

本专题组稿人按语

深圳市血液中心 邓志辉

中国医学科学院输血研究所 王珏

表达于自然杀伤(natural killer, NK)细胞和部分活化 T 细胞表面的杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer-cell immunoglobulin-like receptor, KIR),在 NK 细胞识别“自己”与“非己”及杀伤功能的调节中扮演着关键角色,是固有免疫中的一重要分子。当前,供-受者之间 KIR-HLA 错配产生的 NK 细胞同种反应及抗白血病效应日益受到临床的重视,供-受者 *KIR* 基因检测在造血干细胞移植中正逐步开展, *KIR* 在疾病关联、群体遗传学及分子进化研究中的应用也日趋广泛。但鉴于 *KIR* 基因家族遗传复杂性及等位基因序列高度同源性,其基因检测面临着极大挑战。为此,中国输血协会人类组织抗原专业委员会与深圳市血液中心组织了临床移植和组织配型领域多名专家,通过研讨我国 *KIR* 基因多态性检测及基因分型方法的现状,并结合广泛文献查阅的基础上,就 *KIR* 基因多态性检测方法进行了深入讨论并达成此专家共识,以期规范 *KIR* 基因多态性检测,保障检测结果的准确性。此外,本专题还有作者钟福玲等(深圳)对流式磁珠序列特异性寡核苷酸探针(Flow-rSSO)杂交检测 *KIR* 基因有无时存在的问题进行了探讨,说明了质控工作在 *KIR* 基因检测中的重要性;韩瑜等(长春)研究了血小板输注效果与受者 *KIR*、供者 HLA 配体的相关性,拓展了 *KIR* 的研究思路,提示 *KIR* 研究在临床输血方面的潜在价值。

杀伤细胞免疫球蛋白样受体基因检测专家共识*

中国输血协会人类组织抗原专业委员会 深圳市血液中心

摘要:杀伤细胞免疫球蛋白样受体(*KIR*)基因家族具有复杂的遗传多态性,既有等位基因水平的多态性,同时还存在 *KIR* 单体型组成、基因拷贝数的差异性。为了规范 *KIR* 基因检测,中国输血协会人类组织抗原专业委员会与深圳市血液中心组织专家依据国内外文献和实践经验,制定了此专家共识,对 *KIR* 基因多态性检测方法、质量控制、检测报告和应用等进行了阐述,旨在提高 *KIR* 基因检测的准确性。

关键词:杀伤细胞免疫球蛋白样受体;基因家族;多态性;专家共识

中图分类号:R457.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2023)7-0557-06

Expert consensus on testing of killer-cell immunoglobulin-like receptor genes Working Party on Histocompatibility, Chinese Society of Blood Transfusion (CSBT); Shenzhen Blood Center.

Abstract: The killer-cell immunoglobulin-like receptor(*KIR*) gene family exhibits complex genetic diversity. In addition to allele level polymorphisms, *KIR* genes show extra diversity at haplotype content as well as copy number variation. In order to standardize the *KIR* gene testing, the Working Party on Histocompatibility, Chinese Society of Blood Transfusion (CSBT) and Shenzhen Blood Center organized experts to discuss and reach a consensus on *KIR* gene testing based on *KIR*-related literature and practical experience. The present consensus has summarized the techniques for identifying the diversity of *KIR* genes, quality control, testing report and its applications, aiming to improve the accuracy of *KIR* gene testing results.

Key words: killer-cell immunoglobulin-like receptor; gene family; diversity; expert consensus

杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer-cell immunoglobulin-like receptor, *KIR*)表达于自然杀伤(natural killer, NK)细胞和部分活化的 T 细胞表面,可识别和结合人类白细胞抗原(human leukocyte antigens, HLA) I 类分子,从而传导激活或抑制信号进而调节 NK 细胞的活性,在移植免疫、肿瘤免疫、

机体抗感染中发挥重要作用^[1-4]。

KIR 基因家族包含 15 种功能性 *KIR* 基因和 2 种假基因。*KIR* 基因家族具有复杂的遗传多态性,体现在:1) *KIR* 基因的有无:一般情况下除 4 种结构基因外,其他 *KIR* 基因可在个体中存在或不存在,即个体 *KIR* 单体型(haplotype)组成不同;2) *KIR* 基因拷贝数存在差异;*KIR* 单体型上每种基因的拷贝数可为 0~3 个;3) 等位基因多态性:国际 IPD (Immuno Polymorphism Database)-*KIR* 数据库 2.12 版(<https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/>)公布了 1 617 种 *KIR* 等位基因,每种 *KIR* 基因具有 33~229 个不同的等位基因,并且任意两个不同

doi:10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2023.07.001

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81373158、81860503、82203291);广东省基础与应用基础研究基金委员会项目(2022A1515011045);深圳市科技创新委员会基础研究项目(JCY20190806152001762);深圳市医学重点学科(SZKK070);中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2021-I2M-1-060)

