

## 聚焦超声对兔耳痤疮的治疗效果研究\*

董小勇, 郭张有, 李清仪, 刘运畅, 田瑜, 钟芳莹, 邹建中<sup>△</sup>

(重庆医科大学生物医学工程学院/省部共建国家重点实验室培育基地-重庆市超声医学

工程重点实验室/重庆市生物医学工程学重点实验室/重庆市微创医学协同创新中心 400016)

**[摘要]** 目的 探究聚焦超声治疗兔耳痤疮的可行性和有效性。方法 将 18 只雄性兔分为空白对照组、模型对照组和超声辐照组,后两组按 Kligman 法建立兔耳痤疮模型。建模成功后,超声辐照组予以超声连续辐照,观察皮肤辐照前、辐照后即刻及辐照 14 d 后病理变化情况。结果 建模后兔耳毛囊扩张、角化过度、棘层肥厚;模型对照组与空白对照组相比,毛囊面积、皮脂腺直径等指标差异均有统计学意义( $P<0.01$ );超声辐照后即刻可见兔耳皮肤真皮层水肿,大量炎性细胞浸润,未见凝固性坏死;辐照后 14 d,超声辐照组毛囊口轻度扩张、轻度角化、棘层变薄,与模型对照组相比,毛囊面积、棘层细胞层数等指标明显减小或减少,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结论 聚焦超声治疗兔耳痤疮行之有效。

**[关键词]** 聚焦超声;兔耳痤疮;疗效**[中图分类号]** R758.733**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)34-4763-03

## Therapeutic effect of focused ultrasound on rabbit ear acnev\*

Dong Xiaoyong, Guo zhangyou, Li Qingyi, Liu Yunchang, Tian Yu, Zhong Fangying, Zou Jianzhong<sup>△</sup>

(Department of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University/State Key Laboratory of the Ministry of Education to Cultivate the Base-Chongqing Key Laboratory of Ultrasound Medical Engineering/Chongqing Key Laboratory of Biomedical Engineering/Chongqing Non-invasive Medical Collaborative Innovation Center, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the feasibility and effectiveness of focused ultrasound on the acne of rabbit ear. **Methods** Eighteen male rabbits were randomly divided into blank control group, model control group and ultrasound irradiation group. Acne rabbit ear model was established by Kligman's method in model control group and ultrasound irradiation group. Then, continuous ultrasonic irradiation was given in ultrasound irradiation group. Pathological changes were observed at the time of before and after ultrasound irradiation and 14 days after ultrasound irradiation. **Results** After modeling, hair follicle expansion, hyperkeratosis, acupoint hypertrophy were observed in blank control group. Compared with blank control group, the thickness of horn layer, the sebaceous gland diameter and other index in model control group were statistically significant ( $P<0.01$ ); After irradiation, there were hyperemia and edema in epidermis, angiotelectasis and inflammatory infiltrating, but coagulative necrosis in slice was not observed, 14 days later, hair follicle mild expansion, mild keratosis, spiny thinning were observed in ultrasound irradiation group, when compared with model control group, the thickness of horn layer, sebaceous gland diameter and other index were decreased in ultrasound irradiation group, and the differences were statistically significant ( $P<0.01$ ). **Conclusion** The ultrasonic focusing treatment on rabbit ear acne is feasible and effective.

**[Key words]** focused ultrasound; rabbit ear acne; effectiveness

痤疮是一种青少年常见的慢性炎症性皮肤病<sup>[1]</sup>。目前治疗痤疮的方法主要有内服药物、外涂药物、物理治疗三方面,口服抗菌药物治疗有增加抗菌药物耐药性的不足<sup>[2]</sup>,物理疗法操作简单、疗效确切,逐渐成为治疗痤疮的常用方法<sup>[3]</sup>。聚焦超声是一种新兴的非侵袭性的物理治疗方法,有研究表明聚焦超声能够对皮下真皮层起到治疗作用<sup>[4]</sup>,目前已经成功运用于慢性宫颈炎<sup>[5]</sup>、外阴上皮内瘤样病变<sup>[6]</sup>、面部紧缩<sup>[7]</sup>等疾病的临床治疗。但目前未见有聚焦超声运用于痤疮治疗的相关研究,本研究建立兔耳痤疮模型,对其进行聚焦超声治疗,分析治疗后肉眼及病理变化,探究聚焦超声治疗兔耳痤疮模型的可行性和有效性。

