統之功能已被證實，其中對於癌症預防或對腫瘤細胞的破壞及清除，自然免疫系統(natural or innate immunity)為主要機制。而又以自然殺手細胞(natural killer

cell, NK)(Huage, 1998; Nieman, 1995; Hoffman, 1994; Nieman, 1993)、巨噬細胞 (macrophage) 或單核細胞 (monocyte)(Peters, 1995; Hoffman, 1994; Rincon, 1994)等被認為最重要。這些細胞經研究發現運動訓練後會增強其部分功能(Huang, 1998; Nieman, 1995; Rincon, 1994), 因此, 被認為是運動預防癌症的機制之一。

(II)運動造成性荷爾蒙的改變：

女性乳癌一般認為與動情激素 (estrogen) 及黃體脂酮 (progesterone) 等有關(Whelan, 1994; Pike, 1993)。長期的激烈運動訓練後及適量的休閒活動可能會減少強力動情激素 (estradiol) 及黃體脂酮的分泌(Ellison, 1986; Ballen, 1985), 可能為運動預防乳癌的機制之一。臨床上的觀察及實驗室的研究都認為睪固酮 (testosterone) 是攝護腺癌發生的主要原因之一(Illic, 1996; Gittes, 1991), 男性運動員與非運動員血液中有較低睪固酮濃度, 且男性在運動後血液中睪固酮會明顯減

少(Hackney, 1990), 因此, 身體運動降低睪固酮及被認為是運動預防攝護腺癌之主要機制之一。

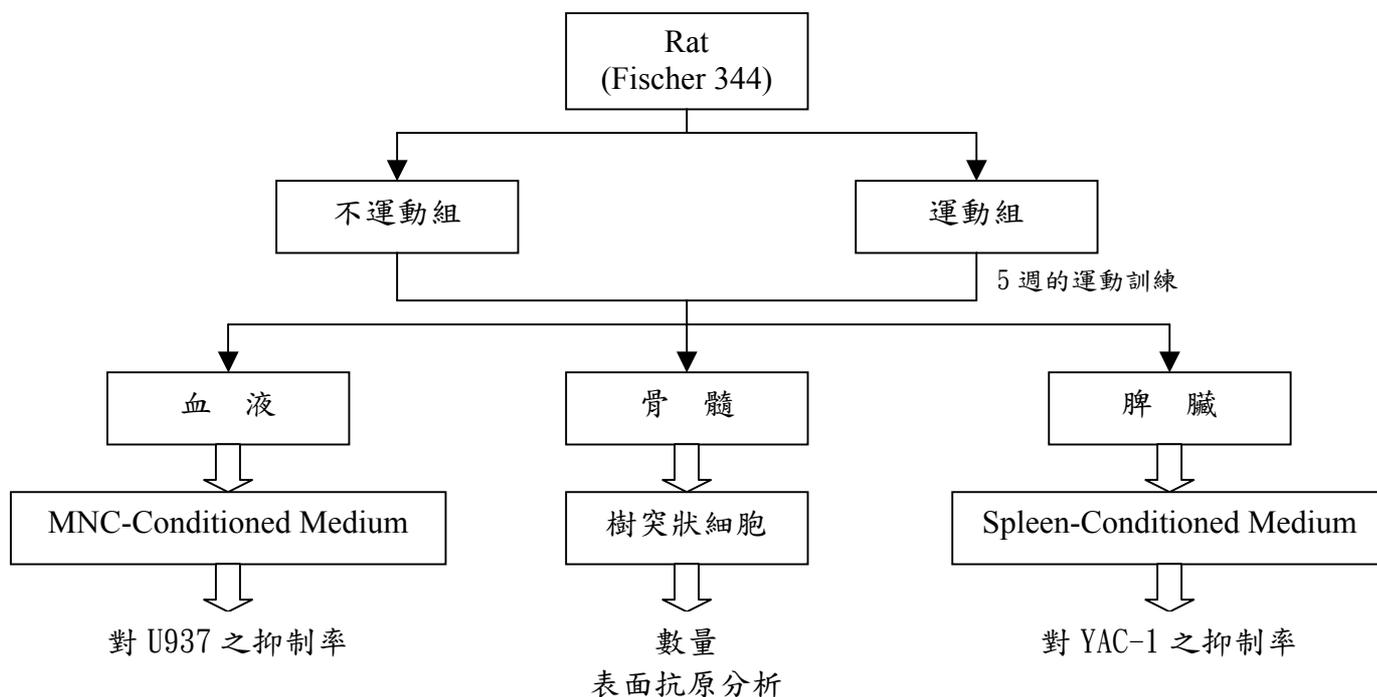
(III)運動訓練增強了人體內抗氧化機制：

自由基 (free radical) 是引起癌症的可能因素之一(邱文信, 1998; Copper, 1997)。已有研究發現適度運動訓練會增強人體內的抗氧化機制, 如胱鈦過氧化酶 (glutathione peroxidase)、過氧化氫酶 (catalase) 及過氧化物歧化酶 (superoxide dismutase) 等清除自由機的機制(邱文信, 1998; 謝錦城, 1997; Karlsson, 1997; Copper, 1997; Leeuwenburgh, 1994), 因此也是運動抗癌的可能功臣之一。

