

艾美赛珠单抗对血友病 A 凝血试验检测的影响*

陈振萍¹ 李刚¹ 李泽坤¹ 甄英姿¹ 黄昆¹ 吴润晖¹

[摘要] 目的:评估艾美赛珠单抗对不同方法的凝血实验室检测结果的影响,为艾美赛珠单抗治疗的血友病 A 儿童患者提供适当的儿童实验室监测数据。方法:纳入 2019 年 8 月—2020 年 9 月就诊于我院血友病门诊接受艾美赛珠单抗治疗的血友病 A 患儿 11 例,采集枸橼酸钠抗凝的外周血共 16 份,进行凝血试验检测,包括活化部分凝血活酶时间(APTT),一期法 FⅧ活性(FⅧ:C)检测,发色底物法 FⅧ:C(包括人源和牛源两种 FⅧ:C 检测试剂盒)及基于 3 种 FⅧ检测方法的 Nijmegen 改良法检测 FⅧ抑制物。结果:使用艾美赛珠单抗的血浆样本 APTT 值为(24.63±1.71)s,较使用前的 APTT 值显著缩短。应用一期法测得的 FⅧ:C 水平为(479.1%±110.3%),牛源 FⅧ:C 检测试剂盒发色底物法检测的 FⅧ:C 水平与基线水平一致,均<1%,人源 FⅧ:C 试剂盒发色底物法检测的 FⅧ:C 水平为(18.97%±7.78%)。基于一期法和人源 FⅧ:C 试剂盒发色底物法检测的抑制物检测结果均为阴性,而基于牛源 FⅧ:C 试剂盒检测的 FⅧ数据计算的抑制物结果显示 7 份样本阳性,9 份样本阴性。结论:APTT 和一期法 FⅧ:C 检测试验受艾美赛珠单抗药物的影响,无法反映体内真正的凝血水平。人源性 FⅧ发色底物法检测试剂对艾美赛珠单抗敏感,可用于该药在体内凝血能力的评估,但不可用于 FⅧ抑制物的检测。牛源性 FⅧ发色底物法检测试剂对艾美赛珠单抗不敏感,可反映体内真正的 FⅧ:C 水平,适用于 FⅧ抑制物的检测。

[关键词] 艾美赛珠单抗;血友病 A;活化部分凝血活酶时间;FⅧ活性检测;一期法;发色底物法

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2020.11.009

[中图分类号] R554.1 **[文献标志码]** A

Effect of emicizumab on coagulation assays of hemophilia A

CHEN Zhenping LI Gang LI Zekun ZHEN Yingzi HUANG Kun WU Runhui

(Hematology Oncology Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, National Center for Children's Health, Beijing Key Laboratory of Pediatric Hematology Oncology; National Key Discipline of Pediatrics, Capital Medical University; Key Laboratory of Major Diseases in Children, Ministry of Education, Beijing, 100045, China)

Corresponding author: WU Runhui, E-mail: runhuiwu@hotmail.com

Abstract Objective: To evaluate the effect of emicizumab on the coagulation laboratory tests and to provide appropriate monitoring data for Chinese children with hemophilia A treated with emicizumab. **Method:** Eleven hemophilia A receiving emicizumab in our hemophilia clinic were enrolled from August 2019 to September 2020. Total 16 anticoagulant peripheral blood samples of sodium citrate were collected for coagulation tests, including activated partial thromboplastin time (APTT), one-stage FⅧ assay, chromogenic substrate FⅧ assays (human FⅧ:C kit and bovine FⅧ:C kit) and FⅧ inhibitors detection based on three FⅧ:C assays. **Result:** The APTT value of plasma samples with emicizumab was (24.63±1.71) s, which was significantly shorter than that of plasmas without emicizumab. The level of FⅧ:C detected by one-stage assay was (479.1%±110.3%). The level of FⅧ activity detected by bovine FⅧ:C detection kit was consistent with the baseline level (all<1%). The level of FⅧ activity detected by human FⅧ:C kit chromogenic substrate method was (18.97%±7.78%). All FⅧ inhibitors were negative based on chromogenic substrate assay or one-stage FⅧ:C. The results of bovine FⅧ:C chromogenic substrate assay showed that 7 cases were positive and 9 cases were negative, which was consistent with the results before treatment. **Conclusion:** APTT and one-stage FⅧ assays are affected by emicizumab and could not reflect the real coagulation activity in vivo. The human FⅧ chromogenic substrate assay is sensitive to emicizumab and can be used to evaluate the clotting ability of emicizumab in vivo, but it is not recommended for the detection of FⅧ inhibitor. The bovine FⅧ chromogenic substrate assay is not sensitive to emicizumab and can reflect the real FⅧ:C in vivo, which is suitable for the detection of FⅧ inhibitor.

