

HLA 抗体检测中重点问题的专家共识

中国输血协会 HLA 专委会 中国医药生物技术协会移植技术分会

通信作者:蔡俊超,Email:dr.cjc@hotmail.com

DOI:10.3760/cma.j.issn421203-20211101-00266

Expert consensus on key issues in HLA antibody detection

HLA Committee, Chinese Society of Blood Transfusion; Society of Transplant Technology, China Medicinal Biotech Association

Corresponding author: Cai Junchao, Email: dr.cjc@hotmail.com

DOI:10.3760/cma.j.issn421203-20211101-00266

从 2003 年起,洛杉矶 Terasaki 基金会实验室最早将纯化抗原法检测 HLA 抗体的技术大规模应用于器官移植,并逐渐推广到人类白细胞抗原(HLA)不合基因造血干细胞移植、和血小板输注等临床应用领域^[1-2]。近 20 年来的临床研究进一步确认了 HLA 抗体是引起抗体介导排斥反应(AMR)的主要病因之一^[3-4]。该类检测技术自 2010 年前后逐渐在我国推广应用,最近几年在我国大多数移植中心和血液中心得到了普及。但是,随着该类技术在国内的广泛应用,各实验中心发现,在检测方法的选择、试剂的质量确认、实验操作方法和结果判读等方面,还存在很多疑惑和亟需解决的问题。

基于以上现状,中国输血协会 HLA 专委会和中国医药生物技术协会移植技术分会召集了 HLA 抗体临床应用和检测技术方面的专家,通过线上和线下专题讨论会的形式,结合近年来年会中相关专题报告及讨论,就与 HLA 抗体检测技术相关的几个重要问题,反复研讨和磋商,达成文中所述之共识,并按照相关内容的普遍性、以及其应对措施的可操作性和可靠性,给出本共识专家组的“高”或“中”推荐等级意见。

一、HLA 抗体检测中的漏检问题

HLA 抗体漏检的主要原因之一是检测试剂中不包含某些 HLA 类型,因而导致其相应的抗体被漏检。另外,检测方法的敏感度不足也可能导致抗体漏检(在本文第三部分中讨论)。

在判断 HLA 抗体检测试剂的优劣时,试剂中包含的 HLA 蛋白种类对被检测的目标人群 HLA 的覆盖率的高低是重要指标之一。HLA 抗原的覆盖率不足是导致相应抗体漏检的最主要原因。此

外,纯化抗原的仿真度不足,也可能导致相应抗体漏检,出现假阴性反应。

根据欧洲生物信息学研究所(European Bioinformatics Institute)的统计资料,截止到 2021 年 10 月,被发现的人类多态性抗原 HLA-A、B、C、DRB1、DPB1 和 DQB1 的蛋白总量为 17740。中华骨髓库 CWD 协作组 2019 年的统计数据显示(由协作组组长浙江省血液中心朱发明和副组长辽宁省血液中心李剑平提供),中国人群中常见的 HLA-A、B、C、DRB1、和 DQB1 的抗原蛋白总量约 2 200 种。需要指出的是,尽管我们在人群中发现了众多的 HLA 抗原蛋白,但是不是所有的 HLA 蛋白对某一具有特定 HLA 抗原组合的移植物受者都具有同等的免疫原性,都会产生相应的抗体。临床上经常出现供、受者之间有多个错配 HLA,但有的可以引起抗体反应,有的不能。供受者间可以引起抗体反应的抗原错配被称为禁忌错配(taboo mismatch),而没有免疫原性的抗原错配被称为容许错配(permissive mismatch)。但是由于这两种错配类型都是相对于某一具有特定的 HLA 配型的移植物受者而定的,我们目前尚未发现对所有受者一定引起、或一定不引起抗体反应的绝对的禁忌错配和容许错配。因此,在目前情况下,我们假设所有具有不同氨基酸序列结构的 HLA 蛋白都有可能是具有免疫原性的。

目前市场上采用的纯化抗原法 HLA 抗体检测试剂主要包括 HLA 抗体混合抗原筛查试剂(HLA-Mixed Antigen)、HLA 群体反应性抗体检测试剂(HLA-PRA)、和 HLA 单抗原试剂(HLA-SA),这些常用检测试剂中所包含的 HLA-I 类和-II 类抗原类型一般在 100 种以下。因而,试剂中 HLA 抗原数量的不足是漏检 HLA 抗体的首要原因。此

