

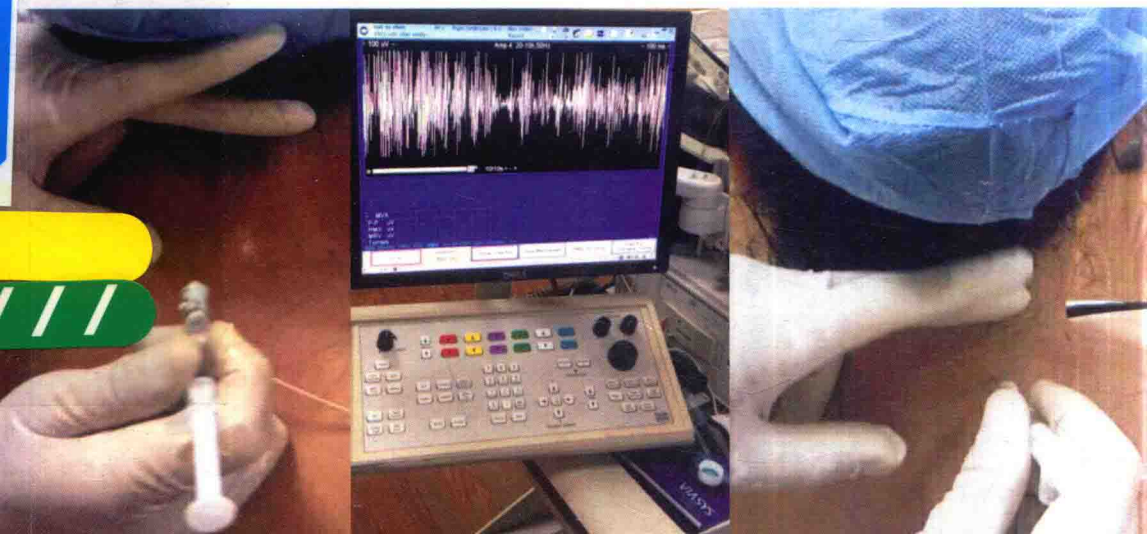


A型肉毒毒素 临床应用的 安全性研究

罗蔚锋 主编



苏州大学出版社
Soochow University Press



A型肉毒毒素 临床应用的 安全性研究

罗蔚锋 主编



苏州大学出版社
Soochow University Press

图书在版编目(CIP)数据

A 型肉毒毒素临床应用的安全性研究 / 罗蔚锋主编
— 苏州: 苏州大学出版社, 2018. 1
ISBN 978-7-5672-2239-7

I. ①A… II. ①罗… III. ①肉毒毒素—临床应用—
安全性—研究 IV. ①R996.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 233186 号

书 名: A 型肉毒毒素临床应用的安全性研究

主 编: 罗蔚锋

策 划: 刘 海

责任编辑: 刘 海

装帧设计: 刘 俊

出版发行: 苏州大学出版社(Soochow University Press)

出 版 人: 张建初

社 址: 苏州市十梓街 1 号 邮编: 215006

印 刷: 江苏扬中印刷有限公司

网 址: www.sudapress.com

E - mail : Liuwang@suda.edu.cn QQ: 64826224

邮购热线: 0512-67480030

销售热线: 0512-65225020

开 本: 787 mm×960 mm 1/16 印张: 8.5 字数: 120 千

版 次: 2018 年 1 月第 1 版

印 次: 2018 年 1 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5672-2239-7

定 价: 39.00 元

凡购本社图书发现印装错误, 请与本社联系调换。服务热线: 0512-65225020

序

中国文学の発展と変遷

中国文学の発展と変遷

中国文学の発展と変遷

A 型肉毒毒素真可谓“毒与药乃一纸之隔”，翻手为毒，覆手为药。在 A 型肉毒毒素应用到临床之前，面肌痉挛、眼睑痉挛、痉挛性斜颈、慢性偏头痛等疾病缺乏相对安全、有效、简单、易行的治疗手段。罗蔚锋教授、主任医师和同事自 1997 年起 20 年间一直以专心致志、持之以恒的态度，先后开展了应用 A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛、眼睑痉挛、痉挛性斜颈、慢性偏头痛等疾病的工作，至今治疗人次逾万，同时还在应用 A 型肉毒毒素治疗顽固性三叉神经痛等疾病方面做了积极有益的探索，有效地减轻了大部分患者的病痛，有些患者甚至一次治疗即达到了临床治愈。这些治疗同时也改善了患者的生活质量。

