文章编号:1000-5404(2011)12-1273-04

论著

215例血友病A患者因子Ⅷ抑制物形成的环境因素研究

周 璇,孙 竞,李 敏,李文卿,宋晓玲,刘 阳 (510515 广州,南方医科大学南方医院血液科)

【摘要】 **目的** 研究中国血友病A患者因子Ⅷ(FⅧ)抑制物形成的环境因素。**方法** 监测215例血友病A患者在2年(2007年6月至2009年6月)的连续随访中,FⅧ抑制物发生、变化及转归,并对FⅧ抑制物形成的环境因素进行回顾性分析。**结果** 215例血友病A患者随访2年FⅧ抑制物累积发生率为11.6%(25/215)。FⅧ抑制物形成的环境因素的多变量分析结果示:①输注原因中短期低剂量预防治疗比按需治疗形成FⅧ抑制物的风险低(*OR*=0.037,95% *CI* 为0.002~0.616);②血友病越严重,累积暴露日越少,FⅧ抑制物形成风险越高;③发生严重出血事件是FⅧ抑制物形成的高危因素(*OR*=117.045,95% *CI* 为19.333~708.617);④输注形式和发生重大感染事件与FⅧ抑制物形成无关。**结论** 在中国目前治疗情况下,血友病患者FⅧ抑制物的形成可能与血友病严重程度、输注原因(预防治疗或按需治疗)、累积暴露日和是否发生严重出血事件有关。

【关键词】 血友病A;凝血因子Ⅷ;抑制物;发病率;环境因素
【中图法分类号】 R554.1;R181.34;R446.11 【文献标志码】 A

Environmental factors for inhibitor formation of factor Ⅷ in 215 patients with hemophilia A

Zhou Xuan, Sun Jing, Li Min, Li Wenqing, Song Xiaoling, Liu Yang (Department of Hematology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510515, China)

【**Abstract**】 **Objective** To study the environmental factors for inhibitor formation of factor Ⅷ in 215 Chinese patients with hemophilia A. **Methods** Formation, change and transformation of factor Ⅷ were observed in 215 Chinese patients with hemophilia A during the 2-year follow-up period from June 2007 to June 2009. The environmental factors for inhibitor formation of factor Ⅷ were retrospectively analyzed. **Results** The cumulative incidence of hemophilia A in the 215 Chinese patients during the 2-year follow-up period was 11.6% (25/215). Multivariate analysis showed that the risk for inhibitor formation of factor Ⅷ was lower in short-term low-dose preventive treatment than in on-demand treatment (*OR*=0.037, 95% *CI*=0.002-0.616). The higher the severity of hemophilia was, the less the cumulative exposure day was, and the greater the risk for the inhibitor formation of factor Ⅷ was. Severe bleeding episodes was a high risk factor for the inhibitor formation of factor Ⅷ (*OR*=117.045, 95% *CI*=19.333-708.617). Infusion forms and major infection events were not related with the inhibitor formation of factor Ⅷ. **Conclusion** Inhibitor formation of factor Ⅷ in Chinese patients with hemophilia A may be related to the severity of hemophilia, infusion treatment (preventive treatment or on-demand treatment), cumulative exposure day and severe bleeding episodes in China at present.

【**Key words**】 hemophilia A; coagulation factor Ⅷ; inhibitor; morbidity; environmental factor

Supported by the Phase-1 Project of Novo Nordisk Haemophilia Foundation (NNHF, 2006-2009). Corresponding author: Sun Jing, Tel: 86-20-62787881, E-mail: Jsun@fimmu.com

凝血因子Ⅷ(FⅧ)抑制物是血友病A患者长期替代治疗中产生的抗FⅧ的同种抗体,是治疗血友病的最严重并发症。近年来,国外资料报道[1]显示FⅧ抑制物的形成与各种环境因素(暴露情况、FⅧ制品种类、免疫激活事件如发生重大出血事件、手术、感染、接种疫苗等)等密切相关。国内这方面研究较少,本研究对215例血友病A患者进行长期随访,收集病史资料,探讨中国国情下FⅧ抑制物形成的环境相关因素。

