

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.026

生物活性透明质酸治疗激光所致皮肤创口炎症的临床疗效观察

沈明强¹ 刘鑫¹ 魏晨² 席丽艳³ 惠觅宙^{1,2△}

(1 杭州师范大学 浙江 杭州 310000; 2 杭州安瑞普生物制品有限公司 浙江 杭州 310020;

3 中山大学孙逸仙纪念医院 广东 广州 510120)

摘要 目的:探讨生物活性透明质酸治疗激光所致皮肤创口炎症的临床疗效。**方法:**选择我院收治的 40 例激光皮肤除斑患者为研究对象,按就诊顺序将其分为实验组和对照组。实验组 20 例患者采用生物活性透明质酸涂抹激光治疗后的皮肤伤口,对照组 20 例患者采用 30 分冰袋冷敷皮肤激光治疗后的皮肤伤口,观察和比较两组患者伤口第 1-7 天的红肿痛的改善情况。**结果:**(1)疼痛症状的改善情况:实验组第 1 天的显效率 0%,有效 20 例,总有效率 100%;对照组第 1 天的显效率 0%,有效 20 例,总有效率 100%,两组比较无统计学差异($P>0.05$)。(2)红肿的改善情况:实验组第 1 天显效 20 例,总有效率为 100%;对照组第 1 天显效 0 例,有效 20,总有效率为 100%,两组总有效率比较无统计学差异($P>0.05$),但实验组的显效率明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。**结论:**生物活性透明质酸涂抹可以有效控制皮肤伤口炎症引发的红肿痛,且临床效果明显优于冰袋冷敷,方便可行,值得推广。

关键词:生物活性透明质酸;内毒素拮抗剂;皮肤创口;炎症

中图分类号:R75;R969 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)07-1300-04

Observation on the Clinical Efficacy of Bioactive Hyaluronic Acid Fragment in the Treatment of Laser Induced Skin Wound

SHEN Ming-qiang¹, LIU Xin¹, WEI Chen², XI Li-yan³, HUI Mi-zhou^{1,2△}

(1 Burn&Plastic Surgery, Hangzhou Normal University Affiliated Hospital, Hangzhou, Zhejiang, 310000, China;

2 Hangzhou Amproteinc Inc, Hangzhou, Zhejiang, 310020, China;

3 Sun yat-sen Memorial Hospital, Sun yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510120, China)

ABSTRACT Objective: The aim of this study was to investigate clinical effect of topical application of bioactive hyaluronic acid fragment to regulate skin wound induced inflammatory reaction. **Methods:** Total 40 patients were divided into two groups. Experimental group and control group, each with 20 patients. Bioactive hyaluronic acid fragment was topically used to treat laser treatment induced acute facial skin wound in order to control inflammatory reaction and healing in the experimental group. Then, wound inflammatory reaction including pain, redness, and swelling was monitored. Cold compress of 30 minutes was used in the control group. **Results:** (1) Inflammatory pain: Both 20 patients in experimental group and control group all feel mild pain after the treatment of cold compress($P>0.05$). (2) Clinical sign: wound redness and swelling in 20 patients of experimental group were inhibited significantly better than that of control group ($P<0.01$). **Conclusion:** Topical application of bioactive hyaluronic acid fragment significantly inhibits skin wound inflammatory reaction and does not affect healing process, suggesting its clinical role to replace cold compress and positively regulate wound inflammation and healing.

Key words: Bioactive hyaluronic acid; TLR4; LPS antagonist; Skin wound; Inflammation

Chinese Library Classification(CLC): R75; R969 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1300-04

我国夏天天气炎热,空气污染日趋严重,城市人口皮肤污染严重,在有皮肤创口的情况下,需要安全、有效、方便的炎症反应(红肿痛)控制手段,以减轻痛苦、减少结痂形成和加速愈合。最近,国外的研究表明细胞外基质大分子透明质酸被透明质酸酶活化生成生物活性透明质酸^[1,2],生物活性透明质酸与细胞外 CD44 和 TLR4 受体结合,可以促进皮肤粘膜分泌防卫素 2,抑制炎症^[1-10]。有文献表明生物活性透明质酸和防卫素 2 都是

作者简介:沈明强(1966-),男,副教授,主要研究方向:烧伤和整形外科临床,E-mail:smq688@163.com,电话:18957102387

△通讯作者:惠觅宙(1959-),男,教授,主要研究方向:生物制药和生物活性材料,E-mail:huimizhou@163.com,电话:13484005199

(收稿日期:2014-10-30 接受日期:2014-11-21)