Key words emicizumab; hemophilia A; APTT; factor Ⅷ activity assay; one-stage assay; chromogenic substrate assay

*基金项目:首都卫生发展科研专项项目(No:首发2018-2-2094);北京市科委首都临床特色应用研究(No: Z181100001718182)

¹国家儿童医学中心,首都医科大学附属北京儿童医院血液肿瘤中心,儿童血液病与肿瘤分子分型北京市重点实验室,儿科学国家重点学科,儿科重大疾病研究教育部重点实验室(北京,100045)

通信作者:吴润晖, E-mail: runhuiwu@hotmail.com

血友病 A 是一种由于凝血因子 VIII 缺乏引起的 X 连锁隐性遗传性出血性疾病。生理条件下, FVIII 被凝血酶激活, 随后作为激活 FIX (FIXa) 的辅助因子, 促进 FIX 的激活。血友病 A 由于 FVIII 活性降低, FIXa 生成减少, 导致凝血潜能不足, 患者表现为不同程度的出血和出血后难以止血。出血症状的严重程度通常与体内的凝血因子水平相关^[1-2]。凝血因子替代治疗是血友病治疗的主要方式, 但反复的 FVIII 输注可产生 FVIII 抑制物, 是凝血因子替代治疗最严重的并发症之一^[3-4]。多种非因子类的新治疗方法已经通过临床实验评估, 其中艾美赛珠单抗 (emicizumab, 原名 ACE910) 已经被 FDA 批准用于有或无抑制物的血友病儿童和成人的预防性治疗^[5-6]。艾美赛珠单抗是一种重组人源化双特异性单克隆抗体, 可同时结合凝血因子 IXa 和 X, 使 FIX 在没有 FVIII 的情况下也可以继续激活, 在凝血因子 IXa 激活凝血因子 X 的过程中基本取代了 VIIIa 作为辅因子的支架作用^[7-9]。多个研究显示, 使用艾美赛珠单抗预防性治疗可显著降低伴有抑制物的血友病 A 患者的年出血率^[5-6, 10]。但使用艾美赛珠治疗过程中, 如果患者出现出血, 需要根据治疗方案和患者症状进行必要的监测。但艾美赛珠单抗与传统的 FVIII 不同的是, 它不需要凝血酶的激活, 少量的艾美赛珠单抗即可使活化部分凝血活酶时间 (APTT) 结果显著缩短, 因此传统的基于 APTT 的凝血试验不适用于监测艾美赛珠单抗^[9, 11], 如采用不恰当的实验结果会导致对艾美赛珠单抗使用者的凝血评估给予误导性的解释。英国血友病中心推荐艾美赛珠单抗治疗患者采用含人源因子试剂的发色底物法检测 FVIII 活性, 含牛源因子试剂的发色底物法进行 FVIII 抑制物的检测^[12]。艾美赛珠单抗说明书中也提示该产品可以影响基于内源性凝血途径的实验室检测, 包括 APTT 等, 但艾美赛珠单抗使用者的具体的凝血检测数据报道依然有限尤其是抑制物检测数据, 国内尚无相关的研究报道。本研究旨在分析艾美赛珠单抗对传统凝血试验和凝血因子检测的影响, 为艾美赛珠单抗治疗的儿童血友病 A 患者提供中国儿童的实验室参照。

1 资料与方法

1.1 资料

选取 2019-08—2020-09 就诊于我院血友病专业门诊接受艾美赛珠单抗治疗的血友病 A 患儿 11 例。本研究经我院伦理委员会批准, 所有患者或其监护人均签署了书面知情同意。

