

## 26例血友病A伴抑制物患儿的危险因素分析及随访研究

刘葳 薛峰 张磊 刘晓帆 陈云飞 黄月婷 付荣凤 杨仁池

**【摘要】** 目的 探讨中国血友病A(HA)患儿凝血因子Ⅷ(FⅧ)抑制物发生的危险因素、治疗及转归以及抑制物对HA患儿出血特征的影响。方法 回顾性分析2010年1月至2014年12月445例HA患儿的临床资料。采用病例对照研究方法分析抑制物发生的危险因素。结果 在纳入研究的445例HA患儿中,重型患者82例(18.4%),中间型患者269例(60.5%),轻型患者94例(21.1%)。抑制物阳性26例(5.8%,失访3例),低滴度抑制物9例,高滴度抑制物17例,其中重型、中间型患者各13例。高强度替代治疗是抑制物产生的危险因素[ $P=0.030$ ,  $HR$ 值为4.435(95%  $CI$  1.150~17.094)];抑制物产生后2例患者接受小剂量利妥昔单抗清除抗体治疗,其中1例联合免疫耐受治疗3个月。出血时65.2%(15/23)的患者选择凝血酶原复合物治疗,8.7%(2/23)选择制动、冰敷、抬高患肢等保守治疗措施,26.1%(6/23)选择间断输注小剂量FⅧ治疗。未接受抗体清除治疗的患者中,87.5%(7/8)低滴度抑制物转阴,抑制物中位持续时间为3(1~3)个月,84.6%(11/13)的高滴度抑制物随时间呈下降趋势,在未进行抗体清除治疗的情况下持续12~48个月仍未转阴,7.7%(1/13)的高滴度抑制物2年后转阴。抑制物产生前后患儿关节年出血率、非关节年出血率、自发年出血率、创伤性年出血率差异无统计学意义。结论 高强度替代治疗是HA患儿抑制物产生的危险因素;抑制物并不能增加HA患儿出血频率。

**【关键词】** 儿童; 血友病A; 因子Ⅷ; 抑制物

**基金项目:** 国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金(81428002);协和青年基金项目(332015129);Novo Nordisk Haemophilia Research Fund in China(2010-2012)

**Study on risk factors and follow-up of 26 hemophilia A children with inhibitors** Liu Wei, Xue Feng, Zhang Lei, Liu Xiaofan, Chen Yunfei, Huang Yueting, Fu Rongfeng, Yang Renchi. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China  
Corresponding author: Yang Renchi, Email: rcyang65@163.com

**【Abstract】 Objective** To study the risk factors, characteristics and treatment of factor Ⅷ (FⅧ) inhibitor in Chinese children with hemophilia A (HA) through a retrospective case-control survey; To investigate the bleeding phenotype before and after inhibitor formation. **Methods** The clinical data of outpatients and inpatients with HA children from January 2010 to December 2014 were collected. A case control study was performed to investigate the risk factors for inhibitor formation. **Results** A total of 445 HA children were enrolled with 82 (18.4%) severe, 269 (60.5%) moderate, and 94 (21.1%) mild cases; 26 (5.8%) patients, among whom 13 were severe HA and 13 moderate HA, had inhibitor (9 low titer inhibitors, and 17 high titer inhibitors). No inhibitor was found in mild HA patients. Intensive treatment ( $P=0.030$ ,  $HR=4.435$ , 95%  $CI$  1.150–17.094) was a risk factor for inhibitor generation. After inhibitor formation, 2 patients received small dose rituximab for inhibitor eradication, and one of them also received ITI therapy. When bleeding, 65.2% (15/23) inhibitors received PCC treatment to stop the bleeding, 8.7% (2/23) inhibitors didn't receive any medication, and 26.1% (6/23) inhibitors chose intermittent small dose FⅧ treatment; Among those patients who didn't received inhibitor eradication, 87.5% (7/8) patients with low titer inhibitor showed gradual disappearance, and the median time was 3 months; 84.6% (11/13) patients with high-titer inhibitors remained positive in 12–48 months showing a gradual decrease with time; 7.7% (1/13) high titer inhibitors showed gradual disappearance in 2 years. The annual traumatic and provoked bleeding frequency for joints, skin and soft tissue showed no difference after inhibitor formation.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.06.007

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院;实验血液学国家重点实验室  
通信作者:杨仁池,Email:rcyang65@163.com

**Conclusion** Intensive F VIII treatment was a risk factor for inhibitor formation. The inhibitor didn't increase bleeding frequency in HA children.