内毒素的拮抗剂^[3-10],可能调控创口炎症和疤痕愈合。我院于 2014 年 6 月至 9 月采用透明质酸注射液和牛透明质酸酶注射液制备生物活性透明质酸,并用于治疗 20 例激光治疗形成的皮肤创口的红肿痛,取得了比冰袋冷敷更好的控制炎症性红肿痛的疗效,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 一般资料

本组入选的 40 例患者均为我院 2014 年夏天 6~9 月门诊收治的皮肤激光除斑治疗患者,所有病例均呈牛透明质酸酶过敏反应阴性。按就诊顺序将 40 例浅层皮肤激光除斑患者分为

实验组和对照组,实验组男患者 10 人,女患者 10 人,年龄 27~56 岁,平均年龄 35 ± 12 岁;对照组男患者 10 人,女患者 10 人,年龄 22~55 岁,平均年龄 34 ± 14 岁,两组的年龄和性别构成比较均无统计学差异,具有可比性($P>0.05$)。

1.2 实验方法

外用生物活性透明质酸的制备:每克施沛特透明质酸注射液(博士伦福瑞达制药有限公司)加注射用牛透明质酸酶(上海第一生化制药厂)5000-6000 单位,37 度和百级层流下消化 4-6 小时,直至电泳分析分量为 10-60 KD,85 度 15 分钟灭活透明质酸酶,冰箱内保存,2 周内使用。

实验组 20 例患者采用生物活性透明质酸涂抹皮肤激光治疗形成的创口,观察伤口第 1-7 天的红肿胀情况;对照组 20 例患者采用 30 分钟冰袋(储存在负 10 度冰箱内的 Hot/Cold Pack,初始表面温度负 8-10 度,Shanghai Sunkey Industry Co., Ltd)手控冷敷(以不引起痛感为准)皮肤激光治疗后的皮肤伤口,观察伤口第 1-7 天的红肿胀情况。

1.3 疼痛的疗效评价标准

显效:疼痛症状显著改善或消失,患者满意;有效:疼痛症

状有改善或减轻,患者仍有不适,要求继续治疗;无效:疼痛症状无明显减轻,患者不满意。

红肿体征疗效评价:显效:创口无明显肿胀,创口周边有宽度小于 1.5 毫米的轻度红肿围绕;有效:创口轻微肿胀,创口周边有宽度大于 1.5 毫米和小于 3.0 毫米的轻度红肿围绕;无效:创口明显肿胀,创口周边有宽度大于 3.0 毫米的红肿围绕。

1.4 统计学分析方法

采用 SPSS12.0 统计学软件进行统计学处理,计量和计数资料组间比较分别采用 t 检验和 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的疼痛情况比较

实验组 20 例患者均有痛感,均明显减轻,有效 20 例,总有效率 100%;对照组患者 20 例均有痛感,明显减轻,有效 20 例,总有效率 100%,两组的疼痛缓解有效率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 两组患者疼痛症状改善情况的比较

Table 1 Comparison of the improvement of pain between two groups

Groups	Sample (No.)	Significantly Effective	Effective	Not effective	Percentage of Effective%
Experimental group	20		20		100
Control group	20		20		100

2.2 两组患者的红肿情况比较

实验组 20 例患者创口无明显肿胀,创口周边有宽度小于 1.5 毫米的轻度红肿围绕无明显红肿,红肿缓解显效 20 例,总有效率 100%;对照组 20 例患者创口轻微肿胀,创口周边有宽

度大于 1.5 毫米和小于 3.0 毫米的轻度红肿围绕,有效 20 例,总有效率 100%;两组的红肿缓解有效率比较差异无统计学意义($P>0.05$),但实验组的显效率明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。

表 2 两组患者红肿症状改善情况的比较

Table 2 Comparison of the improvement of redness and swelling between two groups

Groups	Sample (No.)	Significantly Effective	Effective	Not effective	Percentage of Effective%
Experimental group	20	20			100
Control group	20		20		100

选男女患者各一例,使用影像记录创口周边第 1-7 天的红肿情况,结果表明使用 4%生物活性透明质酸涂抹皮肤创口明显控制了创口炎症的发生和发展,即口周边无大于等于 1.5 毫米宽度的周边红肿炎症带(图 1、图 2)。

