

ROUDUGANJUNDUSU DE
LINCHUANGYINGYONG JIQI QIANJING

■ 李夏青◎著

肉毒杆菌毒素的 临床应用及其前景



知识产权出版社
全国百佳图书出版单位

中国疾病预防控制中心

CHINA CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

第 111 号

肉毒杆菌毒素的

临床应用及其进展



中国疾病预防控制中心
CHINA CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

肉毒杆菌毒素的临床应用 及其前景

李夏青 著



知识产权出版社

全国百佳图书出版单位

内容提要

《肉毒杆菌毒素的临床应用及其前景》一书详细阐述了肉毒毒素的生化特征、毒理、药理机制,并且列举了目前全球范围内所有商品化的肉毒素制剂的特征及相互差别,为专业医生选择有效的肉毒素制剂提供了依据。另外,本书重点列举了目前在临床上可以采用肉毒素注射进行治疗和缓解的各种病症,包括这些病症本身的特点,发病机制,目前的治疗手段及肉毒素的治疗效果,具体采用肉毒素进行治疗的方法等,范围涉及眼科、神经科、康复科、美容科、泌尿科及临床护理等众多科室。因此可为以上各科室医生在采用肉毒素治疗相关疾病时提供理论依据及方法指导。本书写作过程中参考了大量国内外有关肉毒素研究的临床及实验方面的文献,因此,涵盖面广,数据真实,希望能成为从事肉毒素临床和研究人员的参考书籍。

责任编辑:于晓菲 许波

图书在版编目(CIP)数据

肉毒杆菌毒素的临床应用及其前景/李夏青著. —北京:
知识产权出版社, 2012. 1

ISBN 978-7-5130-1308-6

I. ①肉… II. ①李… III. ①肉毒毒素—研究 IV. ①R996. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 086952 号

肉毒杆菌毒素的临床应用及其前景

李夏青 著

出版发行: 知识产权出版社

社 址: 北京市海淀区马甸南村 1 号

网 址: <http://www.ipph.cn>

发行电话: 010-82000893 转 8101

责编电话: 010-82000860 转 8363

印 刷: 北京雁林吉兆印刷有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

版 次: 2012 年 6 月第 1 版

字 数: 195 千字

邮 编: 100088

邮 箱: bjb@cnipr.com

传 真: 010-82005070/82000893

责编邮箱: yuxiaofei@cnipr.com

经 销: 新华书店及相关销售网点

印 张: 13

印 次: 2012 年 6 月第 1 次印刷

定 价: 48.00 元

ISBN 978-7-5130-1308-6/R·049 (4188)

出版权专有 侵权必究

如有印装质量问题, 本社负责调换。

序

自从跨入医学研究的领域就决定了我的一生永远和书籍分不开了，但一直以来都是在阅读别人的书籍和论著，自己从来都没有能坐下来写一本自己的著作。10多年前离开中国的时候已经在国内打拼了近20年，不能说是功成名就，但确实已经小有作为。刚到北美，生活和事业上因为语言的缘故都有很多的不适应，但是10多年的二次打拼又有了另外一番天地。原本想这辈子就在大洋的那一边度过我的后半生，没成想一转眼我又回到了国内，重新开始了我的医学教师生涯。为了把自己这些年来在北美所积累的一些研究经验及知识做一个总结，也为了在国内的学术领域重新上一个台阶，我撰写了本书。这本著作的完成不仅倾注了我的心血，同时也离不开我的家人——爱人和孩子的鼎力支持，我所取得的一切不仅属于我自己，也属于我们这个家。另外，在此也向给予我生命并培养我成材的已经逝去的父母献上我的敬意。

