

与血友病抑制物形成相关遗传和非遗传因素的最新进展

李庆^{1*}, 黄章伟², 陈义文¹, 李沁航¹, 陈姝^{1#}

¹重庆医科大学第二附属医院血液科, 重庆

²重庆医科大学第二附属医院血管腹壁疝外科, 重庆

收稿日期: 2024年2月27日; 录用日期: 2024年3月24日; 发布日期: 2024年3月31日

摘要

目的: 抑制物形成是血友病治疗中面临的最大问题和挑战, 识别抑制物形成的危险因素并早期干预, 降低抑制物形成风险, 对减轻血友病患者经济负担、提高血友病患者治疗效果及预后有重大意义。方法: 我们检索了CNKI、CQVIP、万方数据、PubMed、EmBase、Web of Science和Cochrane Library数据库中过去12年中与抑制物相关的研究。结果: 通过筛选后共纳入相关的中英文文献, 这些文献对各种可能造成抑制物形成的因素进行了大量研究, 主要包括遗传(基因突变、免疫应答、种族与家族史、血型)和非遗传(治疗相关、年龄相关、危险信号、血友病严重程度)两大类因素。结论: 本文对与血友病抑制物形成有关的研究进行了最全面的总结, 为临床医生提供了极大的参考价值和便利。

关键词

血友病, 凝血因子抑制物, 危险因素, 基因

Recent Advances in Genetic and Non-Genetic Factors Related to the Development of Hemophilia Inhibitors

Qing Li^{1*}, Zhangwei Huang², Yiwen Chen¹, Qinhang Li¹, Shu Chen^{1#}

¹Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Department of Vascular Surgery, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Feb. 27th, 2024; accepted: Mar. 24th, 2024; published: Mar. 31st, 2024

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李庆, 黄章伟, 陈义文, 李沁航, 陈姝. 与血友病抑制物形成相关遗传和非遗传因素的最新进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(3): 2322-2332. DOI: 10.12677/acm.2024.143978

Abstract

Objective: The formation of inhibitors is the biggest problem and challenge in the treatment of hemophilia. Identifying risk factors for inhibitor development and early intervention to reduce the risk of inhibitor formation are of great significance to reduce the economic burden of hemophilia patients and improve the therapeutic effect of hemophilia patients. **Methods:** We searched CNKI, CQVIP, Wanfang Data, PubMed, EmBase, Web of Science and Cochrane Library databases for studies related to inhibitors in the past 12 years. **Results:** After screening, relevant Chinese and English literature was included. These literatures conducted a large number of studies on various factors that may cause the formation of inhibitors, mainly including genetic (gene mutation, immune response, race and family history, blood type) and non-genetic (Treatment-related, age-related, red flags, and hemophilia severity) factors. **Conclusions:** This article provides the most comprehensive summary of research related to the formation of hemophilia inhibitors, providing great reference value and convenience for clinicians.

Keywords

Hemophilia, Coagulation Factor Inhibitors, Risk Factors, Genes

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

凝血因子抑制物是多克隆中和性抗体，与凝血因子的表位结合，使其被免疫系统识别为非自身。它还倾向于破坏体内的天然凝血因子，使患者面临发病率和死亡率增加的风险[1]。重型血友病 A (Hemophilia A, HA)患者终生形成抑制物的风险为 25%~40%，而中/轻型 HA 患者终生形成抑制物的风险为 5%~15% [2]。血友病 B (Hemophilia B, HB)患者终生形成抑制物的风险较低，一般见于重型 HB 患者[2]，目前的研究基本上基于 HA 患者。血友病抑制物的形成过程很复杂，包括遗传和环境因素的相互作用，涉及基因、细胞、细胞因子和其他免疫调节分子。而目前的研究已经对血友病抑制物形成的机制有了很深入的理解。凝血因子 VIII (coagulation factor VIII, FVIII)同种异体免疫需要通过抗原呈递细胞(antigen present cells, APC)将 FVIII 肽与主要组织相容性复合物(primary histocompatibility complex, MHC)分子复合物呈递到 T 细胞上，活化的 CD4+ T 细胞转运到脾脏的 B 细胞滤泡，在那里它们激活 FVIII 特异性幼稚 B 细胞。然后，活化的 B 细胞增殖并最终分化为 FVIII 特异性记忆 B 细胞或分泌抗 FVIII 抗体的浆细胞[3]。本文综述了近 12 年来有关血友病抑制物形成的遗传和非遗传因素的研究。

2. 方法

我们检索了 2012 年至 2022 年的 CNKI、CQVIP、WanFang Data、PubMed、EmBase、Web of Science 和 Cochrane 图书馆数据库中关于“血友病”和“抑制物”的相关文献。在阅读了摘要和标题后，我们排除了综述、系统综述、病例报告和动物实验，并去除与本研究目的无关的研究。本文对目前血友病抑制物形成的相关因素进行了最全面的总结。

3. 遗传因素

3.1. 基因突变

基因突变是血友病抑制物形成的最重要因素之一。形成抑制物的风险因突变类型和突变位置而异。一般来说,抑制物形成的风险随基因的结构或功能破坏程度而变化。与抑制物形成风险相关的基因突变类型包括内含子 22 倒位[4] [5] [6],内含子 1 倒位[6]、无义突变[5] [6]、大片段缺失或插入[5] [6]、剪接位点变异[6]、错义突变[6]和移码突变[7]。高风险基因突变类型是抑制物形成的高危因素[8]。无效突变的抑制物发生风险高于非无效突变[6] [9] [10]。22 号和 1 号内含子倒位、大缺失、无义突变和剪接位点突变是无效突变的决定机制,表现出更高的抑制物发生率[7] [11]。在这些突变类型中,内含子 22 倒位是抑制物形成中最常见的突变[12]。在 2022 年 Anwar E. Ahmed 等人的研究中,FVIII 基因内含子 22 倒位与其他大的结构变化的严重 HA 受试者中,抑制物风险没有差异[13]。此外,2022 年一项在中国重型血友病 A 伴抑制物人群中的研究显示多个外显子的大片段缺失或插入,以及轻链的无义突变代表了更高的抑制物峰值滴度[5]。错义突变[9]和移码突变[7]是轻度分子缺陷,具有这些突变的患者以较低的风险和速率形成抑制物[7]。然而,也有研究显示出不同的结果。Tucunduva, A.等人的研究显示与 FVIII 内含子 22 倒位(INV22)相比,FVIII 无义突变和移码突变显示出更高的风险[14]。