3 讨论

使用活化的人体细胞外基质片段调节人体炎症反应可能是最安全的治疗手段^[1],大分子透明质酸被透明质酸酶降解活化为生物活性透明质酸片段形成末端是使用可识别正常透明质酸立体结构的透明质酸酶切割的末端,和 CD44 和 TLR4 受体结合,促进人皮肤粘膜防卫素 2 分泌,杀灭微生物和抑制皮肤粘膜炎症^[1,2]。

有文献表明生物活性透明质酸和防卫素 2 都是内毒素的

拮抗剂^[4-10]。本研究使用皮肤创口局部直接涂抹生物活性透明质酸片段的方法,快速达到了皮肤创口炎症红肿痛体征的短期有效控制,包括创口的红肿减轻,取得了比冰袋冷敷更好的炎症红肿痛控制效果。虽然,体征控制效果的临床评估明显受主观因素影响,但 100%的控制效果支持生物活性透明质酸片段局部直接涂抹给药是快速有效的皮肤创口炎症红肿痛抑制方法这一结论。

Hot/Cold Pack 冰袋储存在负 10 度冰箱内,初始表面温度负 8-10 度,使用 30 分钟后冰袋表面温度降至负 1-2 度,使用手控冷敷,不引起痛感和冻伤,是实际有效的抑制炎症的方法。本研究中,对照组患者使用了公认有效的冰袋冷敷抑制炎症红肿痛的方法,20 例患者均有效,和生物活性透明质酸的治疗效果相比无显著差异,这可能是因为皮肤创口的疼痛主要发生在早

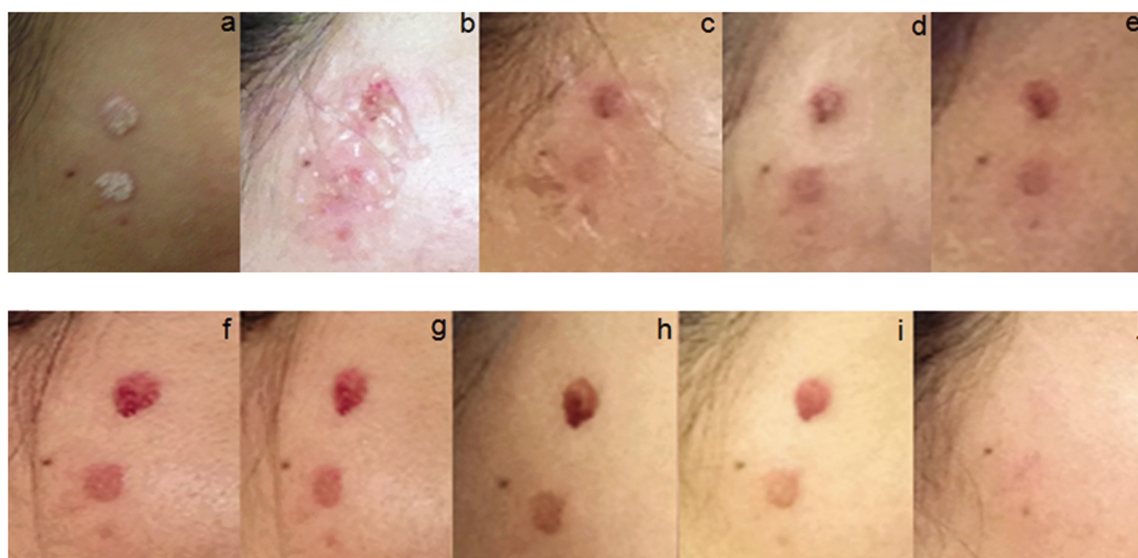


图1 27岁女子激光皮肤除斑治疗后,使用4%生物活性透明质酸涂抹皮肤创口

注:(a)未涂抹生物活性透明质酸的激光创口;(b)刚刚涂抹生物活性透明质酸;(c)涂抹生物活性透明质酸后1.5小时;(d)涂抹生物活性透明质酸后2.5小时后清洗创口;(e)涂抹生物活性透明质酸后6小时(清洗创口后3.5小时);(f)涂抹生物活性透明质酸后1天;(g)涂抹生物活性透明质酸后2天;(h)涂抹生物活性透明质酸后3天;(i)涂抹生物活性透明质酸后5天;(j)涂抹生物活性透明质酸后7天。

Fig.1 4% bioactive hyaluronic acid was applied to laser treatment induced skin wound of a 27-year old female

Note: (a) untreated laser induced skin wound; (b) immediately after bioactive hyaluronic acid treatment; (c) 1.5 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (d) 2.5 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (e) 6.0 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (f) 1 day hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (g) 2 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (h) 3 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (i) 5 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (j) 7 days after bioactive hyaluronic acid treatment.