**【Key words】** Children; Hemophilia A; Factor VIII; Inhibitor

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81428002); PUMC Youth Fund and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (332015129); Novo Nordisk Haemophilia Research Fund in China (2010-2012)

血友病 A(HA)是由于凝血因子 VIII(FVIII)的量和分子结构异常所引起的出血性疾病,为 X 染色体连锁的隐性遗传病。替代治疗(输注外源性 FVIII)是本病重要的治疗手段,然而部分患者会产生针对外源性 FVIII 的抑制物。抑制物会导致疗效降低和治疗费用增加,严重影响患者的生活质量。因此,针对抑制物危险因素的研究具有重要意义。国外研究显示,抑制物产生的危险因素包括阳性家族史<sup>[1]</sup>、FVIII 基因突变<sup>[2]</sup>、初次暴露年龄<sup>[3]</sup>、高强度 FVIII 输注<sup>[4]</sup>等。我们对本中心 2010 年 1 月 1 日至 2014 年 12 月 31 日收治的 16 岁以下儿童 HA 患者进行回顾性分析,试图探索抑制物产生的危险因素,同时通过对患儿进行跟踪随访,研究抑制物对其出血特征的影响。

### 病例与方法

1. 病例:2010 年 1 月 1 日至 2014 年 12 月 31 日,中国医学科学院血液病医院收治 16 岁以下 HA 患儿 445 例,均为汉族。445 例 HA 患儿中,抑制物阳性 26 例,23 例具有完整随访资料。以 1:2 配比,选取 46 例年龄相差在 1 岁以内、疾病严重程度相当、暴露日超过 75 d 的抑制物阴性 HA 患儿作为对照。

2. 资料收集:①通过回顾患者病史及院外医疗记录获取以下资料:出生日期,诊断日期,FVIII 活性(FVIII:C),初次暴露年龄,FVIII 种类及剂量,FVIII 抑制物水平,暴露日,每次出血部位、时间、类型及治疗,家族史及手术史;②通过电话询问及门诊随访等方式了解患者每次出血时间、部位、类型、治疗以及 FVIII 抑制物的变化。

3. 定义:血友病分型:轻型:FVIII:C > 5%、≤ 40%;中间型:FVIII:C 1%~5%;重型:FVIII:C < 1%<sup>[5]</sup>。高强度暴露:连续应用 FVIII 5 d 以上,每天应用剂量 ≥ 20 U/kg<sup>[6]</sup>。手术期间高强度暴露:手术期间连续应用 FVIII 制剂 ≥ 3 d<sup>[3]</sup>。暴露日:注射外源性 FVIII 的实际天数。靶关节:3 个月内反复出血超过 3 次的关节。FVIII 转换:患者接受不同 FVIII 制剂(血浆来源和基因重组产品)输注。

4. FVIII 抑制物检测:采用 Bethesda 法检测 HA 患者血浆 FVIII 抑制物,FVIII 抑制物滴度 ≥ 0.6 BU/ml<sup>[7]</sup>为

阳性。高滴度抑制物定义为滴度 ≥ 5.0 BU/ml, < 5.0 BU/ml 为低滴度。

5. 统计学处理:应用 SAS 软件进行数据分析。应用 Logistic 回归法分析抑制物产生相关因素。应用配对设计一元定量资料的秩和检验对抑制物产生抗体前后患者年出血率进行分析。 $P < 0.05$  视为差异有统计学意义。对 FVIII 抑制物特征及转归采用描述性分析。

