

# 造血干细胞向红系发育的分子调控机制

张璇<sup>1</sup> 王万莹<sup>2</sup> 吕涛<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>昆明理工大学医学院, 昆明 650500; <sup>2</sup>昆明理工大学灵长类转化医学研究院, 昆明 650504;

<sup>3</sup>云南省第一人民医院医学遗传科, 昆明 650032)

**摘要** 造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)向红细胞(red blood cell, RBC)的分化是一个精确又复杂的过程, 从谱系决定到终末分化以及去核、去细胞器的过程都受到了严格的调控。红细胞生成障碍会导致各种疾病, 治疗这些疾病的关键是阐明红系发育中的调控机制。该综述主要总结了近年来在分子水平上的调控因素研究, 包括对转录和转录后以及翻译和翻译后的调节, 以求完善红系分化调控网络, 对了解红细胞发育异常疾病的发病机制以及寻求新的治疗手段有重要意义。

**关键词** 造血干细胞; 红细胞生成; 红细胞; 分子调控

## Molecular Mechanism Regulating the Development of Hematopoietic Stem Cell to the Erythroid System

ZHANG Xuan<sup>1</sup>, WANG Wanying<sup>2</sup>, LÜ Tao<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Medical Faculty, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

<sup>2</sup>Institute of Primate Translational Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650504, China;

<sup>3</sup>Department of Medical Genetics, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

**Abstract** The differentiation of HSC (hematopoietic stem cell) into RBC (red blood cell) is a precise and complex process, which is tightly regulated from lineage determination to terminal differentiation, enucleation and organelle clearance. The disorders of red blood cell production can lead to various diseases. The key to treating these diseases is to clarify the exact regulation mechanism of erythroid development. This review mainly summarizes the recent research on the regulatory factors at the molecular level, including the regulation of transcription, post-transcription, translation and post-translation. It will help to improve the regulatory network of erythroid differentiation, understand the pathogenesis of erythrocyte dysplasia and find new treatment strategy.

**Keywords** hematopoietic stem cell; erythropoiesis; red blood cell; molecular regulation

造血系统的发育依赖于造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC), HSC同时具有自我更新能力和分化的全能性。后者会在不断的分化过程中逐渐降低, 最后随着谱系定向分化成具有特定功能的成熟细胞, 包括最终进入血循环的红细胞。红细胞生成的过程复杂而精确, 每一阶段的调控都必须保证十分

精准, 否则可能会导致各种疾病, 如各类贫血、红细胞增多症等。深入了解红系分化各阶段的调控因素, 将有利于了解红细胞发育异常疾病的发病机制, 以及寻求新的治疗靶点等。因此, 本文将对造血干细胞向红系发育过程中各阶段的分子调控机制进行综述。

收稿日期: 2021-06-08

接受日期: 2021-09-22

国家自然科学基金(批准号: 81660022)和云南省医学后备人才培养项目(批准号: H-2017008)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15812084939, E-mail: taolv851109@126.com

Received: June 8, 2021

Accepted: September 22, 2021

This work was supported by the the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81660022) and the Medical Reserve Talents of Yunnan Province (Grant No.H-2017008)

\*Corresponding author. Tel: +86-15812084939, E-mail: taolv851109@126.com

## 1 造血干细胞与红细胞生成

造血干细胞是造血系统最为初始的干细胞, 具有自我复制能力的同时拥有分化的全能性。在造血过程中, 造血干细胞会经历连续的对称和不对称分裂, 以产生谱系定向的祖细胞。当干细胞分化为各谱系具有特定功能的成熟血细胞时, 细胞的分化潜能不断降低, 每一阶段的分化都依赖于不同的调控机制。

红细胞生成是指HSC经历不同的功能和形态阶段来进行增殖和分化以产生网织红细胞直至成熟的过程(图1)。这个多步骤的过程始于HSC分化为多能祖细胞(multipotent progenitor, MPP)、髓系共同祖细胞(common myeloid progenitor, CMP), 继而产生巨核-红系祖细胞(megakaryocyte erythroid progenitor, MEP)和红系祖细胞。原始的红系祖细胞称为红系爆发集落形成单位(burst-forming unit erythroid, BFU-E), 然后进一步分化为红系集落形成细胞(colony-forming unit erythroid, CFU-E), 这是红系的早期分化。接着, 红细胞成熟包括四个逐渐分化的终末阶段, 依次产生不同的红系前体细胞, 包括原成红细胞(proerythroblast, ProE)、嗜碱性红细胞(basophilic erythroblast, BasoE)、嗜多染红细胞(polychromatic erythroblast, PolyE)和正染红细胞(orthochromatic erythroblast, OrthoE)。为了完全成熟, 正染红细胞挤出它们的细胞核和细胞器后, 成为网织红细胞(reticulocyte, Retic), 随即在失去核糖体后彻底成熟为RBC进入血液循环系统。

## 2 红细胞生成的转录调控

### 2.1 转录因子对红细胞生成的调控

HSC向成熟红细胞的发育在转录水平上主要受转录因子的调控, 这些转录因子协调着一个转录网络, 部分在具有不同分化潜能的分支点影响着其谱系的决定, 也有部分关键的转录因子启动谱系特异基因的表达。

