

中藥茯苓對老鼠B淋巴球功能的影響

賴怡琪 劉倩君 曾哲明

國立臺灣師範大學生物學系所

摘 要

本文針對中藥材「茯苓」對老鼠B淋巴球分泌免疫球蛋白(抗體)功能及其生長之影響加以研究，發現不論是茯苓生藥或朱拌炮炙品之甲醇淬取物，對B淋巴球皆有胞殺作用，其存活率降低之程度隨茯苓萃取液增加而增加，在培養基中含50%茯苓萃取液之下，B淋巴球在24小時內由90%存活率降至20%，到培養第四天為止保持20%左右之存活率，至第五天才降至0%，IgG及IgM分泌隨總細胞數及存活率之降低而減少，但IgA總分泌量則不因茯苓萃取液在培養基中之含量增加而明顯減少，以單位細胞數(即 10^6 個B細胞)之分泌量而言，不論生藥或炮炙品萃取液皆顯著促進IgA分泌的增加。由本實驗結果推論得知，茯苓與其他增進免疫功能之藥材配合使用，旨在調和其他藥材之藥效，使免疫系統不至過於亢進，茯苓選擇性促進IgA之分泌則有利於增強黏膜免疫之功能。

關鍵詞：茯苓、老鼠B淋巴球、免疫球蛋白

緒 言

中藥對免疫系統的影響，一直是中藥學研究的課題，尤其是補氣健脾藥對免疫系統之調節已被廣泛的探討。文獻指出補氣健脾藥可增強巨噬細胞之吞噬作用、增加白血球之增殖能力、誘導分泌干擾素、提高血清補體之濃度、促進淋巴球活化及分泌IgG、IgM、IgA等免疫球蛋白(孫, 1992)。

B淋巴球是負責製造抗體的細胞。B淋巴球製造的抗體有五種：M型、G型、A型、D型、E型。M

型抗體是所有抗體的原始型，在B細胞成熟過程中，製造原始型抗體的B細胞會轉換成製造其它型的抗體。在人體血清中最主要是G型抗體，G型抗體最繁忙，可以透過胎盤照顧媽媽肚子裏的胎兒。A型抗體也是肩負重責，它大量存在於呼吸道、消化道、生殖道的黏膜層中，為人體提供第一線防禦。此外，在母乳中也含有大量的A型抗體，為出生後的小嬰孩提供不可或缺的抗病機轉。E型抗體在血液含量最少，但是對於人體的影響最大，因為它是造成「過敏反應」的

主要發動者(曾, 1990)。

本實驗室在八十年代開始進行有關補氣藥之藥材對免疫系統調節功能之研究。研究初期以茯苓為探討對象，發現茯苓有抑制單核球分泌TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及GM-CSF之功能(Tseng and Chang, 1990)，其他相關實驗只有大陸學者曾經報導，黃耆可增強病毒誘生干擾素(Interferon)之能力(孫, 1992)。

補氣藥對免疫球蛋白分泌的影響，有部分大陸學者曾加以研究，但研究對象主要也是黃耆。黃耆對IgA、IgG、IgM在血清中的濃度有提升作用，尤其黃耆可增加鼻腔分泌IgA(孫, 1992)，至於茯苓是否有同樣之效果，則尚無人報導。

茯苓為真菌 *Poria coco* (Fr) Wolff，寄生於Pinus 屬植物的根所生之菌核。乾燥者，其皮為茯苓皮，白色者為白茯苓，淡紅色者為赤茯苓，茯苓中心抱有木心者為茯神。另茯苓有拌、蒸、複製等三種較常用之炮炙品，古法甚至有童便浸和人乳蒸等炮炙法(許, 1979)。