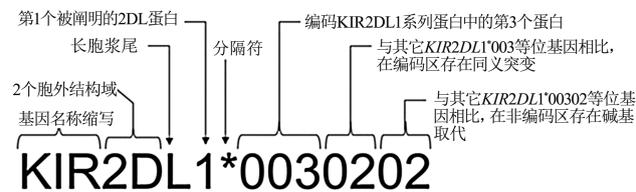
KIR 等位基因序列的同源性可高达 85%~98%^[5]。

KIR 基因家族遗传复杂性及等位基因序列高度同源性,给 *KIR* 基因检测带来了极大的挑战。当前,供-受者 *KIR* 基因检测在造血干细胞移植中日益受到重视,*KIR* 在疾病关联、群体遗传学及分子进化研究中的应用也日趋广泛,但国内缺乏 *KIR* 基因检测相关的操作指南(规范),尚无 *KIR* 基因检测的室内质控和能力验证的规定,存在检测结果偏差的风险。为保障 *KIR* 基因多态性检测结果的准确性,中国输血协会人类组织抗原专业委员会和临床移植领域的多名专家,通过对我国 *KIR* 基因多态性检测和基因分型方法现状的研讨,并广泛查阅相关文献的基础上,就 *KIR* 基因多态性检测进行了讨论,并达成此专家共识,以期规范 *KIR* 基因多态性检测,保障检测结果的准确性。

1 *KIR* 基因的分子遗传背景

KIR 基因家族定位于人类染色体 19q13.4,包含 *2DL1*、*2DL2*、*2DL3*、*2DL4*、*2DL5A*、*2DL5B*、*2DS1*、*2DS2*、*2DS3*、*2DS4*、*2DS5*、*3DL1*、*3DL2*、*3DL3* 及 *3DS1* 等 15 种功能性 *KIR* 基因和 *KIR2DP1*、*KIR3DP1* 等 2 种假基因。其中,*KIR3DL1* 和 *KIR3DS1* 基因是位于同一 *KIR* 基因座(*KIR3DL1/S1*)的两个不同子系(lineage),*KIR2DL2* 和 *KIR2DL3* 也是位于同一 *KIR* 基因座(*KIR2DL2/3*)的两个不同子系。*KIR* 基因结构复杂,每种功能性 *KIR* 基因具有 8~9 个外显子,其中 *KIR2DL4*、*KIR2DL5* 缺失第 4 外显子,*KIR3DL3* 缺失第 6 外显子,*KIR2DL1*~3 和 *KIR2DS1*~5 等 8 种 *KIR* 基因的第 3 外显子为假外显子(pseudoexon)。

WHO HLA 因子命名委员会 *KIR* 分会制定了 *KIR* 等位基因的命名方法。以 *KIR2DL1**0030202 为例(图 1),*KIR2DL1* 基因分隔号“*”后的前 3 位数“003”,表示编码 *KIR2DL1* 系列蛋白中的第 3 个蛋白;第 4、5 位数“02”表示与其它 *KIR2DL1**003 等位基因相比,在编码区存在同义突变;第 6、7 位数“02”表示与其它 *KIR2DL1**00302 等位基因相比,在非编码区存在碱基取代。



注:引自 <https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/about/nomenclature/allele/>

图 1 *KIR* 等位基因的命名方法

2 *KIR* 基因多态性检测方法

2.1 低分辨水平 *KIR* 基因定性检测 常用于分析 *KIR* 基因的有无,主要方法有序列特异性引物-PCR(sequence specific primers-PCR, PCR-SSP)、流式磁珠序列特异性寡核苷酸探针杂交(flow-reverse sequence specific oligonucleotide probes, Flow-rSSO)和实时荧光定量-PCR(quantitative real time-PCR, Q-PCR)。低分辨水平 *KIR* 基因定性检测方法的优缺点见表 1。

2.1.1 PCR-SSP 根据 *KIR* 基因特异性多态性位点的碱基,设计 PCR 引物扩增 *KIR* 基因的目的片段。通过观察 PCR 扩

增子条带的有无及片段大小,判断每种 *KIR* 基因或变异体的有无。

2.1.2 Flow-rSSO 将含 *KIR* 基因目的序列的 PCR 扩增产物,与包被在微球上的 *KIR* 序列特异性寡核苷酸探针进行杂交,通过 Luminex 流式荧光检测仪检测每一微球的杂交信号强度,采用专门的软件分析和判定结果。

2.1.3 Q-PCR 在荧光定量 PCR 仪实施检测,在扩增过程中掺入 SYBR Green I 或者其他染料结合双链 DNA,随着 PCR 扩增产物的累计而对其进行检测;通过扩增曲线和/或熔解曲线,判定每种 *KIR* 基因及变异体的有无。也可使用荧光探针的 Q-PCR 方法进行检测^[5]。