## 1 材料与方法

## 1.1 实验动物、主要试剂和实验仪器设备 健康新西兰大白

兔 18 只,雄性,由重庆医科大学实验动物中心提供,体质量 2.5~3.5 kg,普通级环境饲养。中温煤焦油(重庆全采进出口贸易有限公司),戊巴比妥钠(上海化学试剂公司),超声耦合剂(海申凤医疗保健用品公司),YD-6 智能型生物组织摊片机(浙江益迪医疗设备公司),BX40 型高级光学显微镜(日本 Olympus 公司),YD-6DL 智能型生物组织包埋机(浙江益迪医疗设备公司),TavivaR135 型轮转式切片机(湖北泰维医疗科技有限公司),海极星 CZF 型超声波妇科治疗仪(重庆海扶医疗科技股份有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 建立兔耳痤疮模型及实验分组** 将 18 只健康新西兰大白兔分为空白对照组( $n=6$ )、模型对照组( $n=6$ )、超声辐照组( $n=6$ )。模型组及超声辐照组按 Kligman 法<sup>[8]</sup>建立兔耳痤疮

表 1 建模后兔耳皮肤评价指标数据统计( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	角化层厚( $\mu\text{m}$ )	棘层细胞层数	毛囊口直径( $\mu\text{m}$ )	毛囊面积( $\mu\text{m}^2$ )	皮脂腺直径( $\mu\text{m}$ )
空白对照组	6	4.576 3 $\pm$ 0.858 1	3.812 5 $\pm$ 0.544 0	47.124 4 $\pm$ 9.992 1	1 444.747 5 $\pm$ 597.063 9	21.049 0 $\pm$ 5.662 1
模型对照组(即刻)	6	26.453 1 $\pm$ 11.029 4	8.875 0 $\pm$ 1.708 0	130.388 1 $\pm$ 47.256 7	35 122.270 8 $\pm$ 18 010.438 7	35.412 0 $\pm$ 7.132 8

疮模型:用棉签直接将 0.25 mL 的 5% 煤焦油溶液(亲水软膏)均匀涂抹于内侧面耳管开口处,面积为 4 cm $\times$ 4 cm,每天 1 次,连续 2 周<sup>[9]</sup>。空白对照组不处理。建模完成后从模型对照组取兔左耳建模处皮肤组织做活检,光镜观察,作为模型评价。模型对照组通过建模完成即刻及建模后 14 d 的取材活检以观察建模效果及皮肤自愈情况,超声辐照组以辐照后即刻和辐照 14 d 后的取材活检,以观察超声辐照后的病理转归。

**1.2.2 超声辐照方法** 超声辐照组备皮后用 3% 戊巴比妥钠溶液静脉麻醉,在辐照区域用 75% 乙醇消毒,外涂凝胶耦合剂,选用频率为 10.2 MHz,焦距 2 mm 的治疗头,设置超声功率 3 W,采用移动法对超声辐照组兔双耳进行连续辐照,每只兔耳选取 2 处长约 40 mm,宽约 10 mm 区域标记作为辐照区,辐照速度(4~6)mm/s,总辐照时间为 15 s,辐照区域不重复。模型对照组不进行超声辐照。辐照后立即随机选取超声辐照组兔 3 只,各选取 1 处右耳辐照区域皮肤活检;辐照后 14 d,将实验兔全部处死取材。标本离体后用 10% 甲醛固定,石蜡包埋,常规切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜观察。