目 录

第一章 肉毒杆菌的研究历史	(1)
第一节 肉毒杆菌	(1)
第二节 肉毒毒素	(4)
第三节 商品化肉毒素产品	(6)
第四节 肉毒素的疗效及不良反应	(9)
第二章 肉毒毒素生化特点及体内细胞膜结合受体	(13)
第一节 肉毒素的化学结构	(13)
第二节 肉毒素结合受体	(16)
第三章 肉毒毒素的免疫学特性	(22)
第四章 肉毒毒素的毒理、药理机制（致病机理）	(26)
第一节 肉毒毒素的毒理机制	(26)
第二节 肉毒素的药理作用	(32)
第五章 肉毒毒素的临床应用	(37)
第一节 肉毒素治疗肌肉收缩紊乱相关病症	(38)
第二节 肉毒毒素在美容业的应用	(70)
第三节 肉毒素注射治疗腋臭症和多汗症	(98)
第四节 肉毒素在治疗/缓解疼痛方面的作用	(112)
第五节 肉毒素注射治疗头痛	(130)

第六节 肉毒素在膀胱前列腺疾病中的应用	(154)
第六章 临床应用肉毒毒素注射治疗应注意的事项及常问问题	(176)
第一节 肉毒毒素注射注意事项	(176)
第二节 针对肉毒毒素注射疗法常问的问题及解答	(178)
第七章 注射肉毒毒素后局部组织解剖学变化及其意义	(184)
第一节 肉毒毒素注射后短期局部组织解剖学变化	(184)
第二节 肉毒毒素注射后期局部组织的解剖结构变化及其意义 ...	(184)
结语	(188)
主要参考文献	(189)

第一章

肉毒杆菌的研究历史

第一节 肉毒杆菌

肉毒杆菌，学名：*Clostridium botulinum*，是一种生长在常温、低酸和缺氧环境中的革兰氏阳性细菌。肉毒杆菌在不正确加工、包装、储存的罐装食品或真空包装食品里都能生长。肉毒杆菌广泛分布在自然界各处，比如土壤和动物粪便中。人体的胃肠道也是一个良好的缺氧环境，很适于肉毒杆菌居住。肉毒杆菌是一种致命病菌，在繁殖过程中分泌毒素，是目前毒性最强的毒素之一。人们摄入和吸收这种毒素后，会导致视力模糊、口渴、全身无力，以致呼吸肌肉麻痹、呼吸困难，严重时甚至致人死亡。由肉毒杆菌毒素所引起的中毒症状称为肉毒症（Botulism）。

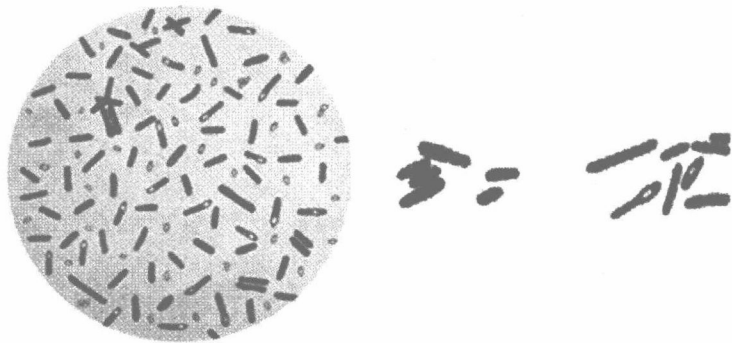


图1 肉毒杆菌显微镜下特征

肉毒杆菌属于梭型杆菌专性厌氧菌属，革兰氏阳性，生长过程中可产生内芽孢并释放外毒素，称为肉毒毒素（Botulinum Toxin, BT）。梭形杆菌属包括约 100 种杆菌，广泛存在于土壤及水环境中，其中致病力较强的梭形杆菌包括肉毒杆菌（*C. botulinum*）、破伤风杆菌（*C. tetanus*）及产气荚膜杆菌（*C. perfringens*）。肉毒毒素和破伤风毒素均对神经系统产生作用，属于神经毒素（Neurotoxin），且致病力都非常强。对于人类，两种毒素的半数致死量（LD₅₀）大约为 0.1 ~1ng。普遍认为，肉毒毒素与破伤风毒素引起神经细胞中毒除临床体征不同外，二者导致机体中毒的机理及其本身功能结构方面都有很大的相似性（Simpson, 1986&1989; Lacy et al, 1998; Swaminathan et al, 2000）。但是，肉毒杆菌释放肉毒毒素的形式与破伤风杆菌及其它革兰氏阳性细菌释放外毒素不同：肉毒杆菌的外毒素并非由活细菌释放，而是在细菌细胞内产生无毒的前体毒素，等待细菌死亡自溶后游离出来，经肠道中的胰蛋白酶或细菌产生的蛋白酶激活后方始具有毒性，且能抵抗胃酸和消化酶的破坏。