鉴于 *KIR* 基因序列高度同源,在 *KIR* 基因有/无的检测中易于出现假阳性或假阴性^[6]。因此,*KIR* 基因低分辨水平定性检测中至少包括但不限于推荐采取以下措施来保障结果准确性:

推荐 1: PCR-SSP 方法的每一 PCR 反应孔中应有内对照,以监测假阴性结果;宜设立阴性对照反应孔(可用 ddH₂O 代替受检者 DNA),以监测假阳性结果或 PCR 污染。

推荐 2: PCR-SSP 方法的扩增产物条带应清晰、特异,片段大小与预期分子量相符。若出现弱的弥散型条带并且片段大小与预期分子量相符,宜增加其它试剂或方法进行确认。

推荐 3: Flow-rSSO 方法的阳性内控微球检测结果为阳性,而检测某个特异性 *KIR* 基因的微球荧光信号峰值略低于或高于临界值(cut-off),且 *KIR* 基因组合型较为罕见时,宜增加其它试剂或方法进行确认。

推荐 4: Q-PCR 方法检测中应选择管家基因作为内参,宜设立阴性对照、阳性对照。

推荐 5: 宜借鉴 *KIR* 基因的连锁遗传关系(3DS1-2DS1、2DS4-3DL1、2DL1-2DP1、2DL2-2DS2、2DL5-2DS3/2DS5)^[7],对 *KIR* 基因有/无的检测结果进行核查。

推荐 6: *KIR* 基因有/无的检测中,宜核查四种结构基因 *KIR2DL4*、*KIR3DL2*、*KIR3DL3* 和 *KIR3DP1* 的检测结果;若某一结构基因未检出,应增加其它试剂或方法进行确认。

2.2 低分辨水平 *KIR* 基因拷贝数检测 可定量检测 *KIR* 基因的拷贝数量,主要方法有 Q-PCR 和数字 PCR(digital PCR, dPCR),不同方法的特性见表 1。

2.2.1 Q-PCR 引入管家基因作为内参。设计 *KIR* 基因特异性荧光探针,可以为单一或者多重荧光探针;扩增后与内参的荧光强度进行比较,或者使用已知基因拷贝数的标准品,从而判定起始样本量和分析 *KIR* 基因拷贝数^[5]。

2.2.2 dPCR 将含核酸模板的 PCR 反应体系分散到大量的微液滴里,每个微液滴里只有单个模板分子及相应 PCR 反应体系,进行单个模板分子的 PCR 扩增。统计每个微液滴的荧光信号,可实现拷贝数的检测。

2.3 高分辨水平 *KIR* 基因检测 可实现等位基因水平的检测,主要方法有 PCR 测序分型法(sequencing based typing-PCR, PCR-SBT)、分子克隆测序和下一代测序(next generation sequencing, NGS)。不同高分辨水平 *KIR* 基因检测方法的特征见表 2。

表 1 低分辨率水平 *KIR* 基因定性检测和拷贝数检测方法的优缺点比较

检测方法	主要用途	优点	潜在不足
PCR-SSP 法	<i>KIR</i> 基因有无的定性检测	无需贵重仪器, 实验操作简单, 结果判读直观	通量较小, 不能定量检测 <i>KIR</i> 基因的拷贝数和鉴定新等位基因
Flow-rSSO 法	<i>KIR</i> 基因有无的定性检测	高通量检测方法, 所需的 DNA 量少, 易于操作	需要专用的仪器设备, 不能定量检测 <i>KIR</i> 基因的拷贝数和鉴定新等位基因
Q-PCR (荧光染料法、探针法)	<i>KIR</i> 基因有无的定性检测或拷贝数定量检测	自动化程度较高, 通量高于 PCR-SSP 检测方法, 实验操作简单, 所需时间少	需要专用的仪器设备, 定量分析需要已知基因拷贝数的质控品
dPCR	<i>KIR</i> 基因拷贝数的定量检测	无需依赖参考物或标准品, 可实现起始样品的绝对定量	需要专用的仪器设备

