

GENOTYPING OF CLASS II HUMAN LEUKOCYTE ANTIGENS ON CHRONIC KIDNEY PATIENTS

Nguyen Van Huong¹, Nguyen Duy Thang², Phan Thi Thuy Hoa², Nguyen Van Son²,
Ngo Thi Minh Thu³, Vu Thi Thom⁴, Pham Tan Hung¹, Pham Huynh Loc^{3*}

¹Nguyen Tat Thanh University, ²Hue Central Hospital

³Duy Tan University, ⁴Can Tho Central General Hospital

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 21/8/2023	Human Leukocyte Antigen (HLA) is a marker used to diagnose patients with chronic renal failure. However, different groups of humans will have different groups of specific HLA alleles. The purpose of this study is to investigate the polymorphism of HLA class II in patients with chronic kidney disease in central Vietnam. Determining the importance of the research, we conducted a survey of personal characteristics and the influence of HLA class II polymorphisms on patients with chronic kidney failure using PCR-SSP technique and agarose gel electrophoresis. Chronic kidney had a high prevalence in the age group of 30 - 40, men (80%) and blood B (44%). The frequency of occurrence of alleles DRB1*04 (12%), DRB1*12 (40%), DRB1*15 (9%). In terms of sex, the DRB1 allele of females only appears in 2 alleles DRB1*10 (27.27%) and DRB1*12 (72.72%), while males have multiple phenotypes of allele DRB1. The DRB1*12 allele has an association between sex and patients with chronic kidney. The HLA-DRB1 polymorphism mainly occurs in the DRB1*12 alleles and there are differences between the sexes.
Revised: 28/9/2023	
Published: 28/9/2023	
KEYWORDS	
Alleles	
Chronic kidney	
DRB1	
HLA class II	
Polymorphism	

KHẢO SÁT GENOTYPE CỦA KHÁNG NGUYÊN BẠCH CẦU NGƯỜI LỚP II Ở BỆNH NHÂN SUY THẬN

Nguyễn Văn Hương¹, Nguyễn Duy Thăng², Phan Thị Thùy Hoa², Nguyễn Văn Sơn²,
Ngô Thị Minh Thu³, Vũ Thị Thom⁴, Phạm Tấn Hưng¹, Phạm Huỳnh Lộc^{3*}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, ²Bệnh viện Trung ương Huế

³Trường Đại học Duy Tân, ⁴Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 21/8/2023	Kháng nguyên bạch cầu người (HLA) là một dấu ấn sinh học dùng để chẩn đoán bệnh nhân suy thận mạn. Tuy nhiên, ở các nhóm người khác nhau sẽ có nhóm các alen HLA đặc hiệu khác nhau. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát tính đa hình của HLA lớp II ở bệnh nhân suy thận mạn khu vực miền Trung Việt Nam. Xác định được tầm quan trọng của đề tài, chúng tôi tiến hành khảo sát đặc điểm cá nhân và sự ảnh hưởng của tính đa hình HLA lớp II lên bệnh nhân suy thận mạn bằng kỹ thuật PCR-SSP và điện di trên gel agarose. Kết quả cho thấy tỷ lệ bệnh nhân suy thận mạn chiếm tỷ lệ cao ở độ tuổi 30 – 40, nam giới chiếm 80% và nhóm máu B chiếm 44%. Tần suất xuất hiện các alen DRB1*04 (12%), DRB1*12 (40%), DRB1*15 (9%). Xét theo giới tính, alen DRB1 của nữ chỉ xuất hiện ở 2 alen DRB1*10 (27,27%) và DRB1*12 (72,72%), trong khi đó nam giới xuất hiện nhiều kiểu hình alen DRB1. Alen DRB1*12 có mối liên quan giữa giới tính và bệnh nhân suy thận. Từ đó cho thấy, alen DRB1*12 xuất hiện chủ yếu ở bệnh nhân suy thận mạn và có sự khác nhau giữa hai giới tính.
Ngày hoàn thiện: 28/9/2023	
Ngày đăng: 28/9/2023	
TỪ KHÓA	
Alen	
Suy thận mạn	
DRB1	
HLA lớp II	
Đa hình	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.8602>

* Corresponding author. Email: bs.huynhloc@gmail.com

1. Giới thiệu

Số lượng bệnh nhân mắc bệnh thận mạn tính trên toàn cầu là 752,7 triệu người và đã trở thành một gánh nặng sức khỏe và kinh tế lên toàn cầu [1]. Các phác đồ điều trị chủ yếu là duy trì, lọc máu và ghép thận. Đây là những liệu pháp điều trị lâu dài dẫn đến nhiều gánh nặng cho bệnh nhân và gia đình. Gánh nặng về suy thận mạn được dự báo sẽ không ngừng gia tăng trong 10 năm tới [2]. Giải thích cho tình trạng này là do sự chậm trễ trong việc chẩn đoán. Sự tiến triển của bệnh không có tín hiệu dự báo sớm và không có phác đồ điều trị dự phòng nào đặc hiệu.