### 结 果

1. 抑制物患病情况:445 例 HA 患儿中,重型 82 例(18.4%),中间型 269 例(60.5%),轻型 94 例(21.1%)。抑制物阳性 26 例(占 5.8%,失访 3 例,其中 2 例为重型,1 例为中间型),低滴度 9 例、高滴度 17 例,其中重型患者 13 例,中间型患者 13 例,无轻型患者产生抑制物;抑制物滴度中位数为 8.0(0.8~500.0)BU/ml。产生抑制物前中位暴露日为 30(7~123)d。23 例抑制物阳性 HA 患儿与对照组临床特征见表 1。

2. 抑制物产生相关因素分析:单因素 Logistic 回归分析显示,抑制物阳性组与对照组比较,初次暴露年龄( $P=0.890$ )、高强度暴露手术史( $P=0.605$ )、感染( $P=1.000$ )、FVIII 转换( $P=0.505$ )与抑制物的产生不相关。高强度暴露与抑制物的产生相关 [ $P=0.030$ ,  $HR=4.435$ (95%CI 1.150~17.094)],即有高强度 FVIII 暴露的患者产生抑制物的风险是其他患者的 4.435 倍(表 2)。

3. 抑制物产生前后临床出血特征比较:通过比较 23 例患儿抑制物产生前后出血特征发现,6 例患儿(4 例重型,2 例中间型)抑制物产生后关节出血次数增多,其中自发性关节出血增多 3 例,创伤性关节出血增多 2 例,非关节出血增多 1 例,但总体患儿关节年出血率( $s=-14$ ,  $P=0.240$ )、非关节年出血率( $s=-6.5$ ,  $P=0.557$ )、自发出血率( $s=-0.5$ ,  $P=1.000$ )、创伤性年出血率( $s=-5$ ,  $P=0.469$ )差异均无统计学意义。

4. 治疗及转归:抑制物产生后有 2 例患儿接受了小剂量利妥昔单抗(每周 100 mg、连续 4 次)清除

表1 血友病A抑制物患儿及对照组的基本特征

项目	对照组(46例)	抑制物阳性组(23例)
中位年龄(月)	18(3~144)	12(5~144)
分型[例(%)]		
中间型	24(52.2)	12(52.2)
重型	22(47.8)	11(47.8)
中位初次暴露年龄(月)	18(3~144)	12(5~144)
高强度暴露 <sup>a</sup> [例(%)]	7(15.2)	10(43.5)
抗体产生前高强度暴露手术史 <sup>b</sup> [例(%)]	2(4.3)	2(8.7)
75个暴露日内合并感染[例(%)]	4(8.7)	2(8.7)
75个暴露日内FVIII转换[例(%)]	35(76.1)	16(69.6)

注:a:输注凝血因子VIII(FVIII)>5 d,每天应用剂量≥20 U/kg; b:手术期间连续应用FVIII≥3 d

表2 血友病A患者抑制物产生单因素 Logistic 回归分析

变量	$\beta$	SE	$\chi^2$ 值	P值	HR值(95%CI)
初次暴露年龄	0.058	0.419	0.019	0.890	1.060(0.466~2.408)
高强度暴露 <sup>a</sup>	1.489	0.681	4.681	0.030	4.435(1.150~17.094)
抗体产生前高强度暴露手术史 <sup>b</sup>	0.522	1.011	0.267	0.605	1.686(0.232~12.232)
75个暴露日内合并感染	0	0.949	0	1.000	1.000(0.156~6.420)
75个暴露日内FVIII转换	-0.436	0.654	0.444	0.505	0.647(0.179~2.331)

注:a:输注凝血因子VIII(FVIII)>5 d,每天应用剂量≥20 U/kg; b:手术期间连续应用FVIII≥3 d

抗体治疗:1例治疗后抑制物水平较前无变化;另1例联合免疫耐受治疗(immune tolerance induction, ITI)3个月,治疗后1个月内抑制物滴度由治疗前500.0 BU/ml降至20.0 BU/ml。

出血时15例(65.2%)患儿选择凝血酶原复合物止血治疗,其中13例为高滴度抑制物患者;2例(8.7%)患儿出血时选择制动、冰敷、抬高患肢等保守治疗;6例(5例为低滴度抑制物)选择间断输注小剂量FVIII(20~30 U/kg)治疗。

