维普资讯 http://www.cqvip.com

创伤性休克毒素转移性及免疫性探讨*

药理教研室

龚旭龄 雷相和 吴棠荣 刘银君 郑明祺

提 要 为了阐明休克毒素是否存在及其免疫学意义，用重型和轻型创伤性休克大鼠模型进行交叉输血，结果重输轻组与轻输轻组死亡率无显著区别。用创伤性休克康复血浆或正常血浆治疗创伤性休克，无显著差别。又用创伤性休克血浆为抗原免疫大鼠，其免疫血浆与对照血浆治疗创伤性休克，亦无显著差别。实验结果认为创伤性休克大鼠血液中不存在具有抗原性的特异性休克毒素及其抗体

关键词 休克；可转移性致死因子；免疫学研究；大鼠

Cannon (1923) 认为在创伤和（或）缺血的组织可产生并释放有毒物质进入血液循环而毒害机体，在休克的发生及其发展中可能有重要意义，因而提出休克毒素假说[1]。

Lefer (1973)[2] 和 Goldfarb (1979)[3] 提出“休克毒素”的四项标准：（1）休克毒素只在休克状态时产生，而正常个体没有或含量极少；（2）一种休克毒素可由多种类型休克所产生；（3）体液中休克毒素可以转移给其他个体；（4）应能分离、提纯，最终测知其分子结构。有人认为休克毒素是由于缺血和缺氧组织的溶酶体破裂释放溶酶体酶，水解细胞蛋白质而产生大分子多肽，可能引起休克或加重休克，但迄今未能确证其存在。

如能确证休克毒素的存在，则对开辟休克的免疫学治疗可能有重要意义。为此我们采用大鼠双后肢上方结扎压脉带作为创伤性休克模型[4]，研究重型休克动物的血液输给轻型休克动物是否能增加后者的死亡率？以观察休克毒素是否可转移给其他个体。再者，休克毒素如果是异常大分子多肽，应有抗原性，并可诱导抗体的产生，此抗体对休克动物应有治疗作用。因此本文拟在休克毒素的转移性及其免疫学性能两个方面进行实验性探讨。

材料和方法

一、实验动物 成年昆明种大鼠214只，性别及体重详后。

二、休克模型 大鼠压脉带创伤性休克[4]，把宽厚各1mm，周长15cm的橡皮圈绕在玻璃套管上6圈，作压脉带。清醒大鼠用纱带缚住躯部，牵拉后肢进入适当口径的套管，使管口尽量向上套住后肢，把压脉带自管口推至大鼠上股部。经3至5h剪断压脉带。剪带后动物血压立即快速下降，然后进行性下降，重者不能恢复而死亡。

三、福氏佐剂 配方为无水羊毛脂与液体石蜡的比例为2:3，将羊毛脂加热溶解后置研钵中，边磨边加液体石蜡，经高压消毒；按每毫升加入5mg死卡介苗。

---

* 本文曾在第5届亚太地区药理学学术会议上宣读 1988，北京

维普资讯 http://www.cqvip.com

四、无菌操作 为避免细菌污染和细菌内毒素的干扰，所有外科手术、输血、免疫血浆制备等过程均采用无菌操作。

实验步骤和结果

一、创伤性休克毒素的转移性实验

以大鼠27只，雄性，平均体重318±50g，两后肢结扎压脉带为创伤性休克模型，按结扎的时间长（5h）为重型休克(死亡比6/6)；时间短（3h）为轻型休克。为了减轻创伤性休克电解质平衡紊乱所造成的干扰[4]，在结扎压脉带时和剪开压脉带前，分别腹腔注射0.9%氯化钠溶液，按结扎每小时注射 6ml/kg。

在剪开压脉带后2h，戊巴比妥钠(35mg/kg，IM）麻醉，由右颈总动脉缓慢采血，肝素抗凝，进行交叉输血 10ml/kg。主要观察重型休克血液输给轻型休克鼠（第1组）后，是否增加轻型休克鼠的死亡率；以轻型休克血液输给其他轻型休克鼠（第2组）作为对照。实验结果见表1。