Phức hợp kháng nguyên bạch cầu ở người (Human Leucocyte Antigen, HLA) là một cụm gen đa hình với một số alen đa dạng trong hệ gen, phức hợp này có vai trò quan trọng trong hệ miễn dịch cũng như tương tác ở cấp độ tế bào. Mối liên quan giữa các alen HLA và các bệnh lý thận đã được đề cập từ 50 năm trước [3]. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra các loại alen HLA loại I và II được coi là yếu tố bảo vệ và phát hiện sớm của bệnh. Cụ thể nhất ở vị trí đoạn ngắn của nhiễm sắc thể số 6 có các gen HLA kích thích cơ thể nhận đáp ứng miễn dịch thải bỏ mô ghép [4] và HLA-28, B18, DR11 là yếu tố hạn chế sự phát triển của bệnh thận giai đoạn cuối [5].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh về các mối liên quan HLA class II và bệnh thận mạn giai đoạn cuối. Phân tích hồi quy được sử dụng để so sánh 362 genotype HLA với độ lọc cầu thận ước tính (eGFR) là hai giá trị chính dùng trong kết luận lâm sàng và có 22 genotype HLA có liên quan đến tăng độ lọc cầu thận và chức năng thận [6], [7]. Độ lọc cầu thận giảm làm suy giảm chức năng thận có liên quan đến 11 genotype HLA, 7 genotype; trong số đó cũng liên quan đến tăng nguy cơ mắc bệnh thận giai đoạn cuối hoặc bệnh thận mãn tính. Nhiều genotype HLA trong số này thường được di truyền cùng các haplotypes như DRB1*03:01, DQB1*02:01. Các haplotype này có tần suất xuất hiện là 9,5% ở Anh và mỗi alen có tác động đến quá trình suy giảm chức năng thận [6]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành điều tra khảo sát đặc điểm cá nhân và sự ảnh hưởng của tính đa hình HLA lớp II lên bệnh nhân suy thận mạn tại khu vực miền Trung Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Bệnh nhân

Nghiên cứu được thực hiện trên hồ sơ kết quả xét nghiệm của 50 bệnh nhân suy thận mạn tại Bệnh viện Trung ương Huế. Nhóm đối chứng sử dụng 50 người của tác giả Nguyễn Văn Sơn nghiên cứu về HLA ở bệnh nhân suy thận tại Bệnh viện Trung ương Huế năm 2018 [7]. Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Y đức của bệnh viện và sự đồng ý của tất cả đối tượng tham gia nghiên cứu.

2.2. Xác định HLA bằng kỹ thuật PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers) và điện di trên gel agarose

Tách DNA tinh khiết từ tế bào máu ngoại vi của bệnh nhân: Phối trộn hỗn hợp gồm 200 µl mẫu máu toàn phần đã vortex, 20 µl proteinase K và 200 µl lysis buffer ủ trong 10 phút ở 56°C sau đó bổ sung 200 µl Ethanol tuyệt đối. Mẫu thu được làm sạch 2 lần bằng wash buffer 1, wash buffer 2 và được ủ với 200µl buffer elution ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Sau khi thu mẫu, bảo quản ở -20°C rồi tiến hành kiểm tra nồng độ và tinh sạch của DNA sau tách chiết.

Định typ HLA bằng kỹ thuật PCR-SSP: Cho iTaq DNA Polymerase vào tube Master Buffer vortex. Cho hỗn hợp vào giếng 1A làm giếng chứng. Giếng mẫu (1H) chứa nước cất vô trùng mẫu DNA, Master Buffer và iTaq DNA Polymerase. Thêm 200 µl DNA cho vào tube Master Buffer có iTaq DNA Polymerase (tube đã hút 10 µl), vortex trộn đều mẫu. Các giếng còn lại được cho mẫu vào và dùng PCR Cover Membranes đậy Trays lại và cho chạy chương trình luân nhiệt HLA-SSP và bảo quản trong máy ở 4°C. Mẫu được chạy điện di, đọc bằng máy Dolphin – View và sử dụng phần mềm TBG SSPal Ver 2.5 để diễn giải kết quả.

