

血友病诊治现状与进展

王健琨^① 黄锦雄^①

【摘要】血友病是一种伴性隐性遗传性出血性疾病，诊断主要依据临床表现、家族史、实验室检查，治疗仍以替代治疗为主，补充相应的凝血因子，近年来出现不少新的血友病治疗药物及新的疗法，本文就血友病的诊治现状及治疗进展进行综述。

【关键词】血友病 抑制物 诊断 治疗 进展

doi: 10.14033/j.cnki.cfmr.2021.09.067

文献标识码 A

文章编号 1674-6805(2021)09-0191-04

Current Status and Progress in Diagnosis and Treatment of Hemophilia/WANG Jiankun, HUANG Jinxiong. //Chinese and Foreign Medical Research, 2021, 19(9): 191-194

【Abstract】Hemophilia is a kind of hereditary hemorrhagic disease associated with sex recessive. The diagnosis is mainly based on clinical manifestations, family history and laboratory tests, and the treatment is still based on replacement therapy, supplemented by corresponding coagulation factors. In recent years, many new hemophilia drugs and new therapies have appeared. This paper reviewed the current status of diagnosis and treatment of hemophilia and the progress of treatment.

【Key words】Hemophilia Inhibitor Diagnosis Treatment Progress

First-author's address: Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, China

血友病是遗传性出血性疾病，在中国大陆地区，是罕见病中的常见病，主要表现为关节肌肉出血，治疗不规范将导致关节残疾。近年来随着国家对血友病人群的日益重视，政府及医保的支持力度加大，新的药物及疗法应用于临床，血友病患者诊疗条件得到显著改善，本文就血友病的流行病学、临床表现及诊断、诊疗新进展进行综述。

1 血友病概述

血友病作为一种隐性遗传性凝血因子缺乏病，分为血友病A和血友病B，前者缺乏凝血因子Ⅷ，后者缺乏凝血因子Ⅸ，两种疾病均是由相应的凝血因子基因突变引起，致病基因位于X染色体。据估计，每出生5 000~7 000个男婴中，有1名为血友病A的患者，每出生25 000~30 000个男婴中，有1名为血友病B的患者。在所有血友病患者中，血友病A占80%~85%，血友病B占15%~20%。我国流行病学调查结果显示，中国血友病的患病率为2.73/10 000人^[1]。

2 血友病的诊断

血友病诊断需结合需要结合临床表现、家族史、实验室检查完成^[2-3]。

2.1 临床表现

大部分血友病患者首发出血表现为自发或轻微外伤后皮肤黏膜出血，随年龄增长，中重型血友病患者逐渐表现为以关节、肌肉、深部组织出血，也可有胃肠道、泌尿道、中枢神经系统出血；病程长者，关节反复出血可导致关节畸形，部分轻型患者常在外伤或手术后延迟出血被发现。根据患者的凝血因子活性水平，血友病可分为轻型、中型、重型^[4]。约70%的患者有血友病相关家族史。

2.2 实验室检查

血小板计数正常，凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原定量均正常。中重型血友病患者活化部分凝血活酶时间(APTT)延长，轻型患者APTT轻度延长或正常。确诊有赖于检测FⅧ活性(FⅧ:C)、FIX活性(FIX:C)及血管性血友病因子抗原(VWF:Ag)。血友病A患者FⅧ:C减低或缺乏，VWF:Ag正常，FⅧ:C/VWF:Ag明显降低；血友病B患者FIX:C减低或缺乏。部分血友病患者接受外源性凝血因子制剂治疗后会产生的抗FⅧ/FIX的同种抗体即抑制物，重型血友病A患者抑制物发生率约为30%，非重型为3%~13%，而血友病B患者为1%~6%^[5]。对某些疗效不佳、初始接受凝血因子制剂治疗、需行手术治疗的血友病患者，应进行抑制物的检测。筛选试验采用APTT纠正试验，若不能纠正则考虑存在抑制物可能，确诊试验采用Bethesda法或Nijmegen法^[6]，部分患者持续替代治疗导致体内残余凝血因子有可能影响检测结果，有条件的单位可采用预热的改良Nijmegen法。FⅧ活性测定最常用的实验室方法是一期凝固法，其次是二期凝固法、发光法。但部分重型血友病A患者临床表现具有异质性，表现为出血风险的差异以及对替代治疗的反应不同，传统凝血因子活性检测不能很好地评估病情，对该部分患者可考虑使用血栓弹力图、凝血酶生成试验进行监测^[7]。血友病基因常见突变包括内含子22倒位、点突变、基因缺失、基因插入、错义突变等^[8]，可通过长链PCR、多重PCR、Sanger法、NGS即二代测序等方法进行检测，主要用于血友病基因诊断、优生优育、产前诊断、家系调查、抑制物风险评估等。