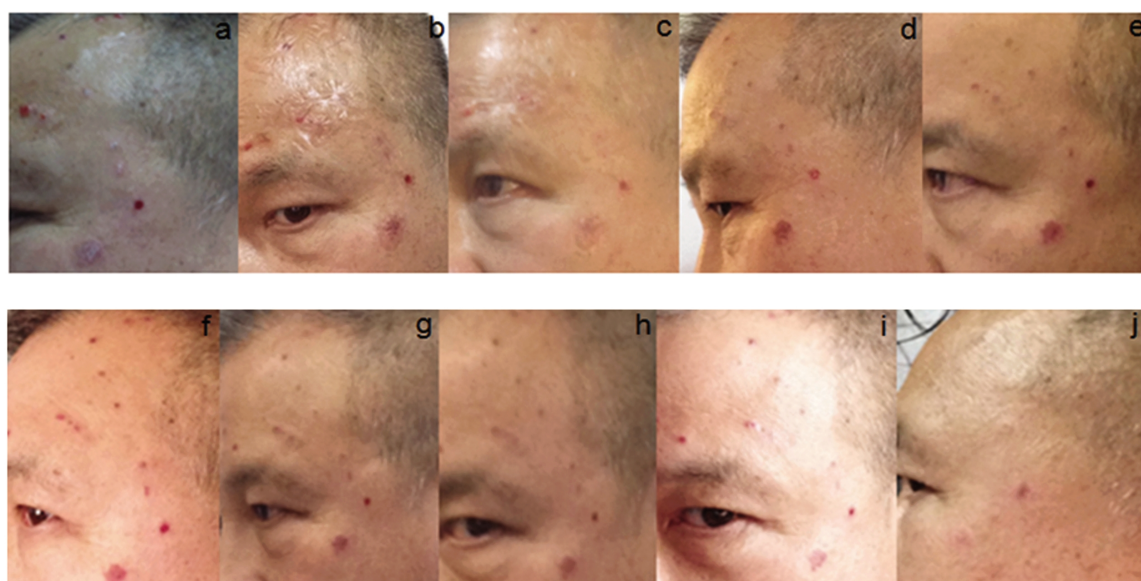


图2 54岁男子激光皮肤除斑治疗后,使用4%生物活性透明质酸涂抹皮肤创口

注:(a)未涂抹生物活性透明质酸的激光创口;(b)涂抹生物活性透明质酸后0.5小时;(c)涂抹生物活性透明质酸后1.5小时;(d)涂抹生物活性透明质酸后2.5小时后清洗创口;(e)涂抹生物活性透明质酸后6小时(清洗创口后3.5小时);(f)涂抹生物活性透明质酸后1天;(g)涂抹生物活性透明质酸后2天;(h)涂抹生物活性透明质酸后3天;(i)涂抹生物活性透明质酸后5天;(j)涂抹生物活性透明质酸后7天。

Fig.2 4% bioactive hyaluronic acid was applied to laser treatment induced skin wound of a 54-year old male

Note: (a) untreated laser induced skin wound; (b) immediately after bioactive hyaluronic acid treatment; (c) 1.5 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (d) 2.5 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (e) 6.0 hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (f) 1 day hours after bioactive hyaluronic acid treatment; (g) 2 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (h) 3 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (i) 5 days after bioactive hyaluronic acid treatment; (j) 7 days after bioactive hyaluronic acid treatment.

期,即30-40分钟之内,冰袋冷敷有效地控制了皮肤创口的疼痛,与直接涂抹生物活性透明质酸的效果类似。除控制伤口炎

症引发的红肿痛外,生物活性透明质酸还有效控制了炎症引起的伤口结痂过度形成和防止皮肤伤口感染,对皮肤伤口疤痕形

成和愈合有正面调节作用,这和其他作者使用生物活性透明质酸或类似物治疗炎症性皮肤粘膜疾病的研究结果基本相同^[11-16]。以上研究结果提示生物活性透明质酸片段治疗皮肤创口可能有类似激素的抗炎效果和防止伤口感染的作用,且无激素的副作用。未来,我们可尝试使用对人无严重皮肤过敏反应的重组人透明质酸酶取代对人有严重皮肤过敏反应的牛透明质酸酶^[4,17]制造生物活性透明质酸片段凝胶或液体创口贴用于控制皮肤创口的炎症反应。