2.3. Phân tích thống kê

Các kết quả thu được được mã hóa và lưu trữ bằng phần mềm Excel 365 và phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS với khoảng tin cậy (CI) 95% và mức so sánh có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ ở kiểm định χ^2 -test.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Độ tuổi và giới tính ảnh hưởng đến bệnh nhân suy thận mạn

Bệnh nhân suy thận mạn tính đang có xu hướng gia tăng và ngày càng trẻ hóa, đặc biệt ở các nước đang phát triển. Trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát độ tuổi và giới tính của 50 bệnh nhân suy thận mạn đang nhập viện tại bệnh viện và kết quả thu được ở Bảng 1.

Bảng 1. Độ tuổi và giới tính của bệnh nhân suy thận

Tuổi	Tổng số bệnh nhân		Bệnh nhân nam		Bệnh nhân nữ	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
≤ 20	2	4,0	2	5,0	0	-
(20 – 30]	9	18,0	8	20,0	1	10,0
(30 – 40]	15	30,0	11	27,5	4	40,0
(40 – 50]	10	20,0	6	15,0	4	40,0
(50 – 60]	10	20,0	9	22,5	1	10,0
>60	4	8,0	4	10,0	0	-

Tỷ lệ bệnh nhân suy thận mạn chủ yếu tập trung ở độ tuổi 20 - 60, trong đó độ tuổi 30 – 40 chiếm tỷ lệ cao nhất là 30% ($p < 0,05$). Tỷ lệ mắc bệnh ở nam cao hơn so với ở nữ (nam: 80%, nữ: 20%, $p < 0,05$).

Theo một nghiên cứu ở Yemeni cho thấy, tỷ lệ bệnh nhân suy thận ở nam giới cao hơn nữ (nam: 66,3% và nữ: 33,7%), ở độ tuổi từ 21 - 35 chiếm tỷ lệ cao nhất (49,7%) [8]. Năm 2015, Đài Loan công bố tỷ lệ bệnh nhân nam suy thận giai đoạn cuối (56,7%) cao hơn so với giới nữ [9]. Saudi Arabian cũng công bố tỷ lệ bệnh nam/ nữ suy thận mạn tại đây là 226/124 [10]. Nguyễn Văn Hương và cộng sự (2021) khảo sát nhóm người suy thận mạn ở khu vực miền Trung Việt Nam cũng cho kết quả tương tự [11]. Tỷ lệ mắc bệnh thận cao ở nam giới có thể do sự khác biệt về mặt sinh lý giới tính cũng như tính nhạy cảm cao hơn của nam giới với chứng tăng huyết áp, dễ dẫn tới suy thận [8].

3.2. Nhóm máu ảnh hưởng đến bệnh nhân suy thận

Nhóm máu có vai trò quyết định trong các chỉ định ghép thận, phương pháp điều trị được lựa chọn cho bệnh thận giai đoạn cuối [12]. Hiện nay chưa có báo cáo chính thức nào nói về mối liên quan giữa nhóm máu và suy thận mạn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tỷ lệ bệnh nhân suy thận ở 4 nhóm máu, kết quả thu được ở Bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm nhóm máu của bệnh nhân suy thận và nhóm chứng

Nhóm máu	Bệnh nhân suy thận						Nhóm chứng					
	Nam		Nữ		Tổng		Nam		Nữ		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
A	5	12,5	2	20,0	7	14,0	3	6,1	-	-	3	6,0
B	18	45,0	4	40,0	22	44,0	16	32,7	-	-	16	32,0
AB	1	2,5	2	20,0	3	6,0	2	4,1	-	-	2	4,0
O	16	40,0	2	20,0	18	36,0	28	57,1	1	100,0	29	58,0

Nhóm máu B và O của bệnh nhân suy thận chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 44% và 36%. Nhóm AB chiếm tỷ lệ thấp nhất (6%) ở nhóm suy thận. Ở nữ bệnh nhân suy thận, nhóm máu B chiếm tỷ lệ cao nhất (40%) và không có sự khác biệt giữa tỷ lệ các nhóm máu A, AB và O. Trong khi đó, nam bệnh nhân suy thận chủ yếu thuộc nhóm máu B (45%) và O (40%). Năm 2020, khảo sát

nhóm máu trên bệnh nhân suy thận mạn tại 26 bệnh viện trên địa bàn Hà Nội cho thấy nhóm máu O chiếm tỷ lệ cao nhất (43%) ở nhóm bệnh này [13].

