中草药的 M、N 与 T 抗原成分检测

钟慧平 潘辉英

(湖南医学院药理学教研组)

杨晓慧 胡南淑

(湖南省中医药研究所)

按 Springer 等研究指出, T 抗原是人血型 MN 抗原前身物质; MN 血型抗原的免疫决定簇为 N-乙酰神经氨酸, 经神经氨酸酶水解去除后, 即暴露 T 抗原的免疫决定簇 β -半乳糖。T 抗原再经大肠杆菌的 β -D-半乳糖苷酶作用, 去除 β -半乳糖, 即为 T_n 抗原。M、N、T、T_n 的相互关系为: $M \xrightarrow[\alpha\text{-N-乙酰神经氨酸}]{\text{减去}} N \xrightarrow[\alpha\text{-N-乙酰神经氨酸}]{\text{减去}} T \xrightarrow[\beta\text{-半乳糖}]{\text{减去}} T_n$ 。在正常情况下人体组织 T 抗原不暴露, 而人体及大多数动物都有抗 T 抗体 (T 凝集素)。他们还发现 TA3 小鼠乳腺癌(腹水型)抗原与 N 血型抗原有关; 在人乳腺癌细胞膜上、1 例胃癌上皮层及 2 株人大肠癌细胞系上发现有 T、T_n 抗原; 以及发现许多乳腺癌与一些肠癌、肺癌病人血清抗 T 效价因部分为癌组织吸收而一般较低等, 提出应用 T 抗原于防治和诊断恶性肿瘤的可能性^[1,2]。本文报道用血凝抑制试验检测中草药有无 M、N 及 T 抗原成分。

一、实验材料与方法

抗 M、抗 N 血清: 抗 M 血清效价 1:32, 抗 N 血清效价 1:64, 上海中心血站供给。实验时用 8 单位, 即为效价的 8 倍。

OM、ON 红细胞悬液: 本院附一院血库健康献血员 OM、ON 血型血球配制 0.5% 红细胞悬液。

霍乱滤液: 兰州生物制品研究所供给, 神经氨酸酶活力 200 单位以上。

T 抗原红细胞悬液制备与抗 T 血清效价滴定: 参考 Springer 等法^[3,4]。用霍乱滤液作用人 O 型红细胞, 置 37℃ 过夜, 用 pH7.4 磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 洗涤并配成 0.5% 悬液, 此时与人 AB 型血清起显著凝集, 效价达 1:64 左右, 是为 T 抗原红细胞悬液, 制备后置冰箱 3 日内使用。抗 T 血清为 AB 型健康献血员血清, 对倍稀释经冰箱过夜后加 T 抗原红细胞悬液, 室温下作用 2 小时离心镜检, 以低倍视野至少几处有 4—5 个细胞凝集为凝集终点, 即为 1 单位。每次滴定包括 T 抗原红细胞加 PBS 对照、抗 T 血清加未用酶消化的 O 型红细胞对照。

中草药煎剂制备: 将中草药用清水迅速洗净, 一般按 5 毫升水/1 克生药计算加入蒸馏水, 隔水煮沸 45 分钟, 棉花过滤, 滤液置冰箱过夜, 次日取上清液离心及浓缩, 至略少于原药液的 $\frac{1}{10}$ 量, 再调整 pH 至近 7.0, 加 NaCl 至等渗, 浓度为约含相当 2 克生药/毫升。因考虑中草药成分复杂, 为避免非特异性凝集反应干扰检测, 将煎剂加等量相应的 OM、ON 或 T 抗原红

本文 1980 年 9 月 4 日收到。

细胞,检查有无凝集性,对凝集红细胞的中草药,因干扰血凝抑制试验而放弃检测。

血凝抑制试验:参考 Springer 法^[3,5]。M、N 抗原血凝抑制试验:将药液作对倍稀释,加等量的抗 M 或抗 N 血清(内含 8 单位),置 37℃ 下作用 1 小时,再加等量 0.5% OM 或 ON 红细胞悬液,37℃ 下作用 30 分钟,离心 2000 转/分 1 分钟镜检。血凝抑制阳性者,以呈现不凝集的药物最高稀释倍数来表示该药血凝抑制效价。T 抗原血凝抑制试验:将待测中草药液加含 8 单位抗 T 抗体的人 AB 型血清,混合后置冰箱过夜;同时做抗 T 抗体单位测定对照(所用抗 T 效价应为含 8 单位)、药液或 PBS 加 T 抗原红细胞对照(应无凝集)。次日加等量 0.5% T 抗原红细胞悬液,室温下作用 2 小时后离心镜检。

