DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.02.005

大鼠烧伤后血浆应激激素和脾细胞免疫功能变化的动态观察

彭代智 黄文华 黎 鳌 周立新 罗中华 （西南医院 烧伤研究所）

提 要 本实验采用大鼠烧伤应激模型，同时观测伤后血浆应激激素及脾细胞免疫功能的变化。发现伤后24h内脾细胞SBT明显降低时，体外ConA刺激的MSBT却正常或稍增高，呈现伤后脾细胞免疫活性的第1次分离。此现象可能系同时发生显著变化的皮质酮和儿茶酚胺引起。伤后72h的第2次分离则是SBT显著升高和MSBT显著降低，而此时应激激素已趋正常，故可能是其它因素所致。此外，脾细胞产生IL 2在伤后一直处于低水平，早期可能与皮质酮有关。本实验提示应激激素至少参与了伤后早期的免疫调节，而烧伤免疫抑制是多因素综合作用的结果。

关键词 烧伤；激素；脾；有丝分裂因子，淋巴细胞

严重烧伤引起的免疫抑制与伤后感染的发生密切相关[1]，因此研究伤后免疫抑制的原因具有重要意义。虽然抑制性细胞和血清抑制因子起部份作用，但其机制远未明了[1]。由于应激可能通过神经内分泌反应和植物神经系统来调节免疫功能[2]，烧伤又可引起强烈的应激反应[3,4]，因此从神经内分泌免疫调节来研究伤后免疫抑制的机制为一新的线索。烧伤后神经内分泌免疫调节的研究极少，更未见到同时观察伤后早期（24h内）两者变化的报道。本实验旨在观察大鼠烧伤后血浆应激激素（简称激素）与细胞免疫功能的变化，以探索激素在伤后的免疫调节作用。

1 材料与方法

应激模型及实验分组 雄性Wistar大白鼠（体重204±14g），伤前饲养1周。脱毛36h后造成25% BSA背部Ⅱ度烧伤（未麻醉）并补液。动物的饲养、致伤和处死条件均严格控制，以保证模型的稳定可靠。将实验动物分成正常组（未作任何处理），假伤组（仅脱毛不致伤，预试验表明各指标在72h已恢复正常）2、6、12、24h活杀，烧伤组2、6、12、24、72、144h处死。

试剂和仪器 ConA（Sigma产品），^3H—TdR（中国原子能科学院产品），MPF—4型荧光分光光度计（日立），LKB—1217液闪仪，CO_2孵箱（日本），多头细胞收集器。

指标和方法 （1）应激指标：收集抗凝血，低温离心分离血浆，贮存于—20℃。去甲肾上腺素（NE）和肾上腺素（E）按本所的荧光法测定；皮质酮（B）按药盒说明书操作（上海内分泌研究所提供）。(2)免疫指标：无菌取脾脏制备脾细胞悬液。参照Deitch[5]的方法测自发母细胞转化（SBT）；ConA刺激的淋转（MSBT）按常规测定；白细胞介素2（IL_2）的产生和测定用De Vos法[6]略加改进。

统计分析 所有数据用微机作单因素方差分析，结果用均数±标准误（$\bar{X}\pm SE$）表示。

2 结果

激素的变化（见表1） 烧伤后2—24h血浆B一直显著高于正常组水平，以后趋于正常。E在伤后6—72h均明显升高，12h为高峰（$P<0.001$），到144h已恢复正常。NE只在伤后6h迅速升至高峰，旋即下降并波动于稍高于正常水平，直到144h又再度升高。假伤组的E、NE基本无明显变化，即使6h时NE有所增高，但也显著低于烧伤组；B虽在6、12、24h有变化，但烧伤组的反应比假伤组更早。

免疫功能的变化（见表2） 烧伤后SBT虽稍有升高，但迅即下降，到12h已达最低（$P<0.001$，仅为正常的64%），72h又回升且超过正常。MSBT的变化大致与SBT相反。脾细胞在体外产生IL_2的量伤后持续低于正常。假伤组的各指标未表现出实验组的变化规律，大多稍有变化，又很快回至正常。如IL_2的产生量，烧伤组明显低于假伤组。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 大鼠烧伤后血浆应激激素的变化

伤后 h	去甲肾上腺素(pmol/L) 假伤组	去甲肾上腺素(pmol/L) 烧伤组	肾上腺素(pmol/L) 假伤组	肾上腺素(pmol/L) 烧伤组	皮质酮(nmol/L) 假伤组	皮质酮(nmol/L) 烧伤组
2	122±20 (6)	145±22(6)	148± 14(8)	151±20(7)	418±46(8)	600±69(10)**
6	157±8.3(13)*	277±24(7)**	157±9.8(13)	181±16(8)*	848±95(13)**	690±55(9)**
12	112±7.7 (8)	158±16(11)	153± 11(9)	225±21(11)**	684±75(11)**	655±40(11)**
24	151±25 (6)	167±14(8)*	129± 20(6)	170±15(9)*	675±92(10)**	620±98(10)**
72		159±15(9)		176±23(11)*		317±40(12)
144		232±39(10)**		155±28(9)		413±49(10)
正常组	124±17(11)		123±13(10)		384±38(13)	