表 2 高分辨率水平 *KIR* 基因检测方法的优缺点比较

检测方法	主要用途	优点	潜在不足
PCR-SBT	高分辨率水平 <i>KIR</i> 基因检测	结果可靠, 可以鉴定已知、未知点突变; 提供高分辨率检测结果	等位基因较多时易于出现模棱两可的结果; 难以区分 <i>KIR</i> 等位基因的拷贝数
分子克隆测序	<i>KIR</i> 新等位基因鉴定或疑难标本检测	<i>KIR</i> 等位基因分离后再进行测序, 为 PCR-SBT 测序分型的有益补充	通量较小, 实验步骤多、周期长, 一般用于 <i>KIR</i> 新等位基因的鉴定和测序分型疑难标本的检测
扩增法 NGS 测序	高分辨率水平 <i>KIR</i> 基因检测	模棱两可结果少; 可以鉴定已知、未知的点突变; 可获得每种 <i>KIR</i> 基因的全长序列及其高分辨率水平基因型	需要专门的设备, 对人员要求高; 长片段扩增存在碱基错误掺入风险
捕获法 NGS 测序	<i>KIR</i> 等位基因检测、拷贝数分析	模棱两可结果少; 可以鉴定已知、未知的点突变; 基于每条序列的读数可判定等位基因的拷贝数	需要专门的设备, 对人员要求高; <i>KIR</i> 特异性探针的设计和优化有一定的难度

2.3.1 PCR-SBT 首先 PCR 特异性扩增每种 *KIR* 基因的编码区序列, 然后采用特异性测序引物基于 Sanger 法原理对其序列进行测序, 所获的序列导入 *KIR* 测序分析软件, 进行碱基错误排查, 判定受检者携带的 *KIR* 等位基因^[8-10]。

2.3.2 分子克隆测序 从新鲜外周血样中提取 mRNA 并逆转录为 cDNA, 采用 *KIR* 基因特异性 PCR 引物对 cDNA 进行扩增, 扩增产物进行分子克隆, 挑选阳性克隆提取质粒 DNA 进行测序。也可使用基因组 DNA 的 PCR 扩增产物进行分子克隆和测序。

2.3.3 NGS

2.3.3.1 扩增法 NGS 测序 采用长片段 PCR 扩增进行文库构建, 在二代或三代测序仪上进行测序及数据分析。Manianguou 等^[11]报道了 *KIR* 基因的 NGS 测序方法, 该方法基于长

片段 PCR, 扩增 *KIR* 基因组单体型全长序列, 然后在 NGS 测序平台上进行测序。

2.3.3.2 捕获法 NGS 测序 采用探针杂交捕获法进行文库构建, 然后依据平台的不同选用不同的芯片和流程进行测序, 利用分析软件进行 *KIR* 基因分型数据分析。该方法可根据特定区域序列测序深度的不同进行拷贝数的检测, 但不同软件的算法存在差异。Norman 等^[12]使用基因组 DNA, 基于探针捕获、NGS 测序和分析, 可同时鉴定全部功能性 *KIR* 基因及 *HLA-A*、*B*、*C* 基因型, 并得出每种 *KIR* 基因的拷贝数。

推荐 7: PCR-SBT 方法所获得的序列应无背景杂峰或者杂峰不影响结果指定, 且易于识别和结果自动判读。宜选择涵盖每种 *KIR* 基因全部编码区的方法。

推荐 8: PCR-SBT 方法中出现杂合位置碱基峰不平衡或者无完全匹配组合的情形, 可能是 *KIR* 新等位基因或者多拷贝等位基因所致^[13]。宜采用家系分析或者其他方法进行确认。

推荐 9: PCR-SBT 方法存在模棱两可组合的结果, 可选用 *KIR* 等位基因命名中“*”后的前 3 位数组组合结果。必要时, 可采用组特异性引物扩增测序、家系分析或者其他方法进行确认。

推荐 10: NGS 测序方法中应根据选用平台的不同, 设置合适的测序质量控制参数, 对测序下机数据进行评估: 包括数据产量、Q20 或 Q30、测序读长等; 导入数据可视化软件后, 需评估序列比对的情况, 包括 reads 数、比对率、测序均一性和测序深度等。

3 检测的质量控制

3.1 结果分析的质量控制点

3.1.1 PCR-SSP 方法检测 *KIR* 基因 应分析目的条带、内对照、阴性对照的情况。目的扩增产物条带、内对照条带应与预期长度一致, 条带清晰。每人份检测试剂要求设立至少 1 个阴性对照反应孔, 阴性对照孔应无扩增产物。

3.1.2 Flow-rSSO 方法检测 *KIR* 基因 应分析读取微球的数量, 阳性、阴性和目的测定微球的平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI)。微球最低读数、阳性和阴性质控微球 MFI 应达到试剂厂家说明书的要求; 需逐个分析每一个探针, 重点分析处于 cut-off 值附近的探针。

