

# 重症肌无力 研究进展

ZHONGZHENG  
JIWULI  
YANJIUJINZHAN

© 李衍滨 李秀华 主编



山东大学出版社



《重症肌无力研究进展》

# 重症肌无力研究进展

李衍滨 李秀华 主编

李玲 林云 吴敏 副主编

吴敏 李秀华 李玲 李玲

李玲

山东大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

重症肌无力研究进展/李衍滨,李秀华主编. —济南:山东大学出版社,2008.6

ISBN 978-7-5607-3663-1

I. 重…

II. ①李…②李…

III. 重症肌无力—诊疗

IV. R746.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 153256 号

山东大学出版社出版发行

(山东省济南市山大南路 27 号 邮政编码:250100)

山东省新华书店经销

济南景升印业有限公司印刷

787×1092 毫米 1/16 17.25 印张 399 千字

2008 年 6 月第 1 版 2008 年 6 月第 1 次印刷

定价:32.00 元

版权所有,盗印必究

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社营销部负责调换

## 英文缩略语表

AA	arachidonic acid	花生四烯酸
Ach	acetylcholine	乙酰胆碱
AChE	acetylcholine acetylhydrolase	乙酰胆碱酯酶
AChR	acetylcholine receptor	乙酰胆碱受体
AChR-Ab	acetylcholine receptor antibody	乙酰胆碱受体抗体
$\alpha$ -BTX	alpha-bungarotoxin	$\alpha$ -银环蛇毒素
APC	antigen-presenting cell	抗原呈递细胞
BoTX	botulinum toxin	肉毒杆菌毒素
CMAP	compound muscle action potential	肌肉复合动作电位
ChAT	choline acetyltransferase	胆碱乙酰基转移酶
CTL	cytotoxic T-lymphocyte	细胞毒性 T 细胞
CysLTs	cysteinyl leukotrienes	半胱氨酸白三烯
DC	dendritic cell	树突状细胞
EAMG	experimental autoimmune myasthenia gravis	实验性自身免疫性 重症肌无力
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附实验
EPSP	excitatory postsynaptic potential	兴奋性突触后电位
ERK	extracellular signal-regulated kinase	细胞外信号调节激酶
FACS	flow cytometric analysis	流式细胞术
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor	粒细胞-巨噬细胞集落 刺激因子
HLA	human leucocyte antigen	人类白细胞抗原
IFN- $\gamma$	interferon- $\gamma$	$\gamma$ 干扰素
IgG	immunoglobulin G	免疫球蛋白 G
IPI	interpotential interval	同一运动单位中不同肌纤维 电位间隔
IL-4	interleukin-4	白细胞介素 4
LDC	lymphoid DC	淋巴系来源的 DC
5-LO	5-lipoxygenase	5-脂氧酶



LPS	lipopolysaccharide	脂多糖
LTA4	leukotriene A4	白三烯 A4
LTS	leukotrienes	白三烯类
mAChR	muscarinic acetylcholine receptor	毒蕈碱型乙酰胆碱受体
MAP	muscle action potential	肌肉的动作电位
MCD	mean of consecutive difference	连续均差值
MDC	myeloid DC	髓系来源的 DC
MEPP	miniature end-plate potential	微小终板电位
MG	myasthenia gravis	重症肌无力
MHC- II	major histocompatibility complex II	主要组织相容性复合体-II
MLR	mix lymphocyte react	混合淋巴细胞反应
MRP1	multidrug resistance-associated protein 1	多药耐药相关蛋白 1
nAChR	nicotinic acetylcholine receptor	烟碱型乙酰胆碱受体
N K	natural killer	自然杀伤细胞
NMJ	neuromuscular junction	神经肌肉接头
NOD	nonobese diabetic	非肥胖性糖尿病
OD	optical density	光密度
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	外周血单个核细胞
PBS	phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲液
PGE <sub>2</sub>	prostaglandin E <sub>2</sub>	前列腺素 E <sub>2</sub>
PKA	protein kinase A	蛋白激酶 A
PPAR <sub>γ</sub>	peroxisome proliferator-activated receptor <sub>γ</sub>	过氧化物酶体增殖激活受体 <sub>γ</sub>
ODN	oligodeoxynucleotide	寡聚脱氧核糖核苷酸
RNS	repetitive nerve stimulation	重复神经电刺激实验
SCF	stem cell factor	干细胞生长因子
SFEMG	single fibre electromyography	单纤维肌电图
TCR	T cell receptor	T 细胞受体
TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
Tol DC	tolerogenic dendritic cell	致耐受树突状细胞
TPK	tyrosine protein kinase	酪氨酸蛋白激酶
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand	肿瘤坏死因子相关性 凋亡诱导配体
Treg	regulatory T cells	调节性 T 细胞
TREMs	triggering receptors expressed on myeloid cells	髓样细胞触发受体

# 目 录

第一章 概 述	(1)
第二章 神经肌肉接头解剖、生理、药理及信号转导	(15)
第一节 神经肌肉接头的解剖	(15)
第二节 乙酰胆碱受体	(19)
第三节 乙酰胆碱	(21)
第四节 神经肌肉接头的电生理传递	(24)
第三章 重症肌无力的免疫学基础	(38)
第一节 免疫系统简述	(38)
第二节 免疫系统的分子和细胞基础	(39)
第三节 树突状细胞	(49)
第四章 重症肌无力的发病机制	(89)
第一节 重症肌无力的遗传学发病机制	(90)
第二节 重症肌无力的自身抗体及发病机制	(92)
第三节 细胞因子在重症肌无力发病机制中的作用	(101)
第四节 细胞免疫、补体在重症肌无力发病中的作用	(109)
第五节 胸腺和肌细胞在重症肌无力发病机制中的作用	(113)
第六节 重症肌无力神经肌肉接头的信号转导异常	(116)
第五章 重症肌无力的临床表现	(131)
第一节 重症肌无力的临床表现	(131)
第二节 重症肌无力的临床分型和评分标准	(137)
第六章 重症肌无力的辅助检查	(145)
第一节 重症肌无力的电生理诊断	(145)