我们可以在许多患者中观察到,同一类型的突变也具有不同的抑制物形成风险,因为突变的位点在抑制物形成中也起着重要作用。既往也有研究指出,在某种特定基因突变中,抑制物的形成也有所区别。当无义突变或错义突变位于 FVIII 蛋白的 C1、C2 结构域时,抑制物的发生率高于突变发生在 FVIII 蛋白的其他区域时。C1 和 C2 区域的错义突变更容易转变氨基酸的性质,从而增加抑制物的发生率[15]。Marcin M. Gorski 证实了位于染色体 2q21 上乳糖酶(Lactase, LCT)位点周围的高度保守的单倍型区域中的 rs3754689 错义变异与抑制物开发的相关性[16]。Luca A. Lotta 等人在 2013 年发现了与抑制物发生相关的 8 个基因: RHBG, CEACAM7, CTAGE6P, SEC22B, C5orf49, DAB1, SORL1, PKD1L1 [17]。关于 HB 患者抑制物形成的研究较少。FIX 突变导致丝氨酸蛋白酶结构域外的缺失,使 HB 抑制物形成的风险更高[18]。

3.2. 免疫应答基因多态性

3.2.1. 人类白细胞抗原

编码人类白细胞抗原(Human Leukocyte Antigen, HLA)的基因系统称为 HLA 复合体,是人类体内等位基因最丰富的基因系统,在免疫应答中起着重要的调控作用[19]。HLA 等位基因与血友病患者抑制物形成风险之间存在显著相关性[2]。FVIII 肽与 HLA-DRB1 的结合是非重度 HA 患者抑制物发展的一个组成部分,当存在 FVIII 突变时,更可能发生 FVIII 的 HLA-DRB1 结合和抑制物形成[20]。在一项研究中指出,对于众所周知的风险单倍型 DQB1 * 06: 02/DRB1 * 15: 01,真正的 HLA 风险等位基因似乎是 DRB1 * 15:01 [21]。在后面的一项研究中, Samuel Lessard *et al.*也证实了 DRB1 * 15:01 与 FVIII 抑制物的关联,并在携带 FVIII 内含子倒置的 HA 个体中确定了 DQB1 * 03:03 与抑制物的新关联。此外,他们的研究结果将编码 GRID2 相互作用蛋白的 GRID2IP 与抑制物的形成联系起来[5]。Ferrante A.等人的研究表示 DRB1 * 15 等位基因在抑制物患者中的频率较高[OR 2.57; P = 0.022] [22]。H. PERGANTOU 等人在希腊进行的一项研究得出结论,以下基因型促进抑制物的形成: DRB1 * 01、DRB1 * 01:01 和 DQB1 * 05:01; 以下基因型可能阻止抑制物的形成: DRB1 * 11、DRB1 * 11:01、DQB1 * 03 和 DQB1 * 03:01 [23]。同样的,一项伊朗的研究指出 HA 抑制物风险降低与 HLA-DRB1 * 01: 01 相关,而与 HLA-DRB1:1503 或 HLA-DRB1 * 11 无关[24]。Naz, A 等人指出,与使用抑制物的患者相比,无抑制物患者的 HLA A3 A32、B40、DRB1 * 11 等位基因频率较高。另外,与没有抑制物的患者相比,只有 HLA B8 等位基因与抑制物患者

的关联性增强[25]。Joseph R. McGill 等人表示携带 1 个 HLA 变异体(DPB1 * 02:02)的患者发生抑制物的比率较高,而携带 2 个 HLA 变异体(DRB1 * 04:07; DRB1 * 11:04)的患者发生抑制物的比率较低[9]。另外有研究检测了 FVIII 抑制物阳性患者 HLA-DQA1 区的各等位基因,未发现该区各等位基因与抑制物发生具有相关性[26]。

3.2.2. 肿瘤坏死因子

B 细胞活化因子(BAFF, 也称为 TNFSF13B, CD257), 是肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)配体家族的成员, 在包括单核细胞、树突细胞和骨髓基质细胞在内的各种细胞类型上均有表达。Sanya Arshad 等人分析 HA 伴抑制物患者中 BAFF 和 B 细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)的状态。他们认为, 虽然细胞因子在发病机制中起作用, 但它们似乎不会触发抑制物形成[27]。在最近的一项研究中, Hossam Hodeib *et al.* 得出 BAFF rs9514828(T)的风险等位基因在抑制物阳性患者中明显高于抑制物阴性患者($P = 0.003$), CT + TT 基因型与 FVIII 抑制物发生的风险增加有关。此外, BAFF 水平升高可能是新诊断重度 HA 患儿发生 FVIII 抑制物的有益预后标志物, 临界值为 ≥ 0.92 , 灵敏度为 85.9%, 特异性为 80.2% [28]。Shahzad Soori 等人表示 TNF α rs1800629 A 等位基因降低了抑制物形成的风险, 而 IL10 rs1800896 A > G、FV rs6025 G > A 和 FII rs1799963 G > A 多态性与抑制物发生的风险无关[29]。Ferrante, A.等人指出在 TNF- α 中, -308G > A 多态性的 A 等位基因在抑制物队列中的频率较高[22]。而随后在埃及的一项研究指出 TNF- α 基因多态性(-308 G/A)与埃及 HA 患者 FVIII 抑制物的形成无关[30]。

