第一章　概述

1　玻璃酸钠的临床应用研究进展

凌沛学　贺艳丽

玻璃酸钠（sodium hyaluronate，SH）为一线性多糖，由（1→4）-*O*-β-D-葡糖醛酸（1→3）-*N*-乙酰-β-D-葡糖胺的双糖单位重复连接构成。SH存在于动物的各种组织中，早在1930～1940年间，Meyer就从动物的滑液、皮肤、雄鸡冠及人脐带等组织中提取得到SH，Kendell等于1937年从细菌体内提取得到SH。由不同来源、不同精制方法获得的SH虽分子量不同，但无种属差异性。

SH溶液具有高度黏弹性，其分子在溶液中高度水合，黏度随浓度呈指数上升。当SH的链缠在一起时，链之间发生相互作用，呈螺旋线圈形，具有一定的机械强度。溶液的黏度明显依赖于切变力，在高、低切变力的作用下，同一浓度溶液的黏度可差数千倍。SH的这种独特的流变学特性是其临床应用的基础之一。本文对其临床应用研究进展做一概述。

一、SH在眼科手术中的应用

有关SH作为眼科黏弹性保护剂应用于临床最早见于1979年Balazs等[1]人的报道，由此在眼科界产生了黏性手术（viscosurgery）的概念，为眼科学的重大进展之一。历经20年的动物及临床研究，对其效果及机制的探讨已有了定论，在临床上的应用也扩展到囊外及囊内白内障摘出术、角膜移植术、青光眼小梁切除术、角膜复置术及外伤性眼手术等20余种手术[2]

SH溶液处于低切变力时为凝胶状，可滞留于眼前房内，维持前房适宜的深度和形状，便于手术操作；处于高切变力时又具有一定的流动性，可方便地从注射器内推出，术后也很容易从前房内被冲洗出来。SH溶液黏弹性的优劣决定于溶液中的SH的分子量及浓度[3]。

SH溶液用于眼科手术具有以下特点：（1）涂布于角膜内皮，形成保护膜，可保护角膜内皮免受手术过程中的机械损伤；（2）维持眼前房适宜的深度和形状，便于手术操作；（3）在前房内提供一黏弹性空间，利于晶状体、角膜植片等植人物的着位和调整；减缓手术器械及晶状体的运动速度，减少可能造成的组织损伤；（4）涂布于晶状体的表面，可避免晶状体植入时其表面对眼内组织的摩擦所致的创伤；（5）作为聚阴离子，可中和晶状体表面的正电荷，降低炎症反应；清除晶状体可能产生的会造成细胞损伤的自由基；（6）附于较小的出血点可起到止血作用；（7）为手术者提供了清晰的手术视野[4]。

注入前房的 SH 在局部的代谢很微量，主要经扩散至血浆内在肝脏降解成小分子产物而排泄[5]。外源性 SH 在眼前房内的半衰期长短与注入前房 SH 的量和分子量密切相关。

常见的不良反应主要为术后暂时性眼压升高和炎症反应。注入眼前房的 SH 溶液排出途径同房水，主要经小梁网排入 Schlemm 管流出球外。由于 SH 的高黏弹性，可能会在术中阻塞小梁网状系统或使房水变得黏稠，排出缓慢，导致术后暂时性的眼压升高。有研究表明，术后眼压升高的程度与 SH 分子量的高低呈正相关[6]。术后采用冲洗或吸除的办法，可降低该反应的发生，使绝大数患者的术后眼压保持在临床可接受的范围内，不会造成不良后果。动物研究表明，炎症反应的程度与 SH 的纯度呈负相关[7]。还有一则报道高分子量 SH 所致的炎症反应比低分子量 SH 要严重[8]。许多研究表明 SH 所致的炎症反应比 2% 羟丙基甲基纤维素轻[9]。真正由于 SH 本身所致的炎症发生率是很难判定的，因为手术过程中的许多因素均可引发炎症反应。目前国内外在眼科临床使用的 SH 制剂品种较多，见表 1-1。

表 1-1　眼科用 SH 制剂及有关参数

商品名	来　源	组　成	分子量	零切变速率时黏度(Pa·s)
Healon	雄鸡冠	1%SH	4.0×10^6	200
Healon GV	雄鸡冠	1.4%SH	5.0×10^6	2000
Viscoat	发酵 SH + 鲨鱼 CS①	3%SH + 4%CS	SH 0.5×10^6, CS 2.5×10^4	40
IAL	雄鸡冠	1%SH	0.9×10^6	3
Vitrax	雄鸡冠	3%SH	0.66×10^6	40
Amvisc	雄鸡冠	1.2%SH	2.0×10^6	100
Amvisc Plus	雄鸡冠	1.6%SH	1.5×10^6	68
Opegan	雄鸡冠	1%SH	1.5×10^6	8
Opelead②(SLM-10, SL-1010)	发　酵	1%SH	2.6×10^6	50
Hylan G-F 20②		交联 SH	$>5.0\times10^6$	
Dispasan	发　酵	1%SH		
Iviz	雄鸡冠	1%SH	1.8×10^6	15

注：①为鲨鱼软骨提取的硫酸软骨素；②也用于骨关节炎(osteoarthritis, OA)

Karen 等[10]对至今为止已发表的不同 SH 制剂用于白内障手术、角膜复置术、青光眼小梁切除术、穿透性角膜移植术及外伤性眼手术等临床使用情况及比较进行了总结。

二、SH 补充疗法治疗关节疾病

SH 为关节滑液及软骨基质的重要组成成分，其生理功能有：(1) SH 在滑液中同蛋白聚糖一起发挥对关节的润滑作用，减少运动过程中软组织及关节面间的相互摩擦，负重时，滑液中低分子溶质及水被压出至软骨基质中，滑液中的 SH 形成具有数微米厚的凝胶状物，由流动体转为弹性体，在关节间隙充当缓冲垫，减轻关节承受的压力，对关节软骨

起保护作用[11]；（2）在软骨表面构成不定形薄结构层，在关节承受应力时，可起缓冲器样作用，对软骨产生保护作用；（3）在软骨及滑膜表面形成流动屏障，调控水及营养成分进出软骨基质，同时对细菌、毒素、免疫复合物等扩散起屏障作用[12]；（4）同蛋白质、凝集原构成蛋白聚糖聚集物，组成软骨基质[13]；（5）维持关节腔隙，保证关节的伸展和运动；（6）预防毛细血管生长。

当发生 OA 时，关节滑液中 SH 的分子量及浓度均降低，此因炎症过程中白细胞产生的氧自由基对 SH 的降解和滑膜炎性渗出对滑液的稀释所致[14]。内源性 SH 流变学特性的改变，加之软骨基质中蛋白聚糖的酶解以及降解产物在滑液中刺激产生炎症反应等因素，被认为是引起 OA 及关节运动障碍的原因[15]。

基于以上原因，设想关节腔内补充外源性 SH，改善滑液的流变学功能会使 OA 患者受益。此概念是由 Balazs和 Denlinger于 20 世纪 60 年代初首先提出的。

大量的动物研究已表明，关节腔内补充外源性 SH，不仅可预防处于病变条件下的关节软骨的退行性改变，对已发生退行性改变的关节软骨也具有修复和改善作用[16,17]。近 10 年的临床应用也证实了 SH 补充疗法治疗 OA，肩关节周围炎，风湿性关节炎及创伤性关节炎均具有明显疗效[18]。