【基金项目】 诺和诺德血友病基金会(NNHF)中国一期项目(2006-2009)
【通信作者】 孙 竞,电话:(020)62787881,E-mail:Jsun@fimmu.com

1 资料与方法

1.1 病例资料

南方医院血液科登记的有完整病史资料，长期随访（2007年6月至2009年6月，中位随访24个月）的血友病A患者215例。215例均为男性，中位年龄26（1～62）岁。其中，轻型（FⅧ：C>5%）15例（7.0%）、中型（FⅧ：C 2%～5%）41例（19.1%）、重型（FⅧ：C<2%）159例（74.0%）。血友病家族史阳性者164例（76.3%）、阴性者42例（19.5%），不确定者9例（4.2%），但均无肯定FⅧ抑制物家族史。随访中记录患者病史资料、治疗情况并检测FⅧ：C活性、FⅧ抑制物。

1.2 FⅧ抑制物的定义

按照国际标准[2]，当临床发现FⅧ活性恢复率<预期值的66%或出现出血频率增加、出血症状加重或止血产品疗效降低时，检测FⅧ抑制物滴度≥0.6 BU/ml。

1.3 实验室方法

采用SYSMEX CA 1500全自动凝血分析仪及配套试剂，基于测定APTT的一期法检测FⅧ活性，按CA1500全自动凝血仪的操作手册进行检测。采用Bethesda法检测血浆FⅧ抑制物，抑制物滴度以Bethesda单位来计算，1个Bethesda单位指检测体系中剩余FⅧ：C活性为50%时的患者血浆稀释度。期间所用检验方法参加WHO-WFH的国际室间质控（EQMS）均达到合格标准。

1.4 统计学分析

FⅧ抑制物形成环境因素的单变量分析：FⅧ抑制物阳性组与阴性组的比较，定性变量用Pearson χ^2检验，定量变量用两样本t检验。多变量分析：以结局变量是否产生FⅧ抑制物为应变量，其余11项指标为自变量做多变量Logistic回归分析，采用逐步回归方法选择变量，设定入选变量$\alpha=0.05$，剔除变量$\alpha=0.10$。用SPSS 13.0软件进行统计分析。

2 结果

2.1 FⅧ抑制物发病率

215例血友病A患者首次FⅧ抑制物检测后发现阳性者20例，即首检患病率为9.3%（20/215）。随访过程中新出现阳性者5例，共计25例，即中位随访24个月的累积发生率为11.6%（25/215），其中轻中型（FⅧ：C ≥2%）累积发病率为5.4%（3/56），重型（FⅧ：C <2%）为13.8%（22/159）。

2.2 FⅧ抑制物形成相关因素分析

单变量分析结果见表1，抑制物发生时累积暴露日、输注形式、发生重大感染事件、严重出血事件与FⅧ抑制物形成相关（$P<0.05$）。经逐步回归方法建立Logistic回归模型有统计意义（$\chi^2=102.458$，$P<0.01$）。方程拟合度尚可，Nagelkerke R^2为0.739。由表2见参数估计结果：①输注原因中短期低剂量预防治疗比按需治疗形成FⅧ抑制物的风险低（$OR=0.037$，95% CI为0.002～0.616）；②血友病越严重，累积暴露日越少，FⅧ抑制物形成风险越高；③发生严重出血事件是FⅧ抑制物形成的高危因素（$OR=117.045$，95% CI为19.333～708.617）；④输注形式和发生重大感染事件与FⅧ抑制物形成无关。