3.2.3. 白细胞介素

白细胞介素(Interleukin, IL) 10 是由巨噬细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞、淋巴细胞等分泌而来, 在免疫调节和炎症中具有抑制作用。有研究表示 IL-10 参与了 HA 患者抑制物的形成[31]。Delphine Bachelet 等人指出, 对于免疫基因, 只有 IL-10 和 CD86 与抑制物显示出显著的相关性。IL-10-1082G > A 和 CD86 基因 rs2681401 UTR 区域的单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)与抑制物发生风险降低相关[32]。H. PERGANTOU 等人表示, 在 IL-10 多态性的单倍型 ACC 和 ATA 纯合子中, 抑制物的检出率较高且有统计学意义[23]。对于 IL-10, 在具有抑制物的患者中更频繁地观察到-1082G 等位基因[22]。同样地 Bhavya S Doshi 等人表示在 IL10 基因中具有-819TT 和-592AA 以及 TNFA 基因中具有“CG/CG”单倍型的患者具有较低的抑制物风险[14]。Mohamed-Rachid Boulassel 等人表示 HA 伴抑制物患者表现出循环 Breg 细胞水平降低, IL-10 形成不足, 单核细胞上 LPR/CD91 过表达, 以及 Tfh 细胞水平正常[33]。Hoda Sadek 等人表示埃及血友病患者 FVIII 抑制物形成与 IL10-1082A/G 基因多态性无相关性[34]。TNF α rs 1800629 A 等位基因降低抑制物形成的风险, 而 IL 10 rs 1800896 A > G、FV rs6025 G > A 和 FII rs 1799963 G > A 多态性与抑制物形成的风险无关[29]。伊朗的一项研究表明, 在 TGF- β 和 IL-2 基因的等位基因和基因型分析方面, 抑制物和非抑制物患者之间没有统计学上的显著差异, 与世界上一些关于 TGF- β 1 和 IL-2 基因多态性与抑制物开发之间相关性的报道相反[35]。类似的, 印度尼西亚的一项研究表示 IL-2 (rs2069762)基因多态性不是重型 HA 患者发生 FVIII 抑制物的危险因素[36]。另有研究指出白细胞介素-6 基因-174G/C 和白细胞介素-10 基因-1082G/A 位点多态性与 HA 抑制物的形成无关, 尽管既往研究报道抑制物形成患者中 G 等位基因频率较高[37]。

3.2.4. 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4

细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4)属于免疫球蛋白超家族, 其基因与 CD28 和诱导性 T 细胞共刺激分子(inducible T-cell costimulator, ICOS)均位于 2 号染色体的 q33 带上, 由 4 个外显子组成, 编码 223 个氨基酸。CD28 与 CTLA-4 分别为 T 细胞激活提供正性调控和负性调控。调节性 T 细胞(Treg)是免疫细胞的一小部分, 专门用于抑制过度免疫激活和维持免疫稳态。KY Ding 等人

发现有抑制物患者的 Treg 细胞比例和 T 细胞细胞因子浓度高于非抑制物患者。Treg 细胞数量的增加和 T 细胞细胞因子的增加可能与凝血因子 VIII 抑制物的开发和有效性有关[38]。Mohamed Abo El-Asrar 等人指出年轻 HA 患者 Tregs (CD4+/CD25+/CD127+)的低频率可能促进抑制物的形成,这在重型血友病患者中更为明显[39]。Li Yang 等人也指出 CTLA-4/CD28 细胞百分比比值在 FVIII 抑制物阳性与阴性的 HA 患儿中存在差异,抑制物阳性组显著低于阴性组,并且这种差异主要由 CTLA-4 + Th 细胞表达的差异引起。CTLA-4 的低表达可能是抑制物形成的原因之一[40]。Arandi 等人的研究认为 HA 患者 FVIII 抑制物形成与外周血 CD4+ CD25+ CD127-Treg 细胞的水平有关,外周血 CD4+ CD25+ CD127-Treg 细胞水平降低,形成抑制物的风险增加。HA 抑制物阳性患者 IL-35 表达的降低与抑制物的形成有关。HA 患者外周血中 Treg 细胞的水平与 IL-35 表达水平呈正相关,但与疾病的严重程度无关[8]。Aranda 等人首次证明 CD4 + CD25 FOXP3 + Tregs 可能与重度 HA 患者的抑制物形成有关[41]。

3.2.5. 其他单核苷酸多态性

V. BAFUNNO 等人在 F8 基因的 3'UTR 中发现了 3 个 SNPs,即 rs36101366 A > G、rs34683807 C > T、rs180360 C > A,在 IL-10 基因的 3'UTR 中发现了 1 个 SNPs,即 rs3024496 T > C,并表明这些多态性与抑制物的发生之间没有相关性[42]。另一研究检测到 13 个与抑制物形成有统计学意义的 13 个 SNP,其中 8 个表现出保护作用(PDGFRB rs10072056、PCGF2 rs2879097、HSP90B1 rs1882019、F13A1 rs13206518、IGSF2 rs2296449、ALOX5AP rs4075131、MAP2K4 rs3826392、PTPRN2 rs12667537),而 5 个表现出潜在的抑制物形成风险(MAPK9 rs4147385、DOCK2 rs1863993、CD44 rs927335、IQGAP2 rs17652304、CSF1R rs17725712) [43]。一项在中国的研究探讨了 8 个 SNP: MAPK9 rs4147385、CSF1R rs17725712、CD44 rs927335、STAT4 rs7574865、IKZF1 rs4917014、ETS1 rs6590330 和 BANK1 rs17266594 和 rs10516487。CSF1R 的 rs17725712 A 等位基因和 MAPK9 的 rs4147385 G 等位基因在有抑制物的患者中更常见。CD44 rs927335、STAT4 rs7574865、IKZF1 rs4917014、ETS1 rs6590330 和 BANK1 rs17266594 和 rs10516487 与抑制物形成无显著相关性[44]。Luciana W. Zuccherato 等人在一小群意大利 HA 患者中发现了一组与抑制物风险相关的基因组变异。他们表明, LCT 基因中 SNP (rs3754689)的 T 等位基因位于保守的单倍型区域,与对 FVIII 同种异体抗体的保护有关。在他们的重型/中间型 HA 患者群体中, SNP rs3754689 并没有表现出对抑制物形成的保护作用[45]。Mirbehbahani 等人在 2015 年的研究表示 BclII/内含子 18 会增加伊朗人群形成抑制物的风险[46],他们在 2020 年的研究再次表示 Bcl I /内含子 18 基因多态性与抑制物水平及 HA 严重程度之间存在统计学关系[47]。İnanç Değer Fidancı 等人评估了 9 个选定的与白细胞介素(IL-4、IL-5、IL-10)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)和干扰素 γ (IFN- γ)相关的 SNP 在携带 FVIII 基因无义突变的 HA 患者中抑制物形成的可能性。结果显示 IL-5 基因启动子区 rs2069812 的 T 等位基因与抑制物患者显著相关($p = 0.0251$)。TT 基因型也与该组显著相关, p 值为 0.0082,提示其为隐性易感等位基因, C 等位基因为显性保护等位基因。他们并表示 rs2069812 可能是一个调节性 SNP,可能在 B 淋巴细胞发育中发挥作用,构成抑制物形成的遗传风险因素[48]。J. B. DE ALENCAR 等人的研究表明 INFG 的+874T 等位基因和 TGFB1 基因的+ 869 TT 和 TG/TG 与抑制物的风险有关[49]。Aveen M. Raouf Abdulqader 等人对 48 例患者的 VWF 基因第 18~23 外显子进行测序,以确定其单核苷酸多态性(SNP)特征,结果未发现 CTLA-4-318C > T T 等位基因与重度或轻/中度 HA 患者抑制物的形成有显著相关性,但 CTLA-4 $\alpha\alpha$ 49A > G SNP 是抑制物形成的潜在风险[50]。在阿富汗人群中, rs3754689 多态性与抑制物的发生风险有关,该 SNP 的 T 等位基因可能起到保护作用。然而,在伊朗患者中未发现抑制物开发风险与 rs3754689 SNP 之间的显著关联[51]。最近的一项研究显示, lncRNA 和甲基化修饰可能在抑制物形成中发挥重要作用。这些发现有可能为抑制物的预防和治疗揭示新的治疗靶点[52]。对 HB 患者的研究比少, J. ZHOU 等人的

