

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580008053.7

A61M 3/02 (2006.01)

A61M 27/00 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61M 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007年3月14日

[11] 公开号 CN 1929883A

[22] 申请日 2005.1.27

[21] 申请号 200580008053.7

[30] 优先权

[32] 2004.1.27 [33] US [31] 10/768,749

[86] 国际申请 PCT/IL2005/000101 2005.1.27

[87] 国际公布 WO2005/070480 英 2005.8.4

[85] 进入国家阶段日期 2006.9.12

[71] 申请人 雷蒙特亚特特拉维夫大学有限公司

地址 以色列特拉维夫

共同申请人 恩塞瑟吉有限公司

[72] 发明人 亚米海·弗里曼 伊然·希尔朔维奇
米歇尔·比埃里-莱普曼

[74] 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司

代理人 卢素华 郑霞

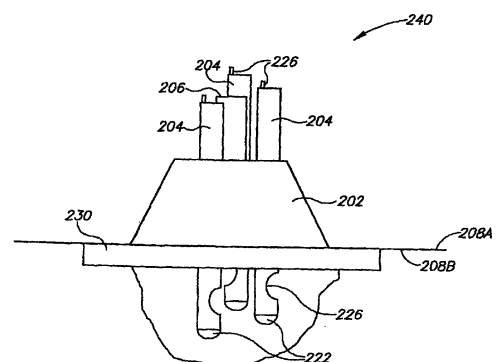
权利要求书 10 页 说明书 35 页 附图 16 页

[54] 发明名称

对皮肤创伤的酶清创术的装置和方法

[57] 摘要

本发明涉及用于在皮肤创伤中失活组织清创术的装置，包括多个高度和角度可调节的引入导管(204)和至少一个引出导管(206)、以及围绕皮肤创伤形成封塞的缝合的工具(230)。所述多个引入导管适合引导酶溶液恒流，以到达创伤的表面和进入创伤的创床的整个体积，并且所述至少一个引出导管适于移去创伤排出的酶溶液、流体和从封塞的皮肤创伤带来的组织残骸。



1. 用以治疗皮肤创伤的敷料器，所述敷料器包括：

(a)屏蔽罩单元，其具有至少一个形成在其内的孔和第一纵轴；和

(b)工具，以固定所述敷料器于皮肤创伤周围的皮肤；

其中所述屏蔽罩单元包括：

(i)多个引入导管，每个所述多个引入导管具有第一纵轴，并且构造通过所述至少一个孔沿着其纵轴可调；和

(ii)至少一个引出导管，其具有第二纵轴。

2. 根据权利要求1所述的敷料器，其中所述屏蔽罩单元包括多个孔，并且每个所述多个引入导管和所述至少一个引出导管伸展通过所述多个孔的相应的一个孔。

3. 根据权利要求1所述的敷料器，其中每个所述多个引入导管相对所述屏蔽罩单元的位置和角度是可调节的。

4. 根据权利要求1所述的敷料器，其中每个所述多个引入导管有一近端和一远端，所述远端构造成面对所述皮肤创伤并且其中所述远端顺滑地弯曲成不造成外伤的顶端。

5. 根据权利要求4所述的敷料器，其中所述至少一个引入导管的所述远端的开口相对所述引入导管的中轴成一个角度。

6. 根据权利要求5所述的敷料器，其中所述多个引入导管的至少一个的远端包括多个开口。

7. 根据权利要求1所述的敷料器，其中每个所述多个引入导管是由柔韧的弹性体构建的。

8. 根据权利要求7所述的敷料器，其中所述柔韧的弹性体包括选自聚硅氧烷、聚氨基甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯组成的组的材料。

9. 根据权利要求1所述的敷料器，其中每个所述多个引入导管沿其纵轴是可伸长的或可缩短的。

10. 根据权利要求1所述的敷料器，其进一步包括与每个所述引入导管连通的可调节的螺钉机构，从而将每个引入导管沿其纵轴伸长或缩短。

11. 根据权利要求1所述的敷料器，其进一步包括至少一个与所述多个引入导管流体连通的贮器，所述至少一个贮器适于储藏流体。

12. 根据权利要求11所述的敷料器，其中所述至少一个贮器适于储藏治疗溶液，所述治疗溶液包括有效量的至少一种催化活性蛋白酶。

13. 根据权利要求12所述的敷料器，其中所述至少一种催化活性蛋白酶选自木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、纤维蛋白溶酶原活化因子、纤维蛋白溶酶、肥大细胞蛋白酶、溶酶体水解酶、链激酶、胃蛋白酶、弧菌溶血素、磷虾蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、胶原蛋白酶、弹性蛋白酶、分散酶、蛋白酶K、梭状芽孢杆菌多功能蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶组成的组。

14. 根据权利要求11所述的敷料器，其进一步包括接头，所述接头与所述多个引入导管的至少一个引入导管和所述至少一个贮器流体连通，因此打开和关闭所述至少一个引入导管和所述至少一个贮器之间的流体连通。

15. 根据权利要求14所述的敷料器，其中所述接头包括至少一个元件，其选自路厄氏锁和阀工具组成的组。

16. 根据权利要求11所述的敷料器，其进一步包括分离器，所述分离器与所述多个引入导管的至少一个引入导管和所述至少一个贮器流体连通，因此，从所述至少一个贮器可逆地断开和重连接所述至少一个引入导管。

17. 根据权利要求11所述的敷料器，其进一步包括控制仪，所述控制仪与所述多个引入导管的至少一个引入导管和所述至少一个贮器流体连通，因此控制流体从所述至少一个贮器经过所述至少一个引入导管的流速。

18. 根据权利要求17所述的敷料器，其中所述控制仪选自蠕动泵和滴注计数器组成的组。

19. 根据权利要求11所述的敷料器，其进一步包括温度调节仪，所

述温度调节仪与所述至少一个贮器连通,因此影响所述至少一个贮器内流体的温度。

20. 根据权利要求 11 所述的敷料器,其进一步包括至少一个过滤器,其位于所述多个引入导管的至少一个引入导管内,以过滤流经所述至少一个引入导管的流体。

21. 根据权利要求 1 所述的敷料器,其进一步包括收集贮器,所述收集贮器与所述至少一个引出导管流体连通,并构造成收集从所述至少一个引出导管排出的流体。

22. 根据权利要求 1 所述的敷料器,其进一步包括真空源,所述真空源与所述至少一个引出导管流体连通,适于在封塞的皮肤创伤产生负压。

23. 根据权利要求 1 所述的敷料器,其进一步包括多个贮器,其中所述多个贮器的第一贮器适于储藏第一溶液,所述第一溶液包括至少一种催化非活性蛋白酶,且其中所述多个贮器的第二贮器适于储藏第二溶液,所述第二溶液包括能活化所述至少一种催化非活性蛋白酶的试剂,所述第一贮器和所述第二贮器相互流体连通,并且所述第一贮器和所述第二贮器中的至少一个进一步与所述多个引入导管的至少一个引入导管流体连通。

24. 根据权利要求 23 所述的敷料器,其进一步包括混合腔,所述混合腔与所述第一贮器和所述第二贮器以及所述至少一个引入导管流体连通,因此储藏包括所述第一和第二溶液的催化活性蛋白水解混合物。

25. 根据权利要求 23 所述的敷料器,其中所述混合腔进一步包括混合工具。

26. 根据权利要求 2 所述的敷料器,其进一步包括多个加封单元,每个所述加封单元构造成防止所述引入导管外径和其相应的孔之间流体流过。

27. 根据权利要求 2 所述的敷料器,其进一步包括加封单元,所述加封单元构造成防止所述引出导管外径和其相应的孔之间流体流过。

28. 根据权利要求 27 所述的敷料器,其中所述至少一个引出导管构造成通过其相应的孔是可调节的。

29. 根据权利要求1所述的敷料器，其中所述固定所述敷料器于皮肤的工具包括粘附到所述屏蔽罩的第一平面和构造为围绕并粘附到创伤的第二平面。

30. 根据权利要求29所述的敷料器，其中所述粘附工具是生物相容的。

31. 根据权利要求29所述的敷料器，其中所述第二平面由保护性的可拆卸的膜覆盖。

32. 根据权利要求1所述的敷料器，其中所述多个引入导管的至少一个包括一可弯曲的线，其沿所述至少一个引入导管的第一纵轴延伸并操作地连接于其上。

33. 根据权利要求32所述的敷料器，其中所述可弯曲的线延伸不超过所述至少一个引入导管的所述远端。

34. 根据权利要求32所述的敷料器，其中所述可弯曲的线包括柔韧的和有弹性的刚性材料。

35. 根据权利要求32所述的敷料器，其中所述可弯曲的线包括选自银、铂、不锈钢和聚合物组成的组的材料。

36. 根据权利要求32所述的敷料器，其中所述至少一个引入导管包括储藏流体的第一腔和构造为储藏可弯曲的线在其中的第二腔。

37. 一种治疗皮肤创伤的装置，所述装置包括：

(a) 间隔物，以封闭包括皮肤创伤的区域，所述间隔物有面对皮肤的底面，和面对屏蔽罩的顶面，其中所述底面包括固定所述间隔物于所述皮肤创伤周围皮肤的粘附工具；和

(b) 敷料器，其包括屏蔽罩单元，所述屏蔽罩单元有至少一个形成在其中的孔和第一纵轴，所述屏蔽罩单元包括：

(i) 多个引入导管，每个所述多个引入导管有第一纵轴，并且构造成沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的；

(ii) 至少一个引出导管，其具有第二纵轴；以及

(iii)工具，以固定所述敷料器于所述间隔物顶面。

38. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述间隔物包括有弹力的不能渗透液体的材料。

39. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述间隔物包括弹性体。

40. 根据权利要求 39 所述的装置，其中所述弹性体是泡沫样材料。

41. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述间隔物包括选自聚硅氧烷、聚硅氧烷泡沫、聚氨基甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯泡沫组成的组的物质。

42. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述粘附工具包括选自热塑性树脂、压力敏感粘合剂、水胶体粘合剂和橡胶组成的组的材料。

43. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述敷料器的所述至少一个孔包括多个孔，其中所述多个引入导管的每一个和至少一个引出导管延伸通过所述多个孔的相应的每一个孔。

44. 根据权利要求 37 所述的装置，其中每个所述多个引入导管相对所述屏蔽罩单元的位置和角度是可调节的。

45. 根据权利要求 37 所述的装置，其中每个所述多个引入导管有一近端和一远端，所述远端构造成面对所述皮肤创伤，以及其中所述远端顺滑地弯曲成不造成外伤的顶端。

46. 根据权利要求 45 所述的装置，其中所述至少一个引入导管的所述远端的开口相对所述引入导管的中轴成一个角度。

47. 根据权利要求 37 所述的装置，其中每个所述多个引入导管沿其纵轴是可伸长的或可缩短的。

48. 根据权利要求 37 所述的装置，其进一步包括与每个所述引入导管连通的可调节的螺钉机构，因此将每个引入导管沿其纵轴伸长或缩短。

49. 根据权利要求 37 所述的装置，其进一步包括至少一个贮器，所述贮器与所述多个引入导管流体连通，所述至少一个贮器适于储藏流体。

50. 根据权利要求 49 所述的装置，其中所述至少一个贮器适于储藏

治疗溶液，所述治疗溶液包括有效量的至少一种催化活性蛋白酶。

51. 根据权利要求 50 所述的装置，其中所述至少一种催化活性蛋白酶选自木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、纤维蛋白溶酶原活化因子、纤维蛋白溶酶、肥大细胞蛋白酶、溶酶体水解酶、链激酶、胃蛋白酶、弧菌溶血素、磷虾蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、胶原蛋白酶、弹性蛋白酶、分散酶、蛋白酶 K、梭状芽孢杆菌多功能蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶组成的组。

52. 根据权利要求 49 所述的装置，其进一步包括接头，所述接头与所述多个引入导管的至少一个引入导管以及所述至少一个贮器流体连通，因此打开和关闭所述至少一个引入导管和所述至少一个贮器之间的流体连通。

53. 根据权利要求 52 所述的装置，其中所述接头包括至少一个选自路厄氏锁和阀工具组成的组的元件。

54. 根据权利要求 49 所述的装置，其进一步包括分离器，所述分离器与所述多个引入导管的至少一个引入导管以及所述至少一个贮器流体连通，因此从所述至少一个贮器可逆地断开和重连接所述至少一个引入导管。

55. 根据权利要求 49 所述的装置，其进一步包括控制仪，所述控制仪与所述多个引入导管的至少一个引入导管和所述至少一个贮器流体连通，因此控制流体从所述至少一个贮器经过所述至少一个引入导管的流速。

56. 根据权利要求 55 所述的装置，其中所述控制仪选自蠕动泵和滴注计数器组成的组。

57. 根据权利要求 49 所述的装置，其进一步包括温度调节仪，所述温度调节仪与所述至少一个贮器连通，因此影响所述至少一个贮器内所保持的流体的温度。

58. 根据权利要求 49 所述的装置，其进一步包括至少一个过滤器，其位于所述多个引入导管的至少一个引入导管内，以过滤流经所述至少一个引入导管的流体。

59. 根据权利要求 37 所述的装置，其进一步包括收集贮器，所述收集贮器与所述至少一个引出导管流体连通，并构造成收集从所述至少一个引出导管排出的流体。

60. 根据权利要求 37 所述的装置，其进一步包括多个贮器，其中所述多个贮器的第一贮器适于储藏第一溶液，所述第一溶液包括至少一种催化非活性蛋白酶，且其中所述多个贮器的第二贮器适于储藏第二溶液，所述第二溶液包括能活化所述至少一种催化非活性蛋白酶的试剂，所述第一贮器和所述第二贮器相互流体连通，并且所述第一贮器和所述第二贮器中的至少一个进一步与所述多个引入导管的至少一个引入导管流体连通。

61. 根据权利要求 60 所述的装置，其进一步包括混合腔，所述混合腔与所述第一贮器和所述第二贮器以及所述至少一个引入导管流体连通，因此储藏包括所述第一和第二溶液的催化活性蛋白水解混合物。

62. 根据权利要求 61 所述的装置，其中所述混合腔进一步包括混合工具。

63. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述至少一个引出导管构造成通过其相应的孔是可调节的。

64. 根据权利要求 37 所述的装置，其进一步包括橡皮膏，所述橡皮膏与所述屏蔽罩连通并延伸出所述屏蔽罩的第一纵轴，所述橡皮膏有面对所述敷料器的顶面和面对创伤的底面，其中所述底面包括粘附工具。

65. 根据权利要求 64 所述的装置，其中所述粘附工具是生物相容的。

66. 根据权利要求 64 所述的装置，其中所述橡皮膏的所述底面由保护性的可拆卸的膜覆盖。

67. 根据权利要求 37 所述的装置，其中所述多个引入导管的至少一个包括一可弯曲的线，所述可弯曲的线沿所述至少一个引入导管的第一纵轴伸展并操作地连接于其上。

68. 根据权利要求 67 所述的装置，其中所述可弯曲的线延伸不超过所述至少一个引入导管的所述远端。

69. 根据权利要求 67 所述的装置，其中所述可弯曲的线包括柔韧的

和有弹性的刚性材料。

70. 根据权利要求 67 所述的装置, 其中所述可弯曲的线包括选自银、铂、不锈钢和聚合物组成的组的材料。

71. 根据权利要求 67 所述的装置, 其中所述至少一个引入导管包括纵向管腔, 所述纵向管腔构造成储藏所述可弯曲的线。

72. 一种治疗皮肤创伤的方法, 所述方法包括:

(a) 提供敷料器, 所述敷料器包括有至少一个孔形成于其中的屏蔽罩单元, 以及固定所述敷料器于皮肤创伤周围皮肤的工具, 其中所述屏蔽罩单元包括:

(i) 多个引入导管, 每个所述多个引入导管有第一纵轴, 并且构造成沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的;

(ii) 至少一个引出导管, 其具有第二纵轴;

(b) 将所述工具放置于所述皮肤创伤周围皮肤上, 于是固定所述装置于所述皮肤创伤周围皮肤以获得封塞的创伤;

(c) 通过流体连通连接所述多个引入导管于至少一个贮器, 其中所述至少一个贮器包括清创溶液, 所述清创溶液包括至少一种催化活性蛋白酶;

(d) 起始清创溶液流, 从所述至少一个贮器通过所述多个引入导管的至少一个引入导管到封塞的创伤; 以及

(e) 从所述封塞的创伤通过所述至少一个引出导管排出所述溶液。

73. 根据权利要求 72 所述的方法, 其进一步包括:

(a) 提供包括敷料器的装置, 所述敷料器包括有至少一个孔形成于其中的屏蔽罩单元, 以及固定所述敷料器的工具, 其中所述屏蔽罩单元包括:

(i) 多个引入导管, 每个所述多个引入导管有第一纵轴, 并且构造成沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的; 和

(ii) 至少一个引出导管, 其具有第二纵轴;

(b) 提供封塞皮肤创伤的间隔物, 所述间隔物有面对皮肤的底面, 和面对所述敷料器屏蔽罩的顶面, 其中所述底面包括固定所述间隔物于所述皮

肤创伤周围皮肤的粘附工具;

(c)固定所述间隔物的所述底面于所述皮肤创伤周围皮肤;

(d)固定所述敷料器于所述间隔物的所述顶面,由此获得封塞的创伤;

(e)通过流体连通连接所述多个引入导管于至少一个贮器,其中所述至少一个贮器包括清创溶液,所述清创溶液包括至少一种催化活性蛋白酶;

(f)起始清创溶液流,从所述至少一个贮器通过所述多个引入导管的至少一个引入导管到封塞的创伤;以及

(g)从所述封塞的创伤通过所述至少一个引出导管排出所述溶液。

74. 根据权利要求 73 所述的方法,其中步骤(c)进一步包括将加封介质分散于接触封塞的创伤周围的所述间隔物的周边。

75. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其进一步包括调节每个所述多个引入导管相对所述屏蔽罩单元的位置和角度。

76. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其中通过流体连通连接所述多个引入导管到所述至少一个贮器,在封塞的创伤周围提供不能渗透液体的加封。

77. 根据权利要求 75 所述的方法,其中所述的在封塞的创伤周围不能渗透液体的加封是真空封闭的。

78. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其进一步包括提供控制仪,所述控制仪与所述多个引入导管的至少一个引入导管和所述至少一个贮器流体连通,因此起始流体从所述至少一个贮器经过所述至少一个引入导管的受控制的流。

79. 根据权利要求 78 所述的方法,其中所述的流具有在 1ml/小时到 10ml/小时范围内的流速。

80. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其进一步包括放置所述至少一个贮器于高于创伤水平的位置,从而通过重力起始清创溶液流,从所述至少一个贮器经过所述多个引入导管至创伤。

81. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其进一步包括提供多个

控制仪,每个控制仪与所述多个引入导管的相应的引入导管和所述至少一个贮器流体连通,因此通过单独的控制仪独立地控制每个引入导管内的流速。

82. 根据权利要求 81 所述的方法,其中每个引入导管内的所述流速在 1 ml/小时到 10 ml/小时范围内。

83. 根据权利要求 72 至 73 任一所述的方法,其进一步包括提供至少一个元件,所述元件与所述至少一个贮器和所述多个引入导管的至少一个引入导管流体连通,所述元件选自以下组成的组:适于控制从所述至少一个贮器到所述至少一个引入导管的流速的控制仪;适于打开和关闭所述至少一个贮器和所述至少一个引入导管之间的流体连通的接头;用于过滤在所述至少一个引入导管内流动的溶液的过滤器;用于混合所述至少一个贮器内的溶液的混合工具;用于影响所述至少一个贮器内溶液温度的温度调节仪;用于影响所述至少一个引入导管内流动溶液的温度的温度调节仪;与所述多个引入导管的至少一个引入导管以及所述至少一个贮器流体连通的分离器,由此从所述至少一个贮器可逆地断开和重连接所述至少一个引入导管;与所述至少一个引出导管流体连通的真空源,适于在封塞的皮肤创伤产生负压;与所述至少一个引出导管流体连通的收集贮器,从而构造成收集从所述至少一个引出导管的近端排出的流体。

对皮肤创伤的酶清创术的装置和方法

技术领域

本发明涉及在皮肤创伤中失活组织清创术的装置和方法，所述装置包括多个高度和角度可调节的引入导管、至少一个引出导管、以及围绕皮肤创伤形成堵塞的缝合的工具。

背景技术

急性和慢性的疾病，例如糖尿病和牛皮癣、或急性损伤引起皮肤严重的损伤。这样的损伤可涉及皮肤整个的厚度，并且可经常包括更深层的组织，在其中整个损伤带的损伤深度是不同的。损伤的皮肤失去健康皮肤的解剖结构，因为角质层至少部分被破坏，并且紧接着皮肤的内层不再从外界环境受到保护。而且，受损的皮肤典型地包括死痂、病的和/或不正常的细胞，它们必须被移去以使痊愈。死痂留在原地，会扩展和深化损伤到邻近的未损伤的组织。死痂也能作为细菌生长的培养基，和感染源、污染源、和可致命的败血病源。

移去死痂、病的和/或不正常的细胞，也叫作"清创术"，是通过手术方法或者酶的方法施行。手术是清创术最普通的方法，在其中小的坏死面积被从整个损伤皮肤切除。此方法限于小的非正切表面。它也包括移去大块的正常组织，后者如果被保留，可用作天然痊愈过程的一个来源。手术过程也是长的、贵的和需要复杂的医学资源。

美国专利 No.3,910,266 描述一种方法和装置，它们提供承压流体的喷射，用于穿透皮肤并插入美容剂或治疗剂于皮肤。美国专利 No.5,697,920 描述使用承压流体的喷射和刷子的机械清创术方法。美国专利 No.5,941,859; 5,989,211 和 6,264,666 描述用于提供和移去皮肤的漂洗液体的医学设备。手持的手术装置，适于通过使用承压流体喷射，基本用作锋利的手术工具以移去病组织，描述于美国专利 No.5,037,431。美国专利

No.5,358,494 描述冲洗敷料，冲洗敷料包括提供冲洗液的管道和附于管道顶的衬垫，其中衬垫适于填充创伤腔，由此支持创伤壁。但是以上专利描述的方法和装置不适于提供封闭的系统，以封塞特定的治疗区域。而且，这些方法和装置不能提供包围创伤和能在其中抗累积压力的封闭的环境。

美国专利 No.4,969,881 描述高压氧敷料，适于用氧气流治疗身体酸痛，通过使用气体给气系统，经过合适的供应管敷料提供氧气。此发明所述敷料不适于从创伤区引流分泌物或过多的治疗材料和/或提供给创伤区一个治疗液的流。

美国专利申请出版 No.2003/0050594 描述一种创伤治疗体系，适合治疗有不同机械力量梯度的创伤，特别是真空，系统有传导装置、收集装置和建立所述梯度的源头，特别是一个泵，连于传导装置。美国专利申请出版 No.2003/0225441 描述一个装置，适于供应热疗液到病人的所选的面积，装置包括敷料器以维持液体在期望的温度，敷料器通过一个连接于其上的泵产生的负压吸附所选的面积。

美国专利 No.6,135,116 为创伤治疗描述了一个方法，包括提供肺压缩治疗和同时协助封闭治疗的真空。美国专利 No.6,767,334 描述一个创伤治疗装置，适于提供正压给创伤点，装置包括衬垫以插入创伤，泵和液体管道，以输导液体通过衬垫到达创伤，文式管流动连通以创造在衬垫和创伤腔的吸收，和贮器以收集从创伤排出的液体。

美国专利 No.1,385,346; 6,398,767; 6,458,109 和 EP1014905 描述固定于皮肤表面创伤周围的敷料。每种敷料包括相对于创伤表面的固定位置的单个输液管和单个引流管。国际专利申请出版 No.WO 03/01136 指定给本发明的共同受让人，描述了从活组织移去细胞的装置。装置包括引入导管，适于在组织上加入酶溶液流，和引出导管，适于移去多余的液体和残骸。引出导管的出口和皮肤之间的距离可通过螺钉机构调节。上述发明描述的每个敷料和装置包括单个输液管（引入导管），有对着创伤的固定位置。因此，这些敷料和装置不适于深层地穿透进创伤，不适于对不易于接触的区域输入。

一篇由本发明的发明人写的文章，发表在本申请的优先权日之后，描

述应用活性蛋白水解酶流几个小时以提供有效的清创术(Freeman 等人, *wound* 16: 201-205, June 2004)。没有酶的缓冲液流是无效的。而且,用静止的酶溶液治疗相似的时间阶段没有效果,并且没有可见的变化。

酶清创术优于机械和手术清创术,主要因为它少疼痛,以及不包括流失大量的血。应用蛋白水解酶于清创术是本领域的已知技术(G. Rodeheaver, 1975, *Am. J. Surg.* 129 (5): 537-544)。这些酶包括通常源于植物的,例如木瓜(木瓜蛋白酶),无花果(无花果蛋白酶)和菠萝(菠萝蛋白酶)。源于菠萝植株的水解酶,用在从哺乳动物宿主的活组织消化、切割和分离非活性的组织,特别是痂组织,描述于美国专利 No.4,197,291; 4,226,854; 4,307,081; 4,329,430 和 5,830,739 及其它中。美国专利 No.6,017,531 描述了一种蛋白水解组合物,包括溶蛋白弧菌(*Vibrio proteolyticus*)产生的细胞外中性蛋白酶。

从局部应用蛋白水解酶得到的治疗活性的程度,除了其它以外,取决于那些酶的内在催化特征。局部应用包括蛋白水解酶的组合物相关的主要问题是酶的催化活性由于创伤区局部的低 pH 而迅速减弱,因此,酶分子在创床表面和/或敷料表面的吸收阻止它们进入创床的其它区域并且创伤渗出物中部分成分对酶活性有抑制(作用)。相应地,获得稳定的酶制剂经常是复杂的。

发明概要

本发明涉及皮肤创伤失活组织的清创术的装置和方法。本发明的装置克服了背景技术的缺点,通过提供治疗溶液恒流进入皮肤创伤的创床,由多个可调的引入导管。在本发明的一个实施方式中,治疗溶液可包括催化活性蛋白水解酶。

可以理解,这里所用的术语"皮肤创伤"和"创伤"是根据其最广的含义解释的,以描述包括失活组织的受损皮肤,包括但不限于,慢性皮肤溃疡(例如,糖尿病性溃疡和褥疮)和烧伤。皮肤创伤可扩散到整个或部分的皮肤层并且可进一步扩散到下面的肌肉和组织。

本发明的方法和装置提供有效的失活组织的清创术,无需任何手术介

入。本发明的装置优于本领域已知的其它非手术的清创术装置，因为它构成连续地供应治疗溶液，特别是包括催化活性清创酶的溶液，到任何期望的深度和以任何的角度。因此，本发明适于治疗多种创伤，包括深层皮肤创伤例如 II 期和 III 期的创伤。装置可进一步适于在创伤处产生和维持正压或负压，如上面的描述，已知是增进痊愈的。因此，本发明的装置可适于包括酶的清创术和负/正压的结合疗法。

在本发明的一个实施方式中，提供治疗皮肤创伤的敷料器，所述敷料器包括：

(a)屏蔽罩单元，其具有至少一个形成于其中的孔，和

(b)工具，以固定所述敷料器于皮肤创伤周围的皮肤；

其中所述屏蔽罩单元包括：

(i)多个引入导管，每个所述多个引入导管具有第一纵轴，并且构造成通过所述至少一个孔沿着其纵轴可调；并且

(ii)至少一个引出导管，其具有第二纵轴。

根据一个实施方式，屏蔽罩单元包括多个孔，其中每个所述多个引入导管和至少一个引出导管伸展通过所述的多个孔中的每一个相应的孔。

根据另一个实施方式，所述至少一个引出导管构造成通过相应的孔是可调节的。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括多个加封单元，每个加封单元构造成防止每个引入导管的外径和其相应孔之间的流体的通过。根据另一个实施方式，装置进一步包括至少一个加封单元，加封单元构造成防止至少一个引出导管的外径和其相应孔之间的流体的通过。

根据另一个实施方式，每个所述多个引入导管有一个近端和一个远端，所述远端构造成面对所述皮肤创伤。根据另一个实施方式，每个所述多个引入导管相对于屏蔽罩单元的位置和角度是可调的。根据另一个实施方式，每个所述多个引入导管的远端平滑地弯曲，以形成不造成外伤的顶端。根据另一个实施方式，至少一个引入导管的远端的开口是相对于引入导管的中心轴成角度的。根据另一个实施方式，远端包括多个开口。

根据一个优选的实施方式，每个引入导管是透明的。根据另一个优选的实施方式，每个引入导管是由柔性的弹性体构成的。根据另一个实施方式，柔性的弹性体包括一种物质，并选自：聚硅氧烷、聚氨基甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯组成的组。

根据另一个实施方式，每个引入导管沿其纵轴是可伸长的或可缩短的。根据另一个实施方式，敷料器进一步包括可调节的螺钉机构，其与每个所述引入导管连通，因此将每个引入导管沿其纵轴伸长或缩短。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括至少一个贮器，其与多个引入导管流体连通。根据另一个实施方式，至少一个贮器适于保存治疗溶液。根据另一个实施方式，至少一个贮器是由选自塑料、玻璃、钢和陶瓷组成的组的物质制成的。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括接头，其与至少一个引入导管和至少一个贮器流体连通，接头适于打开或关闭至少一个引入导管和所述至少一个贮器之间的流体连通。根据另一个实施方式，接头包括至少一个元件，选自路厄氏锁和阀门工具组成的组。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括分离器，其与至少一个引入导管和至少一个贮器流体连通，分离器适于从所述至少一个贮器可逆地断开和重连接至少一个引入导管。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括控制仪，其与至少一个引入导管和至少一个贮器流体连通，控制仪适于控制流体从至少一个贮器到至少一个引入导管的流速。根据另一个实施方式，控制仪选自蠕动泵和滴注计数器组成的组。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括温度调节仪，其与至少一个贮器连通，因此影响所述至少一个贮器内流体的温度。根据另一个实施方式，敷料器进一步包括温度调节仪，其与所述多个引入导管的至少一个引入导管连通，因此影响流经所述至少一个引入导管的流体的温度。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括至少一个过滤器，其安装于所述多个引入导管的至少一个引入导管内，以过滤至少一个引入导管的流

体。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括收集贮器，其与至少一个引出导管流体连通，并且构造成收集从所述至少一个引出导管排出的流体。

根据另一个可选择的实施方式，敷料器进一步包括多个贮器，其中所述多个贮器的第一贮器适于储藏包括至少一种催化非活性蛋白酶的第一溶液，以及在所述多个贮器中的第二贮器适于储藏包括能活化所述至少一种催化非活性蛋白酶的试剂的第二溶液，第一贮器和第二贮器相互流体连通，以及所述第一和第二贮器中的至少一个进一步与所述多个引入导管的至少一个引入导管流体连通。根据一个可选择的实施方式，敷料器进一步包括混合腔，其与所述第一个和第二个贮器以及所述至少一个引入导管流体连通，其中混合腔适于储藏催化活性蛋白水解混合物，包括所述的第一和第二溶液。根据另一个实施方式，混合腔进一步包括混合工具。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括真空源，其与至少一个引出导管流体连通，因此在封塞的皮肤创伤产生负压。

根据一个优选的实施方式，治疗溶液包括有效剂量的至少一种催化活性蛋白酶。根据另一个实施方式，至少一种催化活性蛋白酶。根据另一个实施方式，至少一种催化活性蛋白酶选自木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、纤维蛋白溶酶原活化因子、纤维蛋白溶酶、肥大细胞蛋白酶、溶酶体水解酶、链激酶、胃蛋白酶、弧菌溶血素、磷虾蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、胶原蛋白酶、弹性蛋白酶、分散酶（dipase）、蛋白酶 K、梭状芽孢杆菌多功能蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶组成的组。

根据另一个实施方式，固定敷料器到皮肤的工具有包括附于屏蔽罩的第一平面，以及构造成包围和粘附创伤的第二平面。根据另一个实施方式，粘附工具是透明的。根据另一个实施方式，粘附工具是生物相容的。根据另一个实施方式，第二平面由保护性的可拆卸的膜覆盖。

根据另一个实施方式，所述多个引入导管其中至少一个包括操作地连接其上的可弯曲的线，并沿所述至少一个引入导管的第一纵轴伸展。根据一个优选的实施方式，所述可弯曲的线的延伸不超过所述至少一个引入导管的远端。根据另一个实施方式，可弯曲的线包括可弯曲和有弹性的刚性

材料。根据另一个实施方式，可弯曲的线包括一种选自银、铂、不锈钢和聚合物组成的组的物质。根据另一个实施方式，所述至少一个引入导管包括储藏流体的第一纵向管腔和构造成储藏可弯曲的线的第二纵向管腔。

本发明的另一个实施方式中，提供治疗皮肤创伤的一种装置，所述装置包括：

(a)间隔物，以封闭包括皮肤创伤的区域，所述间隔物有面对皮肤的底面，和面对屏蔽罩的顶面，其中底面包括固定间隔物于所述皮肤创伤周围皮肤的粘附工具；和

(b)敷料器，包括屏蔽罩单元，所述屏蔽罩单元包括：

(i)多个引入导管，每个所述多个引入导管有第一纵轴，并且构造成沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的；

(ii)至少一个引出导管，其具有第二纵轴；以及

(iii)工具，以固定敷料器于间隔物的顶面。

根据一个实施方式，间隔物包括弹性体。根据另一个实施方式，弹性体是泡沫样材料。根据另一个实施方式，间隔物包括一种选自聚硅氧烷、聚硅氧烷泡沫、聚氨酯甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯泡沫组成的组的材料。根据另一个实施方式，固定间隔物于皮肤的粘附工具包括一种选自热塑性的树脂、压力敏感的粘合剂、水胶体粘合剂和橡胶组成的组的材料。根据另一个实施方式，间隔物的底面覆盖保护性可拆卸的膜。

根据另一个实施方式，间隔物有预定的闭合形状。根据另一个实施方式，间隔物有连续延伸的形状并原位形成闭合的形状。

在本发明的另一个实施方式中，提供治疗皮肤创伤的一种方法，所述方法包括：

(a)提供敷料器，所述敷料器包括其中至少有一个孔形成的屏蔽罩单元，以及固定敷料器于皮肤创伤周围皮肤的工具，其中所述屏蔽罩单元包括：

(i)多个引入导管，每个所述多个引入导管有第一纵轴，并且构造成

沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的；

(ii)至少一个引出导管，其具有第二纵轴；

(b)将所述工具放置于所述皮肤创伤周围皮肤上，于是固定装置于所述皮肤创伤周围皮肤以获得封塞的创伤；

(c)通过流体连通连接多个引入导管于至少一个贮器，其中至少一个贮器包括清创溶液，清创溶液包括至少一种催化活性蛋白酶；

(d)起始清创溶液的流，从至少一个贮器通过多个引入导管的至少一个引入导管到封塞的创伤；以及

(e)从所述封塞的创伤通过至少一个引出导管引流所述溶液。

根据一个实施方式，方法进一步包括调节每个所述多个引入导管相对于所述屏蔽罩的位置和角度。

根据一个可选择的实施方式，方法包括：

(a)提供包括敷料器的装置，所述敷料器包括有至少一个孔形成于其中的屏蔽罩单元，以及固定敷料器的工具，其中所述屏蔽罩单元包括：

(i)多个引入导管，每个所述多个引入导管有第一纵轴，并且构造成沿其纵轴通过所述至少一个孔是可调节的；

(ii)至少一个引出导管，其具有第二纵轴；

(b)提供封塞皮肤创伤的间隔物，所述间隔物有面对皮肤的底面，和面对所述敷料器屏蔽罩的顶面，其中底面包括固定间隔物于皮肤创伤周围皮肤的粘附工具；

(c)固定间隔物的底面于皮肤创伤周围皮肤；

(f)固定敷料器于间隔物的顶面，由此获得封塞的创伤；

(g)通过流体连通连接多个引入导管于至少一个贮器，其中至少一个贮器包括清创溶液，清创溶液包括至少一种催化活性蛋白酶；

(h)起始清创溶液的流，从至少一个贮器通过多个引入导管的至少一个引入导管到封塞的创伤；以及

(i)从所述封塞的创伤通过至少一个引出导管引流所述溶液。

根据另一个实施方式,步骤(c)进一步包括将封闭介质分散于封塞的创伤的周围,那里接触间隔物的边缘但不被其覆盖。

根据一个实施方式,通过流体连通连接多个引入导管到至少一个贮器,在封塞的创伤周围提供不能渗透液体的封闭。根据另一个实施方式,方法进一步包括连接至少一个引出导管于收集贮器,所述收集贮器构造成储藏从所述至少一个引出导管排出的流体。根据另一个实施方式,连接至少一个引出导管于收集贮器,在封塞的创伤周围提供不能渗透气体的封闭。根据另一个实施方式,不能渗透气体的封闭是真空封闭的。