结果表示为$\bar{X}$±SE(n) 其中n代表例数

F检验(均与正常组比较)： *P<0.05 **P<0.01

表2 大鼠烧伤后脾细胞免疫功能的变化

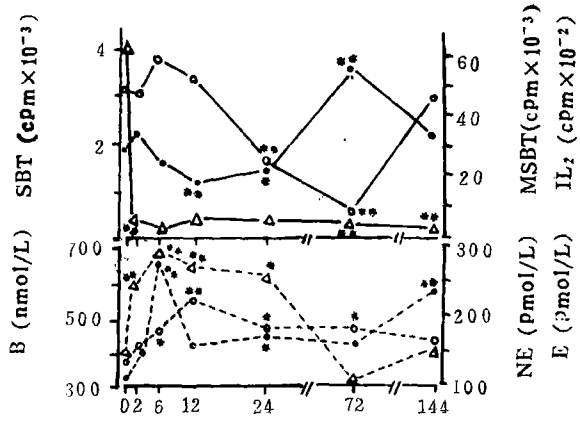
伤后 h	SBT (cpm) 假伤组	SBT (cpm) 烧伤组	MSBT (cpm) 假伤组	MSBT (cpm) 烧伤组	IL_2(cpm) 假伤组	IL_2(cpm) 烧伤组
2	2376±310(11)	2364±274(12)	38189±10141(9)	48195±7790(8)	3018±560(4)*	554±297(5)**
6	1771±129(12)	1741±115(12)	30516± 4911(9)**	59559±12526(10)	1445±407(2)Δ	354±215(2)Δ
12	2426±257(10)*	1209±64(11)**	21846±2010(8)**	53499±8972(12)	4211±458(10)*	702±245(7)**
24	1476±143(11)	1393±147(12)*	44178±7440(8)	27927±5616(12)**	6858±879(6)	629±343(5)**
72		3537±426(11)**		983±363(9)**		450±126(11)**
144		2046±197(11)		46565±9750(8)		262± 80(9)*
正常组	1877±188(13)		51107±5986(11)		6240±863(10)	

Δ未作F检验： *P<0.05, **P<0.01

3 讨论

烧伤是1个强大的应激原，导致了神经内分泌及免疫反应的明显变化，如血中儿茶酚胺（包括E和NE）、糖皮质激素（GC，大鼠以B为主）升高[3]，以及淋巴细胞功能受抑制[1]。本实验所见血浆NE、E和B的变化主要在伤后24h内，以后大多趋于正常。这表明烧伤本身引起的神经内分泌反应以伤后早期为主，而144hNE的再度升高可能与其它应激原（如感染）的作用有关。有人报道伤后72hSBT和MSBT发生明显变化[5]，以及IL_2产生量急剧、持续减少[1]。我们则不仅证实了上述变化，而且发现SBT和IL_2的受抑在伤后12h或更早就已出现。这表明伤后免疫抑制的出现时间实际上比过去报道的为早。故对伤后早期同时出现的激素和免疫功能改变其间的关系值得深入分析（见附图）。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



附图 大鼠烧伤后应激激素与脾细胞免疫活性的关系

·——· SBT o——o MSBT Δ——Δ IL_2

·---· NE o---o E Δ---Δ B

现已证明，淋巴细胞膜上存在着α和β受体，NE和E作用于相应受体分别引起cGMP和cAMP升高，因此前者促进而后者抑制细胞的增殖反应[2][8]。GC能抑制cAMP磷酸二酯酶，影响cAMP的分解，因而具有与E类似的免疫抑制作用[2]。可见激素对免疫反应具有调控作用。伤后6 h，起免疫抑制作用的B、E显著升高，而作用相反的NE也处于高峰，以致反映体内功能状态的SBT（无外来刺激条件下的^{3}H-TdR掺入量）虽有所降低但不明显。至伤后12h，B仍持续于高水平，E则升至高峰，而NE降至正常上限附近。这时脾细胞内cAMP受激素影响而增多占明显的优势，故此时SBT受抑制也最明显。伤后24h血浆B和E回降、NE回升，因此SBT出现回升趋势。烧伤后24h内还可见到显著的B升高和IL_2降低，已知GC能抑制IL_2的产生[2]，所以GC可能是伤后早期IL_2产生迅速减少的重要因素之一。本实验还观察到伤后胸腺和脾脏出现淋巴细胞减少、淋巴滤泡萎缩等病变（资料未列出），并与有溶解淋巴细胞作用的B变化一致，这也说明伤后激素与免疫功能有关。因而B是激素中的主要抑制因素，很可能参与了伤后早期免疫抑制的启动。