3 血友病的治疗

3.1 血友病替代治疗

替代治疗仍是血友病的主要治疗方法。血友病A首选药

①柳州市人民医院 广西 柳州 545006

通信作者: 黄锦雄

物为基因重组 FVIII 制剂 (rFVIII) 或病毒灭活的血源性 FVIII 浓缩制剂, 血友病 B 首选药物为 FIX 制剂或病毒灭活的血源性凝血酶原复合物 (aPCC)。按半衰期不同, FVIII 制剂每 8~12 小时使用 1 次, FIX 制剂每日使用一次, 同时需要依据患者的体重、出血部位及严重程度、手术方式等制定具体的治疗方案^[9]。

3.2 血友病预防治疗

替代治疗分为按需治疗和预防治疗。按需治疗是指有明显出血时给予的替代治疗, 目的在于及时止血; 预防治疗是指为了防止出血而定期给予的规律性替代治疗, 是以维持正常关节和肌肉功能为目标的治疗。与按需治疗相比, 预防治疗能够防止重型血友病患者发生严重出血、防止或延迟关节病变的发生发展、保护关节的正常功能^[10]。目前临床实践中儿童期预防治疗方案主要有基于体重计算的标准剂量方案、中剂量方案、小剂量方案^[11]。标准剂量方案能够最大限度地减少出血事件和保护关节, 患者活动与正常人基本无异, 但使用凝血因子剂量大, 且注射频繁, 对患者家庭经济负担及治疗依从性都是很大的挑战。Fischer 等^[12]比较了应用中剂量和标准剂量预防治疗方案的效价比。结果显示, 中剂量预防治疗组每年消耗的凝血因子剂量显著减少, 年治疗费用减少 66%, 治疗结局疗效稍差于标准剂量组, 但未显著增加骨关节病变发生, 患者有更好的依从性, 因此从长远来看, 中剂量方案的效价比优于大剂量方案。小剂量方案虽然不能完全阻止关节病变的发展, 但可以明显减少严重血友病 A 患儿的关节出血发生率和改善关节健康评分 (HJHS)^[13], 因此, 世界血友病联盟 (WFH) 建议在资源有限的国家采取小剂量方案预防治疗。

3.3 抑制物的处理

抑制物是血友病治疗过程中出现的严重并发症, 抑制物的处理包括控制出血和抑制物清除。对于低滴度抑制物 (≤ 5 BU/ml) 和非高反应型抑制物 (再次输注 FVIII/FIX 后抑制物滴度 >5 BU/ml) 的患者, 控制出血可采用大剂量 FVIII/FIX; 而对于高滴度抑制物 (>5 BU/ml) 的患者或诱导免疫耐受 (ITI) 失败或 ITI 治疗中出血的患者, 则需要使用旁路制剂, 包括基因重组活化凝血因子 VII (rFVIIa) 及 aPCC。清除血友病抑制物的主要治疗方案是 ITI, 通过长期规律性频繁接受凝血因子制剂治疗, 从而达到外周免疫耐受。常用的 ITI 方案有 Bonn 方案 (大剂量方案)、Van Creveld 方案 (低剂量方案) 和 Malmö 方案^[14]。大剂量方案和低剂量方案的 ITI 成功率没有显著性差异, 大剂量方案治疗费用高, 低剂量方案治疗费用相对较低, 但需要更长的治疗时间, 治疗过程中出血事件更多。Malmö 方案主要用于难治性患者, 是在大剂量方案的基础上联用免疫抑制剂和丙种球蛋白。对于 ITI 失败的患者可采用二线方案, 但目前国际上尚无共识。最常使用的二线治疗药物是人源性 CD20 单抗, 其有效性和安全性需要开展更多的临床研究进行验证^[15]。