1.2 样本采集及制备

静脉采集患者的外周血 4 ml, 3.2% 枸橼酸钠抗凝, 不超过 25℃ 室温下 2 500×g 离心 15 min 制

备乏血小板血浆, 分装后冻存于 -80℃ 冰箱备用。血样处理在 1 h 内完成。

1.3 仪器与试剂

本研究中用到的主要仪器为美国 Beckman-Coulter 公司的 ACL-TOP700 全自动凝血仪。所用试剂主要为美国贝克曼库尔特公司的 APTT 试剂、乏 FVIII 血浆、定标血浆及正常和异常质控品, CHROMOGENIXCOAMATIC® FVIII (牛源因子) 试剂盒 (IL 公司意大利米兰), 法国 HYPHEN BioMed 公司的 BIOPHEN FVIII : C 试剂盒 (人源因子)、定标血浆、正常质控及异常质控。

1.4 FVIII 活性检测

艾美赛珠单抗治疗前的 FVIII 活性采用基于 APTT 的一期法进行检测, 应用艾美赛珠治疗后的样本应用 2 种方法 3 种试剂对 FVIII 活性进行检测, 一种为基于 APTT 的一期法检测; 另外是通过发色底物法进行检测, 分别按照 COAMATIC® FVIII (牛源因子) 试剂盒或 BIOPHEN FVIII : C (人源因子) 试剂盒的说明书进行操作。该试验主要分两步: 待测血浆与含有磷脂、钙离子、FIXa 及 FIX 的试剂进行孵育产生 FIXa; 第二步加入发色底物, 显色后在 405 nm 波长条件下读取吸光度, 进一步计算转换为 FVIII 活性。所有检测均在 ACLTOP700 全自动凝血仪上完成。

1.5 FVIII 抑制物的检测

血浆样本经 56℃ 热灭活处理后, 3 200×g 离心 10 min 取上清, 按照 Nijmegen 改良的 Bethesda 法进行血浆稀释, 37℃ 孵育 2 h 后, 按上述 3 种 FVIII 活性检测方式进行 FVIII : C 检测。根据检测样本中残余的 FVIII 活性, 通过 Bethesda 抑制物检测方法的公式计算残余的 FVIII 活性, 然后再基于残余的因子水平计算对应的抑制物滴度。抑制物的滴度以 Bethesda 单位 (BU) 表示。一个 BU 定义为 37℃ 2 h 后中和外源性添加一个单位 FVIII 的 50% 的抑制物含量。抑制物滴度 < 0.6 BU 为阴性, ≥ 0.6 BU 为阳性。

1.6 统计学处理

本研究的所有数据均采用 GraphPad Prism (版本 8.00; GraphPad 软件) 进行统计分析。以描述性为主, 符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用艾美赛珠治疗前后的 APTT 值采用 *t* 检验, 抑制物阳性组和阴性组间的 APTT 值比较采用非参数检验, FVIII : C 与 APTT 间的相关性采用 Pearson 进行相关分析, 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 资料

共入组 11 例应用艾美赛珠单抗治疗的血友病

A 患儿,应用单抗中位时间 11(2~15)个月,负荷剂量 3 mg/kg 每周 1 次,随后维持剂量 1.5 mg/kg,每周 1 次,均为男性,年龄(3.4±1.8)岁,10 例为重型血友病 A(FⅧ:C<1%),1 例为中间型(FⅧ:C 1.1%),艾美赛珠单抗治疗前 5 例患者抑制物阳性,6 例抑制物检测阴性(<0.6 BU),其中 4 例患者在负荷治疗期和维持治疗期均采集血样,1 例患者分别在维持治疗 2 个月和 5 个月采样,共采集血样 16 份。

2.2 APTT 结果

患者应用艾美赛珠单抗治疗前的 APTT 值为(112.00±21.91)s,艾美赛珠单抗治疗后的 APTT 值为(24.63±1.71)s,较治疗前显著缩短(P<0.001),处于正常范围低位或低于正常范围,见图 1。使用艾美赛珠单抗治疗后抑制物阳性组和抑制物阴性组的 APTT 值差异无统计学意义[(24.41±1.29)s:(24.90±2.23)s,P>0.05],见图 2。