仅从补充外源性 SH，提高滑液的黏稠度，恢复关节滑液的正常生理功能这一点尚不能完全解释经 SH治疗后关节病变的修复、症状的全面改善及停药后维持持久的疗效。人们围绕着 SH对关节软骨、疼痛及炎症的作用机制等方面进行了大量的研究。结果表明：SH可保护软骨免受滑液中蛋白溶酶的降解；可抑制尿酸盐、缓激肽等引发的关节疼痛，其机制可能是通过稳定痛觉受体和屏障作用、减少炎症介质对痛觉受体的刺激作用；可抑制 OA 患者滑液中前列腺素 E_2 的合成水平，减少多形核白细胞、中性粒细胞及淋巴细胞的趋化作用，抑制巨噬细胞的吞噬；SH 的大分子网状结构在关节内可被各种氧化体系、离子辐射降解，使之成为关节内自由基的清除剂，消除炎症，保护关节免受破坏；外源性 SH可促进 OA 患者滑膜细胞内源性 SH 的产生。人们还推测 SH 在关节内的快速代谢，可能具有清除细胞碎片的作用,细胞碎片可嵌入 SH 的大分子网状结构中,随同 SH一并排泄。

自 1974 年，Peyron 和 Balazs[19]首次将 SH 用于治疗 OA 患者至今，已有大量的临床报道。绝大多数的临床研究结论为：SH可明显缓解 OA 患者的关节疼痛、肿胀、关节积液、运动障碍等临床症状，无明显的全身不良反应，耐受性好。许多研究表明 SH治疗 OA 具有较好的远期疗效，停药后症状的改善可维持 1 年以上。对 SH 同泼尼松龙、超氧化物歧化酶的对比研究表明，SH 20mg 的疗效至少相当于泼尼松龙 40mg，优于超氧化物歧化酶 8mg，其优越性还表现在疗效持续时间长。SH 同甾体激素、非甾体消炎药的联合用药是近年来临床治疗的一种趋势，疗效快且更显著。据认为 SH 与甾体激素或非甾体消炎药的复方制剂具有良好的开发前景。

外源性的 SH 在关节内分布于滑膜、软骨及相邻的组织中，随血液再分布于其他组织如肝、肾、脾及脂肪组织，参加氧化呼吸而代谢，从尿及粪便排出极微。半衰期随剂量、分子量的不同而不同。

常见的不良反应主要为注射局部可能出现轻度或中度疼痛和肿胀，1～3d 内可自行消失。局部不良反应的发生率为 0%～10%[20]。但有的报道可高达 37%，即使安慰剂组也高达 39%。目前国内外用于 OA 的 SH制剂品种见表 1－2。

表 1－2　几种用于 OA 的 SH 制剂①

商品名	来　源	组　成	分子量
Hyalgan	雄鸡冠	1%SH	$0.5\times10^6\sim0.73\times10^6$
Artz	雄鸡冠	1%SH	$0.6\times10^6\sim1.2\times10^6$
NRD-101	发　酵	1%SH	$2.0\times10^6\sim2.6\times10^6$
施沛特	雄鸡冠	1%SH	$1.8\times10^6\sim2.0\times10^6$

注：①Opelead 和 Hylan G-F20 见表 1－1。

Karen 等[10]对至今为止已发表的不同 SH 制剂用于 OA 及类风湿性关节炎（rheumatoid arthritis，RA）等的临床使用情况及比较进行了总结。

三、SH 对软组织的修复作用

外源性 SH 连同其他的氨基葡聚糖和胶原，为受损后的组织修复发挥必不可少的模板样作用。组织受损初期，SH 是存在于创面上最主要的氨基葡聚糖，不仅发挥构造作用，而且还具有调节功能。尽管其作用机制还不能从分子水平上得以阐明，但许多线索已提示 SH 同血纤蛋白结合在一起，构成细胞间基质框架，由此来调节成纤维细胞的增生和肉芽组织的形成[21]。动物研究表明，SH 可加快受伤动物上皮细胞的迁移速度，促进伤口愈合所必需的巨噬细胞的调集。此外，SH 还转运某些蛋白质和多肽如生长因子等至创伤部位，而这些因子对创伤的愈合起重要的作用。由手术所致的眼角膜损伤动物，在愈合过程中受伤部位的 SH 增加量同成纤维细胞增加量接近。其他的实验也证明，SH 同成纤维细胞的这种等量结合，是受伤部位无瘢痕修复的原因之一[22]。研究表明 0.2%～2%的 SH 溶液对创伤愈合具有明显的促进作用。

临床上常使用 SH 促进鼓膜穿孔后的修复。手术修复鼓膜常因瘢痕组织形成而引起鼓膜结构改变，影响听力的恢复。动物研究表明，SH 可明显加快鼓膜穿孔的愈合速度，明显优于生理盐水组和粘连蛋白组，对耳感觉系统无不良反应。临床应用结果表明，干燥的穿孔，使用 SH 的疗效明显优于湿穿孔[23]。尽管对小至中等程度的穿孔疗效明显好于大穿孔，后者若在穿孔发生后立即用 SH 处理，也会获得很好的疗效。用浸有 SH 溶液的棉塞填入穿孔内，定期更换，疗效同每日使用 SH 溶液无显著差异。同羟丙基甲基纤维素的比较结果表明，无论是穿孔面积的减少还是穿孔的愈合率，SH 的疗效明显好[24]。

目前国内外已上市或正在研制用于皮肤组织修复作用的 SH 制剂见表 1－3。促进创伤愈合的玻璃酸锌凝胶也正在开发中。

表 1－3　用于组织修复的 SH 制剂

商品名	来　源	组　成	用　途	开发情况	制造商
Connectivina	雄鸡冠	1%SH	溃疡	已上市	Fidia
Equiderm	发　酵	1%SH	慢性溃疡	已上市	Fermentech
Epigel	发　酵	SH＋褐藻酸盐	创伤	已上市	Fermentech
Curiosin	发　酵	1%SH	慢性溃疡，烧伤	已上市	Richter

续表

商品名	来　源	组　成	用　途	开发情况	制造商
Otoial	发　酵	1%SH	鼓膜穿孔	已上市	Fidia
Hyaloskin	发　酵	SH苄酯	溃疡，创伤	研究中	Fidia

四、SH预防术后粘连

应用SH防止术后粘连始于20世纪90年代初，为一较新的领域，目前国内外已上市或正在研制的用于预防术后粘连的SH制剂见表1-4。

表1-4　用于预防术后粘连的SH制剂

商品名	组　成	开发情况	制造商
HAL-F(Seprafilm)	SH衍生物	膜剂,已上市	Genzyme
HAL-C(Sepracoat)	SH衍生物	溶液,已上市	Genzyme
HAL-G(Sepragel)	SH衍生物	凝胶剂,已上市	Genzyme
SH-S(Spray)	SH+右旋糖苷	粉雾剂,研制中	C.P.Freda
SH-C(Coat)	SH	溶液,已上市	C.P.Freda