由以上的研究證據顯示運動的重要性已無庸置疑, 而設計一套適合個人的運動計劃對於健康的促進是很重要的。適當且規律運動可促進健康、延長生命, 更能提昇生活、生命的品質, 因此值得全面推廣。

五、研究方法

(一) 研究設計



圖一 實驗流程圖

(二) 實驗動物

本研究之受試者為 Fischer 344 雄性大白鼠(週齡 6-8、體重 150-180 公克)，隨機分為運動組和不運動組。所有動物皆購買自「行政院國家科學委員會國家實驗動物繁殖及研究中心」，飼養於控制光線及溫度的動物房中，並供給充足的食物及水分。

(三) 運動訓練設計

運動訓練的理論基礎：運動訓練負荷的增加依據 Bompa(1999)的階梯式訓練負荷原則而設計。階梯式的方法順應生理及心理的需求，在增加訓

練負荷之後安排一個降低負荷的階段，使生物體在此期間得到適應和恢復。

運動組經過各一星期的環境適應及運動適應(5m/min, 3min/day)後開始進行跑步機(treadmill)運動訓練。運動強度從 10m/min 增加到 25m/min，時間從 15 分鐘增加到 35 分鐘，每天運動訓練前、後以 5m/min 運動 1 分鐘進行暖身及恢復，最後一週增加 2%的坡度，每週六天，其中一天以前一天負荷的 50%進行動態恢復，共進行五週的運動訓練。運動訓練的設計如表一。

表一 運動訓練設計

星期 週次	一	二	三	四	五	六	日
第一週	10m/min 15min	10m/min 15min	動態恢復	10m/min 20min	10m/min 20min	10m/min 20min	休息
第二週	15m/min 20min	15m/min 20min	動態恢復	15m/min 25min	15m/min 25min	15m/min 25min	休息
第三週	20m/min 25min	20m/min 25min	動態恢復	20m/min 30min	20m/min 30min	20m/min 30min	休息
第四週	25m/min 30min	25m/min 30min	動態恢復	25m/min 35min	25m/min 35min	25m/min 35min	休息
第五週	25m/min 35min 2%	25m/min 35min 2%	動態恢復	25m/min 35min 2%	25m/min 35min 2%	25m/min 35min 2%	休息

(四) 樹突狀細胞分析

1. 樹突狀細胞的分離及培養

解剖取出老鼠大腿骨，使大腿骨的兩端開口，以針筒吸取 10ml 的培養基 (RPMI1640 + 10%FCS + 1%Glutamine + 1%抗生素)，將大腿骨的骨髓沖出至培養皿中，將培養皿放入 37°C，充滿 5%CO₂ 的培養箱 (incubator) 中培養 2 小時。

培養 2 小時後取出培養皿，將懸浮的單核細胞沿管壁輕輕吸起丟棄，再沿管壁緩緩加入 10ml 的 RPMI1640，輕輕搖動培養皿以清洗附著的細胞表層後吸掉，最後加入 10ml 的培養基及 IL-4、GM-CSF 各 5ng/ml，放到培養箱中培養三天。

第三天取出培養皿，沿管壁輕輕吸起上清液丟棄，再緩緩加入 10ml 的 RPMI1640，輕輕搖動培養皿以清洗附著的細胞表層後吸掉，再加入 10ml 的培養基及 IL-4、GM-CSF 各 5ng/ml，放到培養箱中培養三天。

於第六天取出培養皿，加入 LPS (lipopolysaccharide) 5 μ l/ml，再放入培養箱中培養 24 小時後即發育成成熟的樹突狀細胞。樹突狀細胞會附著於培養皿底部的巨噬細胞上，因此搖動培養皿將樹突狀細胞與巨噬細胞分離，再將其吸起置於離心管以 1200rpm 的轉速離心 10 分鐘，倒掉上清液，加入適量的培養液，染以 Methylene blue 以計算樹突狀細胞的數量。

2. 樹突狀細胞數量分析

將樹突狀細胞濃度調成 1×10^5 /ml，取 100 μ l 利用細胞離心製片機 (cytospin)，以 1000rpm 的轉速離心 5 分鐘將細胞打出固定於載玻片，吹乾後染以 Liu's stain (Liu A 45 秒，Liu B 90 秒)，再吹乾後，以顯微鏡計算樹突狀細胞的數量。