第二节	重症肌无力的生化检查·····	(151)
第三节	重症肌无力的病理学检查·····	(156)
<b>第七章</b>	<b>重症肌无力的诊断和鉴别诊断</b> ·····	(163)
第一节	重症肌无力的诊断·····	(163)
第二节	重症肌无力的鉴别诊断·····	(167)
<b>第八章</b>	<b>重症肌无力的治疗</b> ·····	(174)
第一节	重症肌无力的胆碱酯酶抑制剂治疗·····	(176)
第二节	重症肌无力的免疫抑制剂治疗·····	(178)
第三节	重症肌无力的胸腺切除术治疗·····	(189)
第四节	重症肌无力静脉内注射大量免疫球蛋白的治疗·····	(191)
第五节	重症肌无力的血液净化治疗·····	(192)
第六节	重症肌无力的免疫耐受治疗·····	(199)
第七节	特殊人群重症肌无力的治疗·····	(206)
第八节	重症肌无力危象的治疗·····	(208)
<b>第九章</b>	<b>重症肌无力的中医学诊治进展</b> ·····	(220)
第一节	重症肌无力的历代文献·····	(220)
第二节	重症肌无力的中医学认识·····	(225)
第三节	中医药治疗重症肌无力的临床研究·····	(229)
第四节	中医药治疗重症肌无力的实验研究·····	(233)
<b>第十章</b>	<b>重症肌无力患者的相关事项和预后</b> ·····	(243)
第一节	重症肌无力患者的心理状况·····	(243)
第二节	重症肌无力患者的用药禁忌·····	(244)
第三节	重症肌无力患者的护理·····	(245)
第四节	重症肌无力患者的预后和妊娠·····	(245)
<b>第十一章</b>	<b>实验性自身免疫性重症肌无力动物实验的进展</b> ·····	(247)
第一节	实验性自身免疫性重症肌无力动物模型的制备·····	(247)
第二节	细胞因子在实验性自身免疫性重症肌无力发病机制中的作用·····	(256)



# 第一章 概述

自 1672 年英国著名解剖及生理学家 Thomas Willis 报道一例吞咽困难妇女的症状而系统描述重症肌无力(Myasthenia gravis, MG)这一疾病以来,对该病的认识和进一步研究已有 300 余年的历史。但人们真正认识该病只有 100 年的时间,其中有 4 个关键的历史性阶段:20 世纪初开始详细了解重症肌无力的临床表现;30 年代开始将本病的病变定位在神经—肌肉接头处的突触前膜;60 年代初开始提出重症肌无力的本质与自身免疫有关;70 年代初把  $\alpha$ -银环蛇毒(alpha-bungarotoxin,  $\alpha$ -BTX)用于本病的研究后才真正阐明了其本质,认为其病变部位是在神经—肌肉接头处突触后膜上的乙酰胆碱受体。

流行病学调查,重症肌无力的发病率为(0.25~2.00)/10 万人口,普通人群罹病率为 5/10 万~12.5/10 万,未经治疗的患者 10 年内死亡率可高达 20%~30%(Vincent A, 2001; Thanvi BR, 2004)。

随着对重症肌无力的重视和进一步研究,人们逐渐认识到血浆中乙酰胆碱受体抗体(acetylcholine receptor antibody, AChR-Ab)在本病发病机理中的关键作用。20 世纪 70 年代,有人提取重症肌无力患者血液中的免疫球蛋白(IgG)转移到动物体内,导致实验动物出现急性肌无力症状(Toyka KV, 1975),并且实验动物神经肌肉接头中富含烟碱型乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)的突触后膜皱褶明显减少,局部有吞噬细胞的浸润。Wilson 等人发现血浆交换可以即刻改善重症肌无力患者的无力症状,并且疗效可以维持 2 个月,推断血浆中某些成分与重症肌无力发病有关。体外培养重症肌无力患者周围血淋巴细胞和骨髓细胞可以产生乙酰胆碱受体抗体,且抗体滴度与患者疾病严重程度成正比(Yoshikawa H, 2001),由此推断重症肌无力病人血中抗乙酰胆碱受体抗体可能为重症肌无力的发病原因。自 1973 年 Lindstrom J 用放射免疫法、1980 年 Norcross 用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)来检测乙酰胆碱受体抗体后,发现 85%~90% 全身型重症肌无力和 50%~60% 的眼肌型重症肌无力患者血清中烟碱型乙酰胆碱受体抗体阳性(Thanvi BR, 2004)。尽管目前认为重症肌无力患者体内乙酰胆碱受体抗体的绝对滴度与疾病严重程度不成正比(Lindstrom JM, 1998),尤其是不同病人的乙酰胆碱受体抗体的绝对滴度没有可比性,但对同一个病人来说,乙酰胆碱受体抗体滴度与其临床上肌无力严重程度密切相关,即重时高,轻时低。另外,患有重症肌无力母亲娩出的新生儿中有 15%~20% 会出现暂时性重症肌无力,致病原因是重症肌无力母亲血中乙酰胆碱受体抗体通过胎盘到胎儿血中,从而导致新生儿有



