

# 血友病治疗新进展\*

杨凌霄 综述, 陈 姝<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院血液科 400010)

**[摘要]** 血友病是一种以凝血功能障碍为主要特征的出血性疾病。近几年,血友病的治疗取得了多项突破性进展。预防治疗模式的转变明显提高了血友病患者的生存质量,但存在不可忽视的抑制物问题。此外,各种新型治疗手段也相继出现,例如模拟 FⅧ凝血功能的双特异性抗体,旁路抗凝蛋白抑制剂,延长半衰期的凝血因子产品和基因治疗等,为血友病的治疗带来新的曙光。

**[关键词]** 血友病;预防治疗;抑制物;新型药品;基因治疗

**[中图法分类号]** R554+.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)24-3216-04

血友病是一种罕见的 X 染色体连锁隐性遗传的一组出血性疾病,分为血友病 A(FⅧ缺乏)和血友病 B(FⅨ缺乏),男性发病,女性常为致病基因携带者。血友病患者常以关节、深部肌肉为主要出血部位,大约 70%~80% 患者因关节长期出血而并发血友病性关节炎<sup>[1]</sup>。目前,以血源性凝血因子和重组凝血因子为主的替代治疗仍是血友病最主要的治疗方式。近十余年来,血友病的治疗取得了许多新进展,主要包括 4 个方面:传统的按需治疗模式转向更为理想的预防治疗模式,对抑制物的预防与治疗,长半衰期因子等新药的研制,以及基因治疗的研究。

## 1 预防治疗

近年来,按需治疗的不足之处逐渐显现。当出血发生,按需治疗虽能尽快做到止血、控制疼痛,但关节、肌肉的损害是不可逆的,形成了反复出血和慢性血友病性关节炎的恶性循环。预防治疗在 20 世纪 70 年代最早由瑞典的 Nilsson 等提出,1994 年被 WFH 和 WHO 推荐为重度儿童血友病的治疗策略<sup>[2]</sup>。预防治疗是指尝试定期预防性替代输注凝血因子,使重型患者体内凝血因子(FⅧ:C/FⅨ:C)含量长期维持在 1%(0.01 U/mL)以上,以防止或减少出血的发生。

根据预防治疗因子使用剂量的不同,有 3 种治疗方案<sup>[3]</sup>:大剂量方案(每次 25~40 IU/kg,血友病 A 每周给药 3 次,血友病 B 每周给药 2 次);中剂量方案(每次 15~30 IU/kg,血友病 A 每周给药 3 次,血友病 B 每周给药 2 次);低剂量方案是对于包括我国在内的资源有限的发展中国家一种有效的过渡性方案,基于中国现状和短期临床数据,中国血友病协作组、预防治疗工作组和儿童工作组推荐血友病 A 10 IU/kg,每周 2 次和血友病 B 20 IU/kg,每周 1 次的低剂量预防治疗计划。

预防治疗可以减轻疼痛,减少出血次数,预防危

及生命的大出血发生,降低日后关节外科手术的可能性,尽可能避免残疾的发生。但预防治疗仍存在一些不可忽视的弊端,由于目前常用的血源性或重组的 FⅧ、FⅨ其半衰期较短,导致了用药频率高,患者顺应性差。此外,持续使用凝血因子、抑制物产生的风险增加,抑制物阳性的患者费用负担更重。血友病的治疗虽然还存在诸多不足,但预防治疗的推进和普及依然是血友病治疗的根本。

## 2 抑制物的处理

近年来,重组 FⅧ制剂、重组Ⅸ制剂,保证了产品的安全性,控制了血源感染的风险。但是,血友病患者长期输注凝血因子带来了另一严重并发症,即 FⅧ、FⅨ抑制物产生。抑制物产生后增加了出血的程度和频率,加大了治疗的难度和费用,增加了残疾率和病死率,进而严重影响了患者的生存质量。