**1.3 观察指标** 各组从毛囊内角化物质、毛囊口直径、毛囊面积、角化层厚度、皮脂腺直径及棘层细胞层数和炎症细胞浸润 7 个方面重点进行观察。在 100 倍光镜下,选用 5 个视野测量毛囊开口直径的平均值、毛囊面积的平均值、角化层厚度的平均值及皮脂腺长径和短径之和的平均值,并计数棘层细胞层数的平均值。按下述评分标准对毛囊内角化物质多少及炎症细胞浸润程度进行病理评分。毛囊内角化物质及炎症细胞浸润程度评分标准<sup>[10]</sup>,(1)毛囊内角化物质,0:与空白对照组相同(0分);+:角化物质增多,但不致密,且未充满毛囊(1分);++:角化物质致密,但未充满毛囊,或角化物质不致密,但充满毛囊(2分);+++ :角化物质致密,充满毛囊(3分)。(2)炎症细胞浸润程度,0:与空白对照组相同(0分);+:局灶性炎症细胞浸润,细胞散在(1分);++:局灶性炎症细胞浸润,细胞较密集,或出现多个浸润灶(2分);+++ :弥漫性炎症细胞浸润(3分)。在治疗后的 14 d 内对超声辐照组靶皮损及周围皮肤的不良反应(水肿、凝固性坏死、水泡等)进行观察及记录。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用独立样本 *t* 检验。病理评分进行秩和检验,检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 兔耳痤疮模型** (1)肉眼观察:空白对照组(图 1A)兔耳柔软菲薄,外耳道毛囊口细小整齐;模型组兔耳 7 d 后增厚、粗糙,毛囊口可见黑色角栓,隆起呈丘疹状,14 d 后(图 2A)毛囊粗大,有明显黑色角栓形成。(2)光镜观察:空白对照组毛囊细小,皮脂腺正常(图 1B);建模后模型对照组(图 2B)兔表皮极度增厚,颗粒层与棘细胞层均增厚;毛囊口重度扩张,角化明显,被红染角化物质充填,漏斗部扩大,呈壶状;毛囊面积扩大,部分相邻扩张的毛囊相互融合;皮脂腺直径明显增大,可见大量炎症细胞浸润。建模 14 d 后,通过肉眼及显微镜下观察,模型对照组角化层厚度明显增厚、棘层细胞层数增多,毛囊口直径、毛囊面积、皮脂腺直径均明显增大,与空白对照组比较,差

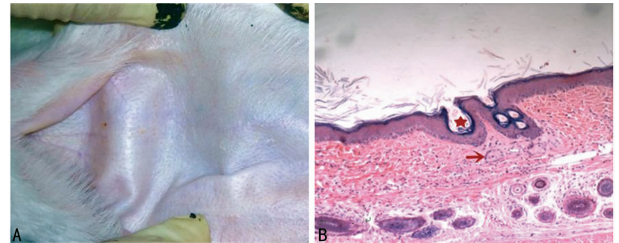
异均有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 1。建模后模型对照组角化物质、炎症细胞浸润程度明显增加,与空白对照组相比,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 2、3。

表 2 建模后兔耳痤疮模型角化物的统计( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	角化物质质量(n)				病理评分(分)
		0	+	++	+++	
空白对照组	6	6	0	0	0	0
模型对照组(即刻)	6	0	0	2	4	2.67

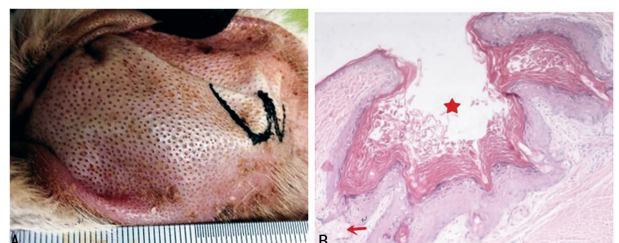
表 3 建模后兔耳痤疮模型真皮层炎症浸润程度统计( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	炎症浸润程度(n)				病理评分(分)
		0	+	++	+++	
空白对照组	6	6	0	0	0	0
模型对照组(即刻)	6	0	1	2	3	2.33



A: 照片图;B: HE 染色病理切片( $\times 100$ );★:正常毛囊;→:正常皮脂腺

图 1 空白对照组皮肤



A: 照片图;B: HE 染色病理切片( $\times 100$ );★:扩张且相互融合的毛囊;→:增大的皮脂腺

图 2 兔耳痤疮模型建立 14 d

**2.2 聚焦超声辐照** (1)肉眼观察:辐照后即刻(图 3A)见超声辐照组 6 只兔双耳辐照区域均出现皮肤充血水肿、皮温升高,第 3 天双耳皮肤充血水肿减轻,14 d(图 4A)后皮肤无充血水肿,较模型对照组(图 5A)光滑,毛囊口黑色角栓消失。(2)光镜观察:辐照后即刻(图 3B),表皮真皮层充血、水肿明显,有大量炎症细胞浸润,未见细胞液化、坏死。14 d 后(图 4B)超声辐照组与模型对照组(图 5B)比较,表皮厚度恢复正常,毛囊口轻度扩张,未见相邻毛囊融合及毛囊漏斗部壶状扩大,轻度角化,棘层变薄,未见炎症细胞浸润。光镜下观察指标统计如表 4。其