五、SH作为药物媒介

20世纪80年代初，有人将SH溶液用于治疗眼干燥症（干眼症）。结果表明，0.1% SH溶液可明显延长泪膜破裂时间（break up time，BUT），减少眼干燥症患者的眨眼次数，缓解患者眼部的干、涩、痒、疼等症状，效果明显优于生理盐水及一般人工泪液，且随着用药时间的增加，用药次数明显减少，有的患者停药后症状不再复发。我们率先将SH同抗生素配伍，用于治疗眼干燥症及眼部细胞感染，取得了良好的效果。氯霉素滴眼液内添加SH，可明显提高其疗效，用药次数减少，使用后眼部感觉湿润舒适。国外已有大量文献报道，SH应用于滴眼液中，不仅起增黏剂的作用，还是很好的药物媒介。事实上，以其他高分子聚合物增黏的毛果芸香碱滴眼液，即使黏度比SH增黏的毛果芸香碱滴眼液大得多，疗效仍不如后者[25]。其原因是前者仅发挥物理性增黏作用，而后者对用药部位还具有生理性亲合作用。滴眼液通过增加黏度来实现增效作用是有一定限度的，当黏度高达某种程度时，再增加黏度药效也不会增强。滴眼液中添加SH，即使在较低的浓度，对药物的增效作用也非常明显。通过对动物及人的角膜细胞进行电镜下观察，发现角膜上皮有SH的结合点[26]。药物同SH分子形成氢键结合在SH的大分子上，再通过SH角膜上的结合点，紧密地分布在表面，使其生物利用度明显增强。已公认，SH是目前眼用制剂最好的媒介，既可增加药物的生物利用度，还可减轻药物对眼的刺激，促进眼部创伤的愈合，迅速缓解眼部不适症状。

目前国内外已上市或正在研制的以SH为媒介的滴眼液见表1-5。

表 1-5　以 SH 为媒介的滴眼液

商品名	组　成	开发情况	制造商
Fiser B105	SH + 噻吗洛尔	青光眼，Ⅲ期临床	Fidia
Fiser A609	SH + 毛果芸香碱	青光眼，Ⅲ期临床	Fidia
Fiser C301	SH + 噻吗洛尔 + 毛果芸香碱	青光眼，Ⅲ期临床	Fidia
润舒	SH + 氯霉素	抗感染，已上市	C.P.Freda
正大捷普	SH + 阿昔洛韦	抗病毒，已上市	C.P.Freda
维伦	SH + 庆大霉素	抗感染，已上市	C.P.Freda
正大维他	SH + 尿囊素 + 硫酸锌	消炎，已上市	C.P.Freda
角膜宁	SH + 硫酸软骨素	角膜损伤、眼干燥症，已上市	C.P.Freda
的确当	SH + 硫酸新霉素 + 地塞米松磷酸钠	抗感染、消炎，已上市	C.P.Freda

六、其他

SH可作为抗癌药物的载体，使药物能长时间集中于靶组织，不但能增强抗癌药物的生物利用度，还可减少全身的不良反应。有报道，SH分子本身也具有逆转癌细胞的功能。SH＋氟尿嘧啶注射液目前正处于临床前研究阶段。美国药物开发协会正在研制 SH ＋积雪草制剂，用于治疗妇科疾病，正在进行临床研究。SH 同甾体激素、抗生素等生成醋制成的长效或定向控释制剂也有很好的发展前景。SH经交联后形成的不同分子量和溶解度的大分子聚合物，可作为缓释制剂的骨架，还可作为软组织的充填物用于软组织修复或美容、隆乳等手术中，具有生物相容性好，不良反应小等优点。随着研究的不断深入，SH会显示出更多的用途及更好的发展前景。

参 考 文 献

[1] Balazs EA, Miller D, Stegmann R. Viscosurgery and the use of Na-hyaluronate in intraocular lens implantation [Z]. Presented at the International Congress and First Film Festival in Intraocular Implantation. Cannes, May 1979.

[2] Arshinoff S. The physical properties of ophthalmic viscoelastics in cataract surgery [Z]. Proceedings of the National Ophthalmic Speakers Program (NOSP). Montreal: Medicopea International Inc, 1992. 7 ~ 12.

[3] Eisner G. Use of viscoelastic tools in ophthalmic surgery [A]. In: Eisner G, ed. Ophthalmic Viscosurgery [M]. Montreal: Medicopea International Inc, 1986. 21 ~ 37.

[4] Madsen K, Schenholm M, Jahnke G, *et al*. Hyaluronate binding to intact corneas and cultured endothelial cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1989, 30: 2132 ~ 2137.

[5] Laurent UB, Dahl LB, Lilja K. Hyaluronan injected in the anterior chamber of the eye is catabolized in the liver [J]. Exp Eye Res, 1993, 57 (4): 435 ~ 440.

[6] Miyauchi S, Iwata S. Evaluations on the usefulness of viscous agents in anterior segment surgery. Ⅱ. Effect on the intraocular pressure and clearance from the anterior chamber [J]. J Ocul Pharmacol, 1989, 5: 221 ~ 232.

[7] Denglinger JL, El-Mofty AA, Balazs EA. Replacement of the liquid vitreous with sodium hyaluronate in monkeys [J]. Exp Eye Res, 1980, 30: 101 ~ 117.

[8] Cavaliere S, Spampinato D, Caruso P, *et al*. Effects of hyaluronic acid fractions in the rabbit eye [J]. Ann Oph-

thalmol, 1990, 22: 429 ~ 431.

[9] Koster R, Stilma JS. Comparison of vitreous replacement with Healon and with HPMC in rabbits' eyes [J]. Doc Ophthalmol, 1986, 61: 247 ~ 253.

[10] Karen LG, Paul B. Hyaluronic acid [J]. Drugs, 1994, 47 (3): 536 ~ 566.

[11] Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis [J]. J Rheumatol, 1993, 20 (Suppl 39): 3 ~ 9.

[12] Comper WD, Laurent TC. Physiological function of connective tissue polysaccharides [J]. Physiol Rev, 1978, 58: 255 ~ 315.

[13] Hascall VC, Heinegard D. Aggregation of cartilage proteoglycans: Ⅰ. The role of hyaluronic acid [J]. J Biol Chem, 1974, 249: 4232 ~ 4237.

[14] Parkes HG, Grootveld MC, Henderson EB, *et al*. Oxidative damage to synovial fluid from the inflamed rheumatoid joint detected by ^{1}H NMR spectroscopy [J]. J Pharm Biomed Anal, 1991, 9: 75 ~ 82.

[15] Pellertier JP, Martel-Pellertier J. The pathophysiology of osteoarthritis and the implication of the use of hyaluronan and hylan as therapeutic agents in viscosupplementation [J]. J Rheumatol, 1993, 20 (Suppl 39): 19 ~ 24.

[16] 凌沛学, 苏淮, 贺艳丽, 等. 玻璃酸钠对关节腔内注入木瓜蛋白酶所致兔膝关节退行性改变的改善作用 [J]. 中国生化药物杂志, 1996, 17 (6): 242 ~ 246.

[17] 贺艳丽, 杨晓红, 王韶进, 等. 玻璃酸钠抑制骨关节固定造成的兔膝关节退行性改变的实验研究 [J]. 中国生化药物杂志, 1997, 18 (1): 12 ~ 15.

[18] Ono K, Nakahara H, Yonenobu K, *et al*. A study of the effect of intra-articular injection of high molecular weight sodium hyaluronate (SLM-10) on osteoarthritis of the knee [J]. Jpn Pharmacol Ther, 1993, 21 (Suppl 2): 333 ~ 354.

[19] Peyron JG, Balazs EA. Preliminary clinical assessment of Na-hyaluronate injection into human arthritic joints [J]. Pathol Biol (Paris), 1974, 22: 731 ~ 736.

[20] Dixon AS, Jacoby RK, Berry H, *et al*. Clinical trial of intra-articular injection of sodium hyaluronate in patients with osteoarthritis of the knee [J]. Curr Med Res Opin, 1988, 11 (4): 205 ~ 213.

[21] Clark RAF. Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations [J]. J Am Acad Dermatol, 1985, 13: 701 ~ 725.