抑制物形成的危险因素有遗传和非遗传因素。基因大片段缺失、22 号染色体倒位、无义突变、种族问题、T 细胞亚群、MHC-I/II 表型、免疫调节基因多态性等均是遗传的高危因素。此外,还包括年龄、疾病严重程度、凝血因子产品类型、用药方案、首次治疗时间、创伤和手术等非遗传因素<sup>[4-5]</sup>。当患者对常规替代治疗无效时,需警惕抑制物产生。

一些遗传方面的危险因素提示存在抑制物家族史是一个强有力的预测指标<sup>[5-6]</sup>,因此在开始替代治疗前,开展抑制物的遗传风险评估是非常有价值的,但是环境因素的影响及免疫系统的复杂性给评估带来了困难。因此需要找到一种新的手段,能够代替常规的因子替代治疗,从而达到预防的目的。

免疫耐受疗法(immune tolerance induction, ITI)是针对抑制物的一个主要治疗方式。ITI 即重复给予 FⅧ使患者产生免疫诱导,体内产生特异性抗体中和抑制物。有资料显示,该疗法对血友病 A 患者的成功

\* 基金项目:重庆市科委科技支持项目(cstc2015shmszx120045)。  
△ 通信作者, E-mail: chenshu921@163.com。

作者简介:杨凌霄(1992-),在读硕士,主要从事出血性疾病方面的研究。

率为 60%~80%，但对血友病 B 患者的影响却较少，仅 25% 成功<sup>[7-8]</sup>。ITI 用于抑制物阳性的血友病患者，是公认的去抑制物的主要手段，此外，ITI 还可用于即将接受替代治疗的患者，减少抑制物的产生。但目前仍需对照研究来决定 ITI 的方案<sup>[9]</sup>。ITI 治疗失败的患者，需要考虑使用免疫抑制剂治疗。目前正在使用的免疫抑制剂包括：利妥昔单抗、霉酚酸酯、地塞米松和丙种球蛋白。一些病例报道单用利妥昔单抗治疗抑制物疗效显著<sup>[10]</sup>，但由于该药降低了 B 细胞数，仍需大量临床研究确定其安全性及带来的不良反应。

此外，还有旁路制剂疗法。激活的凝血酶原复合物 (plasma derived activated prothrombin complex concentrate, pd-APCC) 含有外源性或共同凝血途径中所需的 FⅡa、FⅦa、FⅩa 等，不通过内源性凝血途径以“旁路”的形势到达凝血终点。一个独立的前瞻性研究中观察到：使用 FⅧ旁路途径抑制物 (factor eight inhibitor bypass activity, FEIBA) 非连续性的每周给予 3 次药，每次给药 85 U/kg，与按需治疗相比，可以将出血率降低 62%<sup>[11]</sup>。将 FEIBA 以预防治疗的形式用于存在抑制物的血友病患者中，是安全、有效、可行的。

### 3 新型药品

**3.1 双特异性抗体 (ACE910)** 2015 年 9 月，瑞士罗氏公司 (Roche) 开发了用于治疗甲型血友病的新抗体药物 ACE910 (emicizumab)。ACE910 是一种重组人源化的双特异性单克隆抗体，对 FⅨa 和 FⅩ具有高亲和力，通过双亲和作用发挥酶催化反应的辅因子作用，模拟凝血因子Ⅷa，使凝血因子Ⅸa 催化凝血因子Ⅹ形成凝血因子Ⅹa 发挥止血作用。该抗体在受试者中具有良好的耐受性，I、II 期研究显示，伴或不伴有抑制物的血友病 A 患者，其年出血率 (annualized bleeding rates, ABR) 均降低，尚无严重不良事件报道<sup>[12]</sup>。该药因皮下给药 (每周 1 次)、半衰期长 (4~5 周)、免疫原性低、液体常温保存得到青睐。此外，除结合位点外，ACE910 与 FⅧ无类似结构，不会被 FⅧ的抗体破坏，从而使许多抑制物阳性的血友病 A 患者受益。I 期临床研究显示，治疗效果对不同人种没有明显区别，1 mg/kg 每周皮下注射 1 次 emicizumab 可以达到约 10% 正常水平凝血因子Ⅷ，能让中、重度血友病 A 缓解为轻度<sup>[13]</sup>。

