

第2代测序技术鉴定人类白细胞抗原等位基因 A*24:353 及基因频率分析

<https://doi.org/10.12307/2021.012>

何柳媚, 陈浩, 钟艳平, 全湛柔, 邹红岩

投稿日期: 2020-06-05

送审日期: 2020-06-06

采用日期: 2020-07-14

在线日期: 2020-11-18

中图分类号:

R459.9; R318; S759.95

文章编号:

2095-4344(2021)25-04009-04

文献标识码: B

文章快速阅读:

文章特点一

△有些新基因由于发现较晚, 基因频率不能准确计算, 在缺乏相应数据的情况下, 容易造成对测序结果模棱两可样本结果的误判, 导致出现配型不相合的结果, 影响移植配型成功率;

△近年来逐步发展成熟的二代测序技术, 以高通量和自动化为特征, 在分子领域具有广阔的应用前景;

△采用二代测序技术对模棱两可结果的样本进行全长序列测定, 可以提高HLA基因分型准确率和供受者间的配型相合度。

应用聚合酶链反应-直接测序分型法(PCR-SBT)对543例临床移植配型供受者进行HLA-A检测。

利用第2代测序技术(NGS)对HLA-A*24:02/24:353模棱两可结果进行鉴定, 并计算HLA-A*24:353频率。

结果提示:

HLA-A*24:353在中国可能并不罕见, 进行临床移植配型供受者高分辨分型时, 需对HLA-A*24:02/24:353模棱两可结果做进一步确认, 以增加分型结果的准确性, 提高移植配型的相合率。

文题释义:

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA): 是由人类白细胞基因复合体所编码的产物, 位于第6号染色体短臂上。临床干细胞移植前配型需检测供受者HLA-A、B、C、DRB1、DQB1五个基因位点相合的程度, 供受者的HLA配型达到一定相合要求才能进行造血干细胞移植。
第2代测序技术(next generation sequencing, NGS): 又称“下一代测序技术”, 是一种以“边合成边测序”为核心思想的高通量测序技术, 能够在短时间内同时对上百亿碱基进行全长序列测定。

摘要

背景: 人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)高分辨确认工作是造血干细胞移植前必不可少的步骤之一, 随着工作的不断深入开展及被检测人群的持续增加, 人类白细胞抗原新等位基因不断涌现。有些新基因由于发现较晚, 相关报道较少, 导致基因频率不能准确计算, 在缺乏相应数据的情况下, 容易造成分型结果的误判, 导致配型不相合结果, 影响移植配型成功率。

目的: 对HLA一个等位基因HLA-A*24:353进行检测确认, 并对其出现频率进行分析。

方法: 应用聚合酶链反应-直接测序分型方法对2019年9月至2020年5月间543例临床移植配型供受者进行HLA-A、-B、-C、-DRB1、-DQB1五个位点检测, 再用第2代测序技术对HLA-A*24:02/24:353模棱两可结果进行全长序列测定, 得到HLA高分辨分型结果, 并计算HLA-A*24:353基因出现频率。

结果与结论: 检出HLA-A*24:02/24:353模棱两可结果146例, 采用第2代测序技术进一步鉴定后, 检出HLA-A*24:353基因5例, 占A*24组的比率为3.42%, 在543例检测人群中出现比率为0.92%。结果提示HLA-A*24:353在中国可能并不罕见, 进行临床移植配型供受者高分辨分型时, 当出现HLA-A*24:02/24:353模棱两可结果时, 需做进一步确认, 以增加分型结果的准确性, 提高移植配型的成功率。

关键词: 造血干细胞; 移植; 人类白细胞抗原; 等位基因; 频率; 移植配型; 血液

Next-generation sequencing of identifying the human leukocyte antigen-A*24:353 and its gene frequency analysis

He Liumei, Chen Hao, Zhong Yanping, Quan Zhanrou, Zou Hongyan

Institute of Transfusion Medicine of Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

He Liumei, Master, Associate chief technician, Institute of Transfusion Medicine of Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Corresponding author: Zou Hongyan, Chief technician, Institute of Transfusion Medicine of Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China

Abstract

BACKGROUND: High resolution validation of human leukocyte antigen (HLA) is one of the essential step before hematopoietic stem cell transplantation. With the continuous development of the work and the number of people tested continues to increase, human leukocyte antigen new alleles are constantly emerging. Due to the late discovery of some new genes and the lack of relevant reports, the gene frequency cannot be accurately calculated. In the absence of relevant data, it is easy to misjudge the typing results. The result of mismatch affects the success rate of transplantation.