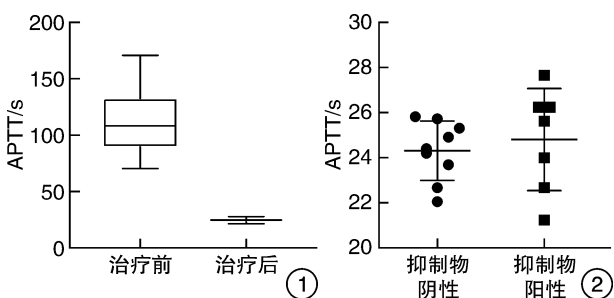


图 1 艾美赛珠治疗前及治疗后 APTT 值; 图 2 FⅧ抑制物阳性组和抑制物阴性组使用艾美赛珠治疗后 APTT 值

2.3 FⅧ活性水平

3 种检测方法所测得的活性水平显著不同(P<0.01)。一期法的 FⅧ活性显著升高,均大于 150%,14 份血浆样本采用平行试验检测的 FⅧ:C 平均水平值为(479.1%±110.3%),远高于正常范围值上限。应用牛源 FⅧ:C 检测试剂盒的 CSA 测得的 FⅧ:C 与药品使用前的基线水平相同,重型患者均<1%,1 例中间型检测的因子水平为 1.2%。应用人源性 FⅧ:C 试剂盒 CSA 检测的 FⅧ:C 为(18.97%±7.78%),在抑制物阳性组 FⅧ:C 与抑制物阴性组间差异无统计学意义(表 1)。

此外,一期法和 CSA 测得的 FⅧ:C 水平与 APTT 值间无明显的相关性(P>0.05)。

2.4 FⅧ抑制物检测结果

对 16 份血浆样本(包含 5 例 FⅧ抑制物阳性患者的 7 份样本)进行抑制物检测,基于一期法和人源 FⅧ:C 试剂盒 CSA 法检测的 FⅧ:C 数据计算的抑制物结果均为阴性,基于牛源 FⅧ:C 试剂盒 CSA 法检测的 FⅧ:C 数据计算的抑制物滴

度为 7 份阳性、9 份阴性,与治疗前的结果一致,抑制物均未转阴,但随着治疗时间的延长未接触 FⅧ的时间延长,5 例阳性患者的抑制物滴度均较治疗前减低(表 2)。

表 1 不同检测方法的 FⅧ:C 检测结果

样本编号	FⅧ:C/%		
	一期法	发色底物法 (人源)	发色底物法 (牛源)
1	573.2	24.7	<1
2	528.0	16.3	<1
3	551.2	22.0	<1
4	>150*	7.2	<1
5	367.2	19.9	<1
6	447.6	10.4	<1
7	346.8	4.8	<1
8	688.4	35.3	<1
9	586.8	20.3	<1
10	>150*	21.5	<1
11	372.4	10.5	<1
12	320.4	19.1	<1
13	532.0	22.7	<1
14	476.0	19.7	1.2
15	544.8	27.9	<1
16	372.0	21.1	<1

* 表示样本量不足,只做单点检测,未做稀释。

表 2 基于不同 FⅧ检测方法的 FⅧ抑制物检测结果

样本编号	治疗前抑制物滴度	治疗后 FⅧ抑制物滴度/BU		
	基于一期法 FⅧ /BU	基于一期法 FⅧ	基于发色底物法 FⅧ (人源)	基于发色底物法 FⅧ (牛源)
1	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
2	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
3	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
4	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
5	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
6	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
7	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
8	22.9	<0.6	<0.6	25.9
9	8.6	<0.6	<0.6	4.3
10	44.8	<0.6	<0.6	15.7
11	23.0	<0.6	<0.6	13.2
12	8.6	<0.6	<0.6	0.9
13	22.9	<0.6	<0.6	8.2
14	106	<0.6	<0.6	7.8
15	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6
16	<0.6	<0.6	<0.6	<0.6

3 讨论

本研究中应用艾美赛珠单抗治疗的患儿外周血的 APTT 值显著缩短,短于或处于正常范围值的下限,与既往报道一致^[13]。APTT 是测定从接触活化剂(鞣花酸、二氧化硅或高岭土)激活 FⅨ 和 FXI,以脑磷脂(部分凝血活酶)代替血小板第三因子,添加氯化钙溶液作为起始试剂后纤维蛋白凝块形成的时间。FⅧ 活化是 APTT 试验过程中的决定性步骤,而艾美赛珠单抗是一种设计用于与人 FⅨa 和 FX 相互作用的双特异性抗体,该抗体不需要凝血酶活化 FⅧ,可直接将 FⅨa 与 FX 结合,激活 FX 启动凝血,研究报道即使在亚治疗水平,药物的存在也会大大缩短 APTT,使其在正常参考范围内或短于正常参考范围^[9,11],且使用艾美赛珠治疗后,采用 APTT 值无法区分 FⅧ 抑制物阳性和抑制物阴性,故 APTT 无法正确评估患者的凝血水平,本试验不适用于艾美赛珠单抗患者的实验室评价。