外,目前市场 HLA 抗体检测产品中的抗原组合的选取和设计并不是特异性针对中国人群的 HLA,以仅有的这些抗原种类肯定不足以涵盖中国人群中所有的 HLA 类型。

根据中国人群常见 HLA 类型及其检出频率(DPB1 的数据来源于参考文献[5-17],其余数据来源于中华骨髓库 CWD 数据),目前市场上最常采用的 HLA 抗体筛查试剂所含有的抗原种类中,对中国人群常见的 HLA-A、B、C、DRB1、DPB1、DQB1 的覆盖率分别是 93.633%、78.437%、93.725%;82.518%、81.576%、90.942%。

在考虑 HLA 抗体类检测产品对相应的 HLA 抗体的漏检可能性时,通常会在考虑试剂中所含单一类型抗原的人群覆盖率的基础上,综合考虑所有类型抗原在联合检测时的综合覆盖率。综合覆盖率计算的是所有类型抗体都保证能够被检出的概率。基于上述 HLA 抗体筛查试剂对我国人群 HLA-A、B、C、DRB1、DPB1、DQB1 的每个单一类型抗原覆盖率,根据概率计算法,分别统计出了单类(I 类或 II 类)覆盖率和综合覆盖率(I 类和 II 类)。单类覆盖率是单型覆盖率的乘积($A \times B \times C$ 或 $DRB1 \times DPB1 \times DQB1$),而综合覆盖率是所有 HLA-I 类和 II 类抗原单型覆盖率的乘积($A \times B \times C \times DRB1 \times DPB1 \times DQB1$)。

根据概率计算法,目前市场 HLA 筛检产品对 HLA-I 类抗体和 HLA-II 类抗体分别被全部检出的概率分别是 68.836%和 61.217%(单类覆盖率)。所有 HLA-I 类和 HLA-II 类抗体全部被同时检出的概率是 42.140%(综合覆盖率)。至少有一种 HLA 抗体被漏检的概率计算公式就是:HLA 抗体漏检率 = $1 - \text{HLA 抗原综合覆盖率}$ 。因此,根据概率计算法得出的用该类试剂做 HLA 抗体检测时,至少漏检一个 HLA 的抗体的概率是 57.860%($= 1 - \text{HLA 抗原综合覆盖率 } 42.140\%$)。

综上所述,纯化抗原法检测 HLA 抗体的漏检现象主要是因为试剂中所包含的 HLA 类数量不足,以及对目标人群常见 HLA 类型的覆盖率不够。覆盖率高,漏检少;覆盖率低,漏检严重。

推荐意见 1(推荐等级高):在使用 HLA 混合抗原检测试剂(HLA-Mixed Antigen)或 HLA 群体反应性抗体检测试剂(HLA-PRA)进行 HLA 混合抗体筛查时,优先选用对目标人群 HLA 覆盖率较高的产品,避免混合抗体的漏检

推荐意见 2(推荐等级高):在使用 HLA 单抗原

试剂(HLA-SA)进行 HLA 特异性抗体检测时,优先选用包含全部或绝大部分供者特异性抗原的产品,避免 DSA 的漏检

二、HLA 抗体检测中的假阳性问题

HLA 抗体检测中出现假阳性结果的原因主要包括制备试剂所用的纯化 HLA 蛋白和人体细胞表面天然的 HLA 的仿真度不高而出现异常结构的蛋白,以及 HLA 蛋白在分离纯化过程中发生了异常变性。

1. HLA 蛋白的仿真度和假阳性反应的关系

制备 HLA 抗体检测试剂时所用的纯化 HLA 蛋白和移植器官或组织的细胞表面表达的天然 HLA 蛋白的相似度越高,其检出的抗体越能真实反映因同种异体移植物引起免疫反应所产生的 HLA 抗体。相似度较低的异常结构 HLA 蛋白是引起假阳性反应的主要原因之一。