表1 FⅧ抑制物形成影响指标描述及单因素比较

变量	赋值	FⅧ抑制物阳性组（$n=25$）	FⅧ抑制物阴性组（$n=190$）	统计值	P
血友病严重程度					
>5%	1	0	15	$\chi^2=3.470$	0.176
2%～5%	2	3	38		
<2%	3	22	137		
首次暴露年龄（岁，$\bar{x}\pm s$）	–	16.79±12.51	17.15±11.20	$t=-0.149$	0.881
抑制物发生时累积暴露日（d）					
>100	1	0	8	$\chi^2=34.617$	0.000
20～100	2	11	162		
<20	3	14	20		
使用最多产品种类					
血制品（冷沉淀、血浆）	1	2	8	$\chi^2=0.073$	0.696
血源性FⅧ	2	21	165		
重组来源FⅧ	3	2	17		
输注形式					
连续输注（CI）	1	2	1	$\chi^2=8.969$	0.003
单次注射（BI）	2	23	189		
输注原因					
按需治疗	2	24	153	$\chi^2=3.635$	0.057
短期低剂量预防治疗（3～6个月）	2	1	37		
接种疫苗					
是	1	24	181	$\chi^2=0.027$	0.869
否	0	1	9		
发生重大感染事件					
是	1	1	0	$\chi^2=7.636$	0.006
否	0	24	190		
严重出血事件/创伤/手术					
是	1	22	24	$\chi^2=74.622$	0.000
否	0	3	166		
母乳喂养					
是	1	25	181	$\chi^2=1.236$	0.266
否	0	0	9		

表2 Logistic回归方程的参数估计

变量	β	S.E.	Wald	P	OR	95% CI
输注原因	–3.292	1.432	5.284	0.022	0.037	0.002～0.616
严重出血事件	4.763	0.919	26.870	<0.001	117.045	19.333～708.617
血友病严重程度	1.863	0.826	5.088	0.024	6.443	1.277～32.514
抑制物发生时累积暴露日	3.485	1.056	10.896	<0.001	32.622	4.120～258.330

3 讨论

血友病长期替代治疗过程有产生FⅧ抑制物的风险。国外报道随访1.5年以上累积发生率一般为20%～30%[3]。国内首次由诺和诺德血友病基金多中心筛查数据显示FⅧ抑制物患病率为3.9%（56/1 435），但尚无长期随访资料。本研究中，我们首次对215例患者进行长期的追踪随访，发现随访24个月（2007年6月至2009年6月）FⅧ抑制物的累积发生率为11.6%（25/215），重型（FⅧ：C <2%）为13.8%（22/159）。该数据低于欧美等国家，我们推测由于随访时间、检测频率、暴露情况等或是种族遗传的差异所致：在目前中国国情下，我国血友病患者由于经济水平、FⅧ制剂供应问题及诊治条件的限制，FⅧ暴露频率、暴露剂量较低，检测频率均较低。

FⅧ抑制物的形成是多种因素相互作用的结果。据文献[2,4]报道,FⅧ抑制物的形成与环境密切相关,具体如下:

(1)首次暴露年龄及暴露日(exposure days,EDs)。开始替代治疗的年龄越小,患者抑制物形成率越高。西班牙一项研究[5]表明:首次暴露年龄小于6个月、6个月至12个月、1岁以后发生抑制物的(3年内)分别为41%、29%、12%。在CANAL研究中也得出了相似的结论[6]。Santagostino等[7]的一项病例对照研究表明了这种年龄和抑制物形成间的相关趋势,但在多变量分析中无统计学差异。因此,首次暴露年龄与抑制物形成间的相关性需要进一步评估。本研究单因素分析结果显示:首次暴露年龄与抑制物的形成间无统计学差异($P=0.881$),这可能与目前中国国情有关,中国血友病患者由于经济水平低下、FⅧ制剂供应紧张和诊治条件的限制,首次暴露年龄均较大。

另外,研究[8]显示:对于血友病未经治疗患者(PUP)形成FⅧ抑制物者,95%在50 EDs内形成FⅧ抑制物,50%在20 EDs内形成FⅧ抑制物。对于中国血友病患者,首次暴露均较晚,14/25(56.0%)的患者少于20 EDs,本研究同样表明对于PUP,累积暴露日越少,FⅧ抑制物形成风险越高($OR=32.622$,95% *CI* 为6.433~417.706)。