表1 大鼠创伤性休克毒素转移试验

组 别	鼠 数	死亡数	死亡率
1.重输轻组	16	10	62.5%
2.轻输轻组	11	5	45.5%

从表1可见，轻输轻组死亡率45.5%，重输轻组死亡率62.5%似略升高，但差别不够显著（P>0.05）。

二、创伤性休克毒素的免疫学探讨

（一）休克大鼠康复血浆的疗效

用大鼠97只，雌性，实验开始时体重201.4±19g。先制备创伤性休克康复血浆及对照血浆，再进行创伤性休克的实验性治疗。

1. 康复血浆和对照血浆的制备

（1）**康复血浆（第3组）的制备** 正常大鼠28只，第一周左后肢结扎5h，死亡11只，其余17只于第三周行右后肢结扎3h；第五周行左后肢结扎3小时。每次结扎压脉带前皆皮下多点注射福氏佐剂0.5ml/只，以增强机体免疫反应。至第七周，大鼠用戊巴比妥钠IP麻醉下，分离一侧颈总动脉，先注射肝素400IU抗凝血，然后抽血分离血浆，作为休克康复血浆。

（2）**对照血浆（第4组）的制备** 大鼠20只，皆不结扎压脉带，仅每隔二周皮下多点注射福氏佐剂0.5ml/只，第三次注射佐剂后经二周按上法取血并分离血浆，作为对照。

2. 康复血浆疗效观察

取上述康复和对照二组血浆分别对休克大鼠进行实验性治疗。

（1）**康复血浆治疗组（第5组）** 正常大鼠25只，双后肢结扎压脉带4h，造成中度休克，解开压脉带时用第3组康复血浆10ml/kg静脉注射治疗，观察72h，所试25鼠死亡14鼠（56.6%）。

（2）**对照血浆治疗组（第6组）** 正常大鼠24只，双后肢结扎4h，造成中度休克，解开压脉带时，用第4组对照血浆10ml/kg静脉注射治疗，观察72h，所试24鼠死亡13鼠（54.2%）。与康复血浆治疗组比较无显著差别（P>0.05）。见表2。

表2 康复血浆对休克的疗效

组 别	大鼠数	死亡数	死亡率
5.康复血浆治疗组	25	14	56.0%
6.对照血浆治疗组	24	13	54.2%

（二）休克毒素的抗原性试验

所谓休克毒素，若为大分子异常物质，当具有抗原性。通过下述实验，探讨是否存在休克毒素。

1. 免疫血浆和对照血浆的制备

（1）**免疫血浆组（第7组）** 用重型

维普资讯 http://www.cqvip.com

休克大鼠，结扎双后肢5h，在解开压脉带后6～7h重危状态下，采其血浆加等量福氏佐剂混匀，按0.5ml/只给正常大鼠作皮下多点注射。隔周一次，共免疫3次，在末次后经2周，大鼠用戊巴比妥钠麻醉，由颈总动脉抽血分离血浆，作为抗休克毒素免疫血浆，供免疫治疗用。

（2） **对照血浆组（第8组）** 用正常大鼠血浆加等量福氏佐剂混匀，按0.5ml/只作皮下多点注射。免疫三次，末次后经2周，抽血分离血浆，供对照治疗用。

2. 免疫血浆疗效观察

取上述免疫血浆、对照血浆以及生理盐水分别对中等度休克大鼠（双后肢结扎4h）进行治疗，观察72h死亡率，结果见表3。

表3 休克毒素免疫血浆的疗效

组别	大鼠数	死亡数	死亡率
9.免疫血浆治疗组	24	12	50.0%
10.对照血浆治疗组	16	6	37.0%
11.盐水对照组	19	10	52.6%

从表3可见，采用免疫血浆治疗中度休克大鼠，其疗效并不比正常血浆或盐水对照组为佳（三组间皆$P>0.05$）。因此，尚不能证明休克大鼠血中存在可成为抗原性的大分子休克毒素，其“免疫”血浆未能证明有特异性疗效。

讨 论

本实验采用大鼠两后肢结扎压脉带为创伤性休克模型，结扎5h，死亡6/6；如结扎4h，则死亡降为10/19（52.6%）。但如单侧后肢结扎5h，死亡11/28（39.3%）。如单侧后肢结扎3小时，所试17鼠，则无一鼠死亡。说明本实验模型的休克严重性与创伤肢体的范围和缺血的时间正相关，较有规律。压脉带休克的死亡原因与缺血部位细胞内钾离子外逸造成高血钾的关系较大[4]。压脉带休克为非开放性创伤模型，无併发性感染，其康复血液中可排除有治疗意义的细菌性抗体。