在21例未接受抗体清除治疗的患儿中(低滴度、高滴度抑制物分别为8、13例),87.5%(7/8)低滴度抑制物转阴,抑制物中位持续时间为3(1~31)个月,84.6%(11/13)的高滴度抑制物呈下降趋势,持续12~48个月年未转阴;7.7%(1/13)的高滴度抑制物2年后转阴。

### 讨 论

目前研究认为抑制物的形成是多种因素共同作用的结果。22内含子倒位、大片段缺失及无义突变为高风险的FVIII基因突变类型<sup>[2]</sup>,有抑制物阳性家族史的患者抑制物形成风险增加3倍<sup>[2]</sup>,黑种人抑制物发生率是白种人的2倍<sup>[8]</sup>。另外,部分学者认为感染、手术期间应用大剂量FVIII可以诱发异常免疫反应<sup>[9]</sup>,导致抑制物产生风险增加。高强度FVIII输

注<sup>[4]</sup>及初次暴露年龄<sup>[3]</sup>也被认为可导致抑制物的产生。本研究显示,高强度治疗导致抑制物产生的风险增加4.435倍,进一步证实高强度FVIII输注为抑制物产生的危险因素,但感染、手术期间应用大剂量FVIII与对照组比较差异无统计学意义,不过本组病例数偏少,并不能代表最终结果。本研究中抑制物患儿初次暴露中位年龄为12(5~144)个月,对照组中位年龄为18(3~144)个月,两组年龄无明显差异( $P=0.890$ ),提示年龄不是本组患儿抑制物产生的决定因素,与Chalmers等<sup>[10]</sup>的研究结果一致。有学者担忧FVIII转换会导致抑制物产生<sup>[11]</sup>。本组数据显示血浆来源FVIII与基因重组FVIII之间的转换并不能增加抑制物产生的风险( $P=0.505$ ),与Gouw等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。本组病例中无患儿有确切的抑制物阳性家族史,究其原因,23例患儿母亲大多出生于20世纪70~80年代,当时对抑制物的认识尚浅,导致抑制物的检测率较低。

既往报道显示抑制物产生后患者的出血频率会增加<sup>[12]</sup>。本研究23例患儿中,6例抑制物产生后出血次数增多,其中自发性关节出血增多3例、创伤性关节出血增多2例、非关节出血增多1例,不过总体的抑制物产生后自发出血、创伤出血的频率及严重程度较抑制物产生前差异无统计学意义,提示抑制物并不能增加患者的出血频率。

ITI是清除抑制物的首选方法<sup>[13]</sup>。目前中国血友病患者的治疗往往受到经济条件的制约。本组23例HA患儿中,仅有1例进行ITI治疗,效果欠佳。Lim等<sup>[14]</sup>报道利妥昔单抗(375 mg/m<sup>2</sup>每周1次,共4次)清除抑制物有效,本研究2例患者接受小剂量利妥昔单抗治疗(100 mg/m<sup>2</sup>每周1次,共4次)的效果欠佳,可能与剂量偏低有关。

替代治疗是控制抑制物患者急性出血的主要治疗手段,包括凝血酶原复合物以及重组凝血因子VIIa,部分低滴度低反应患者(FVIII暴露后抑制物滴度无增加或仅少量增加且小于5.0 BU/ml<sup>[15]</sup>)可以选择输注大剂量FVIII<sup>[5]</sup>。高反应抑制物患者(FVIII暴露后抑制物滴度快速增加,且大于5.0 BU/ml<sup>[15]</sup>)出血时应避免使用FVIII,因可能导致抑制物反应性增高。本研究中65.2%(15/23)患者出血时选择凝血酶原复合物治疗,大多数(13/15)为高滴度抑制物患者,大部分患儿出血得到有效控制;1例高滴度抑制物患者自行选择FVIII治疗,出血未得到有效控制,并且治疗后抑制物滴度增高。