GATA转录因子是锌指DNA结合蛋白, 在GATA家族蛋白中, GATA-2和GATA-1转录因子是造血发育所必需的, 它们识别相似的GATA DNA基因序列。许多病症如贫血、免疫缺陷、骨髓增生异常综合征、白血病等的引发原因都包含GATA因子活性或表达失调, 其中GATA-1的突变会引起Diamond-Blackfan贫血(DBA)。GATA-2在造血早期对造血干祖细胞(hematopoietic stem progenitor cell, HSPC)发挥维持和促增殖作用, GATA-1是诱导红细胞成熟所需基因程序转录所必需的主要转录因子, 控制着一系列红系基因的表达从而控制重要蛋白的生成, 包括促红细胞生成素受体、珠蛋白以及几种膜蛋白。在红系定向分化期间诱导GATA-1表达时, GATA-1取代GATA-2结合位点, 导致转录受到抑制, GATA因子转换对于红系细胞的存活和终末分化必不可少<sup>[1]</sup>。

Krüppel样因子1(Krüppel-like factor 1, KLF1)又称红系EKLF, 是一种控制红系定向分化的主要转录因子, 也调节胎儿血红蛋白和成人血红蛋白间的表达转换。敲除小鼠中的*KLF1*基因会导致其严重的 $\beta$ -地中海贫血或胚胎致死, 部分成因是 $\beta$ -珠蛋

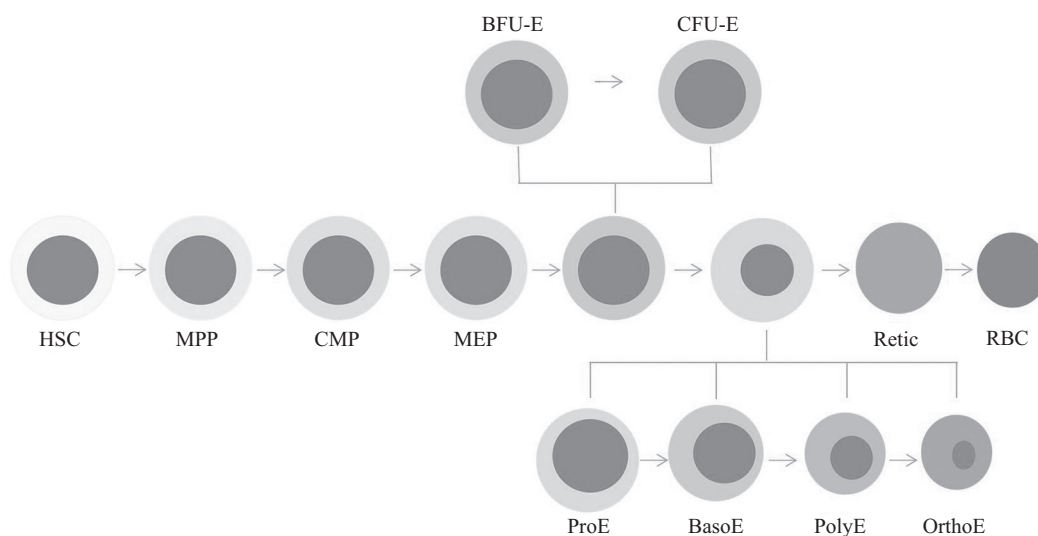


图1 造血干细胞向红系分化的过程

Fig.1 The differentiation of hematopoietic stem cells into the erythroid system

白的表达缺陷最终导致红细胞生成缺陷<sup>[2]</sup>。HSC中最初不含EKLf, EKLf的表达量是随着细胞的成熟而选择性地增加的。在MEP阶段, EKLf起双重作用, 在促进红系谱系定向的同时抑制向巨核细胞的分化<sup>[3]</sup>。EKLf通过激活E2F2(E2F transcription factor 2)控制细胞从G<sub>1</sub>期到S期的进程, E2F2的表达不足会限制红系前体的分化, 使细胞提早退出细胞周期并导致红系祖细胞的大量积累。在小鼠细胞中, E2F2对终末期红细胞生成过程的诱导作用也受到细胞周期调控和基因表达所必需的关键辅助因子Tfdp2的调控<sup>[4]</sup>。GNANAPRAGASAM等<sup>[5]</sup>在小鼠中研究发现, 除了E2F2外, EKLf还通过激活在终末分化后期起作用的新靶点细胞周期蛋白p18(cyclin-dependent kinase inhibitor 2C, Cdkn2C)和细胞周期蛋白p27(cyclin dependent kinase inhibitor 1B, Cdkn1B)来促进细胞退出细胞周期和去核。