重症肌无力表现(Thanvi BR, 2004; Kostera-Pruszczyk A, 2005; Tellez-Zenteno JF, 2004)。若新生儿存活下来,则随着血清中乙酰胆碱受体抗体的降解而水平下降,其病情也随之渐趋好转,90%的患儿可望在2个月内完全恢复,其余10%可能在4个月内恢复(Papazian O, 1992; Polizzi A, 2000)。用重症肌无力病人血清,或用乙酰胆碱受体主动免疫而致实验性自身免疫性重症肌无力(experimental autoimmune myasthenia gravis, EAMG)动物血清中的免疫球蛋白输注给正常小鼠,则可致重症肌无力症状的被动转移;电子显微镜下观察发现重症肌无力病人和EAMG动物神经-肌肉接头处有IgG和补体C3免疫复合物的沉积(Engel AG, 1979)。

目前认为,乙酰胆碱受体抗体致病的机理有以下几个方面(Romi F, 2005; Thanvi BR, 2004; Ishizeki J, 2005):①乙酰胆碱受体抗体能够直接封闭乙酰胆碱受体的乙酰胆碱结合部位,竞争性抑制乙酰胆碱受体与乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)的结合,干扰乙酰胆碱受体的功能;②乙酰胆碱受体抗体间接封闭乙酰胆碱受体,乙酰胆碱受体 $\alpha$ -亚单位上既有乙酰胆碱受体抗体的主要免疫源区,也有Ach与乙酰胆碱受体的结合位点,尽管乙酰胆碱受体抗体的结合部位与Ach的结合位点不是同一位点,但乙酰胆碱受体抗体可通过与乙酰胆碱受体上非乙酰胆碱结合部位相结合而干扰乙酰胆碱受体与乙酰胆碱间的结合,即间接封闭乙酰胆碱受体上的Ach结合位点,从而抑制Ach对受体的直接兴奋作用,阻止神经肌肉间的电信息传递。③乙酰胆碱受体抗体通过与乙酰胆碱受体作用,继而加速了肌细胞的细胞摄粒作用(包括吞噬作用和吞饮作用)和乙酰胆碱受体的降解。④乙酰胆碱受体抗体可通过激活补体,引起补体依赖的乙酰胆碱受体和突触后膜的溶解破坏。还有部分患者检测不到突触后膜乙酰胆碱受体抗体,但免疫抑制剂或血浆交换治疗能够使血清乙酰胆碱受体抗体阴性的重症肌无力患者肌无力症状得到改善(Suzuki H, 2005),推测部分重症肌无力患者体内可能存在非乙酰胆碱受体抗体的致病成分,如肌肉特异性受体酪氨酸激酶(muscle-specific receptor tyrosine kinase, MuSK)抗体、斯里兰卡肉桂碱受体(ryanodine receptor, RyR)抗体、抗突触前膜受体(presynaptic membrane receptor, PsmR)抗体以及一些非IgG成分(Kurihara T, 2005; Vincent A, 2005; Farrugia ME, 2006; Oh SJ, 2006; Lu C-Z, 1991; Nemoto Y, 2005)。MuSK抗体属IgG抗体,与乙酰胆碱受体的降解有关(Newsom-Davis J, 2005)。RyR抗体与补体激活有关(Romi F, 2005)。PsmR抗体通过选择性阻断运动神经末梢的慢 $K^+$ 通道影响突触传递的突触前过程从而影响神经肌肉的信息传递(Shi Y-L, 1995; Xu K, 1998)。非IgG成分能够直接与一些变构部位结合,引起或增强了乙酰胆碱受体的失敏感(Spreadbury I, 2005)。

目前可以认为乙酰胆碱受体抗体在重症肌无力发病机制中起举足轻重作用,但亦观察到有细胞免疫和补体的参与。支持细胞免疫依赖性的证据有:乙酰胆碱受体抗体的产生是细胞免疫依赖性的(Tzartos SJ, 1998),乙酰胆碱受体抗体的产生依赖于 $CD4^+$ T辅助细胞;胸腺在重症肌无力发病中有重要作用,90%的病人有胸腺异常,其中70%重症肌无力病人伴有胸腺淋巴滤泡的增生,10%~15%重症肌无力病人伴有胸腺瘤(Vincent A, 1998)。重症肌无力病人胸腺生发中心内富含T、B两种淋巴细胞,B细胞能分泌抗体,而T细胞表面有乙酰胆碱受体的表型,胸腺中被烟碱型乙酰胆碱受体致敏的T淋巴细胞进入周围循环中引发B细胞烟碱型乙酰胆碱受体抗体的产生;胸腺的肌样细胞能诱导抗原

特异的 T 细胞增殖,有潜在的引起烟碱型乙酰胆碱受体抗体产生的抗原性和抗原提呈细胞的功能(Matsumoto MY,2004);重症肌无力患者胸腺细胞能分泌乙酰胆碱受体抗体(Katzberg HD,2001),将重症肌无力病人胸腺碎片转移到严重免疫缺陷鼠体内,能诱发实验动物出现重症肌无力的临床表现和病理、生理改变;T 细胞对产生抗体的调节作用依赖于一些细胞因子,如  $\alpha$ -干扰素、肿瘤坏死因子、白细胞介素-2 等(Zhang GX,2001;Huang WX,2000),敲除肿瘤坏死因子的小鼠能抵制电鳗电器官提取的乙酰胆碱受体诱导的实验性自身免疫性重症肌无力的产生(Huang WX,2000;Goluszko E,2002);摘除胸腺的动物不发生实验性自身免疫性重症肌无力;将重症肌无力病人或实验性自身免疫性重症肌无力动物的 T 淋巴细胞被动转移至小鼠,可出现重症肌无力症状。T 细胞致实验性自身免疫性重症肌无力的被动转移,提示实验性自身免疫性重症肌无力是一种 T 细胞依赖性的。支持补体参与重症肌无力的发病机制而且必要的证据有:重症肌无力病人活动期血清中补体含量减少,且其严重程度与临床肌无力的严重程度一致;电子显微镜下发现重症肌无力病人神经肌肉接头处有乙酰胆碱受体抗体 IgG 和补体 C3 免疫复合物的沉积,这可能是由于乙酰胆碱受体抗体与突触后膜上的乙酰胆碱受体结合后激活补体而破坏突触后膜;把重症肌无力病人的血清注入补体不足的小鼠,则其重症肌无力的被动转移没有成功。