HLA 抗体检测试剂中所用的 HLA 通常包括从人源细胞中直接提取的 HLA 蛋白,如 HLA-MIX 或 HLA-PRA 类抗体筛检类产品;以及通过基因重组的方式在原核(以大肠杆菌为代表)或真核细胞中(人源细胞或其他哺乳动物细胞,酵母细胞、昆虫细胞等)中表达后纯化的 HLA 蛋白,如 HLA-SA。

尽管原核表达系统的蛋白表达效率最高,但是在用于表达 HLA 蛋白时,无论是 HLA-I 类还是 II 类蛋白抗原,他们的 α 链和 β 链都是分别独立表达的,HLA 蛋白的表达后修饰、以及抗原的折叠和人体细胞表面表达的天然 HLA 蛋白结构差异度较大,需要在纯化后做大量的结构方面的调整。在制备 HLA 抗体检测试剂时,所应使用的 HLA 完整蛋白,需要对 α 链、 β 链以及抗原多肽,在体外重新折叠而成。但通常情况下,原核系统表达的蛋白单链结构未能成功复性的比例极高。

真核表达系统,如酵母和昆虫表达系统,与哺乳类动物细胞或人源细胞相比,HLA 蛋白表达量相对较高,但其表达产物的折叠和糖基化修饰通常不能完全模拟人源细胞表面天然的 HLA 蛋白。哺乳动物表达系统尽管蛋白的表达量存在严重的不足,但是其表达的 HLA 蛋白最接近真实,尤其是人源细胞表达系统。

假阳性反应的鉴别方法,可以通过利用靶抗原蛋白阳性的人源细胞株,来验证体外检测法所检出的靶抗原相应的抗体。如果纯化抗原法检出抗体阳性,但表达同样类型的天然抗原的人源细胞却显示阴性结果的现象,提示纯化抗原法检出的抗体所针

对的抗原在正常细胞表面不存在。发生这种现象最大的可能性是体外表达的 HLA 的蛋白结构和人源细胞表面 HLA 蛋白结构存在明显的差异,当然,也不能完全排除下面将提到的抗原纯化过程中出现蛋白变性引起假阳性反应的可能。

综上所述,为了避免非人源细胞表达的 HLA 可能存在异常 HLA 结构而引起的假阳性反应,采用人源细胞表达和纯化的 HLA 作为抗体检测试剂,可以最大程度地减少非人源细胞表达系统表达的异常结构 HLA 引起的假阳性反应。

2. HLA 蛋白的变性和假阳性反应的关系

除了上述 HLA 表达系统的差异引起的试剂中所用 HLA 蛋白仿真度不高,从而导致异常 HLA 结构引起的假阳性反应外,另一类引起假阳性反应的原因是抗原蛋白在提取、纯化、包被及保存过程中的变性问题。

变性 HLA 的呈现形式以 HLA 的 α 链和 β 链相互分离、以及 HLA 的 α 或 β 链失去其天然的空间构象而发生线性化变性为主要特征。变性的 HLA 引起假阳性反应的主要原因是 HLA 在完整状态下被隐藏的抗体结合位点,即抗原决定簇,在抗原结构变性后暴露,成为抗体能够结合的靶标^[18-20]。

在制备 HLA 抗体检测试剂时,涉及到的技术步骤繁多,包括表达 HLA 蛋白的载体细胞的培养、HLA 蛋白从细胞其他组分中的分离,利用抗体柱对 HLA 目标蛋白的吸附与洗脱、HLA 蛋白的浓缩、HLA 蛋白在固定相表面的包被等等。由于整个蛋白提取、纯化等过程中涉及到多个可能引起抗原变性的理化条件,蛋白的变性几乎无法完全避免。

需要指出的是,试剂中存在一定数量的变性 HLA 蛋白并不是完全不可接受的。因为在正常人体细胞表面也存在有一定数量的变性 HLA 蛋白。以 HLA-I 类抗原为例,人类淋巴细胞表面就表达一定水平的变性 HLA 蛋白,尽管其表达水平(4%)远低于完整的天然抗原(96%)(才博医学研究所未发表数据)。临床研究表明,具有补体依赖性杀伤作用的变性 HLA 的抗体对排斥反应有预测作用^[21]。而这种抗体的出现可能和排斥反应引起的靶细胞受损直接有关,因为排斥反应引起的供者细胞的损伤可能伴随有细胞表面出现更多的变性 HLA^[22]。因此,在抗原制备技术中,尽管我们有可采用的方法去除大部分的变性蛋白,但这种处理方法,不仅有可能会改变完整抗原的天然结构,导致非特异性结合的假阳性反应,也有可能是在去除所有变性抗原后,使得