肉毒杆菌本身对热非常敏感，但其芽孢具有很强的抵抗力，在 180℃ 下干热 5 ~15 分钟，100℃ 下湿热 5 小时或高压蒸气 121℃ 作用 30 分钟，才能杀死肉毒杆菌芽孢。肉毒毒素对酸的抵抗力特别强，胃酸溶液 24 小时内不能将其破坏，故进入胃肠道后可存活足够长时间而被吸收。

1817 年，德国医生 Justinus Kerner 首次描述由于食用了污染的香肠后出现的病症，并且将其发表于 *Tübingen Paper for National Sciences and Pharmacology*，命名为香肠中毒症（香肠 - sausage，在拉丁语中写为：botulus），也称为肉毒症（Botulism）。1895 年，比利时 4000 人小镇发生 34 人食用腌制香肠后出现肉毒症的情况，3 人死亡、10 人生命垂危，事件发生后，由微生物学家 Emile Van Ermengem（见图 2）领导的研究小组从食用的香肠及逝者体内分离出细菌并最终鉴定为肉毒杆菌，由此得出结论：肉毒症的发生与食用肉毒杆菌污染的食物有关，从而为肉毒症的研究及治疗开启了正确的方向。



图2 德国微生物学家 Emile Van Ermengem 博士

如前所述，肉毒杆菌毒素是一种神经毒素（Botulinum Neurotoxin, BoNT），也被称为肉毒毒素、肉毒杆菌素或简称为肉毒素。肉毒素是迄今为止所发现的致死率极强的生物毒素之一。一次性给予 1 μ g 的肉毒素即可致人死亡，因此肉毒毒素可被用于生产生化武器。事实上，肉毒毒素半数致死量（LD₅₀）因毒素进入机体的途径及血清型不同而有所差异，譬如：小鼠的肉毒素 LD₅₀ 为 0.5 ~ 5ng/公斤体重。除此外，肉毒症的发生具有种属差异（见图3）。有些种属肉毒症的发生及其 LD₅₀ 与人类相似，有些则不会发生。给猴子静脉注射 A 型肉毒素的半数致死量约为 40 ~ 56ng、C 型肉毒素为 32ng、D 型为 3200ng、而 E 型则为 88ng。通过对其他灵长类动物试验推算，A 型肉毒杆菌毒素 LD₅₀ 在人类大约是 40 单位/kg。

人类肉毒症的发生主要是由于误食因肉毒杆菌污染的肉类及奶制品而中毒，称为食源性肉毒症。除此外，肉毒杆菌也可经呼吸道、皮肤及组织创口进入机体。在北美，由于饮用肉毒素污染的乳制品或奶制品所致婴幼儿肉毒症，及由于临床治疗目的进行肉毒素注射因剂量掌握不当所导致的中毒是目前主要的肉毒症病例。

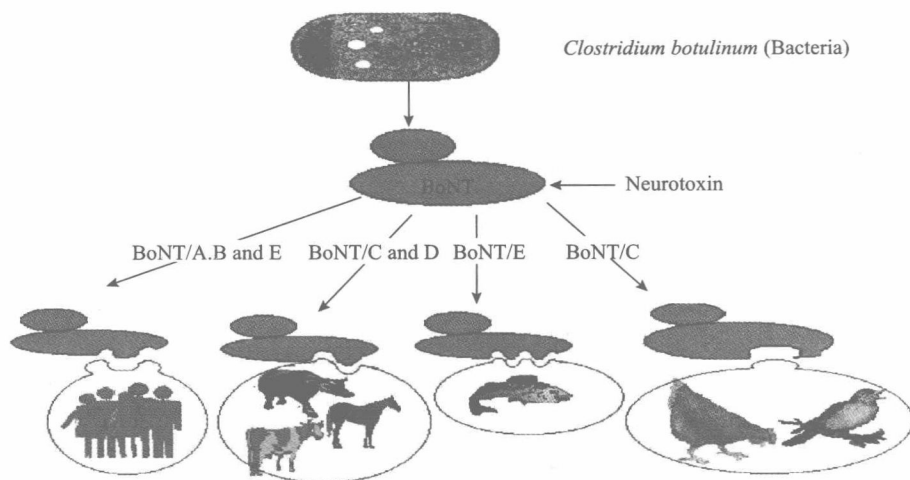


图3 Species Difference in Botulism with various Botulinum neurotoxin serotype.