3. 樹突狀細胞的表面抗原分析

以 CD80 及 CD86 檢查樹突狀細胞的

表面抗原。方法如下：

- (1) 將樹突狀細胞濃度調為 $1 \times 10^6/\text{ml}$ ，取 $100 \mu\text{l}$ 至數個小離心管中。
- (2) 分別加入 CD80 及 CD86 各 $2 \mu\text{l}$ ，置於冰桶中作用 30 分鐘，作用過程中必須不斷搖動。
- (3) wash：加入 1ml 的 PBS + 10%FCS，在 4°C 下以 1200rpm 離心 10 分鐘，離心後倒去上清液，共進行兩次。
- (4) 再避光染 $2 \mu\text{l}$ 的 FITC，並置於冰桶中避光作用 30 分鐘，作用過程中亦須不斷搖動。
- (5) wash：加入 1ml 的 PBS + 10%FCS，在 4°C 下以 1200rpm 離心 10 分鐘，離心後倒去上清液，共進行兩次。
- (6) 染 $2 \mu\text{l}$ 的 PI，避光作用 5 分鐘。
- (7) wash：加入 1ml 的 PBS + 10%FCS，在 4°C 下以 1200rpm 離心 10 分鐘，離心後倒去上清液。
- (8) 加入 $500 \mu\text{l}$ 的 PBS + 10%FCS。
- (9) 以流式細胞儀偵測樹突狀細胞的表面抗原。

(五) 單核細胞條件培養液(MNC-CM) 對 U937 細胞生長之作用

1. 單核細胞條件培養液(MNC-CM) 之製備

取大鼠之心臟血液，以相等體積的比例緩緩滴入 Histopaque 溶液上層，避免打破兩層之界面，以 2000rpm 速率離心 20 分鐘後，可見由上而下分成五層：黃色血漿、白色單核球，透明 Histopaque 溶液、白色顆粒球及暗紅色紅血球。收集白色單核球層 (mononuclear cell; MNC)，以 HBSS

溶液洗兩次(1200rpm 速率離心 10 分鐘)，倒去上清液，將細胞重新懸浮於培養基中，於倒立顯微鏡下計算其細胞數目。調整細胞濃度，分別培養於兩個培養皿中，加入濃度 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的植物凝集素(phytohemagglutinin，簡稱 PHA)，另設一組不加藥物之正常組(MNC-CM-control)，置於 37°C 、5% CO_2 的培養箱中培養 5 天，收集各組之培養液，以 $0.45 \mu\text{m}$ 之過濾膜除去細胞及雜質，即得無菌之單核細胞條件培養液，分別將其收集於 eppendorf 中，保存於 -20°C 的冰箱中備用。

2. 單核細胞條件培養液(MNC-CM) 對 U937 細胞生長之作用

將人類白血病細胞株 U937，濃度調成 $2 \times 10^5/\text{ml}$ ，分別取 1ml 於 2 個培養皿中，分別加入 MNC-CM-control 和 MNC-CM-PHA50 各 0.6 ml 於兩個培養皿中，再加入培養基 0.4ml 調成 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 的濃度。置於 37°C 、5% CO_2 的培養箱中培養 5 天。5 天後輕輕刮下培養皿中的 U937 細胞收集於離心管中，取 $100 \mu\text{l}$ 的 U937 細胞與 trypan blue 染色溶液以 1:1 之比例混合，計算其細胞數，求得 MNC-CM 對 U937 抑制率。

(六) 脾臟細胞條件培養液(S-CM) 對 YAC-1 細胞生長之作用

1. 脾臟細胞條件培養液(S-CM) 之製備

取大鼠之脾臟，利用組織研磨器(homogenizer)將脾臟組織磨碎，形成分散的細胞懸浮液，再利用 1mm 孔徑的金屬篩網濾掉成團的結締組織。取 $100 \mu\text{l}$ 的脾臟細胞與 $900 \mu\text{l}$ 的

methylene blue 染色溶液混合，計算有核細胞(leukocyte)的數目，並將細胞濃度調成 $1 \times 10^7/\text{ml}$ ，

分別培養於兩個培養皿中，加入濃度 20 及 $40 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的植物凝集素 (phytohemagglutinin，簡稱 PHA)，另設一組不加藥物之正常組 (S-CM-control)，置於 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 的培養箱中培養 5 天，收集各組之培養液，以 $0.45 \mu\text{m}$ 之過濾膜除去細胞及雜質，即得無菌之脾臟細胞條件培養液，分別將其收集於 eppendorf 中，保存於 -20°C 的冰箱中備用。

2. 脾臟細胞條件培養液 (S-CM) 對 YAC-1 細胞生長之作用

將老鼠淋巴瘤細胞株 YAC-1，濃度調成 $2 \times 10^5/\text{ml}$ ，分別取 1ml 於 2 個培養皿中，分別加入 S-CM-control、S-CM-PHA20 及 S-CM-PHA40 各 0.6 ml 於兩個培養皿中，再加入培養基 0.4ml 調成 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 的濃度。置於 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 的培養箱中培養 3 天。3 天後輕輕刮下培養皿中的 YAC-1 細胞收集於離心管中，取 $100 \mu\text{l}$ 的 YAC-1 細胞與 trypan blue 染色溶液以 1:1 之比例混合，計算其細胞數，求得 S-CM 對 YAC-1 抑制率。

(七) 資料處理

本研究所得之各項資料以 SPSS for Windows 11.0 統計軟體進行處理分析，以 t 檢定比較運動組與不運動組對樹突狀細胞之發育及免疫功能之影響，並以 $p = .05$ 定為顯著水準。