3.3. Tần suất xuất hiện của các alen HLA-DRB1

Alen HLA-D thuộc nhóm HLA lớp II, cụ thể là HLA-DRB1, HLA-DQA1/ DQB1 và HLA-DPB1. Đây là một trong những yếu tố di truyền được quan tâm trong việc đánh giá sự tương hợp mô ghép trong những bệnh nhân suy thận mạn cần ghép thận. Để phát hiện những alen HLA-D phổ biến trên bệnh nhân suy thận mạn, chúng tôi tiến hành phân tích thống kê tần suất xuất hiện của 50 bệnh nhân, kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Kết quả phân tích tần suất xuất hiện của các alen HLA-D trong nghiên cứu này cho thấy các alen DRB1 xuất hiện nhiều ở bệnh nhân suy thận là DRB1*04, DRB1*12 và DRB1*15, trong đó alen DRB1*12 có tần suất xuất hiện cao nhất (40%). Alen DRB1*11, DRB1*13 và DRB1*16 có tần số xuất hiện rất ít. Trong khi đó, ở nhóm người khỏe mạnh, các alen DRB1*07, DRB1*08 và DRB1*16 chiếm tỷ lệ cao lần lượt là 16%, 14% và 11%. Bên cạnh đó, ba alen DRB1*07, DRB1*12 và DRB1*16 có mối liên quan đến bệnh nhân suy thận mạn ở khu vực miền Trung.

Một nghiên cứu tại Đài Loan cho thấy, ở bệnh nhân suy thận mạn có biểu hiện kiểu hình chủ yếu ở bốn alen DRB1*11 (21,3%), DRB1*03 (24,8%), DRB1*04 (34%) và DRB1*9 (44%). Một nghiên cứu khác tại Pakistan đã cho thấy các gen DRB 11 và 4 chiếm tỷ lệ cao và có mối liên quan đến khả năng ngăn chặn quá trình suy thận ở bệnh nhân [7].

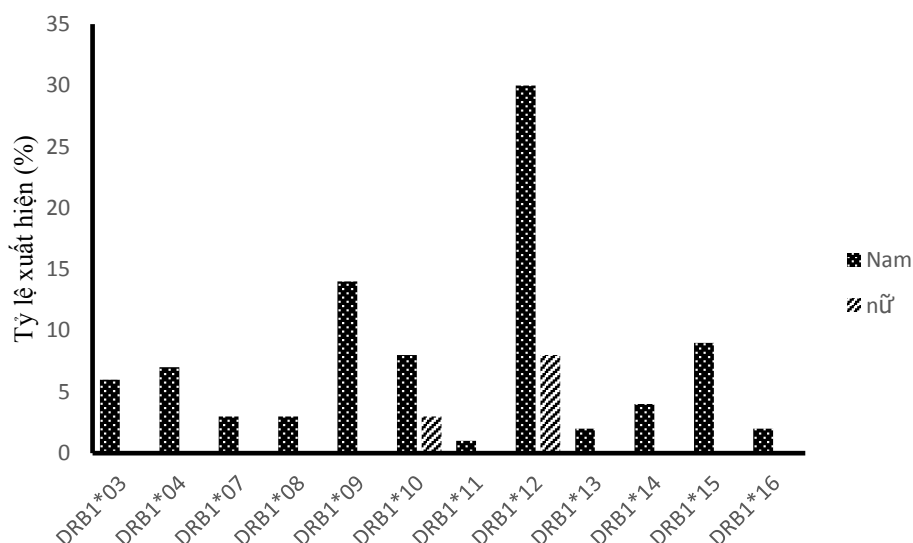
Bảng 3. Tần suất xuất hiện của các alen HLA-DRB1 ($P < 0,05$)