第二节 肉毒毒素

进入人体消化道的由肉毒杆菌产生释放的肉毒素是以无活性形式（前体毒素）存在，即毒素与其他一些非毒性蛋白结合在一起而不表现其毒性作用。这些非毒性蛋白包括血凝素（Hemagglutinins, HA）及非血凝素（Non hemagglutinins, NTNH）蛋白，使得毒素的总体分子量大约达 900kD，其中非毒性蛋白的分子量约 700kD。肉毒毒素对酸有特别强的抵抗力，胃酸和消化酶短时间内无法将其破坏，因此毒素可以进入肠道。进入肠道内的前体毒素经肠道中的胰蛋白酶或细菌产生的蛋白酶激活后毒素与非毒性蛋白分离而且其本身也被酶切从而表现出毒性，后经肠胃道吸收（见图 4）。通常情况下，肉毒素对热很敏感，加热至 80℃，10 分钟毒素可被破坏。因此，罐装食品食用前加热处理可有效地防止肉毒症的发生。

肉毒毒素的研究始于一个多世纪以前，且早在 20 世纪初，研究者们就已经对肉毒毒素的毒性作用有了基本了解。由于不同地域环境所存在的肉毒杆菌不尽相同及污染的食物不同，因此不同地域肉毒杆菌所产生分泌的毒素只以某