除了以上两种红系核心转录因子对红系起正向调控作用外, 还有FOXO3(forkhead box O3)、SCL/TAL1(T cell acute leukemia 1, 下称TAL1)、Sox6(sex-determining region Y -box 6)和Bach等。FOXO3高度保守, 在红系成熟过程中由GATA-1诱导, 其在体外培养红系细胞中受促红细胞生成素受体(erythropoietin receptor, EPOR)信号调节。在红系成熟的早期阶段, FOXO3调节细胞周期, 在后期阶段, FOXO3通过控制相关基因的表达, 调节ROS免受自由基伤害, 以及对去核和线粒体清除起关键作用<sup>[6]</sup>。TAL1是bHLH转录因子家族的成员, 缺失TAL1的小鼠会患上严重的贫血, 缺失TAL1的胚胎干细胞在体外不能产生原始造血和永久造血的红系细胞<sup>[7-8]</sup>。Sox6在小鼠体内促进成红细胞和网织红细胞的成熟, 确保了红细胞骨架的长期稳定性<sup>[9]</sup>。KATO等<sup>[10]</sup>构建了*Bach1*和*Bach2*双敲除小鼠模型, 研究发现, *Bach1*和*Bach2*通过调节红系细胞中的血红素代谢来维持红细胞成熟, 同时抑制HSPC向粒细胞分化, 促进红系分化从而诱导红细胞生成, 这种调节的紊乱可能导致感染性贫血和骨髓异常增生综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)的发生, 所以Bach或可以作为MDS的治疗靶点, 通过抑制向粒细胞的分化来改善贫血。

PU.1是一种ETS家族转录因子, 促进红系祖细胞的增殖但抑制红系的终末分化, 在红系成熟的后期会随着GATA因子转换而降低水平。PU.1在特定

造血细胞中的不当表达可导致白血病T细胞淋巴瘤、急性髓系白血病和红白血病等<sup>[11]</sup>。RUNX1作用于*PU.1*基因上游调控元件(upstream regulatory element, URE)上, 强制表达RUNX1和PU.1会阻断红系终末分化并导致红系祖细胞无限扩增, RUNX1和PU.1或可用于输血和其他治疗用途。但长期的细胞增殖需要刺激性细胞因子, SCF和IGF1可能与PU.1具有互补功能<sup>[12]</sup>。PU.1受到转录因子Zfp148(ZBP-89)的抑制, 同时其也是TAL1和GATA-1的激活子, 在小鼠的造血系统内抑制Zfp148会轻度损害红细胞成熟<sup>[13]</sup>。在小鼠中条件性敲除*Zfp281*(ZBP-99)会导致轻度红系发育, 与Zfp148作用相似, 但两者同时缺失会导致明显的红系成熟阻滞<sup>[14]</sup>。

FOXO3对红细胞生成的重要性已经被阐明, 未来的研究可能会侧重于揭示FOXO功能失调导致血液疾病的机制, 如对血红素的影响等, 以及探究FOXO保护HSC免受年龄相关损伤的程序和FOXO与年龄相关的改变, 为治疗老年人血液疾病提供相关的参考。现今关于GATA转录因子在人类血液病中的作用方面已取得不错进展, 人们已发现多种血液病中均存在GATA-1和GATA-2功能障碍, 其主要表现为红系生成受阻, 但还需开展进一步的临床前研究, 再结合对临床样本的广泛分析, 以助于对各种血液疾病的分子基础产生新见解从而发展靶向治疗。在人类中与EKLf突变的疾病, 如IV型先天性红细胞生成异常性贫血、慢性非球形红细胞溶血性贫血和胎儿水肿, 这些疾病患者的外周血中都存在异常高水平的有核甚至双核红细胞。在这些情况下, 监测和提升终末期红系细胞的EKLf水平或介导细胞周期退出以提高去核效率, 可能有助于达到治疗目标。

## 2.2 转录因子间的相互作用

不同转录因子不仅各自发挥作用, 也存在相互作用。大多数转录因子与GATA-1相互作用, 如在LDB1复合体中, GATA-1与TAL1协同作用, 联合调节红系分化。该复合体的核心亚单位包括LDB1、LMO2、GATA-1、TAL1和E2A, 其中GATA-1靶向DNA上的WGATAR位点, 而TAL1/E2A异源二聚体靶向E-box位点, 两者由LMO2-LDB1复合物相连接, 可能通过TAL1/E2A和GATA-1直接结合, 也可能通过LDB1桥接TAL1/E2A和GATA-1。但LDB1复合体在不同造血阶段的精确亚基组成和结合位点还未被



确定。该复合体存在于许多红系特异性靶基因的调控区, 其中包括EKLf, LBD1复合物结合位点经常与EKLf在红系基因和顺式调控元件上共定位, 存在功能协同作用<sup>[15]</sup>。

FOG1(friend of GATA-1)对于GATA-1也必不可少, 同样结合在GATA-1的N-端锌指结构, 增强GATA-1靶基因的正确转录激活和抑制。如通过抑制PU.1的表达, 诱导细胞向红系而不是向淋系分化<sup>[16]</sup>。GATA-1 FOG1复合物的组成和浓度的变化驱动促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)的成熟, EPO控制着红细胞前体的增殖和存活<sup>[17]</sup>。

在小鼠红祖细胞的发育中上调PU.1的表达会抑制红系转录程序, 这一作用除了来源于与GATA-1抑制彼此的转录激活和谱系指定外, 还与其与EKLf和TAL1的邻近区域结合从而抑制核心红系转录网络有关<sup>[18]</sup>。

