

A 型肉毒毒素治疗慢性偏头痛的作用机制

樊尚华 彭彬 尹波 罗樱 肖婷 董红娟

【中图分类号】 R747.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2019)06-0774-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2019.06.035

偏头痛是一种反复发作的、持续 4~72 h 的中、重度搏动性头痛,同时伴有恶心、呕吐、畏光或畏声等症状。偏头痛分为发作性偏头痛和慢性偏头痛。慢性偏头痛是指每月头痛发作 15 天以上,且连续 3 个月^[1]。慢性偏头痛是世界第七大致残原因,在普通人群中的发病率高达 2%,严重影响患者的生活质量。偏头痛的发病机制比较复杂,神经血管学说认为三叉神经血管复合体(trigeminovascular system,TVS)激活,并自突触前神经末梢释放活性神经肽,主要是降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide,CGRP)和其他可能的神经肽,如血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide,VIP)或垂体腺苷酸环化酶激活肽(pituitary adenylate cyclase activating polypeptide,PACAP)。这些肽类物质多位于软脑膜和颅血管周围,它们的局部释放引起血管舒张和神经源性炎症,从而引起偏头痛的搏动性疼痛。有人认为,反复发作的 TVS 激活使中枢痛觉通路敏感,导致偏头痛慢性化^[2]。

肉毒毒素(botulinum toxin,BoNT)切割 SNARE(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor,SNARE),抑制神经递质乙酰胆碱释放进入突触间隙,从而使肌肉松弛。肉毒毒素最初被用于治疗肌张力障碍、眼睑痉挛等过度活跃的运动障碍病。然而,有报告显示使用肉毒毒素后肌张力障碍患者疼痛减轻,促使人们研究肉毒毒素在治疗慢性疼痛方面的作用。最初认为是由于肌肉松弛以及随后的血管和感觉神经减压引起的疼痛减轻。后来的实验研究表明肉毒毒素可能对神经中枢也有作用。A 型肉毒毒素现在被临床广泛应用于治疗慢性偏头痛^[3]。2010 年美国 FDA 最早批准 A 型肉毒毒素治疗慢性偏头痛。目前已有大约 67 个国家批准使用 A 型肉毒毒素预防成人慢性偏头痛。然而,A 型肉毒毒素在慢性偏头痛的作用机制尚未明确。研究表明,A 型肉毒毒素的作用方式并不局限于注射部位,也包括轴突运输引起的解剖结构相连接的部位。肉毒毒素在慢性偏头痛中的作用机制可能还包括神经递质释放的调节、受体和细胞因子表达的改变等。目前研究显示,A 型肉毒毒素治疗慢性偏头痛的镇痛机制有以下几个方面。

1 抑制神经递质的释放

由于 SNARE 参与囊泡释放,因此肉毒毒素可通过作用于 SNARE 影响乙酰胆碱以外的其他递质释放。肉毒毒素

抑制与原发性头痛相关的下列神经递质的释放:降钙素基因相关肽(CGRP)、P 物质(Substance P,SP)、5-HT、谷氨酸、 γ 氨基丁酸(GABA)、去甲肾上腺素、多巴胺、脑啡肽和甘氨酸。多项研究表明,肉毒毒素通过调节 CGRP 和 SP 在镇痛机制中起关键作用。研究发现,由左后爪足底皮下注射福尔马林引起的啮齿动物炎症模型中,在注射 A 型肉毒毒素后第 10 d 和第 14 d 伤害性反应减弱,免疫组化分析发现第 4、5 腰髓背角的 CGRP 表达减少。Coelho 等也证实鞘内注射 A 型肉毒毒素,可以减少 CGRP 在脊髓损伤及膀胱痛的啮齿动物模型中的表达。有研究在由硫酸鱼精蛋白引起的膀胱炎的啮齿动物模型中发现了类似的结果,注射生理盐水或 A 型肉毒毒素,其中接受 A 型肉毒毒素的啮齿动物表现出从传入神经末梢释放的 CGRP 受到抑制,并阻断了膀胱的疼痛反应^[4]。类似地,Lucioni 等人分别对盐酸和环磷酸腺苷诱导的急性和慢性膀胱炎的啮齿动物模型进行了研究,随后在含有 A 型肉毒毒素的器官浴中培养相应的膀胱样本,并用放射免疫法测定 CGRP 和 SP 水平,他们发现两种模型中 CGRP 和 SP 的浓度都较低,作者将其解释为 A 型肉毒毒素抑制神经递质释放^[5]。