4 血友病新药和新疗法

传统重组人凝血因子治疗存在三方面的不足: (1) 针对

含有抑制物患者的预防性治疗; (2) 减少给药负担; (3) 保持凝血因子水平稳定。保持凝血因子水平稳定保持在特定的阈值之上, 可以减轻临床严重程度。针对这些组, 目前正在研发的药品及疗法主要包括以下几个方向。

4.1 长效凝血因子

已上市的传统基因重组凝血因子 rFVIII 的半衰期在 10.8~14.7 h, 血友病 A 患者预防治疗需隔日 1 次或每周 3 次输注凝血因子, 频繁的静脉注射对于患者的依从性要求很高, 也给血友病家庭治疗增加了很大的负担, 因此, 研发长效凝血因子是目前血友病 A 治疗的一个重要途径。长效凝血因子通过 PEG 化或与白蛋白 /IgG1 单体的 Fc 片段融合, 从而延长半衰期。目前主要有四种长效凝血因子 FVIII^[16]: BAX855、BAY94-9027、Eloctate (rFVIII-Fc)、N8GP。其半衰期在 14.3~19 h, 预防治疗每周只需注射 1~2 次。但在循环中 98% 的 FVIII 与 VWF 因子以非共价键结合在一起, FVIII 伴随着 VWF 代谢而被清除, VWF 半衰期为 16 h, 因此, VWF 半衰期决定了修饰后的 FVIII 半衰期延长程度有限^[17]。利用此特点, 有研究使用基因重组 VWF 的 D-D3 区域与修饰后的 FVIII 连接, 竞争性的阻碍 FVIII 与内源性 VWF 结合而避免被共同清除, 有望进一步延长 rFVIII 的半衰期^[18]。相对于长效凝血因子 FVIII, 长效凝血因子 FIX 能够显著延长半衰期, 是传统 rFIX 的 4~5 倍, 半衰期可达 82.1~92.7 h, 主要有三种: Alprolix、Idelvion、N9-GP。

4.2 非因子药物治疗

无论是传统基因重组凝血因子还是长期凝血因子, 治疗仍需较频繁的静脉输注, 且治疗后有可能出现抑制物, ITI 治疗失败的血友病伴抑制物患者存在反复出血风险或止血困难。有研究开发出抗凝途径抑制剂, 通过抑制凝血途径中的抗凝血酶 (因子), 从而达到止血或预防出血的目的。主要有: (1) 抗凝血酶 (AT3) 抑制剂 (Fitusiran)。是以抗凝血酶为作用靶点的小干扰 RNA (siRNA) ALN-AT3。有研究表明, FVIII 降低和抗凝血酶 (AT3) 缺乏同时存在时, 可以减轻其出血表现。Fitusiran 每月皮下注射 1 次即可, 适用于血友病 A、B 患者 (包括伴抑制物者)^[19-20], 但在 2 期临床试验中有 1 例患者出现了颅内静脉窦血栓事件, 其安全性需在更多临床试验中进一步验证。(2) 蛋白 C 抑制剂 (SerpincPC)。活化蛋白 C (APC) 能够不可逆地灭活 FVa 和 FVIIIa 而发挥抗凝作用。SerpincPC 能够抑制蛋白 C 的活化从而促进凝血过程, 目前仍处于临床前研究阶段^[21]。(3) 组织因子途径抑制因子 (TFPI) 抑制剂。主要有 Concizumab、PF-06741086、BAY1093884 三种, 均是 TFPI 的单克隆抗体。目前研究领先的是 Concizumab, 通过结合 TFPI 的 Kunitz-2 结构域来抑制 TFPI (组织因子途径抑制剂), 使 FVIIa: 组织因子复合物产生足够的活化因子 X, 以恢复血友病患者的止血潜能。Concizumab 可以皮下注射, 可有效预防各型血友病的出血^[22]。