任何药物都有其两面性——治疗作用和副作用，A 型肉毒毒素也不例外。A 型肉毒毒素的安全性尤其受到人们的关注。

本书收录以往已发表的 11 项应用 A 型肉毒毒素治疗神经内科相关疾病的临床研究成果，在评价 A 型肉毒毒素疗效的同时关注了 A 型肉毒毒素临床应用的安全性。本书还随访了 5 位多次、长期接受 A 型肉毒毒素治疗患者的体会，言之切切。无论是医护人员、研究生、本科生，还是相关的患者、家属，读之都将会受益匪浅。

包仕尧

2017 年 9 月 1 日

编委会名单

主 审：包仕尧 刘春风 万新华

主 编：罗蔚锋

编 委：（以姓氏笔画为序）

王 琳 北京协和医院

王荫椿 原卫生部兰州生物制品研究所

毛成洁 苏州大学附属第二医院

李 向 苏州大学附属第二医院

刘 晶 苏州大学附属第二医院

朱婷鸽 空军军医大学唐都医院

邵建锋 苏州市张家港市第三人民医院

张艳林 苏州大学附属第二医院

张琪林 苏州大学附属第二医院

周旭平 苏州大学附属第二医院

郑丽霞 苏州九龙医院

胡伟东 苏州大学附属第二医院

秦晓凌 东南大学医学院附属徐州医院

徐莹莹 苏州大学附属第二医院

韩 旺 东营市人民医院

温仲民 苏州大学附属第二医院

戴永萍 苏州大学附属第二医院

编写秘书：张琪林



编写说明

20 多年前,在苏州大学附属第二医院(原苏州医学院附属第二医院)青年医师基金的资助下,在时任院长、科主任、尊敬的包仕尧教授的大力支持下,在上级医师刘春风教授亲力亲为的指导下,我们开展了应用 A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛、眼睑痉挛的临床工作。A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛、眼睑痉挛疗效明确,副作用小,前来我院就诊的相关患者逐年增多,至今,我们应用 A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛、Meige 综合征、痉挛性斜颈、难治性三叉神经痛、慢性偏头痛等相关疾病逾万人次,对于 A 型肉毒毒素的疗效及副作用获得了一定的经验,在此与大家分享。

本书包括 A 型肉毒毒素的临床疗效、安全性研究,典型病例患者的体会等内容,希望能够对读者朋友有所帮助。如有错漏之处,敬请读者朋友批评指正。

罗蔚锋

2017 年 6 月 25 日

肉毒毒素及其治疗制品	1
------------------	---

临床实践	25
------------	----

卡马西平、氯硝安定与 A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛、眼睑 痉挛疗效对比分析	27
A 型肉毒毒素治疗面、睑肌痉挛临床研究	34
A 型肉毒毒素治疗偏侧面肌痉挛及重复治疗的剂量探讨	39
肌电引导下 A 型肉毒毒素治疗痉挛性斜颈临床分析	45
不同稀释度 A 型肉毒毒素治疗痉挛性斜颈的疗效观察	48
长期重复应用 A 型肉毒毒素治疗面肌痉挛对面神经传 导速度及 CMAP 的影响	54
A 型肉毒毒素治疗难治性三叉神经痛临床观察	62
超声定位肌电图引导下 A 型肉毒毒素治疗重度流涎的 临床观察	72
A 型肉毒毒素治疗老年人原发性难治性三叉神经痛的 疗效观察	80

应用 A 型肉毒毒素治疗特发性偏侧面肌痉挛现状研究	88
A 型肉毒毒素治疗 70 岁以上三叉神经痛患者的安全性及 疗效	99

病友的体会 109

注射 A 型肉毒毒素的感悟	111
肉毒毒素治疗后所感	113
A 型肉毒毒素对我人生的改变	115
肉毒毒素治疗让我的余生平安快乐	117
肉毒毒素治疗解除了我的痛苦	118

附录 119

苏州大学附属第二医院	121
苏州大学附属第二医院神经内科	122
苏州大学附属第二医院肉毒毒素治疗	124
科研项目	125
获奖	125
继续教育学习班	125