根据另一个实施方式,方法进一步包括提供控制仪,所述控制仪与所述多个引入导管的至少一个引入导管以及至少一个贮器流体连通,因此起始受控制的流体的流,从至少一个贮器流过至少一个引入导管。根据另一个实施方式,控制仪选自蠕动泵和滴注计数器组成的组。

根据一个可选择的实施方式,方法进一步包括放置至少一个贮器于高出创伤的位置,因此通过重力起始从至少一个贮器经过多个引入导管到达创伤的清创液流。根据另一个可选择的实施方式,方法进一步包括提供多个控制仪,每个控制仪与多个引入导管的相应的引入导管以及至少一个贮器流体连通,因此通过单独的控制仪独立地控制每个引入导管的流速。根据另一个实施方式,控制仪是夹子或滴注腔。

根据一个可选择的实施方式,方法进一步包括放置至少一个贮器和收集贮器在相对于封塞的创伤和相对于彼此的预定的位置,由此产生在封塞的创伤的压力。根据另一个实施方式,方法进一步包括在封塞的创伤产生负压。

根据另一个实施方式,溶液从至少一个贮器经过多个引入导管的流速在 1 ml/hour 到 10 ml/hour 范围内。根据另一个实施方式,溶液从至少一个贮器经过多个引入导管的流动持续 30 分钟到 6 小时。

根据另一个实施方式,方法进一步包括提供至少一个元件,所述元件与至少一个贮器以及多个引入导管的至少一个引入导管流体连通,所述元件选自以下组成的组:控制仪,适于控制从至少一个贮器到至少一个引入导管的流速;分离器,其与多个引入导管的至少一个引入导管以及至少一

个贮器流体连通,因此从所述至少一个贮器可逆地断开和重连接所述至少一个引入导管;接头,适于打开和关闭至少一个贮器和至少一个引入导管之间的流体连通;过滤器,为过滤至少一个引入导管内的溶液流;混合仪,为混合至少一个贮器内的溶液;温度调节仪,为影响至少一个贮器内溶液的温度;真空源,其与至少一个引出导管流体连通,适于在封塞的皮肤创伤产生负压;和收集贮器,其与至少一个引出导管流体连通,构造成接收从至少一个引出导管的近端排出的流体。

本发明的其它目标、特点和优点将由以下描述和图示而变得清楚。

附图说明

图 1A 和 1B 是装置等距和侧面的图示,依据本发明的一个实施方式构建和操作;

图 2 是使用图 1A 和 1B 的装置分散(或冲流)和收集治疗溶液的体系的图示;

图 3 是依据本发明的一个实施方式的装置的横截面观;

图 4 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 5 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 6 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 7 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 8 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 9 是依据本发明的另一个实施方式的装置的横截面观;

图 10 是依据本发明的蛋白酶溶液敷料器和接通机构的放大的横截面观;

图 11 是根据本发明的蛋白酶溶液敷料器的放大的底面(面对皮肤的表面)观,所述蛋白酶溶液敷料器包括蛋白酶溶液引入导管口和引出导管口;

图 12 是本发明装置包括的,代表特定优选实施方式的敷料器的横截面观,可用于本发明在皮肤上的应用;

图 13 展示试验装备,同时在 6 只小鼠的治疗面积上(A)以及在同一个

动物的6个单独的面积上(B)冲流酶溶液;

图14显示治疗的小鼠皮肤组织切片,用没有蛋白水解酶的液体(A)和有包括木瓜蛋白酶(B)、胰蛋白酶和菠萝蛋白酶(C)、胰蛋白酶(D)以及胃蛋白酶(E)的液体,冲流3小时;

图15显示创伤的皮肤切片,在用包括胰蛋白酶和胶原蛋白酶的溶液冲流之前(A)和之后(B);

图16展示皮肤的烧伤切片,在用包括胶原蛋白酶和嗜热菌蛋白酶的溶液冲流之前(A)和之后(B);

图17显示皮肤的烧伤切片,在用包括木瓜蛋白酶的溶液冲流之前(A)和之后(B)。

发明内容

界定

术语"皮肤创伤"和"创伤"是可以在此互换使用的,以描述包括失活组织的受损组织,包括但不限于,慢性皮肤溃疡(例如,糖尿病性溃疡和褥疮)和烧伤。皮肤创伤可扩散到整个或部分的皮肤层并且可进一步扩散到下面的肌肉和组织。

"X期"通常用于分类皮肤创伤。创伤类型根据创伤的严重程度分期。分期系统应用于烧伤创伤、褥疮和其它几类溃疡和创伤。I期为表面创伤,特征在于皮肤的表面变红。皮肤没有破。这样的创伤可能是,除了其它以外,开始的褥疮和同时趋于痊愈,当压力在此面积释放时。II期特征在于破或不破的水疱,其中至少皮肤的部分层是受损的。II期褥疮或压力创伤可发展进入III期褥疮或压力创伤。III期创伤扩散到皮肤的所有层,并可能包括严重感染。IV期创伤扩散到整个皮肤并包括下层肌肉、腱和骨骼。这种类型的创伤如不积极治疗能产生威胁生命的感染。V期是晚期创伤分类,指非常深的,已进入肌肉层并包括下层器官和骨骼的。在某些情况截肢手术可能是必须的。

术语"失活组织"用于此指坏死组织或痂,来自皮肤溃疡或烧伤,它们由于血、化脓的渗出物、以及通常存在于表皮和真皮皮肤层的变性的蛋白

的复合混合物组成。变性的蛋白主要是胶原、弹力蛋白、纤维蛋白、血红蛋白和其它凝固蛋白。胶原占皮肤干重的大约 75% 并且是坏死残骸和痂的主要组成。半活力的、缺乏抵抗力的胶原的带，其保护性粘多糖鞘已受损或被破坏，锚定坏死组织于创伤表面。必须全部清除这些带，以便从基质分离坏死材料。这样彻底的清创术之后允许肉芽组织在痊愈过程中发育。

术语"清创术"用于此指从创伤移去非活性组织的方法，以防止感染和促进痊愈，因为创伤的痊愈是复杂的过程，它经常由于创床中非活性、坏死的组织的存在而进一步复杂化。

术语"创床准备"用于此解释为它最广泛的含义，并且指创伤的总体处理以加速内源痊愈或促进治疗药征的效果。急性创伤的创床准备包括清创术和移去坏死组织和细菌。慢性创伤中，创床准备更复杂，因为多数坏死物质不能易于接触到，因此创床准备进一步包括移去渗出物。

实现本发明的优选模式

本发明涉及治疗皮肤的一种装置和方法。该装置提供治疗溶液进入皮肤创伤的创床的恒流，通过多个可调的引入导管。多个引入导管相对于皮肤创伤的位置和角度是可调节的，由此对任何期望的深度和以任意角度连续地提供治疗溶液。

本发明一般应用于从皮肤创伤控制地移去或恢复细胞，包括但不限于，压力溃疡和慢性开放创伤例如褥疮和糖尿病性溃疡。慢性创伤创床的准备需要有效的坏死物质的酶清创和连续地移去渗出物(Falanga, Wounds, 14: 45-57, 2002)。慢性创伤中的坏死物质不易接触。而且，慢性创伤可能产生大量的渗出物，它们抑制重要固有细胞的增殖和功能，并且包含降解细胞外基质蛋白的蛋白酶。因此，本发明特别适于治疗慢性皮肤创伤，因为它对创伤内和表面失活组织提供特别有效的酶清创术，同时连续移去渗出物、残骸和从创伤排出的治疗溶液。本发明的装置适于以任何的角度和深度冲流清创酶溶液，以传输酶溶液进入不易接触的区域。

可以明白本发明不限于应用于以下的描述或图示关于构建和布置组

成部分的细节。本发明能是其它实施方式，或以不同方式实践或执行。并且，可以明白用于此的词汇和术语是为了描述的目的而不应当作限制。

参考图 1A、1B 和 2，它们图示敷料器，通常命名为 200，根据本发明的实施方式构建和操作，以提供治疗溶液恒流进入皮肤创伤的创床。

图 1A 和 1B 是敷料器 200 的等距的图示和侧面观。图 2 是使用图 1 的敷料器 200 分散（或冲流）和收集治疗溶液的体系的图示。

敷料器 200 包括屏蔽罩单元 202，屏蔽罩单元构造成储藏多个引入导管 204 和至少一个引出导管 206。屏蔽罩单元 202 可进一步包括多个引流开口 205，其与至少一个引出导管 206 流体连通。因此，聚集在封塞的创伤和屏蔽罩单元中的流体，可由引流开口 205 收集并导入引出导管 206。敷料器 200 进一步包括工具 208 以固定敷料器 200 于皮肤创伤（例如溃疡）周围的皮肤。工具 208 可连接于屏蔽罩 202，或在固定敷料器于皮肤创伤周围皮肤时临时地附于屏蔽罩。

敷料器 200 可连接于贮器 210，贮器可储存治疗溶液。治疗溶液可通过引入口 212 给药，并且可通过至少一个引出口 214 收集进入小室或废物收集器 216，例如，如以下会进一步描述的。而且，多个引入导管和至少一个引出导管能构造成多种布置以适应不同位置的不同创伤。例如，多个引入导管 204 可被连接于单个贮器 210 以及反之亦然。

屏蔽罩 202 可能包括合适的形状和结构，以固定包括引入导管 204 和引出导管 206 的多个导管。图 1A 和 1B 中描述的作为例子的实施方式中，屏蔽罩 212 包括圆锥形的形状，在邻近创床处有更宽的直径。屏蔽罩 212 包括多个孔 220，每个孔构造成与它相应的引入和/或引出导管的直径匹配。本领域有经验的技术人员可以理解单个孔可用于固定多个引入和/或引出导管。

每个多个引入导管 204 可构造成相对屏蔽罩单元 202 的位置和角度是可调节的，由此允许治疗溶液给药到特定的创床部位。因此，引入导管能够深层地穿进创伤并适于输入一般不易接触的区域。

引入导管 204 的远端 222 可构造成面对皮肤创伤，并且远端 222 可顺

滑地弯曲成不造成外伤的顶端。而且，引入导管 204 的远端 222 的开口 224 可在引入导管 204 内的任何部分形成，例如其末端或沿导管的长度，如图 1A 的例子所示。

引入导管 204 可由任何合适的材料制成，例如可弯曲的弹性体，包括例如聚硅氧烷、聚氨酯甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯。每个引入导管可以是无色的和透明的以使操作者观察到输导到创床的流体的质量和稳定性。

本发明的一个实施方式中，引入导管 204 可构造成沿其纵轴可伸长的或可缩短的，如本领域已知的。例如，可调节的螺钉机构可能适于每个引入导管，因此将每个引入导管沿其纵轴伸长或缩短。

类似地，引出导管可构造成沿其纵轴可伸长的或可缩短的，如本领域已知的。

优选地，每个引入和引出导管应该安装合适的加封单元，例如“O”环，以防止导管外径和它相应的孔之间流体的流动。

固定工具 208 可包括本领域已知的任何合适的粘附工具，以粘附敷料器 200 于治疗的皮肤。固定工具 208 可包括第一平面 208a，它合适粘附于屏蔽罩 202，和第二平面 208b 构造为以粘附于皮肤。优选地，固定工具 208 的尺寸大于治疗的创床，以保证给药于创床的流体保持在创床内。工具 208 可由柔性的材料制成，例如粘性膜，能符合创伤部位的解剖学。在一些实施方式，第一平面 208a 也包括粘合剂。

粘附工具可以是生物相容的，并且固定工具 208 的底面可由保护性的可拆卸的膜覆盖，并在敷料器 200 粘附创床周围皮肤之前移去。

本发明的一个实施方式中，每个引入导管 204 可包括合适的可弯曲的线 226，它沿引入导管 204 的纵轴伸展，并适于连接其上。可弯曲的线能维持在治疗过程中引入导管 204 的角度和形状。可弯曲的线 226 可构造成不超过引入导管 204 的远端(靠近创床)。可弯曲的线可由柔韧的和有弹性的刚性材料形成，例如银、铂、不锈钢和聚合物。

引入导管 204 可包括纵向第一腔，独立于所述导管的主要腔，构造成

储藏可弯曲的线 226 在其中。

敷料器可包括控制仪，控制仪与至少一个引入导管和至少一个贮器流体连通，控制仪适于控制从至少一个贮器到至少一个引入导管的流体流速。控制仪可以选自蠕动泵和滴注计数器组成的组。控制仪确定的流速是用新鲜催化活性酶溶液代替封塞的创伤点的酶溶液所需的任何速率。流速可在 1 ml/小时到 10 ml/小时范围以内。更慢或更快的流速范围也包括在本发明的范围内，只要速率适于提供皮肤创伤失活组织有效的清创术。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括真空源，其与至少一个引出导管流体连通，因此在封塞的皮肤创伤产生负压。在创伤点真空的使用已显示在创伤的痊愈过程中有治疗价值，如公布于例如美国专利 No.6,135,116; 6,695,823; 6,767,334 和美国专利申请出版 No.20020143286; 20030040687 和 20030050594 及其它，所有这些指定于 KCI Licensing, Inc.。然而，单独的真空在无有效的清创术时，不能有助于慢性创伤的创床准备或创伤的内部而非只是表面包含有坏死物质的急性创伤的创床准备。坏死组织不是被移去后就消失的恒定现象，而是坏死组织持续在皮肤创伤聚集，由于创伤处正在发生的程序性细胞死亡(Falanga,同前)。例如在压力溃疡，有足够的血流的持续周期或伴随周期性局部缺血（来自压力）的缩短的水肿周期以及增加的水肿。因此，坏死材料周期性在创伤内聚集，需要清除。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括温度调节仪，其与至少一个贮器连通，因此影响所述至少一个贮器的流体的温度。根据另一个实施方式，敷料器进一步包括温度调节仪，并与所述多个引入导管的至少一个引入导管连通，因此影响所述至少一个引入导管的流体的温度。

根据另一个实施方式，敷料器进一步包括至少一个过滤器，放置于所述多个引入导管的至少一个引入导管内，以过滤至少一个引入导管流经的流体。

本发明的进一步实施方式，提供装置 240 用于治疗皮肤创伤，装置包括敷料器 200 并且进一步包括间隔物 230，其固定于创伤周围的皮肤表面，以封塞包括创伤的区域。间隔物 230 可包括本领域已知的有弹力的不能渗

透液体的材料，或弹性体，例如泡沫样材料。间隔物 230 可包括任何合适的材料例如聚硅氧烷、聚硅氧烷泡沫、聚氨基甲酸酯、天然橡胶、氯丁橡胶和乙烯基乙酸乙酯泡沫。

间隔物的一个表面可合适地固定于屏蔽罩，而底面包括合适的工具以固定间隔物 230 于皮肤，合适的工具由合适的材料形成例如热塑性树脂、压力敏感粘合剂、水胶体粘合剂和橡胶。固定间隔物 230 于皮肤和敷料器的工具可用保护性的可拆卸的膜覆盖，在间隔物粘附皮肤和敷料器时移去。

现在参考图 3-12，图示了装置 80 和敷料器 24，以在皮肤创伤上和经过皮肤创伤冲流和收集包括有效剂量蛋白酶的溶液。

装置 80 的一个实施方式示于图 3。根据这个实施方式的装置 80，包括第一贮器 10，以储藏包括至少一种蛋白酶有效剂量的溶液。第一贮器 10 可依据重复的用途由耐用的、惰性的、无孔的材料制成，例如玻璃、金属或塑料。第一贮器 10 可在使用之间进行消毒，通过本领域技术人员已知的方法包括浸润或干热、或防腐剂、气体或辐射的使用。另一个优选的实施方式，第一贮器 10 由非耐用的、用完即可丢弃的材料制成，例如金属箔、塑料或层箔或浸渍纸板或纸，为单次使用、无菌和密封储藏。第一贮器 10 的尺寸可以是足够包括完成单个酶手术过程足够的蛋白酶溶液的体积，或更小，在手术过程中必须补充。第一贮器 10 典型地为约 1 升体积，但可以从 100mL 到几升变化。

一个优选的实施方式中，混合蛋白酶溶液的混合仪 12 与第一贮器 10 流体连通，以防止蛋白酶溶液成分不一致的分散。混合仪 12 可以在第一贮器 10 的外部或内部。混合可通过旋转运动完成，例如腔内的转子或旋转片，或通过振动的或旋转的振荡运动，例如振动的或旋转的平台。

另一个优选的实施方式中，第一贮器 10 与温度调节仪 14 流体连通，以加热和/或冷却蛋白酶溶液到催化活性活化的优选的温度。温度调节仪 14 可以是辐射地或热对流的开口腔，接收蛋白酶溶液流，或优选地，是容纳加热和/或冷却的液体浴或固体模块的流体连通元件，例如玻璃或塑料导管，消除蛋白酶流与温度调节仪 14 的直接液体接触，并且减少蛋白

酶溶液被期望的污染物污染的危險。

这里所用的术语"流体连通"主要指选择或非选择的液体和/或半液体物质在指定的元件之间传输的能力。这样的传输可通过例如通道、导管、膜、管道、小孔和/或毛细管完成。

在本发明的进一步实施方式,第一贮器 10 与过滤器 16 流体连通,过滤器 16 用于蛋白酶溶液使用前的除菌。过滤器 16 优选地是封闭的(除了导入和引出口)、包括过滤膜的除菌的屏蔽罩,以除去大于例如 0.25 微米的颗粒,除去一般的细菌污染。一个这样的市场上可得到的过滤器分类在名为 Complete Sterifil System (Sigma Chemical Company, Inc.)。本发明的进一步实施方式中,第一贮器 10 与泵 18 流体连通,泵 18 用于在正压下从第一贮器 10 到敷料器 24(详细图示于以下)冲流蛋白酶溶液。因此,蛋白酶被递送到治疗的位点,并带有足够的力量影响机械的"剥离"运动,此外还有对基质蛋白的酶解。本发明提供的对创伤组织直接的、机械的力量和酶瓦解的创新联合,使从治疗表面去除细胞和组织成为可能。

泵 18 可以是气泵、活塞驱动的液泵、注射器泵或压缩器。本发明的一个实施方式中,泵 18 优选地是变速蠕动泵,通过可变流体连通元件上的压力操纵,消除与蛋白酶溶液的直接液体接触以及随后污染的危險。变速的特征进一步提供用于皮肤病学创伤的蛋白酶溶液流的强度控制。一个这样的市场上可得到的蠕动泵分类在名为 Masterflex Economy (Aldrich Chemical Company, Inc.)。本发明的一个可选择的实施方式中,蛋白酶溶液的流受重力的影响,后者通过升高第一贮器 10 高于其它与其流体连通的元件实现。