五、結果

(一) 運動訓練對樹突狀細胞數量的影

響：

經過五週的運動訓練後，分離並培養出樹突狀細胞，細胞濃度調成 $1 \times 10^5/\text{ml}$ ，分別計算每 100 個細胞中生長發育的樹突狀細胞數量(如表二)，得到運動組為 25.6 ± 6.91 個，非運動組為 17.4 ± 4.04 個，統計分析呈現顯著差異($p = .038$)，顯示五週的運動訓練對樹突狀細胞的生長發育有顯著性影響。

(二) 運動訓練對樹突狀細胞表面抗原的影響：

以 CD80 及 CD86 檢查樹突狀細胞的表面抗原。經流式細胞儀分析結果如表三，發現運動訓練對樹突狀細胞表面抗原表現量均無達到顯著差異($p > .05$)。

(三) 運動訓練對單核細胞培養液抑制 U937 細胞生長之分析：

將人類白血病細胞株 U937 與 MNC-CM (PHA0、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$)，濃度調成 $1 \times 10^5/\text{ml}$ ，置於 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 的培養箱中培養 5 天。5 天後輕輕刮下以計算細胞數。結果如表四，運動組在不同 PHA 濃度(0、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$)對 U937 的抑制率分別為 $5.63 \pm 1.77\%$ 、 $29.20 \pm 8.56\%$ ，而不運動組的抑制率為 $4.43 \pm 4.08\%$ 、 $15.21 \pm 6.89\%$ 。經統計結果如下：

(I) 運動組比不運動組之單核細胞培養液對 U937 細胞生長的抑制在 PHA 濃度 $0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 時 $p = .061$ ，未達顯著性差異。

(II) 在 PHA 濃度 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 時 $p = .04$ ，達顯著性差異。

(四) 運動訓練對脾臟細胞條件培養液抑制 YAC-1 細胞生長之分析:

將老鼠淋巴瘤細胞株 YAC-1 與 S-CM (PHA0、20、40 μ g/ml)，濃度調成 1×10^5 /ml，置於 37°C、5%CO₂ 的培養箱中培養 3 天。3 天後輕輕刮下以計算細胞數。結果如圖二，運動組在不同 PHA 濃度(0、20、40 μ g/ml)對 YAC-1 的抑制率分別為 24.13 \pm 3.98%、48.43 \pm 4.17%、52.99 \pm 7.23%，而不運動組的抑制率為 14.93 \pm 4.36%、23.57 \pm 2.95%、26.98 \pm 1.41%。經統計結果如下：

(I) 運動組比不運動組之脾臟細胞條件培養液對 YAC-1 細胞生長的抑制在 PHA 濃度 0 μ g/ml 時 $p = .053$ ，未達顯著性差異。

(II) 在 PHA 濃度 20 μ g/ml 時 $p = .001$ ，達顯著性差異。

(III) 在 PHA 濃度 40 μ g/ml 時 $p = .037$ ，達顯著性差異。

六、討論

(一) 運動訓練設計

本研究的運動訓練設計，參考許多大鼠的運動設計文獻(Dishman, 2000；Moriguchi, 1998；Nasrullah, 1992；Ferry, 1990)，並援引運動訓練週期模式進行大白鼠嚴謹的量化運動訓練。

依據 Bompa(1999)所提出的週期概念(periodization)，在本研究的運動訓練設計中，將漸進式原則、動態恢復、暖身(warm up)及恢復(cool down)的概念應用其中，發展出一套適合大鼠的運動訓練計畫。

實驗鼠經過五週的運動訓練之後，明顯比不運動組老鼠的體型結

實、毛色變得漂亮有光澤、食量較大、生命力旺盛，因此可將此運動訓練模式應用於相關研究中。

(二) 運動訓練對樹突狀細胞之影響

癌症是目前導致人類死亡的重大疾病之一，在最近的癌症治療研究方面，樹突狀細胞已被作為免疫治療的工具之一(Timmerman, 1999；Nair, 1992)。

研究證實樹突狀細胞可藉由刺激腫瘤專一性的 T 淋巴球而達到其抗腫瘤之效果(Schuler, 1997)，樹突狀細胞亦可以潛入人體的腫瘤中破壞腫瘤的生長(Thurnher, 1996；Zeid, 1993；Becker, 1992)。在臨床的文獻中，已將骨髓樹突狀細胞運用在人體免疫治療的臨床試驗，其中治療的疾病包含有第三、四期黑色素瘤(melanome)(Nestle et al, 1998)、前列腺癌(prostate cancer)(Salgaller et al, 1998)，及腎細胞癌(renal cell carcinoma) (Hotly et al, 1998)。

本研究結果顯示五週的運動訓練對樹突狀細胞發育的數量顯著優於不運動組，因此推論運動訓練可提升抑制腫瘤之機制。

(三) 運動訓練對抑制腫瘤細胞生長之作用

本研究藉由規律的運動訓練後，單核細胞培養液對 U937 之抑制及脾臟細胞條件培養液對 YAC-1 之抑制有達顯著性效果，證明本研究之運動訓練設計有助於大鼠抑制腫瘤細胞之生長。