对于 SP,鞘内注射 B 型肉毒毒素可降低福尔马林引起的炎症模型和脊神经结扎诱发的触觉异常痛模型中 SP 的表达,并改善疼痛行为。预先注射 A 型肉毒毒素后可抑制由双侧颈总动脉闭塞或辣椒碱引起的神经源性炎症模型中 SP 的表达。在幽门内注射 A 型肉毒毒素,然后进行免疫组织化学分析,发现 SP 表达减少,证明 A 型肉毒毒素可以减少非炎性啮齿动物模型中 SP 的表达。研究显示,用 A 型肉毒毒素预孵育细胞,可阻止 Ca^{2+} 介导的 SP 释放,表明 A 型肉毒毒素可在体外降低 SP。虽然 SP 在除偏头痛之外的其他实验疼痛模型中与肉毒毒素的作用模式有关,但它是否也在慢性偏头痛中发挥作用仍值得怀疑,因为 SP 受体拮抗剂在预防偏头痛模型的试验中显示没有明显临床效果^[6]。

在啮齿动物的炎症模型中将 A 型肉毒毒素注入大鼠颌须区后下丘脑中的 5-HT 增加^[7]。在福尔马林诱导的炎性疼痛模型中对大鼠右后爪足底表面注射 A 型肉毒毒素,可抑制福尔马林诱导的伤害感受行为和皮肤内谷氨酸的释放^[8]。

同样,进行星形胶质细胞的培养时预先用 A 型肉毒毒素预孵育可减少离子霉素刺激的谷氨酸释放。研究推论可能为星形胶质细胞存在含谷氨酸的囊泡释放,进而在三叉神经伤害感受中起作用。此外,A 型肉毒毒素也可能通过非神经细胞相互作用起作用。在预先用 A 型肉毒毒素孵育培养的豚鼠大脑皮层突触体的研究中谷氨酸释放也受到抑制,

GABA 和脑啡肽也受到了影响。在 1 个由辣椒碱和微热引起的疼痛和致敏的人体模型中肉毒毒素对谷氨酸表达的调节也得到了证实^[9]。

由于肉毒毒素具有轴突运输的能力,上述神经递质不仅在注射部位的局部被调节,而且在解剖连接的部位也可能被调节。因此,CGRP 和 SP 可能在局部感觉传入神经受到抑制,减少了局部炎症,同样在脊髓的感觉神经末梢 CGRP、SP 和谷氨酸的释放也可能被肉毒毒素抑制。肉毒毒素可调节高级神经元的神经递质释放,同样有助于减轻疼痛,因为大脑 GABA 浓度的变化可能与偏头痛的强度有关。

2 调节受体表达

肉毒毒素不仅调控神经递质的释放,也抑制受体的表达,如 TRPV1, TRPM8, TRPA1, P2X3, GABA-A。此外,肉毒毒素可能对 μ -opioid 受体有激动作用。