HLA-DRB1	Nhóm bệnh nhân		Nhóm chứng		Tổng		P < 0,05	OR (95% CI)
	n	%	n	%	n	%		
DRB1*03	6	6,0	9	9,0	15	7,5	0,59	0,64[0,22-1,88]
DRB1*04	12	12,0	7	7,0	19	9,5	0,33	1,81[0,68-4,81]
DRB1*07	3	3,0	16	16,0	19	9,5	0,01	0,16[0,04-0,57]
DRB1*08	6	6,0	14	14,0	20	10,0	0,10	0,39[0,14-1,06]
DRB1*09	8	8,0	6	6,0	14	7,0	0,78	1,36[0,45-4,07]
DRB1*10	7	7,0	8	8,0	15	7,5	1,00	0,86[0,30-2,48]
DRB1*11	1	1,0	4	4,0	5	2,5	0,37	0,24[0,02-2,20]
DRB1*12	40	40,0	8	8,0	48	24,0	0,01	7,66[3,35-17,5]
DRB1*13	2	2,0	6	6,0	8	4,0	0,28	0,31[0,06-1,62]
DRB1*14	4	4,0	8	8,0	12	6,0	0,37	0,47[0,13-1,64]
DRB1*15	9	9,0	3	3,0	12	6,0	0,13	3,19[0,83-12,1]
DRB1*16	2	2,0	11	11,0	13	6,5	0,02	0,16[0,03-0,76]

3.4. Mối tương quan giữa HLA lớp II với giới tính của bệnh nhân suy thận

Các alen HLA có mối liên quan đến các kiểu hình của nhiều loại bệnh khác nhau. Tần suất xuất hiện các kiểu hình này không chỉ phụ thuộc loại bệnh mà còn phụ thuộc vào giới tính của người bệnh. Để chứng minh giả thuyết này, chúng tôi tiến hành phân tích mối liên quan giữa tần suất xuất hiện kiểu hình và giới tính thu được kết quả như Hình 1.

Sử dụng kiểm định χ^2 -test với mức ý nghĩa $p < 0,05$, từ kết quả Hình 1 cho thấy tần suất xuất hiện của các alen HLA-DRB1 có sự khác nhau ở nam và nữ. Ở bệnh nhân nữ chỉ xuất hiện 2 alen DRB1*10 và DRB1*12. Tần suất xuất hiện DRB1*10 ở bệnh nhân nam và nữ khác nhau không có ý nghĩa thống kê (nam: 8%, nữ: 3%, $p > 0,05$). Trong khi đó, alen DRB1*12 chủ yếu xuất hiện ở bệnh nhân nam và cao gấp 3,75 lần so với bệnh nhân nữ (nam: 30%, nữ: 8%, $p < 0,05$). Kết quả này khác với nghiên cứu của Liu tại phía Tây Trung Quốc khi tần suất DRB*1 của nhóm bệnh nhân nữ chủ yếu là DRB1*3 và có tỷ lệ nhạy cao hơn [14]. Năm 2020, Noureen đã chỉ ra một số liên kết đặc biệt giữa suy thận mạn và các alen HLA lớp II như HLA-DRB1*3, *4, *11 [7]. Tuy nhiên, kết quả ở hình 1 lại cho thấy tần suất xuất hiện của các alen phụ thuộc vào giới tính, sự xuất hiện của các alen là khác nhau đối với từng giới sẽ khác nhau. Các alen chiếm tỷ lệ cao nhất bao gồm DRB1*09, DRB1*10, DRB1*12 và hầu hết các alen đều chỉ xuất hiện ở giới tính nam.