表 4 辐照后兔耳皮肤评价指标数据统计(±s)

组别	n	角化层厚(μm)	棘层细胞层数	毛囊口直径(μm)	毛囊面积(μm <sup>2</sup> )	皮脂腺直径(μm)
超声辐照组(辐照后 14 d)	6	3.096 9±0.587 4 <sup>a</sup>	2.937 5±0.573 8 <sup>a</sup>	110.878 1±20.066 5 <sup>a</sup>	16 550.378 2±4 657.952 0 <sup>a</sup>	28.532 7±9.914 5 <sup>a</sup>
模型对照组(建模后 14 d)	6	5.483 8±1.414 0	4.062 5±0.772 0	152.010 0±30.414 0	24 849.050 9±10 866.564 2	33.469 0±7.863 3

<sup>a</sup>: P<0.01, 与模型对照组(建模后 14 d)比较

中角化层厚、棘层细胞数、毛囊直径、毛囊面积差异有统计学意义(P<0.05)。皮脂腺直径差异无统计学意义(P>0.05)。

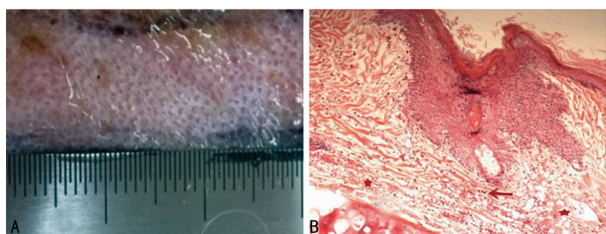
**2.3 对兔耳痤疮模型角化物质的影响** 超声辐照组兔耳毛囊内角化物质有减少趋势,与模型对照组比较,差异无统计学意义(P>0.05),表明聚焦超声对减轻实验性兔耳痤疮模型毛囊内角化物作用不明显,见表 5。

表 5 聚焦超声对兔耳痤疮模型角化物质质量的影响

组别	n	角化物质质量(n)				病理评分(分)
		0	+	++	+++	
超声辐照组(辐照后 14 d)	6	0	4	1	1	1.50
模型对照组(建模后 14 d)	6	0	1	2	3	2.33

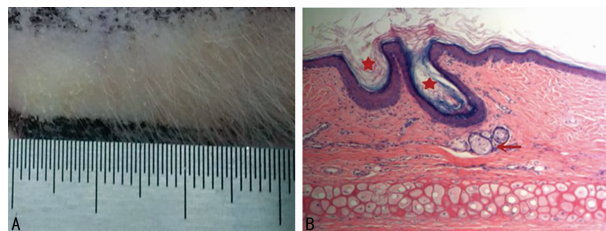
表 6 聚焦超声对兔耳痤疮模型真皮层炎性浸润程度的影响

组别	n	炎性浸润程度(n)				病理评分(分)
		0	+	++	+++	
超声辐照组(辐照后即刻)	3	0	0	0	3	3.00
超声辐照组(辐照后 14 d)	6	3	2	1	0	0.67
模型对照组(建模 14 d 后)	6	1	1	2	2	1.83



A: 照片图; B: HE 染色病理切片(×100); ★: 真皮层充血、水肿; →: 炎性细胞浸润

图 3 辐照后即刻皮肤



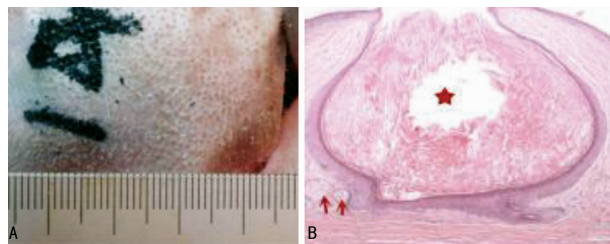
A: 照片图; B: HE 染色病理切片(×100); ★: 毛囊口轻度扩张, 毛囊面积稍扩大; →: 皮脂腺稍增大