### 3.2 血友病旁路抗凝蛋白抑制剂

**3.2.1 拮抗组织因子途径抑制物 TFPI (concizumab)** 抗凝过程由抗凝血酶 3 (AT-3)、组织因子途径抑制物 (TFPI)、蛋白 C 和蛋白 S 这 4 种血浆蛋白控制，TFPI 是组织因子 (TF)、FⅦ和 FⅩ的抑制物，是一种在正常生理条件下血液中天生的天然抗凝物质。TFPI 有 3 个不同功能的结构域，其中 2 个结构域分别与 TF-FⅦ和 FⅩa 结合并发挥抑制作用，第 3 个结

构域与具有抗凝作用的蛋白 S 结合，起协同作用，从而阻止凝血酶原转换为凝血酶，达到抗凝的效果。新型药物的另一个发展方向为 TFPI 抗体 concizumab<sup>[14]</sup>。该抗体是一种人源化的具有高亲和力的单克隆抗体，能作用于 TFPI 的结构域，干扰 TFPI 和 FⅩa 形成复合物，从而抑制 TFPI 的活性。

### 3.2.2 siRNA 靶向沉默抗凝血酶 (ALN-AT3)

2014 年 11 月有研究报道了应用 RNA 干扰 (RNAi) 疗法的新药即 ALN-AT3，该药皮下注射，有望将治疗频率减少至每周 1 次甚至每月 1 次，适用于伴或不伴抑制物的血友病 A 和 B<sup>[15]</sup>。抗凝血酶 (AT) 主要为抗凝血酶 3 (AT3)，同样是一种在正常生理条件下血液中天生的天然抗凝物质，其通过灭活 FⅩa 和凝血酶达到抗凝作用。ALN-AT3 通过一种基因沉默程序发挥作用，这一程序可以关闭 AT 的功能，通过抑制 AT 提升凝血酶水平和活性，从而在不补充外源性凝血因子的情况下，减少出血的次数。其在 I 期试验中被用于中重度血友病患者，中期结果显示 ALN-AT3 能够使 AT 的活性降低 86%<sup>[15]</sup>。

### 3.3 延长半衰期 (extended half-life, EHL) 的产品

在替代治疗中，因为 FⅧ产品只有 8~12 h 的半衰期，目前被广泛使用的预防治疗方案也需要大约每周 2~3 次，甚至在某些情况下每天 1 次的重复静脉输注，这为治疗带来不便，也促使研究者们开发出半衰期延长的因子产品，从而减少静脉输注的频率，同时更长时间地避免患者出血。

### 3.3.1 聚乙二醇分子 (PEG) 聚合化

PEG 聚合化是将活化的 PEG 通过化学方法以共价键耦联到蛋白质或多肽分子上。PEG 修饰后具有增强生物学、物理、化学稳定性，减少毒副作用，降低或消失免疫原性的作用。最重要的是，PEG 聚合化后处于亲水状态，与低密度脂蛋白受体相关蛋白 (LRP1) 结合，减少在肝脏内的清除，达到延长半衰期的作用，能将平均半衰期提高到原来的 1.6 倍左右<sup>[16]</sup>。2015 年 11 月 13 日，美国 FDA 批准 Baxalta 公司生产的 BAX855 (Adynovate) 用于成人和 12 岁及以上年龄的青少年血友病 A 患者，借助 PEG 技术，每周 2 次的预防治疗方案能使该药能在血液中维持较长的时间<sup>[17]</sup>，同类型的还有 Bayer 公司生产的 BAY94-9027，Novo Nordisk 公司生产的 N8-GP。有报道显示 PEG 会残留在网状内皮系统，但目前暂没有证据提示残留 PEG 的长期毒性<sup>[18-19]</sup>。N9-GP (Rebinyn) 是由 Novo Nordisk 公司研制的 PEG 聚合化的长效 rFⅨ制剂，能将平均半衰期提高到原来的 6 倍，临床试验仍在进行中<sup>[20]</sup>。