本研究計畫探討茯苓對老鼠B淋巴球生長及分泌免疫球蛋白的影響，藉以瞭解茯苓在補氣健脾藥方中之藥理與機轉。

材 料 與 方 法

實驗動物

BALS/C小白鼠：8-12週大，雄性，購自三軍總醫院，飼養於師大生物系動物房，使用福壽牌實驗動

物飼料飼養(粗蛋白23.5%以上；粗脂肪4.5%以上；粗纖維6%以下；水分12%以下；灰分9%以上)，飼養二週後，即進行實驗。

試劑、抗體及藥品

脂多醣體 Lipopolysaccharide (LPS from *E. coli* serotype 0128: B12, Sigma Chemical, MO. USA) 是溶於pH=7.4之1×PBS buffer中，並稀釋為2mg/ml的濃度。Mouse IgG (IgG whole molecule; Jackson Immuno-research Laboratories Inc, PA.USA)。Mouse IgM (Purified mouse IgM Kappa chain; Pharmingen, CA. USA)。Goat anti-mouse IgG-HRP (Peroxidase-conjugated affinipure goat anti-mouse IgG(H + L); Jackson Immunoresearch Laboratories, Inc., PA. USA)。Goat anti-mouse IgM-HRP (peroxidase conjugated affinipure goat anti-mouse IgM, Mu chain specific; Jackson Immunoresearch Laboratories, Inc., PA.USA)。Peroxidase Goat anti-mouse IgA (alpha chain. SP. Zymed Laboratorise, Inc. CA. USA)。

茯苓生藥萃取液備製

自中藥房選購茯苓中藥，標示來源後，去皮切塊取5g加100ml之50%酒精，煎煮至剩餘一半的液體，再將藥湯以10,000xg離心10分鐘，收集上清液後，以0.2 μ m micropore濾紙過濾之，再以Speed Vac蒸乾之，此萃取液將為100%藥劑，無菌過濾後使用。實驗時再將

此溶解於細胞培養液中(體積與原上清液同)使用之。

茯苓炮製萃取液備製

取茯苓生藥塊加水噴濕，每600g的茯苓塊加入11.25g的朱砂(此法為黑龍江、北平、天津、山東、蘇州、上海等地所採用之朱拌炮製法)拌勻，製於烘箱中24小時烘乾後，去皮切塊取5g加入100ml 50%之酒精，隨後之處理方法同生藥。

細胞之計數

細胞的計數是使用hemacytometer。活細胞的鑑定是以等體積之0.4% trypan blue和細胞液充份混合，加入hemacytometer之凹洞中，再顯微鏡下觀察，若呈現藍色則為死細胞，若是透明光亮則為活細胞。

分離脾臟淋巴球

BALB/c小白鼠(8至12週大)大，經斷頸及70%酒精噴灑消毒後，用剪刀剪開其皮膚及腹膜，取出脾臟。另準備一盛有10ml RPMI-1640細胞培養液之培養皿，其中放置細胞研磨器，將脾臟置於細網上以研磨器磨碎，使細胞分離而懸浮於培養液中。如此收集到的脾臟細胞自培養皿吸出，裝入50ml離心管中。加1ml cold RBC lysing buffer (EDTA-NH₄Cl)處理10分鐘，以去除紅血球。離心清洗三次後，將細胞移至培養皿中，於二氧化碳培養箱(37°C, 5%CO₂)放置三小時，使附著

性細胞附著於培養皿上，隨後收集非附著性細胞，即脾臟淋巴球。

以Panning Method分離B淋巴球

先將Rabbit anti-mouse Ig溶於280nm下測其吸光度，估算Rabbit Ig的濃度(E=14.0)，將已知濃度的Rabbit anti-mouse Ig用Tris buffer (0.05M, pH=9.5)稀釋為20 μg/ml(總體積為10ml)。將配好的溶液倒入coating plate中，並搖勻，置於室溫下一小時。作用時間後，將plate內的液體移除，用cold PBS-10%FBS 5ml沖洗plate四次，以備分離細胞用。

將培養箱中的細胞取出後，吸出未附著的細胞(含B和T淋巴球)，經離心清洗一次後，將細胞懸浮於5ml的PBS-10%FBS溶液中，隨後緩慢的從已製備好的coating plate中間滴入細胞，將plate放在4°C下作用1小時之後，吸出上清液，培養皿用PBS-10%FBS緩慢清洗四次，用5ml的吸管沖下附著於plate的B淋巴球，收集後放入離心管中離心，清洗一次後，置於室溫中以備隨後之實驗。