部分上述的在临床上对排斥反应有预测作用的抗体漏检。

综上所述,由于变性的 HLA 结构可能引起正常状态下处于隐藏部位的抗原决定簇成为抗体的靶标而导致假阳性反应,在 HLA 蛋白检测试剂制备过程中,应尽可能保证在抗原的提取和纯化等过程中,减少变性抗原尤其是非细胞表面表达的异常变性抗原的发生,减少假阳性反应。

推荐意见 3(推荐等级高):临床上在采用纯化抗原法检测 HLA 抗体时,出现假阳性是普遍现象,需要引起临床上足够的重视。其发生的主要原因包括用于检测抗体的 HLA 蛋白仿真度较差,以及 HLA 蛋白在分离纯化过程中发生蛋白变性。

推荐意见 4(推荐等级高):临床上在对 HLA 抗体[尤其是供者特异性抗体(DSA)]的阳性检测结果存疑时,即怀疑阳性反应可能是重组 HLA 蛋白的仿真度不够,或 HLA 发生变性引起的假阳性反应。实验室可采用人源细胞检测法加以验证。因为人源细胞表面表达天然 HLA,而且变性抗原的比例较低。最佳的验证方法是,选取供者来源的细胞和受者的阳性血清发生交叉反应。并且优先采用流式细胞术检测抗体和细胞的结合反应,其次选取补体依赖性细胞毒(CDC)方法观察抗体的细胞毒作用。

推荐意见 5(推荐等级中):假如上述验证性实验由于供者来源细胞无法获取时,可采用表达被检出抗体针对的靶抗原的其他人源细胞替代供者来源细胞。

三、HLA 抗体检测中的敏感度问题

决定 HLA 抗体检测敏感度的因素较多,主要包括实验中所使用的检测平台之间的差异、试剂所包含的 HLA 蛋白和天然蛋白的仿真度、单位检测载体所包含的抗原数量、实验方法中采用的孵育时间和孵育温度、以及血清的使用量和相应载体上抗原数量的相对数量关系等。

本文讨论的重点是,在确定了检测平台和检测试剂的情况下,如何在实验室可操作的范围,提高或改善抗体检出的敏感度。

1. HLA 抗体检测试剂和血清的相对使用量问题

商品化的 HLA 抗体检测试剂,通常会提供标准化的操作规程,以 One Lambda 公司(OLI)的操作规程为例,其中要求用 5 μ l 的 HLA 蛋白微球加入 20 μ l 的受者血清。通常试剂制造商在准备操作规程时,会进行相关的微球数量和血清用量的对比

测试,来观察 5 μl 抗原微球表面所含有的 HLA 蛋白分子数,是否足以吸附所用的血清总量中所有的特异性 HLA 抗体。微球使用量相对于血清总量过高时,容易引起目标抗体的平均荧光强度(MFI)检出值偏低,甚至出现假阴性现象;而血清使用量相对于微球数量过高时,容易引起目标抗体的 MFI 检出值过高,甚至出现血清中的抗体数量超过微球上 HLA 蛋白结合的极限而发生饱和现象。

由于抗体检测试剂的价格昂贵,最早从洛杉矶的开始,尝试了在保证抗体检测的准确性的前提下,适当减少抗原微球用量、并同比例或接近同比例减少血清用量的方法。Terasaki 基金会实验室所采用的用 1.5~2 μl 的抗原微球,加 7 μl 血清,并把最后的反应体积调整到 23~24 μl 的操作方案目前在国内外的大多数使用 OLI 抗体检测试剂的实验室得到了较大范围的推广。