4.3 FVIII模拟剂

Emicizumab (ACE910), 是一种人源化双特异性单克隆抗体, 可同时与 FIXa 及 FX 结合, 通过模拟 FVIII 的生理功能而发挥止血作用。Emicizumab 可以皮下注射, 具有半衰期长、免疫原性低、不良反应少的优点, 是近年来最为引人关注的血友病新药, 适用于伴或不伴抑制物的血友病 A 患者的预防治疗^[23-24], 已于 2018 年 12 月获批在中国大陆上市, 但费用昂贵。

4.4 基因治疗

血友病是一组单基因遗传性疾病, 非常适合采用基因治疗, 基因治疗也是唯一有可能治愈血友病的方法。基因治疗基本原理是将修饰后的正常凝血因子编码基因通过合适的载体转导至血友病患者体内, 恢复原缺陷基因的持续表达。目前常用载体有病毒载体和非病毒载体, 病毒载体包括腺相关病毒载体 (AAV)、逆转录病毒载体 (RV)、慢病毒载体 (LV)、腺病毒载体 (AV) 等, 非病毒载体包括脂质体、分子偶联受体、纳米材料等, 最常用的是病毒载体。治疗血友病 A 领先的基因疗法是 AAV5-hFVIII-SQ, 使用的是 AAV5 病毒载体, Pasi 等^[25]报道 15 例重型血友病 A 患者接受不同剂量 AAV5-hFVIII-SQ 单次输注, 随访 3 年, 结果显示, 接受 4×10^{13} $\mu\text{g/kg}$ 或 6×10^{13} $\mu\text{g/kg}$ 剂量 valrox 治疗的所有 13 例受试者, 出血事件年化率大幅降低、完全停止使用预防性因子 VIII; 其中 12 例受试者还经历了靶关节出血的完全消除, 总的来说, AAV5-hFVIII-SQ 疗法表现出良好的安全性, 并且所有剂量在受试者中都能耐受。所有受试者没有出现抑制物, 均保持无须 FV 预防性用药, 未出现严重不良反应。以单链腺相关病毒 (ss-AAV) 为载体的 SPK-9001 疗法在治疗 10 例血友病 B 患者的 1/2 期临床试验中也表现出良好疗效, 结果显示, FIX 活性水平范围在第 6 周时为正常表达水平的 14%~68%, 在第 8 周时为 16%~78%, 在第 12 周时为 14.3%~76.8% (平均为 35.5%), 并使年出血率降低了 97%^[26]。同样是以腺相关病毒载体 (AAV) 为载体的另一项血友病 B 基因疗法 AMT-060, 在临床试验中亦可以安全有效地增加 FIX 活性、减少自发出血和 FIX 预防性使用^[27]。

血友病的确诊以实验室检查为主, 结合临床表现及家族史, 诊断一般不存在困难。血友病治疗仍以替代治疗为主, 使用的药物主要是基因重组或血源性浓缩凝血因子, 但患者需要反复静脉输注, 难以保持稳定的凝血因子水平, 对于伴抑制物的患者无法有效进行预防治疗, FVIII 模拟剂、非因子药物的出现可以解决这些不足, 基因治疗有望治愈血友病。

