

国产血源性人凝血因子IX治疗血友病B的多中心Ⅲ期临床研究

刘葳 付荣凤 周亚伟 陈昀 殷杰 余自强 杨林花
王梅芳 毕慧 周泽平 张心声 夏结束 杨仁池

【摘要】 目的 评价一种国产血源性人凝血因子IX(FIX)治疗血友病B的有效性和安全性。**方法** 采用多中心、开放、自身对照设计,用目标值法评价FIX的有效性。根据入组血友病B受试者的出血状况和FIX水平确定输注剂量,首次输注后30 min测定FIX回收率,(24±4)h观察出血症状和体征改善,记录不良事件,治疗后90 d检测病原微生物指标及FIX抗体。**结果** 36例血友病B患者纳入研究,中位年龄31岁,中位用药次数为4(1~17)次。受试者入组后36次首次出血中,止血效果优良、良好分别为27次(75.00%)、9次(25.00%)。首次输注结束后30 min的FIX中位回收率为111.92%(65.55%~194.28)%。未发生研究药物相关不良事件。未发生病毒感染。所有受试者首次用药后90~104 d检测FIX抑制物均为阴性。**结论** 试验所用国产血源性FIX治疗血友病B具有良好的有效性及安全性。**临床试验注册** 国家食品药品监督管理总局2016L08027

【关键词】 血友病B; 因子IX; 临床试验,Ⅲ期

A phase III multi-center clinical trial on safety and efficacy of a domestic plasma derived factor IX for the treatment of patients with hemophilia B Liu Wei^{*}, Fu Rongfeng, Zhou Yawei, Chen Yun, Yin Jie, Yu Ziqiang, Yang Linhua, Wang Meifang, Bi hui, Zhou Zeping, Zhang Xinsheng, Xia Jielai, Yang Renchi^{*}.
Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Yang Renchi, Email: rcyang65@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy and safety of a domestic human plasma derived coagulation Factor IX concentrate (pd-FIX) in patients with hemophilia B. **Methods** The study was a multicenter, open-label and single-arm study. The efficacy of pd-FIX was evaluated by objective performance criteria. The doses of pd-FIX were calculated according to the bleeding symptom and disease severity. The infusion efficiency of pd-FIX and improvement of bleeding symptoms were measured at 30 minutes and (24±4) h after the first infusion, respectively. Adverse events were recorded. Viral infection and FIX inhibitor were detected 90 d after the first infusion. **Results** All 36 subjects with hemophilia B were enrolled in the study. The median age of these patients was 31 years old and the median injection doses were 4 (1–17) times. The hemostatic effect of 27/36 (75.00%) and 9/36 (25.00%) acute bleeding events were rated as “excellent” and “better”, respectively. The recovery rate was 111.92% (65.55%–194.28%) at 30 minutes after infusion of FIX. There was no adverse event related to FIX. No reactivation of HBV, HCV or HIV and FIX inhibitor was detected at 90–104 d after the first FIX infusion. **Conclusion** This domestically made human plasma derived FIX concentrate is safe and effective in the treatment of acute bleeding in patients with hemophilia B. **Clinical trial registration** China food and Drug Administration, 2016L08027.

【Key words】 Hemophilia B; Factor IX; Clinical Trial, Phase III

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.05.011

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(血液学研究所),实验血液学国家重点实验室(刘葳、付荣凤、杨仁池);济南市中心医院(周亚伟、陈昀);苏州大学附属第一医院(殷杰、余自强);山西医科大学第二医院(杨林花、王梅芳);昆明医科大学第二附属医院(毕慧、周泽平);山东省血友病诊疗中心(张心声);空军军医大学卫生统计学教研室(夏结束)

通信作者:杨仁池,Email:rcyang65@163.com

血友病 B 是一种 X 染色体连锁隐性遗传性疾病^[1],由患者血浆中凝血因子 IX(FIX)缺乏或功能缺失所致。血友病 B 年发病率约为 1/30 000,占总血友病人群的 15%~20%^[2]。血友病 B 以自发性或创伤后出血为特征,出血主要发生于关节、软组织和肌肉。目前血友病 B 的治疗手段主要为替代疗法(输注含有 FIX 的制剂),主要有血浆提取以及基因重组的 FIX 和凝血酶原复合物(PCC)等。本研究旨在评价国内第一个血源性 FIX 制剂治疗血友病 B 的有效性和安全性。

病例与方法

一、受试者选择

1. 诊断标准:血友病 B 的诊断符合文献^[2],根据 FIX 活性(FIX:C)将患者分为重型(FIX:C < 1%)、中间型(FIX:C 1%~5%)、轻型(FIX:C > 5%~40%)。

