文章编号:1000-5404(2009)22-2269-03

论著

蓝光对痤疮患者的疗效及对糠秕马拉色菌的影响

穆艳蕾,杨蓉娅,王文岭,樊 昕,徐 阳,王聪敏,张 洁 (北京军区总医院全军皮肤病诊治中心,北京 100125)

摘 要:目的 观察波长407~420 nm蓝光对痤疮患者的疗效,对面部皮肤皮脂溢出率及糠秕马拉色菌的影响。**方法** 对20例痤疮患者蓝光治疗前后行电子显微成像观察,评价靶疹的表皮层及真皮浅层变化;应用Looking bill及Cunliffe改良测定法进行皮脂溢出率测定;应用蓝光对培养的糠秕马拉色菌进行照射,观察照光前后菌落的数量及形态变化。**结果** 20例痤疮患者蓝光治疗后靶疹明显消退,其表皮层及真皮浅层损伤减轻;皮脂溢出率较治疗前显著减少($P<0.01$);在0.5 ml细胞数为5×10^6/ml的糠秕马拉色菌菌液中,菌落数量、直径与光照时间成反比,蓝光光照时间大于3 min 30 s时,平皿内无菌落生长。**结论** 蓝光对痤疮有很好的治疗效果:能修复深至真皮层的皮肤损伤,抑制皮脂分泌,对糠秕马拉色菌有杀菌作用。

关键词: 痤疮;蓝光;皮肤性质;皮脂溢出率;糠秕马拉色菌
中图法分类号: R379.9;R454.2;R758.733 **文献标识码:** A

Effects of blue light therapy on acne and *Malassezia furfur*

MU Yan-lei, YANG Rong-ya, WANG Wen-ling, FAN Xin, XU Yang, WANG Cong-min, ZHANG Jie (Center of Dermatology, General Hospital of Beijing Military Command, Beijing 100125, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of blue light (407 to 420 nm) therapy on acne, facial sebum excretion rate and the growth of *Malassezia furfur* isolated from acne lesions. **Methods** Twenty cases of acne patients were treated with the blue light system. Before and after the treatments, electronic microscopy were used to assess the change of the target acne in epidermis and dermis. Looking bill and Cunliffe's technique was used to test the sebum excretion rate (SER). Selected bacterial strains of *Malassezia furfur* were radiated with the blue light. The morphology and number of colony formation units (CFUs) of the bacteria were observed before and after the irradiation. **Results** Twenty cases of acne patients' target acnes fade away remarkably and the injuries in the epidermis and dermis were alleviated. The SER was decreased significantly ($P<0.01$) after the treatment of blue light. There was no coenobium of *Malassezia furfur* when the time of blue light irradiation exceeded 3.5 min. The number and diameter of the coenobium were in inverse proportion to the irradiation time. **Conclusion** The blue light can treat acne effectively, restore the damage even in the dermis, restrain the sebum secretion and kill the *Malassezia furfur*. It provides the experimental evidences for the treatment of acne.

Key words: acne; blue light; skin property; sebum excretion rate; *Malassezia furfur*

痤疮(Acne)作为青春期的高发皮肤病,病因复杂,其治疗方法也很多,但多不甚理想。患者面部皮脂分泌旺盛,痤疮丙酸杆菌及糠秕马拉色菌过度繁殖,均是导致病情迁延反复的重要原因。407~420 nm的蓝光能有效促进痤疮皮疹消退[1],并对痤疮丙酸杆菌也有较好的杀菌效果[2]。我们引入痤疮的电子显微观察实验及皮脂溢出率测定(the sebum excretion rate, SER)实验,并应用407~420 nm蓝光观察其对痤疮皮疹、面部皮肤性质和糠秕马拉色菌(*Malassezia furfur*)的影响,旨在更准确的评价蓝光对痤疮的治疗作用。

作者简介: 穆艳蕾,女,河北省霸州市人,硕士研究生,医师,主要从事痤疮的病因学及治疗学方面的研究。电话:(010)66385891,E-mail:weishiyaonimafan@sina.com
通信作者: 杨蓉娅,E-mail: yangrya@sina.com
收稿日期: 2009-08-09;**修回日期:** 2009-09-02