Hình 1. Biểu đồ tỷ lệ tần suất xuất hiện alen HLA-DRB1 theo giới tính

4. Kết luận

Suy thận mạn chiếm tỷ lệ cao ở độ tuổi 30 – 40, giới tính nam chiếm 80% và nhóm máu B chiếm 44%. Tần suất xuất hiện các alen trên locus HLA-DRB1 ở bệnh nhân suy thận mạn chủ yếu là DRB1*04, DRB1*12, DRB1*15. Ở bệnh nhân nữ chỉ xuất hiện hai alen DRB1*10 và DRB1*12. Ở nam bệnh nhân, các alen DRB1*09, DRB1*12, DRB1*15 chiếm tỷ lệ cao. Alen DRB1*12 có mối liên quan với bệnh suy thận mạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] B. Bikbov, N. Perico, and G. Remuzzi, "Disparities in Chronic Kidney Disease Prevalence among Males and Females in 195 Countries: Analysis of the Global Burden of Disease 2016 Study," *Nephron*, vol. 139, no. 4, pp. 313-318, 2018, doi: 10.1159/000489897.
- [2] K. P. McCullough, H. Morgenstern, R. Saran, W. H. Herman, and B. M. Robinson, "Projecting ESRD Incidence and Prevalence in the United States through 2030," *J Am Soc Nephrol*, vol. 30, no. 1, pp. 127-135, Jan 2019, doi: 10.1681/asn.2018050531.
- [3] K. J. Robson, J. D. Ooi, S. R. Holdsworth, J. Rossjohn, and A. R. Kitching, "HLA and kidney disease: from associations to mechanisms," *Nat Rev Nephrol*, vol. 14, no. 10, pp. 636-655, Oct. 2018, doi: 10.1038/s41581-018-0057-8.
- [4] A. J. T. George, M. A. Ritter, and R. I. Lechler, "Disease susceptibility, transplantation and the MHC," *Immunology Today*, vol. 16, no. 5, pp. 209-211, 1995, doi: [10.1016/0167-5699\(95\)80158-8](https://doi.org/10.1016/0167-5699(95)80158-8).
- [5] E. Lindholm *et al.*, "The -374 T/A polymorphism in the gene encoding RAGE is associated with diabetic nephropathy and retinopathy in type 1 diabetic patients," *Diabetologia*, vol. 49, no. 11, pp. 2745-2755, Nov. 2006, doi: 10.1007/s00125-006-0412-3.
- [6] M. Lowe *et al.*, "Associations between human leukocyte antigens and renal function," *Scientific Reports*, vol. 11, no. 1, p. 3158, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-82361-7.
- [7] N. Noureen *et al.*, "Revisiting the association between human leukocyte antigen and end-stage renal disease," *PLoS One*, vol. 15, no. 9, 2020, Art. no. e0238878, doi: 10.1371/journal.pone.0238878.
- [8] M. Y. Nassar, H. A. Al-Shamahy, A. S. Al-Samawi, N. W. Abu Asba, I. H. El-Nono, and H. A. Masood, "Human Leukocyte Antigen Class I and II Variants in Yemeni Patients with Chronic Renal Failure," *Iran J Immunol*, vol. 14, no. 3, pp. 240-249, Sep. 2017.
- [9] C. S. Dai, C. C. Chu, S. F. Chen, C. Y. Sun, M. Lin, and C. C. Lee, "Association between human leucocyte antigen subtypes and risk of end stage renal disease in Taiwanese: a retrospective study," *BMC Nephrol*, vol. 16, p. 177, 2015, doi: 10.1186/s12882-015-0165-7.

-
- [10] N. M. Hamdi, F. H. Al-Hababi, and A. E. Eid, "HLA class I and class II associations with ESRD in Saudi Arabian population," *PLoS One*, vol. 9, no. 11, 2014, Art. no. e111403, doi: 10.1371/journal.pone.0111403.
- [11] V. H. Nguyen, N. D. Thang, T. T. H. Phan, V. S. Nguyen, T. M. T. Ngo, K. T. Nguyen, T. N. Y. Nguyen, and N. H. Nguyen, "Human leukocyte antigens class i (hla-i) polymorphism on chronic kidney patients," *Vietnam Journal of Biotechnology*, vol. 2, pp. 361-366, 2021.
- [12] C. Barlassina, C. Lanzani, P. Manunta, and G. Bianchi, "Genetics of essential hypertension: from families to genes," *J Am Soc Nephrol*, vol. 13, Suppl. 3, pp. S155-164, Nov. 2002, doi: 10.1097/01.asn.0000032524.13069.88.
- [13] G. Hoang, H. S. Trinh, T. K. N. Le, T. H. Ngo, T. H. V. Vu, D. H. Tran, D. H. Nguyen, V. T. Hoang, T. A. Tran, V. T. Nguyen, T. D. Nguyen, T. N. Vu, H. S. Nguyen, and T. C. Ha, "Characteristics of the patient with hemodialysis from 26 hospitals in Hanoi by 2020," *Viet Nam Journal of Science and Technology*, vol. 63, no. 5, pp. 17-21, 2021.
- [14] X. Liu *et al.*, "HLA-DRB1*03:01 is associated with female sex and younger age of anti-LGI1 encephalitis," *Eur J Neurol*, vol. 29, no. 8, pp. 2367-2375, Aug. 2022, doi: 10.1111/ene.15376.