B淋巴球的培養

將純化的B淋巴球以RPMI-1640細胞培養液調整成濃度為1×10⁶個/ml，培養在96格細胞培養盤(Nunc.Denmark)中，每格加入100 μl(1×10⁵個細胞)，並加入脂多醣體活化，每1×10⁶細胞加入脂多醣體10 μg，同時加入欲測試之茯苓

生藥萃取液及茯苓炮製萃取液。若是觀察茯苓的濃度效應，則於培養第四天收取細胞，計算細胞數目及存活率，並離心收集細胞培養之懸浮液，以酵素免疫分析法測其中三種抗體亞型(IgG、IgA、IgM)的濃度。若是觀察生長曲線，則做為期六天的培養，並在B淋巴球培養當天開始，每天收集細胞懸浮液，計算細胞數目及存活率，亦收集細胞懸浮液，以酵素免疫分析法測三種抗體亞型之濃度。

酵素免疫分析法測定免疫球蛋白 (Peterman and Butler, 1989)

1.測IgG：

首先將Rabbit anti-mouse Ig(自製)配成濃度 $2 \mu\text{g/ml}$ ，加入96格的ELASA plate(Nunc/ Denmark), 每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，放在 4°C 中隔夜，翌日，拿出plate用0.05%PBS-Tween20洗三次，吸乾。以1%PBS-gelatin進行blocking，每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，放在 37°C 的二氧化碳培養箱中作用60分鐘。將樣品稀釋成1/10，IgG標準液序列稀釋為：5、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、 $0 \mu\text{g/ml}$ 等各濃度。取出放在 37°C 培養箱中之plate，以0.05%PBS-Tween20清洗三次並吸乾，隨後分別加入待測樣品及標準液各 $100 \mu\text{l}$ ，在 37°C 培養箱中作用二小時。拿出ELASA plate續用0.05%PBS-Tween20清洗三次並吸乾後再加入Goat anti-mouse IgG-HRP (稀釋1/5000)每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，續於培養箱作用60分鐘，最後再用

0.05% PBS-Tween20洗三次，隨後加入 $100 \mu\text{l}$ 的substrate buffer (0.1% O-phenylenediamine; 0.1M Citrate buffer, pH 4.5; 0.03% H_2O_2)，令其於室溫中作用30分鐘。然後用ELASA reader(主波長490nm, 輔波長630nm)讀O D值。參考標準曲線，計算出各待測樣品所含IgG之濃度。

2.測IgM：

首先將Rabbit anti-mouse Ig(自製)配成濃度 $2 \mu\text{g/ml}$ ，加入96格的ELASA plate (Nunc. Denmark)，每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，放在 4°C 中隔夜，翌日，拿出plate用0.05% PBS-Tween 20 洗三次，吸乾。用1%PBS-gelatin進行blocking，每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，放在 37°C 的二氧化碳培養箱中作用60分鐘。將樣品稀釋為1/20，IgM標準液序列稀釋為：10、5、2、1、0.5、0.01、0.05、 $0 \mu\text{g/ml}$ 等各濃度。取出放在 37°C 培養箱中之plate，以0.05% PBS-Tween20清洗三次並吸乾，隨後分別加入待測樣品及標準液各 $100 \mu\text{l}$ ，在 37°C 培養箱中作用二小時。拿出ELASA plate續用0.05%PBS-Tween20清洗三次並吸乾，再加入Goat anti-mouse IgG-HRP (稀釋1/5000)，每格加入 $100 \mu\text{l}$ ，續於培養箱作用60分鐘，最後再用0.05% PBS-Tween20洗三次，隨後加入 $100 \mu\text{l}$ 的Substrate buffer (0.1% O-phenylenediamine; 0.1M Citrate buffer, pH4.5; 0.03% H_2O_2)，令其於室溫中作用30分鐘。然後用ELASA reader(主波長490nm, 輔波長