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集2005年8-10月本院皮肤科门诊痤疮患者20例,其中男性11例,女性9例,年龄20~40岁。参考痤疮国际分类法[3]进行分类,其中轻度(Ⅰ级)3例,中度(Ⅱ级)9例,中度(Ⅲ级)6例,重度(Ⅳ级)2例。近1周口服或外用皮质激素及前额部有皮损者除外。

1.2 实验材料

橄榄油培养基、沙氏培养基及七叶苷培养基[4]。糠秕马拉色菌鉴定试验及皮脂溢出率实验:3%过氧化氢溶液,吐温20、40、60、80,PEG-35蓖麻油,无水乙醇,正己烷。

1.3 仪器设备

蓝光Clearlight™(407~420 nm)治疗仪(能量密度55 mw/cm^2),日本Scalar Skin XP美容专用皮肤侦测软件系统。

1.4 靶疹疗效显微观察方法

取患者上额部、双侧面颊部、下颌部各1~2处皮疹为靶疹,用皮肤侦测软件系统的电子显微成像仪(USB-M2 Scope)观

察8次蓝光治疗前后靶疹及其周边4 cm^2内皮肤表皮层和真皮浅层损伤情况。

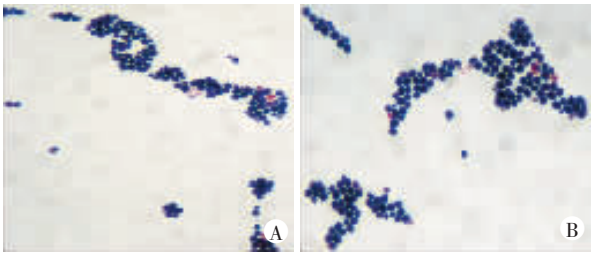
1.5 皮脂溢出率检测方法

在8次蓝光治疗前后,分别检测皮脂溢出率。参照阎淑雅等[5]的方法,利用海绵擦拭,有机溶剂提取,60 min后收集皮脂。皮脂溢出率(SER)测定:应用Looking bill及Cunliffe改良测定法[6],按公式[7]计算。

SRE =[(吸脂后质量 - 吸脂前质量 ± 空白对照)/4 × 10 × 60] $\mu g \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$

1.6 糠秕马拉色菌蓝光照射实验

1.6.1 采样及糠秕马拉色菌培养鉴定 75%乙醇消毒皮损处皮肤,无菌挤压器采集皮损内容物,并点刺接种于橄榄油培养试管,置真菌培养箱(温度37 ℃,湿度20%)培养7 d。7 d后,观察培养基上有苍白色或淡黄色菌落生长,表面光滑,边缘有隆起的皱褶,质地柔软松脆。革兰染色后,光学显微镜100倍油镜下观察可见卵圆形、圆柱形和球形孢子,出芽孢子基地部较宽,颈部圈样结构。鉴定:① 将其与标准菌株(北京医科大学医学真菌保藏中心惠赠)作对照,鉴定菌落形态差异(图1)。② 50%派克墨水染色[8],光学显微镜下可见椭圆形或圆形的浅蓝色孢子或芽生。③进行下述鉴定试验[4]:过氧化氢酶实验(-);七叶苷分解试验,培养基顶端变黑;吐温20、40、60、80试验和PEG-35蓖麻油(CremophorEL)试验,观察周围均有生气环。④接种菌落于沙氏培养基,置培养箱培养48 h后观察无任何菌落生长。



A:糠秕马拉色菌标准株;B:糠秕马拉色菌临床分离株

图1 糠秕马拉色菌的鉴定结果 (光学显微镜×100)