[22] Adizick NS, Longaker MT. Scarless wound healing in the fetus: the role of the extracellular matrix [J]. Prog Clin Biol Res, 1991, 365: 177 ~ 192.

[23] Camarda V, Cervellini M, Pedace G, *et al*. Sodium hyaluronate in the repair of perforations of the tympanic membrane [J]. Clin Ther, 1989, 11: 744 ~ 754.

[24] Rivas MP, Casasin T, Pumarola F, *et al*. An alternative treatment for the reduction of tympanic membrane perforations: sodium hyaluronate. A double blind study [J]. Acta Otolaryngol, 1990, 110 (1-2): 110 ~ 114.

[25] Saettone MF, Monti D, Torracca MT. Muco-adhesive liquid ophthalmic vehicles evaluation of macromolecular ionic complexes of pilocarpine [J]. Drug Dev Ind Pharm, 1989, 15: 2475 ~ 2489.

[26] Hazlett LD, Barret R. Sodium hyaluronate eye drop. A scanning and transmission electron microscopy study of the corneal surface [J]. Ophthalmic Res, 1987, 19: 277 ~ 284.

2　玻璃酸及其衍生物的临床应用进展

凌沛学　贺艳丽　刘爱华　张天民

自 Meyer 和 Palmer 于 1934 年首次从牛眼玻璃体分离得到玻璃酸及其盐（hyaluronan，HA）后，经过半个多世纪的研究，对其结构、理化性质已有了明确认识〔1~3〕。目前，HA 及其衍生物在临床上已得到广泛的应用。本文对其应用进展做一概述。

一、HA 在眼科方面的应用

Balazs 等最先开展 HA 应用于眼前节和玻璃体手术的研究，并从人脐带和雄鸡冠中提取得到高纯度、非致炎性的 HA 组分（NIF-HA），作为眼科手术黏弹性保护剂应用于临床，由此使眼科界黏性手术（viscosurgery）得到普及。此外，HA 可延长泪膜破裂时间（BUT）从而对眼干燥症具有明显的缓解作用，是目前治疗眼干燥症的首选药物。

（一）应用于眼科手术

行使眼前节手术时，若没有黏弹剂发挥其填充和保护作用，手术往往失败或不够理想。黏弹剂应具备的特点如下：（1）有效地填充前房至适当的深度，且可维持至所需的时间；（2）缓冲机械力，避免手术器械及植入物对眼组织造成损伤；（3）覆盖于组织、器械或植入物表面，形成保护屏障；（4）将组织隔离，减少粘连的发生；（5）提供清晰的手术视野，使手术器械可在其中活动自如；（6）无毒、无刺激，具有好的生物相容性等。

1%~3% NIF-HA 溶液具有高度的黏弹性，可满足以上要求。最先面市的是由瑞典 Pharmacia 药厂出品的 Healon，含 1% HA，从雄鸡冠中提取制备。大量药效学及安全性试验表明，Healon 可有效地维持前房，降低角膜内皮细胞的损伤率。

HA 黏弹剂使以前不能或极难完成的操作成为可能，如：（1）在青光眼手术中，需要在结膜下创造一个额外的空间或将狭小的空间拓展，注入 HA 溶液即可达到目的，且不会造成毛细血管损伤导致出血和渗出；（2）在视网膜复位术中应用 HA 黏弹剂，可挤压脱落的视网膜复位，且能维持一定的时间直至其与色素上皮愈合；（3）无晶状体眼的玻璃体前界面易凸出，极易损伤，将 HA 弹剂注入角膜和虹膜的间隙内，对其施压使其后缩，便于手术操作，避免其损伤〔4〕。

HA 可作为黏弹性手术“钳”（viscosurgical vice）来剥离组织，如剥离视网膜前膜，对组织没有损伤，这是目前任何器械和方法无法比拟的。

HA 弹剂还具有使植片易于着位和缝合，压迫出血点利于止血，术中湿润眼球表面，防止上皮干燥，中和器械和植入物表面的正电荷，消除晶状体乳化过程中产生的自由基，减轻炎症等作用〔5〕。

迄今为止，临床上应用的 HA 黏弹剂有 10 余种，已成功地应用于眼科 20 余种手术，发表了大量的临床报告，包括各品牌的 HA 弹剂及其与羟丙基甲基纤维素的比较研究。还对维持前房深度和时间、角膜内皮细胞丧失率、术后眼压（IOP）和炎症反应等指标进

行了评价研究表明， HA 的分子量（M_r）越高，黏弹性越好，维持前房的效果越好。比较HA黏弹剂与羟丙基甲基纤维素的总体效果的好坏较为困难，因为兼顾几个指标难以得出定论。

最近推出了新一代 HA 黏弹剂，商品名为 Healon 5，含 2.3%HA，具有更高的黏弹性，可满足近几年日益普及的超声晶状体乳化进行白内障摘出－人工晶状体植入术的要求。Healon 5 具有更低的内皮细胞丧失率、较好的血－房水屏障等作用。

常见的不良反应为术后 IOP 升高和炎症反应。术后将 HA 吸出或冲出前房，可避免 IOP 升高。除青光眼患者外，对绝大多数患者来说，术后 IOP 的升高一般在可以耐受的范围内，且在术后 24h 内恢复正常，一般不需特殊处理。

常见的炎症反应是前房出现炎性细胞、光斑、角膜水肿和混浊。对制剂本身来说，残留的核酸和蛋白质等杂质会导致炎症，但手术过程中器械对组织的损伤、残留的组织碎片、积血等也是引发炎症的原因。

（二）对眼干燥症的治疗

眼表面覆盖着一层透明的液体薄膜，即泪膜，具有湿润角膜上皮、营养眼表面上皮细胞、预防感染以及保护、促进角膜损伤愈合等功能。结膜病变，泪腺、副泪腺等腺体萎缩如 Sjögren综合征均可导致 BUT明显缩短，失去其生理功能，发生眼干燥症。以往对眼干燥症的治疗多采用频繁滴注生理盐水、人工泪液等对症治疗，但效果均不理想。

1982 年，Polck 等最先将 0.1%HA 溶液用于治疗 15 例眼干燥症患者。患者使用后，疼痛立刻消失，且只要角膜上留有 HA 溶液，眼就没有疼痛感。眼部红肿也得到明显改善，视力有了明显的提高，点眼频率也逐渐减少。 Tabatabay 等用 0.1%HA 溶液治疗眼干燥症患者的 2 次试验均获得成功。尤其是 1985 年，对 3 例严重而又久治不愈的患者进行的试验更引人注目，短期治疗即获得明显疗效。患者自觉症状完全消失，组织学检查也表明改善显著。

HA 滴眼液治疗眼干燥症既有效又安全[6]。Stuart 等用 0.1%HA 治疗 14 例患者中，有 6 例患者使用时间长达 1 年未见不良反应，用药长达 2 年的患者也耐受良好。

研究表明，HA 溶液延长 BUT 而具有稳定泪膜的作用。 Mengher 等发现，0.1%HA 溶液与生理盐水相比，BUT 可至少延长 40min 以上，Hamana 等研究了 HA 的量效关系，结果表明，当 HA 的浓度达到 0.1% 以上时，效果才显著。