(2)暴露情况。研究[7]表明,早期行规律预防治疗可能减少抑制物的形成。本组215例中38例间断行短期低剂量预防治疗(3~6个月、每次10 U/kg,2次/周),发现短期低剂量预防治疗比按需治疗形成FⅧ抑制物的风险低($OR=0.037$,95% *CI* 为0.002~0.616)。另外,有研究[9]认为高强度暴露可能是FⅧ抑制物发生危险因素,本研究25例抑制物阳性者均有大剂量暴露的历史(最大暴露量140 000 IU),尤其是高滴度抑制物组更是如此(最大暴露量180 000 IU)。北京协和医院2009年报道12/158(7.6%)的血友病患者的抑制物形成与该因素有关($P<0.01$)[10]。

(3)产品种类。产品种类与抑制物形成间的关系,目前仍存在争议。研究[11]表明:重组因子应用以来,与早期血源性产品时期相比,抑制物的发生率明显提高。法国一项回顾性研究[12]同样支持应用血源性产品抑制物发生率较低。得出这个结论的原因可能是血源性产品中包含的VWF发挥了作用。然而,目前在此方面的研究数据还不是很明朗,所以,血源性产品能否降低免疫原性尚不能肯定[13]。本研究中发现使用血制品(如冷沉淀、血浆等)相对于重组来源FⅧ和血源性FⅧ形成FⅧ抑制物的风险无统计学差异($P=0.542$)。

(4)注射方式。连续输注(CI)可能是抑制物形成危险因素。德国一项调查[14]显示,在轻中度血友病患者行CI中有50%形成了抑制物。Sharathkumar等[15]发现了相似的结论。CI导致FⅧ的持续暴露,减少了峰浓度,可能调节了免疫反应。而且CI使长期接触FⅧ的塑料导管可能导致抗原性的增加。然而,CI对免疫系统的真正作用还需进一步研究。本研究中仅3例因手术需要而曾施行CI,其中2例形成了FⅧ抑制物,单因素分析的结果显示CI与单次注射(BI)对抑制物的形成是有统计学差异的($\chi^2=11.602$,$P=0.003$),但在多因素分析中,CI与FⅧ抑制物的形成无关。

(5)免疫系统的激发。理论上,激活免疫系统、调节细胞因子水平及调节免疫等均有潜在形成抗体的可能。这其中包括:首次暴露时伴随重大感染性疾病或自身免疫性疾病、手术或严重出血事件、接种疫苗、患者出生前母体因子暴露、母乳喂养等。Yee等[16]首次提出母乳喂养通过口服诱导免疫耐受可以减少抑制物的形成。但在一项病例对照研究[5]中,在暴露时出现感染、疫苗接种、手术和中枢神经系统出血、患者出生前母体因子暴露、母乳喂养等均与抑制物的形成无关。总之,在此方面尚需前瞻性研究来评估这些因素。在本研究中,25例患者出生前母体均无因子暴露且均未应用任何免疫抑制剂及其他药物,有1例发生感染性心内膜炎、24例常规接种疫苗、25例均为母乳喂养。本研究单因素分析结果显示:接种疫苗和母乳喂养这两个因素与FⅧ抑制物的形成无关。是否发生感染在单因素分析中有意义($\chi^2=4.024$,$P=0.006$),但在多因素分析中无意义($P=0.999$)。25例中有24例出现过严重出血事件(脑出血、腹腔出血、消化道出血、泌尿道出血、髂腰肌、广泛肌肉出血、严重髋关节出血或手术),尤其是高滴度抑制物患者7例100%接受过这种应激。发生严重出血事件是FⅧ抑制物形成的高危因素($OR=117.045$,95% *CI* 为19.333~708.617)。因而在血友病患者中避免这些激发免疫系统的因素将有着重要的临床意义。

(6)其他因素。血友病严重程度与FⅧ抑制物的形成存在相关性。Wight等[3]50项研究的系统回顾显示FⅧ抑制物的形成与血友病严重程度有关,重型血友病患者FⅧ抑制物发病率(23.1%)高于轻中型患者发病率(7.9%)。本研究中,重型血友病患者抑制物形成率(13.8%,22/159)的确高于轻中型患者(5.4%,3/56)($OR=6.443$,95% *CI* 为1.277~32.514)。