后记 127

肉毒毒素及其治疗制品



肉毒毒素是肉毒梭菌在生长繁殖过程中产生的一种细菌外毒素,属于高分子蛋白神经毒素,能引起人和动物死亡率很高的肉毒中毒。根据毒素抗原的不同,将其分为 A、B、C、D、E、F 和 G 七个型。其中 A 型肉毒毒素的结构和功能已较清楚。20 世纪 70 年代初,美国旧金山眼科研究所的 Scott 医师从肉毒中毒病人首先累及眼外肌,引起视力模糊、眼睑下垂、瞳孔散大和复视等症状并缓慢恢复的过程中得到启示,并与世界著名肉毒毒素专家、美国威斯康星大学食品微生物及毒素学系 Schantz 教授合作在猴试验基础上将肉毒毒素引入眼科疾病治疗,在 1980 年首次报告眼外肌注射 A 型肉毒毒素替代斜视手术的可能性,此后他和其他临床专家对肉毒毒素的临床效果、副作用及免疫学反应进行了大量的试验研究,并在斜视、眼睑痉挛、面肌痉挛、痉挛性斜颈等疾病的治疗中取得了令人鼓舞的结果,从此肉毒毒素的临床应用突飞猛进。

1989 年 12 月美国 FDA 批准 A 型肉毒毒素(BOTOX®)为新药上市,A 型肉毒毒素是世界上第一个被用于临床治疗的微生物毒素。此后英国(Dysport®)、中国(衡力®、BTXA)同类产品相继问世,与美国的 BOTOX 一起成为当今国际三大知名品牌。BOTOX®由美国眼力健公司(Allergan, Inc)生产、经销,已被美国 FDA 批准用于斜视、眼睑痉挛和颈部肌张力障碍和小儿脑瘫后遗症的治疗。2002 年 4 月 15 日又批准应用于美容除皱适应证。近年又批准了原发性腋窝多汗症(2004 年 7 月 9 日)、上肢痉挛(2013 年 3 月 9 日)、下肢痉挛(2016 年 1 月 21 日)以及预防性治疗慢性偏头痛(2010 年 10 月 15 日)、神经源性逼尿肌过度活动症(2011 年 8 月 24 日)和膀胱过度活动症(2013 年 1 月 18 日)作为 BOTOX®的适应证。欧洲 A 型肉毒毒素(Dysport®)1991 年被英国卫生部批准在英国生产,由法国 Beaufour-Ipsen 药业公司经销,已批准的适应证为斜视、眼睑痉挛、颈部肌张力障碍和小儿脑瘫足畸形等。中国注射用 A 型肉毒毒素(衡力®、BTXA)由兰州生物制品研究所生产、经销,1997 年 2 月被中国卫生部正式批准为新药,已核准的适应证

为斜视、眼睑痉挛和面肌痉挛,2013 年 3 月 11 日美容除皱也被批准为衡力®(BTXA)的适应证。B 型肉毒毒素制品在美国被称为 MYOBLOC™(Elan 公司,Ierland 生产),同样的欧洲配方名为 NeuroBloc®。MYOBLOC™ 2002 年 12 月由美国批准用于治疗颈部肌张力障碍。每种肉毒毒素制品有它独特的配方和生物学特性,有不同的效价和剂量范围,并直接影响临床效果和副反应,它们的计量单位一般不能换算。

一、肉毒毒素结构

(一) 前体毒素的结构和特性

在自然状态下或人工培养基中,肉毒毒素通常以一种复合体形式存在,即神经毒素和血凝素(HA,分别由分子量为 70kDa 的 HA-70,33kDa 的 HA-33,17kDa 的 HA-17 组成)和/或非血凝活性蛋白(NTHA 130kDa)的复合体,也叫前体毒素,其分子量为 900kDa(图 1)。目前世界上流通的三种 A 型肉毒毒素制品都是这种复合体。

像许多生物活性蛋白一样,肉毒毒素的生物活性与它的空间结构形

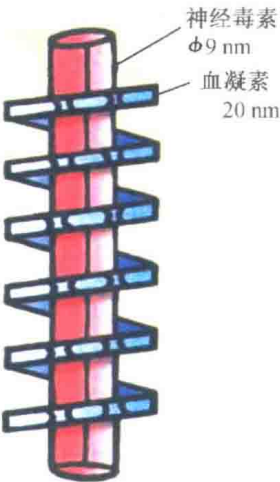


图 1 肉毒前体毒素电镜模式图

态有关。血凝素是一种很大的保护性蛋白,通过非共价键与毒素结合,在保持毒素三维结构及稳定性上起着重要作用。肉毒毒素很容易在 40℃ 以上发生热变性,特别是在碱性条件下;空气/液体界面形成的气泡能引起毒素的伸展和形状的改变,从而使毒素溶液失去毒性;在有氮气和二氧化碳的环境中也能发生毒素的变性;稀释至较低浓度能使毒素的稳定性降低,只有用含其他蛋白(如明胶、牛或人血清白蛋白)的缓冲液(pH6.8 或更低)稀释才能防止。