二、对关节疾病的治疗

（一）机制探讨

补充外源性高 M_r HA 治疗骨关节炎（OA）及类风湿性关节炎（RA）等关节疾病是由 Balazs 等人最先提出的。他们认为，高 M_r HA 注入关节腔内，恢复病理状况下的滑液至正常状态，重建其润滑、屏障和保护功能，打断病变过程中如下的恶性循环：滑液黏弹性降低一屏障和保护作用降低一软骨进一步破坏一释放的酶和炎症因子进一步使滑液的黏弹性降低。对关节提供润滑和屏障功能的同时，为病变的关节提供一个自然修复的时间和环境，使软骨自然修复和愈合。此外，高 M_r HA还可抑制血管和组织的增生，抑制炎症反应，屏蔽痛觉感受器，从而明显缓解症状。其治疗机制如下。

1. 对软骨及糖胺聚糖的作用对各种动物模型研究所得的结果均表明， HA 可抑制软

骨退行性变,促进病变软骨的修复[7,8],且高 M_r HA 的效果好于低 M_r HA[9]

组织生化学研究发现，HA 抑制 OA 软骨基质蛋白聚糖聚集物（PGA）的降解，减少蛋白聚糖的释放。此外，HA 可明显提高蛋白聚糖的聚集率。结果提示 HA 对 PGA 的生成和降解具有重要的作用上[10,11]。

2．对痛觉感受器的屏蔽作用高 M_r HA 可抑制由舒缓激肽和尿酸盐引发的关节疼痛[12]。若在关节腔内注入玻璃酸酶（hyaluronidase，HAas），则关节对疼痛的敏感性明显增强，即使关节软骨没有明显的病变。

当关节发生炎症时，炎症介质如二十烷、激肽、胺和细胞活素可激活神经细胞膜上的伤害感受器。一些化学物质，如前列腺素、5-羟色胺等可作用于受体，使细胞产生第二信息介质等来激活伤害感受器。伤害感受器的激活是感觉疼痛的原因[13]。

神经膜细胞上的伤害感受器镶嵌在以 HA 为主要成分的细胞外基质（ECM）中，HA 的大分子网状结构介于刺激源和感受器之间，对刺激信号起到滤器样作用，调节信号的传导和化学物质向感受器的传递。

研究发现，高 M_r HA 注入到病变关节腔后，随即可出现疼痛缓解作用，只要滑膜和软骨表面有 HA 覆盖，就有止痛作用。当滑膜和软骨表面的 HA 膜消失后，止痛作用随即消失。

低 M_r HA 以及一些其他高分子黏性物质，如羧甲基纤维素、硫酸软骨素等均没有止痛作用。结果提示，只有高 M_r HA 的构象与伤害感受器受体的相适应，或与上述的致痛物质具有结合作用，才能缓解疼痛。

3．消除自由基，调节细胞功能发生 RA 或 OA 时，炎性细胞释放大量的自由基，降解结缔组织中的大分子物质，导致组织损伤和病变。关节滑液中的 HA 浓度和 M_r 均明显降低，就是自由基对 HA 的降解和关节积液对滑液的稀释所致。研究表明，HA 可与自由基发生反应而将其清除，因而高 M_r HA 具有保护软骨细胞免受自由基损伤的作用[14]。

正常状况下，关节内含有的高 M_r HA 可能具有抑制血管生成的作用，但当发生 RA 或 OA 时，由于 HA 的浓度和 M_r 明显降低，对血管的生成抑制作用减小，而低 M_r HA 具有诱导血管生成的作用，导致病变部位毛细血管和组织增生[15]。HA 还可作用于免疫细胞表达的 HA 受体，影响免疫细胞的趋化作用，抑制炎症[16]。

（二）临床研究

1．疗效评价大量的临床报道多为一周给药 1 次，3～7 周为一疗程。评价指标为严重度指数、关节疼痛、关节活动度、晨僵、关节积液以及止痛药的摄入量等。文献报道多为肯定的结果。患者注射 2～3 次后，症状获得明显改善。对关节疼痛的缓解最为明显和迅速，给药后患者马上能够感受到，其次是关节活动度的改善。疗效与患者的严重度和病程具有相关性,对严重度较高的患者疗效较差[17]。疗效与 HA 的 M_r 也有相关性，在一定范围内，疗效与 M_r 呈正相关。

许多试验未设空白对照组，报道的短期观察较多。有的虽观察了远期疗效，但样本数较少。张鸿逵等[18]报道了 HA 治疗 OA 的远期观察，结果表明，停止治疗 16 个月后，70%患者的临床症状未复发。

许多试验将 HA 与其他有效的治疗方法做了比较[19]。Leardini 等研究结果表明，HA 20mg 的总体疗效比甲泼尼龙 40mg 的疗效还要好。HA 20mg 对疼痛的缓解和关节活动度的

改善作用均明显好于超氧化物歧化酶（SOD）8mg。同时使用 HA 和 SOD，会获得更为满意的效果。Kopp 等发现，尽管 HA 消除颞颌关节 OA 导致的疼痛和功能障碍的近期和远期疗效与倍他米松相似，但 HA 的不良反应较低而具有更好的应用前景[20]。

HA 与甾体激素或非甾体消炎药的联合用药具有更好的效果。Grecomoro 等在首次注射 HA 时，配伍地塞米松磷酸钠 0.4mg。结果表明，止痛效果与关节活动度的改善比单纯用 HA 好得多。

2. 安全性评价多数临床结果表明，HA 有较好的耐受性，未见明显的不良反应。少数资料报道的不良反应多局限在注射部位，如疼痛或肿胀，极个别的患者出现头痛和发热等症状。不良反应常发生在注射后 1- 3d 内，患者一般能够耐受，不需处理，2- 3d 内可自行消失。不良反应的发生率多为 1%- 10%。有的报道可高达 37%，同时安慰剂组的发生率也达 39%[21]。制剂若污染了内毒素可导致关节出现肿胀、疼痛加剧和积液增多，残存的微量杂蛋白和核酸也可导致免疫反应，局部出现皮疹和瘙痒等症。

三、HA 衍生物的制备和应用

天然的 HA 在体内的存留时间较短，限制了其疗效的发挥。尤其是近年来在预防粘连和软组织填充等方面的应用，要求 HA 在体内应具有适宜的存留时间，由此激发了研究者改构天然 HA 的兴趣。HA 被修饰的部位为羧基、羟基、*N*-乙酰氨基和还原末端，*N*-乙酰氨基中的乙酰基脱掉后形成的氨基可大大拓展对 HA 修饰的途径和方法。目前临床使用的 HA 衍生物多为对其羧基和羟基修饰而成[22]。

（一）碳二亚胺对羧基的修饰

碳二亚胺（$R_1N{=}C{=}NR_2$）与 HA 的羧基反应先生成 *N*-酰基脲加合物，再根据需要与不同的碳二亚胺进一步加合，形成亲脂、芳香族以及不同功能基的系列衍生物。常用的碳二亚胺有单碳二亚胺和双碳二亚胺。用碳二亚胺修饰 HA 有一定的局限性，因为反应要求在酸性条件下进行，导致一些胺发生质子化从而亲核性降低，使反应不能完成。

（二）酰肼对羧基的修饰

最先应用的酸肼为己二酸二酰肼（adipic dihydrazide，ADH），生成 ADH-HA 中间产物，仍保留一个酸肼，既可与 HA 分子中的羧基继续反应将 HA 交联，也可以与药物反应将药物系挂到 HA 分子上。

常用的酰肼包括单酰肼、双酰肼和多酰肼。多酰肼与 HA 反应后剩余的 NH_2，一部分与 HA 分子中其他羧基反应，使 HA 交联，另一部分与药物连接；或药物也可以先与酰肼连接，再与 HA 发生反应从而系挂到 HA 分子上。