研究显示等位基因 $TinCD44^{95102}$ (A/T)可能对中国 HB 患者的抑制物发展起到保护作用[11]。

3.3. 种族和家族史

目前已有许多研究支持有抑制物家族史是抑制物形成的高危因素[32], 另有研究指出, 抑制物阳性组与阴性组比较, 血友病家族史 [$p < 0.001$, OR = 3.299 (95% CI 1.743~5.983)]与抑制物产生有关[53]。Maria Elisa Mancuso 等人指出 FVIII 抑制物家族史是从低滴度抑制物进展到高滴度抑制物的预测因素[10]。然而在另外两项研究中没有发现 VIII 抑制物的发展与 FVIII 抑制物的家族史存在相关性[8] [30]。不同种族之间抑制物风险形成差别也引起了广泛的讨论。在一个小型队列中, A. LOCHAN *et al.*发现黑人患者的抑制物发生频率比白人显著更高[54]。Devi Gunasekera 等人表示患有严重 HA 的非裔美国患者比白人患者有更高的抑制物发生率, 并且发现具有最常见的 HA 致病突变-内含子 22 倒位的非裔美国人的抑制物发生率是白人患者的 2~3 倍[55]。Bhavya S Doshi 等人的研究表示在非黑人群体中, 与白种人相比, 具有土著背景的患者的抑制物发生率显著较低[14]。最近的一项研究也指出不同种族之间抑制物形成的风险形成差异, 他们表示黑人和西班牙裔重度 HA 受试者的抑制物风险高于非西班牙裔白人[12]。有抑制物阳性家族史的贵州省 HA 患儿更容易形成抑制物, 而民族与抑制物的形成无统计学意义[8]。

3.4. ABO 血型

对血型的研究主要集中在 A 型血和 O 型血中。Massimo Franchini 的研究表示 O 血型似乎可以保护抑制物的发展, 并且独立于其他协变量的影响[56]。在 2021 的一项研究也支持 O 型血对 HA 患者的抑制物形成风险的保护作用[57]。Delphine Bachelet 的研究也表示非 O 血型患者较 O 血型患者更易出现抑制物[32]。另有人表示 A 型血是抑制物发生的危险因素[58]。血型对抑制物发生的影响主要是通过 VWF-FVIII 复合物, O 型血患者的 VWF-FVIII 复合物被巨噬细胞上的低密度脂蛋白受体相关蛋白受体清除的速度比非 O 血型患者更快, 这使得血浆中 FVIII 无法稳定维持适当的浓度。也有研究表示, FVIII 分子和 ABO 抗原之间的交叉模拟可能参与抗 F VIII 抗体的形成[57]。

4. 非遗传因素

4.1. 治疗相关影响

治疗的频率和强度、产品、暴露日时间都可能影响抑制物的形成。在较早的研究中, 多项指出高强度替代治疗是抑制物形成的危险因素[58] [59] [60]。在已形成抑制物的患者中, 高强度暴露也可增加 HA 患者发生高滴度抑制物的风险[53]。Susi Susannah 等人指出替代疗法的频率是抑制物发展的危险因素, 且血清 $TNF-\alpha$ 水平可用于区分重型 HA 高、低抑制物水平, 为重型 HA 抑制物治疗方案的选择提供决策支持[61]。按需治疗是抑制物形成的高危因素[8], 而凝血因子 VIII 预防治疗可以降低抑制物形成的风险[62]。关于凝血因子产品类型对抑制物风险形成的差异一直存在争议, 虽然有少部分研究显示使用含有血管性血友病因子的血浆衍生因子 VIII 治疗的患者, 其抑制物发生率低于使用重组因子 VIII 治疗的患者[32], 但更多的研究显示重组和血浆衍生的 VIII 因子产品具有相似的抑制物发生风险, 且不同 FVIII 产品的数量和产品的转换均不影响多次输血患者的抑制物发生率[30] [60]。相关性分析显示抑制物形成与累积暴露日相关[63]。在前 50 个暴露日期间接受强化峰值治疗的既往未治疗患者发生抑制物的风险较高, 暴露天数 > 50 天后抑制物形成危险减低[62]。一项大型研究显示日本的血友病患者的抑制物发生集中在 25 个暴露日之前[64]。但是, 一组在埃及血友病患者的研究显示 FVIII 抑制物形成与治疗变量(接受 FVIII 的类型、治疗方案、替代治疗的频率)无相关性[34]。El Demerdash *et al.*也没有发现 VIII 抑制物的发展与首次暴露年龄、暴露频率、预防策略、替代 FVIII 类型有关[30]。