(二) 肉毒神经毒素 (衍生毒素)的分子结构和 性质

用半乳糖作为配基的亲和分析或 SP-sephadex 或 CM-sephadex 的氯化钠梯度离子交换层析,能使神经毒素从肉毒前体毒素中分离出来(图 2)。各型肉毒神经毒素具有相近的分子量,即 150kDa 左右,它们的特异毒性或纯度一般在 $10^7 \sim 10^8 \text{LD}_{50}/\text{mgpr}$ 或以上。



图 2 肉毒神经毒素的空间三维结构

神经毒素的双链结构和二硫键 现已公认,任何型的肉毒毒素都是作为单一多肽链被产生的,但蛋白分解酶,不管是内源或外源性的,都能把毒素切割为双链而显示其毒性。被切毒素的两个多肽链间至少有一个二硫键联结,二硫键的作用在于维护毒素的完整及其毒性(图 3)。还原剂如巯基乙醇、二硫苏糖醇(DTT,



肉毒毒素分子开始被合成为单链,进而被切割为二硫键联结的双链分子。L(轻)链(氨基酸 1-448)作为锌肽链内切酶,蛋白分解活性集中于氨基末端;H(重)链(氨基酸 449-1280)具有胆碱能特异性,能促进轻链运转,从而通过核内体膜。

图 3 肉毒神经毒素的双链结构(一级结构)

dithiothertol)、十二烷基硫酸钠(SDS)或尿毒素等能将二硫键还原,使被联结的双链彻底分离为分子量为 100kDa 和 50kDa 两个链,分别叫 H 链(重链)和 L 链(轻链)。轻链的本质是锌肽链内切酶(zinc endopeptidase)。彻底被分离的两个链是无毒的,若按等分子的比例(即 1:1 的克分子)或重量之比(即 L:H=1:2),通过透析性再氧化,则能恢复其毒性的 40%,说明除了组分外,两个链的特异性排列或空间位置在毒性维持上有很大的作用。

二、肉毒毒素的毒理、药理及作用机制

(一) 对神经肌肉接头的基本作用

肉毒毒素作用于周围运动神经末梢,神经肌肉接头即突触处,抑制突触前膜对神经介质——乙酰胆碱的释放,引起肌肉松弛性麻痹,即化学去神经作用(chemodenervation)。

神经毒素发挥其麻痹作用一般经过 4 个过程:

(1) 毒素快速、特异、不可逆地与突触前神经表面受体结合(binding);

(2) 毒素由受体介导被摄入囊泡,即内化(internalization)或胞吞(endocytosis);

(3) 毒素(轻链)从内吞体跨膜进入胞浆,即毒素移位(translocation);

(4) 毒素 L(轻)链激活蛋白分解过程,使乙酰胆碱释放受阻。

近年发现,肉毒毒素的轻链是锌肽链内切酶,其作用底物是一种与乙酰胆碱囊泡停靠和胞吐有关的融合蛋白,它是由突触体相关蛋白(SNAP-25)、囊泡相关膜蛋白(VAMP)和突触融合蛋白(syntaxin)组成的一种复合物,也叫 SNARE[可溶性的 NSF(N-乙酰-马来酰亚胺-敏感因子)-附着蛋白受体]复合物。各型肉毒毒素的轻链裂解此复合物中一种蛋白的特异残基,即 B、D、F 和 G 型的在不同位置裂解囊泡相关膜蛋白/小突触泡蛋白,A 和 E 型的则在各自的位置裂解突触相关蛋白,而 C 型的肉毒毒素轻链则裂解突

触融合蛋白等,从而抑制神经介质的胞吐、转运、锚靠、融合,使乙酰胆碱释放受阻(图4和图5,表1)。

神经肌肉接头的功能恢复 组织学检查显示,神经支配的恢复开始出现是通过从无髓鞘的末端轴索立即向终板靠近的不平行发芽。另外的发芽位置是原本带髓鞘的末端前轴索的郎飞(Ranvier)结和终板上超末端轴索的分枝(未列出)。在临床前模型中,de Paiva 指出,新芽而非原有的末端将在 28 天由神经刺激引起肌肉收缩。所以在恢复早期,仅仅新芽才反应于刺激性神经-肌肉传导。然而,在随后的第二相和独特相,囊泡转向原来的末梢,新芽失去胞吐作用,并逐步清除新芽。