伤害感受性 TRP 通道的激活与 CGRP 和 SP 的释放有关,后者导致血管舒张和炎症介质的释放。该受体家族的几个成员均与头痛疾病有关^[10]。TRPV1 是 TRP 家族研究最多的成员,是非选择性配体门控离子通道,对物理和化学刺激产生反应,并在血管紧张、疼痛、炎症中发挥关键作用。TRPM8 的激活则可引起偏头痛样行为和痛觉超敏,且 TRPM8 基因突变与女性偏头痛易感性相关。一些触发偏头痛发作的因素是 TRPA1 激动剂(如香烟的烟雾成分等)。NO 可诱发偏头痛,其疼痛效应与 TRPV1 和 TRPA1 相关。依赖 SNARE 的胞吐作用可调控 TRP 家族的表达,可被肉毒毒素抑制。因此,肉毒毒素可以下调这些蛋白质在动物和人体的表达。肉毒毒素可抑制啮齿动物的 C 型脑膜感受器对辣椒碱(TRPV1 激动剂)和芥末油(TRPA1 激动剂)的反应。在注射辣椒碱和异硫氰酸烯丙酯(TRPA1 激动剂)之前预先使用肉毒毒素可减轻伤害反应。研究发现,在啮齿动物模型三叉神经节眼支附近皮下注射 A 型肉毒毒素,可降低三叉神经节中的 TRPV1 免疫反应神经元表达和三叉神经血管复合体中的 TRPV1 免疫反应纤维的活动,且接收硬脑膜传入神经投射的三叉神经节神经元 TRPV1 表达也减少了。A 型肉毒毒素注射到大鼠胡须区附近后发现在三叉神经血管复合体内切割突触体相关蛋白 25 (synaptosomal-associated protein 25, SNAP-25)。在福尔马林诱导的颌面部疼痛模型中使用辣椒碱去神经支配后可阻止肉毒毒素裂解 SNAP-25,从而阻断肉毒毒素的镇痛作用。在切断腰 5 腹侧根后引起的神经病理性疼痛的啮齿类动物模型中皮下注射 A 型肉毒毒素,可剂量依赖性地减少背根神经节中 TRPV1 的表达。逼尿肌过度活动的患者在第 4 周和第 16 周接受逼尿肌内 A 型肉毒毒素治疗,随后进行膀胱活检,TRPV1 和 P2X3 的免疫组化分析显示两者的免疫反应纤维均减少,并且第 16 周比第 4 周减少更为显著。研究发现,肉毒毒素可减轻薄荷醇的冷敏感效应。但 TRPV1 参与偏头痛的证据有限,事实上,TRPV1 拮抗剂治疗急性偏头痛的试验由于缺乏疗效已提前终止^[11]。

P2X3 受体在小直径的感觉神经元中表达,并在急性和慢性疼痛中的中起传递疼痛作用,与痛觉过敏有关,且注射

肉毒毒素可减少 P2X3 受体表面表达。在罹患逼尿肌过度活动的患者中发现通过注射 A 型肉毒毒素 P2X3 的表达减少。在切断腰 5 腹侧根后引起的神经病理性疼痛的啮齿类动物模型中在大鼠左后爪注射 A 型肉毒毒素,在相同水平的同侧背根神经节中 P2X3 表达减少。此外,切断腰 5 腹侧根后诱导的机械痛感则双侧均降低^[12]。

γ -氨基丁酸(GABA)似乎主要通过 GABA-A 受体调节三叉神经系统的痛觉传入,并且偏头痛的疼痛程度和脑内 GABA 水平之间存在相关性。肉毒毒素似乎可以调节这些受体。Drinovac Vlah 等人研究了在单侧肌肉注射角叉菜胶导致的镜像疼痛的啮齿动物模型中 A 型肉毒毒素的镇痛作用。在后爪周围(单侧或对侧)或中央(鞘内或池内)进行 A 型肉毒毒素注射,发现同侧后爪和硬膜内注射 A 型肉毒毒素,可降低卡拉胶诱导的两侧的机械敏感性。鸦片类受体拮抗剂和 GABA-A 拮抗剂均可阻断 A 型肉毒毒素的镇痛效应。Drinovac 等人进一步研究了在福尔马林诱发的后爪炎性痛和部分坐骨神经切断诱发的机械痛模型中同时腹腔注射、鞘内注射或脑池内注射 A 型肉毒毒素,发现 GABA 和 A 型肉毒毒素有关。腹腔内注射荷包牡丹碱减弱外周注射 A 型肉毒毒素的镇痛效应。小剂量鞘内应用荷包牡丹碱可消除外周应用 A 型肉毒毒素的镇痛效应,而脑池内应用则不能。因此,Drinovac 推论, A 型肉毒毒素在脊髓水平影响鸦片类受体和 GABA 受体^[13]。

μ -opioid 受体的激活主要因其镇痛作用而为人所知。虽然肉毒毒素和 μ -opioid 受体之间的直接分子机制尚未确定,但有研究表明肉毒毒素可通过一种未知的机制激动 μ -opioid。如前所述,Drinovac Vlah 等人发现应用 μ -opioid 受体拮抗剂可抑制 A 型肉毒毒素的镇痛作用,并在福尔马林诱导的炎性痛模型和部分坐骨神经切断模型中得到了证实。有研究表明,肉毒毒素可增强吗啡的镇痛作用^[14]。