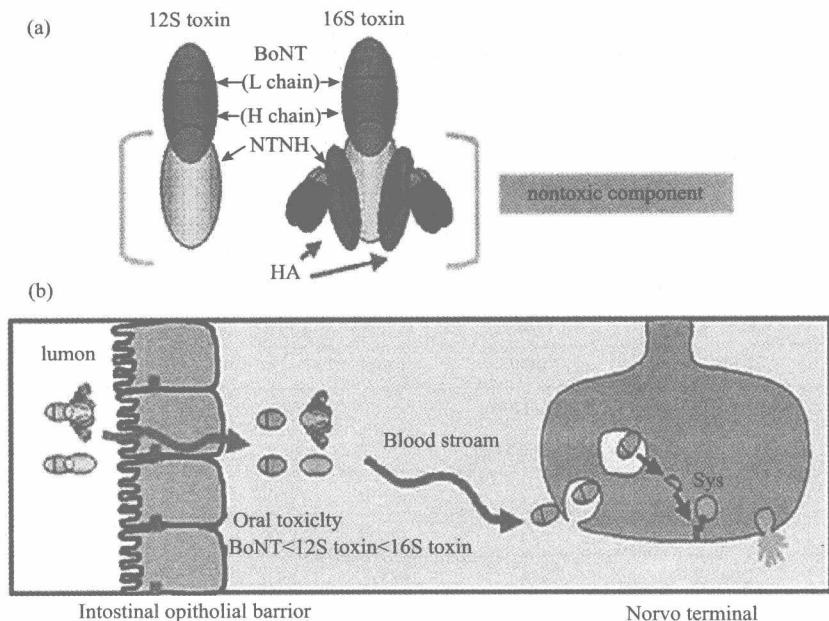


图4 肉毒毒素的组构成特征及胃肠道内分解吸收概况图解

一种为主。根据血清学特征，人们将肉毒毒素分为8种不同的类型，分别称之为A型、B型、C1型、C2型、D型、E型、F和G型肉毒素。字母的排列顺序反映了各种血清型的鉴定及命名的时间先后。A型和B型肉毒素分别是肉毒杆菌污染的罐装肉类和罐装豆类食品中分离出来、并在1919年由美国斯坦福大学Burke博士给予命名；C型肉毒素则由另外一名美国学者Bengston和澳大利亚学者Seddon于1922年共同命名；1928年，Meyer和Gunnison命名了D型；数年以后，乌克兰数位研究人员先后对E型肉毒毒素进行命名；F和G型由Scandinavia和阿根廷两个国家的研究者在20世纪60年代和70年代先后发现并命名。不同血清型肉毒毒素由于其结构方面的差异（表1）所引起肉毒症的发生及可逆恢复时间存在种属差异，而且不同生物种属对不同血清型肉毒毒素敏感性也不相同（见图3）。譬如，人类的肉毒症主要由A、B及E型肉毒素所致；家畜的肉毒症可由C型和D型肉毒素引起；另外，C型肉毒素还可引起家禽肉毒症，D型肉毒素可引起鱼类肉毒症（见图3）等。事实上，8种不

同血清型肉毒毒素中，A 型肉毒素首先被分离命名，同时也是毒力最强的肉毒毒素。目前世界上数种商品化的肉毒素产品绝大多数为 A 型肉毒毒素，少数为 B 型肉毒毒素，其它类型的产品目前尚缺。

表 1 各不同血清型肉毒毒素通过不同蛋白序列库 (SWISS - PROT 及 PDB id) 分析结果比较其在整体结构，轻链序列开始数目和序列的相似性。

血清型	序列 (SWISS - PROT)	完整结构 (PDB)	轻链 (PDB)	模版 (PDB)	序列相似度 (%)	RMSD 与轻链 PDB 的比值
A1	P10845	3BTA	1E1H	n/a	100	1.1
B	P10844	1S0E, 1F31, 1EPW 及其他	1F82	n/a	100	1.3
C	Q45849	n/a	2QN0	1S0E	34.2	1.8
D	P19321	n/a	2FPQ	1S0E	35.1	2.2
E	Q00496	n/a	1ZKW	1S0E	37.9	1.9
F	Q57236	n/a	2A8A	1S0E	38.9	1.9
G	Q60393	n/a	1ZB7	1S0E	57.7	1.4

注: RMSD (root - mean - square - deviation): 平均方差

第三节 商品化肉毒素产品

现有的肉毒毒素产品主要有:

1) Botox: 1979 年由 Scott 和 Shant 发明。属于 A 型肉毒毒素，开始的名字叫 11/79。1989 年该产品通过美国食品药品管理机构——FDA 的认证，并指定由美国眼力健 (Allergan) 公司生产，商品名定为 Botox。

2) NeuroBloc/Myobloc: 在美国境内叫 Myobloc，在其它地方叫 NeuroBloc。于 2000 年通过 FDA 认证，为 B 型肉毒毒素产品，由美国 Elan 制药厂生产。

3) Dysport: 英国生产的 A 型肉毒毒素产品。由英国国防科学技术研究所首先生产，1991 年注册，现由英国 Ipsen 公司生产。其商品名几经变化最终定为 Dysport。Dysport 于 2000 年通过 FDA 认证，现可在美国市场及其他国家应



用。Dysport 的效价较 Botox 为弱, 1MU 的 Botox 相当于 3 个 MU 的 Dysport。

4) Xeomin: 德国 Merz 制药厂生产, A 型肉毒毒素产品, 2005 年通过认证。Xeomin 生物学活性较高, 用量相对较小。有文献报道 Xeomin 与 Botox 效价相似 (Benecke et al, 2005; Dressler and Adib Saberi, 2006)。目前主要在欧洲国家使用。

5) 衡利 (Hengli): 中国兰州生物制品研究所生产, 也叫 BTXA, CBTX - A。我国于 20 世纪 80 年代完成实验并开始对其进行临床疗效观察。1993 年衡利通过认证, 获中华人民共和国卫生部新药证书。1997 年, 批准卫药准字号, 成为继美国、英国之后第三位能生产治疗用途的 A 型肉毒素产品。在效价上 BTXA 与 Botox 基本一致, 目前除在中国市场销售外, 也销往其他亚洲及南美国家。