转录因子间的相互作用复杂而重要, 对此的研究有助于更好地理解红细胞发育的进程, 以寻找血液疾病的病因和发现新的潜在治疗靶点(图2)。大多数DNA结合的GATA-1和TAL1蛋白都包含在LDB1高阶复合物中, LDB1复合物调控红系基因包括KLF1的激活。但LDB1复合物是否是形成红系转录相互作用所必需的, 以及其介导的关联是静态的还是动态的、瞬时的还不清楚。另外, 现在只确定了部分红系LDB1复合体的核心亚单位, 且LDB1复合体的组成也可能会发生改变, 确定LDB1复合物在不同造血阶段的精确亚基组成和结合位点可能是未来研究的重中之重。

### 2.3 表观遗传调控

转录调控还包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑等。DNA甲基化是由3种不同的DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)催化的表观遗传修饰, DNMT1是维持酶, 受到抑制会导致被动去甲基化, 而DNMT3a和DNMT3b与从头开始的甲基化有关。PAPAGEORGIU等<sup>[19]</sup>使用生物素标记法在小鼠红白血病细胞中研究发现, DNMT1作为Zfp148和GATA-1的共同抑制因子通过PU.1和GATA-1基因位点的上游调控元件发挥作用。DNMT3a和DNMT3b一般影响造血干细胞的自我更新和分化能力, 在小鼠的造血系统内条件性敲除DNMT3a会损害HSC的分化能力, 导致HSC大量积累, 在小鼠HSC中DNMT3a和DNMT3b的同时缺失不影响其分化能力但会降低HSC自我更新能力<sup>[20-21]</sup>。激活诱导型胞苷脱氨酶(activation-induced cytidine deaminase, AID)和TET家族成员均可调节DNA去甲基化, 在小鼠和人骨髓细胞中缺失AID会导致红系祖细胞的减少和GATA-1的异常表达, 缺失TET2会增强HSC的增殖分化能力<sup>[22]</sup>。除此以外, 有研究发现, EKLf的启动子甲基化对EKLf的表达具有抑制作用, 在双敲DNMT3a和TET2的条件下EKLf上调<sup>[23]</sup>。

研究最广泛的两种组蛋白修饰是甲基化和乙酰化。组蛋白甲基转移酶SetD8是红系细胞成熟的重要调节因子, 促进终末红细胞的成熟和存活。DEVILBISS等<sup>[24]</sup>和MALIK等<sup>[25]</sup>在鼠类成红细胞中发现, SetD8在GATA-2顺式元件上催化H4K20me1, 抑制GATA-2, 但使用shRNA使其功能丧失后再降低

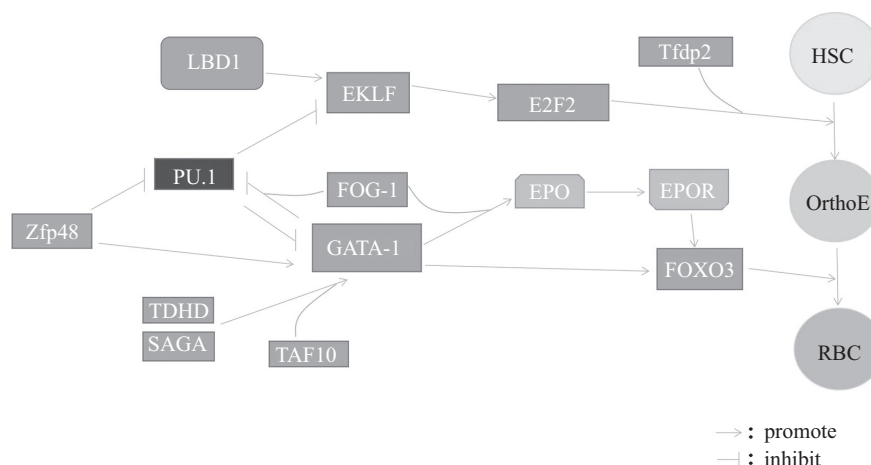


图2 转录因子间的相互作用

Fig.2 Interactions between transcription factors

GATA-2的水平并不能恢复红系细胞的终末成熟,说明SetD8对红系成熟的调控涉及多个靶基因,比如*Vim*。组蛋白修饰也会导致染色质结构的改变,组蛋白甲基转移酶SetD1a/NURF复合体在人原代红系细胞的红细胞生成中有重要作用,SetD1a介导的染色质屏障活性促进红系基因在终末红细胞生成过程中的表达<sup>[26]</sup>。GUO等<sup>[27]</sup>在小鼠细胞中研究发现,组蛋白去甲基化酶LSD1经TAL1介导发挥去甲基化作用使得含启动子功能的H3K4me2减少,降低GATA-2的转录水平,从而抑制红系的发育,其或可作为某些血液病的靶点。另外,组蛋白去甲基酶Jmjd3在斑马鱼中通过提高GATA-1水平来增强红系分化能力,同样影响GATA-1表达的还有JARID1A<sup>[28-29]</sup>。此外,组蛋白伴侣蛋白ASF1b也被发现微调红细胞的生成,在人原红细胞培养以及鼠中敲除*ASF1b*均会引起轻度红细胞生成异常<sup>[30]</sup>。但具体过程与作用机制还待研究,或与染色质重塑等有关。