通常,敷料器 24 用于在皮肤上冲流溶液和接触皮肤。敷料器 24 包括具有面对皮肤开口的屏蔽罩,至少一个引入导管和至少一个引出导管。所述至少一个引入导管和至少一个引出导管各为穿过皮肤部分和在皮肤部分上冲流溶液提供通道,所述皮肤部分由面对皮肤的开口限定,其中溶液流的高度通过至少一个引入导管和至少一个引出导管的至少之一的开口是可调节的,如此敷料器 24 物理地符合非平滑皮肤表面。

术语"高度"用于此指引入导管从开口 108 伸展到创伤的长度。长度也

可以是开口 108 和面对创伤的引入导管顶之间的距离。

敷料器 24 与第一贮器 10 流体连通,设计并构建以限制蛋白酶在治疗中流经和接触皮肤部分的流。敷料器 24 包括两个口,引入口 20 作为从第一贮器 10 接收蛋白酶溶液,以及引出口 22 作为从治疗的皮肤病学创伤移去蛋白酶溶液和细胞。敷料器 24 进一步包括凹陷的面对皮肤的表面 28,被敷料器 24 向下突出的外框包围,构成限定的、局部的治疗区域,以防止邻近组织暴露于蛋白水解活性。

敷料器 24 的一个实施方式示于图 10-12。引入口 20 和引出口 22 提供蛋白酶溶液流的直接的液体运动,促成机械“剥离”效应,提高细胞内基质的酶瓦解以及从治疗创伤的表面去除细胞。敷料器 24 可附于皮肤表面,通过向皮肤的压力,压力可通过当事人的操作者或由治疗的个体、重力、连接于周围皮肤表面的粘合剂或其它工具施加,适合有要治疗的创伤的机体部分。一个优选的实施方式敷料器 24 包括连接机构 26,它包括两个或多个柔韧的元件,其可调节地连接以允许合围圆柱状的机体部分(例如四肢或躯干)以及通过张力施加对皮肤的压力,例如带片和皮带扣或有齿的带的紧固件。

敷料器 24 可由耐用的、无孔的材料构建,包括,但不限于玻璃、金属、塑料或橡胶,并且可以是能重复使用的或优选的用完即可丢弃的。敷料器 24 优选地能通过气体、化学物、湿或干热、或辐射灭菌,而且提供为封闭的和灭菌的以供使用。另一个实施方式中,敷料器 24 是“推拉”套管,典型地应用于组织灌注技术,例如由 Arancibia, S.描述在“Push-pull Perfusion Technique In Neuroendocrinology”, Ann. Endocrinol. (Paris) 48, 410-18 (1987), 它包括一个进流导管,其凹陷在一个更宽的流出导管,造成局部蛋白酶溶液的流,受限于更宽的流出导管的直径。

现在参考图 10,包括在本发明装置的敷料器的作为例子的实施方式的横截面观。敷料器 24 包括有引入导管 102 和引出导管 104 的屏蔽罩 100。通过引入导管 102 进入的流体直接地通过第一导管结构 106 到达治疗区 107,治疗区 107 由多少是圆锥形的聚硅氧烷结构 114 限定,其具有面对皮肤直径 9mm 的开口 108。放在第一导管结构 106 内的第二导管结构 110

用于引导流体从治疗区 107 到引出 104。O-环 112 用于限制流进入第一导管结构 106 内的预期方向。螺钉机构 116 允许调节第二导管结构 110 的开口 118 相对治疗区 107 的面对皮肤开口 108 的高度。优选地，如在此示例地描述的泵，是用于从贮器引流到引入 102。引流管用于从引出 104 引流。

根据本发明，装置 80 优选地进一步包括细胞收集器 30，后者与第一贮器 10 和敷料器 24 流体连通，细胞收集器用于收集从治疗的创伤表面除去的蛋白酶溶液和细胞，并且提供废液或将要通过装置 80 再循环的液体的流出物。收集的细胞可用于组织学检测和/或细胞培养程序。在一个优选的实施方式中，细胞收集器 30 包括过滤器 32，以收集和分离从皮肤病学创伤除去的细胞。收集器 30 和滤器 32 优选地是提供为无菌的、用完即可丢弃的模块单位，例如 the Complete Sterifil System (Sigma, Israel)。本发明的进一步实施方式，它特别示于图 4，通过恒流离心 40 分离细胞收集器 30 中的液体和细胞部分。恒流离心提供更高的液体处理能力，在蛋白酶溶液流出物到达时快速从敷料器 24 移去，并且为检测和/或培养浓缩创伤细胞。

可以理解，在本发明的内容中，通过细胞收集器 30 收集的创伤细胞是暴露于蛋白酶活性的，在到达细胞收集器 30 的蛋白酶流的液体成分的分过程中。细胞形态和代谢完整性的保留，而且因此的诊断价值，可能部分依赖于它们延长的与蛋白酶接触的限制。因此，在本发明的一个优选的实施方式中，细胞收集器 30 构建成在中间过程允许移去和/或取样细胞。这可能会受蛋白酶溶液通过敷料器 24 的流周期性的中断，移去过滤器 32 的过滤元件，和重置新鲜的过滤元件的影响。可选择的，整个细胞收集器 30 可以在手术过程中置换为新鲜的细胞收集器单元。恒流离心 40 是细胞收集的工具，离心操作可周期性的停止以允许从离心机转子移去收集的细胞。更优选地，离心会提供浓缩细胞的连续的流出物，用以检测和/或细胞培养。

可以注意到细胞收集器 30 的液体流出物包括大量的活性蛋白酶溶液，没有细胞和组织残骸部分，它们通过过滤器 32 和/或离心 40 已被移去，过滤器 32 和/或离心 40 可被循环使用。因此，在一个优选的实施方

式中，细胞收集器 30 的液体流出物被再引到敷料器 24 和泵 18 的至少一种蛋白酶溶液"上游"的流。通过单向阀连接影响细胞收集器流出物和蛋白酶溶液流之间的流体连通，确保流体单向流向敷料器 24。因此，通过重复使用细胞收集器 30 的流出物取得操作的显著的经济效益，有效地减少每次治疗所需的蛋白酶溶液的体积。

其它的酶手术装置 80 的实施方式描述于图 5-9，在每个例子温度调节仪 14、过滤器 16、泵 18、敷料器 24 和细胞收集器 30 基本如前面所述。

一个实施方式中，描述于图 5，装置 80 包括，除了第一贮器 10，还有第二贮器 34 和第三贮器 36，用以分别包括基本非活性第一蛋白酶溶液和第二蛋白酶活性溶液。因此，蛋白酶溶液在使用前可以稳定的、非活性形式制备和储存，当和第一贮器 10 中的活性溶液混合后才获得基本的催化活性。

在进一步实施方式中，描述于图 6，酶手术装置 80 包括第一贮器 10 和第二贮器 38，以分别包括第一种基本非活性蛋白酶和第二种活性溶液。因此，放置于第一贮器 10 的粉末、冷冻脱水的和/或其它，不含水的、稳定的蛋白酶制剂可储存直到使用，最小化自动裂解和催化活性的丧失。第一 10 和第二 38 贮器是流体连通的，以通过混合仪 12 混合其内含物时提供催化活性蛋白酶溶液。

图 7-9 描述酶手术装置 80，设计成接收蛋白酶、蛋白酶溶液和/或蛋白酶活性溶液的准备贮器或安瓿。一个实施方式，描述于图 7，容器 42 设计成接收模块贮器或安瓿 44，包括催化活性蛋白酶溶液，影响与敷料器 24、细胞收集器 30 以及装置 80 其它"下游"元件的流体连通。因此，装置 80 可与标准的、预先制备的、储存的酶溶液一起操作，以增加使用的简单性和递送的蛋白酶活性的准确性，减少被治疗皮肤表面感染的危险。

如在此详述和以后的权利要求部分所用，术语"贮器"和"安瓿"互换地指单独的、封闭的容器，能与其它器皿、容器或设备建立流体连通。这样的贮器或安瓿典型地包括液体或液体样物质，可设计成通过互补的容器或屏蔽罩精确地啮合。封闭的贮器或安瓿为制备和储存活性溶液和试剂提供了方便、标准的工具，用于操作例如酶手术装置 80。

另一个实施方式中，描述于图 8，第一容器 46 接收第一模块贮器或安瓿 48，后者包括非活性、稳定的蛋白酶溶液，而第二容器 50 接收第二模块贮器或安瓿 52，后者包括蛋白酶活性溶液。第一容器 46 和第二容器 50 与混合腔 54 流体连通，混合腔 54 用于提供流体接触以及第一贮器 48 和第二贮器 52 内容物的混合，活化稳定的、非活性蛋白酶。如上所述的混合仪 12 可放于混合腔 54 内。

另一个实施方式，描述于图 9，第一容器 58 接收第一模块贮器或安瓿 60，后者包括稳定的、非活性的蛋白酶制剂，以粉末的、冷冻脱水的和/或其它不含水的形式。第二容器 62 接收第二模块贮器或安瓿 64，后者包括活性溶液。第一容器 58 和第二容器 62 与混合机构 56 流体连通，提供不含水的蛋白酶制剂在活性溶液中的接触和有效的分散。

传统机械和非机械的治疗和除去皮肤创伤方法例如剃刀或解剖刀切除、CO₂激光手术、冷冻手术、电烙术和电切除，伴随疼痛、应力外伤、出血、瘢痕形成、感染、色素沉着以及分裂邻近和下面的组织。皮肤创伤和创伤更温和的蛋白水解消化已显示提供这样的创伤的优良的愈合，减少瘢痕形成、出血和感染的发病率。实际上，蛋白酶制剂通常用于促进痊愈和减少 CO₂激光手术创伤的瘢痕形成。

蛋白酶温和地分裂皮肤组织的完整性的能力已经使蛋白水解酶用于治疗，作为皮肤创伤机械或激光手术的治疗的辅助或替代选择。为了这样的酶治疗克服以上所述手术、电手术、冷冻手术和激光手术方法的缺点(疼痛、瘢痕形成、应力外伤、色素沉着以及分裂邻近的组织)，希望蛋白水解方法易于和彻底地水解皮肤创伤发现的多种蛋白；在生理 pH 和温度下起作用；与辅助治疗相容(例如，麻醉剂、清洁剂、局部抗体)；不影响正常创伤痊愈或使皮肤移植复杂化。并且，重要的是提供保留和贮藏分离的、除去的细胞生存能力的工具，以用于组织学检查或细胞培养；以允许蛋白酶局部和限制的使用，以及提供酶制剂的稳定，防止 pH、温度和自动蛋白水解效应。这些和其它有益的考虑由本发明第一次作为整体的进展发表。因此，本发明提供的好处包括温和的酶组织除去，通过局部定向的蛋白酶流机械"剥离"运动而增强，通过包括麻醉剂提供减少疼痛和创伤痊

愈，蛋白酶溶液中的促凝剂/抗促凝剂和抗体以及可获得的除去的皮肤细胞用于从治疗的创伤的组织学检查和/或细胞培养。此外，蛋白酶溶液流的温度、pH和流速的控制，稳定的酶制剂的局部活化的提供确保了准确、有效的催化活性送到创伤表面。

蛋白酶广泛地用于非活性组织的清创术，例如，由 Mekkes, J. R.等人描述的(同上)；调节通过 CO₂ 激光手术刻画的皮肤，例如，由 Gaspar, L.等人描述的(同上)；和老化，例如，属于 Norton 等人发表于美国专利 No.5,976,556，开发酶消化细胞外基质的蛋白成分的能力，并且不损伤健康的组织。选择合适的酶制剂、使用的方法、治疗的程度，着重于残骸和非活性组织的除去。因为胶原、弹力蛋白、纤维蛋白和蛋白多糖是皮肤细胞外基质的主要成分，在异常的条件例如瘢痕瘤、伤疤、疣和纤维化甚至明显地增多，所以胶原蛋白酶、弹性蛋白酶和透明质酸酶、以及其组合，已被最经常地用于皮肤病学创伤的治疗。然而，使用酶的这些治疗方法只限于局部使用和皮内注射。

因此，Pinnell 在美国专利 No.4,645,668，教导通过重复的皮内注射蛋白酶治疗和预防痤疮和肥厚性瘢痕、瘢痕瘤、皱纹和蜂窝组织，蛋白酶主要地是胶原蛋白酶以及另外的透明质酸酶。作者取得多数治疗的创伤的显著的解决，显示蛋白酶消化基质组织的效力，报道了很少的，如果有，副反应。然而，要求几周的重复的皮内注射来取得期望的效果。除了这个治疗方法的不适和耗时的特点以外，没有可能从创伤保留细胞，迫使在酶治疗前使用传统的、手术的活组织检查方法。相似地，de Faire 等人在美国专利 No.5,958,406 中，教导治疗多种与细胞粘附过程有关的情况，用多功能酶磷虾蛋白酶，包括胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、弹性蛋白酶、胶原蛋白酶和外肽酶活性。进行皮肤和内部创伤治疗，通过局部、非肠道、气溶胶、全身的、肌内的和皮内的递送蛋白酶组合物。蛋白酶的皮内注射被建议治疗伤疤和瘢痕瘤创伤。因此，治疗区域细胞的收集和保留是不可能的，如在其它皮肤病学的酶治疗程序中，不提供给药后蛋白酶活性的控制。

局部使用，或注射蛋白酶对于原位保留的催化活性的水平提供很少的控制，伴有自动蛋白水解和正常皮肤溶解和造成不可预料降解的酸性过

程。虽然许多局部或皮内的蛋白酶递送的操作依赖于个体、确定治疗长度的经验的结果，但是建议局部治疗使用酸性蛋白酶，相容于正常的人类皮肤的 pH，能确保对活性酶剂量的更大的控制，如描述于属于 Norton 等人的美国专利 5,976,556。然而，在上述的发明中，如其它局部酶使用，目前没有在治疗后控制酶活性的方法。

因此，根据本发明的一个方面，提供治疗皮肤创伤的方法，所述方法包括从皮肤创伤的创床除去失活组织和细胞，方法的效果通过使用包括有效剂量的至少一种蛋白酶的溶液流于创床上并与创床接触。通过联合对细胞内基质蛋白的酶解和流体力对创床的机械瓦解，失活的细胞和组织被从组织移去，并进一步从创伤点移去。蛋白酶溶液通过流应用于创伤的表面上提供了精确定位和酶活性大小和持续时间的控制，通过治疗过程中控制酶的浓度、酶溶液的 pH、温度、疏水性/亲水性、流的强度、持续时间和与蛋白酶溶液接触的位点。如上所述，本发明的装置提供对酶治疗的多种控制，通过例如混合仪 12、温度调节仪 14、泵 18 和敷料器 24。

如在此所用术语"蛋白酶"指任何生物活性分子，典型地是多肽，有酶肽水解酶活性，包括内肽酶和/或外肽酶活性。

在本发明的一个优选的实施方式中，蛋白酶是，但不限于，弧菌溶血素、磷虾蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶、胶原蛋白酶、弹性蛋白酶、分散酶、蛋白酶 K、梭状芽孢杆菌多功能蛋白酶和枯草杆菌蛋白酶。这些代表目前通常用于治疗方法的蛋白酶，已显示不期望的副反应的低发病率，商业上能得到纯品、纯化的或基因工程形式，例如，Esperase(超酶)、Subtilisin A(枯草杆菌蛋白酶 A)、Savinase(沙芬酶)和 Durazyme(硬膜酶)，从 Novo Nordisk Bioindustry Japan K. K. 可得到；蛋白酶 N"Amano"、蛋白酶 S"Amano"，从 Amano Pharmaceutical K. K. 可得到；Biopraser(枯草杆菌产蛋白酶)，从 Nagase Seikagaku Kogyo K. K. 可得到；以及 Purified Collagenase(纯化的胶原蛋白酶)，从 Advance Biofactures, Lynbrook, N. Y. 可得到，梭状芽孢杆菌多功能蛋白酶和磷虾蛋白酶通过本领域的技术人员容易制备，例如，公布于分别属于 Markert 等人的美国专利 No.6,416,626 和属于 de Faire 等人的 5,958,406。

其它可选择的蛋白酶是木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、纤维蛋白溶酶原活化因子、纤维蛋白溶酶、肥大细胞蛋白酶、溶酶体水解酶、链激酶、胃蛋白酶、以及任何或所有真菌、细菌、植物或动物蛋白酶。本发明的蛋白酶溶液可包括单种蛋白酶、或优选地，多种蛋白酶。蛋白酶溶液也可包括一种或多种氨基葡聚糖降解酶，例如，但不限于，多种溶酶体水解酶，包括某些内切糖苷酶(类肝素酶和 CTAP 降解硫酸乙酰肝素和少量肝素，以及从羊或牛睾丸降解透明质酸得到的透明质酸酶和硫酸软骨素)、多种糖苷外切酶(例如， β -葡萄糖醛酸苷酶(glucuronidase))、和硫酸酯酶(艾杜糖醛酸硫酸酯酶(iduronate sulfatase))，通常作用于序列以降解多种氨基葡聚糖。细菌裂解酶例如，来自黄杆菌肝素(*Flavobacterium heparinum*)裂解肝素样分子的肝素酶 I、II 和 III、来自普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*)的软骨素酶 ABC、来自白色节杆菌(*Arthrobacter aureus*)或黄杆菌肝素的 AC，来自黄杆菌肝素降解硫酸软骨素的 B 和 C。

更多的优势甚至是结合更多的局部的、非蛋白酶物质，能减少不期望的副反应。Schmitt 等人在美国专利 No.4,122,158 中教导生物聚合物的使用，生物聚合物包括蛋白酶、抗菌剂、抗生素和抗真菌物质，以治疗和预防烧伤创伤的瘢痕形成和感染。甚至潜在地伴随于从皮肤创伤的酶去除细胞的轻度的流血、疼痛和瘢痕形成可通过与蛋白酶溶液同时使用合适的物质而缓解。本发明的装置非常适于递送包括另外与蛋白酶活性相容的活性物质的溶液，通过包括这样的物质于包括清创溶液的贮器内的溶液。

在本发明的进一步优选的实施方式，蛋白酶溶液包括至少一种局部麻醉剂、促凝剂和抗促凝剂。在另一个实施方式中，蛋白酶溶液进一步包括有效剂量的抗生素。蛋白酶溶液可进一步包括合适的药物可接收载体。

如在此所用，术语"局部麻醉剂"指任何试剂，在禁止的区域内(例如，非全身地)，显著影响不可接受(nonreceptive)物质、受体和/或神经通路的活性的减低或抑制。通常使用的局部麻醉剂的非限定性例子是环氧合酶抑制剂(例如布洛芬、吲哚美辛和酮咯酸)、5-羟色胺受体拮抗剂(例如淀粉色胺(amytryptiline))、缓激肽(bradykinin)受体拮抗剂和组胺受体拮抗剂。