6) Neuronox: 韩国 Medy - Tox 公司生产, A 型肉毒毒素, 主要在韩国国内及某些亚洲国家使用。

不同肉毒素制剂的产品外观特征及毒素含量均有所不同, 因此在使用时必须由主治医生指导下严格掌握注射剂量, 以免在进行治疗的同时引起中毒副作用。

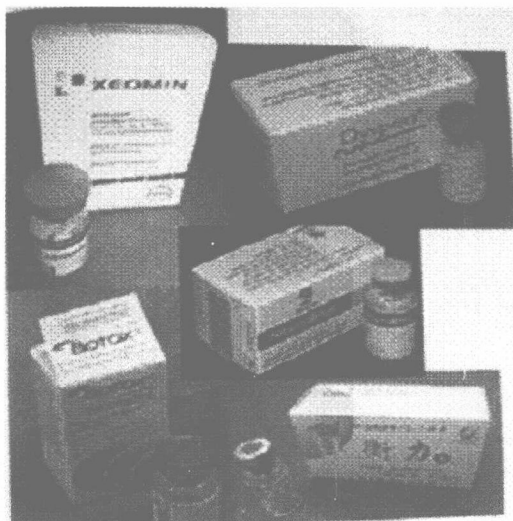


图 5 各种商品化肉毒素产品外观包装

表 2 不同肉毒毒素产品的特征 (Truong et al, 2009)

	保妥适 (Botox)	迪斯贝特 (Dysport)	司傲敏 (Xeomin)	NeuroBloc/Myobloc
制造商	美国艾根公司 (Allergan)	英国易普申公司 (Ipsen)	德国默茨制药公司 (Merz)	美国 Solstice 神经科学公司
药品	粉剂 r	粉剂	粉剂	一次性注射用液体
贮存条件	-8℃	-8℃	-25℃	-8℃
有效期	36 月	24 月	36 月	24 月
肉毒素血清型	A 型	A 型	A 型	B 型
SNARE 靶蛋白	SNAP-25	SNAP-25	SNAP-25	VAMP
佐剂	人血清白蛋白 500 微克/支, NaCl 900 微克/支, 溶解于缓冲液	人血清白蛋白 125 微克/支, 乳糖 2500 微克/支, 溶解于缓冲液	人血清白蛋白 1 毫克/支, 蔗糖 4.7 毫克/支, 溶解于缓冲液	人血清白蛋白 0.5 毫克/毫升, 琥珀酸二钠 0.01 摩尔, NaCl 0.1M, 溶解于水及盐酸内
生物学活性	100MU - A/支	500MU - I/支	100MU - M/支	1.0/2.5/10.0k MU - E/支
与保妥适相比较的生物学活性比	1	1/3	1	1/40
特殊生物学活性	60MU - EV/纳克肉毒素	100MU - EV/纳克肉毒素	167MU - EV/纳克肉毒素	5MU - EV/纳克肉毒素

MU - A: in Allergan mouse lethality assays;

MU - I: in Ipsen mouse lethality assays;

MU - M: in Merz mouse lethality assays; MU - E: in Solstice mouse lethality assays.

EV: equivalence mouse unit (1MU - EV = 1MU - A = 1MU - M = 3MU - I = 40MU - E)