部分低滴度抑制物为一过性,可随时间推移自动转阴,甚至在间断接触FVIII后仍可转阴<sup>[7]</sup>。本研究中8例患儿抑制物转阴,7例为低滴度患儿,其中5例间断输注FVIII,抑制物中位持续时间为3个月,未出现抑制物反应性增高,与文献报道一致。84.6%(11/13)的高滴度抑制物随时间呈下降趋势,在未进行抑制物清除治疗的情况下持续约12~48个月仍未转阴。

本研究为单中心研究且样本量较少,回顾性对照分析所选择的匹配病例均为本中心患儿,可能存在选择偏倚。同时内在因素(如FVIII基因突变)也在抑制物产生中扮演重要角色,然而受条件限制,本组患儿未进行基因检测。因此,最终结论尚需多中心大样本前瞻性研究加以验证。

#### 参考文献

- [1] Astermark J, Berntorp E, White GC, et al. The Malmö International Brother Study (MIBS): further support for genetic predisposition to inhibitor development in hemophilia patients [J]. *Haemophilia*, 2001, 7 (3):267-272. doi: 10.1046/j.1365-2516.2001.00510.x.
- [2] Gouw SC, van den Berg HM, Oldenburg J, et al. F8 gene mutation type and inhibitor development in patients with severe hemophilia A: systematic review and meta-analysis [J]. *Blood*, 2012, 119(12):2922-2934. doi: 10.1182/blood-2011-09-379453.
- [3] Gouw SC, van der Bom JG, Marijke van den Berg H. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study [J]. *Blood*, 2007, 109(11):4648-4654. doi: 10.1182/blood-2006-11-056291.
- [4] Gouw SC, van den Berg HM, Fischer K, et al. Intensity of factor VIII treatment and inhibitor development in children with severe hemophilia A: the RODIN study [J]. *Blood*, 2013, 121 (20):4046-4055. doi: 10.1182/blood-2012-09-457036.
- [5] 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[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(5):461-463. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.05.020.
- [6] 魏琪琪, 李刚, 唐凌, 等. 儿童血友病A抑制物产生相关因素横断面分析[J]. *中华儿科杂志*, 2014, 52 (2):99-102. doi: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2014.02.005.
- [7] 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.
- [8] Viel KR, Ameri A, Abshire TC, et al. Inhibitors of factor VIII in black patients with hemophilia [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360 (16):1618-1627. doi: 10.1056/NEJMoa075760.
- [9] Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family [J]. *Annu Rev Immunol*, 1994,12:991-1045.
- [10] Chalmers EA, Brown SA, Keeling D, et al. Early factor VIII exposure and subsequent inhibitor development in children with severe haemophilia A [J]. *Haemophilia*, 2007, 13 (2):149-155. doi: 10.1111/j.1365-2516.2006.01418.x.
- [11] Mauser-Bunschoten EP, Rosendaal FR, Nieuwenhuis HK, et al. Clinical course of factor VIII inhibitors developed after exposure to a pasteurised Dutch concentrate compared to classic inhibitors in hemophilia A [J]. *Thromb Haemost*, 1994, 71 (6):703-706.
- [12] Gouw SC, van der Bom JG, Ljung R, et al. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(3):231-239. doi: 10.1056/NEJMoa1208024.
- [13] Di Minno G, Coppola A. Management of patients with long-term inhibitors: is immune tolerance an underestimated life-long solution? [J]. *Haemophilia*, 2013, 19 Suppl 1:18-23. doi: 10.1111/hae.12052.
- [14] Lim MY, Nielsen B, Lee K, et al. Rituximab as first-line treatment for the management of adult patients with non-severe hemophilia A and inhibitors [J]. *Thromb Haemost*, 2014, 12(6):897-901. doi: 10.1111/jth.12579.
- [15] Haya S, Moret A, Cid AR, et al. Inhibitors in haemophilia A: current management and open issues [J]. *Haemophilia*, 2007, 13 Suppl 5:52-60. doi: 10.1111/j.1365-2516.2007.01574.x.

(收稿日期:2015-09-04)

(本文编辑:徐茂强)