图中可见烧伤后淋巴细胞的体内免疫活性（SBT）和体外接受刺激的反应能力（MSBT）表现不一致甚至完全相反的现象，本文称为淋巴细胞体内与体外活性的分离现象（简称分离现象）。其发生机制尚未清楚。伤后12h的分离现象与应激激素有一定关系，而72h的则可能与伤后细菌、变性抗原入血、IL_2产生减少及其受体表达受损等因素有关[6][7][9]。分离现象的存在提示对淋巴细胞功能状态进行分析时应考虑到体内与体外的不同。如有人认为伤后血中GC与MSBT的变化无关[1][4]，但现在来分析其原因之一可能是GC的血中浓度代表的是体内状况，而MSBT反映的是体外免疫活性。由于SBT更接近体内的实际状况，故在分析内环境因素与淋巴细胞免疫活性的关系（尤其是研究伤后免疫抑制的启动原因）时，SBT更有价值和意义。

激素尚不能解释本实验的部分结果。第一，伤后72h的分离现象。因为此时激素（除E外）已恢复正常，其作用已不如早期重要。第二，伤后SBT（2h）和MSBT（6、12h）的轻度升高表明即使在早期也不能排除激素以外的其它因素（如前列腺素、组织胺等）的作用。第三，烧伤24h后IL_2仍处于低水平也不能单用B的变化来解释。以上表明烧伤免疫受抑的机制是十分复杂的。从神经内分泌与免疫系统之间的关系来说，本文未涉及的β内啡肽、神经白细胞素等因子在伤后免疫调节中的作用也有待研究。总之，烧伤后免疫抑制是多种因素综合作用的结果，而应激激素至少是早期免疫功能受抑制的因素之一。

参 考 文 献

1. Hansbrough JF, et al. Immunomodulation following burn injury. Surg Clin North Am 1987; 67(1):69-92

2. McEwen B. Influences of hormones and neuroactive substances on immune function. In:

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Cotman CW, ed. The Neuro-Immune-Endocrine Connection. New York: Raven Press, 1987: 71-91

3. Dolecek B. The endocrine response after burns:Its possible correlations with the immunology of burns. J Burn Care Rehab 1985; 6 (3) :281~294
4. Echinard C, et al. Kinetics of immune depression in burned rats:The sixth day phenomenon. ibid. 1985; 6 (3) :256~260
5. Deitch EA, et al. Postburn impaired cell-mediated immuninty may not be due to lazy lymphocytes but to overwork. Ann Surg 1985; 201 (6) :793-802
6. De Vos C, et al. A Simple rapid method for detection of IL2 in a physiological medium. J Immunol Meth 1984; 74 (2) :375-384
7. Rodrick ML, et al. Defective IL2 Production in patients with severe burns and sepsis. Lymphokine Res 1986; 5 (1 Suppl) :s57-s80
8. Braun W, et al. Cyclic AMP, cell growth and the immune response. Springer-Verlag Berlin, New York, 1974:4-23
9. Teodorczyk-Injeyan J A, et al. Impaired expression of interleukin$_2$ receptor (IL_2R) in the immunosuppressed burned patient:Reversal by exogenous IL_2. J Trauma 1987; 27 (2) :180-187

(收稿: 1988.9.21; 修回: 1989.11.21)

Postburn Kinetic Changes of Stress Hormones and Splenocyte Immune Functions in Rats

Peng Daizhi, et al (Burn Research Institute, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

After the major burn a multitude of immunologic alterations develop. Although the roles of suppressor cells and serum inhibitory factors in the mechanism of postburn immunosuppression are well known, the role of the neuroendocrine response is still not understood. In this paper determining stress hormones and splenocyte immune functions are simultaneously focused on in deeply burned rats with 25% BSA. The changes of plasma corticosterone (B) and catecholamine are dominant within 24 h postburn(PB), and soon return to normal. The endogenous activity of splenocytes (SBT) decreases at 12 h PB, while the ability of splenocytes responsing to ConA in vitro (MSBT) is almost unchanged. The pathological lesions of spleen may be affected by increasing levels of plasma B. When most of the stress hormones return to normal at 72 h PB the SBT and MSBT become different. This may be influenced by many other factors rather than the neuroendocrine system. The differences between SBT and MSBT suggest that SBT may reflect the more real condition of lymphocytes in vivo than MSBT in vitro. Following burns the roles of streess hormones actually participate in the immune regulation such as plasma B and catecholamine act in the early postburn stage.

Key words:burns/PP; hormones/PH; spleen/CY; mitogenic factors, lymphocytes

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net