随着肉毒毒素临床应用的日趋广泛, 更多的肉毒毒素产品将会不断涌现。目前美国和日本正在合作研制其他血清类型的肉毒毒素产品, 或许不久将会面世。



表 3 各种肉毒素制剂中肉毒素的含量

Feature	保妥适 Botox	迪斯贝特 Dysport	衡力 CBTX - A	司傲敏 Xeomin	Neurobloc/Biobloc
分子组成	900 道尔顿 复合体	600 道尔顿和 300 道尔顿混合体	900 道尔顿的复 合体?	150 道尔顿的 神经毒素	700 道尔顿的复 合体
每支内菌蛋白 含量	5 纳克	12. 5 纳克	4. 7 纳克	0. 6 纳克	55 匹克
每单位内菌蛋 白含量	50 匹克	25 匹克	47 匹克	6 匹克	11 匹克
制造商	艾乐根公司 (Allergan)	易普申公司 (Ip- sen)	兰州生物制品研 究所	默茨制药公司 (Merz Pharma)	Solstice
毒素的类型	A 型	A 型 *	A 型	A 型	B 型
蛋白稳定剂	0. 5 毫克人 血清白蛋白	0. 125 毫克人血 清白蛋白	20 毫克明胶	1 毫克人血清 白蛋白	0. 5 毫克/毫升人 血清白蛋白
其他佐剂	0. 9 毫克 NaCl	2. 5 毫克乳果糖	25 毫克葡聚糖 25 毫克蔗糖	25 毫克蔗糖	10 纳摩尔琥珀酸 钠, 100 纳摩尔 NaCl 及 100 纳摩尔 辛酸钠, pH 5. 6
贮存	2 - 8℃	2 - 8℃	- 5 ~ - 20℃	室温	2 - 8℃
稳定性	2 年	1 年	3 年	2 年	3 年
有效性	2 - 8℃ 时 24 小时	2 - 8℃ 时 8 小时	2 - 8℃ 时 4 小时	2 - 8℃ 时 24 小时	室温状态下 8 小时

注:℃ BTX - A: 中国生产的 A 型肉毒素复合物制剂;

* 这种毒素的氨基酸组成与其他 A 型肉毒神经毒素略有不同 (Pickett et al, 2005)

第四节 肉毒素的疗效及不良反应

用作治疗目的的肉毒毒素制剂是以含多少个小鼠单位 (MU) 进行制备的。一个小鼠单位的肉毒毒素是指可以导致 50% 小鼠死亡的肉毒素中毒剂量。

一个小鼠单位比一个国际单位 (IU) 相对要小。因此, 不论所进行实验的对象是谁、使用时肉毒毒素已经灭活的百分比如何, 只要将注射时所采用的小鼠单位进行比对即可。注射治疗时所采用的小鼠单位实际上代表了肉毒毒素的生物学活性。然而, 尽管用小鼠单位作为肉毒毒素使用剂量的多少已通过国际会议的认可, 但是生产不同肉毒毒素产品的厂家对其产品的生物学功能的评估仍然各执一词, 不尽相同。所以不同的肉毒毒素产品其标识完全不同、相互之间常不能比较, 对于不同病症使用剂量也有所差异, 譬如: Botox 与 NeuroBloc/Myobloc 对于运动神经元的作用的剂量比约为 1:40; 而在用于治疗自主神经功能紊乱时又是另外一种情况 (Dressler et al, 2002)。也就是说, 注射治疗采用 NeuroBloc/Myobloc 时的使用剂量常常高于 Botox。原因可能是由于在制备 NeuroBloc/Myobloc (B 型肉毒毒素) 的过程中, 有活性的毒素百分比较 Botox 为低; 而较高剂量的注射势必容易导致抗体的产生。临床资料也证实在用 NeuroBloc/Myobloc 治疗斜颈过程中, 40% 左右的病人在仅进行少数几次重复注射后由于抗体的形成而使毒素失去疗效 (Dressler and Bigalke, 2004)。但是总体上来讲, BoNT-B 产品较 BoNT-A 产品对自主神经系统的作用较强, 而对脊髓运动神经元作用较弱 (Dressler & Benecke, 2003)。

一、肉毒素的临床疗效

局部注射 A 型肉毒素后 1~3 天见效, 1~2 周时疗效达到高峰期, 一般维持 3~6 个月。注射后 3~6 个月如果复发, 可以重复注射仍然有效。另外, 在第一次注射后如果效果不满意, 也可以在一周内再注射一次。但是, 临床上采用肉毒素注射治疗时, 总有少数病人疗效差强人意。Scott 等认为, 肉毒素在人类的 LD₅₀ 应该在 5000U 左右, 因此目前临床上所采用的注射剂量是足够安全的。

早期肉毒素治疗失败的原因: ①药物储存不当失效; ②毒素组成不当; ③病人对肉毒素原发性抵抗 (对肉毒素反应缺乏)。后期引起肉毒素注射失败的因素较多, 譬如: 剂量不足, 选择注射的肌肉不恰当, 肌张力障碍恶化或肌