深圳市血液中心输血医学研究所, 广东省深圳市 518020

第一作者: 何柳媚, 女, 1980年生, 广东省梅州市人, 汉族, 2005年暨南大学毕业, 硕士, 副主任技师, 主要从事人白细胞抗原组织配型高分辨确认工作。

通讯作者: 邹红岩, 主任技师, 深圳市血液中心输血医学研究所, 广东省深圳市 518020

<https://orcid.org/0000-0001-5840-011X>(何柳媚)

引用本文: 何柳媚, 陈浩, 钟艳平, 全湛柔, 邹红岩. 第2代测序技术鉴定人类白细胞抗原等位基因 A*24:353 及基因频率分析 [J].

中国组织工程研究, 2021, 25(25):4009-4012.



OBJECTIVE: An allele of HLA-A*24:353 was detected and confirmed in HLA, and its occurrence frequency was analyzed.

METHODS: Polymerase chain reaction-sequencing-based typing method was used to detect five loci of HLA- A, B, C, DRB1, and DQB1 in 543 clinical transplantation matching recipients from September 2019 to May 2020. Next-generation sequencing was used to determine the full-length sequence of HLA-A*24:02/24:353 ambiguous results to obtain high resolution typing results of HLA and calculate the occurrence frequency of HLA-a *24:353 gene.

RESULTS AND CONCLUSION: The ambiguous results of HLA-A*24:02/24:353 were detected in 146 cases. After further confirmatory tests using next-generation sequencing, the results of HLA-A*24:353 gene were detected in 5 cases (3.42%) in A*24 group and 0.92% in 543 cases. The results suggest that HLA-A*24:353 may not be rare allele in China. When HLA-A*24:02/24:353 ambiguous results appear in clinical transplantation matching recipients for high resolution typing, further confirmation is needed to increase the accuracy of typing results and improve the success rate of transplantation matching.

Key words: hematopoietic stem cells; transplantation; human leukocyte antigen; allele; frequency; transplantation matching; blood

How to cite this article: HE LM, CHEN H, ZHONG YP, QUAN ZR, ZOU HY. Next-generation sequencing of identifying the human leukocyte antigen-A*24:353 and its gene frequency analysis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(25):4009-4012.

0 引言 Introduction

异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 是治疗血液系统恶性肿瘤和先天性免疫缺陷的有效手段之一。供者和受者的人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 相合程度越高, 发生排斥反应和移植物抗宿主病的风险越低, 移植成功机会越大。因此, 移植前 HLA 高分辨分型检测结果的准确性是移植能否成功的关键。

HLA-A 是经典的 HLA- I 类分子, 为移植相关的抗原, HLA-A*24:353 等位基因于 2016 年由作者所在实验室首次发现, 并由世界卫生组织 HLA 系统因子命名委员会正式命名, 其与同源性最高的 HLA-A*24:02 等位基因的区别在于第 6 外显子 1 018 位碱基由 A 变为 G, 导致第 316 位氨基酸残基由赖氨酸 (Lys) 变成谷氨酸 (Glu)^[1]。由于 HLA-A*24:353 发现时间较晚, 相关报道较少, 国际上一直将其判定为罕见型等位基因, 中国的分型实验室也通常将 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果直接判定为 HLA-A*24:02, 造成分型结果的误判。为了提高 HLA 基因分型准确率和供受者间的配型相合度, 增加移植成功率, 作者利用聚合酶链反应-直接测序分型法 (polymerase chain reaction-sequence based typing, PCR-SBT) 对 543 例无血缘关系供/受者的 HLA-A、-B、-C、-DRB1、-DQB1 五个位点进行检测, 再利用第 2 代测序技术 (next generation sequencing, NGS) 对其中的 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果进行全长序列测定, 以得到准确的分型结果, 现将结果报告如下。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 应用聚合酶链反应-直接测序分型法和第 2 代测序技术检测样本。

1.2 时间及地点 2019 年 9 月至 2020 年 5 月在深圳市血液中心输血医学研究所完成。

1.3 对象 543 例临床移植配型无血缘关系供受者。供受者血样均为 EDTA 抗凝, 白细胞数要求大于 $3.0 \times 10^9 L^{-1}$ 。

1.4 方法

1.4.1 实验试剂及仪器 核酸提取试剂 (台湾芮宝公司); SeCore™HLA 基因分型测序试剂 (美国 One Lambda 公司); TBG 基因分型测序试剂 (台湾芮宝公司); NNextype™NGS 试剂 (美国 One Lambda 公司); 全自动核酸提取仪 (MagCore