一期法是目前最常用的凝血因子活性检测方法,其基本原理是基于检测样本对乏 FⅧ 血浆的 APTT 延长的纠正能力。由于 APTT 检测对艾美赛珠单抗的敏感性,基于 APTT 的 FⅧ 活性检测受药物影响。本研究中所有一期法检测的 FⅧ 活性高于正常范围值上限(150%),可达正常上限的 2~4 倍,但此数值是由于药物对 APTT 试验结果的影响导致的,并不能反映体内真实的凝血活性。对于艾美赛珠单抗预防治疗过程中有突破性出血或正在手术的患者,可能需要使用 FⅧ 浓缩产品或旁路药物治疗,此时一期法测的 FⅧ 水平因受单抗药物的影响出现假性升高,无法给予正确的临床指导。发色底物法是另外一种 FⅧ 活性测定方法,主要检测 FⅧ 作为辅因子与 FⅨa 结合形成复合物活化 FX 的能力,通过产生的 FXa 的量计算 FⅧ 的活性,此过程中不涉及凝血酶活化时间的影响,故此方法可用于艾美赛珠单抗治疗患者的 FⅧ 活性检测。

本研究中应用人源因子试剂所测的 FⅧ 活性水平平均值为 18.97%,与 HAVEN 临床试验结果一致^[14-15],而牛源试剂盒发色底物法检测重型患者的 FⅧ 结果均 <1%。此结果提示人源性试剂对艾美赛珠单抗敏感,而牛源性试剂对其不敏感。艾美赛珠是人源化的双特异性抗体,只结合人源的 FⅨa 和 FX,当发色底物法的试剂为牛源 FⅨa 时,艾美赛珠并不结合,不影响样本中 FⅧ:C 的检测结果,故牛源性 FⅧ 发色底物法试剂盒对艾美赛珠单抗不敏感,无法用于艾美赛珠单抗治疗的凝血功能评估,但可用于检测患者体内产生或外源性输注的 FⅧ 活性水平^[12,16],本研究中牛源试剂盒发

色底物法检测的 FⅧ 结果均为自身基线水平。人源 FⅧ:C 检测试剂盒对艾美赛珠单抗敏感,可检测 FⅧ 活性且不受 FⅧ 抑制物的影响,但需注意的是,此法测得的 FⅧ 活性并非患者体内或用 FⅧ 产品治疗达到的因子水平,而仅是反映艾美赛珠单抗促凝活性的参数。另外本法测得的 FⅧ 活性与 APTT 值无相关性,提示 APTT 值无法提示体内的凝血水平。

目前通用的抑制物检测方法为基于一期法的 Bethesda 法或改良的 Nijmegen Bethesda 法。本研究中此方法检测的 FⅧ 抑制物均为阴性,7 例为假阴性。此结果主要是由于传统的抑制物检测方法分析前热灭活处理,可灭活残留的 FⅧ,但不会完全去除艾美赛珠单抗,对照管和样本管中的凝血因子活性检测受艾美赛珠单抗的影响均高于检测上限,导致计算出假阴性结果,故此方法不适合用于艾美赛珠单抗治疗的 FⅧ 抑制物检测^[12,17]。基于发色底物法的 Nijmegen Bethesda 抑制物检测方法,将检测残余 FⅧ 活性的试验由基于 APTT 的一期法改为了发色底物法 FⅧ 检测,对艾美赛珠单抗不敏感的牛源性 FⅧ 试剂盒检测的抑制物检测方法可以排除艾美赛珠的干扰,被成功用于艾美赛珠单抗治疗患者的 FⅧ 抑制物定量检测^[12,18-19]。本研究中用艾美赛珠单抗前抑制物阳性患者,在用药后的血浆标本均通过此方法检出阳性结果。而人源性 FⅧ:C 显色试剂抑制剂由于受艾美赛珠单抗的影响,FⅧ 活性检测主要反映艾美赛珠单抗的作用结果,抑制物判读出现假阴性结果。通过本研究进一步证实牛源试剂显色法可用于准确评估含艾美赛珠单抗样本中的 FⅧ 抑制物滴度,而人源 FⅧ 试剂盒和 APTT 受艾美赛珠单抗的影响,导致抑制物判读假阴性结果,不适用于艾美赛珠单抗治疗的 FⅧ 抑制物检测。