630nm)讀O.D.值。參考標準曲線，計算出各待測樣品所含IgM之濃度。

3.測IgA：

首先將Sheep anti-mouse IgA稀釋成1/8000，加入96格的ELISA plate(Nunc.Denmark)，每格加入100 μ l後，放在4°C隔夜，翌日，拿出plate用0.05% PBS-Tween20洗三次，吸乾。以1%PBS-gelatin進行blocking，每格加入100 μ l，37°C的二氧化碳培養箱中作用60分鐘後，將樣品稀釋1/2，IgA標準液序列稀釋為：2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.031、0 μ g/ml等各濃度。取出在37°C培養箱作用之plate，以0.05%PBS-Tween20洗三次，吸乾，分別加入待測樣品以及標準液各100 μ l，在37°C培養箱中作用二小時。拿出ELISA plate續用0.05%PBS-Tween 20清洗三次並吸乾，再加入Goat anti-mouse IgA-HRP(稀釋1/2000)，每格加入100 μ l，於培養箱作用60分鐘，最後再用0.05% PBS-Tween20洗三次，隨後加入100 μ l的Substrate buffer (0.1%O-phenylenediamine; 0.1M Citrate buffer, pH 4.5, 0.03% H₂O₂)，令其於室溫中作用30分鐘。然後用ELISA reader(主波長490nm, 輔波長630nm)讀O.D.值。參考標準曲線，計算出各待測樣品所含IgA之濃度。

結 果

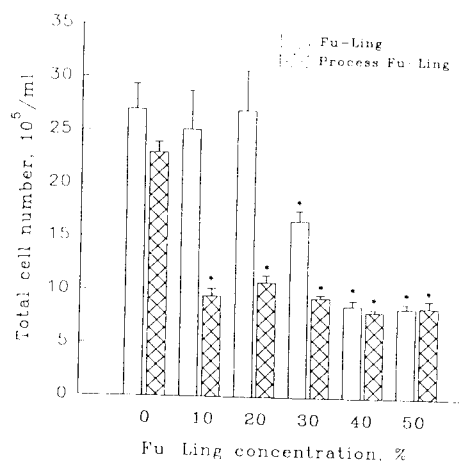
茯苓對B淋巴球生長與存活率之影響

B淋巴球總數隨茯苓濃度之增加而減少(圖一)，細胞總數以控制組而言，在培養第三天就呈線性增加，而加入茯苓之後，細胞生長則完全被抑制了(圖二)，細胞生長第四天後即呈顯著差異($p < 0.05$)。以生藥及朱拌炮炙品之間作比較，炮炙品在10%之濃度下即有約60%之抑制效應，藥效相差四倍。細胞存活率隨伴著生長之抑制效應之顯著降低，以濃度效應為例，B淋巴球培養五天後，控制組之存活率在70%左右，而存活率隨茯苓濃度之增加而減少，在50%茯苓生藥或炮炙品萃取液之下，存活率只有10%左右(圖三)，存活率的降低在培養的第一天即明顯發生($p < 0.05$)(圖四)，以生藥及炮炙品作比較仍以炮炙品對B淋巴球存活率之影響大。

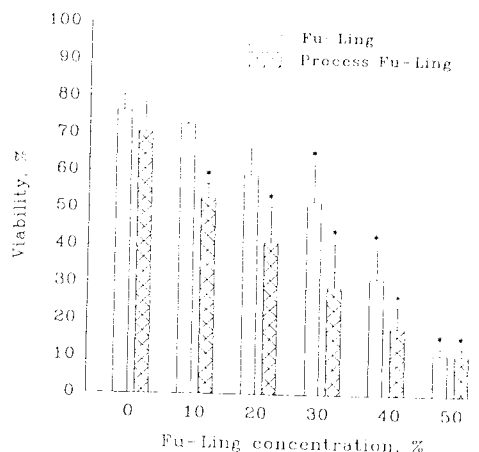
茯苓對IgA分泌之影響

不論生藥或炮炙品，茯苓對B淋巴球分泌IgA皆無顯著之濃度效應(圖五)，以不同培養時間取出上清液測IgA濃度，在控制組，生藥組及炮炙品之間到第四天才具有顯著差異(圖六)，不過如依照單位細胞數來計算，每10⁶個細胞所分泌之IgA量則有差別，茯苓無論生藥或炮炙品皆顯著比控制組分泌得多，此現象在第一天之後即很明顯(圖七)。