（三）对羟基的修饰

对羟基修饰的试剂多为醛类和二乙烯基砜。Balazs 等自雄鸡冠提取 HA 之前，用甲醛处理组织，使 HA 分子中的羟基经醛与蛋白质反应，形成的蛋白质桥将 HA 链交联在一起。控制交联程度，可制得溶液、凝胶或固体状物。Balazs 将以上产品称为 hylan A。

在弱碱性条件下，将 hylan A 用二乙烯基砜与 HA 再发生交联，形成整体的网状结构，称为 hylan B，为不溶于水的物质。控制交联度也可获得凝胶、膜状或管状等固体状物。

（四）HA 衍生物的应用

1. 眼科手术和关节疾病的黏弹性补充疗法　hylan G-F 20（Biomatrix 公司出品）为一

种交联的 HA，Mr 大于 5×10^6，具有较好的黏弹性，作为眼科手术黏弹剂比 HA 具有更好的效果。

Synvisc（Biomatrix 公司出品，Mr 为 6×10^6）含 0.8% hylan，与 Orthovisc（1.5% HA，Anika 公司出品，Mr 为 1.5×10^6）相比，具有更高的黏弹性。由于在关节内的代谢较慢，一周用药 1 次，注射 3 次即可。而普通 HA 制剂要求注射 5 次为一疗程。

2．预防术后粘连　HA 溶液对术后粘连的预防作用机制可能如下：术中涂布于组织表面，形成保护膜可减轻手术器械对组织的损伤；保湿作用可防止组织发生干燥；压迫出血点，抑制出血等。但是，HA 溶液往往由于其在体内存留时间太短而奏效不大。

Genzyme 公司将 HA 修饰后与羧甲基纤维素结合在一起（商品名 Seprafilm），在体内的存留时间明显延长，粘连预防作用明显提高。腹腔术后粘连预防的临床结果表明，给药组 51%的患者未发生粘连，而对照组只有 6%。

HA 衍生物由于具有更密集的网状结构和较长的存留时间，组织隔离作用持久，抑制炎性细胞的激活和聚集，减少成纤维细胞、血纤蛋白溶解酶原的聚集等作用均比 HA 强，因此具有更好的粘连预防效果[23]。

3．软组织修复及美容　Biomatrix 公司用 hylan B 凝胶制备的软组织填充剂（商品名 Hylaform）在体内既不降解也不转移，具有良好的生物相容性，不致炎，不产生异物排斥等免疫反应，在体内的存留时间符合要求。在软组织修复和消除皱纹等方面具有广泛的应用前景。

4．HA 及其衍生物的给药体系　HA 及其衍生物对药物具有控释作用。最简单的一种，为其与药物并不发生反应，前者仅充当一种媒介，通过其物理增黏和膜亲和作用对药物控释；或将药物镶嵌在其网状结构中，通过控制药物的释放速率达到控释效果；或通过改变剂型，如将其水分除去形成膜，药物被包埋于其中，在体内溶胀后，药物的释放速率受其网状结构的调节；与药物通过离子对或共价结合的方式如与药物成盐或醋化等与药物形成加合物，对药物的控释作用更加明显。

HA 作为眼用制剂的媒介已被广泛地应用，如将 HA 作为氯霉素、阿昔洛韦、硝酸毛果芸香碱等滴眼液的媒介，取得好的临床疗效[24]。高浓度的 HA 与激素或抗生素制成凝胶，球内注射治疗眼内炎，弥补了全身用药局部浓度低、疗效差的不足，且减少了用药次数及由此造成的不便和痛苦。

蛋白质类药物由于静脉注射给药在血浆内的清除速率较快，而其他的给药途径又不能充分吸收，因而研制蛋白质的控释技术及非注射给药途径具有很好的应用前景[25]。研究表明，改构的 HA 与蛋白质连接后可延长其在血浆的半衰期，或为媒介促进其在黏膜的吸收。如 SOD 与改构 HA 连接后在血浆中的半衰期明显延长改构的 HA 制成的缓释微球将胰岛素吸附或包埋，通过鼻腔黏膜或眼黏膜给药可达到有效的血药浓度，从而开发了新的给药途径。

利用 HA 与 HA 受体结合的原理，可研制生物粘连性脂质体（bioadhesive liposome），将 HA 结合到脂质体表面，在体内与特异性细胞结合，具有定向给药的特点[26]。

当机体发生炎症时，HA 在炎症部位聚集。研究发现，经全身给药的 HA 可聚集于炎症或损伤部位，因此可开发定向给药体系。如连接在改构的 HA 上的激素，采用全身给药方式时，可在炎症部位聚集，通过此处酶的水解作用，得以释放而发挥疗效。氟尿嘧啶、

双氯芬酸钠（又称双氯灭痛）借助于 HA 可聚集于肿瘤组织，在局部发挥更强的作用[27]。

HA 在体内被淋巴结和肝脏摄取和降解，利用该原理，与 HA 加合的药物可在上述组织中大量释放，达到局部治疗作用。 OA 或肌肉疼痛等患者使用 HA 与抗炎药物加合物治疗时，除采用关节腔给药外，采用透皮给药也可获得明显效果[28]。

四 、 展 望

基础研究表明 HA 在体内的生理功能已不局限于大分子网状结构及黏弹性等物理机械功能。HA 受体的发现使人们对 HA 的认识有了一个质的飞跃，揭示了其通过与受体的结合调节细胞的功能从而在胚胎发育、肿瘤侵袭、组织愈合等方面扮演的重要角色。 HA 受体的发现还有助于开发新的给药途径。明确掌握 HA 代谢机制，通过发现其代谢异常，可对一些疾病的诊断和治疗具有指导意义。然而，HA 的应用受检测方法所限而不能满足临床需要，应在以下方面加强对 HA 的应用性开发。

（一） HA 微量检测技术的普及

HA 与肿瘤侵袭力具有相关性，肿瘤周围基质 HA 与其受体含量的比值，HA 与硫酸多糖含量的比值对肿瘤预后的判断和治疗具有指导意义。但 HA 探 针（probe） 测定基质所含的微量 HA 还局限于基础研究领域，配套试剂没有商品化，因此，临床目前未开展该项工作。

实际上，临床上对血浆和尿液等 HA 含量较高样本的 HA 浓度检定也未开展。开展该项检测对基质病变，RA，OA，肝硬化，肿瘤和一些炎症的诊断和治疗具有积极的作用。

（二）加 强 HA 及其衍生物给药体系的应用

HA 受体的发现以及病变局部 HA 受体的表达和 HA 浓度明显升高的现象，揭示了 HA 在体内具有可定位聚集的特性。由此可制备以 HA 受体为靶向的定向给药体系。在不久的将来可能会有以 HA-药物加合物的口服或透皮吸收制剂取代关节腔给药治疗 OA 和 RA。预计会有多种以 HA 及其衍生物为给药体系的抗肿瘤药物的推出，它既可强化对肿瘤的局部杀伤作用，又可减少全身不良反应。

（三）拓 展 HA 的应用领域

成人创伤修复后的新生组织含有大量的纤维，弹性差，硬度大，瘢痕明显，临床上称之为“ 纤维性修复 ”；而婴幼儿创伤修复后的新生组织的弹性如正常皮肤，几乎无瘢痕，得到“ 再生性修复 ”。其原因就是婴幼儿皮肤含有高浓度、高 M_r HA，具有较高的促愈合、调节成纤维细胞活性和抗炎等作用。在创伤的早期给予大量的高 M_r HA，可使成人像婴幼儿那样获得再生性修复。

HA 具有保湿功能，应用于化妆品已多年。低 M_r HA 制成的透皮吸收制剂也具有较好的美容效果。但外用有一定的局限性，因为高 M_r 不能透皮吸收，只能作用于表层，而吸收的低 M_r HA 在局部处于游离状态，不能结合到基质中去，很快即从局部排泄掉。此外衰老的特征是真皮层 HA 含量的明显降低导致出现皱褶。研究发现， HA 口服可被吸收，可提高真皮层 HA 的含量，对全身发挥抗皱和美肤作用。因此，研究 HA 的口服美肤产品具有很好的前景。

总之，HA 的应用开发尚处于初期，随着对其基础研究的进一步深入，相信越来越多的产品会涌现，为人们做出应有的贡献。

参 考 文 献

[1] Laurent TC, Fraser JRE. Hyaluronan [J]. FASEB, 1992, 6: 2397.