目前认为重症肌无力是一种主要累及神经肌肉接头处突触后膜乙酰胆碱受体,由乙酰胆碱受体抗体介导的细胞免疫依赖性补体参与的自身免疫性疾病。临床主要表现为严重的肌肉无力,患者易于疲劳,晨轻暮重、活动后疲劳加重、休息后缓解为其特征性表现。症状常首先累及眼外肌,表现为眼睑下垂、眼球活动障碍、复视。颜面和延髓肌群受累时表现为苦笑面容、构音障碍、咀嚼、吞咽困难、呛咳。颈部肌群受累则抬头困难,四肢肌群受累表现为四肢活动力弱。严重者累及肋间肌等呼吸肌群,出现气短、呼吸困难,甚至死亡(Thanvi BR,2004)。重症肌无力的诊断主要依据下列特征:临床表现为朝轻暮重、活动后无力症状加重、休息后减轻的骨骼肌无力,病程可有加重、缓解趋势;治疗药物胆碱酯酶抑制剂有效;血清学检查乙酰胆碱受体抗体阳性;电生理检查显示神经肌肉电传导功能衰退,表现为低频重复电刺激的波幅递减,微小终板电位降低,单纤维肌电图上颤抖增宽、甚至阻滞(Rowland LP,1995)。

尽管轻症患者基本不影响生活质量,但重症肌无力仍是一个临床进展较为凶险的疾病,不积极治疗会引起严重后果。目前重症肌无力是一发病机理研究较为明确的自身免疫性疾病,其治疗也一直受到人们重视并日臻完善。1934 年 Walker MB 根据重症肌无力的发病机制与箭毒中毒相似,开始试用毒扁豆碱治疗重症肌无力并取得良好的治疗效果。1935 年, Viet HR 在美国波士顿总医院开始用口服或静脉注射新斯的明作为诊断和治疗重症肌无力的手段。目前新斯的明、吡啶斯的明等胆碱酯酶抑制剂仍是控制重症肌无力症状的一线药物,有在神经肌肉接头处迅速终止胆碱酯酶的作用而利于神经肌肉接头处的快速传导。胆碱酯酶抑制剂通过 Ach“过剩部分”的利用和 Ach 降解过程减慢两种机制,使突触间隙的 Ach 量增加,作用时间延长从而增强了与乙酰胆碱受体间的相互作用,有效地使用幸存的乙酰胆碱受体而改善重症肌无力病人神经肌肉接头处的传导障碍。但该类药物只能使症状缓解,并不能改变其根本的免疫病理过程,因而不能从根本上

控制病情的发展。而且,如果胆碱酯酶抑制剂使用过度,则可因 Ach 积聚、突触后膜持续的去极化而致肌无力加重,累及呼吸肌,出现胆碱能危象而危及生命。Tauda (Tauda 2001) 近来报道过量胆碱酯酶抑制剂可引起实验动物呼吸道平滑肌瘫痪,而且长期胆碱酯酶抑制剂治疗可以出现由于病人耐药而引发的肌无力危象。自 1939 年波士顿的 Blalock A 等首次报道 1 例伴胸腺瘤的重症肌无力女病人行胸腺切除后肌无力明显好转以来,胸腺切除被很多医生认为是治疗重症肌无力的首选治疗方案 (Leod AP, 2001)。在 1995 年汉城亚太地区神经病大会上也将胸腺摘除列为重症肌无力的首选治疗,尤其是可视性经胸腔镜胸腺切除术的开展,减小了手术创伤、缩短了住院周期、失血少,更容易被早期的病人所接受 (El-Dawlatly AA, 2005; Wagner AJ, 2006)。胸腺切除术的作用机制可能是去除了启动自身免疫的胸腺肌样细胞表面新的抗原决定簇乙酰胆碱受体,清除了被烟碱型乙酰胆碱受体致敏的能刺激 B 细胞分泌烟碱型乙酰胆碱受体抗体的 T 淋巴细胞和能分泌烟碱型乙酰胆碱受体抗体的 B 细胞,以及与免疫功能障碍有关的其他胸腺因素 (Sempowski G, 2001)。但手术是一个创伤性过程,胸腺切除有严格的适应证,手术本身也可加重重症肌无力的症状,所以病情严重者不能进行手术治疗,必须经其他治疗使病情得以稳定后再进行,且胸腺切除对晚发型重症肌无力的治疗效果不明显。自 1960 年 Simpson JA 提出重症肌无力的发病机制与免疫有关以来,免疫抑制剂治疗逐渐开始应用于临床并取得了较好的疗效。目前免疫抑制剂肾上腺皮质激素 (Schneider-Gold C, 2005) 和细胞毒药物 (Lavrnic D, 2005) 已成为治疗重症肌无力的常用药物。免疫抑制治疗可以通过调整自身免疫性疾病患者的免疫系统而控制病情的发展。肾上腺皮质激素可以通过抑制乙酰胆碱受体抗体及骨骼肌其他成分的抗体的合成,使突触前膜易释放乙酰胆碱从而使兴奋易于传递,促进终板再生使突触后膜的乙酰胆碱受体数目增加而控制病情的发展。细胞毒剂如环孢菌素 A、环磷酰胺、硫唑嘌呤等通过影响核酸的合成、直接杀伤或抑制免疫活性细胞等途径控制自身免疫病的进展 (Lin PT, 2005; Lavrnic D, 2005)。近年来又有一些新的免疫抑制药物试用于临床治疗,如麦考酚酸吗乙酯 (Mycophenolate mofetil) 可选择性阻断 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的增殖、他克莫司 (Tacrolimus) 可增强 RyR 相关的肌浆钙的释放、美罗华 (Rituximab) 可引起 B 细胞的衰竭而减少抗体的产生 (Romi F, 2005; Konishi T, 2005)。毫无疑问,免疫抑制治疗是重症肌无力治疗的一个重要的里程碑,但免疫抑制治疗也有不可避免的副作用,免疫抑制剂在抑制烟碱型乙酰胆碱受体特异性 T 细胞的同时也抑制了整个免疫系统,使免疫系统的正常防御功能下降,激素类药物停药后的反跳作用在重症肌无力病人身上同样存在,另外,长期肾上腺皮质激素治疗会引发严重的合并症诸如高血压、糖尿病、骨质疏松、白内障、体重增加、股骨头坏死等 (Thanvi BR, 2004)。细胞毒剂的副作用如白细胞、血小板减少,脱发,胃肠道反应,出血性膀胱炎等副作用限制了其广泛应用。1984 年开始有医生用静脉内注射免疫球蛋白治疗重症肌无力,按  $0.4\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  剂量静脉注射免疫球蛋白,在连续用 3~5 天,无力症状即明显改善 (Latov N, 2001; Dalakas MC, 2004; Lavrnic D, 2006)。静脉内注射大剂量的免疫球蛋白 (IVIg) 可以通过干扰烟碱型乙酰胆碱受体抗体与烟碱型乙酰胆碱受体的结合、调节 Fc 受体的表达和功能、干扰补体激活、调节 T 细胞和 B 细胞的激活、分化和效应器功能从而迅速取得临床疗效,无疑给重症肌无力危象的病人或难治性重症肌无力以生存的希望 (Mis-