乙酰化标记代表了组蛋白激活转录的开始,组蛋白乙酰转移酶CBP/p300激活GATA-1的乙酰化,这对红系分化而言十分重要。有几种蛋白质负向调节GATA-1乙酰化和红系分化,如PU.1抑制CBP介导的GATA-1乙酰化和GATA-1 DNA结合活性从而阻断氯化血红素诱导的红系分化,在人造血祖细胞中AML1-ETO融合蛋白抑制p300/CBP介导的GATA-1活性并有损红系分化<sup>[31-32]</sup>。也有正向调控GATA-1乙酰化的因子EDAG被发现,EDAG与GATA-1和p300形成复合物,增强GATA-1的乙酰化能力和转录活性,促进红系终末分化<sup>[33]</sup>。EDAG的表达在镰状细胞疾病中上调,在MDS贫血患者CD34<sup>+</sup>细胞培养的CFU-E细胞中下调,EDAG的异常是否与贫血、红细胞增多症或红系白血病等其他红系造血障碍有关,还待研究。

### 3 红细胞生成的转录后调控

转录后调控是基因表达调控红细胞生成的另一个重要方面,主要包括RNA甲基化、RNA可变剪接以及多种非编码RNA(ncRNAs)参与的转录后调控等。

#### 3.1 RNA甲基化在红系发育中的调控

RNA甲基化是一种常见的RNA修饰,其中最为普遍的是N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)修饰。KUPPERS等<sup>[34]</sup>通过全基因组CRISPR-Cas9筛

选,发现m6A mRNA甲基转移酶(methyltransferase, MTase)复合体——METTL14、METTL3和WTAP,以及调控翻译的m6A mRNA靶点BRD7、CXXC1、NIP7、PABPC1、PABPC4、RPS19、RPL24、STK40和TADA2B是维持HEL细胞中的Gpa表达和人类HSPC红系特征所必需的。其中,PABPC1已被证明通过抑制红系前体的去甲基化与β-珠蛋白mRNA结合,并使其稳定,而PABPC4与结合和稳定Gpa mRNA以及其他红系靶标有关<sup>[35]</sup>。在红系相关基因启动子上维持H3K4me3标记需要m6A-MTase活性,在MEP阶段后,部分基因也需要m6A-MTAase活性才能表达,如与红细胞生成受损相关的基因以及DBA和MDS中的关键基因<sup>[34]</sup>。所以m6A-MTAase的活性也可能与早期红系祖细胞无法继续发育成熟有关。

#### 3.2 RNA可变剪接与RBP蛋白参与的转录后调控

Pre-mRNA的选择性剪接是调控真核基因表达的基本机制,促进不同类型细胞特异性蛋白质亚型的表达。蛋白4.1R是RBC中一种80 kDa细胞骨架蛋白,红系分化过程中4.1R的16号外显子编码位于10 kDa肌动蛋白结合结构域的21个氨基酸片段,该基序是促进细胞骨架连接复合物稳定所必需的。16号外显子在早期被跳过,在终末分化的网织红细胞中保留,这个剪接开关过程十分重要,在晚期红系分化中mFOX-2A亚型起关键调节作用<sup>[36]</sup>。YAMAMOTO等<sup>[37]</sup>发现了6个新的外显子包括HNRPLL、SNRP70、MBNL2、ATP11C、ARFIP1、PLD1,其在2个独立的生物复制中的选择性剪接具有显著的红系阶段特异性变化。其中5个外显子在侧翼的近端内含子上有1个与选择性剪接调控因子FOX-2高度特异的UGCAUG结合位点。

RNA结合蛋白(RNA binding proteins, RBPs)是一类包含RBDs的蛋白,部分被证明参与调节红细胞剪接。如RBM38,在被招募到下游内含子时直接激活4.1R 16号外显子的剪接,同样对4.1R 16号外显子的剪接起激活作用的RBP还有TIA1和Pcbp1,通过与RBM39的相互作用间接介导3'剪接位点的激活<sup>[38-39]</sup>。HnRNP K也是控制细胞分化的关键,在前体细胞彻底成熟进入血循环前会挤出细胞核并接着降解线粒体,后者由R15-LOX启动。在这个阶段,R15-LOX mRNA从翻译沉默中释放,开始诱导R15-LOX的合成。HnRNP K是其中关键的调控

因子, HnRNP K在红系成熟前期与*R15-LOX* mRNA 3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)分化控制元件相互作用, 并抑制翻译能力强的80S核糖体的形成, 以防红系成熟早期*R15-LOX*的活性干扰红系成熟的能量代谢。到去核后需要降解线粒体的阶段, Caspase-3介导HnRNP K的切割使*R15-LOX*及时合成, 从而促进红细胞的彻底成熟<sup>[40]</sup>。HnRNP K也与*NMHC IIA* mRNA互相作用干扰终末红细胞去核过程<sup>[41]</sup>。

剪接突变体通常表现为低表达等位基因, 其原因是外显子跳跃或剪接位点的选择改变了翻译阅读框, 引入提前终止密码子(premature translation termination codon, PTC), 并激活无义介导的mRNA降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)从而导致mRNA的快速降解, 这也是 $\beta$ -地中海贫血和红细胞膜疾病的常见原因。选择性剪接与NMD相结合可以代表一种进化上保守的基因表达的调控方式, 被称为受调控的非生产性剪接和翻译, 该过程与RBP息息相关。在YAMAMOTO等<sup>[37]</sup>的研究中还发现选择性剪切的开关中有3个含有PTC的外显子, 对于受调控的非生产性剪接和翻译, 在含有PTC的红系剪接事件中有2个涉及RBP——HNRPLL和SNRP70, 可能与此相关。