4.2. 年龄和初次接触时的年龄

年龄对抑制物的影响存在较大的争议。Sanya Arshad 等人表示抑制物阳性与第一次替代治疗的年龄显著相关，第一次替代治疗的年龄越小，发生抑制物的风险越大，但是与第一次出血年龄无关[58]。Nyanchama 等人的研究也表示首次治疗年龄小于1岁的人获得抑制物的可能性是15岁以上首次接受治疗的患者的5倍[65]。另外几项研究也表示抑制物阳性与首次接受治疗的年龄显著相关[58]。但是，也有研究得出首次暴露年龄与抑制物的形成无相关性的结论[63]。Van Velzen 等人表示与年轻时输注相比，老年人输注因子 VIII 似乎会带来更高的抑制物风险[66]。相比之下，来自 Astermark 等人的数据没有发现老年血友病患者抑制物发展的第二个高峰[67]。Marrugo 等人表示成人的抑制物出现率低于婴幼儿[60]。年龄对抑制物的影响不是独立的，还与其他因素相关，比如有的患者随着年龄的增大，各种并发症越来越多，面临损伤和外界刺激的变化也更多，共同影响着抑制物的形成(此处无文献支持，是根据客观事实说明年龄对抑制物的影响并非独立因素)。

4.3. 危险信号

一个有趣的环境风险因素是在 FVIII 给药期间存在“危险信号”，如感染、手术、创伤、出血。根据“危险理论”，这些免疫系统警报信号导致抗原呈递细胞(APC)上的共刺激分子上调，使它们能够完全激活幼稚的 CD4 T 细胞，从而为形成抗体的 B 细胞提供帮助，并最终导致抗 FVIII 抗体的形成。已有多项研究显示手术和创伤是抑制物形成的风险因素[59] [65]。感染也会增加抑制物形成风险：Eduarda Bollina-Santos 等人分析了 565 名 A 型血友病患者，得出 HCV 是与抑制物病史独立相关的因素之一。此外，抗 HCV 反应性也与低抑制物水平密切相关，这一结果表明，病毒感染引发的免疫反应可能会影响导致抑制物形成[68]。Enzo Miranda Santos 等人也指出 HCV 感染可能参与诱导抑制物的形成[69]。一些研究表明，严重出血也影响抑制物形成[58] [64]。但是也有研究显示抑制物形成与严重出血事件无相关性，可能是受其他因素的影响[63]。

4.4. 血友病的严重程度

虽然有研究显示血友病严重程度与抑制物的形成无统计学意义[8] [30] [34] [63]，但大多数研究仍表示血友病严重程度与抑制物的形成存在显著相关性，重型血友病患者抑制物的发生率高于轻、中型血友病患者[58]，可能与跟多的暴露强度有关。

5. 结论

FVIII 的耐受性和免疫之间的微妙平衡涉及许多因素，van Helden 等人的模型所提出，遗传因素设定了抑制物发展的个体阈值。随后的环境因素决定了免疫激活是否超过抑制物形成的免疫阈值，该模型可以更好地理解为什么所有血友病患者中只有一小部分人会形成抑制物[70]。目前已有大量的研究对抑制物形成的原因进行了分析，从中可以看出抑制物形成并不是某一单一因素的影响，从内在基因的表型到外界的环境刺激，各种因素混杂在一起共同影响着血友病患者体内抗凝血因子抗体的变化。现在我们已经可以基本掌握抑制物形成的风险因素，识别这些危险因素，可以帮助我们制定抑制物形成的风险模型，个体化量化患者的抑制物形成风险。希望本篇综述对后面的模型制定以及临床治疗策略的改变有重要的参考意义。

参考文献

- [1] Ehrenforth, S., Kreuz, W., Scharer, I., *et al.* (1992) Incidence of Development of Factor VIII and Factor IX Inhibitors