1.6.2 糠秕马拉色菌蓝光照射观察 用蒸馏水将1株经过鉴定的糠秕马拉色菌配成5×10^6/ml菌悬液。取0.5 ml菌液均匀铺于每个橄榄油培养平皿,分组设计如下,实验1:定性研究。实验组:蓝光照射20 min(根据临床单次治疗时间);对照组:未照射蓝光。实验2:杀菌最小光能量的研究。从20 min开始,每隔30秒设1组实验平皿接受蓝光照射(共41组实验)。以上每实验小组3个平皿,取其均值作为统计指标,且每次实验均设一空白对照。干预完毕即放入(温度37 ℃,湿度20%)真菌培养箱培养40 h,观察菌落生长情况并计数,找寻能杀灭该浓度糠秕马拉色菌的最小时间剂量。实验3:为缩小外界因素可能引起的误差,进一步验证蓝光对糠秕马拉色菌的杀菌效应及其杀菌最小光能量。在同一平皿内分置进行不同干预,对照观察菌落生长情况,共5组,每组3个平皿。A组:蓝光照射5 min与未照光作对照;B组:蓝光照射4 min与未照光作对照;C组:蓝光照射5 min与蓝光照射3 min作对照;D组:蓝光照射4 min与蓝光照射3 min作对照;E组:蓝光照射3 min 30 s组。

1.7 疗效评价

以皮损减少率来判断临床治疗效果。减少率=治疗前皮疹数-治疗后皮疹数/治疗前皮疹×100%。痊愈:减少率≥90%;显效:减少率为70%~89%;有效:减少率为30%~69%;无效:减少率<30%。总有效率为痊愈率+显效率+有效率。对照观察蓝光治疗前后,靶疹及其周边4 cm^2内皮肤的表皮层和真皮浅层变化,评价痤疮、脓疱、粉刺、炎症及疤痕变化。比较蓝光照射组和非照射组糠秕马拉色菌的数量及形态。每平皿随机抽取5处面积为1 cm^2范围,读取菌落数量及菌斑直径,取均值。

1.8 统计学分析

应用SPSS 13.0软件,对痤疮患者蓝光治疗前后皮脂溢出率的测定数据进行配对t检验。

2 结果

2.1 蓝光临床疗效及不良反应

对20例痤疮患者8次蓝光治疗的效果进行观察,痊愈14例(70%),显效3例(15%),有效2例(10%),无效1例(5%),总有效率为95%。对14例痊愈患者随访半年,痤疮无复发者13例(92.9%),1例(7.1%)患者痤疮零星发作,多为散在的粉刺。分析其原因,可能与患者平日精神压力大,工作、学习紧张,睡眠不规律有关。7例患者(35%)于治疗期间感觉面部皮肤发紧、略干燥,疗程结束后全部缓解。其余患者在治疗和随访期间均未出现皮肤不良反应。

2.2 靶疹疗效观察

8次蓝光治疗后,表皮层靶疹明显消退,脓疱消失,皮疹及其周围皮肤炎症消退,色素沉着减轻,油脂分泌减少;真皮浅层炎症明显减轻,未见脓栓、皮脂及色素沉着(图2)。

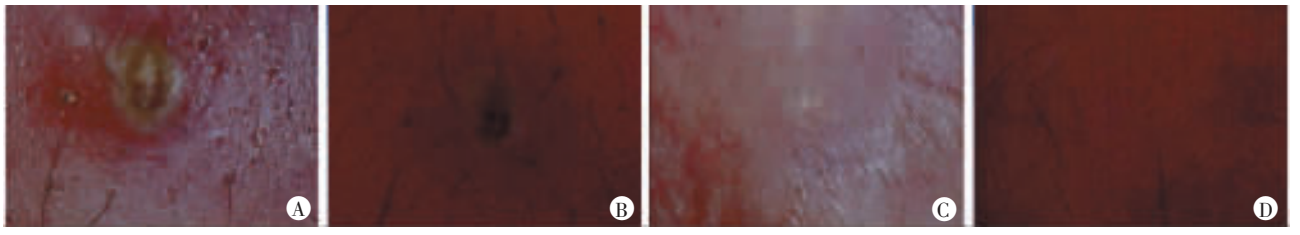
2.3 皮脂溢出率结果

20例痤疮患者蓝光治疗前SER:(2.624 ± 0.967) $\mu g \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$;治疗后SER:(1.105 ± 0.455) $\mu g \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$。可知痤疮患者8次蓝光治疗后,皮脂溢出率变化显著($P<0.01$)。