許多文獻指出規律適度的運動有助於免疫功能的提昇(Shinkai, 1996；

Shinkai, 1995; Rhind, 1994; LaPerriere, 1994; Mazzeo, 1994); 而也有研究證據顯示, 運動員對於惡性腫瘤的罹患率及死亡率均較非運動員為低 (Frisch, 1985; Frisch, 1989; Nieman, 1989),

本研究之大鼠藉由運動訓練有效提昇抗腫瘤之能力, 達到運動促進免疫功能之目的。

七、結論與建議

本研究擬探討 Fischer 344 雄性大白鼠(週齡 6-8、體重 150-180 公克) 進行五週的運動訓練後, 對樹突狀細胞數量、表面抗原的影響, 並探討單核細胞培養液抑制 U937 細胞生長、脾臟細胞條件培養液抑制 YAC-1 細胞生長的影響。

本研究之結果如下:

- 一、五週的運動訓練對樹突狀細胞的生長發育有顯著性影響($p = .038$)。
- 二、五週的運動訓練對樹突狀細胞表面抗原表現量均無達到顯著差異($p > .05$)。
- 三、在單核細胞培養液對 U937 的抑制率中, 運動組與不運動組在 PHA 濃度 $50 \mu\text{g/ml}$ 達顯著差異($p = .04$), 表示運動訓練後單核細胞培養液對 U937 細胞生長比不運動具有明顯的抑制效果。
- 四、在 S-CM 與 S-CM-PHA50 對 YAC-1 的抑制率中, 運動組與不運動組之脾臟細胞條件培養液對 YAC-1 抑制在 PHA 濃度 $20 \mu\text{g/ml}$ 及 $40 \mu\text{g/ml}$ 時, 達顯著性差異($p = .001$ 、 $p = .037$)。

八、參考文獻

一、中文部分

1. 尤儀德(2000)。由小鼠脾臟細胞與 GM-CSF 及 IL-4 基因改造之腫瘤細胞共同培養可產生成熟的棘狀細胞。國立成功大學微生物暨免疫學研究所碩士論文。
2. 陳茂良(1999)。樹狀細胞刺激作用對由抑制性免疫細胞激素所造成之 T 淋巴球不活化的影響。私立東吳大學微生物學系碩士論文。
3. 陳裕仁(1996)。運動對免疫系統的影響。教育部國民體育季刊, 25(1), 101-106。
4. 李匡華、劉士任、謝世良(2000)。樹枝狀細胞免疫治療。臨床醫學, 46(6), 365-371。
5. 黃森芳(1998)。運動對癌症之預防效果。教育部國民體育季刊, 27(4), 54-68。
6. 邱文信(1998)。從自由基談運動對人體的影響, 教育部國民體育季刊, 27(1), 61-72。
7. 謝錦城(1997)。人體骨骼肌抗氧化系統對於耐力運動與訓練的反應。中華民國大專院校 86 學年度體育學術研討會專刊(下), 382-399。
8. 黃森芳(1999)。一次運動對人體血液中白血球及淋巴球數量之影響。教育部國民體育季刊, 28(1), 62-79。

二、英文部分

1. Ashley, D.M., Faiola, B., Nair, S., Hale, L. P., Bigner, D. D. & Gilboa, E. (1997). Bone marrow-generated dendritic cells pulsed with tumor extracts or tumor RNA induce antitumor immunity against central nervous system tumors. J Exp Med, 186, 1177.
2. Bompa, T. O. (1999). Periodization: theory and methodology of training. Human Kinetics.
3. Banchereau, J. & Steinman, R. M. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. Nature, 392, 245.
4. Ballen, B. A., Skrinar, G. S., Beitins, I. Z.,