### 3.3 NcRNAs参与的调控

NcRNAs包括LncRNAs和MiRNAs, 前者是一种长度超过200个核苷酸但不翻译成蛋白质的NcRNAs。在红细胞生成的过程中, 最为典型的是DOMINGUEZ等<sup>[42]</sup>发现的多个动态表达的LncRNAs, 这些LncRNAs对红系分化进行了表观遗传调节, 是红系关键转录因子GATA-1、TAL1、KLF1的靶点。除此以外还有LincRNA-EPS在红系前体开始合成血红蛋白等谱系特异性蛋白时被高度诱导, 将其敲除会抑制红系分化<sup>[43]</sup>。LncRNA-UCA1介导人红系细胞中血红素代谢的调节, 其在红系细胞成熟过程中动态表达, 而在原红细胞中表达最高, 它的缺失会阻碍红系前体阶段的分化<sup>[44]</sup>。

MiRNAs是一种19~25个核苷酸的内源性单链非编码RNA分子, 主要通过与其靶mRNAs的3'UTR结合来调控基因表达。越来越多的研究表明, MiRNA在调节各种正常生理过程中起着关键作用, 其表达异常与多种疾病相关<sup>[45]</sup>。

不同MiRNA在不同阶段对红系分化起作用, 在

谱系决定的过程中, miR-222和miR-223活性的增强会削弱CD34<sup>+</sup>细胞向红系分化的能力<sup>[45-46]</sup>。高c-myc水平会促进MEP向红系分化, 增强miR-150的表达能力会在前期降低c-myc的表达水平从而促进MEP向巨核系分化, miR-150在红系细胞的终末分化中也具有抑制作用<sup>[47-48]</sup>。ZHANG等<sup>[49]</sup>在体内外的研究中发现, miR-9通过抑制红系祖细胞中FOXO3的表达从而阻止红系祖细胞的分化, 同时增加ROS的产生量, 这可能是一些血液疾病患者存在无效的红细胞生成的原因之一。miR-144和miR-451的表达量在红细胞生成过程中大大增加, 任一种受到抑制均会损害人红系细胞的分化, 其中miR-451可通过抑制Cox10的表达从而抑制过多ROS诱导的细胞凋亡, 除了保护前体细胞免受氧化刺激外还促进红系细胞的终末成熟<sup>[50]</sup>。红系成熟还受到miR-199B-5p的影响, miR-199B-5p受红系转录因子GATA-1和NF-E2调控, 其可通过抑制c-Kit的表达而促进红系的成熟<sup>[51]</sup>。除此以外有研究发现, miR-27A和miR-24的异位表达会促进人CD34<sup>+</sup>原始造血祖细胞和小鼠的红细胞生成, 而降低其水平则会导致造血祖细胞表达量减少和红系表型受损, 两者的表达由GATA-1和GATA-2共同调节, 在成熟后协同抑制GATA-2的翻译, 促进GATA因子转换, 是一种促进红系成熟的正反馈循环<sup>[52]</sup>。ZHAI等<sup>[53]</sup>发现, miR-146b在CD34<sup>+</sup> HSPC的红系分化的过程中持续上调, 抑制miR-146b会减少终末分化的细胞量, 其诱导作用依赖于GATA-1, 存在直接靶点PDGFRA, 该靶点在红系分化过程中起负调节作用。红细胞的成熟还需要经历去核阶段, miR-181a通过调节Xpo7的表达调节红系去核, 两者表达呈负相关, miR-181a的过表达会抑制Xpo7的表达从而对去核反应产生轻微的抑制作用<sup>[54]</sup>。

尽管对NcRNA在红系发育中发现的新角色的描述正在不断完善, 但我们对其的理解还远远不够。很显然这些分子遍布于许多红系发育的调控过程中, 从MiRNAs到LncRNAs, 从转录、翻译、定位、稳定、结构完整性到复合体形成和分解等各个方面都与细胞类型和准确的特异性分化有着错综复杂的平衡关系。这些分子曾经被认为是无用DNA的基因组区域编码, 但现在发现它们执行着无数的功能, 需要对其进行一个更精准的分类。随着我们对NcRNA在细胞发育中行使功能的理解深入, 可能会



发现对抗血液病的新疗法。

#### 4 红细胞生成的翻译调控

翻译调控在红细胞生成中起着至关重要的作用,反映了去核的成熟红细胞在没有转录时的翻译需求和红系成熟过程中平衡的珠蛋白链合成的大量翻译需求。红系分化在蛋白质翻译途径的多个水平上受到调控,编码红系功能的mRNAs的5'非翻译区(5' untranslated region, 5'UTR)具有特定结构,对uORF的利用存在差异,即翻译起始复合物的调节、红系特异的RBPs[主要包括IRP1(iron regulatory protein 1)和IRP2(iron regulatory protein 2)]的功能以及从核糖体水平到红系特异的核糖体循环机制等<sup>[55]</sup>。翻译起始是翻译调控的关键,翻译机制的紊乱可能导致贫血和MDS。HU等<sup>[56]</sup>在小鼠中发现,Cpeb4受红系主转录因子GATA-1和TAL1诱导,在红系终末分化期间显著上调,通过直接与翻译起始因子eIF3的相互作用抑制大量基因(包括它自身基因)的翻译,导致其中大多数在红系终末分化期间表达下调。转录诱导和翻译抑制结合形成负反馈环来调控终末红细胞的生成。