本研究通过对215例血友病A患者长期的连续随访,报告我国血友病A患者FⅧ抑制物形成的累积发生率,分析FⅧ抑制物形成的环境相关因素,研究结果表明:在中国治疗情况下,血友病患者FⅧ抑制物的形成可能与血友病严重程度、输注原因(预防治疗或

按需治疗)、累积暴露日和是否发生严重出血事件有关。当然,在此方面还需进一步多中心大样本的前瞻性研究。

参考文献:

[1] Dasgupta S, Navarrete A M, Delignat S, *et al*. Immune response against therapeutic factor Ⅷ in hemophilia A patients-a survey of probable risk factors[J]. Immunol Lett, 2007, 110(1):23-28.

[2] Astermark J. Why do inhibitors develop? Principles of and factors influencing the risk for inhibitor development in haemophilia[J]. Haemophilia, 2006, 12(Suppl 3):52-60.

[3] Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A:a systematic review [J]. Haemophilia, 2003, 9(4):418-435.

[4] Astermark J, Lacroix-Desmazes S, Reding M T. Inhibitor development [J]. Haemophilia, 2008, 14(Suppl 3):36-42.

[5] Lorenzo J I, Lopez A, Altisent C, *et al*. Incidence of factor Ⅷ inhibitors in severe haemophilia:the importance of patient age[J]. Br J Haematol, 2001, 113(3):600-603.

[6] Gouw S C, van der Bom J G, manrijke 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.

[7] Santagostino E, Mancuso M E, Rocino A, *et al*. Environmental risk factors for inhibitor development in children with haemophilia A:a case-control study[J]. Br J Haematol, 2005, 130(3):422-427.

[8] Kurnik K, Bidlingmaier C, Engl W, *et al*. New early prophylaxis regimen that avoids immunological danger signals can reduce FⅧ inhibitor development[J]. Haemophilia, 2010, 16(2):256-262.

[9] Ragni M V, Ojeifo O, Feng J, *et al*. Risk factors for inhibitor formation in haemophilia:a prevalent case-control study[J]. Haemophilia, 2009, 15(5):1074-1082.

[10] 闫振宇, 范连凯, 李魁星, 等. 血友病A患者因子Ⅷ抑制物的检出率及抑制物产生的环境因素[J]. 中国医学科学院学报, 2009, 31(5):580-583.

[11] Hay C R. The epidemiology of factor Ⅷ inhibitors[J]. Haemophilia, 2006, 12(Suppl 6):23-29.

[12] Goudemand J, Rothschild C, Demiguel V, *et al*. Influence of the type of factor Ⅷ concentrate on the incidence of factor Ⅷ inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A[J]. Blood, 2006, 107(1):46-51.

[13] Gringeri A, Monzini M, Tagariello G, *et al*. Occurrence of inhibitors in previously untreated or minimally treated patients with haemophilia A after exposure to a plasma-derived solvent-detergent factor Ⅷ concentrate[J]. Haemophilia, 2006, 12(2):128-132.

[14] Von-Auer C H, Oldenburg J, Von-Depka M, *et al*. Inhibitor development in patients with hemophilia A after continuous infusion of FⅧ concentrates[J]. Ann NY Acad Sci, 2005, 1051:498-505.

[15] Sharathkumar A, Lillicrap D, Blanchette V S, *et al*. Intensive exposure to factor Ⅷ is a risk factor for inhibitor development in mild hemophilia A[J]. J Thromb Haemost, 2003, 1(6):1228-1236.

[16] Yee T T, Lee C A. Oral immune tolerance induction to factor Ⅷ *via* breast milk, a possibility? [J]. Haemophilia, 2000, 6(5):591.