3.1.3 Q-PCR 方法检测 *KIR* 基因 应分析内参基因、目的基因扩增曲线情况, 若有熔解曲线也应分析。当内参基因或者熔解曲线出现扩增异常, 则提示实验存在质量问题。

3.1.4 PCR-SBT 方法检测 *KIR* 基因 应峰图清晰、等位基因平衡, 碱基信号强度符合要求; 分析过程中应重点关注双峰和高背景信号, 测序所获序列一般要求无背景杂峰; 分析数据所使用的参考数据库应定期更新并验证。

3.1.5 NGS 方法检测 *KIR* 基因 应分析测序仪产生数据的质量指标及分析软件参数; *KIR* 基因分型数据应至少分析测序覆盖度、深度、测序均一性、等位基因平衡, 测序范围应覆盖拟分析区域的多态性位点, 测序深度和杂合碱基的碱基比例需符合实验室检测需求。

3.2 室内质控 实验室应建立 *KIR* 基因检测的室内质控规

则,定期进行室内质控,宜设置阳性和阴性质控物。阳性质控物宜覆盖尽可能多的 *KIR* 基因类型,阴性质控物可为去离子水、试剂空白等。在质控失控时应及时分析、记录失控的原因并采取纠正措施。

3.3 室间质量评价或能力验证 实验室应通过定期参加室间质量评价 (external quality assessment, EQA) 或能力验证 (proficiency testing, PT) 来评估实验室检测能力。当无 EQA 或 PT 时,实验室应采用标准物质/标准样本、已知分型结果的检测标本、第三方质控品,进行实验室间比对方法实施能力验证。当 EQA、PT、比对结果出现不一致时,应进行原因分析,确定不一致原因,及时采取纠正措施进行纠正,必要时采取预防措施。

推荐 11:不同方法需要分析的质量控制点存在差异,应根据选用的方法和试剂进行综合考虑。

推荐 12:检测数据的各项分析参数应至少达到试剂厂家说明书最低要求。应保留结果分析过程中的所有记录,对于数据质量不合格的标本,应分析原因并采取纠正措施。

推荐 13:实验室应建立 *KIR* 基因检测室内质控规程,宜明确质控物品种、检测频次、质控记录、在控和失控规则和改进要求。

4 检测报告

4.1 与检测报告相关的专业术语

4.1.1 *KIR* 基因组合型 (*KIR* profile) 低分辨率水平 *KIR* 基因有无的定性检测仅能确定受检者携带哪几种 *KIR* 基因,其拷贝数尚不确定。在国际数据库 Allele Frequency Net Database (网址:www.allele-frequencies.net) “Genotype Reference List” 功能区录入 *KIR* 基因有无的检测结果,可查询得到的 ID 号即为 *KIR* 基因组合型 (例如:AB2)。

4.1.2 *KIR* 基因型 (*KIR* genotype) *KIR* 等位基因种类及其拷贝数特征的组合。

4.1.3 *KIR* 单体型 (*KIR* haplotype) *KIR* 基因以单体型形式遗传,分为 *KIR A*、*KIR B* 两种类型,*KIR A* 携带 9 种固定的 *KIR* 基因 (3DL1-2DL1-2DL3-2DS4-2DL4-3DL2-3DL3-2DP1-3DP1); 而 *KIR B* 则是一组携带有更多激活性 *KIR* 基因的单体型,有多种形式。

4.1.4 *KIR* 单体型组合 (*KIR* haplotype group) *KIR A*、*KIR B* 单体型组成 *KIR AA*、*KIR AB* 和 *KIR BB* 3 种单体型组合。*KIR AA* 携带 9 种固定的 *KIR* 基因,缺失 2DL1、2DL3、3DL1、2DS4 此 4 种 *KIR* 基因中的任何 1 种为 *KIR BB*,其余类型则为 *KIR AB* 型。实际工作中可借助于国际数据库 Allele Frequency Net Database 进行判定。

4.2 检测报告内容

4.2.1 低分辨率水平 *KIR* 基因检测报告 报告内容应有每种功能性 *KIR* 基因有无情况,宜有 *KIR* 基因组合型和单体型组合;并建议区分 *KIR2DS4* 变异体,未区分 *KIR2DS4* 变异体的应标注说明。在能够获得供-受者 *KIR-HLA* 检测结果情况下,必要时根据需求可进一步提供供-受者间 *KIR* 配合情况、供者 *KIR* 与受者 HLA 配体的错配关系以及着丝粒/端粒端基序。

4.2.2 *KIR* 基因拷贝数检测报告 报告内容应明确检测 *KIR* 基因的拷贝数量,拷贝数采用 0、1、2 和 3 等数字表示,未区分 *KIR2DS4* 变异体的应标注说明。宜报告选用的拷贝数对照品和选用的管家基因。