HF16, 台湾芮宝公司); 9700 型 PCR 仪 (美国 ABI 公司); 3730 型测序仪 (美国 ABI 公司); ION Torrent S5 测序仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.4.2 基因组 DNA 制备 使用全自动核酸提取仪和提取试剂提取外周血基因组 DNA, DNA 质量浓度为 20–100 μg/L, 纯度为 1.6–2.0。

1.4.3 聚合酶链反应-直接测序分型法分型 采用商品化测序分型试剂盒, 按试剂盒说明书对 HLA- A、-B、-C、-DRB1、-DQB1 位点的 2, 3, 4 外显子进行扩增, 扩增产物纯化, 再进行测序反应, 测序反应产物纯化, 最后用 3730 测序仪进行毛细管电泳。收集原始数据后, 使用 uTYPE7.2 版 (HLA SBT uTYPE 7.2 CMDP) 软件分析, 对 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果的样本用 TBG 试剂增加检测第 6 外显子, 再用 uTYPE7.2 版软件分析结果。

1.4.4 第 2 代测序技术分型 对 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果的样本用第 2 代测序技术进行全长序列测定, 最终得到 HLA-A 准确的基因分型结果。

(1)DNA 扩增和定量: 按照商品化试剂盒说明书特异性扩增 HLA- I 类 (A、B、C 位点) 全长和 II 类 (DRB1 和 DQB1 位点) 第 2, 3 外显子。用磁珠法对扩增产物纯化, 然后对产物进行定量, 把 I 类和 II 类产物等摩尔混合。

(2)文库构建: 应用 ION Shear™Plus 试剂, 把扩增产物随机片段化, 片段两端接上小片段序列接头, 筛选 300–1 000 bp 目标片段进行 2 次扩增, 纯化后进行定量, 制备文库。

(3) 乳化 PCR 产物: 经过乳化后在 40 °C 等温扩增条件下, 将小片段结合在磁珠上进行单克隆扩增, 筛选出富集珠子作为测序模板终产物, 加载至 Ion 530™ Chip 芯片上, 在测序平台上分别加入 4 种脱氧核苷酸, 开始测序。

(4)数据分析: 用 TypeStreamVisual™ NGS Analysis Software 软件进行数据处理和分析。

1.5 主要观察指标 ① HLA-A*24:353 测序结果; ② HLA-A*24:353 占 A*24:02/24:353 模棱两可结果的比例, 以及占有所有样本的比例。

2 结果 Results

2.1 HLA-A*24:02 与 HLA-A*24:353 第 6 外显子差异碱基图见图 1。

2.2 第 6 外显子测序分型结果 对于 A*24:02/24:353 模棱两

cDNA	1020	1030	1040
A*24:02:01:01	ATAGAAAA	GGAGGGAGCT	ACTCTCAGGC TGCAA
A*24:353	-----G-----	-----	-----

图 1 | HLA-A*24:02:01:01 与 HLA-A*24:353 等位基因第 6 外显子碱基差异

Figure 1 | Different basic groups of HLA-A*24:02:01:01 and HLA-A*24:353 at exon 6

可结果的样本，用 TBG 试剂增加测定第 6 外显子，测序结果见图 2，1 018 位碱基为 A；HLA-A*24:353 第 6 外显子测序结果见图 3，1 018 位碱基出现 G。

2.3 第 2 代测序技术分型结果 对 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果进行全长序列测定，HLA-A*24:353 结果见图 4，第 1 018 位碱基为 G。

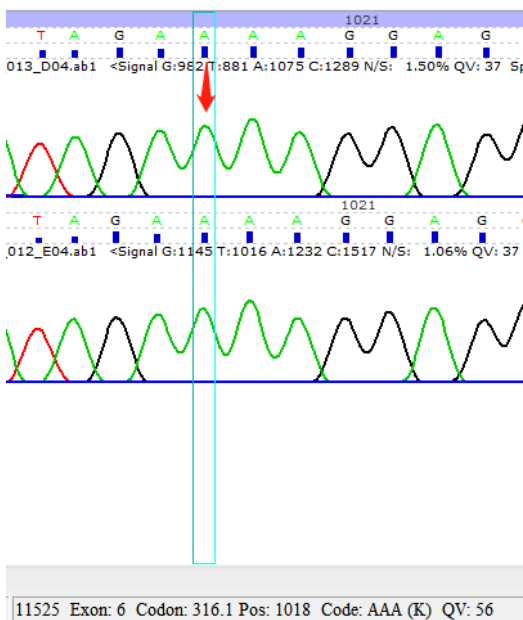


图 2 | HLA-A*24:02 第 6 外显子测序分型结果
Figure 2 | Typing results of HLA-A*24:02 exon 6 sequencing