二、实验结果与讨论

1.47 种中草药 M、N 抗原成分检测 M、N 抗原血凝抑制试验阳性的中草药有 27 种(表 1),表明它们具有 M 及(或)N 抗原决定簇成分,能与抗 M 或抗 N 抗体结合,而抑制血凝。

表 1 27 种中草药 M、N 抗原血凝抑制试验定量测定结果

药 物	抗 M 抑制效价*	抗 N 抑制效价*
丹参	1:16	1:16
半边莲、红花、穿心莲	1:16	1:4
虎杖	1:16	1:1
藿香	1:16	未测
桑叶	1:8	1:4
辣蓼	1:8	1:8
益母草	1:8	1:2
白辣蓼、鸡血藤	1:4	1:16
紫苏	1:4	1:8
海金沙、酸枣仁、侧柏	1:4	1:2
木棉花、白芨、首乌	1:4	1:1
田基黄	1:2	1:16
紫草	1:2	1:2
猪苓、小荆	1:2	1:1
独活、地骨皮	1:2	—
香薷	—	1:16
郁金、竹叶	—	1:1

* 抑制效价指能吸收 8 单位抗 M 或抗 N 抗体的药物最高稀释倍数。

由表 1 可见,含 M 抗原成分较多的有丹参虎杖、藿香、穿心莲、半边莲、黄荆叶等;含 N 抗原成分较多的有田基黄、香薷、丹参、紫苏、白辣蓼、鸡血藤等。其中独活、地骨皮含有 M 而无 N 抗原成分;香薷、郁金、竹叶含有 N 而无 M 抗原成分。M、N 抗原血凝抑制试验阴性的中草药有:陈皮、威灵仙、豆根、松茹、半夏、秦皮、石菖蒲、白芷、羌活、决明子、天南星、党参、川芎、甘遂、茅根、鱼腥草、兔丝子、仙茅、葶苈子、大枣,表明未检出含有 MN 抗原成分。

2. 中草药 T 抗原成分检测 28 种中草药煎剂 T 抗原血凝抑制试验结果见表 2。

此外,我们对鸡血藤、升麻、小蓟三药煎剂做定量血凝抑制试验,抑制效价分别为 1:8、1:1、1:2。

上述结果表明,有的中草药含 M、N、T 抗原决定簇成分中 1 至 3 种。中草药不需经酸水

表2 28种中草药煎剂T抗原血凝抑制试验定性检测结果

血凝抑制阳性	血凝抑制阴性
鸡血藤、胆草、田基黄 败浆草、红花、紫苏 秦皮、菊花、松菇 升麻、小蓟	猪苓、太子参、海藻 地榆、僵蚕、半夏 党参、天南星、川芎 玄胡、豆根、羌活 甘遂、兔丝子、仙茅 葶苈子、苦参

解或神经氨酸酶消化,可检出中草药存在有T抗原决定簇成分。另外我们曾将含N、T抗原决定簇量较多的鸡血藤免疫注射小鼠,检测出可引起小鼠抗T抗体显著增高。对含有M、N特别是T抗原成分的中草药,如人长期口服,能否引起相应抗体的增高;以及直接筛选含T抗原丰富的中草药,经交叉免疫用于防治肿瘤的可能性等问题,有待探讨。

参 考 文 献

- [1] Springer, G.F. et al., *Clin Immunol and Immunopathol*, 7 (1977), 426—441.
- [2] Springer, G. F. et al., *Prog. Allergy*, 26 (1979), 42—96.
- [3] Springer, G. F. et al., *J. Nat. Cancer Inst.*, 54 (1975), 335—339.
- [4] Springer, G. F. et al., *Prog. Nat. Acad. Sci. USA*, 44 (1958), 182—189.
- [5] Springer, G. F., *J. Immunol*, 76 (1956), 339—407.