4.2.3 高分辨水平 *KIR* 基因检测报告 应报告检出的每种 *KIR* 等位基因或高分辨水平基因型。基于 *KIR* 等位基因的命名方法,高分辨水平 *KIR* 基因检测报告至少应鉴定或报告出 *KIR* 等位基因命名“*”后的前 3 位数。

推荐 14:*KIR2DS4* 基因是 *KIR A* 单体型上唯一的激活型 *KIR* 基因,若受检者带有 2 个 *KIR2DS4-Deleted* 等位基因 (存在 22 bp 缺失),则 *KIR AA* 单体型组合没有激活型 *KIR* 基因。在 *KIR* 基因有无的定性检测报告中,宜鉴定和区分 *2DS4-Full* (无 22 bp 缺失) 和 *2DS4-Deleted*。

5 检测应用

5.1 异基因造血干细胞移植供者选择 国内外部分造血干细胞移植中心正逐步将供-受者 *KIR* 基因纳入检测范畴,在 *HLA* 基因分型的基础上结合 *KIR* 基因检测结果选择最佳的移植供者,开展 *KIR* 基因、单体型、基序、HLA 配体以及供-受者间 *KIR-HLA* 错配等模式与临床移植效果的研究^[14-18];但当前 *KIR* 基因在造血干细胞移植中最佳供者的选择标准及预后危险分层中的作用仍存在争议,尚未被完全阐明,仍有待于多中心临床和实验深入研究。

5.2 过继性 NK 细胞免疫治疗中最适供者选择 过继性 NK 细胞免疫治疗已应用于急性髓系白血病和肿瘤的临床治疗^[19-20]。如何在造血干细胞移植中选择最适供者或者激活患者自身 NK 细胞/同种异基因 (allogeneic) NK 细胞,以获得最佳的 NK 细胞同种反应性和抗白血病效应^[21-22],是当前临床移植免疫学和过继性 NK 细胞免疫治疗的研究热点和关键问题。

5.3 *KIR* 群体遗传学分析 *KIR* 具有高度遗传多态性,不同地区和人群 *KIR* 分布存在显著差异。目前我国学者已报道部分人群的数据,主要是基于低分辨率水平 *KIR* 基因有无的检测,部分报道了高分辨水平的结果^[3, 23]。以 *KIR AA* 单体型组合的检出频率为例,中国汉族健康无关个体的 *KIR* 群体遗传学数据还存在较大的差异^[24-28];其原因可能与检测方法、样本量、不同地域人群等有关,因此 *KIR* 群体遗传学数据仍需要系统研究。

5.4 *KIR-HLA* 与疾病关联研究 *KIR-HLA* 受-配体多态性与病原体感染、自身免疫性疾病、肿瘤及母胎免疫耐受相关疾病等的易感性或严重程度密切相关^[29-31]。通过研究 *KIR-HLA* 受-配体组合多样性与疾病的相关性及其作用机制,有助于更全面、更精准地预测某个疾病在特定个体中的患病风险,从而制定更合理的个体化诊疗方案。

6 结束语

人类在适应性免疫进化过程中,*KIR* 受体及 HLA 配体在不同人群中频率分布具有显著性差异,因而 *KIR-HLA* 所发挥的作用也不尽相同^[32]。不同 *KIR* 基因的表达水平不同^[33],同一 *KIR* 基因中不同等位基因的表达水平、基因产物

介导的激活/抑制能力也存在差异^[34],因而准确鉴定 *KIR* 等位基因具有重要的临床意义^[35-37]。今后研发 *KIR* 基因家族分型试剂及分析软件,特别是 *KIR* 单体型全长测序分析技术,实现快速准确获得 *KIR* 单体型结构及类型、等位基因组成和拷贝数以及每种 *KIR* 的基因型,是亟待解决的问题。随着研究的不断深入,*KIR* 基因检测将在造血干细胞移植、个体化细胞免疫治疗、群体遗传学和疾病关联研究等领域具有广阔的应用前景。