ra N, 2005; Illa I, 2005; Fergusson D, 2005)。但免疫球蛋白为献血者血浆混合后提取制得, 费用昂贵, 虽经灭菌但仍无法完全避免因病毒性感染(如肝炎病毒、人免疫缺陷病毒 HIV、巨细胞病毒、细小病毒和 EB 病毒等)而患相应疾病的可能。

自 1976 年 Pinching AJ 首先报道血浆交换治疗使重症肌无力病人症状得以缓解后, 以血浆交换为基础的直接清除重症肌无力患者血液中的乙酰胆碱受体抗体的血液净化治疗不断改进(Song EY, 2004)。直接清除患者血液中的致病抗体, 能够即刻改善重症肌无力的症状, 使危重病人转危为安, 并可获得接受其他治疗的机会(Berlot G, 1998)。临床发现, 对免疫抑制剂无效的中、重度重症肌无力患者, 血液净化治疗效果优于静脉内注射免疫球蛋白(Ronager J, 2001)。目前的血液净化治疗主要有血浆交换和免疫吸附治疗两种方法。血浆交换需补充正常人的血浆, 有着与静脉输注免疫球蛋白同样的副作用, 且因血中免疫球蛋白的降低易继发感染, 另外, 低钙血症、过敏反应、凝血异常等副作用也常见。目前该疗法主要用于重症肌无力危象、胸腺摘除术前的准备和免疫抑制治疗的开始阶段及减药过程中病情恶化时的治疗。

为克服血浆交换的不足, 国内外一些医疗中心开始进行以较特异地清除乙酰胆碱受体抗体为目的的免疫吸附治疗, 并取得了一些经验。目前免疫吸附治疗以血浆免疫吸附治疗为主, 并尝试开发适合全血灌流免疫吸附治疗的免疫吸附剂, 以及进行高脂血症、中毒、急性肾衰等一些疾病的治疗(Yang KS, 2002; Garkavij M, 1996)。最早进行血浆分离免疫吸附治疗的是 Finn ES 于 1989 年利用琼脂糖偶联蛋白 A 和聚乙烯醇(PVA)偶联色氨酸两种吸附剂治疗重症肌无力患者, 发现可以较特异地吸附重症肌无力患者血浆中的致病抗体。随后, 日本一多中心临床协作组(Shibuya N, 1994)和加拿大两个血液净化中心(Benny WB, 1999)分别将这两种吸附剂用于临床取得了较好的临床效果。以色氨酸为配基的吸附剂(IM-TR)利用色氨酸与乙酰胆碱受体抗体的疏水作用将其清除, 在第 1、3、5、8、10 天分别进行治疗 1 个血浆体积, 共 5 次组成一疗程, 一次治疗后患者乙酰胆碱受体抗体下降 60%, 第一次治疗后的 4 小时, 临床症状即有明显改善(Shibuya N, 1994)。用蛋白 A 为配基的吸附剂治疗一次后, 血中乙酰胆碱受体抗体下降 14.8%~91.8%。后来又有一些学者应用以色氨酸为配体的吸附柱治疗重症肌无力, 也取得了较好的临床效果(Splendiani G, 2003; Hirata N, 2003)。Ptak J 用羊多克隆抗体制备的 Ig-Adsopak 免疫吸附柱治疗重症肌无力, 发现 60.9% 的乙酰胆碱受体抗体被清除(Ptak J, 2004; Ptak J, 2005)。Yeh JH 等(Yeh JH, 1999)用 Immusorba TR-350 作为吸附柱进行血浆灌流, 每个疗程包括 5 次灌流。每个疗程的 5 次免疫吸附后, 乙酰胆碱受体抗体滴度分别下降 74.6%、52.6%、43.3%、35.8% 和 36.5%, 故每 4 次免疫吸附作为一个疗程治疗重症肌无力比较理想。以上这些血浆免疫吸附治疗所用的免疫吸附剂都不是非常特异的, 在清除乙酰胆碱受体抗体的同时, 不可避免地清除了部分血浆中有益的 IgG、IgM、和 IgA(Ptak J, 2004)。于是用乙酰胆碱受体或者适当的乙酰胆碱受体片段制备的特异性较高的免疫吸附柱逐渐开始应用于临床, 这一类免疫吸附柱首先由 Takamori 等人用 Torpedo 乙酰胆碱受体  $\alpha$ -亚单位 183~200 合成肽制备(Takamori M, 1996; Takamori M, 2001)。Nakaji S 等(Nakaji S, 2003)于 2003 年也应用这一特异性较高的免疫吸附柱 Medisorba MG-50 进行血浆灌流治疗重症肌无力病人, 能特异地减少乙酰胆碱受体抗体