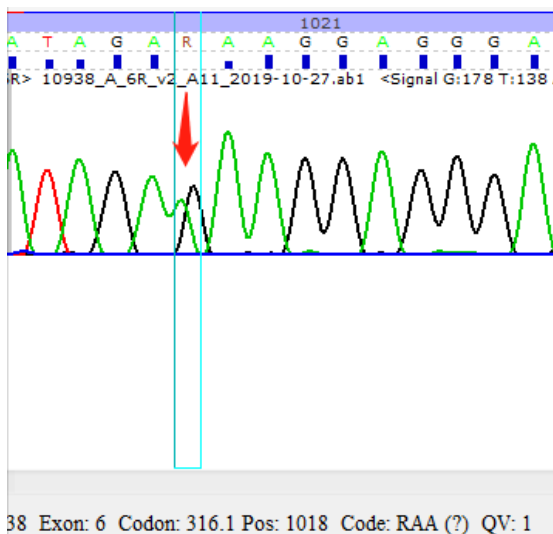


图 3 | HLA-A*24:353 第 6 外显子测序分型结果
Figure 3 | Typing results of HLA-A*24:353 exon 6 sequencing

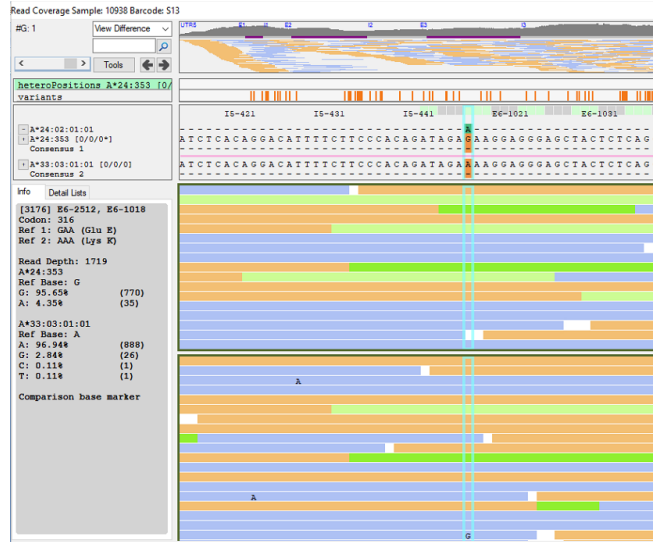


图 4 | HLA-A*24:353 第 2 代测序技术分型结果
Figure 4 | HLA-A*24:353 detected by next-generation sequencing

2.4 基因频率分析 在 543 例临床移植配型供受者中，检出 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果 146 例，利用第 2 代测序技术进行全长序列测定后，检出 HLA-A*24:353 基因 5 例，比例为 3.42%，在 543 例检测人群中出现比例为 0.92%。

3 讨论 Discussion

不同种族、不同个体的 HLA 千差万别，为减少移植排斥反应，提高移植成功率，移植前需检测供受者间相合的程度。供者与患者 HLA 型不同的造血干细胞移植，将引起严重的移植排斥反应，危及患者的生命。MATTSSON 等^[2]对异基因造血干细胞移植植入失败病例进行回顾性分析，HLA 全相合造血干细胞移植的植入失败率仅为 0.1%，而 HLA 不相合的植入失败率高达 5% ($P < 0.01$)。RUBINSTEIN 等^[3]对脐血干细胞移植植入失败相关因素进行研究，供者与受者之间 HLA 相合度较低是植入失败发生的独立危险因素，且可增加患者移植相关死亡率。关于 HLA 哪个位点是影响造血干细胞移植预后的关键，2003 年美国 FHCRC 协作组和 NMDP 均认为 HLA- I 类和 II 类的等位基因不相合都可以降低患者的长期生存率^[4]，而日本 2002 年 JMDD 证据表明，HLA- I 类，特别是 HLA-A 位点和 B 位点的不相合可以降低患者的长期生存率，而 HLA-C 和 HLA-DR 没有明显影响^[5]。国际组织相容性工作组 (International Histocompatibility Working Group, IHWG)2009 年统计东西方多个国家 17 341 例非血缘造血干细胞移植发现，HLA- I 类不相合的移植风险大于 HLA- II 类不相合 ($P=0.002-0.007$)。HLA-A 和 HLA-B 是 HLA- I 类分子中多态性表达程度最高的^[6]，在主要以恶性原发疾病患者为研究对象的大型回顾性研究中，与完全匹配患者相比，单个 HLA-A 和 HLA-B 不匹配的相对风险比分别为 1.17-2.20 和 1.16-1.90^[7]。因此，提高供患之间的 HLA- I 类尤其是 HLA-A 基因位点的相合很重要。