如在此所用，术语"促凝剂"指任何促进血液凝固、或凝结的药剂，它

们可安全地用于皮肤病学创伤。这样的促凝剂物质的非限定性例子包括明胶、凝血酶和钙，描述于属于 Epstein 等人的美国专利 No.6,045,570。类似地，术语"抗促凝剂"指任何延缓、抑制或防止血液凝固、或凝结的药剂，它们可安全地用于皮肤病学创伤，例如肝素、香豆素类或其它有血栓溶解活性的药剂。

如在此详述和以下的权利要求部分所用，术语"药物可接受载体"指药物可接受物质、组合物或运输工具，例如液体过滤器、稀释剂、溶剂或胶囊材料，参与携带或运输本发明的化合物到期望它发挥功能的个体或之中。每个载体必须是"可接受"，意思是与制剂的其它成分相容，对病人无害。可作为药物可接受载体材料的一些例子包括：糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和土豆淀粉；纤维素、和其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素；黄蓍树胶粉末；麦芽；明胶；滑石粉；油脂，例如花生油、棉子油、红花油、麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；乙二醇，例如丙二醇；多元醇，例如甘油、山梨糖醇、甘露醇和聚乙二醇；酯类，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，例如氢氧化镁和氢氧化铝；海藻酸；果酸，无热原的水；等渗盐；Ringer's 溶液；乙醇；磷酸盐缓冲液；和其它用于药物制剂的非毒性相容物质。

如在此所用，抗生素的"有效剂量"预期地包括抗生素的量，其足以有效防止和抑制至少 50%，优选地 75%和最优选地 100%的治疗个体皮肤病学创伤内细菌的生长，这样的有效剂量由本领域的技术人员确定。

皮肤病学创伤表面的预处理可提供非常有效的后续蛋白酶治疗。正常的表皮由死扁平细胞层组成，它提供有效的机械屏障保护下面活力的皮层。Yu 等人(美国专利 No.4,105,783 和 4,363,815)描述了用角质素溶解剂(keratinolytic)、过氧化苯酰化(desquamifying)剂例如低分子量羧基酸或酮酸、和其酯，从富含角质素的角质层移去死细胞。这种皮肤脱落也通过包括皮肤摩擦剂、润滑药、去污剂、收敛剂和皮肤软化剂的化妆品制剂来完成。因此，在本发明的进一步实施方式中，创伤的表面由清洁剂、软化剂、收敛剂、表皮脱落剂和/或皮肤摩擦剂的流进行预治疗。装置 80 非常适于这样使用，只要求提供合适的预治疗溶液于第一贮器 10、第二贮器 34 或

38、第三贮器 36、贮器或安瓿 44、第一贮器或安瓿 48、第二贮器 52、第一贮器或安瓿 60、和/或第二贮器或安瓿 64。

可以理解在本发明的内容,蛋白酶的催化活性的制剂的自我分解和功能性酶浓度的损失,构成酶的局部、注射和/或其它组合物治疗给药的显著不利。蛋白酶活性的贮存期限是有限的,给药点精确控制酶活性实际上是达不到的,当注射或局部使用完成时。一些发明已提议包括酶的生物活性物质储存在接触限制其天然活性的物质或在限制其天然活性的条件下,有效钝化和稳定,直到接触基本足够量的活性物质,或在足够恢复生物活性的条件下。例如,Edens 等人(美国专利 No.6,117,433)教导稳定生物活性物质的方法,例如维生素、酶和抗生素在高浓度,通过在水活性减弱剂例如盐、多元醇、多价螯合剂例如 EDTA、赤藓醇(phyate)或葡萄糖酸,或抗氧化剂例如亚硫酸酯、谷胱甘肽、半胱氨酸或抗坏血酸中制备。生物活性物质的晶体组合物,典型地比含水制剂稳定,与粘化剂混合以阻止沉淀和保证生物活性组合物的均一性。本公开进一步描述这种稳定制剂的分散系统,通过与含水组合物的稀释而活化生物活性物质。Nakagawa 等人在美国专利 No.5,409,546 中描述稳定丝氨酸蛋白酶的方法,丝氨酸蛋白酶来自属于杆菌的细菌,通过添加多元醇用以接触镜片清洁剂组合物,以及详述温度的限定范围(室温到大约 58°C),在此温度范围酶保留催化活性。Rowan 等人在美国专利 No.5,106,621 教导恢复用于烧伤创伤治疗的植物半胱氨酸蛋白酶的催化活性的方法,通过添加半胱氨酸以再生巯基。然而,上述例子没有一个关于活细胞治疗使用的蛋白酶的给药,也没有在使用的位点提供进行的、精确的对活化催化活性的控制。

因此,本发明的一个实施方式中,提供治疗皮肤创伤的方法,蛋白酶先短暂地活化,然后冲流包括有效量至少一种蛋白酶的溶液于治疗皮肤部分之上并接触。所述方法其中的蛋白酶被活化可能实现于:(a)保持蛋白酶于第一温度,在此温度蛋白酶基本是催化非活性的,以及加热和/或冷却所述的至少一种蛋白酶到第二温度,在此温度所述蛋白酶是催化活性的;和/或(b)以粉末形式提供蛋白酶,以及和一种溶液混合,在其中蛋白酶是催化活性的;和/或(c)提供蛋白酶于第一溶液中,在其中蛋白酶基本是催

化非活性的，以及混合第一溶液和第二溶液，以至得到混合溶液，在其中蛋白酶是催化活性的。所述第二溶液与所述第一溶液可以有不同的 pH、离子浓度、游离金属浓度、亲水性和疏水性。例如，图 3 描述酶手术装置 80 与温度调节仪 14 流体连通，以用蛋白酶溶液填充第一贮器 10，蛋白酶溶液在亚优选的稳定化温度，只在创伤点使用的短时间前通过升高蛋白酶溶液的温度而恢复催化活性。典型地，酶在 10°C 以下优选地 4°C 以下基本是非活性的。酶催化活性的活化可通过加热和/或冷却蛋白酶溶液到优选的温度，典型的在 30 - 40°C 范围内，优选地在 37°C。

如在此所用，术语"亲水性"指溶液或化合物的极性，显示被有显著偶极矩的其它溶液或化合物吸引的趋势。类似的，术语"疏水性"指溶液或化合物的非极性，显示被有显著偶极矩的溶液或化合物排斥、不相容的趋势。

如在此所用，术语"钝化"指催化活性可逆或不可逆地抑制或丧失，例如，使蛋白水解酶不能催化肽键水解的钝化。

在本发明的内容中，可以理解许多酶指定为酸性、中性或碱性，根据它们适于的生理环境，例如，消化酶胃蛋白酶和胰凝乳蛋白酶，在酸性的胃环境中是催化活性的，显示优选低 pH (pH3-5)。在真皮环境中活性的酶典型地优选 pH 接近皮肤弱酸性外膜 (pH5.5-6.5)。因此，本发明的蛋白酶的自我分解可通过在使用前维持蛋白酶在非优选的 pH 而抑制，在给药治疗创伤临用前与活性溶液混合以有效达到优选的 pH。因此，在本发明的一个优选的实施方式，描述于图 5 和 8，非活性的稳定蛋白酶溶液放于第二贮器 34 和/或第一贮器或安瓿 48，配制在非优选的 pH 中，第三贮器 36 和/或第二贮器或安瓿 52 的活性溶液以在给药治疗临用前混合而恢复催化活性的优选的 pH。最优选地，催化活性的优选 pH 选择接近哺乳动物皮肤弱酸正常 pH。相似地，蛋白酶溶液也可被钝化和稳定，通过用例如 EDTA 螯合催化临界金属离子例如 Ca^{++} 或 Mg^{++} 。活化可通过提供临界金属离子而获得，混合后在活性溶液足够获得有效和/或优选的金属离子浓度。可选择的，或更多的，蛋白酶可以稳定或钝化于减少水可获得性的溶液，例如高盐或高多元醇浓度。催化活性的恢复，在蛋白酶溶液冲流治疗位点临用前，通过用活性溶液足够的水性稀释而获得。在本发明的内容，应注意

到, 从不同物种(即, 海产的、嗜热的、适盐的、适温的、哺乳动物、嗜冷的等)提取的酶通常显示大的可变和物种特异性优选 pH、温度、金属辅基团和离子浓度、以及极性相互作用(疏水性/亲水性)。

在本发明的一个优选的实施方式, 蛋白酶是以非液体、粉末的形式提供的, 在临用前与活性溶液混合以获得催化活性。干酶制剂的活性在本领域是已知的, 许多超级纯的蛋白酶商业上是可得到其冷冻脱水形式的, 例如 Proteinase K(蛋白酶 K)(Sigma-Aldrich, Israel)、Clostridopeptidase A(芽孢梭菌素蛋白酶 A)(Sigma-Aldrich)和 Elastase(弹性蛋白酶)(Fluka Chemical Company Inc.)。然而, 粉末、冷冻脱水或颗粒的酶制剂通常难在稀释溶液中均匀分散。因此, 在本发明一个优选的实施方式, 描述于图 6, 粉末或冷冻脱水的蛋白酶制剂放于第一贮器 10, 与从第二贮器 38 来的活性溶液在临递送到治疗点之前在混合仪 12 接触和混合均匀。以上详述和描述于图 9 的另一个实施方式, 粉末或冷冻脱水的非活性蛋白酶是由单独的贮器或安瓿 60 提供的, 通过混合机构 56 在临递送到治疗点之前与贮器或安瓿 64 提供的活性溶液接触和分散其中。因此, 本发明的方法联合了稳定的、不含水的粉末或冷冻脱水的蛋白酶制剂的优点, 并避免了在溶剂中分散差和酶活性递送不精确控制的缺点。

可以理解, 在本发明的内容中, 酶的催化活性可通过活化剂和抑制剂调整。一种这样的酶活性的调节模式是可逆抑制, 通过底物类似物或调节分子的相互作用而作用, 其造成底物结合和/或酶动力学的改变, 有效降低催化活性, 例如, 描述于 "Enzymes", chapter 3, Molecular Cell Biology (1986): Darnell, J, Lodish, H and Baltimore, D, eds., Scientific American Books, Inc.。因为这样的酶活性的可逆抑制是浓度依赖的, 催化活性的恢复通过受抑制的酶制剂与适量体积的没有抑制剂的稀释剂接触而获得。因此, 在本发明的进一步实施方式中, 蛋白酶溶液的稳定通过包括有效剂量的可逆的酶抑制剂而作用。稳定的蛋白酶制剂的活化通过用足够体积的没有抑制剂和/或抑制剂活性的活性溶液稀释而作用。

类似地, 本发明的装置和方法提供精确和准确控制治疗位点和收集的细胞的酶活性的终止。通过操作上述的任何方法(pH、离子浓度、游离金

属浓度、亲水性/疏水性、水可获得性和可逆抑制)而作用的蛋白酶活性的钝化,可受影响于蛋白酶流之后使用有效剂量的无-蛋白酶溶液,无-蛋白酶溶液包括例如,金属螯合剂、非优选 pH 缓冲液和可逆蛋白酶抑制剂。

在本发明的内容中,可以理解许多皮肤病学的创伤包括异常的皮肤细胞和胞内基质。例如,牛皮癣斑由于上皮细胞更新的异常造成,瘢痕瘤的胶原和肥厚性瘢痕的特点是异常的交联,疣是乳多空病毒感染表皮细胞的结果,并且许多经常是色素沉着过度的、增生的细胞包括多种痣(胎块)、角化物和着色斑。蛋白水解瓦解胞内基质伴随随后非活性组织的再吸收是以前酶方法的目的,本发明中,皮肤病学的创伤的异常细胞被移去,对这些皮肤情况的优良治疗有影响。

可以理解联合机械"剥离"和蛋白酶溶液流的酶作用于皮肤表面,适于为美容的目的移去皮肤细胞和残骸。因此,在本发明的进一步实施方式中,受控的蛋白酶溶液流可用于化妆地治疗美容不期望的皮肤表面部分。

本发明的方法和装置也可用于从病人组织、或临时在手术过程中暴露的内部组织表面治疗和/或除去细胞。Markert 等人(美国专利 No.6,146,626)描述收集细胞用于细胞培养,从内部器官包括肝、脾、心脏和骨骼肌、结缔和神经组织、腺组织、内皮和其它受梭状芽孢杆菌胶原蛋白酶和弹性蛋白酶消化作用的组织。De Faire 等人(美国专利 No.5,958,406)描述治疗和预防内部器官和机体腔感染,通过注射或使用包括磷虾多功能蛋白酶活性的制剂。

根据本发明的进一步方面,提供从活组织表面除去和收集细胞的方法,所述方法通过包括有效剂量的至少一种蛋白酶溶液流与表面接触并在其上而作用,从而从活组织表面除去细胞并收集细胞。在本发明这个方面的一个优选的实施方式中,蛋白酶溶液流通过开口的手术切口用于组织的表面。

在另一个更优选的实施方式中,使用本发明的装置和方法提供蛋白酶冲洗,为组织表面或多个表面,通过上述的"推拉"套管以封闭、光纤维引导的手术方法,除去和/或活组织检查取样。这些方法的非限定性例子是关节内窥镜、膀胱镜检查、内窥镜检查、胆囊镜检查、腹腔镜检查、结肠

镜检查 and 鼓膜镜检查。

如在此所用，术语"治疗"包括消除或减轻与治疗的疾病相关或由疾病引起的至少一个症状。例如，治疗可以是消除疾病的几个症状或彻底消除疾病。

如上所述，本发明的敷料器和装置可包括适于收集从封塞的创伤引流液体和细胞残骸的桶。收集从皮肤病学创伤移去的细胞的重要性是很大的。没有确定准确诊断的治疗会引起创伤不必要的除去，通常招致不必要的瘢痕形成，并且耗资。特别重要的是确定包括痣和角化物细胞的种类，因为这些创伤广泛地存在于成人，以及它们恶性转化的可能(Sosis, A. , *Benign Tumors of the Skin, in Skin Diseases: Diagnosis and Management in Clinical Practice* (1982), Binnick, S. A. ed, Addison-Wesley Publishing Co. , USA. 166-230)。如上所述，以前皮肤创伤非手术的治疗方法，例如激光手术、电手术和化学或酶切除，没有提供从创伤获得细胞的方法，必须使用传统的手术活组织检查技术来准确诊断。

在本发明的内容中，可以理解限制酶活性，蛋白酶溶液流指向到创伤表面，而不是局部使用药膏或皮内注射，提供机会保留从治疗创伤移去的细胞。因此，本发明提供从有皮肤病学的创伤个体的皮肤部分移去和收集细胞的方法，所述方法通过冲流包括有效剂量的至少一种蛋白酶的溶液在皮肤上并与皮肤部分接触而作用，因此从皮肤部分移去细胞，并收集细胞。在治疗位点，蛋白酶消化的产物通过至少一个引出导管除去并传输到细胞收集器，后者与敷料器流体连通。敷料器 24 蛋白酶溶液流出物中束缚液体和细胞成分的分选，如上所述，可通过过滤，或在另一个实施方式，通过恒流离心而实现。小体积恒流离心，通常用于分离血液组成(例如，the OrthoPAT® System, Haemonetics Corporation, Braintree, Mass.)，商业上可获得并且适于与本发明装置流体连通，如描述于图 4。可选择的，细胞收集可通过存留在能吸收细胞的柱子作用，通过蛋白质性质的、多聚和/或寡聚多糖或其它细胞表面组分的相互作用。

已知的细胞分离包括多种技术，其中一些基于特异性的亲和。其它细胞分离技术更多依赖偶然发现的机制例如支持多种器官和结构地捕获目

标细胞。参见例如 Wigzell and Anderson, J. Exp. Med. 129: 23-36, 1969 ; Rutishauser 等人. Proc. Natl. Acad. Sci. 70, 1973 ; Wysocki and Sato, Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 2844-2848, 1978; Antoine 等人. Immunochem. 15,1987。也参见属于 Datar 的美国专利 No.6,008,040。亲和分离的基本过程必须建立要被分离的细胞混合物与支持基质的接触,以使靶细胞优选地粘附、结合或被限制到支持物或其内,然后洗去不期望的细胞,或反过来。特异性亲和技术使用单克隆抗体识别细胞膜上的特异标记,并且“吸引”靶细胞结合到单克隆抗体。特异性亲和“吸引”靶细胞也可通过疏水或亲水相互作用,金属-亲和,离子交换,以及类似的作用而发生。因此,在本发明的进一步实施方式中,细胞收集通过流出物流流经敷料器 24、细胞收集器 30 并且与一种装置接触而作用,所述装置例如细胞-结合柱子,能从流出物流保留细胞和其分离物。

本发明更多的目标、优势和新颖性,在体验了以下实施例后,对本领域的普通技术人员会是显而易见的,所述实施例不预期是限制。另外,本发明的每个不同的实施方式和方面,描述于如上所述和在以下权利要求中声明的,都在以下的实施例中找到实验支持。

实施例

实施例 1.使用本发明的装置和方法的酶清创术

材料和方法

冲流系统由加液贮器、连接引入/引出导管、蠕动泵(MP4 Minipulse 3, Gilson, France)、用完即可丢弃的设计成引流到治疗点的敷料器和收集导管组成。

动物和组织样品: 研究是在 6 只 4-8 周大的[30-40 g 体重]雄性和雌性小白鼠组、6 只成年(2-3 月大, 200-250 g 体重)Charles-River 雄性大鼠组、成年雄性新西兰白(NZW)兔(3 kg 体重)和猪皮样品上进行的。小鼠和大鼠用三溴乙醇(0.1 ml, 1.25%三溴乙醇盐/10 g 体重; Sigma, USA)麻醉, 白兔用氯胺酮甲苯噻嗪镇定, 用硫喷妥钠(Abbott Laboratories, Italy)麻醉。治疗区域的皮肤被去毛, 动物被放在倒链上并悬挂直到敷料器固定于每个动物