据调查,尽管有些实验室减少了 HLA 蛋白微球的用量,但血清用量没有做相应的调降,仍然采用 20 μl ,甚至更高。这种操作方法的优点是有助于提高检测方法的敏感度,但存在的问题是,在血清中 HLA 抗体水平较高的情况下,由于使用的微球数量减少到了操作规程所要求的 2/5 甚至 1/3,这就容易导致微球表面包被的 HLA 蛋白所能结合的抗体达到了过饱和的状态。流式点阵仪(如 Luminex)所能检出的高区段 MFI 的量值无法真实体现实际的抗体水平。这种现象的出现容易影响临床医师对某些清除抗体治疗作用判断的准确性。

我们用 HLA 特异性的单克隆抗体作为标准品,对包被 HLA 蛋白的 Luminex 微球做了多次测试,结果显示,在使用同样数量的 HLA 蛋白微球的情况下,当抗体标准品浓度达到 1 mg/L 以上时,由于被检样本中所含抗体的量远超所用试剂中微球表面包被的 HLA 蛋白总量,抗体标准品浓度从 1 mg/L 上升到 5~10 mg/L,被检出抗体的 MFI 的增长进入平台期,上升的幅度非常有限。

利用 HLA 抗体检测试剂对受者血清进行 HLA 抗体检测时,固相载体上 HLA 蛋白和血清的使用量的最佳比例需要根据血清中可能存在的抗体数量而作相应的调整。在固相载体上 HLA 数量相对固定的情况下,血清的使用量或浓度(在确定反应体积后)的确定原则有:(1)在提高检测方法的敏感度为主要考虑内容的前提下,应该尽可能提高血清的使用量。在目标抗体数量或浓度可能比较低的情况下,提高血清的使用量可以使固相载体上的 HLA

蛋白结合尽可能多的抗体,从而提高相应抗体被检出的可能性。(2)在之前检测中发现抗体水平较高并接近 MFI 检测的平台期的情况下,如果需要观察清除抗体的治疗方法对抗体水平的影响作用时,可以通过减少血清的用量或稀释以降低抗体浓度的方法。最佳的血清用量或稀释度的确定以最终抗体的 MFI 检出值在线性或接近线性的检测范围内为最佳。这样的微球和血清使用量的调整方案,将有利于比对不同时间点的抗体水平时,或在进行控制抗体的治疗措施的有效性分析时能客观反应真实情况。

血浆置换或免疫吸附是用于预防和治疗 AMR 的常见方法,其清除抗体的即时效果非常明确。然而,临床实践中我们经常发现,很多接受血浆置换或免疫吸附的病人,在结束治疗的同时,采集的样本中所检出的抗体和接受治疗前抗体的 MFI 值相差不大。这种情况常常是在原有抗体的检出值较高的情况下出现的一种假象,主要是由于微球使用量远低于被检样本中所含有的抗体数量,导致微球表面的 HLA 蛋白无法结合所有抗体而出现了过饱和现象。一旦发生这种过饱和现象,就容易导致即使抗体发生了较大幅度的减少,但降低后的抗体水平仍然远高于检测限,MFI 检出值并没有发生明显的下降,因而常常导致临床医师对治疗方法做出无效的误判。这提醒我们,当初次抗体水平的 MFI 检出值过高时,实验室应进一步摸索最佳的血清使用量或稀释度。举例说明,假如某检测平台 MFI 最高检测值是 25 000,当抗体的 MFI 检出值达到 15 000~20 000 或以上时,就应该考虑在 1:3 稀释后重新检测。当抗体 MFI 检测值已经达到所用检测平台的最高检测限时,需要作 1:3~1:10 甚至更高的稀释度检测。只有这样,在比对不同时间点的血清样本中抗体水平时,才能根据其 MFI 水平做出较为合理的变化趋势的推断。

综上所述,在 HLA 抗体检测中,要合理掌握检测试剂中抗原和被检样本中抗体的比例。检测试剂中抗原比例相对于抗体过高时,容易引起抗体检出水平偏低甚至阴性;而血清中抗体水平相对于检测试剂中抗原量过高时,容易发生饱和现象,导致无法合理推断不同时间点样本中抗体水平的变化趋势。