近些年，随着检测技术的提高和检测样本数量的增

加, 新等位基因不断被发现^[8-13], 有些原本被认为是罕见的等位基因经大量样本验证后, 已被确认为常见基因^[14]。截止 2020 年 4 月, 共发现 HLA-A 等位基因 6 082 个^[15]。HLA-A*24:353 等位基因于 2016 年由作者所在实验室首次发现, 该等位基因与 HLA-A*24:02:01:01 等位基因序列最相近, 其差异是在基因组 DNA nt1018 A>G 突变, 编码序列中位于第 6 外显子的第 316 密码子由 AAA 变成 GAA, 导致第 316 位氨基酸残基由赖氨酸 (Lys) 变成谷氨酸 (Glu), 该序列提交国际基因库 (GenBank 序列号: KX833882) 和 IMGT/HLA Database (HWS10026837), 并被 WHO HLA 系统因子命名委员会正式命名。该基因在 HLA 分子上的分布有待进一步研究。

按照国际上对 CWD 等位基因的定义^[16], 将 HLA 等位基因定义为 3 大类: 常见等位基因 (Common alleles)、确认等位基因 (Well-documented alleles)、罕见等位基因 (Rare alleles)。在参考群体中频率等于或大于 0.001 的等位基因, 为常见等位基因。HLA-A*24:353 因为发现时间较晚, 相关数据报道较少, 故暂被列为罕见等位基因。聚合酶链反应 - 直接测序分型检测方法是目前 HLA 高分辨分型的金标准^[17], 也是国内分型实验室的常用方法, 其局限在于模棱两可结果较多。第 2 代测序技术采用了大规模矩阵结构的微阵列分析技术, 将所有短的单体型 DNA 片段序列与数据库参考序列比对, 通过拟合计算, 拼接成完整的全长序列。该技术极大地降低了模棱两可的可能, 在临床、骨髓库及科研样本 HLA 分型的高通量测序中具有较好的应用前景和实用价值^[18-19]。作者所在实验室先利用聚合酶链反应 - 直接测序分型方法对 543 例临床移植配型供受者进行 HLA-A 位点的 2, 3, 4 外显子进行扩增测序, 再对 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果的样本增加检测第 6 外显子, 最后利用第 2 代测序技术对 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果进行全长序列测定, 以得到准确的分型结果。最终在 146 例模棱两可样本中检出 HLA-A*24:353 基因 5 例, 比例为 3.42%, 在 543 例检测人群中出现比例为 0.92%。这提示 HLA-A*24:353 在中国人群中并非罕见, 按 CWD 的定义应将其归入常见等位基因。

国内外大量研究表明, 异基因造血干细胞移植前人类白细胞抗原的高分辨组织配型有着非常重要的作用^[20-24], HLA 全相合造血干细胞移植对移植成功起着至关重要的作用。随着 HLA 新等位基因的不断发现, 产生模棱两可的结果也在增加。常规的聚合酶链反应 - 直接测序分型方法因为只检测 2, 3, 4 外显子, 不能对模棱两可结果进行准确判断, 当测序分型出现 HLA-A*24:02/24:353 模棱两可结果时, HLA-A*24:353 不能作为罕见等位基因被错误排除而直接判为 HLA-A*24:02, 需增加全长序列测定, 或用其他的分型方法做进一步检测, 以增加分型结果的准确性, 提高移植配型的成功率。