3 调节细胞因子

细胞因子传递与免疫系统有关的信号。Perry 等^[15]人观察到在慢性偏头痛患者颅骨骨膜出现了促炎基因的上调和抑炎基因的下调,推论颅外局部炎症在慢性偏头痛中发挥重要作用。因此,肉毒毒素的作用方式可能与炎性介质的调节相关。

Zychowska 等^[16]人研究了慢性压迫性损伤后注射盐酸米诺环素和 A 型肉毒毒素的啮齿类动物模型中细胞因子的调节。通过脊髓和背根神经节的行为学测试以及 western blot 分析来评估 A 型肉毒毒素的活性。该研究发现慢性压迫性损伤诱导腰段脊髓和背根神经节的 IL-18、IL-6 和 IL-1 β 蛋白水平上调,而 A 型肉毒毒素下调背根神经节的促炎介质 IL-1 β 和 IL-18,上调脊髓的抗炎介质 IL-1RA 和 IL-10。在另一项研究中 A 型肉毒毒素预处理脂多糖刺激的小鼠肺巨噬细胞系,则抑制了该细胞系分泌 NO 和促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-12,但 A 型肉毒毒素和脂多糖同时联合则没有该变化。

4 结束语

肉毒毒素预防成人慢性偏头痛疗效肯定,且副作用少,是治疗慢性偏头痛很有前途的方法。但是,目前肉毒毒素治疗慢性偏头痛潜在的作用机制仍不十分明确,亟待研究者们进一步探讨以提高肉毒毒素的治疗效果。

参 考 文 献

- [1] Hildreth CJ, Lynn C, Glass RM. Migraine headache[J]. JAMA, 2009, 301(24): 2608.
- [2] Rolnik JD, Tanneberger O, Schubert M, et al. Treatment of tension-type headache with botulinum toxin A: a double-blind, placebo-controlled study[J]. Headache, 2000, 40(4): 3000-3005.
- [3] Diener HC, Dodick DW, Aurora SK, et al. OnabotulinumtoxinA for treatment of chronic migraine: Results from the double-blind, randomized, placebo-controlled phase of the PREEMPT 2 trial[J]. Cephalalgia, 2010, 30(7): 804-814.
- [4] Chuang YC, Hsien K, Yoshimura N, et al. Intravesical botulinum toxin A administration produces analgesia against acetic acid induced bladder pain responses in rats[J]. Journal of Urology, 2004, 171(4, S): 94.
- [5] Lucioni A, Bales GT, Lotan TL, et al. Botulinum toxin type A inhibits sensory neuropeptide release in rat bladder models of acute injury and chronic inflammation[J]. BJU Int, 2008, 101(3): 366-370.
- [6] Coelho A, Oliveira R, Cruz F, et al. Impairment of sensory afferents by intrathecal administration of botulinum toxin A improves neurogenic detrusor overactivity in chronic spinal cord injured rats[J]. Exp Neurol, 2016, 285(B): 159-166.
- [7] Ibragic S, Matak I, Dracic A, et al. Effects of botulinum toxin

type A facial injection on monoamines and their metabolites in sensory, limbic and motor brain regions in rats[J]. Neurosci Lett, 2016, 617(617): 213-217.

- [8] Cui ML, Khanijou S, Rubino J, et al. Subcutaneous administration of botulinum toxin A reduces formalin-induced pain[J]. Pain, 2004, 107(1/2): 125-133.
- [9] Da Silva L, Poulsen J, Arendt-Nielsen L, et al. Botulinum neurotoxin type A modulates vesicular release of glutamate from satellite glial cells[Z], 2015: 19.
- [10] Gouin O, Lherondelle K, Lebonvallet N, et al. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization[J]. Protein Cell, 2017, 8(9): 644-661.
- [11] Matak I, Bolcskei K, Bach-Rojecky L, et al. Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain[J]. Toxins (Basel), 2019, 11(8): 459.
- [12] Wirkner K, Sperlagh B, Illes P. P2X(3) receptor involvement in pain states[J]. Mol Neurobiol, 2007, 36(2): 165-183.
- [13] Drinovac V, Bach-Rojecky L, Lackovic Z. Association of antinociceptive action of botulinum toxin type A with GABA-A receptor[J]. J Neural Transm, 2014, 121(6): 665-669.
- [14] Drinovac Vlah V, Bach-Rojecky L, Lackovi Z. Antinociceptive action of botulinum toxin type A in carrageenan-induced Mirror pain[J]. J Neural Transm, 2016, 123(12): 1403-1413.
- [15] Perry CJ, Blake P, Buettner CA, et al. Upregulation of inflammatory gene transcripts in periosteum of chronic migraineurs: implications for extracranial origin of headache[J]. Ann Neurol, 2016, 79(6): 1000-1013.
- [16] Zychowska M, Rojewska E, Makuch WA, et al. Participation of pro- and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 791(791): 377-388.