后背的后侧面的表面。新鲜的猪皮肤样品是从白色雄性猪(大白与当地品种的杂交; 34kg 体重)上移去的, 包埋在塑料 O-环上并固定于敷料器。

酶: 所有测试的酶都是冷冻脱水的粉末(Sigma-Aldrich Chemicals, USA)。酶接收后不进一步纯化就可使用。以下的酶被使用: 菠萝蛋白酶(B4882, 溶解于 0.01M Tris, pH7.5); 胶原蛋白酶(C01300, 溶解于 0.1M Tris, pH 7.6); 木瓜蛋白酶(P4762, 溶解于 0.01M 磷酸盐缓冲液, pH6.5, 包括 5mM L-半胱氨酸和 2mM 乙二胺四乙酸(EDTA)); 胃蛋白酶(P7012, 溶解于 10mM HCl pH2.9); X 型蛋白酶(嗜热菌蛋白酶, P1512 溶解于 10 mM 醋酸钠(TA948368, Merck)和 5mM 醋酸钙(C1000, Sigma)和胰蛋白酶(T1005, 溶解于 0.01M Tris pH8.6)。

整体皮肤治疗: 新鲜制备的溶液连续地冲流到麻醉小鼠、大鼠、兔子或猪皮肤样品上限定的刮过的皮肤表面区域, 流速为 5-6ml/小时, 室温 3 小时, 之后, 动物被处死, 组织学检查的样品被从治疗区域移去。

组织学: 3 小时治疗后, 小鼠和大鼠用过量的水合氯醛(Fluka chemicals, Switzerland)处死, 兔子用过量的硫喷妥钠处死。全厚度皮肤样品(4X15 mm)从限定区域的边缘移去作组织分析, 以允许比较同侧治疗和非治疗区域。组织样品立即固定于 4% 磷酸盐缓冲甲醛溶液 48 小时, 用通用的组织学程序处理, 包埋入石蜡。垂直于皮肤表面的连续切片被切成 8 μ 厚度。获得的切片用苏木精和伊红染色用以观察。

实验创伤模型: 热烧伤, 1-1.5mm 厚度, 通过用标准的焊接设备的尖端直接接触麻醉小鼠和大鼠的后背的后侧面刮过的皮肤表面 30 秒[10]而诱导。新鲜配制的蛋白酶溶液, 或其联合, 用于连续冲流到创伤上, 在受伤后 1 小时内如上所述以同一个流速冲流 2-3 小时。全厚度线性新鲜切口通过用手术刀切割动物后背的后侧面, 并且立即用酶连续冲流 3 小时。在治疗后立即、7 天和 20 天对治疗的区域照相, 以评价痊愈的过程。

冲流的酶活性的监控: 由于自身消化, 蛋白水解酶溶液可能丢失其蛋白水解活性, 酶的残留活性常规地通过体外生物化学分析而监控, 由供应商建议, 如下:

1. 胶原蛋白酶活性的分析, 通过加入 0.2ml 酶溶液(1mg/ml)进入 3ml

0.25mM Na-苯甲酰-L-精氨酸乙酯(B4500, Sigma)和 0.32ml 的 10mM 二硫赤藓糖醇(D8255, Sigma)于 pH7.5、包括 4mM CaCl_2 (102382, Merck)的 10mM Tris 缓冲液, 以及在室温下测量 OD_{253} 5 分钟。

2.胰蛋白酶活性的分析, 通过加入 50 μl 酶溶液[1mg/ml]进入溶于 0.5ml 二甲基亚砷(DMSO, 102931, Merck)的 1 ml 底物溶液(5mg Na-苯甲酰-DL-精氨酸对位硝基苯胺(BAPNA, B4875, Sigma)并且加入 25 ml、pH7.5、包括 4 mM CaCl_2 的 10mM Tris, 以及在室温下测量 OD_{405} 5 分钟。

3.木瓜蛋白酶活性的分析, 通过加入 100 μl 酶溶液(1mg/ml)进入 1 ml BAPNA 溶液(通过溶解 5mg BAPNA 于 0.5ml DMSO 和加入进 25ml、50mM、pH6.2、包括 5 mM 半胱氨酸和 2mM EDTA 的磷酸缓冲液而制备), 以及在室温下测量 OD_{405} 5 分钟。

4.菠萝蛋白酶活性的分析, 通过加入 50 μl 酶溶液(1mg/ml)进入溶于 50mM、pH8.5 Tris 的 5ml 1%酪蛋白溶液(44016, BDH)于测试管, 平衡到 37°C。在 pH8-8.5、37°C 孵育 10 分钟后, 5 ml、10%三氯乙酸(TCA, 33731, Riedel-de Haen)被加入, 混合物在 37°C 再孵育 5 分钟。所得混合物在 7,000 rpm 离心 10 分钟, 测量上清液的 OD_{280} 。

5.嗜热菌蛋白酶(X 型蛋白酶)活性的测量同所述菠萝蛋白酶的。

6.胃蛋白酶活性的分析: 在 37°C 1ml 胃蛋白酶溶液(0.01-0.05mg/ml 于 10mM HCl)被加入进溶于 10mM HCl 的 5ml 2%血红蛋白溶液(H2625, Sigma)。孵育 10 分钟后, 加入 10 ml 5% TCA, 混合物于 37°C 再孵育 5 分钟。所得混合物在 7,000 rpm 离心 10 分钟, 测量上清液的 OD_{280} 。

结果

酶冲流对完整皮肤的影响:

受控的酶流可容易和方便地用于一系列连续的治疗, 同时使用多通道泵, 如图 13A 显示的治疗 6 只麻醉的大鼠或治疗大动物的 6 个不同位点(图 13B)。通过冲流稀释的酶缓冲液 3hrs 容易获得有效的不同皮肤层的消化。作用于小鼠上的 2mg/ml 木瓜蛋白酶的受控制流影响外角质化层的消化和去除(图 3A 和 3B)。表皮从真皮的脱离受胰蛋白酶(4mg/ml)和菠萝蛋白酶

(5mg/ml)混合物(图 14C)的影响。8mg/ml 胰蛋白酶溶液的受控制流引起表皮完全的消化(图 14D)。3mg/ml 胃蛋白酶的冲流引起更深的穿透和胶原纤维的消化(图 14E)。3mg/ml 胶原蛋白酶和 1.5mg/ml 嗜热菌蛋白酶的混合冲流引起与图 14D 相似的消化。冲流同样的溶液于大鼠、兔子和猪皮得到相似的结果。

活性酶溶液冲流对得到这些结果是必要的:冲流无酶的缓冲液流是无效的。而且,冲流酶溶液几分钟以充满系统然后停止冲流没有效果和没有可见的变化。

在使用的 3 小时,所有冲流的酶溶液的特异活性保持稳定(>85%)。少量输入活性的丢失最可能由自身消化造成。

酶冲流对实验创伤的影响:

有效的新鲜血块的去通过冲流胰蛋白酶和胶原蛋白酶混合物(每个 3mg/ml)3hrs 于无论其形状的有光滑表面清除的新切伤而易于实现(图 15A-B)。

对烧伤创伤清创术的受控酶冲流可通过冲流几种蛋白酶混合物 2hr 而易于获得:胶原蛋白酶/嗜热菌蛋白酶混合物(分别 3mg/ml 和 1.5mg/ml; 图 14B)、胰蛋白酶/木瓜蛋白酶混合物(4mg/ml 和 2mg/ml)或胰蛋白酶/胶原蛋白酶混合物(每个 3mg/ml)。

带有冲流酶例如木瓜蛋白酶或胃蛋白酶(分别 2mg/ml 和 3mg/ml, 2 小时)的清创术引起光滑的痊愈(比较图 15A 和图 15B; 烧伤诱导后 20 天拍的照)。

实施例 2.表皮的酶去除

使用包括描述于图 12 的敷料器 24 的装置,包括溶于 0.1M pH7.5 的 PBS 缓冲液的胶原蛋白酶(1 mg/ml, Sigma Cat. No. C0130)和嗜热菌蛋白酶(0.5 mg/ml, Sigma x 型, Cat No. P1512)的酶溶液,使用从成年雌性大白猪(1 岁大, 90 kg)新鲜移去的皮肤样品,包埋在平的容器,并且用 70% (v/v) 乙醇水溶液预清理,以流速 3-4 ml/小时,室温冲流 3 小时。

治疗和移去装置后，肉眼观察从治疗区域完全去除毛发，伴随平滑、溃疡龕样皮肤体积移去物的形成。皮肤样品立即固定于甲醛(4% v/v)中性缓冲液 48 小时。皮肤然后用蒸馏水冲洗，在乙醇中脱水，并包埋于石蜡。准备平行于表皮-真皮方向的系列组织切片(厚 0.8 μ m)染色，装上载玻片，用苏木精-伊红染色，用光学显微镜检查。检查治疗区域的边缘，其清楚地显示与非治疗皮肤比较，从治疗区域的酶表皮去除。

上述特定实施方式的描述会完全揭示本发明的一般特征，通过运用现有的知识，因此其他人可易于对这种特定实施方式的各种应用修饰和/或适应，不用过多的实验，不偏离一般概念，从而这些适应和修饰应被理解为包括在所描述实施方式等价物的意义和范围之内。应该理解，这里所用的片语和术语是为描述的目的而非限制。执行不同所述功能的工具、材料、和步骤可采用不同形式，但不偏离本发明。