2. 入组标准:①年龄 6~<66 岁;②伴有出血症状的轻型、中间型及重型血友病 B 患者;③受试者知情同意并签署知情同意书。

3. 排除标准:①患有其他先天性或获得性凝血功能障碍的患者;②伴哮喘、荨麻疹或对血制品、精氨酸、盐酸赖氨酸过敏者;③有深静脉血栓、肺栓塞、急性心肌缺血以及弥散性血管内凝血病史者;④FIX 抑制物阳性或有 FIX 抑制物阳性史;⑤肝肾功能异常达到以下指标之一:总胆红素≥正常值上限的 2 倍,ALT 和(或)AST≥正常值上限 2 倍,肌酐≥正常值上限 1.5 倍;⑥HBsAg 阳性,HCV 抗体阳性,HIV 抗体阳性,梅毒螺旋体抗体阳性;⑦入组前 1 周内输注血制品者;⑧入组前 3 个月内施行大、中型手术或计划近期进行手术者;⑨入组前 30 d 曾参加其他临床试验者;⑩合并精神障碍、癫痫者;⑪行为或认知能力障碍及嗜酒、吸毒者;⑫研究者认为有不适合入选的情况(如预计生存期小于 3 个月)。

4. 入组时间:2017 年 5 月 1 日至 2017 年 10 月 31 日。

二、临床试验

本研究为单臂、开放、多中心 III 期临床研究,由中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)、济南市中心医院、苏州大学附属第一医院、山西医科大学第二医院、昆明医科大学第二附属医院、山东省血友病诊疗中心共同完成,以验证血源性人 FIX 治疗血友病 B 的有效性及安全性为研究目的。本研究

严格遵守人体医学研究伦理准则和《药物临床试验质量管理规范》及相应的临床研究政策法规。研究方案均通过各参加单位的医学伦理委员会审核批准。受试者及家属均知情同意。

三、给药方案

1. 试验药物及用法:人 FIX 粉针剂由山东泰邦生物制品有限公司提供(500 IU/瓶,批号 201611S03、201701S02),2~8℃避光保存。给药方法:根据理论计算所需 FIX 剂量整瓶配制使用。用 10 ml 灭菌注射用水复溶本品,使用输液器逐瓶静脉滴注,给药速度依据患者反应而定,一般不超过 3 ml/min。

2. 给药剂量:受试者入组后 90 d 观察期内出现临床出血症状时,由研究者根据受试者情况给予按需治疗。参照 FIX:C 的基础水平、患者体重、出血部位以及出血严重程度确定给药剂量,以每公斤体重输入 1 IU FIX 提升血浆 FIX:C 1%为期望值,给药公式为:所需 FIX 剂量(IU) = 1 IU/kg × 受试者体重(kg) × 需提升的 FIX:C 水平。

四、疗效指标

1. 主要疗效指标:本研究以止血效果评价为主要疗效指标。应用四评分量表评估出血状况:①优良(1 点):首次输注 8 h 内疼痛完全缓解和(或)出血征象完全改善,72 h 内不需要进一步替代治疗。②良好(2 点):首次输注 8 h 内疼痛基本缓解和(或)出血征象明显改善,72 h 内需要继续输注才能完全缓解。③改善(3 点):首次输注治疗 8 h 内,疼痛减轻和(或)出血征象改善,72 h 内需要继续输注且症状不能完全缓解。④无效(4 点):首次输注 8 h 内出血改善很少或没有得到改善甚至病情恶化。

2. 次要疗效指标:次要疗效指标包括:①首次输注结束后 30 min 的 FIX 回收率;②比较输注前以及输注后 8、24 h VAS 疼痛评分。FIX 回收率依据下列公式计算:

$$\text{FIX 回收率}(\%) = \frac{\text{输注后 FIX:C} - \text{输注前 FIX:C}}{\text{预计提升的 FIX:C}}$$

通过比较输注前以及输注后 8、24 h VAS 疼痛评分评价治疗疗效。

五、安全性指标

记录试验前后生命体征(体温、脉搏、呼吸、血压);用药前以及用药后 90~104 d 检查血常规、尿常规、肝肾功能、凝血四项(APTT、PT、TT、纤维蛋白原)、病毒学检查、心电图及 FIX 抑制物。FIX 抑制物检测采用 Bethesda 法^[3]。

六、统计学处理

根据意向性分析的基本原则,用全分析集(FAS)及安全数据集(SAS)进行病例统计。所有的统计检验均采用双侧检验, $P \leq 0.05$ 被认为差异有统计学意义(特别说明的除外)。计量资料用“中位数(范围)”描述。数据分析采用SAS 9.3软件。