图 4 辐照后 14 d 皮肤

**2.4 对兔耳痤疮模型真皮层炎性浸润程度的影响** 超声辐照后即刻炎症细胞浸润明显增多,14 d 后,炎症细胞浸润程度明显减轻,但与模型对照组相比,差异无统计学意义(P>0.05),表明聚焦超声能够引起一过性炎症反应,但随时间推移,炎症反应逐渐消退,且最终超声辐照组炎性浸润程度较对照组减

轻,差异无统计学意义(P>0.05)。见表 6。

**2.5 不良反应的观察** 6 只兔辐照后均出现一定程度充血水肿,未出现治疗区凝固性坏死、非治疗区损伤,皮肤完整无破损,其中 1 只兔出现治疗区的皮肤水泡,经消毒,7 d 后好转。



A: 照片图; B: HE 染色病理切片(×100); ★: 毛囊口重度扩张, 毛囊面积扩大; →: 皮脂腺增大明显

图 5 模型对照组建模 14 d 后皮肤

### 3 讨论

Gliklich 等<sup>[1]</sup>用超声在人体皮肤上作线型扫描,能量聚焦在皮下 1.5~2.0 mm 深度,通过观察人体皮肤炎症、痛觉、组织学形态等来评价所选超声参数的安全性,未观察到不良反应,暗示了聚焦超声治疗人体皮肤病的可行性。本研究通过建立兔耳痤疮模型,利用聚焦超声辐照建模后的痤疮模型,探索超声治疗痤疮的可行性与有效性。

**3.1 疗效观察** 建模后观察到皮肤角化层明显增厚、棘层细胞层数增多、毛囊扩张、毛囊面积增大,但停止涂煤焦油 14 d 后,兔耳痤疮皮肤可有一定修复,表现为角化层厚度变薄,棘层细胞层数下降,但毛囊口重度扩张,仍被大量红染角化物质充填,聚焦超声治疗后,使得角化层厚度减小、棘层细胞层数减少,毛囊扩张程度减轻,毛囊面积减小,皮脂腺直径减小,表明聚焦超声治疗痤疮有效。

**3.2 不良反应观察** 辐照后兔耳均出现辐照区域皮肤红肿,皮肤完整无破损,未见凝固性坏死。皮肤红肿 3 d 后可完全消失,皮肤水泡通过护理亦可完全好转。说明在一定剂量下,聚焦超声治疗兔耳痤疮是安全的。

**3.3 超声治疗痤疮的可能机制** (1)痤疮的发生与皮脂腺过度分泌导致毛囊堵塞有关,聚焦超声的机械效应与温热效应可以分散皮脂腺中沉积的角化物,疏通皮脂腺导管,改善微循环,增加细胞膜通透性等,促使导管上皮细胞及功能恢复;(2)痤疮的发生与痤疮丙酸杆菌在皮脂腺中生长密切相关,董源等<sup>[12]</sup>证实超声可以破坏细菌的细胞壁及细胞膜,降低细菌活性,造成急性损伤,故推测聚焦超声可能通过杀死痤疮丙酸杆菌从而达到治疗效果;(3)超声波透过表皮及黏膜上皮聚焦在靶区组织内释放能量,靶向破坏真皮层炎性病损组织,组织重建并改善局部的微循环等,激发组织的自我修复能力,从而打破了组织原本的病态平衡使痤疮组织恢复,皮肤及黏膜组织结构及功能恢复正常。

综上所述,聚焦超声治疗兔耳痤疮行之有效,但具体治疗剂量及其作用机制仍需要进一步探索。聚焦超声有望为临床治疗痤疮提供一种新的安全有效的物理方(下转第 4770 页)

loaded onto cancellous bone granules in a rabbit radial defect model[J]. Cell Tissue Res, 2014, 355(1): 81-88.

- [9] Kasten P, Luginbuhl R, van Griensven M, et al. Comparison of human bone marrow stromal cells seeded on calcium-deficient hydroxyapatite, beta-tricalcium phosphate and demineralized bone matrix[J]. Biomaterials, 2003, 24(15): 2593-2603.
- [10] Masaoka T, Yoshii T, Yuas M, et al. Bone defect regeneration by a combination of a  $\beta$ -tricalcium phosphate scaffold and bone marrow stromal cells in a non-human primate model[J]. Open Biol Engin J, 2016, 10(1): 2-11.
- [11] Yoshida T, Miyaji H, Otani K, et al. Bone augmentation using a highly porous PLGA/b-TCP scaffold containing fibroblast growth factor-2[J]. J Periodontal Res J Periodontal Res, 2015, 50(2): 265-273.
- [12] Zhu H, Yang F, Tang B, et al. Mesenchymal stem cells attenuated PLGA-induced inflammatory responses by inhibiting host DC maturation and function[J]. Biomaterials, 2015, 53: 688-698.
- [13] Lu J, Dejou J, Koubi G, et al. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone[J]. J Biomed Mater Res, 2002, 63(4): 408-412.