本共识署名单位排名不分先后,并列第一

本共识专家组成员(以专家姓氏笔画排序):大连市血液中心 于卫建,中国医学科学院输血研究所 王珏,重庆市血液中心 毛伟,深圳市血液中心 邓志辉,广州血液中心 叶欣,青岛市中心血站 冯智慧,南方医科大学珠江医院 兰和魁,安徽省血液中心 吕蓉,浙江省血液中心 朱发明,山东省血液中心 朱传福,武汉血液中心 朱远雁,北京博奥医学检验所 刘湘,哈尔滨市血液中心 刘颖,陕西省血液中心 齐瑛,广西梧州市红十字会医院 汤敏中,天津市血液中心 安仕萍,南方医科大学南方医院 孙竞,云南大学附属医院 苏品璨,天津市第一中心医院 李代红,北京市红十字血液中心 李冬妹,北京市红十字血液中心 李伟,辽宁省血液中心 李剑平,辽宁省血液中心 李晓丰,潍坊市中心血站 杨春晴,上海市血液中心 杨颖,苏州大学附属第一医院 何军,江苏省人民医院 沈捷,北京医院 张立群,北京市红十字血液中心 张志欣,河南省红十字血液中心 张伯伟,重庆市妇幼保健院(重庆医科大学附属妇女儿童医院) 张涛,太原市血液中心 张德梅,浙江省血液中心 和艳敏,北京医院 周晓阳,山东省血液中心 聂向民,深圳市血液中心 徐筠婷,浙江省血液中心 陶苏丹,北京大学人民医院 常英军,深圳市血液中心 梁爽,吉林省血液中心 韩瑜,吉林省血液中心 焦立新,长沙血液中心 谢毓滨,深圳市宝安区妇幼保健院 甄建新,苏州大学附属第一医院 鲍晓晶,北京医院 蔡剑平

共识顾问:张志欣(北京市红十字血液中心)

执笔作者:邓志辉(深圳市血液中心)、朱发明(浙江省血液中心)、汤敏中(广西梧州市红十字会医院)、王珏(中国医学科学院输血研究所)、鲍晓晶(苏州大学附属第一医院)。

△通信作者:邓志辉,Email:zhihui_deng@aliyun.com

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] SHIMONI A, LABOPIN M, LORENTINO F, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor ligand mismatching and outcome after haploidentical transplantation with post-transplant cyclophosphamide[J]. *Leukemia*, 2019, 33(1):230-239.
- [2] LASKOWSKI T J, BIEDERSTÄDT A, REZVANI K. Natural killer cells in antitumour adoptive cell immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(10):557-575.
- [3] DENG Z, ZHEN J, HARRISON G F, et al. Adaptive admixture of HLA class I allotypes enhanced genetically determined strength of natural killer cells in east Asians[J]. *Mol Biol Evol*, 2021, 38(6):2582-2596.
- [4] MARTIN M P, NARANBHAI V, SHEA P R, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor 3DL1 variation modifies HLA-B* 57 protection against HIV-1[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(5):1903-1912.
- [5] JIANG W, JOHNSON C, SIMECEK N, et al. qKAT: a high-throughput qPCR method for *KIR* gene copy number and haplotype determination[J]. *Genome Med*, 2016, 8(1):99.
- [6] 金士正,甄建新,何柳梅,等.两种不同的*KIR*基因分型方法的对比研究[J].*国际输血及血液学杂志*, 2012, 35(5):385-388.
- [7] MARTIN M P, SINGLE R M, WILSON M J, et al. *KIR* haplotypes defined by segregation analysis in 59 Centre d'Etude Polymorphisme Humain (CEPH) families[J]. *Immunogenetics*, 2008, 60(12):767-774.
- [8] BELLE I, HOU L, CHEN M, et al. Investigation of killer cell immunoglobulin-like receptor gene diversity in *KIR3DL1* and *KIR3DS1* in a transplant population[J]. *Tissue Antigens*, 2008, 71(5):434-439.
- [9] HOU L, CHEN M, STEINER N, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptors (*KIR*) typing by DNA sequencing[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 882:431-468.
- [10] DENG Z H, ZHEN J X, ZHANG G B. Method for simultaneous sequence-based typing of 14 functional killer cell immunoglobulin-like receptor (*KIR*):US 10266877 B2 [P]. 2019-04-23.
- [11] MANIANGOU B, LEGRAND N, ALIZADEH M, et al. Killer Immunoglobulin-like receptor allele determination using next-generation sequencing technology[J]. *Front Immunol*, 2017, 8:547.
- [12] NORMAN P J, HOLLENBACH J A, NEMAT-GORGANI N, et al. Defining *KIR* and HLA class I genotypes at highest resolution via high-throughput sequencing [J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 99(2):375-391.
- [13] 喻琼,甄建新,张国彬,等. *KIR2DL4* 基因测序分型中杂合碱基位置峰高不平衡现象及其意义 [J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(10):1106-1109.
- [14] VARBANOVA V P, MIHAILOVA S, NAUMOVA E, et al. Certain killer immunoglobulin-like receptor (*KIR*)/*KIR* HLA Class I ligand genotypes influence natural killer antitumor activity in myelogenous leukemia but not in acute lymphoblastic leukemia: a case control leukemia association study [J]. *Turk J Haematol*, 2019, 36(4):238-246.
- [15] MAVERS M, BERTAINA A. High-risk leukemia: past, present, and future role of NK cells [J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018:1586905.
- [16] VENSTROM J M, PITTARI G, GOOLEY T A, et al. HLA-C-dependent prevention of leukemia relapse by donor activating *KIR2DS1* [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(9):805-816.
- [17] ZHANG Y, YE C, ZHU H, et al. Association of i*KIR*-mismatch model and donor a*KIRs* with better outcome in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia [J]. *Front Immunol*, 2023, 13:1091188.
- [18] ZHAO X Y, YU X X, XU Z L, et al. Donor and host coexpressing *KIR* ligands promote NK education after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(24):4312-4325.