结 果

一、入组情况

本试验共有5个中心参与完成,入组36例,无脱落病例,36例均进入全分析集(FAS)和安全性人群(SAS)分析。

二、基本信息

36例受试者均为男性,重型患者10例,中间型患者26例,中位年龄31(7~61)岁,30例(83.30%)从事非体力劳动职业,8例(22.20%)有饮酒史,11例(30.60%)有吸烟史,4例有其他药物过敏史,17例(47.20%)受试者合并有其他疾病,36例受试者均无血栓和FIX抑制物阳性史。受试者体格检查异常体征主要表现在皮肤黏膜和四肢,其中皮肤黏膜瘀斑4例,伴发关节畸形30例。

三、疗效分析

整个试验受试者研究天数为100(94~112)d,共发生201次出血,其中肌肉出血40次,关节出血149次,关节合并表层肌肉出血11次,髂腰肌出血1次。中位用药次数为4(1~17)次。

1. 主要疗效:研究评价患者入组后第一次出血治疗疗效。全部36次出血中,疗效优良27次(75.00%),良好9次(25.00%)。

2. 次要疗效:首次输注结束后30 min的FIX中位回收率为111.92%(65.55%~194.28%)。36例受试血友病B患者基线中位疼痛VAS评分为3.9(0.5~7.2)分,首次输注结束后8、(24±4)h分别为1.3(0.1~3.6)、0.5(0~3.0)分,均低于基线值($t = -11.879, P < 0.001; t = -16.249, P < 0.001$)。

3. 凝血指标:首次输注后(24±4)h中位APTT检测值低于基线值[48(36~59)s对94(61~165)s, $t = -12.367, P < 0.001$]。

四、安全性分析

1. 不良事件:36例受试者中,12例(33.30%)共发生23次不良事件,未发生与研究药物有关的不良事件,未发生导致脱落的不良事件,未发生严重不良事件。

2. 病毒学安全性:所有入组的36例受试者治疗前和治疗后病毒标志物HBsAg、抗-HCV、抗-HIV和病毒核酸HBV DNA、HCV RNA、HIV RNA均为阴性,表明使用该试验药物后受试者未发生病毒感染。

3. FIX抑制物检测:在首次用药后90~104 d行FIX抑制物检测,所有受试者均为阴性。

讨 论

血友病B临床表现为自幼反复出现创伤后出血难止或迟发出血。血友病B患者临床症状较血友病A轻^[4]。未接受预防治疗的患者每月出血2~5次,主要出血部位为关节,也可发生于肌肉、肾脏、胃肠道以及鼻黏膜等^[2]。本中心以往研究结果显示,国内患者主要出血部位为鼻黏膜^[5],关节出血发生率为56.5%(主要累及膝、肘、踝以及髋关节),部分患者发生胃肠道出血^[6]。治疗血友病B的唯一有效方法是补充一定量的FIX。但直到20世纪60年代,国外才出现血源性提纯FIX制剂^[5],1990年以后基因重组FIX产品上市^[7]。世界血友病联盟推荐使用重组FIX和高纯FIX来治疗血友病B^[8]。目前国内已有进口重组FIX产品上市,但价格高昂,PCC仍是目前国内血友病B的首选治疗。PCC含有FII、FVII、FIX、FX,在补充FIX的同时,也补充了大量FII、FX,导致患者血栓风险增加。因此,临床迫切需要安全有效的血源性人FIX制剂。

本研究采用多中心、开放式试验设计方法,对国内第一个血源性FIX制剂治疗血友病B的有效性和安全性进行研究。结果显示,首次输注结束后30 min的FIX回收率为111.92%(65.55%~194.28%),提示该血源性FIX有良好的利用效率。36例受试血友病B患者中,疗效优良27例(75.00%),良好9例(25.00%),首次用药后8 h和24 h疼痛评分均低于基线值,表明该国产血源性人FIX具有良好的止血疗效。

血友病替代治疗过程中的一个严重并发症为抑制物产生,抑制物可导致替代治疗疗效减低甚至无效,增加了止血治疗及预防治疗的难度。本研究整体试验受试者研究天数为100(94~112)d,中位用药次数为4(1~17)次,无患者产生抑制物,提示此血源性FIX制剂免疫原性较低。