- von Mering, G., Turnbull, B. A., & McArthur, J. W. (1985). Induction of menstrual disorders by strenuous exercise in untrained women. New England Journal of medicine, 312, 1349-1353.
5. Brunsgaard, H., Hartkopp, A., Mohr, T., Konradsen, H., Heron, I., Mordhorst, C. H. & Pedersen, B. K. (1997). In vivo cellmediated immunity and vaccination response following prolonged, intense exercise. Med. Sci. Sports Exerc., 29(9), 1176–1181.
 6. Boczkowski, D., Nair, S. K., Snyder, D. & Gilboa, E. (1996). Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells in vitro and in vivo. J Exp Med, 184, 465.
 7. Becker, Y. (1992). Anticancer role of dendritic cells (DC) in human and experimental cancers. Anticancer Res, 12, 511.
 8. Colin Watts. (1997). Inside the gearbox of dendritic cell. Nature, 388(21), 724-725.
 9. Dishman, R. K., Warren, J. M., Hong, S., Bunnell, B. N., Mougey, E. H., Meyerhoff, J. L., Jaso-Friedmann, L., & Evans, D. L. (2000). Treadmill exercise training blunts suppression of splenic natural killer cell cytotoxicity after footshock. Journal of Applied Physiology, 88(6), 2176-2182.
 10. Derk, N. J. Hart. (1997). Dendritic cells: Unique leukocyte populations which control the primary immune response. Blood, 90, 3245-3287.
 11. De Veerman, M., Heirman, C. & Van Meirvenne S. (1999). Retrovirally transduced bone marrow-derived dendritic cells require CD4+ T cell help to elicit protective and therapeutic antitumor immunity. J Immunol, 162, 144.
 12. Eichner, E. R. & Calabrese, L. H. (1994). Immunology and exercise- physiology, pathophysiology, and implications for HIV infection. Sports Medicine, 78(2), 377-388.
 13. Ellison, P. T., & Lager, C. (1986). Moderate recreational running is associated with lowered salivary progesterone profiles in women. Am.J. Obster. Gynecol., 154, 1000-1003.
 14. Gittes, R. F.(1991). Carcinoma of the prostate. New England Journal of Medicine, 324, 236-245.
 15. Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E. B., Golditz, G. A., Stampfer, M. J. & Willett, W. C. (1995). Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in man. Annals of internal Medicine. 122(5), 327-334.
 16. Hoger, W. W.K. & Hoger, S. A. (1997). Principles and labs for fitness and Wellness.
 17. Hoffman-Goetz, L. (1994). Exercise, Natural immunity and tumor metastasis. Med. Sci. Sports Exerc., 26(2), 157-163.
 18. Huang, S. F. (1998). Effect of exercise on the functions of natural killer in human immune system. Physical Education Quarterly, 27(1), 32-45.
 19. Hackney, A. C., Sinning, W. E. & Brout, B. C. (1988). Reproductive hormonal profiles of endurance-trained and untrained males. Med. Sci Sports Exerc. 20, 60-65.
 20. Illic, M., Vlajinac, H. & Marinkovic, J. (1996). Case-control study of risk factors for prostate cancer. British Journal of Cancer, 74, 1682-1686.
 21. Hart, D. N. (1997). Dendritic cells: unique

- leukocyte populations which control the primary immune response. Blood, 90, 3245.
22. Kajiura, J. S., MacDougall, J. D., Ernst, P. B. & Younglai, E. V. (1995). Immune response to changes in training intensity and volume in runners. Med. Sci. Sports Exerc., 27(8), 1111-1117.
 23. LaPerriere, A., Antoni, M. H., Ironson, G., Perry, McCabe, P., Klimas, N., Helder, Lu., Schneiderman, N., & Fletcher, M. A., (1994). Effect of aerobic exercise training on lymphocyte subpopulations, Int. J. Sport Med., 15, 127-130.
 24. Lee, I. & Paffenbarger Jr., R. S. (1994). Physical activity and its relation to cancer risk: a prospective study of college alumni. Med. Sports Exerc. 26(7), 831-837.
 25. Longnercker, M. P., Gerhardsson de V. M., Frumkin, H. & Carpenter, C. (1995). A case-control study of physical activity in relation to risk of cancer of the right colon and rectum in men. International Journal of Epidemiology, 24(1), 42-50.
 26. Leeuwenburgh, C., Fiebig, R., Chandwaner, R. & Li, L. J. (1994). Aging and exercise training in skeletal muscle: response of glutathione and antioxidant enzyme systems. Am. J. Physiol. 267(36), 439-445.
 27. Labeur, M. S., Roters, B. & Pers, B. (1999). Generation of tumor immunity by bone marrow-derived dendritic cells correlates with dendritic cell maturation stage. J Immunol, 162-168.
 28. Lu, L., Bonham, C. A. & Chambers, F. G. (1996). Induction of nitric oxide synthase in mouse dendritic cells by IFN-gamma, endotoxin, and interaction with allogeneic T cells: nitric oxide production is associated with dendritic cell apoptosis. J Immunol, 157, 3577.
 29. Mayordomo, J.I. (1995). Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with synthetic tumor peptides elicit protective and therapeutic antitumor immunity. Nature Med., 1, 1297-1302.
 30. Mittendorf, R., Londnecker, M. P., Newcomb, P. A., Dietz, A. T., Greenberg, E. R., Bogdan, G. F., Clapp, R. W., & Willett, W. C. (1995). Strenuous physical activity in young adulthood and risk of breast cancer (United States). Cancer Causes and Control, 6, 347-353.
 31. Mazzeo, R. S. (1994). The influence of exercise and aging on immune function. Medicine and Science in Sports and Exercise, 26, 586-592.
 32. Mackinnon, L. T. & Hooper, S. (1994). Muscosal (Secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtrainig. Int. J. Sports Med, 15(3), 179 –183.
 33. Mayordomo, J. I., Zorina, T. & Storkus, W. J. (1995). Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with synthetic tumour peptides elicit protective and therapeutic antitumour immunity. Nat Med, 1, 1297.
 34. Nestle, F. O., Alijagic, S., Gilliet, M., Sun, Y., Grabbe, S., Dummer, R., Burg, G. & Schadendorf, D. (1998). Vaccination of melanoma patient with peptide or tumor lysate- pulsed dendritic cells. Nature Med., 4, 328-332.
 35. Nair, S., Zhou, F., Reddy, R., Huang, I. & Rouse, B. T. (1992). Soluble proteins delivered to dendritic cells via pH-sensitive liposomes induce primary cytotoxic T lymphocyte responses in vitro. J. Exp Med., 175, 609-612.
 36. Nieman, D. C., Hesson, D. A., Guswitch, G.,