- in Hemophiliacs. *The Lancet*, **339**, 594-598. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)90874-3](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)90874-3)
- [2] Tieu, P., Chan, A. and Matino, D. (2020) Molecular Mechanisms of Inhibitor Development in Hemophilia. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, **12**, e2020001. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2020.001>
- [3] Georgescu, MT., Lai, J.D., Hough, C. and Lillicrap, D. (2016) War and Peace: Factor VIII and the Adaptive Immune Response. *Cellular Immunology*, **301**, 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.11.008>
- [4] Hariti, G., Ferhat, Y., Cherif, N. and Messadi, W. (2023) The Correlation of Type F8 Gene Mutation on Inhibitor Development in a Single Centre Cohort of Severe Hemophilia a Patients. *Haemophilia*, **29**, 29.
- [5] Sun, J., Li, Z., Huang, K., et al. (2022) F8 Gene Mutation Spectrum in Severe Hemophilia A with Inhibitors: A Large Cohort Data Analysis from a Single Center in China. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **6**, e12723. <https://doi.org/10.1002/rth2.12723>
- [6] Shinozawa, K., Yada, K., Kojima, T., et al. (2021) Spectrum of F8 Genotype and Genetic Impact on Inhibitor Development in Patients with Hemophilia A from Multicenter Cohort Studies (J-HIS) in Japan. *Thrombosis and Haemostasis*, **121**, 603-615. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721385>
- [7] Nasirnejad Sola, F., Morovvati, S., Sabetghadam Moghadam, M. and Entezari, M. (2020) Mutation Detection and Inhibitor Risk in Iranian Patients with Hemophilia A: Six Novel Mutations. *Clinical Case Reports*, **8**, 2976-2985. <https://doi.org/10.1002/ccr3.3294>
- [8] 龚鑫, 何志旭, 李燕, 等. 贵州省血友病 A 患儿治疗后抑制物形成的影响因素[J]. 贵州医科大学学报, 2023, 48(1): 77-81.
- [9] McGill, J.R., Simhadri, V.L. and Sauna, Z.E. (2021) HLA Variants and Inhibitor Development in Hemophilia A: A Retrospective Case-Controlled Study Using the ATHN Dataset. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **8**, Article 663396. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.663396>
- [10] Mancuso, M.E., Fischer, K., Santagostino, E., et al. (2017) Risk Factors for the Progression from Low to High Titres in 260 Children with Severe Haemophilia A and Newly Developed Inhibitors. *Thrombosis and Haemostasis*, **117**, 2274-2282. <https://doi.org/10.1160/TH17-01-0059>
- [11] Zhou, J., Ding, Q., Chen, Z., et al. (2015) Risk Factors Associated with Inhibitor Development in Chinese Patients with Haemophilia B. *Haemophilia*, **21**, e286-e293. <https://doi.org/10.1111/hae.12684>
- [12] 王稳, 崔东艳, 蒋丽娟, 等. 20 例抑制物阳性的血友病 A 患者的临床分析[J]. 临床血液学杂志, 2021, 34(1): 31-34.
- [13] Ahmed, A.E. and Pratt, K.P. (2023) Race, Ethnicity, F8 Variants, and Inhibitor Risk: Analysis of the “My Life Our Future” Hemophilia A Database. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **21**, 800-813. <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2022.12.017>
- [14] Tucunduva, A., Prezotti, A.N., Siqueira, L.H., et al. (2017) Lower Risk of Factor VIII Inhibitors among Severe Hemophilia A Patients with Indigenous Background from Brazil. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **1**, 732-733.
- [15] Schwaab, R., Pavlova, A., Albert, T., Caspers, M. and Oldenburg, J. (2013) Significance of F8 Missense Mutations with Respect to Inhibitor Formation. *Thrombosis and Haemostasis*, **109**, 464-470. <https://doi.org/10.1160/TH12-07-0521>
- [16] Gorski, M.M., Blighe, K., et al. (2016) Whole-Exome Sequencing to Identify Genetic Risk Variants Underlying Inhibitor Development in Severe Hemophilia A Patients. *Blood*, **127**, 2924-2933. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-12-685735>
- [17] Lotta, L.A., Fornili, M., Ambrogi, F., et al. (2013) Rare Genetic Variants of the Protein-Coding Area of the Genome and the Risk of Inhibitor Development: An Exome-Sequencing Study of 28 Patients with Severe Hemophilia A. *Blood*, **122**, 571. <https://doi.org/10.1182/blood.V122.21.571.571>
- [18] Liu, G., Sun, J., Li, Z., Chen, Z., Wu, W. and Wu, R. (2023) F9 Mutations Causing Deletions Beyond the Serine Protease Domain Confer Higher Risk for Inhibitor Development in Hemophilia B. *Blood*, **141**, 677-680. <https://doi.org/10.1182/blood.2022017871>
- [19] Álvaro-Benito, M. and Freund, C. (2020) Revisiting Nonclassical HLAII Functions in Antigen Presentation: Peptide Editing and Its Modulation. *HLA*, **96**, 415-429. <https://doi.org/10.1111/tan.14007>
- [20] Kempton, C.L. and Payne, A.B. (2018) HLA-DRB1-Factor VIII Binding Is a Risk Factor for Inhibitor Development in Nonsevere Hemophilia: A Case-Control Study. *Blood Advances*, **2**, 1750-1755. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018019323>
- [21] Diego, V.P., Luu, B.W., Garza, A., et al. (2020) Disentangling the Effects of HLA DRB1*15:01 and DQB1*06:02 to Establish the True HLA Risk Allele for Inhibitor Development in Treating Hemophilia A. *Blood*, **136**, 1-2. <https://doi.org/10.1182/blood-2020-142716>