**3.3.2 融合蛋白表达** 融合蛋白法是延长 rFⅧ和 rFⅨ半衰期的另一个策略，包括清蛋白融合法和 Fc 片段 (免疫球蛋白 IgG 恒定区) 融合法。研究显示，将清蛋白与 FⅨ融合后能将半衰期较传统 rFⅨ延长至少 5 倍；将 Fc 片段与 FⅧ融合后，凝血因子可避免被

溶酶体降解,半衰期可延长 1.6 倍,但远低于 Fc 片段与 FⅨ 融合的效果,后者的半衰期可延长 3.0~4.0 倍<sup>[21-22]</sup>。

Biogen Idec 公司生产的 Efmoroctocog alfa (Eloctate) 是一种与 Fc 片段相融合的缺失 B 结构域的人 FⅧ因子类似物,2014 年由 FDA 批准用于血友病 A 儿童及成人患者的首个长效重组药物。该药每隔 3~5 天预防性输注,在控制和预防出血事件、围术期管理和常规预防等方面均优于常规药物<sup>[21]</sup>。该公司生产的另一种重组因子Ⅸ Fc 融合蛋白疗法新药 Alprolix(rFIX-Fc),用于血友病 B 的治疗,适用于所有年龄段的 B 型血液病患者的按需治疗和预防性治疗。预防性用药时,可以每隔 7 或 10 天给药一次<sup>[22]</sup>。

#### 4 基因治疗 (gene therapy)

目前替代治疗是血友病患者的主要治疗方式,但由于血友病是单基因遗传病,因子活性水平的轻度变化即可改变疾病的表型,因此对于血友病,基因治疗是最理想的方式,也是根治血友病的唯一办法。基因治疗即是通过载体将正常的 FⅧ和 FⅨ基因转入患者体内。载体可分为病毒载体和非病毒载体,常用的病毒载体包括逆转录病毒载体 (RV)、腺病毒载体 (AV)、腺相关病毒载体 (AAV),而治疗基因片段的大小影响载体的选择。FⅧ基因片段较大,逆转录病毒和腺病毒是其主要载体,腺相关病毒是 FⅨ的主要载体。此外,一些致力于基因修正的新技术如定向性重组染色体 DNA 的锌指核酸酶技术 (Zinc finger nuclease, ZFN),高效基因编辑技术 CRISPR/Cas9 系统也在研究中<sup>[23]</sup>。

##### 4.1 腺相关病毒载体 (adeno-associated virus, AAV)

AAV 是一种单链 DNA 细小病毒,无致病性、免疫原性,能够使外源基因在肌肉、肝脏、中枢神经系统长期持续稳定表达,因上述优势,AAV 成为了基因治疗血友病 B 的重要载体,也是近年来血友病 B 基因治疗的研究热点。有试验显示,FⅨ严重缺乏者,经 AAV 转导 FⅨ后,能将体内 FⅨ水平维持在 3%~7%<sup>[24]</sup>。但由于 AAV 只能容纳小于 4 kb 的基因片段,包装容量小,因此一般不作为血友病 A 基因治疗的载体。最近的研究通过对 FⅧ的基因片段进行修饰,可以去除 B 结构域,优化密码子,且不影响其凝血功能,已经能使 AAV “适配” FⅧ<sup>[25]</sup>。BioMarin 公司生产的 BMN270 (AAV5) 作为 FⅧ的载体已进入 I 期试验中。

##### 4.2 以细胞为基础的基因整合 慢病毒载体 (Lentiviral vectors, LV)

LV 是以细胞为基础的另一种基因治疗手段,与 AAV 不同的是,它能够将目的基因整合到多种靶细胞的 DNA 中(如骨髓造血干细胞、肝窦内皮细胞、多能干细胞分化的内皮祖细胞),具有目的基因表达时间长、不易出现免疫反应等优点。在幼鼠模型中,使用特异性启动子能够在血小板的  $\alpha$ -颗粒内异位