2. 试剂和血清的最佳反应温度及时间

目前商品化的 HLA 抗体的检测主要以检测 HLA 的 IgG 抗体类型为主。根据 2021 年 9 月多中

心调查反馈信息,我国 HLA 抗体检测实验室基本都是根据试剂供应商提供的操作规程,采用了 HLA 抗体检测试剂和血清样本的孵育温度是室温水平(22~25 °C)、抗原抗体的孵育时间是 30 min 左右。

在维持合理的抗原抗体浓度的情况下,通常认为在 30 min 的孵育时间内,抗原抗体足以完成特异性结合过程。然而,在大部分抗原抗体的免疫学检测中,被公认的最佳的反应温度是 37 °C。这样的温度选择,不仅可以最佳地模拟抗原抗体在体内的实际反应温度;而且,根据布朗运动的基本原理,悬浮在液体样本中的抗体随着温度的增加,布朗运动会越剧烈。和室温孵育相比,37 °C 的孵育温度会增加 HLA 抗体和微球表面 HLA 结合的机会,提高抗体的检出率。

抗原和抗体能否有效结合主要取决于三种非共价作用力:范德华力、疏水和亲水作用力以及氢键作用力。抗原抗体反应的热动力学研究指出,温度对三种非共价作用力都有一定的影响,但其影响程度不一。比如亲水作用力受温度影响的程度会高于疏水作用力^[23]。

HLA 蛋白和其抗体的结合模式,会因两者之间在分子结构上的独特的理化特点,导致三种非共价结合力的组合有别于其他类型的抗原抗体反应特点。因此,在选择合适的检测 HLA 抗体的孵育温度时,不能简单拷贝其他抗体的检测方法。经不同的检测时间点,多次测试并分别比较了血清和 HLA 单抗在不同孵育温度下和 HLA 抗体检测试剂的反应情况。HLA-I 类和 II 类 MIXED 微球检测阳性的移植受者血清,使用同等数量的检测微球,在未稀释、1:3、以及 1:6 稀释度时,于室温和 37 °C 两种不同孵育温度下的检测结果。结果显示,孵育温度在 37 °C 时,检测到抗体的抗原微球的 MFI 值普遍高于室温条件下的 MFI 值。这种现象在使用 HLA-I 类和 II 类单克隆抗体的检测中,显得更为明显。在 2021 年 10 月由移植技术分会和输血协会 HLA 专委会共同发起的 HLA 抗体检测技术标准化摸底调查中,采用 37 °C 孵育温度的检测结果优于室温孵育的检测结果也得到了确认(相关数据将另行汇总发表)

综上所述,以上对血清和单克隆抗体在不同孵育温度下和 HLA 抗体检测试剂反应后 MFI 检测值的比较,进一步证实了临床实验室在抗原抗体常规检测方法中绝大部分操作规程中采用 37 °C 温育的合理性。这也提醒 HLA 抗体检测的实验室技术

人员,在优化抗体检测规程中,需要考虑温度对 HLA 抗体检测敏感度的影响作用。

推荐意见 6(推荐等级高):HLA 抗体检测时,检测试剂和被检的血清的使用量需要维持一个相对合理的比例,微球使用量相对过高时,容易引起 MFI 的检出值偏低甚至漏检抗体的现象;而血清使用量相对过高时,容易引起抗体的过饱和现象,从而导致在比对不同时间点的抗体水平时,无法根据其 MFI 水平做出较为合理的变化趋势的判断。

推荐意见 7(推荐等级高):首次对受者血清进行 HLA 抗体检测时,建议在血清和微球之间的“相对比”较高的条件下、采用 37 °C 孵育温度进行检测,以提高检测的敏感度或抗体的检出率。

推荐意见 8(推荐等级中):对首次 HLA 抗体检测水平较高的血清样本,建议通过减少血清用量或稀释血清的方法,使得目标抗体荧光强度检出值在抗体量和荧光强度二维曲线的线性或接近线性的检测范围内,从而有利于判断不同时间点的抗体水平变化的真实情况。

执笔人:蔡俊超(苏州才博医学研究所)、戴红霞(苏州才博医学研究所)、赵晨红(苏州才博医学研究所)、张胜南(苏州才博医学研究所)、张雷(海军军医大学长海医院)、朱兰(华中科技大学同济医学院附属同济医院)、郑瑾(西安交通大学第一附属医院)、沈捷(江苏省人民医院)、叶欣(广州血液中心)、何军(苏州大学附属第一医院)、朱冬(复旦大学附属中山医院)