[2] 张天民，凌沛学，沈渤江，等. 透明质酸的研制及应用研究 [A]. 见：王凤山，凌沛学，贺艳丽，等. 生化药物研究 [M]. 北京：人民卫生出版社，1997. 272～276.

[3] Wik BH, Wik O. Rheology of hyaluronan and its derivatives [A]. In: Laurent TC, ed. The Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and Its Derivatives [M]. London: Portland Press, 1998. 25～32.

[4] Pape LG, Balazs EA. The use of sodium hyaluronate (Healon) in human anterior segment surgery [J]. Ophthalmology, 1980, 87 (7): 699～705.

[5] Holst A, Rolfsen W, Svensson B, *et al*. Formation of free radicals during phacoemulsification [J]. Curr Eye Res, 1993, 12 (4): 359～365.

[6] Bernatchez SF, Camber O, Tabatabay C, *et al*. Use of hyaluronic acid in ocular therapy [A]. In: Edman P, ed. Biopharmaceutics of Ocular Drug Delivery [M]. Boca Raton: CRC, 1993. 105～120.

[7] 贺艳丽，杨晓红，王韶进，等. 玻璃酸钠抑制骨关节固定造成的兔膝关节退行性改变的实验研究 [J]. 中国生化药物杂志，1997, 18 (1): 12～15.

[8] 凌沛学，苏淮，贺艳丽，等. 玻璃酸钠对关节腔内注入木瓜蛋白酶所致兔膝关节退行性改变的改善作用 [J]. 中国生化药物杂志，1996, 17 (6): 242～246.

[9] Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, *et al*. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthritis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament [J]. Clin Orthop, 1994, 298: 296～304.

[10] Kikuchi T, Denda S, Yamaguchi T. Effect of sodium hyaluronate (SL-1010) on glycosaminoglycan synthesis and release in rabbit articular cartilage [J]. Jpn Pharmacol Ther, 1993, 21 (Suppl 2): 157～165.

[11] Denda S, Yamaguchi T, Namiki O. Inhibitory effect of high molecular weight sodium hyaluronate (SL-1010) on cartilage glycosaminoglycan release induced by synovial fluid from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. Jpn Pharmacol Ther, 1993, 21 (Suppl 2): 165～170.

[12] Gotoh S, Miyazaki K, Onaya J, *et al*. Experimental knee pain model in rats and analgesic actions of sodium hyaluronate (SH) [J]. Folia Pharmacol Jpn, 1998, 92: 17～23.

[13] Belmonte C, Pozo MA, Balazs EA. Modulation by hyaluronan and its derivatives (hylans) of sensory nerve activity signalling articular pain [A]. In: Laurent TC, ed. The Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and Its Derivatives [M]. London: Portland Press, 1998. 205～217.

[14] Sato H, Takahashi T, Tde H, *et al*. Antioxidant activity of synovial fluid, hyaluronic acid, and two subcomponents of hyaluronic acid. Synovial fluid scavenging effect is enhanced in rheumatoid arthritis patients [J]. Arthritis Rheum, 1988, 31: 63～71.

[15] West DC, Hampson IN, Arnold F, *et al*. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid [J]. Science, 1985, 228: 1324～1338.

[16] Forrester JV, Balazs EA. Inhibition of phagocytosis by high molecular weight hyaluronate [J]. Immunology, 1980, 40 (3): 435～446.

[17] Namiki O, Toyoshima H, Morisaki N. Therapeutic effect of intra-articular injection of high molecular weight hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee [J]. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol, 1982, 20 (11): 501～507.

[18] 张鸿逵，王韶进，王永惕，等. 玻璃酸钠关节腔内注射治疗膝骨关节炎 [J]. 中国生化药物杂志，1998, 19 (5): 231～234.

[19] Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology,

and its therapeutic potential in joint disease and wound healing [J]. Drugs, 1994, 47 (3): 536 ~ 566.
[20] Kopp S, Carlsson GE, Haraldson T, *et al*. Long-term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint arthritis [J]. J Oral Maxillofac Surg, 1987, 45 (11): 929 ~ 935.
[21] Dougados M, Nguyen M, Listrat V, *et al*. High molecular weight sodium hyaluronate (hyalectin) in osteoarthritis of the knee: a 1 year placebo-controlled trial [J]. Osteoarthritis Cartilage, 1993, 1 (2): 97 ~ 103.
[22] Laurent TC. The Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and Its Derivatives [M]. London: Portland Press, 1998. 43 ~ 65.
[23] Larsen NE. Management of adhesion formation and soft tissue augmentation with viscoelastics: hyaluronan derivatives [A]. In: Laurent TC, ed. The Chemistry, Biology and Medical Applications of Hyaluronan and Its Derivatives [M]. London: Portland Press, 1998. 267 ~ 281.
[24] 凌沛学，贺艳丽. 玻璃酸钠的临床研究应用进展 [J]. 中国生化药物杂志，1998, 19 (4): 200 ~ 205.
[25] Lanfranco C, Aurelio R, Luca B. Process for the preparation of microspheres containing biologically active components [P]. Italy. Eur Pat Appl 0517 565. 1992-12-09.
[26] Yerushalmi N, Margalit R. Hyaluronic acid modified bioadhesive liposomes as local drug depots: effects of cellular and fluid dynamics on liposome retention at target sites [J]. Arch Biochem Biophys, 1998, 349 (1): 21 ~ 26.
[27] Alam CA, Seed MP, Willoughby DA. Angiostasis and vascular regression in chronic granulomatous inflammation induced by diclofenac in combination with hyaluronan in mice [J]. J Pharm Pharmacol, 1995, 47 (5): 407 ~ 411.
[28] Schultz RH, Wollen TH, Greene ND, *et al*. Remote administration of hyaluronic acid to mammals [P]. USA. US Pat 4 808 576. 1989-02-28.