(收稿 2010-11-18 修回 2011-01-11)

(编辑 吴培红)

(上接1268页)

2 讨论

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma)是来源于横纹肌细胞或向横纹肌分化的间叶细胞的恶性肿瘤,以儿童和青少年多见,其发病率占儿童所有恶性肿瘤的5%,儿童软组织肿瘤的50%,仅次于神经母细胞瘤和肾母细胞瘤[1]。男、女性发病无明显差别,也有统计男性发病多于女性[2-3]。可发生于全身任何部位,以头颈部最为多见,其次为泌尿生殖道及腹膜后,少数发生于四肢,占15%~20%[3-4]。以单发多见,有少量多发横纹肌肉瘤文献报道,其发病部位分别为腹膜后、双侧嚼肌及左侧上下肢、鼻咽、乳腺及眼眶。该病例发生于腹膜后、盆腔、左侧腹股沟区及左下肢。最新病理分类将横纹肌肉瘤分为胚胎型(包括葡萄状肉瘤及梭形细胞型)、腺泡型、多形性3种类型。以胚胎型最常见,占50%~60%,绝大多数发生在婴幼儿,以头颈部、泌尿生殖道及腹膜后多见[3]。此例胚胎型横纹肌肉瘤发生于左下肢及腹膜后,年龄为13岁,属青少年,与文献报道不符。该病容易通过淋巴道及血行转移,以肺部多见,其次为骨髓、淋巴结及骨转移。10%~20%患者在发现时已发生远处转移[5]。本例患者目前尚未发现肺部及骨转移征象。

本例CT检查显示腹膜后、盆腔、左侧腹股沟区及左下肢多发肿块,沿血管神经分布,且长轴与神经血管走行一致,影像最初误诊为神经纤维瘤病。但回顾分析发现,多发肿块体积均较大,最大径线约22 cm,且坏死囊变明显。有作者统计四肢软组织肿瘤直径>8 cm,其恶性的可能性大[6]。并且该病例行CT血管成像检查,经多平面重建后清晰显示肿瘤侵犯包绕大血管,因此该患者就其CT特点应首先考虑恶性肿瘤的可能性。而神经源性肿瘤多呈不均匀明显强化,且钙化常见,但横纹肌肉瘤多呈轻-中度强化[3,5],该患者呈轻度持续性强化,并未见明显钙化显示,可兹鉴别。该患者未侵及骨质,对周围肌肉呈推压移位改变,导致误诊为良性病变,但此特点正是发生于四肢/腹膜后横纹肌肉瘤与头颈部的横纹肌肉瘤不同之处,头颈部病变则多呈浸润性生长,易破坏周围肌肉及骨质[2,7]。

多发性横纹肌肉瘤影像报道病例较少,影像表现总的来讲缺乏特异性,最终确诊需依靠病理诊断。

参考文献:

[1] 邵剑波. 小儿横纹肌肉瘤:影像学表现与评价[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2009, 15(5):462-467.

[2] 赵萌, 钟发英, 薛向阳. CT对小儿头颈部横纹肌肉瘤的诊断价值[J]. 医学影像学杂志, 2008, 18(1):51-53.

[3] Franco A, Lewis K N, Lee J R. Pediatric rhabdomyosarcoma at presentation:Can cross-sectional imaging findings predict pathologic tumor subtype? [J]. Eur J Radiol, 2011, Feb 7. [Epub ahead of print]

[4] 郑雪瑛, 陈镇仁. 右下肢横纹肌肉瘤误诊为糖尿病足1例[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2009, 3(2):334-336.

[5] Xu Y, Wang J, Peng Y, *et al*. CT characteristics of primary retroperitoneal neoplasms in children[J]. Eur J Radiol, 2010, 75(3):321-328.

[6] 于春水, 李坤成, 杨小平, 等. 四肢软组织神经源性肿瘤的MRI诊断[J]. 中国医学影像技术, 2003, 19(9):1185-1187.

[7] 张朝晖, 孟悛非, 陈应明. 四肢横纹肌肉瘤的MRI和CT影像学特征——附9例报告[J]. 癌症, 2007, 26(9):1001-1004.

(收稿 2011-03-28 修回 2011-04-19)

(编辑 汪勤俭)