参 考 文 献

- [1] 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 (2013 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2013, 34 (5): 461-463.
- [2] Pai M, Key N S, Skinner M, et al. NHF-McMaster Guideline on Care Models for Haemophilia Management [J]. Haemophilia: the Official Journal of the World Federation of Hemophilia, 2016 (6): 6-16.
- [3] 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, 2017, 38 (5): 364-370.
- [4] 沈悌, 赵永强. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 第 4 版. 北京: 科学出版社, 2018: 213-215.
- [5] Giangrande P L F, Hermans C, O'mahony B, et al. European principles of inhibitor management in patients with haemophilia [J]. Orphanet Journal of rare Diseases, 2018, 13 (1): 66.
- [6] Blanchette V S, Srivastava A. Definitions in hemophilia: resolved and unresolved issues [J]. Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 2015, 41 (8): 819-825.
- [7] Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications [J]. Lancet (London, England), 2016, 388 (10040): 187-197.
- [8] 戴菁, 王学锋. 血友病基因诊断的现状思考 [J]. 临床内科杂志, 2020, 37 (1): 16-19.
- [9] 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. 血友病治疗中国指南 (2020 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2020, 41 (4): 265-271.
- [10] Mannucci P M. Hemophilia therapy: the future has begun [J]. Haematologica, 2020, 105 (3): 545-553.
- [11] 国家卫生健康委办公厅. 儿童血友病诊疗规范 (2019 年版) [J]. 全科医学临床与教育, 2020, 18 (1): 4-9.
- [12] Fischer K, Steen Carlsson K, Petrini P, et al. Intermediate-dose versus high-dose prophylaxis for severe hemophilia: comparing outcome and costs since the 1970s [J]. Blood, 2013, 122 (7): 1129-1136.
- [13] Chozie N A, Primacakti F, Gatot D, et al. Comparison of the efficacy and safety of 12-month low-dose factor VIII tertiary prophylaxis vs on-demand treatment in severe haemophilia A children [J]. Haemophilia: the official journal of the World Federation of Hemophilia, 2019, 25 (4): 633-639.
- [14] Brackmann H H, White G C, Berntorp E, et al. Immune tolerance induction: What have we learned over time? [J]. Haemophilia: the official journal of the World Federation of Hemophilia, 2018 (s3): 3-14.
- [15] Jiang L, Liu Y, Zhang L, et al. Rituximab for treating inhibitors in people with inherited severe hemophilia [J]. The Cochrane database of systematic reviews, 2017, 7 (7): CD010810.
- [16] Peters R, Harris T. Advances and innovations in haemophilia treatment [J]. Nature reviews Drug Discovery, 2018, 17 (7): 493-508.
- [17] S W Pipe, R R Montgomery, K P Pratt, et al. Life in the shadow of a dominant partner: the F VIII-VWF association and its clinical implications for hemophilia A [J]. Blood, 2016, 128 (16): 2007-2016.
- [18] Pestel S, Beltz H W, Claar P, et al. FVIII half-life extension by coadministration of a D'D3 albumin fusion protein in mice, rabbits, rats, and monkeys [J]. Blood Advances, 2020, 4 (9): 1870-1880.
- [19] Pasi K J, Rangarajan S, Georgiev P, et al. Targeting of Antithrombin in Hemophilia A or B with RNAi Therapy [J]. The New England Journal of Medicine, 2017, 377 (9): 819-828.

PD-1/PDL-1 在胃癌诊治中的研究进展^{*}

付泳达^① 宗飏^① 陈乃焄^① 李鑫玉^① 沈雷^②

【摘要】 胃癌发病率较高,预后较差,死亡率高。程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)及程序性死亡受体配体-1(programmed death ligand-1, PDL-1)的免疫逃逸机制在抗肿瘤转移、抑制肿瘤发生发展中发挥了关键作用。为了促进 PD-1/PDL-1 在胃癌诊断和治疗中的应用,本文介绍了 PD-1/PDL-1 信号通路作用机制,以及在胃癌治疗中的相关研究进展,为 PD-1/PDL-1 研究提供研究基础。

【关键词】 胃癌 肿瘤免疫治疗 程序性死亡受体-1/程序性死亡受体配体-1

doi: 10.14033/j.cnki.cfmr.2021.09.068

文献标识码 A

文章编号 1674-6805(2021)09-0194-03

Research Progress of PD-1/PDL-1 in Diagnosis and Treatment of Gastric Cancer/FU Yongda, ZONG Biao, CHEN Naihe, LI Xinyu, SHEN Lei. // Chinese and Foreign Medical Research, 2021, 19(9): 194-196

【Abstract】 Gastric cancer has a high incidence rate and a poor prognosis. The mortality rate is high. The immune escape mechanism of programmed death-1 (PD-1) and programmed death ligand-1 (PDL-1) plays a key role in anti-tumor metastasis and inhibition of tumor development. In order to promote the application of PD-1/PDL-1 in the diagnosis and treatment of gastric cancer, this paper introduces the mechanism of PD-1/PDL-1 signaling pathway and the related research progress in the treatment of gastric cancer, so as to provide the research basis for the research of PD-1/PDL-1.