3 玻璃酸的生理功能

贺艳丽　张　霞　凌沛学　张天民

自 Meyer 等于 1934 年首次从牛眼玻璃体分离得到玻璃酸（HA）后，经过半个多世纪的研究，对其结构、理化性质已有了明确认识，对其生理功能的认识有了重大的突破。HA 作为普遍存在于结缔组织的大分子糖胺聚糖，除了其网状结构、黏弹性等物理特性发挥的调节渗透压、连接细胞、屏障、润滑关节和缓冲应力等机械功能之外，还具有调节细胞功能、灭活自由基等生理活性，在形态发生、血管生成、肿瘤扩散、伤口愈合、控制疼痛和炎症反应方面具有重要的作用。本文对 HA 的生理功能进行了综述。

一、构成基质

HA 是构成细胞外基质（extracellular matrix, ECM）和细胞间基质（intercellular matrix, ICM）的主要成分。结缔组织主要由基质和少量的细胞组成，基质的合成、分泌、结构及性质对细胞的代谢和功能具有重要的影响。ICM 填充在细胞间隙内，为细胞提供内环境，对到达细胞的物理及分子信息进行过滤和甄别，从而对细胞功能发挥调节作用。基质的上

述作用均是通过其中的 HA 来发挥的。

HA 除构成基质外，还与细胞膜上的特异性受体或 HA 合成酶结合，在细胞表面构成一层外壳，有人称这层膜为细胞周分子笼蔽（pericellular molecular cage，PMC）。

PMC 对细胞具有两种物理功能：（1）在细胞表面形成分子屏障，发挥滤器样作用，将体积大于 PMC 分子间隙的大分子物质或微粒排阻在外，起到保护细胞的作用。如滑膜细胞若用玻璃酸酶（HAas）除去 PMC 后，极易被病毒感染；（2）稳定细胞膜受体及机械感受器。膜上的受体以及机械感受器镶嵌在 PMC 内，可避免应力对其造成异位、刺激等伤害。如关节在正常状态下，神经末梢的机械感受器在 PMC 和黏弹性滑液的保护下，应力不会造成其异位和刺激，因此没有疼痛的感觉。当发生类风湿性关节炎（RA）或骨关节炎（OA）时，滑液中 HA 的分子量（M_r）及浓度明显降低，感受器失去保护，对应力作用敏感而感觉到疼痛〔1〕。

二、保水、渗透压调节和分予排阻作用

HA 分子中含有的大量羧基和羟基，可与水形成氢键而具有很强的保水能力。基质中的 HA 具有固定及阻止水流动的功能，若用 HAas 将 HA 降解破坏后，对水的通透性会明显增加。关节软骨表层拥有 HA 大分子网状结构，可防止软骨在负重时将大量的液体从软骨中挤出，保证软骨内的水分，从而保证软骨的弹性及缓冲应力的作用。 HA 是保持皮肤水分和弹性的主要成分，随着年龄的增加，皮肤所含的 HA 的 M_r 和浓度明显降低，导致皮肤干燥和产生皱纹。一些抗皱美容护肤品就是利用其中的 HA 具有局部保水功能的特点，或利用一些活性物质抑制皮肤 HA 的代谢而发挥美容作用的。

HA 的亲水作用赋予组织一定的渗透压，对维持组织的正常状态具有重要作用。组织内含有糖蛋白和胶原两种原纤维网状结构，糖蛋白的网状结构可抵消胶原纤维网状结构产生的溶胀力，两者相辅相成，处于平衡状态。若糖蛋白中 HA 的含量发生改变，可导致渗透压及糖蛋白网状结构发生改变，平衡状态遭到破坏，胶原网状结构发生溶胀或收缩，导致组织变形。

HA 的网状结构还可起到滤器和分子筛作用，调节大分子物质的扩散和转运。如在结缔组织内，调节细胞功能、血管内外物质的转运、阻止有害物的入侵、引导一些分泌产物如胶原纤维的定位沉积等。

三、润滑及灭活氧自由基的作用

HA 是滑液的主要成分，赋予滑液良好的黏弹性和润滑作用。当发生 RA 或 OA 时，由于氧自由基对 HA 的降解及关节积液对滑液的稀释作用，滑液的黏弹性明显降低，对关节的保护作用减弱或丧失，使病变加剧。RA 及 OA 患者滑液中的中性粒细胞可产生 4 种活性氧，使 HA 降解，造成滑液黏度降低。滑液中的 HA 及组成 HA 的单糖——D-葡糖醛酸是清除滑液中氧自由基的有效物质。

四、对细胞的作用

（一）对细胞的保护作用

HA 在细胞表面形成的 PMC，可保护细胞免受溶解毒性细胞、病毒等的攻击，对氧自

由基、白介素-1和植物凝集素的降解或侵害也有防护作用。如 HA 可保护软骨细胞免受氧自由基、多形核白细胞内溶胞物质的破坏，抑制蛋白聚糖的水解及释放。

（二）对细胞功能的影响

体外研究表明，高 Mr 高浓度的 HA 溶液可抑制细胞的移动、增生、分化和吞噬，其抑制作用与其 Mr 和浓度——即黏弹性相关。低 Mr HA 对细胞的移动、增生、分化和吞噬功能的影响与高 Mr HA 相反。这是由于不同的作用机制而致。前者是通过 HA 与细胞膜受体发生作用而产生的，而后者是通过 HA 的黏弹性产生的[2]

研究发现，细胞发生移动前，其周围的 HA 浓度必然明显升高。产生该现象对细胞移动具有两种作用：（1）打破糖蛋白与胶原纤维两个网状结构的平衡，使组织边界发生改变，以创造出更多的空间，将阻止细胞移动的障碍物如胶原或紧密相连的细胞分离开，为细胞的迁移提供一条高水合性通道；（2）细胞移动需要膜上的受体与通道上的 HA 发生作用，由此推动细胞向前移动。细胞周围基质向细胞表达移动开始和终止的指令，而基质中 HA 与蛋白聚糖的含量是决定细胞移动与否的关键。当细胞周围基质的主要成分为 HA 时，细胞开始移动，当细胞遇到 HA 与蛋白聚糖比值较低的基质时，终止移动。

HA 可抑制淋巴细胞的转化、移动和黏附，该作用可有助于宿主减轻对移植物的排斥反应。

（三）对 HA 合成细胞的调节作用

玻璃体细胞、滑膜细胞、成纤维细胞、腹膜单核吞噬细胞等 HA 合成细胞的 HA 合成活性均受其周围 HA 的 Mr 及浓度的影响。当基质的 HA 浓度升高时，细胞合成 HA 的能力可明显增加，提示 HA 对其合成细胞的作用为正反馈调节机制。

五、与 HA 结合蛋白的作用及产生的生理功能

体内存在多种可与 HA 特异性结合的蛋白质，主要分布在基质和细胞膜上，人们将这些蛋白质统称为 HA 结合蛋白（HA-binding protein，HABP）。HABP 是 HA 进行基质装配、调节细胞功能、发挥其生理活性的先决条件[3,4]。

报道最多的基质内 HABP 主要为软骨基质内的连接蛋白和蛋白聚糖，两者的核心蛋白均有与 HA 特异性结合的部位，识别 HA 分子链中的十糖片段并与之结合[5]。

目前，研究较为明确的细胞膜 HABP（受体）主要有两类，CD44 和 RHAMM（receptor for HA-mediated motility）。CD44 在不同细胞的表现形式可不同，具有众多的异构体。RHAMM 是在成纤维细胞表面发现的，HA 介导的细胞移动就是通过该受体而产生的。

HA 与细胞的作用具有双向机制。HA 的 Mr 决定其与细胞的作用强度，而细胞通过调节自身受体的密度调整与 HA 的亲和力，改变作用强度。

（一）在基质装配中的作用

HA 与细胞受体结合而固定在细胞膜上，在细胞周围形成不同厚度的 PMC，于其周边装配 ECM，使细胞与 ECM 连接在一起。如成纤维细胞、造血细胞以及上皮细胞均通过 HA 受体与 ECM 固定在一起。

（二）在形态发生时的作用

胚胎在肢体发生和分化过程中，HA 和 HAas 呈现规律性的变化，即其存在具有时间性和空间性。细胞 HA 受体的表达具有时间性，提示 HA 在该过程中具有重要的作用。