作者贡献: 通讯作者负责实验设计和审核, 第一作者进行实验操作、资料收集、数据整理和成文, 第二、三、四作者负责实验评估。

经费支持: 该文章没有接受任何经费支持。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

机构伦理问题: 该研究的实施符合深圳市血液中心伦理委员会的相关伦理要求。

知情同意问题: 参加实验的供者、患者均对实验过程完全知情同意。

写作指南: 该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名 - 非商业性使用 - 相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- GAO SQ, XU YP, HE LM, et al. The full length genomic sequence of a novel HLA-A*24 allele, HLA-A*24:353, identified in a patient with hepatitis B infection. *HLA*. 2017;89(5):304-305.
- MATTSSON J, RINGDÉN O, STORB R. Graft failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(1 Suppl 1):165-170.
- RUBINSTEIN P, CARRIER C, SCARADAVOU A, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med*. 1998;339(22):1565-1577.
- HURLEY CK, BAXTER LOWE LA, et al. National Marrow Donor Program HLA-matching guidelines for unrelated marrow transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003;9(10):610-615.
- MORISHIMA Y, SASAZUKI T, INOKO H, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood*. 2002;99(11):4200-4206.
- APPS R, MENG Z, DEL PRETE GQ, et al. Relative expression levels of the HLA class-I proteins in normal and HIV-infected cells. *J Immunol*. 2015;194(8):3594-3600.
- FÜRST D, NEUCHEL C, TSAMADOU C, et al. HLA Matching in Unrelated Stem Cell Transplantation up to Date. *Transfus Med Hemother*. 2019;46(5):326-336.
- 刘晓华, 迟晓云, 焦淑贤. 新等位基因 HLA-A*24:233 与 HLA-A*26:89 的分析确认 [J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(6):950-954.
- ULRICH S, POSCH U, HELMBERG W, et al. HLA-A*68:02:11, a new HLA-A*68 allele identified during family HLA typing. *HLA*. 2016;88(4):197-198.
- PARK Y, KIM H, IM J, et al. Identification of a novel allele, HLA-A*02:01:131, by full-length genomic sequencing. *HLA*. 2017;90(6):360-361.
- BALAS A, LÓPEZ-HERNÁNDEZ R, MORENO-HIDALGO MA, et al. Description of the new HLA-A*11:288 allele found in a healthy individual from the Canary Islands. *HLA*. 2018;92(4):239-240.
- KHOR SS, HITOMI Y, OMAE Y, et al. Detection of the novel HLA-A allele, HLA-A*02:01:01:58, in a Japanese individual. *HLA*. 2019;94(5):435-436.
- WANG F, WANG L, ZHANG W, et al. Identification of the novel HLA-A*02 allele, HLA-A*02:725. *HLA*. 2020;95(5):476-478.
- 鲍自谦, 王大明, 邓志辉, 等. 中国南方汉族人群中一个常见型新等位基因 HLA-C*08:22 的基因频率调查和分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(6):950-954.
- ROBINSON J, BARKER DJ, GEORGIU X, et al. IPD-IMGT/HLA Database. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(D1):D948-D955.
- MACK SJ, CANO P, HOLLENBACH JA, et al. Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue Antigens*. 2013;81(4):194-203.
- 安仕萍, 闫莉娜. 测序技术在人类白细胞抗原基因分型领域的应用进展 [J]. *医学综述*, 2007, 13(15):1189-1191.
- HOSOMICHI K, SHIINA T, TAJIMA A, et al. The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *J Hum Genet*. 2015;60(11):665-673.
- GOODWIN S, MCPHERSON JD, MCCOMBIE WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*. 2016;17(6):333-351.
- 张弦, 张艳玲, 王建玲, 等. HLA-A/B/C/DRB1/DQB1 对非血缘造血干细胞移植影响的分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(1):143-148.
- GLUCKMAN E, FUENTE J, CAPPELLI B, et al. The role of HLA matching in unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease in Europe. *Bone Marrow Transplant*. 2020. doi: 10.1038/s41409-020-0847-z. Online ahead of print.
- SABER W, OPIE S, RIZZO JD, et al. Outcomes after matched unrelated donor versus identical sibling hematopoietic cell transplantation in adults with acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2012;119(17):3908-3916.
- PETERSDORF EW, MALKKI M, HOROWITZ MM, et al. Mapping MHC haplotype effects in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2013; 121(10):1896-1905.
- ZHENG C, ZHU X, TANG B, et al. Comparative analysis of unrelated cord blood transplantation and HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation in children with high-risk or advanced acute leukemia. *Ann Hematol*. 2015;94(3):473-480.

(责任编辑: MZH, ZN, JY)