综上所述,细胞外基质大分子透明质酸可以被透明质酸酶解活化,生成生物活性透明质酸片段,是快速有效、安全、方便的抑制皮肤创口炎症和预防感染的物质,值得进一步尝试使用安全的重组人透明质酸酶生产的凝胶或液体创口贴制剂。

参考文献(References)

- [1] Gariboldi S, Palazzo M, Zanobbio L, et al. Low molecular weight hyaluronic acid increases the self-defense of skin epithelium by induction of defensin 2 via TLR2 and TLR4 [J]. The Journal of Immunology, 2008,181:2103-2110
- [2] Hill DR, Rho HK, Kessler SP, et al. Human milk hyaluronan enhances innate defense of the intestinal epithelium[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(40):29090-29104
- [3] Muto J, Morioka Y, Yamasaki Ke, et al. Hyaluronan digestion controls DC migration from the skin [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2014,124(3):1309-1319
- [4] Huang ZD, Zhao CM, Chen YL, et al. Recombinant Human Hyaluronidase PH20 Does Not Stimulate an Acute Inflammatory Response and Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Neutrophil Recruitment in the Air Pouch Model of Inflammation [J]. Journal of Immunology, 2014,192(11): 5285-5295
- [5] Khan AI, Kerfoot SM, Heit B, et al. Role of CD44 and hyaluronan in neutrophil recruitment [J]. Journal of Immunology, 2004,173 (12): 7594-601
- [6] Kim MY, Muto J, Gallo RL. Hyaluronic Acid Oligosaccharides Suppress TLR3- Dependent Cytokine Expression in a TLR4-Dependent Manner[J]. PLOS ONE, 2013, 8(8):e72421(page1-6)
- [7] Hoque R, Farooq A, Mehal WZ. Sterile inflammation in the liver and pancreas [J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2013,28: 61-67
- [8] Muto J, Yamasaki K, Taylor KR, et al. Engagement of CD44 by hyaluronan suppresses TLR4 signaling and the septic response to LPS [J]. Mol Immunol, 2009,47(2-3): 449-456
- [9] Suzuki M, Kobayashi H, Kanayama N, et al. CD44 stimulation by fragmented hyaluronic acid induces upregulation and tyrosine phosphorylation of c-Met receptor protein in human chondrosarcoma cells [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002,1591:37-44
- [10] Buchanan MM, Hutchinson M, Watkins LR, et al. Toll-like receptor 4 in CNS pathologies[J]. Journal of Neurochemistry, 2010,114:12-27
- [11] Ghazi K, Deng-Pichon U, Warnet JM, et al. Hyaluronan fragment improve wound healing on in vitro cutaneous model through P2X7 purinoreceptor basal activation: role of molecular weight[J]. Plos One, 7(11):e48351
- [12] Weind G, Schaller M, Schaefer-Korting M, et al. Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular, biological, pharmaceutical and clinical aspects[J]. Skin Pharmacology and Physiology, 2004,17:207-213
- [13] Kapoor P, Sachdeva S, Sachdeva S. Topical hyaluronic acid in the management of oral ulcers [J]. Indian Journal of Dermatology, 2011,56(3): 300-302
- [14] Rodrigues SV, Acharya AB, Bhadbhade S, et al. Hyaluronan-containing mouthwash as an adjunctive plaque-control agent [J]. Oral Health & Preventive Dentistry,2010,8(4):389-394
- [15] Zhao HD, Hui MZ. Topical application of bioactive hyaluronic acid fragments for treatment of chronic Laryngopharyngitis [J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2014,42(8):864-867
- [16] Hui MZ, Guo Q, Xi LY. Application of bioactive hyaluronic acid fragments for treatment of skin and mucosal diseases of aged population [J]. Journal of Diagnosis and Therapy on Dermato-venereology, 2014,21(4):346-354
- [17] Hui MZ. Matters of bioactive hyaluronic acid fragments, its manufacture method, its applications and formulations containing the bioactive hyaluronic acid fragments[J]. Patent number 2014101553593.5
- (上接第 1236 页)
- [18] Granado M, Priego T, Martí n AI, et al. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005, 288 (3): E486-492
- [19] Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells [J]. J Clin Invest, 2004, 114(1): 57-66
- [20] Li WG, Gavrilu D, Liu X, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor- κ B activation in human endothelial cells [J]. Circulation, 2004, 109(18): 2221-2226
- [21] Uronen-Hansson H, Allen ML, Lichtarowicz-Krynska E, et al. Growth hormone enhances proinflammatory cytokine production by monocytes in whole blood[J]. Growth Horm IGF Res, 2003, 13(5): 282-286