审稿专家组成员:(按姓氏汉语拼音字母排序)

蔡剑平(北京医院)、常英军(北京大学人民医院)、陈强(中国医学科学院四川脐血造血干细胞库)、陈正(广州医科大学附属第二医院)、董梅(昆明市第一人民医院)、付迎欣(深圳市第三人民医院)、何军(苏州大学附属第一医院)、胡小鹏(首都医科大学附属北京朝阳医院)、李剑平(辽宁省血液中心)、李民(南方医科大学珠江医院)、李宁(山西省第二人民医院)、李新长(江西省人民医院)、林涛(华西医院移植中心)、刘龙山(中山大学附属第一医院)、刘颖(哈尔滨市血液中心)、毛伟(重庆血液中心)、齐珺(陕西省血液中心)、邱涛(武汉大学人民医院)、戎建荣(山西白求恩医院)、尚文俊(郑州大学第一附属医院)、寿张飞(杭州树兰医院)、田普训(西安交通大学第一附属医院)、王海燕(青岛大学附属医院)、王长希(中山大学附属第一医院)、吴建永(浙江大学医学院附属第一医院)、肖漓(解放军总医院)、谢续标(中南大学湘雅二医院)、谢毓滨(长沙血液中心)、徐筠娉(深圳市血液中心)、薛武军(西安交通大学第一附属医院)、叶欣(广州血液中心)、张伯伟(河南省血液中心)、张德梅(太原市血液中心)、周洪澜(吉林大学第一医院)、朱发明(浙江省血液中心)、朱同玉(上海市器官移植重点实验室)

统稿专家:蔡俊超(苏州才博医学研究所)、张雷(海军军医大学长海医院)、陈刚(华中科技大学附属同济医院)、张志欣(中国输血协会 HLA 专委会)

利益冲突 蔡俊超是“苏州才博医学”首席科学家,是经中华人民共和国《外国专家局》按国际专业成就标准认定的 A 类外国专家。苏州才博医学致力于开发针对中国人群 HLA 和非 HLA 的抗体检测产品,是苏州工业园区、苏州市、和江苏省的双创领军人才企业。