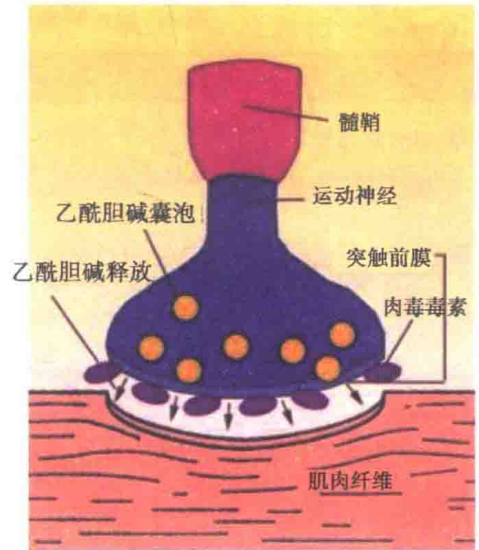


图4 肉毒素在神经肌肉接头处的结合及作用

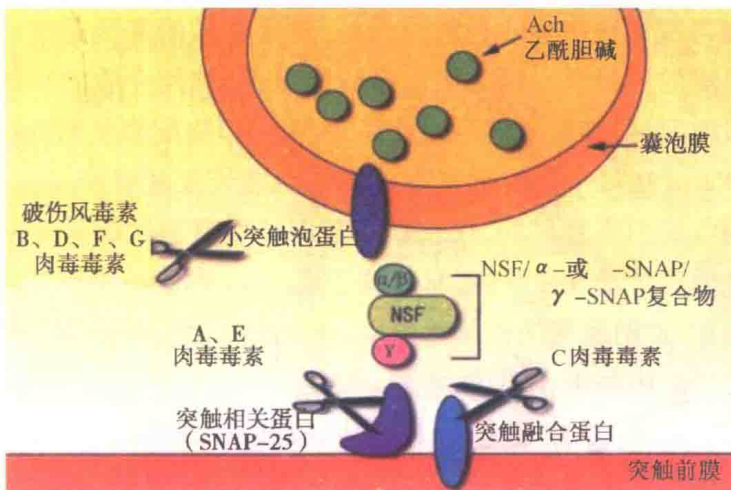


图5 肉毒神经毒素的裂解位置及底物

表 1 推想的肉毒毒素的靶蛋白

毒素型别	细胞基质	靶切割位置	靶部位
A 型肉毒毒素	25kDa 突触相关蛋白	谷氨酰胺 197-精氨酸 198	突触前浆膜
B 型肉毒毒素	囊泡相关蛋白/小突触泡蛋白	谷氨酰胺 76-苯丙氨酸 77	突触囊泡
C 型肉毒毒素	突触融合蛋白 1A,1B 25 KDa 突触相关蛋白	赖氨酸 253-丙氨酸 254 赖氨酸 252-丙氨酸 253 精氨酸 198-丙氨酸 199	突触前浆膜
D 型肉毒毒素	囊泡相关蛋白/小突触泡蛋白 cellubrevin	赖氨酸 59-蛋氨酸 60 丙氨酸 67-天门冬氨酸 68 不详	突触囊泡 全部细胞: 胞吞/再循环系统的囊泡
E 型肉毒毒素	25kDa 突触相关蛋白	精氨酸 180-异亮氨酸 181	突触前浆膜
F 型肉毒毒素	囊泡相关蛋白/小突触泡蛋白 cellubrevin	谷氨酰胺 58-赖氨酸 59 不详	突触囊泡 全部细胞: 胞吞/再循环系统的囊泡
G 型肉毒毒素	囊泡相关蛋白/小突触泡蛋白	丙氨酸-81-丙氨酸 82	突触囊泡

肉毒毒素抑制胞吐是暂时性的,神经介质的释放最终必将恢复。早期的神经肌肉接头组织学研究显示,神经介质的释放被抑制一段时间后,神经末梢开始发芽,表明神经支配修复的开始。最近 de Paiva 在对小鼠的研究中提出了功能恢复的二步模式,并证实肌肉收缩的恢复早期,仅仅新芽能够体现囊泡的周转并对刺激性神经肌肉传导发生反应,只是到了第二步,囊泡的周转才返回原来的末梢,此时新芽失去胞吐作用,并逐步被清除。功能恢复到原来的神经肌肉接头,并清除新芽,在这一实验模型上要经历 91 天。

(二) A 型肉毒毒素对传入神经的作用

A 型肉毒毒素还能改变传入中枢的感觉反馈环。Zwirner 等指出,肌肉活动的减少并反馈到喉运动神经原回路也是 A 型肉毒