- Warren, B. J., Doston, R. C., Butterworth, D. E. & Nehlsen-Cannarella, S. L. (1993). Physical activity and immune function in elderly women. Med. Sci Sports Exerc., 27(7), 823-831.
37. Nieman, D. C., Buckley, K. S., Henson, D.A., Warren, B. J., Shuttles, J., Ahle, J. C., Siman-dle, S., Fagoaga, O. R. & Nehlsen-Cannarella, S. L., (1995). Immune function in marathon runners versus sedentary controls. Med. Sci. Sports Med., 27(7), 986-992.
38. Nieman, D. C., Henson, D. A., Gusewitch, G., Warren, B. J., Doston, R. C., Butterworth, D.E. & Nehlsen-Cannarella, S. L. (1993). Role of endurance exercise in immune senescence. Medicine and Science in Sport and Exercise, 26, 172-181.
39. Nieman, D. C., Henson, D. A., Sampson, C. S., Herring, J. L., Sutthes, J., Conley, M., Stone, M. H., Butterworth, D. E. & Davis, J. M. (1995). The acute immune response to exhaustive resistance exercise. Int. J. Sports Med, 16, 322-328.
40. Northoff, H., Weinstick, C. & Berg, A. (1994). The cytokine response to strenuous exercise. Int. J. Sports Med, 15(3), 167-171.
41. Nestle, F.O., Alijagic, S. & Gilliet, M. (1998). Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. Nat Med, 4, 328.
42. Olson, S. H., Vena, J. E., Dorn, J. P., Marshall, J. R., Zielezny, M., Laughlin R. & Graham, S. (1997). Exercise, Occupational activity, and risk of endometrial cancer, Ann. Epidemiol., 7, 46-53.
43. Oliveria, S. A., Kohl, H. W., Trichopoulos, D. & Blair, S. N. (1996). The association between cardiorespiratory fitness and prostate cancer. Med. Sci. Sports Exerc. 28(1), 97-104.
44. Pedersen, B. K., Rohde, T., & Zacho, M. (1996). Immunity in athletes. J. Sports Med. Phys. Fitness, 36, 236-245.
45. Paglia, P., Chiodoni, C., Rodolfo, M. & Colombo, M. P. (1996). Murine dendritic cells loaded in vitro with soluble protein prime CTL against tumor antigen in vivo. J. Exp Med., 183, 317-322.
46. Porgador, A. & Gilboa, E. (1995). Bone marrow generated dendritic cells pulsed with a class I-restricted peptide are potent inducers of cytotoxic T lymphocytes. J. Exp Med., 182, 255-260.
47. Peters, C., Lotzerich, H., Niemeir, B., Schule, K., & Uhlenbruck, G. (1995). Exercise, cancer and the immune response of monocytes. Anticancer Research, 15, 175-180.
48. Pike, M. C., Spicer, D. V., Dah-moush, L. & Press, M. F. (1993). Estrogen, progesterone, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. Epidemiol. Rev. 15, 17-35.
49. Rincon, E. O. (1994). Physiology and biochemistry: Influence of exercise on phagocytosis. Int. J. Sports Med. 15(3), 172-178.
50. Robert, A. H., Maya, T. N., Simon, C. W., Paul, D. R., Edward, D. B. & Olivera, J. F. (1996). Cancer Res., 56, 3763-3770.
51. Rhind, S. G., Shek, P. N., Shinkai, S., & Shephard, R. J. (1994). Differential expression of interleukin-2 receptor alpha and beta chain in relation to natural killer cell subsets and aerobic fitness. Int. J. Sport Med., 15(6), 911-918.