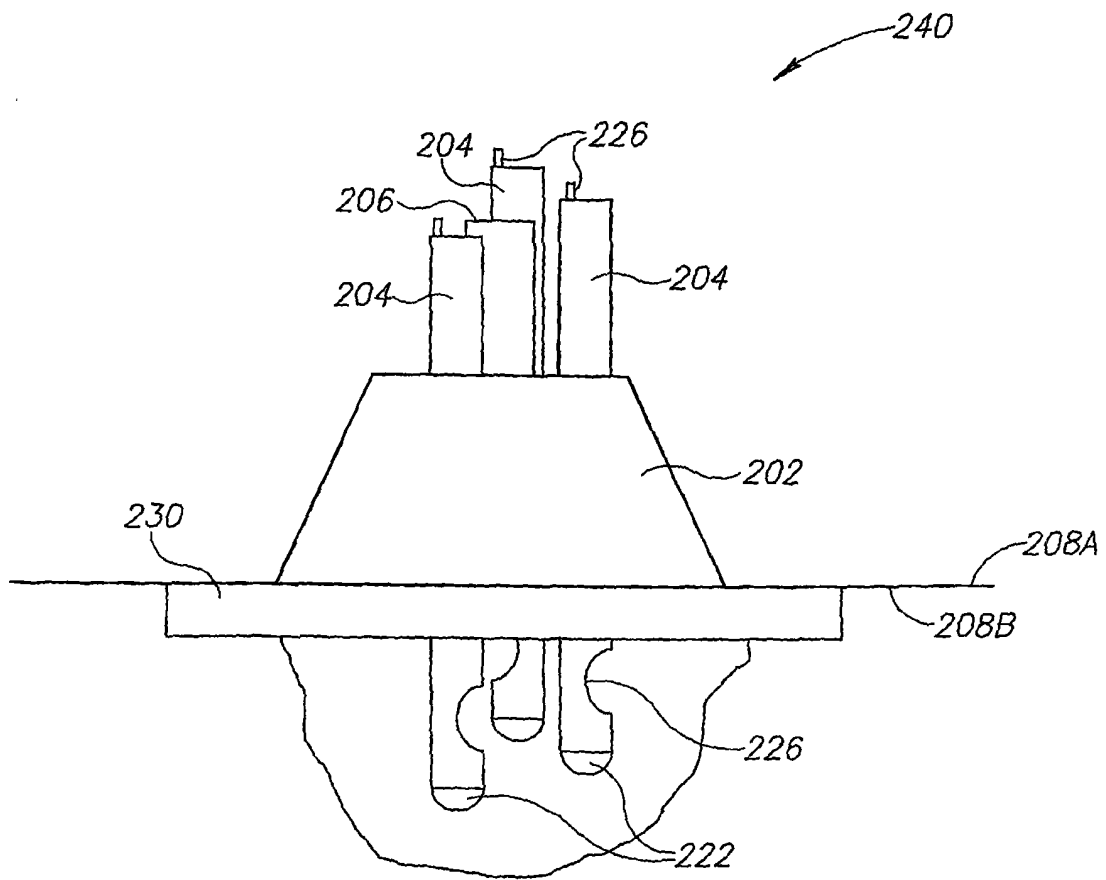


图 1A

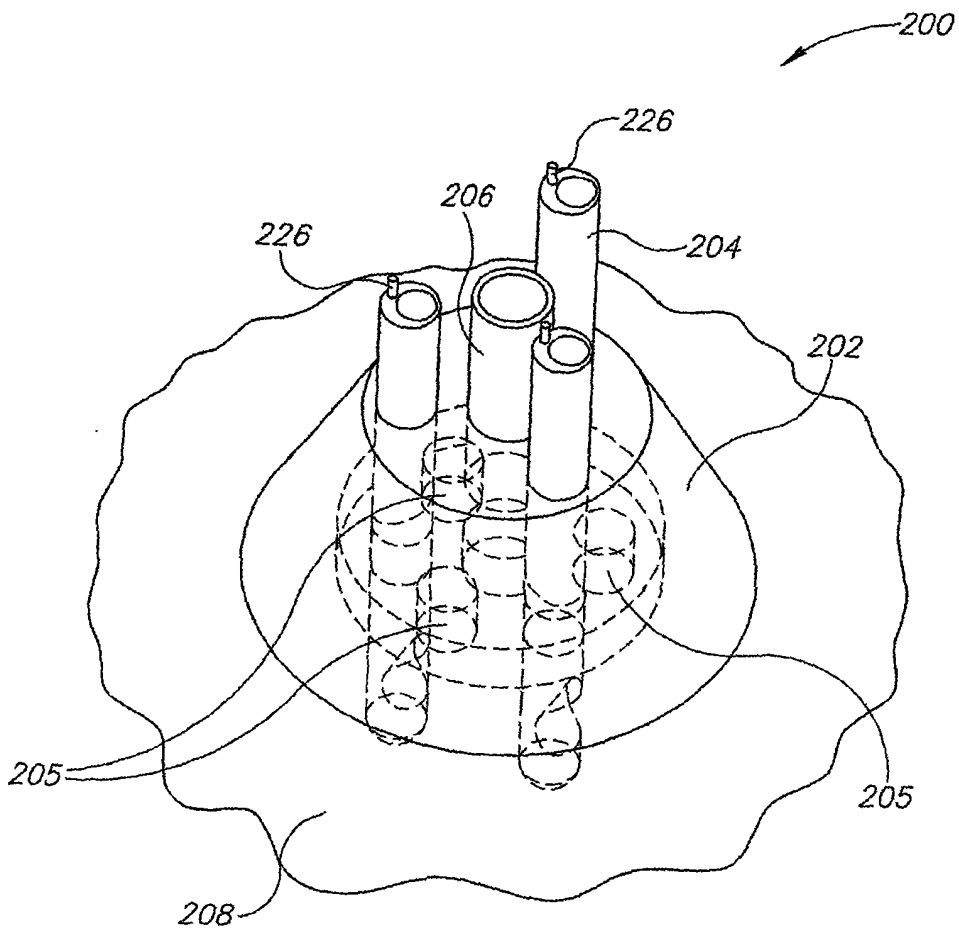


图 1B

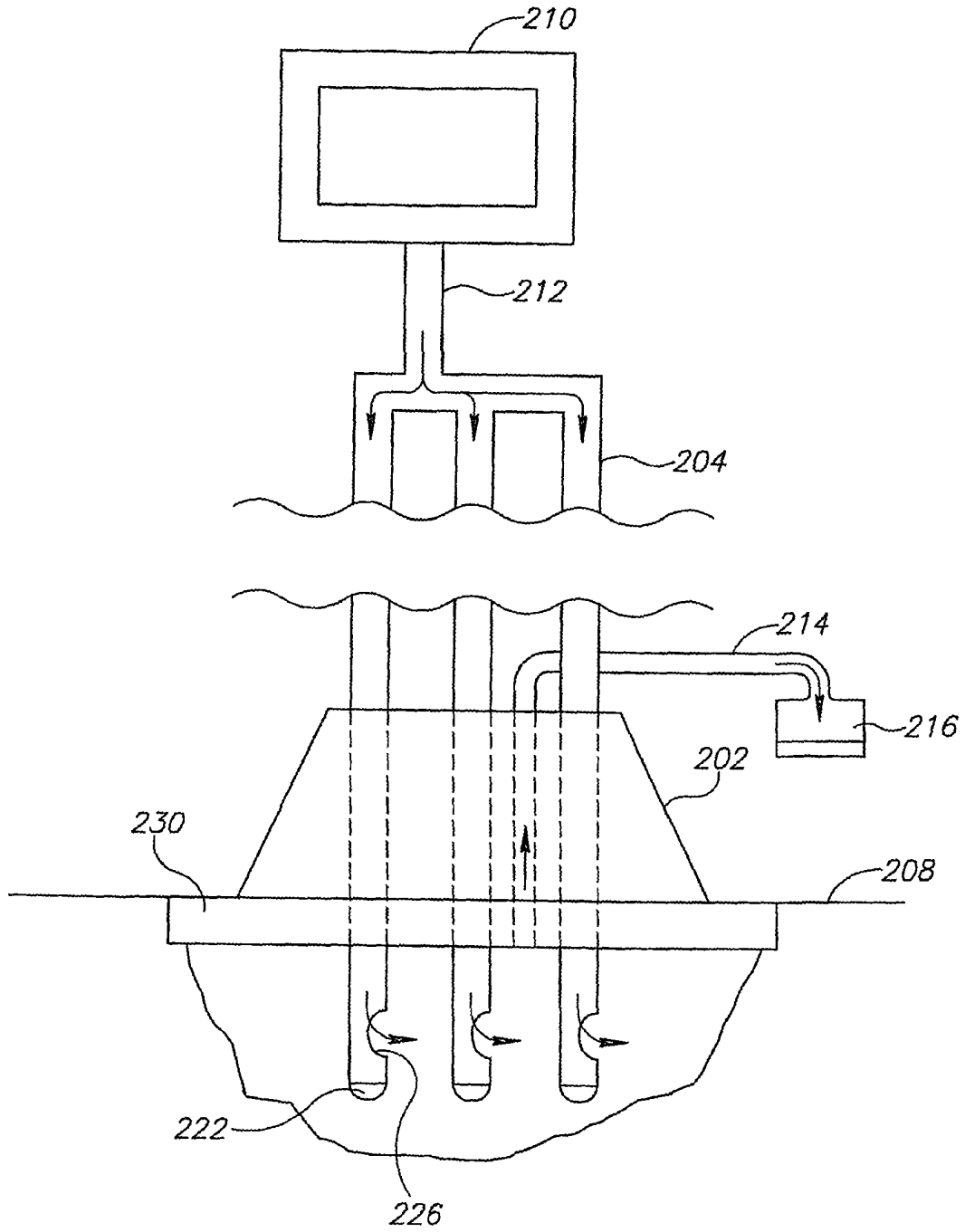


图 2

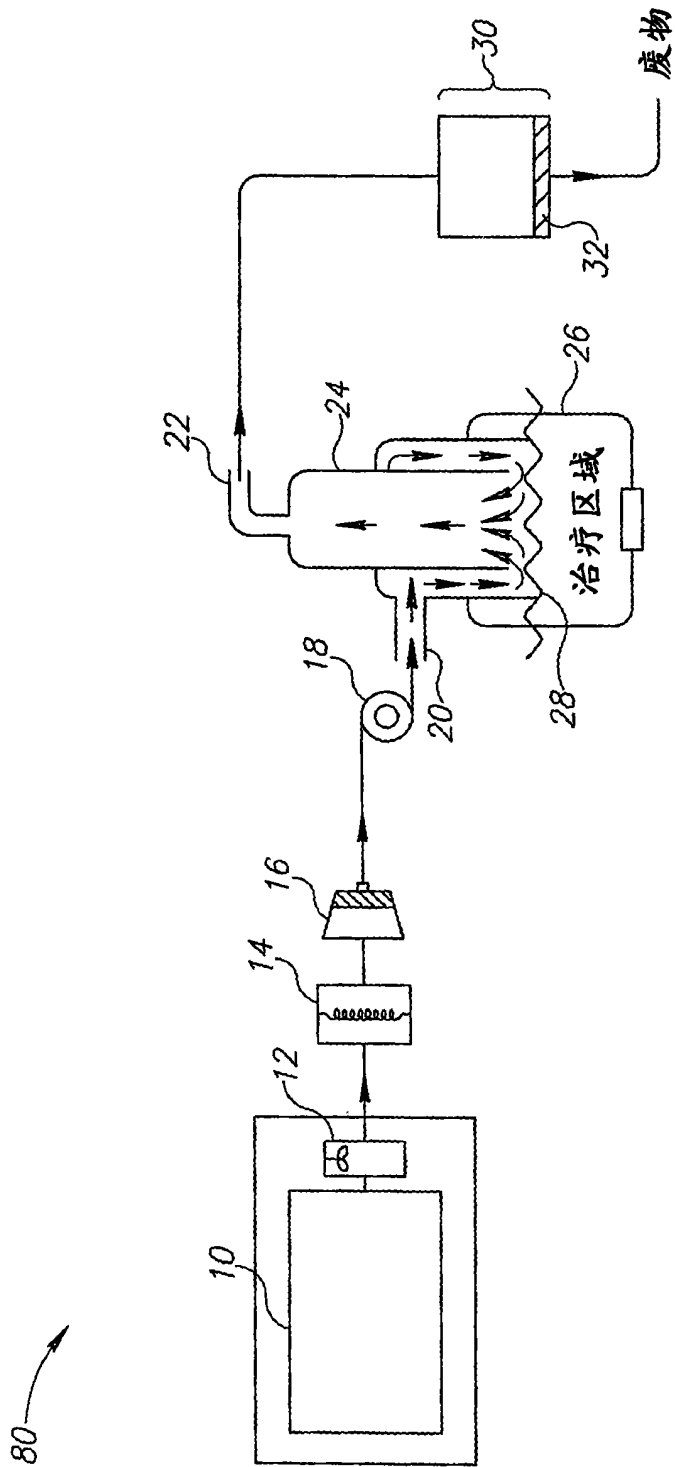


图 3

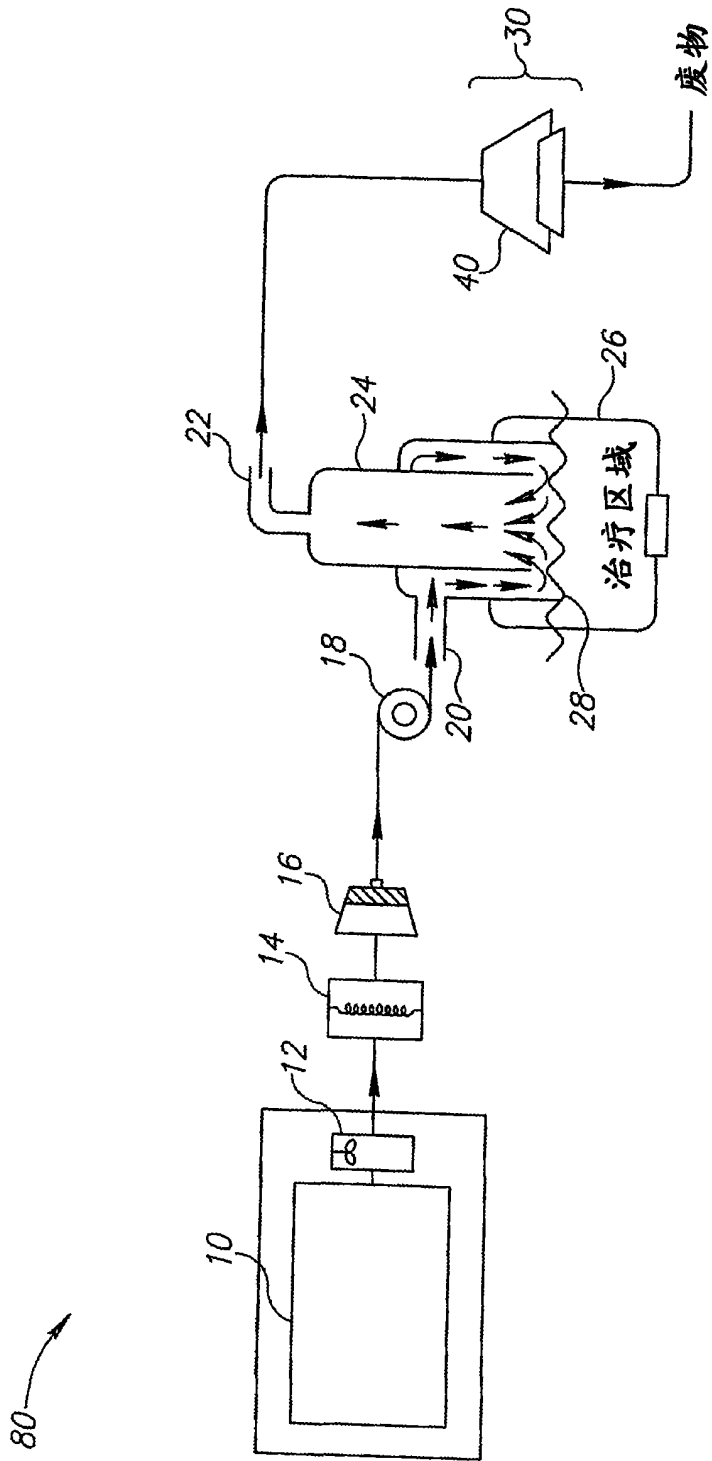


图 4

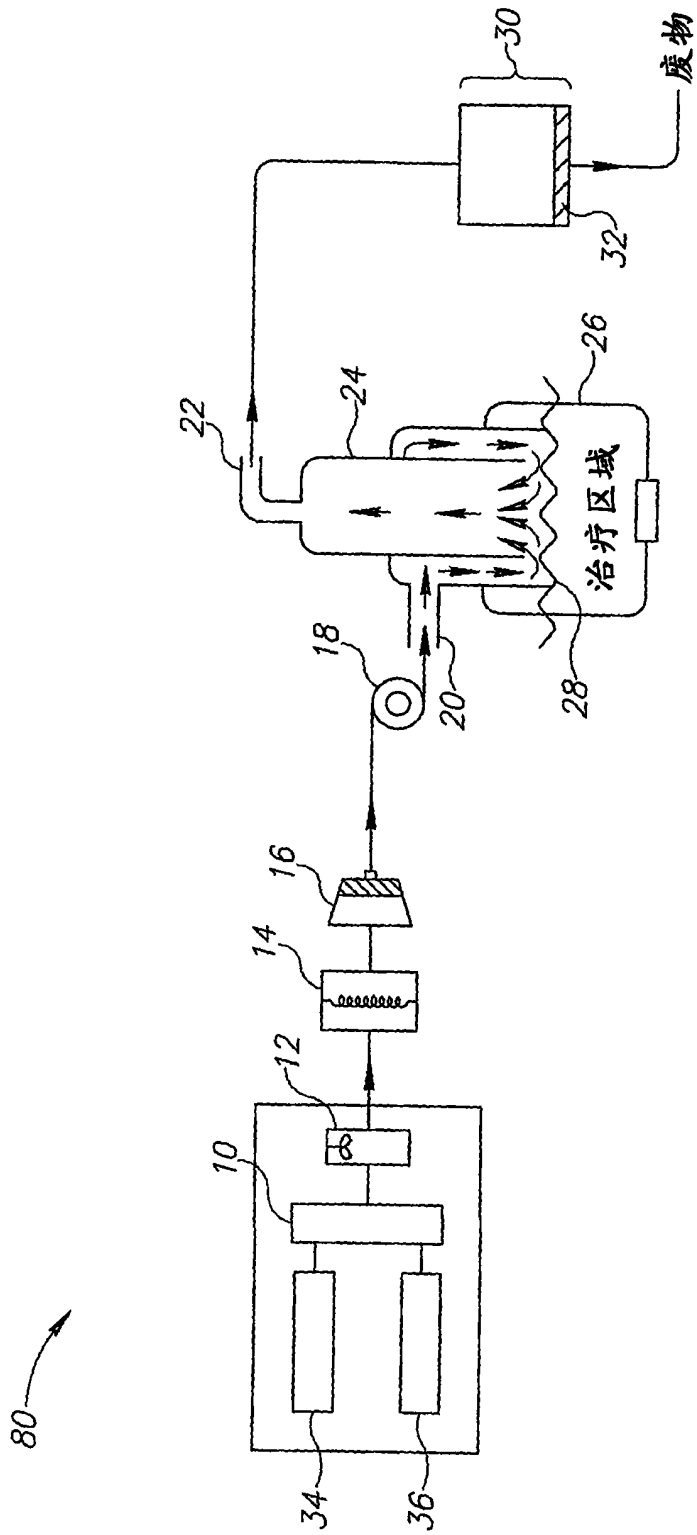


图 5

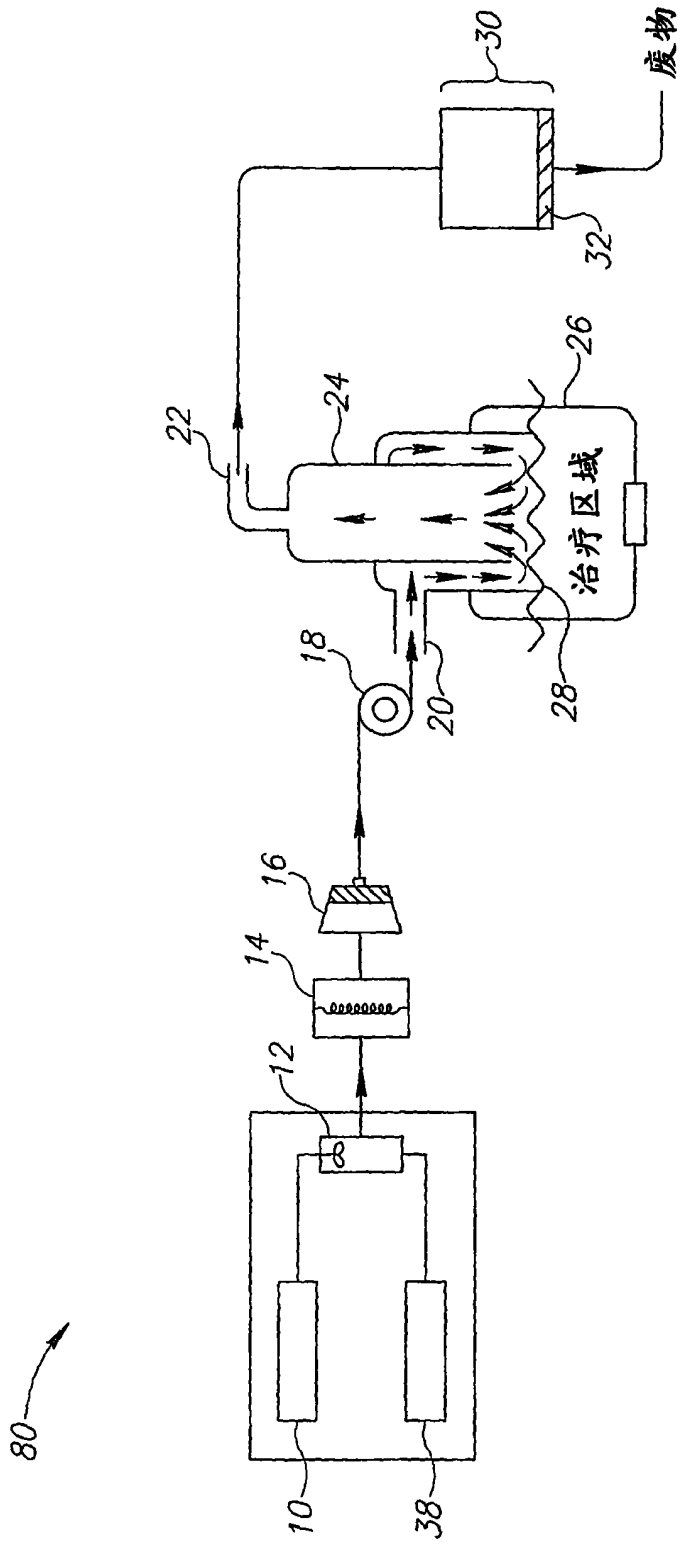


图 6

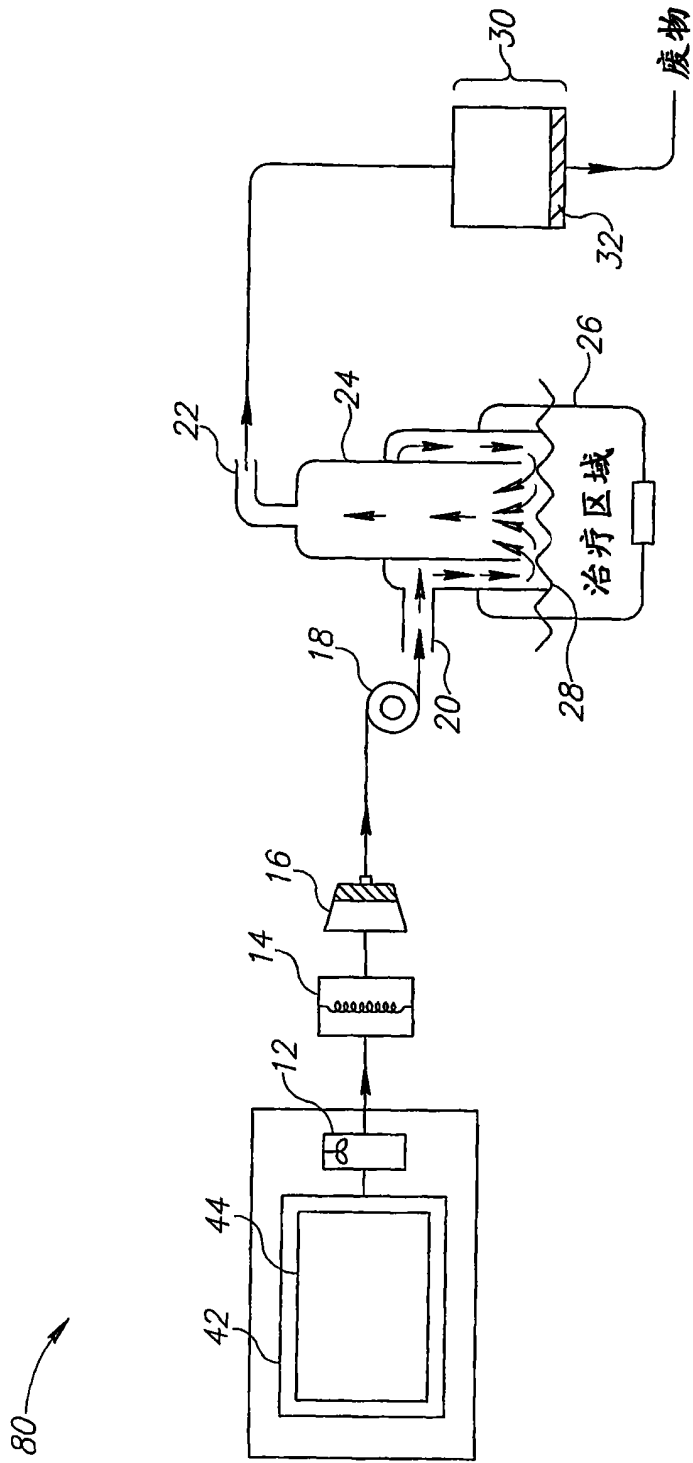


图 7

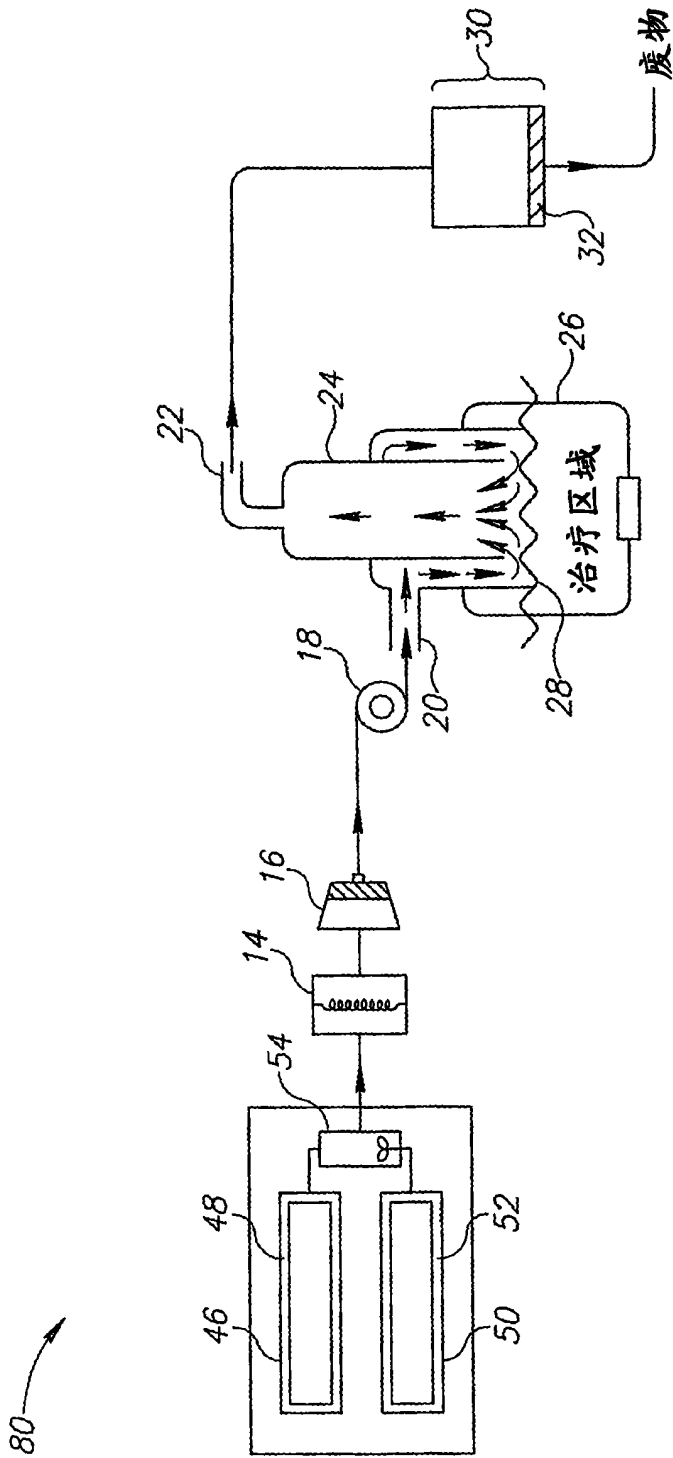


图 8

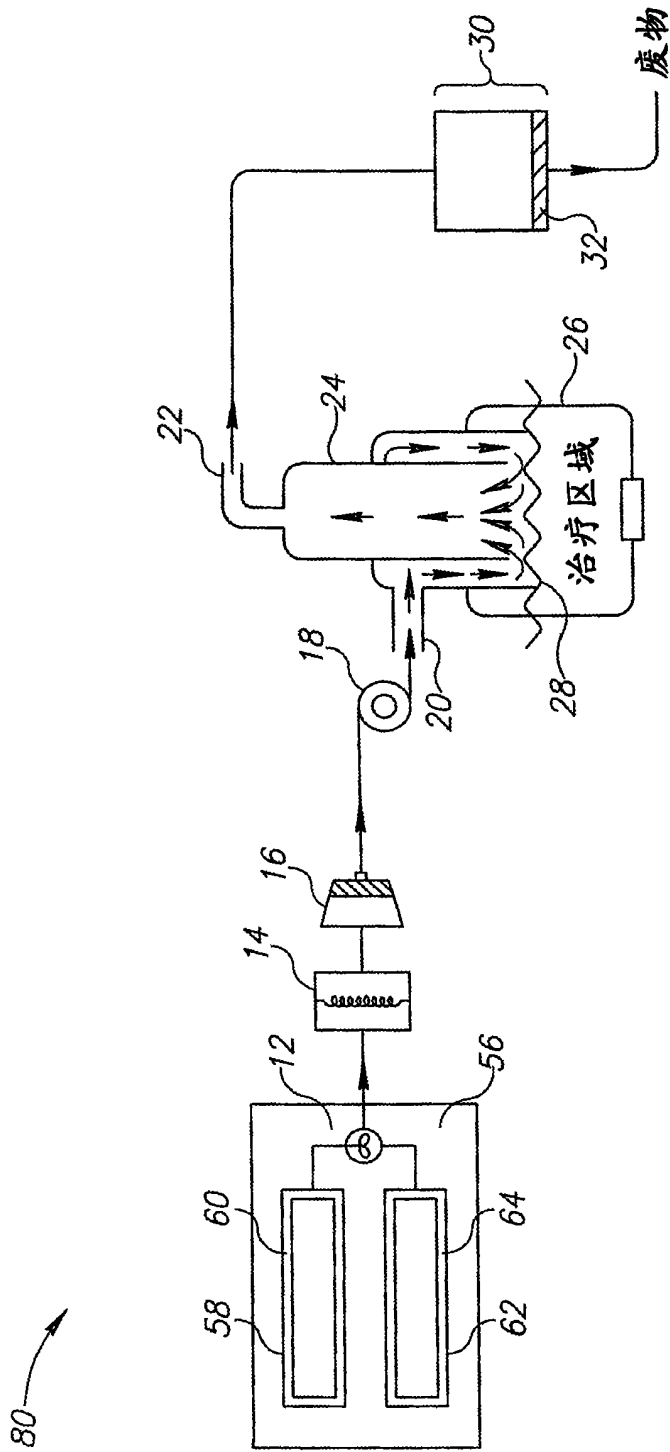


图 9

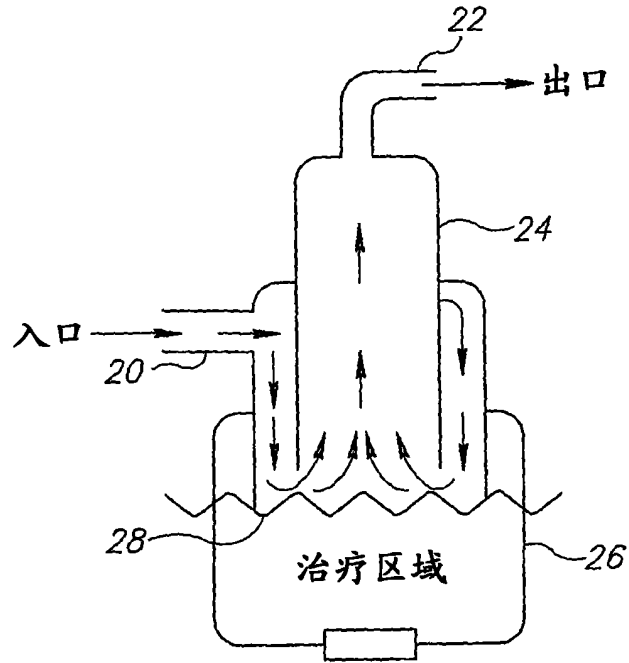


图 10

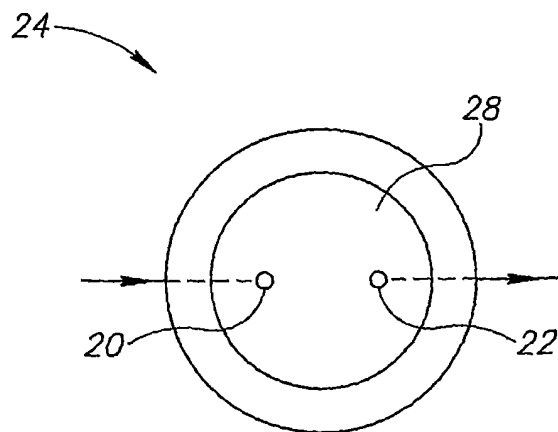