表达 FⅧ,当血小板激活后,迅速释放 FⅧ到出血部位,从而减少异基因抗体的发生<sup>[26]</sup>。

#### 5 结 语

长久以来,替代治疗仍是血友病最主要的治疗方式,预防治疗是改善血友病生存质量的根本,血源凝血因子和重组凝血因子仍是替代治疗最主要的药物。近年来,基因治疗策略及新型药物如长效凝血因子、非因子替代治疗剂、抗凝血酶灭活剂等为血友病治疗带来了革新,特别是非因子替代治疗剂、抗凝血酶灭活剂、TFPI 拮抗剂,这些产品将彻底改变抑制物阳性患者的治疗方式,并为没有抑制物的患者提供更方便的替代方案。以上药物用量比因子产品少,并且具有皮下给药而不是静脉内给药的优势,此外,由于暴露于外源性因子产物是抑制物的产生因素,这些新产品尽可能减少或消除因子的暴露,有助于预防抑制物的产生。基因诊治是现在最热门的方向,虽处在临床发展的早期阶段,但为血友病的治疗带来了无限潜力,但其存在的免疫原性、安全性等诸多问题仍需进一步研究解决。

#### 参考文献

- [1] STACHNIK J. Hemophilia: etiology, complications, and current options in management[J]. *Formulary*, 2010, 45(7): 218-227.
- [2] BERNTORP E. History of prophylaxis[J]. *Haemophilia*, 2013, 19(2): 163-165.
- [3] 中华医学会血液学分会血栓与止血组,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.
- [4] BARDI E, ASTERMARK J. Genetic risk factors for inhibitors in haemophilia A[J]. *Eur J Haematol*, 2015, 94 Suppl 77: S7-10.
- [5] ASTERMARK J. FⅧ inhibitors: pathogenesis and avoidance[J]. *Blood*, 2015, 125(13): 2045-2051.
- [6] ASTERMARK J, DONFIELD S M, GOMPERS E D, et al. The polygenic nature of inhibitors in hemophilia A: results from the Hemophilia Inhibitor Genetics Study (HIGS) Combined Cohort[J]. *Blood*, 2013, 121(8): 1446-1454.
- [7] BENSON G, AUERSWALD G, ELEZOVI I, et al. Immune tolerance induction in patients with severe hemophilia with inhibitors: expert panel views and recommendations for clinical practice[J]. *Eur J Haematol*, 2012, 88(5): 371-379.
- [8] COLLINS P W, CHALMERS E, HART D P, et al. Diagnosis and treatment of factor Ⅷ and Ⅸ inhibitors in congenital haemophilia: (4th edition). UK Haemophilia Centre Doctors Organization[J]. *Br J Haematol*, 2013, 160(2): 153-170.
- [9] HAY C R, DIMICHELE D M. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison[J]. *Blood*, 2012, 119(6): 1335-1344.