参 考 文 献

- [1] Terasaki PI. Humoral theory of transplantation [J]. Am J Transplant, 2003, 3(6): 665-673. DOI: 10. 1034/j. 1600-6143. 2003. 00135. x.
- [2] Cai JC, Terasaki PI. Humoral theory of transplantation: mechanism, prevention and treatment [J]. Hum Immunol, 2005, 66(4): 334-342. DOI: 10. 1016/j. humimm. 2005. 01. 021.
- [3] Terasaki PI, Cai JC. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation [J]. Transplantation, 2008, 86(3): 377-383. DOI: 10. 1097/TP. 0b013e31817e4cb8.
- [4] Knechtle S. Antibody-mediated rejection [J]. Am J Transplant, 2020, 20(S4): 1. DOI: 10. 1111/ajt. 16063.
- [5] Chen SW, Hu QS, Liu ZH, et al. The distribution of HLA alleles revealed a founder effect in the geographically isolated Chinese population, Drung [J]. Mol Immunol, 2007, 44(8): 2017-2022. DOI: 10. 1016/j. molimm. 2006. 09. 018.
- [6] Gu Q, Chen J, Yao YF, et al. Distribution of HLA-DRB1, DPB1 and DQB1 alleles and haplotypes in Mongolian minority in China [J]. Hum Immunol, 2019, 80(4): 215-217. DOI: 10. 1016/j. humimm. 2019. 01. 006.
- [7] Kwok J, Tang WH, Chu WK, et al. HLA-DQB1, -DQA1, -DPB1, and -DPA1 genotyping and haplotype frequencies for a Hong Kong Chinese population of 1064 individuals [J]. Hum Immunol, 2020, 81(1): 3-5. DOI: 10. 1016/j. humimm. 2019. 11. 005.
- [8] Xu XD, Yue M, Jiang LF, et al. Genetic variants in human leukocyte antigen-DP influence both hepatitis C virus persistence and hepatitis C virus F protein generation in the Chinese Han population [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(6): 9826-9843. DOI: 10. 3390/ijms15069826.
- [9] 赵军, 祝天辉, 何柳媚, 等. 南方汉族人群 HLA-DPA1 及-DPB1 基因多态性与青光睫状体炎综合征的关联研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(2): 254-258. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1003-9406. 2015. 02. 023.
- [10] 鲍自谦, 钟艳平, 全湛柔, 等. 中国南方汉族人群 HLA-DPA1、-DPB1 及 -DQA1 基因多态性的研究 [J]. 中国输血杂志, 2019, 32(6): 535-538. DOI: 10. 13303/j. cjbt. issn. 1004-549x. 2019. 06. 006.
- [11] 周劲峰, 郭实士, 余平. 湖南汉族人群 HLA-DP、-DQ 位点等位基因多态性与鼻咽癌的相关性 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2003, 20(3): 262-264. DOI: 10. 3760/j. issn: 1003-9406. 2003. 03. 025.
- [12] 张修武. 湖南籍汉族人 HLA-DP 座位的寡核苷酸分型 [J]. 免疫学杂志, 1993, 9(1): 31-34. DOI: 10. 13431/j. cnki. immunol. j. 19930009.
- [13] 范丽安, 张锦锋, 葛瑜, 等. 上海地区汉族群体的 HLA-DP 基因分型 [J]. 中华医学遗传学杂志, 1993(3): 131-134, 189. DOI: CNKI; SUN; ZHYC. 0. 1993-03-002.
- [14] 胡瑜霞, 何黎, 吴文娟, 等. 云南汉族多形性日光疹与 HLA-DPA1, DPB1 和 DRB1 的多态性分析 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2018, 32(1): 15-21. DOI: 10. 13735/j. cjdv. 1001-7089. 201706025.
- [15] 范丽安, 杨玉琴, 董建中, 等. 我国西双版纳傣族群体 HLA II 类基因的寡核苷酸分型 [J]. 中国免疫学杂志, 1992, 8(5): 287-290. DOI: CNKI; SUN; ZMXZ. 0. 1992-05-007.
- [16] 朱乃硕, 王福庆, 陈诗书, 等. 上海地区汉族正常人及类风湿关节炎病人 HLA-DPB1 基因多态性分析 [J]. 中国免疫学杂志, 2000, 16(4): 196-197. DOI: 10. 1007/s11769-000-0028-3.
- [17] Wang FQ, Al-Daccak R, Ju LY, et al. HLA-DP distribution in Shanghai Chinese—a study by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism [J]. Hum Immunol, 1992, 33(2): 129-132. DOI: 10. 1016/0198-8859(92)90063-s.
- [18] Cai JC, Terasaki PI. Post-transplantation antibody monitoring and HLA antibody epitope identification [J]. Curr Opin Immunol, 2008, 20(5): 602-606. DOI: 10. 1016/j. coi. 2008. 07. 008.
- [19] Duquesnoy RJ. Reflections on HLA epitope-based matching for transplantation [J]. Front Immunol, 2016, 7: 469. DOI: 10. 3389/fimmu. 2016. 00469.
- [20] Cai JC, Terasaki PI, Anderson N, et al. Intact HLA not beta2m-free heavy chain-specific HLA class I antibodies are predictive of graft failure [J]. Transplantation, 2009, 88(2): 226-230. DOI: 10. 1097/TP. 0b013e3181ac6198.
- [21] Cai JC, Terasaki PI, Zhu D, et al. Complement-fixing antibodies against denatured HLA and MICA antigens are associated with antibody mediated rejection [J]. Exp Mol Pathol, 2016, 100(1): 45-50. DOI: 10. 1016/j. yexmp. 2015. 11. 023.
- [22] Cai JC, Qing X, Tan JM, et al. Humoral theory of transplantation: some hot topics [J]. Br Med Bull, 2013, 105: 139-155. DOI: 10. 1093/bmb/lds037.
- [23] Voets PJGM. On the antigen-antibody interaction: a thermodynamic consideration [J]. Hum Antibodies, 2017, 26(1): 39-41. DOI: 10. 3233/HAB-170319.

(收稿日期: 2021-11-01)