(主要是封闭抗体)的滴度。此吸附柱以共价结合的合成肽作为配体,此肽的氨基酸序列由 Torpedo Torpedo 乙酰胆碱受体  $\alpha$ -亚单位 183~200 序列中变化得到,该肽含有乙酰胆碱受体的配体结合位点,既是乙酰胆碱在乙酰胆碱受体的结合部位,也是乙酰胆碱受体抗体的靶位点。因而利用此配体与重症肌无力致病性乙酰胆碱受体抗体的特异性亲和力可将致病性乙酰胆碱受体抗体特异性清除。此吸附柱虽然特异性较高,但因为大部分乙酰胆碱受体抗体是高度结构依赖性的,而且此肽是一个非人源性的合成小片段肽,故该吸附柱的免疫吸附能力有限。用自然的人乙酰胆碱受体或与自然的人乙酰胆碱受体结构相似的乙酰胆碱受体大的重组片段制备免疫吸附剂是最好的,但人的乙酰胆碱受体不可能大量得到,因此有近似结构的重组乙酰胆碱受体片段得到了较多的应用。Psaridi-Linardaki L 等人用人肌肉乙酰胆碱受体  $\alpha$ -亚单位的 N 末端细胞外区域( $\alpha 1 \sim 210$ , 该区域包含了抗体的主要免疫源区 67~76)制备的特异性吸附柱进行血浆免疫吸附治疗 50 个病人,平均清除了 35% 的乙酰胆碱受体抗体,其中有 10 个病人的乙酰胆碱受体抗体清除率达 60%~94%,其临床症状也得到了相应的改善(Psaridi-Linardaki L, 2005)。

通过血浆免疫吸附治疗清除了血清中大量乙酰胆碱受体抗体后,重症肌无力患者的临床症状和电生理功能也相应得到了明显改善。Grob D 等(Grob D, 1995)用血浆免疫吸附治疗 16 例重症肌无力病人,共接受 4 次的全程治疗的 14 个病人都在吸附后 42 小时开始肌力改善,在第 4 次吸附后 4 天达到高峰,肌力的改善可持续 6~8 周或更长时间。

血浆免疫吸附治疗需要高亲和性配体制备的免疫吸附过滤柱及血浆分离器。使重症肌无力患者血液以一定速度通过血浆分离器,然后使分离出的血浆以一定速度进入吸附柱,最后将吸附后的血浆与分离出的血细胞一起回输患者体内,在操作过程中加肝素抗凝。血浆免疫吸附治疗重症肌无力,能较特异地吸附乙酰胆碱受体抗体,血浆中的其他成分破坏较少,可以不补充异体血浆,提高了治疗的安全性,同时降低了治疗费用。但血浆分离器为大型仪器,血浆分离装置本身存在材料的血液相容性问题,患者血液接触异物物质越多,血液系统破坏越严重。所以,减少体外循环路径、降低仪器费用是进一步改善免疫吸附治疗的方向。

目前,国际上已出现以多聚丙烯酸、活性炭、Hexadecyl、多黏菌素 B(Polymyxin B)等为配基的吸附剂进行直接全血灌流免疫吸附治疗系统性红斑狼疮、高脂血症、药物中毒、肝昏迷、急性肾衰、脓毒血症的报道(Yang KS, 2002; Garkavij M, 1996)。也有一些学者利用 avidin(抗生物素蛋白)-biotin(生物素)的原理,用共价结合了 avidin 的凝胶吸附柱全血免疫吸附灌流直接从未分离的全血中清除生物素化的单克隆抗体(MAbs)。

与血浆免疫吸附治疗相比,全血免疫吸附灌流治疗与其疗效相同,但在技术上更简单、安全和可行。全血免疫吸附灌流系统只需一个蠕动泵、一个吸附柱及管道,不需要血浆分离器先将血浆分离出来再行吸附,减少了体外循环血量和治疗时间,避免了血浆分离时溶血等不足。考虑到全血免疫吸附灌流治疗的技术优势,如仅用一个蠕动泵能更好地控制体外血液循环、在管道和吸附柱中更低的血液压力、灌流过程中没有在导管中发生阻断或停止等,全血免疫吸附灌流治疗比血浆免疫吸附治疗更有可行性。

全血免疫吸附灌流治疗的关键是有合适的吸附剂,因而研制、优化出一种高效、低价适于全血灌流治疗重症肌无力的吸附剂并进行全血灌流治疗,从而使重症肌无力治疗进

一步完善,是将来重症肌无力治疗的免疫吸附治疗的方向。目前全血免疫吸附灌流治疗重症肌无力病人的研究尚处在试验阶段。杨丽和李秀华等人已经在 24 种吸附剂的基础上,优化出以球形纤维素为载体、L-色氨酸为配基的吸附剂。此种吸附剂对乙酰胆碱受体抗体的吸附率最高,载体色氨酸的固定量与吸附剂对抗体的吸附能力成正相关,并已用此吸附剂全血灌流治疗主动免疫型和被动转移型 EA 重症肌无力模型兔,灌流 2 小时,乙酰胆碱受体抗体下降了 46.8%~48.5%,其临床症状明显改善,神经肌肉电传导功能也明显提高,取得了较好的治疗效果。该吸附剂对血细胞、电解质、血脂没有明显的吸附或破坏作用,血液相容性较好,取得了较好的治疗效果。不足之处是色氨酸对其他的大分子球蛋白也有一定的吸附作用(杨丽,2004;Yang L,2004;李秀华,2007)。