- [10] LIM M Y, NIENSEN B, LEE K, et al. Rituximab as first-line treatment for the management of adult patients with non-severe hemophilia A and inhibitors [J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(6):897-901.
- [11] BORG J Y, NGRIER C, DURIEU I, et al. FEIBA in the treatment of acquired haemophilia A: results from the prospective multicentre French 'FEIBA dans l'hémophilie A acquise' (FEIBHAC) registry [J]. *Haemophilia*, 2015, 21(3):330-337.
- [12] SHIMA M. New hemophilia treatment employing a bispecific antibody to factors IXa and X [J]. *Rinsho Ketsueki*, 2015, 56(6):623-631.
- [13] UCHIDA N, SAMBE T, YONEYAMA K, et al. A first in-human phase 1 study of ACE910, a novel factor VIII-mimetic bispecific antibody, in healthy subjects [J]. *Blood*, 2016, 127(13):1633-1641.
- [14] CHOWDARY P, LETHAGEN S, FRIEDRICH U, et al. Safety and pharmacokinetics of anti-TFPI antibody (concizumab) in healthy volunteers and patients with hemophilia: a randomized first human dose trial [J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13(5):743-754.
- [15] MONAHAN P E. Emerging genetic and pharmacologic therapies for controlling hemostasis: beyond recombinant clotting factors [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2015(1):33-40.
- [16] TIEDE A, BRAND B, FISCHER R, et al. Enhancing the pharmacokinetic properties of recombinant factor VIII: first-in-human trial of glycoPEGylated recombinant factor VIII in patients with hemophilia A [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(4):670-678.
- [17] WEBER A, ENGELMAIER A, HAINZELMAYER S, et al. Development, validation and application of a novel ligand-binding assay to selectively measure PEGylated recombinant human coagulation factor VIII (BAX 855) [J]. *Bioconjug Chem*, 2015, 26(10):2133-2142.
- [18] IVENS I A, BAUMANN A, MCDONALD T A, et al. PEGylated therapeutic proteins for haemophilia treatment: a review for haemophilia caregivers [J]. *Haemophilia*, 2013, 19(1):11-20.
- [19] STIDL R, FUCHS S, BOSSARD M, et al. Safety of PEGylated recombinant human full-length coagulation factor VIII (BAX 855) in the overall context of PEG and PEG conjugates [J]. *Haemophilia*, 2016, 22(1):54-64.
- [20] COLLINS P W, YOUNG G, KNOBE K, et al. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in hemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial [J]. *Blood*, 2014, 124(26):3880-3886.
- [21] MAHLANGU J, POWELL J S, RAGNI M V, et al. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A [J]. *Blood*, 2014, 123(3):317-325.
- [22] POWELL J S, PASI K J, RAGNI M V, et al. Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B [J]. *New Engl J Med*, 2013, 369(24):2313-2323.
- [23] GUAN Y T, MA Y L, LI Q, et al. CRISPR/Cas9-mediated somatic correction of a novel coagulator factor IX gene mutation ameliorates hemophilia in mouse [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(5):477-488.
- [24] NATHWANI A C, REISS U M, TUDDENHAM E G, et al. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(21):1994-2004.
- [25] GEORGE L A, FOGARTY P F. Gene therapy for hemophilia: past, present and future [J]. *Semin Hematol*, 2016, 53(1):46-54.
- [26] KUETHER E L, SCHROEDER J A, FAHS S A, et al. Lentivirus-mediated platelet gene therapy of murine hemophilia A with pre-existing anti-factor VIII immunity [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(8):1570-1580.

(收稿日期:2018-02-12 修回日期:2018-05-30)

(上接第 3215 页)

- 制 TGF- $\beta$ /Smads 信号转导通路改善大鼠心肌梗死后心室重构的机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(3):1328-1332.
- [30] 杨泉, 曹云山. 芪参益气滴丸对心肌缺血大鼠的心肌保护作用及机制研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(6):501-505.
- [31] 李佳彧, 倪维华, 李佳睿, 等. 左卡尼丁对急性心肌梗死大鼠 TGF- $\beta$ 1 表达的影响 [J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(9):1444-1446.
- [32] IEKUSHI K, TANIYAMA Y, KUSUNOKI H, et al. Hepatocyte growth factor attenuates transforming growth factor- $\beta$ -angiotensin II crosstalk through inhibition of the PTEN/Akt pathway [J]. *Hypertension*, 2011, 58(2):190-196.
- [33] 韩素霞, 郭李平, 常建梅, 等. Ang II 对大鼠心肌梗死后 TGF- $\beta$ 1 表达的影响及对心室肌重构的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35(18):1995-1998.
- [34] WANG W, ZHANG Y, GAO M, et al. Effect of rosuvastatin on atrial structural remodeling in rabbits with myocardial infarction [J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(1):78-82.
- [35] 黄永亮, 李恩, 汪涛. 瑞舒伐他汀对心肌梗死后大鼠心肌组织中  $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ 1 表达的影响 [J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2015, 50(2):232-236.
- [36] 付海荣. 硫酸锌联合阿司匹林对大鼠急性心肌梗死的保护作用及机制研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2016, 41(12):1204-1209.

(收稿日期:2018-02-12 修回日期:2018-05-10)