【Key words】 Gastric cancer Tumor immunotherapy Programmed death-1/programmed death ligand-1

First-author's address: Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China

胃癌是目前我国常见的恶性肿瘤,死亡率呈现上升趋势^[1]。胃癌发生发展涉及很多的因素,尽管对胃癌有许多治疗手段,但是胃癌 5 年复发率和死亡率仍然极高^[2]。我国胃癌普查发现的进展期胃癌患者高达一半以上^[3-4]。传统手术治疗难以彻底医治胃癌^[5-6]。近年来,肿瘤细胞的免疫治疗途径方兴未艾。通过加强或改变人们自身的防御机制,增强对肿瘤的抵抗力,减少肿瘤的发生率,为大多数患者带来了福音。

肿瘤微环境变化能够降低肿瘤自身免疫监控和清除肿瘤细胞的能力^[7-8]。程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)/程序性死亡受体配体-1(programmed death ligand-1, PDL-1)信号通路在肿瘤免疫中发挥了关键作用,但是 PD-1/PDL-1 信号通路与胃癌的诊治关系的研究还存在对 PD-1/PDL-1 上下游的调控通路还没有明确的问题。

1 PD-1/PDL-1 信号通路

PD-1 是由 268 个氨基酸构成,是活跃在 T 细胞或 B 细胞膜上的跨膜受体,也是 B7-CD28 家族成员。PD-1 相对分子质量约为 55 000 Da^[9]。目前, PDL-1 是主要配体,在被激活的 T 细胞、B 细胞、单核细胞或 NK 细胞等免疫细胞表面都有表达^[10]。其基因编码位于人类染色体 2q37.35。PD-1 含有 268 个氨基酸,包含细胞外结构域、疏水跨膜区

* 基金项目: 黑龙江省 2019 年大学生创新创业训练计划项目 (201911230006)

①齐齐哈尔医学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006

②齐齐哈尔医学院基础医学院

通信作者: 沈雷

- [20] Tiede A. Thromboembolic Risks of Non-Factor Replacement Therapies in Hemophilia[J]. *Haemostaseologie*, 2017, 37 (4): 307-310.
- [21] Polderdijk S G, Adams T E, Ivanciu L, et al. Design and characterization of an APC-specific serpin for the treatment of hemophilia[J]. *Blood*, 2017, 129 (1): 105-113.
- [22] Shapiro A D, Angchaisuksiri P, Astermark J, et al. Subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: phase 2 trial results[J]. *Blood*, 2019, 134 (22): 1973-1982.
- [23] Pipe S W, Shima M, Lehle M, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of emicizumab prophylaxis given every 4 weeks in people with haemophilia A (HAVEN 4): a multicentre, open-label, non-randomised phase 3 study[J]. *The Lancet Haematology*, 2019, 6 (6): e295-e305.

- [24] Young G, Liesner R, Chang T, et al. A multicenter, open-label phase 3 study of emicizumab prophylaxis in children with hemophilia A with inhibitors[J]. *Blood*, 2019, 134 (24): 2127-2138.
- [25] Pasi K J, Rangarajan S, Mitchell N, et al. Multiyear Follow-up of AAV5-hFVIII-SQ Gene Therapy for Hemophilia A[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 382 (1): 29-40.
- [26] George L A, Sullivan S K, Giermasz A, et al. Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 377 (23): 2215-2227.
- [27] Miesbach W, Meijer K, Coppens M, et al. Gene therapy with adeno-associated virus vector 5-human factor IX in adults with hemophilia B[J]. *Blood*, 2018, 131 (9): 1022-1031.

(收稿日期: 2020-10-19) (本文编辑: 张亮亮)