### 参考文献

1. 巴德年. 当代免疫学技术与应用. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998, 72~79
2. 坎德尔(Kandel ER), Schwartz JH, Jessell TM. 神经科学精要, 影印本. 北京: 科学出版社, 2003, 198~209
3. 孔德领, 代军, 陈长治等. 球形纤维素固定化 DNA 制备免疫吸附剂. 高等学校化学学报, 2000, 12, 21(12): 1848~1851
4. 李秀华, 程焱, 杨丽等. 全血灌流免疫吸附治疗被动转移型实验性自身免疫性重症肌无力的研究. 中风与神经疾病杂志 2007, 24(5): 582~585
5. 李秀华, 程焱, 杨丽. 免疫吸附法治疗重症肌无力的研究进展. 中国现代神经疾病杂志 2007, 7(5): 458~460
6. 卢祖能, 曾庆杏, 李承晏等. 实用肌电图学. 北京: 人民卫生出版社, 2000
7. 王传华, 冷希岗. 生物材料诱发血栓形成机制的研究进展. 国外医学. 生物医学工程杂志, 1998, 21(2): 1~7
8. 许贤豪. 神经免疫学(第二版). 北京: 北京医科大学协和医科大学联合出版社, 2000
9. 杨丽, 程焱. 全血灌流吸附治疗重症肌无力的实验研究. 中华急诊医学杂志, 2004, 13(10): 670~673
10. 杨丽, 程焱. 乙酰胆碱受体  $\alpha$ -亚单位 125~147 段多肽致实验性自身免疫性重症肌无力. 中华神经科杂志, 2003, 26(1): 32~34
11. 姚泰. 人体生理学(第三版). 人民卫生出版社, 2001, 145~154
12. Batocchi AP, Evoli A, Di Schino C, et al. Therapeutic apheresis in myasthenia gravis. Ther Apher, 2000, 4(4): 275-279
13. Benny WB, Sutton MC, Oger J, et al. Clinical evaluation of a staphylococcal protein A immunoadsorption system in the treatment of myasthenia gravis patients. Trans (Prac, 1999, 39: 682-687



14. Berlot G, Tomasini A, Silvestri L, et al. Plasmapheresis in critically ill patient. *Kidney Int Suppl*, 1998, 66: S178-181
15. Braun N, Bosch T. Immunoabsorption, current status and future developments. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, 9(9): 2017-2038
16. Burges J, Vincent A, Molenaar PC, et al. Passive transfer of seronegative myasthenia gravis to mice. *Muscle Nerve*, 1994, 17(12): 1393-1400
17. Chang CC, Lee CY. Isolation of neurotoxins from the venom of *Bungarus multicinctus* and their modes of neuromuscular blocking action. *Arch Int Pharmacodyn*, 1963; 144: 241-257
18. Channing L. Hinman, Regina Stevens-Truss. In-line affinity chromatographic removal of specific antibody from rabbits with experimental myasthenia gravis as a prelude to immunotherapy. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 1998, 20(2): 233-249
19. Channing L. Hinman, Richard A. Hudson, C. Lynne Burek, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for antibody against acetylcholine receptor. *J Neurosci Meds*, 1983, 9: 141-155
20. Chu NS. Contribution of a snake venom toxin to myasthenia gravis: the discovery of alpha-bungarotoxin in Taiwan. *J Hist Neurosci*, 2005, 14(2): 138-148
21. Costa J, Evangelista T, Conceicao I, et al. Repetitive nerve stimulation in myasthenia gravis—relative sensitivity of different muscles. *Clin Neurophysiol*, 2004, 115(12): 2776-2782
22. El-Dawlatly AA, Al Kattan K, Hajjar W, et al. Anesthetic implications for video assisted thoracoscopic thymectomy in myasthenia gravis. *Middle East J Anesthesiol*, 2005, 18(2): 339-345
23. Engel AG, Sakakibara H, Sahashi K, et al. Passively transferred experimental autoimmune myasthenia gravis. Sequential and quantitative study of the motor end-plate fine structure and ultrastructural localization of immune complexes (IgG and C3), and of the acetylcholine receptor. *Neurology*, 1979; 29: 179-188
24. Fadul JEM, Alarabi AA, Wikstrom B, et al. Identification of complement activators and elucidation of the fate of complement activation products during extracorporeal plasma purification therapy. *J Clin Apheresis*, 1998; 13: 167-173
25. Fambrough DM, Drachman DB, Saryamurti S. Neuromuscular junction in myasthenia gravis: decreased acetylcholine receptors. *Science*, 1973; 176: 189-190
26. Farrugia ME, Kennett RP, Newsom-Davis J, et al. Single-fiber electromyography in limb and facial muscles in muscle-specific kinase antibody and acetylcholine receptor antibody myasthenia gravis. *Muscle Nerve*, 2006, 33(4): 568-70
27. Fergusson D, Hutton B, Sharma M, et al. Use of intravenous immunoglobulin for treatment of neurologic conditions: a systematic review. *Transfusion*, 2005, 45(10):