核糖体蛋白(ribosomal protein, RP)通过选择性翻译来调节特定的基因表达,CHENNUPATI等<sup>[57]</sup>在体内外实验中证明了核糖核酸酶抑制剂1(ribonuclease inhibitor 1, RNH1)与核糖体的40S亚基结合,通过控制红系转录因子GATA-1的翻译调节红细胞生成。部分转录本受到核糖体水平功能相关变化的影响,如核糖体水平不足会导致造血组织中红系细胞选择性缺失,也会在DBA疾病中引起因GATA-1水平降低而导致的红系细胞的缺乏<sup>[58-59]</sup>。

#### 5 红细胞生成的翻译后调控

常见的翻译后修饰包括蛋白质精氨酸甲基化、泛素化等,翻译后修饰影响许多蛋白质,包括组蛋白和非组蛋白等的功能。对各转录因子的翻译后调控会促进或抑制红系发育,这些在翻译后修饰中行使功能的表观遗传因子或也是潜在治疗靶点。

蛋白质精氨酸甲基化是一种关键的翻译后修饰,参与调控多种细胞发育过程。蛋白精氨酸甲基转移酶1(protein arginine *N*-methyltransferase 1, PRMT1)对红细胞生成十分重要,敲除PRMT1的小鼠会发生红系成熟阻滞,并且PRMT1的表达会增强p38 MAPK的

激活能力从而促进红系细胞的分化<sup>[26,60]</sup>。有研究发现,PRMT6在原代人CD34<sup>+</sup>祖细胞的生成过程中通过*Gpa*和*KLF1*等红系基因介导抑制性的H3R2me2a修饰从而抑制红系基因的表达,敲除或药理性抑制PRMT1均可促进红细胞的生成<sup>[61]</sup>。对于贫血治疗的研究,开发有效的体外研究方案很重要,如从HSC或胚胎干细胞获取治疗性的细胞。对此,研究以表观遗传因子(如PRMT6)为靶点的表观遗传化合物,可能有助于未来更有效的体外分化。

泛素化是一种酶促翻译后修饰,在K562细胞中泛素连接酶RNF38促进RUNX1泛素化,增强RUNX1介导的红系转录程序抑制能力<sup>[62]</sup>。泛素化的蛋白被泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)降解。目前,关于UPS在红细胞生成中作用的研究包括CUL4A介导的p27降解在红细胞生成的早期促细胞增殖和终末阶段介导退出细胞周期,UBE2O在小鼠红系终末分化过程中重塑蛋白质组,以及去泛素化酶USP7通过催化GATA-1上多泛素化链的去除反应从而稳定GATA-1以保证人红细胞的终末分化<sup>[63-64]</sup>。此外,EKLF TAD1结构域与泛素结合会导致EKLF的降解,在人CD34<sup>+</sup>红细胞中GPS2可以阻止泛素化的EKLF进入蛋白酶体,抑制EKLF的降解,以增强EKLF的稳定性和转录活性从而促进红细胞生成<sup>[65]</sup>。Ufm1偶联系统是一种类似于泛素的修饰系统,由Ufm1、Uba5(E1)、Ufc1(E2)和尚不明确的E3连接酶和靶标组成,对红系细胞而言不可或缺。CAI等<sup>[66]</sup>在小鼠的研究中发现UFBP1是可能的靶标,其缺失会引起GATA-1和KLF1的表达下调以及红细胞分化阻滞。

在翻译后修饰中,红系转录因子RUNX1受着不同方式的调控。在同一细胞内,RUNX1和PRMT6共同存在于红系基因的抑制复合体中,与PRMT6一起进行组蛋白和非组蛋白的甲基化<sup>[61]</sup>。不同的启动子环境与RUNX1的修饰状态会对调节作用产生影响,RUNX1或可能自身也被PRMT6甲基化。RUNX1因RNF38介导的酶促修饰加强了对EKLF的转录抑制,但RUNX1介导的MCSFR转录激活没受到酶促修饰的影响,这也说明了翻译后修饰在复合体中可以选择特定的目标基因,因此如何选择基因值得进一步研究<sup>[62]</sup>。

红系的分化也受到糖基化的调控,分化会导致OGA(*O*-GlcNAc)水平显著降低。在小鼠成红细胞

系G1E-ER4中干扰O-GlcNAc糖基化会影响GATA-1的染色质占有率和表达水平等,这一影响会受到TMG(Thiamet-G)的抑制<sup>[67]</sup>。O-GlcNAc转移酶(O-linked N-acetylglucosamine transferase, OGT)也可降低Nrf1a的泛素化水平和降解能力,可能对红系的应激分化会产生影响<sup>[68]</sup>。除了在谱系定向后的调控中起作用,O-GlcNAc(也可能在早期发育阶段决定造血细胞的命运,TMG抑制O-GlcNAc)可能会使得细胞发生谱系偏转,从而进一步探索疾病或营养过剩引起的O-GlcNAc动态平衡的破坏对造血细胞分化的影响。