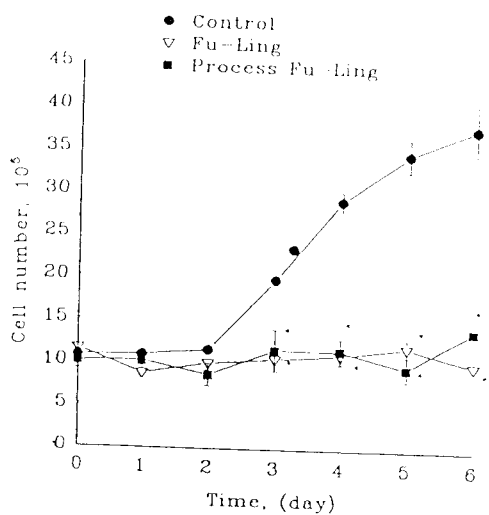
茯苓對IgG分泌之影響



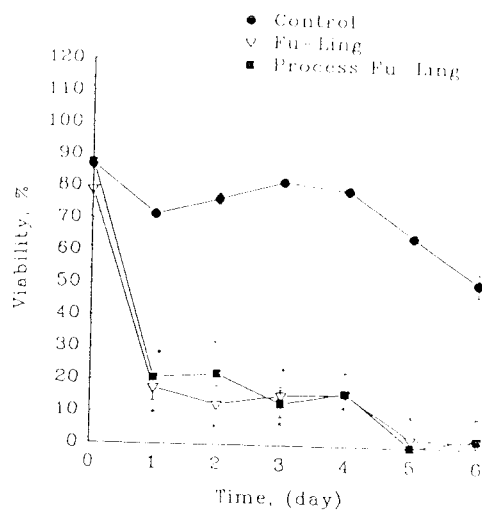
圖一、中藥茯苓對老鼠B淋巴球生長之濃度效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、10%、20%、30%、40%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，於培養的第四天收取細胞，計算細胞數目。(*表 $p < 0.05$)



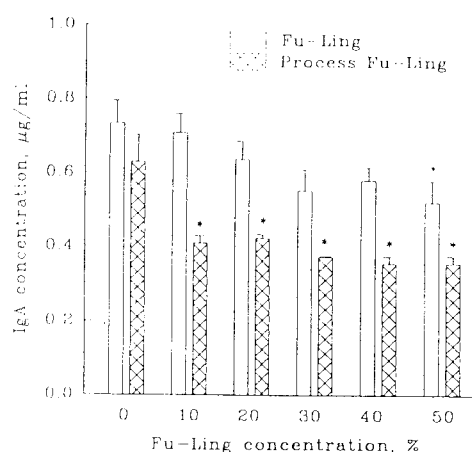
圖三、中藥茯苓對老鼠B淋巴球活性之濃度效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、10%、20%、30%、40%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，於培養的第四天收取細胞，計算細胞活性。(*表 $p < 0.05$)



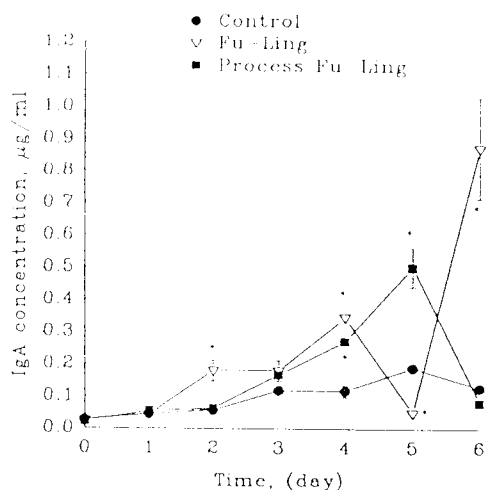
圖二、中藥茯苓對老鼠B淋巴球生長之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並計算細胞數目。(*表 $p < 0.05$)



圖四、中藥茯苓對老鼠B淋巴球活性之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並計算細胞數目。(*表 $p < 0.05$)



圖五、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgA之濃度效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、10%、20%、30%、40%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，於培養的第四天收取細胞，以ELISA測定IgA濃度。(*表 $p < 0.05$)