图 11

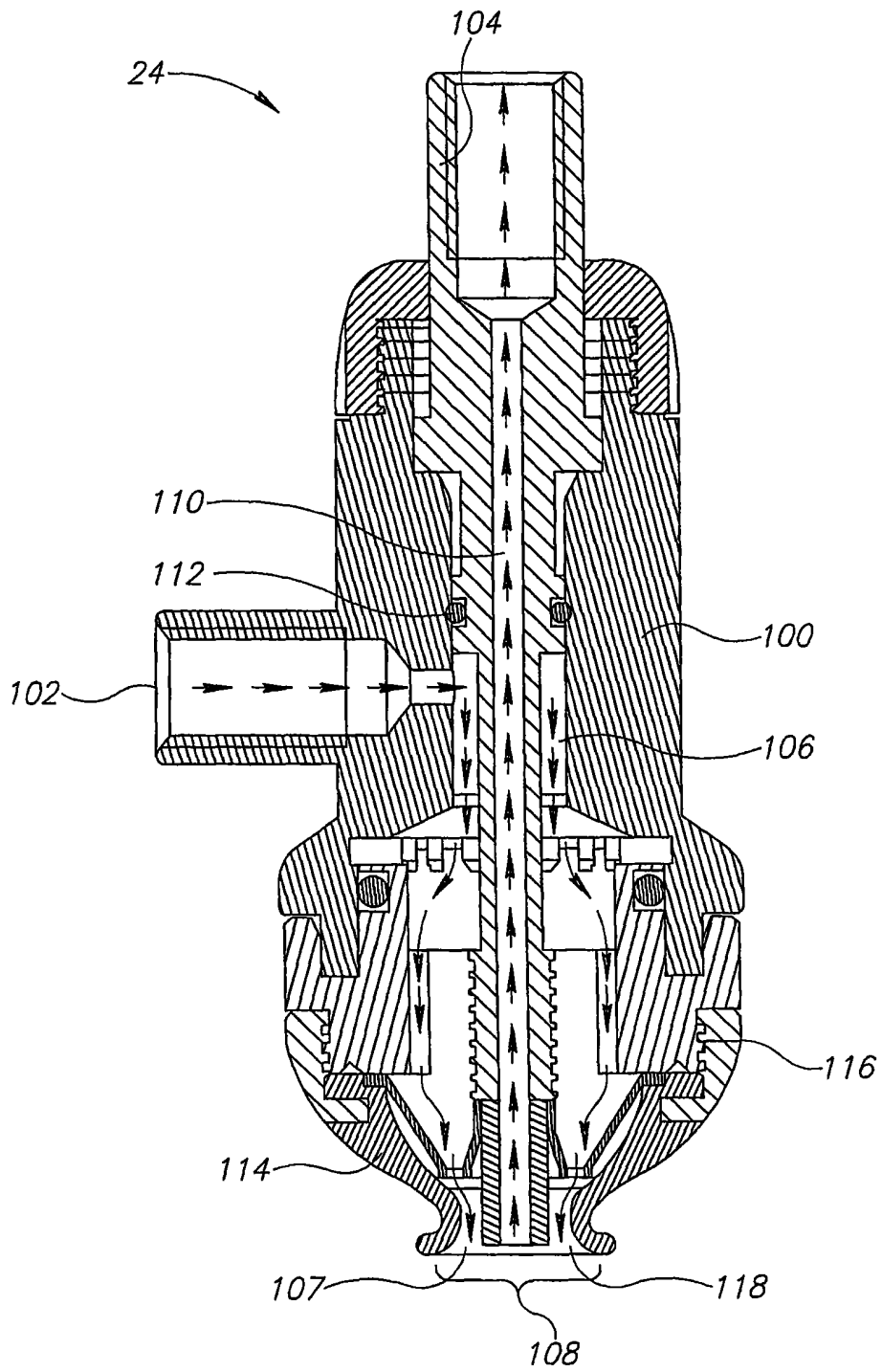


图 12



图 13A

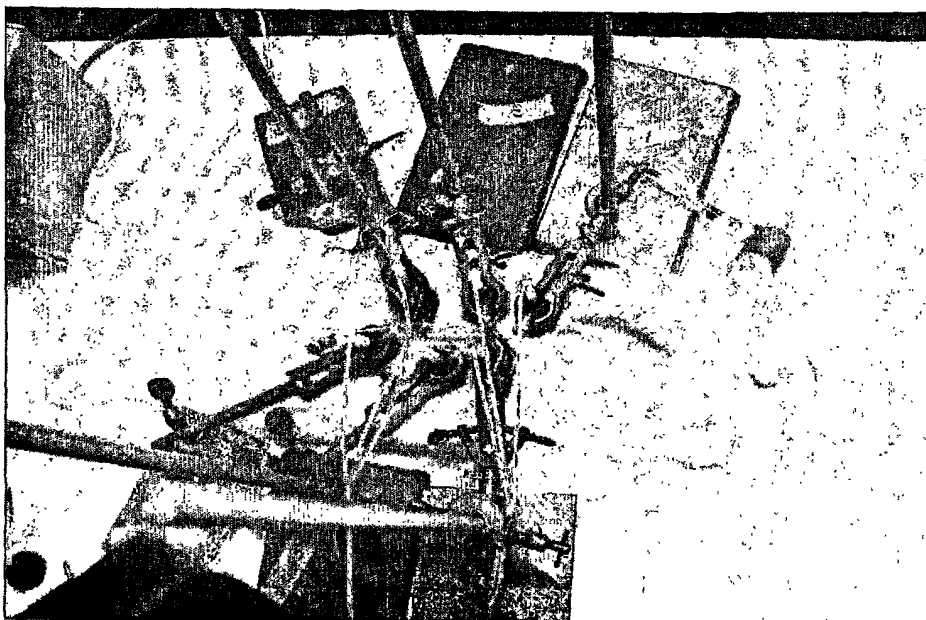


图 13B



图 14A

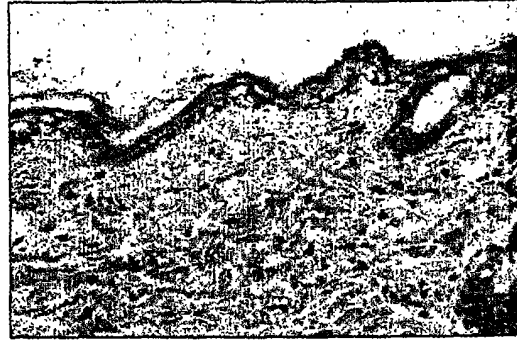


图 14B



图 14C

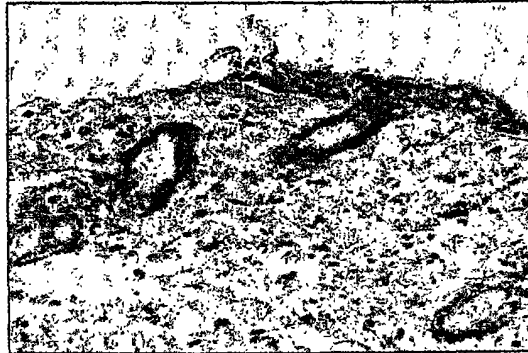


图 14D

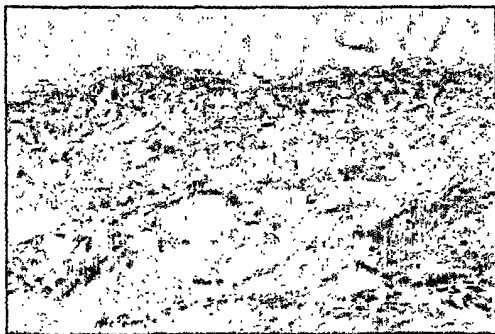


图 14E



图 15A

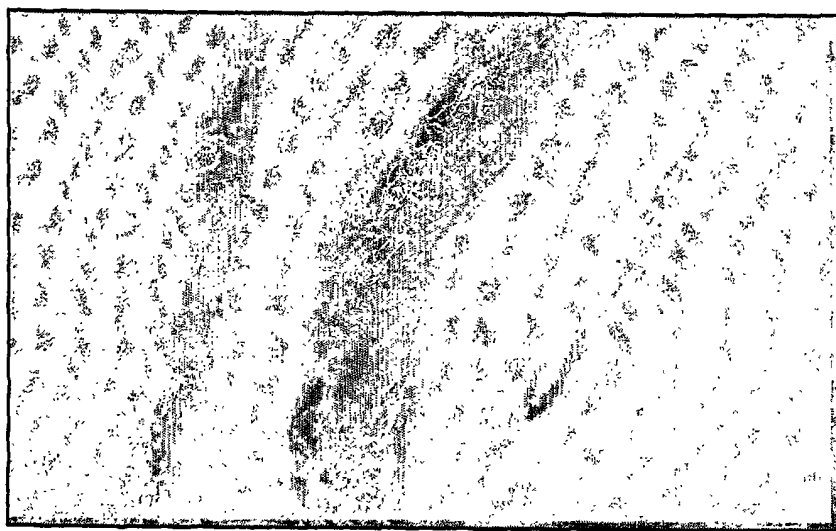


图 15B

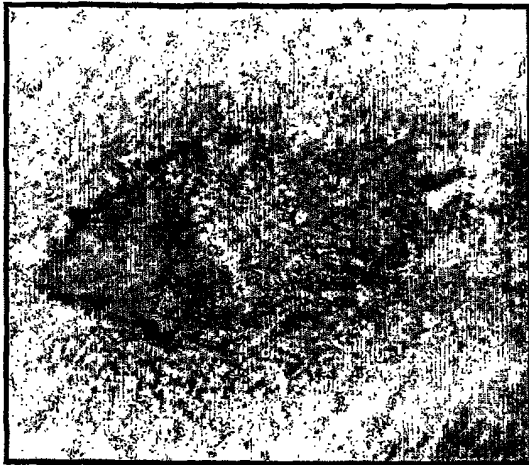


图 16A

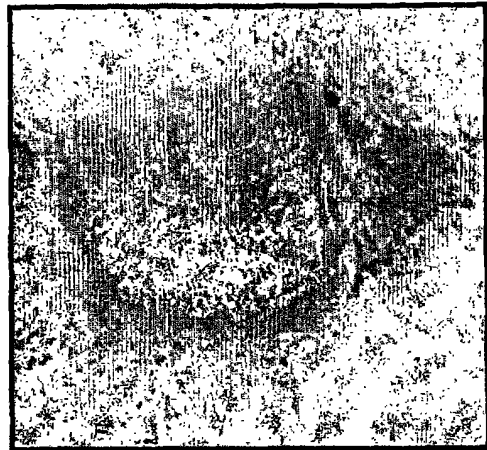


图 16B

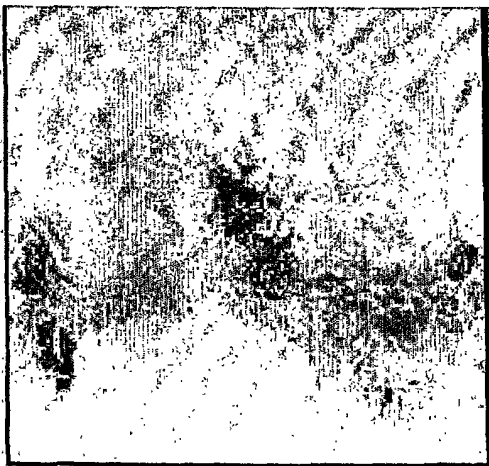


图 17A

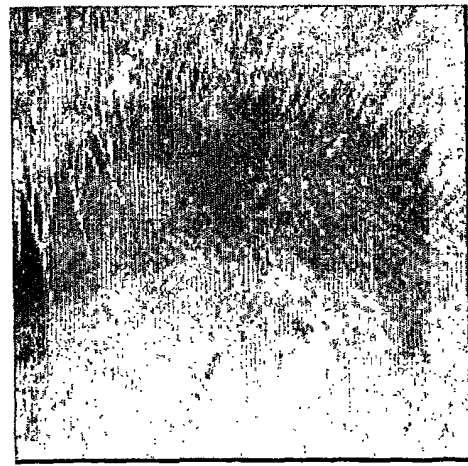


图 17B