- [14] Kang Y, Yao Y, Yin G, et al. A study on the in vitro degradation properties of poly(L-lactic acid)/beta-tricalcium phosphate (PLLA/beta-TCP) scaffold under dynamic loading[J]. Med Eng Phys, 2009, 31(5): 589-594.
- [15] Zheng Q, Xia Z, Zeng H, et al. Biodegradation of tricalcium phosphate ceramics by osteoclasts[J]. J Tongji Med Univ, 1998, 18(4): 257-261.
- [16] Bizenjima T, Takeuchi T, Seshima F, et al. Effect of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA)-coated beta-tricalcium phosphate on the healing of rat calvarial bone defects: a comparative study with pure-phase beta-tricalcium phosphate[J]. Clin Oral Implants Res, 2016, 27(11): 1360-1367.
- [17] 谭嘉, 谭海涛, 陈国平, 等. 高压氧对小鼠胫骨骨折愈合过程中骨生物力学特性及胶原蛋白含量的影响[J]. 中国骨科临床与基础研究杂志, 2012, 4(1): 48-56.
- [18] Butler J, Foex B. Best evidence topic report: hyperbaric oxygen therapy in acute fracture management [J]. Emerg Med J, 2006, 23(7): 571-572.

(收稿日期: 2017-08-01 修回日期: 2017-09-03)

(上接第 4775 页)

法。但本实验是兔耳瘻疮动物实验, 样本量较小, 具有一定局限性。

#### 参考文献

- [1] Titus S, Hodge J. Diagnosis and treatment of acne[J]. Am Fam Physician, 2012, 86(8): 734-740.
- [2] 刘伟, 王倩, 林新瑜, 等. 利用激光光纤介入的光动力疗法治疗兔耳瘻疮模型的实验研究[J]. 四川医学, 2016, 37(1): 39-43.
- [3] 郭建辉, 郭雯. 瘻疮的物理治疗研究概况[J]. 中国美容医学, 2011, 20(1): 177-178.
- [4] 肖青, 王智彪, 李发琪, 等. 聚焦超声对香猪皮肤重复损伤的组织病理学变化的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(8): 900-902.
- [5] 李成志, 熊希, 李幼平, 等. 聚焦超声单次治疗 7027 例宫颈炎症相关疾病患者疗效及影响因素分析[J]. 中国循证医学杂志, 2012, 12(4): 406-412.
- [6] Zhang L, Zhang WY, Orsi F, et al. Ultrasound-guided high intensity focused ultrasound for the treatment of gynaecological diseases: a review of safety and efficacy [J]. Int J Hyperthermia, 2015, 31(3): 280-284.

- [7] Choi SY, No YA, Kim SY, et al. Tightening effects of high-intensity focused ultrasound on body skin and subdermal tissue: a pilot study[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2016, 30(9): 1599-1602.
- [8] Kligman AM, Kwong T. An improved rabbit ear model for assessing comedogenic substances[J]. Br J Dermatol, 1979, 100(6): 699-702.
- [9] 杨春维, 王凯, 虞忠. 维 A 酸乳膏对煤焦油致兔耳瘻疮模型的治疗作用[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(4): 42-43.
- [10] 黄志芳, 吴亚梅, 华桦. 复方白苣面膜对兔耳瘻疮模型治疗作用的实验研究[J]. 四川中医, 2016, 34(8): 43-46.
- [11] Gliklich RE, White M, Slayton MH, et al. Clinical pilot study of intense ultrasound therapy to deep dermal facial skin and subcutaneous tissues [J]. Arch Facial Plast Surg, 2007, 9(2): 88-95.
- [12] 董源, 李哲, 唐筱潇, 等. 低频超声对 BCG 急性损伤效应的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2014, 30(2): 175-178.

(收稿日期: 2017-08-02 修回日期: 2017-09-04)

# 欢迎投稿

# 欢迎订阅