52. Steinman, R. M. (1991). The dendritic cell system and its role in immunogenicity. Annu Rev Immunol, 9, 271-296.
53. Shephard, R. J. & Shek, P. N. (1994). Potential impact of physical activity and sport on immune system – a brief review. Br. J. sport Med., 28(4), 247-255.
54. Shinkal, S., Kohno, H., Kimura, K., Komura, T., Asai, H., Inai, R., Oka, K., Kurokawa, Y., & Shephard, R. J. (1995). Physical activity and immune senescence in man. Med. Sci. Sports Exerc., 20(11), 1516-1526.
55. Sternfeld. B. (1992). Cancer and the protective effect of physical activity: the epidemiological evidence. Med. Sci. Sports Exerc. 24(11), 1192-1209.
56. Shinkai, S., Konishi, M., Shephard, R. J. (1996). Aging, exercise, training and immune system. Exercise Immunology Review, 3, 68-95.
57. Shek, P. N., Sabiston, B. H., Buguet, A. & Radomsk, M. W. (1995). Strenuous exercise and immunological changes: A multiple –time point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response. Int. J. Sports Med. 16(7), 466-474.
58. Schuler, G. & Steinman, R. M. (1997). Dendritic cells as adjuvants for immune-mediated resistance to tumors. J Exp Med, 186, 1183.
59. Song, W., Kong, H. L. & Carpenter, H. (1997). Dendritic cells genetically modified with an adenovirus vector encoding the cDNA for a model antigen induce protective and therapeutic antitumor immunity. J Exp Med, 186, 1247.
60. Thurnher, M., Radmayr, C. & Ramoner, R. (1996). Human renal-cell carcinoma tissue contains dendritic cells. Int J Cancer, 68, 1.
61. Timmerman, J. M. & Levy, R. (1999). Dendritic cell vaccines for cancer immunotherapy. Annu Rev Med, 50, 507-529.
62. Thune, I. & Lund, E. (1996). Physical activity and risk of colorectal cancer in men and women. British Journal of Cancer, 73, 1134-1140.
63. Thune, I., Brenn, T., Lund, E. & Gaard, M. (1997). Physical activity and the risk of breast cancer. New England Journal of Medicine, 336(18), 1269-1275.
64. Verhasselt, V., Buelens, C., Willems, F., De Groote, D., Haeffner-Cavaillon, N. & Goldman, M. (1999). Bacterial lipopolysaccharide stimulates the production of cytokines and the expression of costimulatory molecules by human peripheral blood dendritic cells: evidence for a soluble CD14-dependent pathway. J Immunol, 158, 2919.
65. Whelan, E. A., Sandler, D. P., Root, J. L., Smith, K. R. & Weinberg, C.R. (1994). Menstrual cycle patterns and risk of breast cancer. Am.j. Epidemiol, 140, 1081-1090.
66. Yang, S., Darrow, T. L., Vervaert, C. E. & Seigler, H. F. (1997). Immunotherapeutic potential of tumor antigen-pulsed and unpulsed dendritic cells generated from murine bone marrow. Cell Immunol, 179, 84.
67. Zitvogel, L., Mayordomo, J. I. & Tjandrawan, T. (1996). Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells: dependence on T cells, B7 costimulation, and T helper cell 1-associated

cytokines. *J Exp Med*, 183, 87.

68. Zeid, N. A. & Muller, H. K. (1993). S100 positive dendritic cells in human lung tumors associated with cell differentiation and enhanced survival. *Pathology*, 25, 338.

九、計畫成果自評

本研究內容與原計畫相符，預期目標均達成，研究成果具學術價值，因此將在學術期刊中發表。

表二 運動訓練對數突狀細胞數量之影響

單位：個/100

組別	運動組	不運動組	p
A	15	19	
B	28	23	
C	26	17	
D	31	16	
E	28	12	
	25.6± 6.19	17.4± 4.04	0.038*

*p < .05

表三 運動訓練對樹突狀細胞表面抗原表現量分析

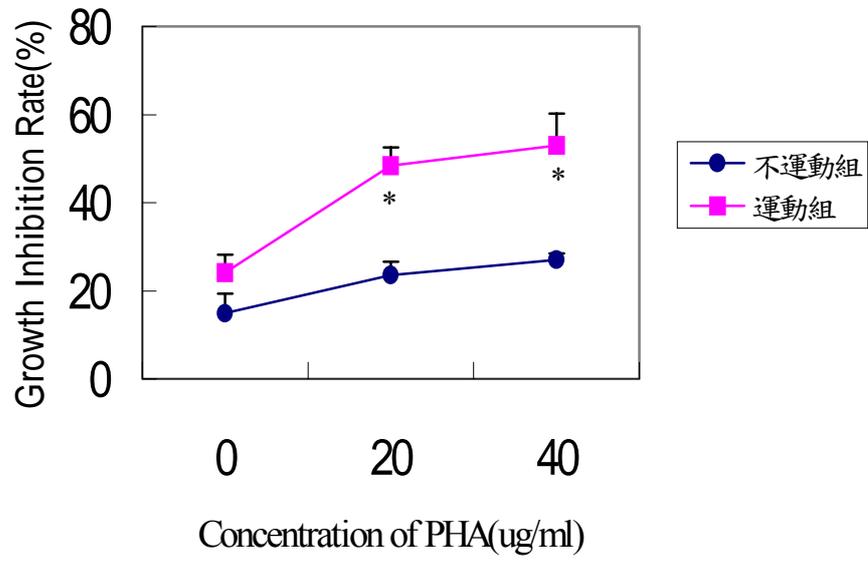
	運動組	不運動組	p
CD80	74.21 ± 9.78	70.78 ± 20.41	0.74
CD86	73.86 ± 10.55	76.96 ± 16.50	0.73

*p < .05

表四 運動訓練對單核細胞培養液抑制 U937 細胞生長之分析

	運動組	不運動組	p
MNC-CM	5.63 ± 1.77	4.43 ± 4.08	0.61
MNC-CM- PHA50	29.20 ± 8.56	15.21 ± 6.89	0.04*

*p < .05



圖二 脾臟細胞條件培養液(S-CM)對 YAC-1 細胞生長抑制之作用 (* $p < .05$)