- 1640-1657
28. Finn ES, Eyvind L. Plasma exchange with selective immunoadsorption of anti-acetylcholine receptor antibodies. *J Neuroimmunology*, 1989, 22: 123-127
  29. Fostieri E, Tzartos SJ, Berrih-Aknin S, et al. Isolation of potent human Fab fragments against a novel highly immunogenic region on human muscle acetylcholine receptor which protect the receptor from myasthenic autoantibodies. *Eur J Immunol*, 2005, 35(2): 632-643
  30. Garkavij M, Tennvall J, Strand SE, et al. Extracorporeal immunoadsorption from whole blood based on the avidin-biotin concept. *Acta Oncologica*, 1996, 35(3): 309-312
  31. Goluszko E, Deng C, Poussin MA, et al. Tumor necrosis factor receptor p55 and p75 deficiency protects mice from developing experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Neuroimmunol*, 2002, 122(1-2): 85-93
  32. Gray WP, Keohane C, Kirwan WO. Motor nerve transplantation. *J Neurosurg*, 1997, 87: 615-624
  33. Grob D, Simpson D, Mitsumoto H, et al. Treatment of myasthenia gravis by immunoadsorption of plasma. *Neurology*, 1995, 45, 338-344
  34. Haupt WF, Rosenow F, van der Ven C, et al. Immunoadsorption in Guillain-Barre syndrome and myasthenia gravis. *Ther Apher*, 2000, 4(3): 195-197
  35. Hirata N, Kuriyama T, Yamawaki N. Immusorba TR and PH. *Ther Apher Dial*, 2003, 7(1): 85-90
  36. Hoedemaekers AC, Verschuuren JJ, Spaans F, et al. Age-related susceptibility to experimental autoimmune myasthenia gravis: immunological and electrophysiological aspects. *Muscle Nerve*, 1997, 20(9): 1091-1101
  37. Huang WX, Huang P, Fredrikson S, et al. Decreased mRNA expression of TNF-alpha and IL-10 in non-stimulated peripheral blood mononuclear cells in myasthenia gravis. *Eur J Neurol*, 2000, 7(2): 195-202
  38. Hughes T. The early history of myasthenia gravis. *Neuromuscul Disord*, 2005, 15(12): 878-886
  39. Illa I. IVIg in myasthenia gravis, Lambert Eaton myasthenic syndrome and inflammatory myopathies: current status. *J Neurol*, 2005, 252 Suppl 1: I14-18
  40. Ishizeki J, Nishikawa K, Kunimoto F, et al. Postoperative myasthenic crisis successfully treated with immunoadsorption therapy. *J Anesth*, 2005, 19(4): 320-322
  41. Karlin A, Akabas MH. Toward a Structural Basis for the Function of Nicotinic Acetylcholine Receptors and Their Cousins. *Neuron*, 1995, 15: 1231-1244
  42. Karussis DM, Lehmann D, Brenner T, et al. Immunomodulation of experimental autoimmune myasthenia gravis with Linomide. *Journal of Neuroimmunology*, 1994, 55: 187-193

43. Katzberg HD, Aziz T, Oger J. In myasthenia gravis cells from atrophic thymus secrete acetylcholin receptor antibodies. *Neurology*, 2001, 27(4): 572-573
44. Katz J, Barohn RJ. Update on the evaluation and therapy of autoimmune neuromuscular junction disorders. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 2001, 12(2): 381-397
45. Kiproff DD, Golden P, Rohe R, et al. Adverse reactions associated with mobile therapeutic apheresis: analysis of 17,940 procedures. *J Clin Apheresis* 2001, 16(3): 130-133
46. Konishi T, Yoshiyama Y, Takamori M, et al. Long-term treatment of generalised myasthenia gravis with FK506 (tacrolimus). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005 Mar; 76(3): 448-450
47. Kostera-Pruszczyk A, Emeryk-Szajewska B. Myasthenia gravis and pregnancy. *Ginekol Pol*, 2005, 76(2): 122-126
48. Krampfl R, Dengler R, Bufler J. Block of recombinant nicotinic receptor channels by IgG from myasthenic gravis. *Muscle Nerve*, 2002, 25(3): 433-437
49. Kurihara T. Seronegative myasthenia gravis and muscle atrophy of the tongue. *Internal medicine*, 2005, 44(6): 536-537
50. Larner AJ. The place of the ice pack test in the diagnosis of myasthenia gravis. *Int J Clin Pract*, 2004, 58(9): 887-888
51. Lars S, Jerker P. Preparation of adsorbents for biospecific affinity chromatography. *J Chromatography*, 1974, 90: 87-98
52. Latov N, Chaudhry V, Koski CL, et al. Use of intravenous gamma globulins in neuroimmunologic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 108(4 Suppl): S126-132
53. Lavernic D, Romic M, Kacar A, et al. High doses of immunoglobulin G in the therapy for severe forms of myasthenia gravis and Guillain-Barre syndrome. *Pregl*, 2006, 63(1): 37-42
54. Lavernic D, Vujic A, Rakocevic-Stojanovic V, et al. Cyclosporine in the treatment of myasthenia gravis. *Acta Neurol Scand*, 2005, 111(4): 247-252
55. Lee KW, Lee SH, Kim HJ, et al. Experimental autoimmune myasthenia gravis and CD5<sup>+</sup> B-lymphocyte expression. *J Korean Med Sci*, 1999, 14(1): 75-79
56. Lena E. Immunisation with Torpedo acetylcholine receptor. *Progress in Neurobiology*, 1984, 23: 39-62
57. Leod AP, Gonzales AF, Moreno MN, et al. Thymectomy in myasthenia gravis. *Arch Bronconeumol*, 2001, 37(5): 235-239
58. Lertchavanakul A, Gamnerdsiri P, Hirunwiwatkul P. Ice test for ocular myasthenia gravis. *J Med Assoc Thai*, 2001, 84 Suppl 1: S131-136
59. Lindstrom JM, Engel AG, Seybold ME, et al. Pathological mechanisms in experimental autoimmune myasthenia gravis II. Passive transfer of experimental autoimmune myasthenia gravis in rats with antiacetylcholine receptor antibodies. *J Exp*