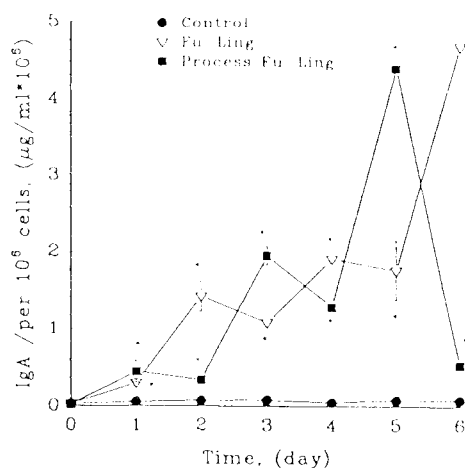


圖六、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgA之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並以ELISA測定IgA濃度。(*表 $p < 0.05$)

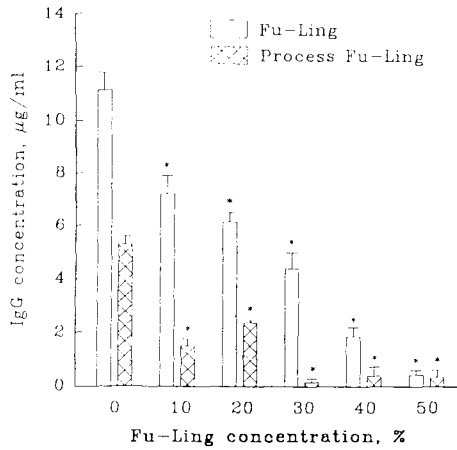
IgG之分泌量顯著受到茯苓的抑制，而抑制效應隨茯苓濃度增加而增加(圖八)，50%之生藥或炮炙品即抑制90%以上之IgG分泌，而IgG被抑制的時機在培養初期(圖九)，此與細胞總數及存活率相似，而其單位細胞數之IgG分泌量與控制組相似(數據未顯示)。

茯苓對IgM分泌之影響

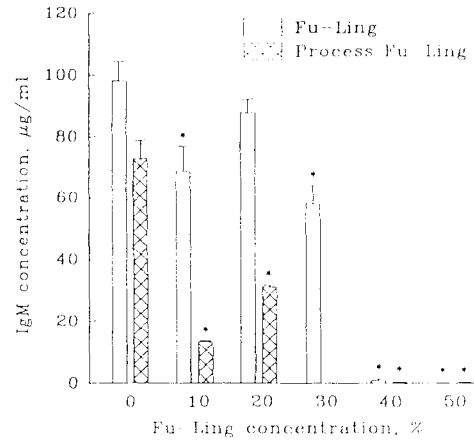
IgM之分泌亦顯著受到茯苓之抑制，其抑制效應亦隨茯苓濃度增加而增加(圖十)，50%之生藥或炮炙品存在之下，即無法測得上清液之IgM濃度，此抑制作用亦在培養初期即顯示出來(圖十一)，此結果與細胞總數及存活率相似，而其單位細胞數之IgM分泌量與控制間無顯著差異(數據未顯示)。



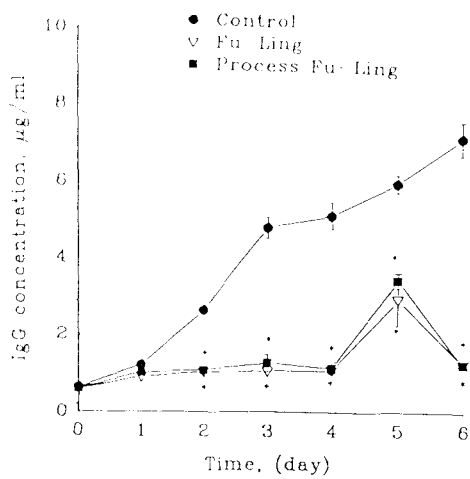
圖七、中藥茯苓對老鼠B淋巴球單位細胞數(1×10^5 cell/well)分泌IgA之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並以ELISA測定IgA濃度。(*表 $p < 0.05$)