综上所述,在艾美赛珠单抗存在时,APTT 值显著缩短,基于 APTT 的凝血试验受艾美赛珠单抗的影响不适用于药物使用者的 FⅧ 活性和抑制物水平检测。人源 FⅧ:C 试剂盒发色底物法对艾美赛珠单抗敏感可用于评估艾美赛珠单抗在体内的凝血活性,但不可用于 FⅧ 抑制物的检测。牛源 FⅧ:C 试剂盒的发色底物法可反映患者体内自身的 FⅧ 活性,适用艾美赛珠单抗使用者的 FⅧ 抑制物检测。建议对接受艾美赛珠单抗治疗的患者应根据临床需求有针对性的选择适当的检测方法进行测定,以正确指导临床艾美赛珠单抗的使用和剂量调整。

参考文献

- [1] White GC, Rosendaal F, Aledort LM, et al. Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scienti-

- ic and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis[J]. *Thromb Haemost*, 2001, 85: 560.
- [2] Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, et al. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH [J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12: 1935–1939.
- [3] Nilsson IM, Berntorp E, Lofqvist T, et al. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B [J]. *J Intern Med*, 1992, 232: 25–32.
- [4] Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357: 535–544.
- [5] Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, et al. Emicizumab prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379: 811–822.
- [6] Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377: 809–818.
- [7] Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, et al. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model [J]. *Nat Med*, 2012, 18: 1570–1574.
- [8] Kitazawa T, Esaki K, Tachibana T, et al. Factor VIIIa-mimetic cofactor activity of a bispecific antibody to factors IX/IXa and X/Xa, emicizumab, depends on its ability to bridge the antigens [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117: 1348–1357.
- [9] Shima M, Hanabusa H, Taki M, et al. Factor VIII-mimetic function of humanized bispecific antibody in hemophilia A [J]. *N Engl J Med*, 2016, 374: 2044–2053.
- [10] Ebbert PT, Xavier F, Seaman CD, et al. Emicizumab prophylaxis in patients with haemophilia A with and without inhibitors [J]. *Haemophilia*, 2020, 26: 41–46.
- [11] 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: 1633–1641.
- [12] Jenkins PV, Bowyer A, Burgess C, et al. Laboratory coagulation tests and emicizumab treatment A United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation guideline [J]. *Haemophilia*, 2020, 26: 151–155.
- [13] Bowyer A, Kitchen S, Maclean R. Effects of emicizumab on APTT, one-stage and chromogenic assays of factor VIII in artificially spiked plasma and in samples from haemophilia A patients with inhibitors [J]. *Haemophilia*, 2020, 26: 536–542.
- [14] Oldenburg J, Mahlangu JN, Bujan W, et al. The effect of emicizumab prophylaxis on health-related outcomes in persons with haemophilia A with inhibitors: HAVEN 1 Study [J]. *Haemophilia*, 2019, 25: 33–44.
- [15] Pipe SW, 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]. *Lancet Haematol*, 2019, 6: e295–e305.
- [16] Müller J, Pekrul I, Potzsch B, et al. Laboratory Monitoring in Emicizumab-Treated Persons with Hemophilia A [J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119: 1384–1393.
- [17] Lenting PJ, Denis CV, Christophe OD. Emicizumab, a bispecific antibody recognizing coagulation factors IX and X: how does it actually compare to factor VIII? [J]. *Blood*, 2017, 130: 2463–2468.
- [18] Shima M. Trends in novel treatments for hemophilia [J]. *Rinsho Ketsueki*, 2016, 57: 2259–2266.
- [19] Peyvandi F, Kenet G, Pekrul I, et al. Laboratory testing in hemophilia: impact of factor and non-factor replacement therapy on coagulation assays [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18: 1242–1255.

(收稿日期: 2020-08-24)