(2019-06-05 收稿)

(上接第 770 页)

- [33] Jansen I, Berkhemer OA, Yoo AJ, et al. Comparison of CTA- and DSA-Based collateral flow assessment in patients with anterior circulation stroke[J]. American Journal of Neuroradiology, 2016, 37(11): 2037-2042.
- [34] García-Tornel G, A. Improving the evaluation of collateral circulation by multiphase computed tomography angiography in acute stroke patients treated with endovascular reperfusion therapies[J]. Interv Neurol, 2016, 5(3/4): 209-217.
- [35] Maier IL, Scalzo F, Leyhe JR, et al. Validation of collateral scoring on flat-detector multiphase CT angiography in patients with acute ischemic stroke[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0202592.
- [36] Wufuer A, Wubuli A, Mijiti P, et al. Impact of collateral circulation status on favorable outcomes in thrombolysis treatment: A systematic review and meta-analysis[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 707-718.
- [37] Consoli A. CT perfusion and angiographic assessment of pial collateral reperfusion in acute ischemic stroke: the Capri study[J]. J Neurointerv Surg, 2016, 8(12): 1211-1216.
- [38] Vagal A, Menon BK, Foster LD, et al. Association between CT angiogram collaterals and CT perfusion in the interventional management of stroke III trial[J]. Stroke, 2016, 47(2): 535-538.
- [39] Wang Q. Collateral score based on CT perfusion can predict the prognosis of patients with anterior circulation ischemic stroke after thrombectomy[J]. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2017, 46(4): 377-383.
- [40] 陈志军, 梁立华, 林景兴, 等. 脑 CTP 联合头颈 CTA 对脑卒中侧支循环诊断的价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2016, 14(3):

44-47, 67.

- [41] Schregel K. Outcome prediction using perfusion parameters and collateral scores of multi-phase and single-phase CT angiography in acute stroke: Need for one, two, three, or thirty scans? [J]. Journal of stroke, 2018, 20(3): 362-372.
- [42] Seker F, Potreck A, Moehlenbruch M, et al. Comparison of four different collateral scores in acute ischemic stroke by CT angiography[J]. J Neurointerv Surg, 2016, 8(11): 1116-1118.
- [43] 张英. 两种 CT 血管造影侧支循环评分对大脑中动脉闭塞性脑卒中患者预后的评价价值研究[J]. 中国全科医学, 2018, 21(24): 2937-2942.
- [44] Liu X, Pu YE, Pan YE, et al. Multi-mode CT in the evaluation of leptomeningeal collateral flow and the related factors: comparing with digital subtraction angiography[J]. Neurol Res, 2016, 38(6, SI): 504-509.
- [45] Kato H, Shimosegawa E, Oku N, et al. Cerebral hemodynamics and Oxygen metabolism in patients with moyamoya syndrome associated with atherosclerotic steno-occlusive arterial lesions[J]. Cerebrovascular Diseases, 2008, 26(1): 9-15.
- [46] Derdeyn CP, Shaibani A, Moran CJ, et al. Lack of correlation between pattern of collateralization and misery perfusion in patients with carotid occlusion[J]. Stroke, 1999, 30(5): 1025-1032.
- [47] Liebeskind, S.D. Abstract 79: chronic and acute hypertension in ischemic stroke are distinct markers of impaired collateral circulation[J]. Stroke, 2018, 49(Suppl_1): A79.
- [48] Liu LP, Xu AD, Wong LK, et al. Chinese consensus statement on the evaluation and intervention of collateral circulation for ischemic stroke[J]. CNS Neurosci Ther, 2014, 20(3): 202-208.

(2019-04-22 收稿)