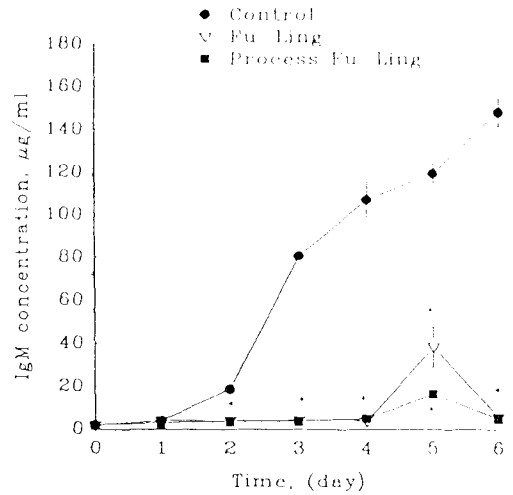
圖八、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgG之濃度效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、10%、20%、30%、40%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，於培養的第四天收取細胞，以ELISA測定IgG濃度。(*表 $p < 0.05$)



圖十、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgM之濃度效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、10%、20%、30%、40%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，於培養的第四天收取細胞，以ELISA測定IgM濃度。(*表 $p < 0.05$)



圖九、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgG之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並以ELISA測定IgG濃度。(*表 $p < 0.05$)



圖十一、中藥茯苓對老鼠B淋巴球分泌IgM之時間效應。B淋巴球(1×10^5 cell/well)加入脂多醣體 $1 \mu\text{g}$ 刺激，同時分別加入濃度0%、50%的茯苓生藥萃取液或朱拌萃取液，做為期六天的培養，並於培養當天開始，每天收集細胞液並以ELISA測定IgM濃度。(*表 $p < 0.05$)

討 論

茯苓在中藥材之分類上，屬『利水滲濕藥』，主要之功效為利尿劑及安神鎮靜劑，不過許多健脾補氣藥亦加入茯苓，如『四君子湯』、『六君子湯』、『參苓白散』等皆以茯苓為主要單方之一，本研究延續補氣藥之藥材對免疫系統調節功能之研究，探討茯苓對B淋巴球分泌免疫球蛋白(Immunoglobulin, 簡稱Ig) 功能之影響，發現茯苓對B淋巴球具有胞殺作用(cytotoxicity)，從而影響IgG及IgM兩種Ig之分泌，但有促進IgA分泌的現象。

茯苓的胞殺作用不是由於殘餘之藥劑所引起的，因為茯苓經50%熱甲醇萃取後，萃取以Speed Vac抽乾，才再溶於細胞培養基中，且溶劑經過相同處理後作為控制組，並無抑制或胞殺效應。炮製品是以朱砂拌茯苓，再以37°C烘箱烘乾24小時後製成，故可能有朱砂殘留的顧慮，由實驗數據顯示(圖一及圖三)，在較低濃度下(如10%, 20%及30%茯苓炮炙品萃取液)，炮製品確實比生藥萃取液之胞殺性強，不過隨著萃取液用量增加，其胞殺作用即與生藥無太大差異，可能在低濃度下之胞殺作用為微量殘留之朱砂所引起。

茯苓之胞殺作用在培養之第一天即呈現出來，活性由90%左右降至約20%，第一天至第四天則保持

在20%左右之存活度，第五天之後，隨著控制組一起再下降，可見第五天後為自然死亡。可能大部份對茯苓敏感的細胞在24小時之內即死亡，而約有20%對茯苓有抗性(圖四)。

IgG與IgM的分泌量大致與細胞數及存活率之變化趨勢符合，隨著茯苓萃取液用量之增加，IgG及IgM之總分泌量也減少，加入40-50%之茯苓使IgM分泌量少到無法測得(圖十)，IgG及IgM之分泌從第一天開始即不見增加(圖九及圖十一)，第五天之微量上升可能是20%之殘留細胞自然死亡後，由胞內釋出之免疫球蛋白所致。

茯苓對IgA分泌之影響則有不同之趨勢。IgA之分泌總量並不因中藥萃取液含量增加而有顯著變化，藥量增至培養量總體積之50%，才有約20%的抑制效果。茯苓之朱拌炮炙品萃取液加入10%後，可見約35%之抑制效果，但隨著用藥量之增加，其抑制效應並未明顯增強(圖五)，可能在此所見之抑制效應為微量殘留之朱砂所引起。由不同培養時間看IgA之分泌量，加入茯苓萃取液後，細胞雖然只剩20%左右之存活率，但是IgA仍持續被分泌出來，至第六天才降至低於控制組，生藥萃取液甚至有繼續上升的趨勢。若換成每 10^6 個細胞每毫升之細胞量，則不論是生藥或炮炙品液，對IgA之分泌有顯著之促進作用，而以第四天及第五天最明顯(圖七)，而控制組單位細胞