2.4 蓝光对糠秕马拉色菌杀菌作用

实验1:实验组蓝光照射20 min后无任何菌落生长;对照组有卵圆形及球形糠秕马拉色菌均匀密集分布(图3)。

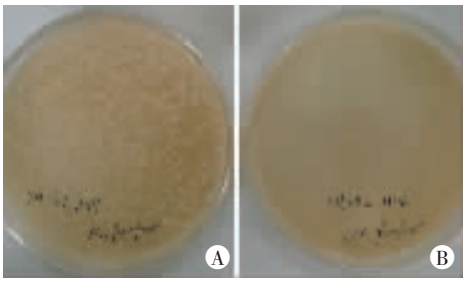
实验2:苍白色或淡黄色糠秕马拉色菌菌落数量随蓝光照射时间不同而存在差异。未照射蓝光组:菌落均匀,计数23个/cm^2,菌斑直径1~2 mm;蓝光照射1 min:菌落12个/cm^2,直径<1 mm;蓝光照射2 min:菌落11个/cm^2,直径<1 mm;蓝光照射3 min菌落稀疏,平均9个/cm^2,直径<0.5 mm;蓝光照



A:蓝光治疗前表皮;B:蓝光治疗前真皮浅层;C:蓝光8次治疗后表皮;D:蓝光8次治疗后真皮浅层

图2 靶疹治疗前后的表皮层、真皮浅层显微成像仪观察 (×30)

射 3 min 30 s 以上:无菌落生长。通过计数观察证实菌落生长数量,菌斑直径与蓝光照射时间成反比。见图 4。



A:对照组,未照射蓝光;B:实验组,蓝光照射 20 min

图 3　蓝光对糠秕马拉色菌的杀菌作用

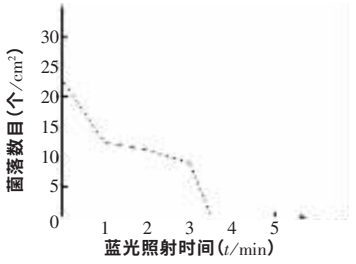


图 4　蓝光照射时间与菌落数目关系曲线图

实验 3:结果进一步证实蓝光对糠秕马拉色菌有杀菌效应;若设定每平皿中接种数为 5×10^6/ml 的糠秕马拉色菌菌悬液 0.5 ml 为一单位值,则按上述方法照射 407 ~ 420 nm 蓝光 3 min 30 s 时,该真菌不能在橄榄油培养基中存活,对照结果如图 5。实验 3 作为实验 2 的验证实验,进一步证实蓝光照射此菌量糠秕马拉色菌需要的最少蓝光照射时间是 3 min 30 s。如表 1。



图 5　蓝光照射 4 min(左)和 3 min(右)对糠秕马拉色菌杀菌作用的影响

表 1　蓝光对糠秕马拉色菌的杀菌效应及其杀菌最小光能量

组别	左侧照光时间	左侧菌落	右侧照光时间	右侧菌落
A 组	5 min	无菌落	0	菌落均匀
B 组	4 min	无菌落	0	菌落均匀
C 组	5 min	无菌落	3 min	菌落均匀
D 组	4 min	无菌落	3 min	菌落均匀
E 组	3 min 30 s	无菌落	3 min 30 s	无菌落

3　讨论

痤疮作为一种毛囊、皮脂腺慢性炎症性皮肤病,发病率高、迁延反复、治愈困难。波长 407 ~ 420 nm 蓝光为内源性卟啉的最佳吸收波长[2],应用于痤疮治疗,可产生光动力学反应,促进皮疹恢复。我们对 120 例痤疮患者蓝光疗效及皮肤性质观察的结果可见:蓝光不但对痤疮有很好的疗效,而且复发率低、副作用小[1]。