探讨休克毒素，Nagler等[5]利用大鼠出血性休克模型进行交叉灌注，轻输轻组死亡率3/17（25.0%）。而重输轻组死亡率11/12（91.7%），提示可使受血动物轻度休克加重而死亡率显著增高（$P<0.05$）。故认为严重休克过程中可能有可转移性致死因子的存在。但他们未证明“致死因子”究竟是大分子特异性休克毒素，还是小分子物质如组胺、血栓烷、自由氧基、高血钾、酸血症等因素所造成。

根据Lefer等[2,3]提出一种休克毒素应可由多种类型休克所产生。我们采用了创伤性休克模型进行实验。结果，轻输轻组死亡率5/11（45.5%），重输轻组死亡率10/16（62.5%），两组相差不够显著（$P=0.13$）。但重输轻组死亡率有所升高，如果增加实验动物数量或者加大交叉输血量，则有可能出现显著性差别。即使如此，重休克血液中有害物质究竟是已知的小分子物质？或是未知的大分子“休克毒素”？交叉输血实验不能解答，故又进行了免疫学研究，结果免疫治疗实验亦不能证明具有能引起免疫反应的大分子特异性休克毒素的存在。

虽然各国学者已初步提出许多与休克有关的毒性因子，如分子量10,000以上的糖蛋白[6]，以及分子量高达3,000,000的烧伤蛋白质缩合物等[7]。但迄今未能确定其分子量及氨基酸顺序，因而对“休克毒素”或“休克致死因子”的存在仍有争议。Fine[8]近则强调所谓休克毒素，可能就是细菌内毒素，并认为失血性休克和肠系膜上动脉阻断性休克皆引起肠腔尤其小肠渗出血，破坏肠粘膜屏障，引起肠腔内细菌及其内毒素侵入血流，故上述非败血症引起的休克最终都可伴有细菌内毒素性休克，如事先用新霉素(Neomycin)清除肠道细菌，或用抗内毒素抗体治疗，均可显著降低休克死亡率。有人认

维普资讯 http://www.cqvip.com

为烧伤性休克患者的康复血浆，有治疗烧伤性休克的作用。但烧伤常伴有复杂感染，则更难排除其血液中存在多种抗细菌抗体的疗效[9]。

我们通过214只大鼠创伤性休克实验模型研究结果：（1）重型休克大鼠血液输给轻型休克大鼠，未能使受血动物死亡率明显增高。（2）休克康复血浆对休克无特殊治疗作用。（3）用休克大鼠血浆作抗原，免疫同种异体动物后，所得"免疫"血浆对休克亦无特殊治疗作用。总之，我们实验结果认为休克动物血液中可能不存在可转移性、具有免疫原性的休克毒素或休克致死因子。

志谢：本项研究承四川省卫生厅资助。

参 考 文 献

[1] Altura BM, et al. Handbook of Shock and Trauma Vol 1 Raven Press New York 1983; 377-391
[2] Lefer AM. Circ Res 1973; 32:129
[3] Goldfarb RD. Circ Shock 1979; Suppl (1):23
[4] Van Der Meer C, et al. J Trauma 1972; 12:608
[5] Nagler AL, et al. J Trauma 1972; 12:608
[6] Rosenthal SR, et al. Surgery 1975; 77:527
[7] Schoenenberger GA. Monogr Allergy 1975; 9:72
[8] Fine J. Gastroenterology 1969; 52:454
[9] Gathiram P, et al. Circ Shock 1987; 23:157

THE TRANSFERABLE AND IMMUNOLOGICAL STUDIES ON SHOCK TOXIN

Gong Xuling, et al
(Department of Pharmacology)

For transferable and immunological studies on shock toxin (lethal factor), a hind limbs ischemia tourniquet shock in rats has been examined. The blood of rats subjectd to severe shock transfused into mild shock rats has not significantly increased the mortality of the latter. Both the recruited plasma from shock rats and the plasma from the rats immunized with severe shock plasma had no therapeutic effects on tourniquet shock. It therefore appears that there is no specific and immunogenic shock toxin produced in the tourniquet shock in rats

KEY WORDS Shock; Transferable lethal factor; Immunological study; Rats