數之分泌量則未見增加。

造成使IgA分泌量增加的可能原因有二：(一)茯苓選擇性的抑制或殺死製造IgG及IgM的細胞，而IgA細胞得以存活而不受影響。(二)茯苓選擇性的刺激IgA製造細胞之分泌，故殘留20%的細胞中，只有IgA細胞增加其分泌量，而IgG及IgM製造細胞之分泌量未見改變。利用限制稀釋法(Limiting dilution)估算IgA分泌細胞之頻率，或許可進一步瞭解影響IgA分泌之機轉。

由本實驗室先前發現茯苓對單核細胞分泌介白質-1(Interleukin-1)等胞泌素(cytokines)之抑制現象之後(Tseng and Chang, 1991)，我們又發現茯苓對B淋巴球之生長與活性具有負面作用，故茯苓在補氣藥中與黨參等增進免疫功能之藥材(顏, 1991)配合使用，其作用應該是調和其他藥材之藥效，使免疫系統不至於太亢進。茯苓選擇性的促進IgA之分泌，則有利於增強黏膜免疫反應，提供立即性的第一線防禦。茯苓對免疫系統之有效成份正

在萃取中，目前亦正著手進行活體實驗。

誌 謝

本研究承蒙行政院衛生署計畫DOH 82-CM-013及行政院國家科學委員會NSC 83-0115-003-01-004B計畫提供經費，僅此致謝。

參 考 文 獻

- Peterman J. H. and J. E. Butler. 1989. Application of theoretical considerations to the analysis of ELISA data. *Biotech.* 7:608
- Tseng, J. M. and J. G. Chang. 1991. Suppression of humor necrosis factor- α , interleukin-1 β , interleukin-6 and granulocyte-monocytes by *Poiacocos* extract. *J. Microbiol Immunol.* 25:1
- 孫孝洪. 1992. 中藥治療原理. 四川科學技術出版社.
- 許鴻源. 1979. 中藥之炮炙. 新醫藥出版社.
- 曾哲明. 1990. 日夜忙碌的白血球與紅血球. 科學知識. 32:92
- 顏正華. 1991. 中藥學. 知育出版社.

Effect of a Chinese Herbal Medicine, Fu-Ling on the Production of Immunoglobulins from Murine Splenic B Lymphocytes

Yi-Chi Lay, Chian-Jiun Liou, and Jerming Tseng

Department of Biology
National Taiwan Normal University

ABSTRACT

Fu-Ling, the scleroderma of *Poria cocos* (Schw.) Wolf, has long been used as a sedative and diuretic in Chinese traditional medicine. In this report, the effect of Fu-Ling extract on both viability and immunoglobulin production of murine B lymphocytes were studied. Fu-Ling, raw material or processed product, was extracted with 50% methanol. The extract was dried and redissolved in B-cell culture medium. Murine splenic B lymphocytes were then cultured in the media containing various amounts of Fu-Ling extract. Fu-Ling extract dose-dependently decreased both total cell number and viability of B lymphocytes. Medium containing 50% of Fu-Ling extract reduced B-cell viability from 90% to 20% in 24 hours, and then the B-cell viability showed little change in the following culture period. However, both cultures with and without drug showed spontaneous decrease in viability after day 5. The effects of Fu-Ling extract on IgG and IgM secretion corresponded well with the decrease in B-cell viability. Fu-Ling extract showed dose-dependent reduction of IgG and IgM secretion. However, IgA secretion was not significantly reduced by the presence of Fu-Ling extract in culture medium. Based on the amount of IgA secretion per 10^6 B-cells, we observed a significantly increase in IgA secretion induced by Fu-Ling extract after three days of culture. The augmented effect of Fu-Ling on IgA secretion could be demonstrated by either extract from raw material or processed product. The data suggested that Fu-Ling might suppress the level of IgG and IgM antibodies by reducing the number of viable B lymphocytes but it could selectively increase the level of secretory IgA to enhance the function of mucosal immune system.

Key words: Fu-Ling, murine B lymphocyte, immunoglobulin