筛选期病毒标志物梅毒螺旋体抗体、HbsAg、抗-HCV、抗-HIV为阴性,首次用药输注结束后

90~104 d 复查均仍为阴性,表明 36 例受试者均未发生病毒感染,病毒评价安全。

综上,本研究试验药物国产血浆源性人 FIX(山东泰邦生物制品有限公司提供)治疗血友病 B 出血的疗效确切且安全性良好。

志谢:感谢所有参与本临床试验的医务人员和患者的大力支持

参考文献

- [1] Franchini M, Mannucci PM. The history of hemophilia [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2014, 40(5):571-576. DOI: 10.1055/s-0034-1381232.
- [2] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组,中国血友病协作组. 血友病诊断与治疗中国专家共识(2017年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(5): 364-370. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.05.002.
- [3] Aledort LM. Harmonization of clinical trial guidelines for assessing the risk of inhibitor development in hemophilia A treatment [J]. *J Thromb Haemost*, 2011, 9(3):423-427. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04169.x.

- [4] 王诗轩,关悦,聂彦博,等. 血友病 A 和血友病 B 患者出血和关节病表现差异的回顾性分析[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(5): 404-409. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.05.010.
- [5] Zhang L, Li H, Zhao H, et al. Retrospective analysis of 1312 patients with haemophilia and related disorders in a single Chinese institute [J]. *Haemophilia*, 2003, 9(6):696-702. DOI: 10.1046/j.1351-8216.2003.00826.x.
- [6] Xuan M, Xue F, Fu R, et al. Retrospective analysis of 1,226 Chinese patients with haemophilia in a single medical centre [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2014, 38(1):92-97. DOI: 10.1007/s11239-013-1009-6.
- [7] Monahan PE, Di Paola J. Recombinant factor IX for clinical and research use [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36(5):498-509. DOI: 10.1055/s-0030-1255444.
- [8] Keeling D, Tait C, Makris M. Guideline on the selection and use of therapeutic products to treat haemophilia and other hereditary bleeding disorders [J]. *Haemophilia*, 2008, 14(4):671-684. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01695.x.

(收稿日期:2018-02-10)

(本文编辑:徐茂强)

·病例报告·

中性粒细胞吞噬血小板伴血小板卫星现象致假性嗜酸性粒细胞增高一例

朱立梅 王然 汪海清

An analysis of pseudo elevation of eosinophils with neutrophil phagocytosis of platelet with platelet satellite
Zhu Limei, Wang Ran, Wang Haiqing
Corresponding author: Wang Ran, Clinical Laboratory, the First Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222002, China.
Email: zlm5902@163.com

患者,男,69岁,2015年10月30日因“干咳1个月”就医,CT检查示“右肺占位病变”;纤维支气管镜检查示“右肺中间干见完全阻塞管腔新生物”,活检病理示“右肺中间干鳞状细胞原位癌伴坏死”;磁共振成像示“颅脑多发腔梗,老年脑改变”;全身骨扫描未见异常,肺功能基本正常,心功能欠佳。于2015年11月12日给予GP方案(吉西他滨+顺铂)化疗2周期,出现轻微消化道反应及骨髓抑制。2016年2月22日改以多西他赛+奈达铂化疗3周期。2016年5月23日血常规检查未见异常。2016年5月24日开始予以培美曲塞二

钠0.8 g/d,2016年5月26日改用卡铂300 mg/d,2016年5月27日血常规(SYSMEXXN-2000血细胞分析仪,EDTA-K₂抗凝):HGB 116 g/L,RBC $3.73 \times 10^{12}/L$,WBC $7.93 \times 10^9/L$,PLT $142 \times 10^9/L$,中性粒细胞40.6%,淋巴细胞23.2%,单核细胞1.4%,嗜酸性粒细胞34.7%,嗜碱性粒细胞0.1%,血涂片见大量血小板卫星伴中性粒细胞吞噬血小板现象,分类计数100个白细胞:中性粒细胞80%(无血小板聚集、伴血小板卫星、吞噬血小板中性粒细胞计数分别为22%、33%、45%),淋巴细胞19%,单核细胞1%,未见嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。未予特殊处理,此后血常规检查未再出现血小板卫星和(或)中性粒细胞吞噬血小板现象。

讨论:血小板卫星现象是指血小板聚集并呈卫星状排列于中性粒细胞(偶见于单核细胞)周围,偶尔也可见到血小板被吞噬。发生卫星现象的血小板和中性粒细胞的功能可正常,但血小板计数常假性偏低。有研究者认为,血小板卫星现象与EDTA抗凝剂有关,本例患者还可能与化疗药物有关。

(收稿日期:2017-09-15)

(本文编辑:徐茂强)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.05.012

作者单位:222002 连云港市第一人民医院检验科

通信作者:王然, Email: zlm5902@163.com