本实验表明蓝光对皮脂分泌有明显的抑制作用。文献[2]分析这种抑制作用可能与氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid, ALA)关系密切,皮脂腺单位可吸收 ALA,并通过血红素合成途径代谢为原卟啉 IX (PpIX)。而光活化 PpIX 可能是其破坏皮脂腺的另一机制。

糠秕马拉色菌是嗜脂性酵母菌,是一种条件致病真菌。在痤疮的众多致病微生物因素中,其虽不是主要致病菌,但有研究表明,在炎症性及激素性痤疮的皮损内存在大量的糠秕马拉色菌[2]。研究[9]表明,235 例痤疮患者中合并糠秕马拉色菌感染者 76 例,阳性率 32.34%。本实验结果表明蓝光能有效杀灭糠皮马拉色菌,且随着照射时间的延长,菌落数目逐渐减少,菌斑直径逐渐减小。

痤疮患者皮脂腺肥大和皮脂生成增多是多种因素相互作用的结果。其中,雄激素、神经因子及遗传等因素对皮脂腺的作用已经取得了许多实验证实[2]。而微生物和炎症因子对皮脂腺肥大的促进作用也越来越得到专家们的重视,但缺少实验依据。在痤疮的发病机制方面,一些专家提出微生物、炎症因子与皮脂分泌增多之间可能存在相互促进关系[2]。本实验证实蓝光可以杀灭嗜脂的糠秕马拉色菌,其可能的机制是 407 ~ 420 nm 蓝光可抑制皮脂腺的旺盛分泌,从而改变了糠秕马拉色菌生存的多脂环境,使其不能生存。另外,407 ~ 420 nm 蓝色可见光通过卟啉作用产生单态氧,可杀灭痤疮丙酸杆菌[2],是否蓝光对糠秕马拉色菌也具有类似的杀菌机制有待进一步研究。糠秕马拉色菌可以引起多种炎症性皮肤病且治疗困难,外用抗真菌药物不适合于大面积皮肤感染患者,而口服用药副作用明显。蓝光对糠秕马拉色菌的杀菌作用,将为痤疮及糠秕马拉色菌相关的其他感染性皮肤病的治疗提供一种安全、有效、快捷的新途径。

值得关注的是,痤疮很容易侵犯到真皮深层,治疗不当易形成永久性疤痕。407 ~ 420 nm 的蓝光可以穿透皮下 0.5 mm,对真皮深层有很好的消炎作用,并可减少痤疮后色素沉着及疤痕的形成。

参考文献:

[1] 穆艳蕾, 杨蓉娅, 王文岭, 等. 蓝光治疗痤疮 120 例临床疗效观察[J]. 中国美容医学, 2007, 16(1): 80 - 82.
[2] 朱文元. 痤疮[M]. 南京:东南大学出版社, 2004: 278 - 279.
[3] 杨　磊, 苏　湛, 黄殿芳. 痤疮严重度分级及其治疗研究进展[J]. 滨州医学院学报, 2005, 28(1): 41 - 42.
[4] 王端礼. 医学真菌学——实验室检验指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 244, 492, 501。
[5] 阎淑雅, 鄂亚平, 朱学骏. 正常成人皮脂成分含量的测定[J]. 中华皮肤科杂志, 1992, 25(1): 32 - 34.
[6] Lookingbill D P, Cunliffe W J. A direct gravimetric technique for measuring sebum excretion rate[J]. Br J Dermatol, 1986, 114(1): 75 - 81.
[7] 王文岭, 杨蓉娅, 朱一元, 等. 糠秕孢子菌毛囊炎和花斑癣患者皮脂溢出率测定[J]. 中国皮肤性病学杂志, 1998, 12(2): 82.
[8] 熊　琳, 代亚玲. 美兰染色法在马拉色菌检测中的应用[J]. 四川大学学报: 医学版, 2004, 35(2): 277 - 279.
[9] 汤红峰, 林燕辉, 张玉新, 等. 235 例痤疮患者并糠秕孢子菌感染特点分析[J]. 岭南皮肤性病科杂志, 2003, 10(3): 175 - 176.

(编辑　张　维)