- [22] Ferrante, A., Mosher, B. and Hoffman, M. (2015) Immune-Related Gene Polymorphisms as Risk Factors for the Development of Factor VIII Inhibitors in Hemophilia A Patients: A Sibling-Pair Association Analysis (HUM1P.257). *The Journal of Immunology*, **194**, 52.6. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.194.Supp.52.6>
- [23] Pergantou, H., Moraloglou, V.O., Economou, M., *et al.* (2013) Impact of HLA Alleles and Cytokine Polymorphisms on Inhibitors Development in Children with Severe Haemophilia A. *Haemophilia*, **19**, 706-710. <https://doi.org/10.1111/hae.12168>
- [24] Hosseinia, S., Arabib, S., Yaric, F., *et al.* (2019) HLA-DRB1*01:01, but Not HLA-DRB1:1503 or HLA-DRB1*11, Is Associated with Decreased Inhibitor Risk in Iranian Hemophilia A Patients. *Transfusion and Apheresis Science*, **58**, 669-673. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.08.019>
- [25] Naz, A., Ahmed, S., Nadeem, M. and Shamsi, T. (2013) Development of Factor VIII Inhibitors and Its Association with HLA Class I and II Alleles in Pakistani Hemophilia A Patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **11**, 926.
- [26] Liang, H., Yang, L.-H and Liu, X.-E. (2013) Correlation between Presence of Factor VIII Inhibitor and HLA-DQA1 Gene Polymorphisms. *Chinese Remedies & Clinics*, **13**, 833-836.
- [27] Aytac, S., Altan, I., Üzümcügil, A., Gumruk, F. and Cetin, M. (2016) Combined Administration of FVIII and Bypassing Agents in the Management of Difficult Hemophilia A Patients with Inhibitor. *Haemophilia*, **22**, 105-106.
- [28] Hodeib, H., El Amrousy, D., Youssef, A., Elaskary, E. and Fouda, M. (2022) BAFF rs9514828 Gene Polymorphism and the Risk of the Development of Inhibitors in Children with Severe Haemophilia A. *Haemophilia*, **28**, 472-479. <https://doi.org/10.1111/hae.14555>
- [29] Soori, S., Dadashizadeh, G., Dorgalaleh, A., *et al.* (2019) Relationship between Single-Nucleotide Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha, Interleukin-10, Factor II and Factor V with Risk of Inhibitor Development in Patients with Severe Hemophilia A. *Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets*, **19**, 228-232. <https://doi.org/10.2174/1871529X19666190206152315>
- [30] El Demerdash, D., Ayad, A., Mohamed, D., Mattar, M. and Sadek, H. (2018) Study the Polymorphism of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Gene and the Risk of Development of FVIII Inhibitors in Egyptian Hemophilia A Patients: A Single Center Experience. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **2**, 356-357.
- [31] Lu, Y., Ding, Q., Dai, J., Wang, H. and Wang, X. (2012) Impact of Polymorphisms in Genes Involved in Autoimmune Disease on Inhibitor Development in Chinese Patients with Haemophilia A. *Thrombosis and Haemostasis*, **107**, 30-36. <https://doi.org/10.1160/TH11-06-0425>
- [32] Bachelet, D., Albert, T., Mbogning, C., *et al.* (2019) Risk Stratification Integrating Genetic Data for Factor VIII Inhibitor Development in Patients with Severe Hemophilia A. *PLOS ONE*, **14**, e0218258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218258>
- [33] Boulassel, M.-R., Al-Ghonimi, M., Al-Balushi, B., *et al.* (2018) Regulatory B Cells Are Functionally Impaired in Patients Having Hemophilia A with Inhibitors. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, **24**, 618-624. <https://doi.org/10.1177/1076029617702244>
- [34] Sadek, H., Youssry, I., Ibrahim, N.S.E., Abou-Elalla, A.A., Atef, G. and Mousa, S.M. (2017) The Development of FVIII Inhibitors in Relation to IL10 Gene Polymorphism in Hemophilia A Egyptian Pediatric Patients. *Fetal and Pediatric Pathology*, **36**, 184-189. <https://doi.org/10.1080/15513815.2017.1281363>
- [35] Naderi, N., Ebrahimzadeh, F., Jazebi, M., Namvar, A., Hashemi, M. and Bolhassani, A. (2018) Polymorphisms in the TGF- β 1 (rs1982037) and IL-2 (rs2069762, rs4833248) Genes Are Not Associated with Inhibitor Development in Iranian Patients with Hemophilia A. *Hematology*, **23**, 839-843. <https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1498168>
- [36] Marwanta, S., Muhammad, F., Maryono, S., *et al.* (2022) Association between Interleukin-2 (rs2069762) Gene Polymorphism and FVIII Inhibitor Development in Indonesian Patients with Severe Hemophilia A. *Medical Journal of Indonesia*, **31**, 213-217. <https://doi.org/10.13181/mji.oa.236439>
- [37] Hassab, H., Hanafi, M., Abdelmaksoud, A. and ElSayed, S. (2018) Impact of Interleukin-6 and Interleukin-10 Gene Polymorphisms on Inhibitor Development in Patients with Moderate and Severe Hemophilia A. *Blood*, **132**, 5026. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117479>
- [38] Ding, K.Y., Ji, W.C., Wu, J.S., Li, T. and Sheng, Y.Y. (2014) Higher Frequency of CD4⁺CD25^{High} Treg Cells in Hemophilia Patients with Factor VIII Inhibitor. *Genetics and Molecular Research*, **13**, 1774-1781. <https://doi.org/10.4238/2014.March.17.5>
- [39] El-Asrar, M.A., Hamed, A.E.S., Darwish, Y.W., Ismail, E.A.R. and Ismail, N.A. (2016) Assessment of the Frequency of Regulatory T Cells (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) in Children with Hemophilia A: Relation to Factor VIII Inhibitors and Disease Severity. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, **27**, 42-46. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000377>
- [40] Li, Y., Chen, Z., Li, G., *et al.* (2018) Expression of CTLA-4 and CD28 in Hemophilia A Children with FVIII Inhibitor. *Journal of Capital Medical University*, **3**, 309-313.
- [41] Arandi, N., Zekavat, O.R., Shokrgozar, N., Shahsavani, A., Golmoghaddam, H. and Kalani, M. (2023) Altered Fre-