- [19] RASCLE P, WOOLLEY G, JOST S, et al. NK cell education: Physiological and pathological influences [J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1087155.
- [20] DIZAJIASL K, RAFAT A, MAZLOUMI Z, et al. Cord blood stem cell-generated KIR⁺NK cells effectively target leukemia cell lines [J]. *Hum Immunol*, 2023, 84(2):98-105.
- [21] MAMCARZ E, MADDEN R, QUDEIMAT A, et al. Improved survival rate in T-cell depleted haploidentical hematopoietic cell transplantation over the last 15 years at a single institution [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2020, 55(5):929-938.
- [22] LASKOWSKI TJ, BIEDERSTÄDT A, REZVANI K. Natural killer cells in antitumour adoptive cell immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(10):557-575.
- [23] TAO S, HE Y, KICHULA K M, et al. High-resolution analysis identifies high frequency of *KIR-A* haplotypes and inhibitory interactions of KIR with HLA Class I in Zhejiang Han [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:640334.
- [24] JIANG K, ZHU F M, LV Q F, et al. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in the Chinese Han population [J]. *Tissue Antigens*, 2005, 65(6):556-563.
- [25] WU G Q, ZHAO Y M, LAI X Y, et al. Distribution of killer-cell immunoglobulin-like receptor genes in Eastern mainland Chinese Han and Taiwanese Han populations [J]. *Tissue Antigens*, 2009, 74(6):499-507.
- [26] ZHEN J, WANG D, HE L, et al. Genetic profile of KIR and HLA in southern Chinese Han population [J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(1):59-64.
- [27] TAO S, HE Y, DONG L, et al. Associations of killer cell immunoglobulin-like receptors with acute myeloid leukemia in Chinese populations [J]. *Hum Immunol*, 2017, 78(3):269-273.
- [28] WANG H D, ZHU B F, SHEN C M, et al. Diversity distributions of killer cell immunoglobulin-like receptor genes and their ligands in the Chinese Shaanxi Han population [J]. *Hum Immunol*, 2011, 72(9):733-740.
- [29] KULKARNI S, MARTIN M P, CARRINGTON M. The Yin and Yang of HLA and KIR in human disease [J]. *Semin Immunol*, 2008, 20(6):343-352.
- [30] PARHAM P, MOFFETT A. Variable NK cell receptors and their MHC class I ligands in immunity, reproduction and human evolution [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(2):133-144.
- [31] POLLOCK N R, HARRISON G F, NORMAN P J. Immunogenomics of killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) and HLA Class I: coevolution and consequences for human health [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2022, 10(7):1763-1775.
- [32] DE SMITH A J, WALSH K M, LADNER M B, et al. The role of KIR genes and their cognate HLA class I ligands in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2014, 123(16):2497-2503.
- [33] MCERLEAN C, GONZALEZ A A, CUNNINGHAM R, et al. Differential RNA expression of KIR alleles [J]. *Immunogenetics*, 2010, 62(7):431-440.
- [34] YAWATA M, YAWATA N, DRAGHI M, et al. Roles for HLA and KIR polymorphisms in natural killer cell repertoire selection and modulation of effector function [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(3):633-645.
- [35] BOUDREAU J E, GIGLIO F, GOOLEY T A, et al. KIR3DL1/HLA-B subtypes govern acute myelogenous leukemia relapse after hematopoietic cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(20):2268-2278.
- [36] DUBREUIL L, MANIANGOU B, CHEVALLIER P, et al. Centromeric KIR AA individuals harbor particular KIR alleles conferring beneficial NK cell features with implications in haplo-identical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(12):3595.
- [37] BARI R, RUJKIJYANONT P, SULLIVAN E, et al. Effect of donor KIR2DL1 allelic polymorphism on the outcome of pediatric allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(30):3782-3790.

(2023-06-19 收稿, 07-07 修回)

本文编辑:夏玲