- quency of FOXP3⁺ Regulatory T Cells Is Associated with Development of Inhibitors in Patients with Severe Hemophilia A. *International Journal of Laboratory Hematology*, **45**, 953-960. <https://doi.org/10.1111/ijlh.14139>
- [42] Bafunno, V., Santacroce, R., Chetta, M., *et al.* (2012) Polymorphic miRNA-Mediated Gene Contribution to Inhibitor Development in Haemophilia A. *Haemophilia*, **18**, 1003-1007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02882.x>
- [43] Astermark, J., Donfield, S.M., Gomperts, E.D., *et al.* (2013) The Polygenic Nature of Inhibitors in Hemophilia A: Results from the Hemophilia Inhibitor Genetics Study (HIGS) Combined Cohort. *Blood*, **121**, 1446-1454. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-434803>
- [44] Chen, A.C., Cai, X., Li, C., Khoryati, L., Gavin, M.A. and Miao, C.H. (2020) A Treg-Selective IL-2 Mutein Prevents the Formation of Factor VIII Inhibitors in Hemophilia Mice Treated with Factor VIII Gene Therapy. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article 638. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00638>
- [45] Zuccherato, L.W., Elói-Santos, S.M., Jardim, L.L., *et al.* (2019) Variation of rs3754689 at Lactase Gene and Inhibitors in Admixed Brazilian Patients with Hemophilia A. *Haematologica*, **104**, e527-e529. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.220608>
- [46] Mirbehbahani, N.B., Rashidbaghan, A., Livani, S. and Khosravi, A. (2015) Relation between Inhibitor Production and BclI/Intron 18 and VNTR ST14 Polymorphisms in an Iranian Population with Hemophilia A. *Haematologica*, **100**, 672.
- [47] Mirbehbahani, N., Khosravi, A., Livani, S., Rashidbaghan, A., Jahazi, A. and Ebneghasem, R. (2020) The Role of Genetic and Environmental Factors in the Development of Inhibitors in Patients with Hemophilia A in the North of Iran. *Egyptian Journal of Haematology*, **45**, 197-201. https://doi.org/10.4103/ejh.ejh_16_20
- [48] Fidancı, İ.D., Zülfişkar, B., Kavaklı, K., *et al.* (2014) A Polymorphism in the IL-5 Gene Is Associated with Inhibitor Development in Severe Hemophilia A Patients. *Turkish Journal of Haematology*, **31**, 17-24. <https://doi.org/10.4274/Tjh.2012.0197>
- [49] De Alencar, J.B., Macedo, L.C., De Barros, M.F., *et al.* (2015) New Associations: INFG and TGFB1 Genes and the Inhibitor Development in Severe Haemophilia A. *Haemophilia*, **21**, e312-e316. <https://doi.org/10.1111/hae.12685>
- [50] Abdulqader, A.M.R., Mohammed, A.I. and Rachid, S. (2019) Polymorphisms in the Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Protein-4 Immune Regulatory Gene and Their Impact on Inhibitor Development in Patients with Hemophilia A. *Journal of International Medical Research*, **47**, 4981-4992. <https://doi.org/10.1177/0300060519860329>
- [51] Bahrami Zadegan, S., Mousavi, S.H., Damavandi, N., Samiee Aref, M.H. and Zeinali, S. (2020) Investigating the Influence of LCT rs3754689 Polymorphism on Inhibitor Development in Iranian and Afghan Patients with Severe Hemophilia A. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, **31**, 11-15. <https://doi.org/10.1097/MBC.0000000000000860>
- [52] Liu, W., Lyu, C., Wang, W., *et al.* (2022) Risk Factors for Inhibitors in Hemophilia A Based on RNA-Seq and DNA Methylation. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, **6**, e12794. <https://doi.org/10.1002/rth2.12794>
- [53] Shang, B., Yang, S., Lei, P., *et al.* (2020) Clinical Study on Factor VIII Inhibitor in Children with Hemophilia A. *Chinese Journal of Hematology*, **41**, 138-142.
- [54] Lochan, A., Macaulay, S., Chen, W., Mahlangu, J. and Krause, A. (2014) Genetic Factors Influencing Inhibitor Development in a Cohort of South African Haemophilia A Patients. *Haemophilia*, **20**, 687-692. <https://doi.org/10.1111/hae.12436>
- [55] Gunasekera, D., Ettinger, R.A., Fletcher, S.N., *et al.* (2015) Factor VIII Gene Variants and Inhibitor Risk in African American Hemophilia A Patients. *Blood*, **126**, 895-904. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-09-599365>
- [56] Franchini, M., Coppola, A., Mengoli, C., *et al.* (2017) Blood Group O Protects against Inhibitor Development in Severe Hemophilia A Patients. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **43**, 69-74. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1592166>
- [57] Franchini, M., Coppola, A., Santoro, C., *et al.* (2021) ABO Blood Group and Inhibitor Risk in Severe Hemophilia A Patients: A Study from the Italian Association of Hemophilia Centers. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **47**, 84-89. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1718870>
- [58] Arshad, S., Singh, A., Awasthi, N.P., Kumari, S. and Husain, N. (2018) Clinicopathological Parameters Influencing Inhibitor Development in Patients with Hemophilia A Receiving On-Demand Therapy. *Therapeutic Advances in Hematology*, **9**, 213-226. <https://doi.org/10.1177/2040620718785363>
- [59] Abdi, A., Eckhardt, C.L., Van Velzen, A.S., *et al.* (2021) Treatment-Related Risk Factors for Inhibitor Development in Non-Severe Hemophilia A after 50 Cumulative Exposure Days: A Case-Control Study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **19**, 2171-2181. <https://doi.org/10.1111/jth.15419>
- [60] Marrugo, A.C., Noriega, N., Elles, R., Fontalvo, R., Florez, Tanus, A. and Alvis-Guzman, N. (2020) PRO40 Factors Associated with the Formation of Inhibitors in Patients with Hemophilia of the Subsidized Regime in Colombia. *Value in Health*, **23**, S335-S336. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2020.04.1266>
- [61] Susanah, S., Raspati, H., Sari, N.M., *et al.* (2021) Serum TNF- α Level as a Possible Predictor of Inhibitor Levels in

- Severe Hemophilia A. *BioMed Research International*, **2021**, Article ID: 6483490.
<https://doi.org/10.1155/2021/6483490>
- [62] Blatný, J., Kardos, M., Miljic, P., *et al.* (2021) Incidence of Inhibitor Development in PUPs with Severe Haemophilia A in the CEE Region between 2005 and 2015. *Thrombosis Research*, **198**, 196-203.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.12.004>
- [63] Zhang, Q., Yang, X. and Liu, X. (2019) Study on Risk Factors and Follow-Up of Coagulation Factor VIII Inhibitor in Children with Hemophilia A. *Chinese Journal of Thrombosis and Hemostasis*, **25**, 4-7.
- [64] Yada, K. (2021) Risk Factors of Inhibitor Development among Hemophilia Patients Revealed in a 10-Year Prospective Cohort Study in Japan, J-HIS2 (Japan Hemophilia Inhibitor Study 2). *Rinsho Ketsueki*, **62**, 790-800.
- [65] Nyanchama, L., Magutu, V., Shikuku, K. and Ongondi, M. (2023) The Prevalence of and Risk Factors Associated with Factor VIII Inhibitors in Patients with Hemophilia A Seen at the Kenyatta National Hospital. *International Journal of Laboratory Hematology*, **45**, 131-131.
- [66] van Velzen, A.S., Eckhardt, C.L., Peters, M., *et al.* (2013) Clinical Risk Factors in the Development of Inhibitors in Non-Severe Hemophilia A Patients: The First Results of the INSIGHT Case-Control Study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **11**, 91.
- [67] Astermark, J., Ay, C., Carvalho, M., *et al.* (2022) New Inhibitors in the Ageing Population: A Retrospective, Observational, Cohort Study of New Inhibitors in Older People with Hemophilia. *Thrombosis and Haemostasis*, **122**, 905-912.
<https://doi.org/10.1055/a-1642-4067>
- [68] Bolina-Santos, E., Chaves, D.G., Da Silva-Malta, M.C.F., *et al.* (2022) HCV Infection in Hemophilia A Patients Is Associated with Altered Cytokines and Chemokines Profile and Might Modulate the Levels of FVIII Inhibitor. *Journal of Medical Virology*, **94**, 683-691. <https://doi.org/10.1002/jmv.27432>
- [69] Santos, E.M., de Melo Silva, J., Barbosa, A.N. and Pontes, G.S. (2022) Clinico-Epidemiological and Sociodemographic Profile of Patients with Hemophilia in the Brazilian Amazon: High Prevalence of Hepatitis C Infection and Its Possible Correlation with Inhibitor Development. *Frontiers in Public Health*, **10**, Article 963790.
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.963790>
- [70] Van Helden, P.M., Van Haren, S.D., Fijnvandraat, K., Van Den Berg, H.M. and Voorberg, J. (2010) Factor VIII-Specific B Cell Responses in Hemophilia A Patients with Inhibitors. *Haemophilia*, **16**, 35-43.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2010.02215.x>