## 6 EPO和TGF- $\beta$ 超家族介导的信号调控通路

除了以上的调控机制外,红细胞生成还受到造血微环境的影响,如细胞因子(EPO、TGF- $\beta$ 等)、氧浓度和铁水平等。其中,红细胞的产生受到EPO和TGF- $\beta$ 超家族的严格调控,EPO通过促进红系祖细胞的存活、增殖和终末分化来刺激红细胞生成,TGF- $\beta$ 超家族可以在EPO治疗无效的贫血中发挥效应。因此,阐明EPO和TGF- $\beta$ 超家族介导的细胞内信号转导通路对红细胞生成的影响十分重要。

研究表明,EPO与细胞表面受体EPOR结合,激活EPO-EPOR信号通路,EPO-EPOR信号是红系祖细胞分化和存活所必需的,且EPO的作用可被SOX6增强<sup>[9]</sup>。EPOR受到刺激后激活胞内各信号转导通路。依赖EPO的红系祖细胞的增殖和分化取决于EPOR-JAK2信号转导途径的调控,在该通路下游不是激活STAT1或STAT3,而是激活靶点STAT5<sup>[69]</sup>。STAT5介导细胞存活、周期、增殖等,在红系发育中促进红系祖细胞的分化和存活,药物沙利度胺(Thalidomide)就是通过增强STAT5的表达能力从而提高红细胞水平。原癌基因酪氨酸蛋白激酶Src可以直接磷酸化STAT5的酪氨酸残基694,从而通过STAT5参与EPO诱导的信号转导<sup>[70]</sup>。Fyn和Lyn是Src家族的成员,也被证实参与了该通路。BENEDUCE等<sup>[71]</sup>的研究中Fyn<sup>-/-</sup>小鼠表现出EPOR的酪氨酸磷酸化水平降低和STAT5活性减弱,Lyn参与酪氨酸磷酸化和STAT5的激活。在许多类型的细胞中,PI3K可激活AKT的抗凋亡作用,这也是EPO在红系祖细胞中的抗凋亡机制。MYKLEBUST等<sup>[72]</sup>研究发现,使用PI3K抑制剂LY294002会完全阻断CD34<sup>+</sup>细胞亚群

中EPO诱导的活性促进、增殖和红系成熟,也包括下游靶点AKT的激酶活性上升,但不同的PKC抑制剂也可以抑制EPO诱导的AKT活性升高,说明EPO应答的CD34<sup>+</sup>细胞中PKC和PI3K通路之间存在信号串扰,但还需实验来证明其中的相互作用。PI3K下游AKT通过磷酸化诱导一些红系细胞分化所需的转录因子,其中包括GATA-1。KADRI等<sup>[17]</sup>在人源UT-7细胞的研究中发现,AKT使GATA-1中的Ser310磷酸化,该位置是AKT的一个特殊靶点,可以增强红系细胞中GATA-1的活性。AKT可能直接通过磷酸化GATA-2阻断其通路,或间接通过增加GATA-1表达量而导致GATA-2下调。到目前为止,PI3K/AKT在红细胞生成过程中的作用受到的研究较少,仍有许多问题需要解决,如对该信号通路在红系发育不同阶段中的具体作用,鉴定参与PI3K/AKT信号通路的蛋白质网络和调控RNA等。EPO可单独诱导红系发育,但这个诱导过程是可以被其他因子促进的,如干细胞因子(SCF)与EPO协同激活JAK2-STAT、PI3K-AKT信号通路,促进EPOR的表达。EPO-EPOR信号也通过RAS/RAF/MEK/ERK通路转导,抑制该通路中的ERK1/2活性可诱导红系祖细胞凋亡,且在 $\beta$ -地中海贫血原红细胞中,磷酸化C-Raf水平与ERK激活能力增强相关<sup>[73]</sup>。此外,SCHNÖDER等<sup>[74]</sup>通过在小鼠的体内外研究发现,Plc $\gamma$ -1信号通路是一个新的途径,通过被EPO-EPOR-JAK2激活,调节下游靶分子mH2A2的表达,缺乏Plc $\gamma$ -1会损害红系发育,但不影响STAT5、MEK和AKT等其他EPOR下游分子的激活。

红细胞生成必须紧密平衡,以保证足够的氧气输送到体内所有组织。这一过程主要依赖于EPO和缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF),缺氧时产生的HIF与EPO表达相关,NF $\kappa$ B、STAT3均与HIF1 $\alpha$ 启动子结合并诱导其转录,HIF也是PI3K/AKT信号通路的关键下游蛋白<sup>[75-76]</sup>。使用脯氨酸羟化酶抑制剂(PHIs)已成为一种很有希望的刺激HIF活性的方法。氧敏感的脯氨酸羟化酶2(PHD2)是HIF1 $\alpha$ 的主要调节因子,常氧条件下,PHD2将HIF羟化,使其降解蛋白酶体。FRANKE等<sup>[77]</sup>的研究发现,在小鼠肾脏EPO产生的细胞内条件性失活PHD2会使细胞出现红细胞增多症,这一现象的出现是由HIF2 $\alpha$ 单独驱动EPO严重过量导致的,与之相反的是HIF1 $\alpha$ 作为保护因子,使得红细胞压积高达



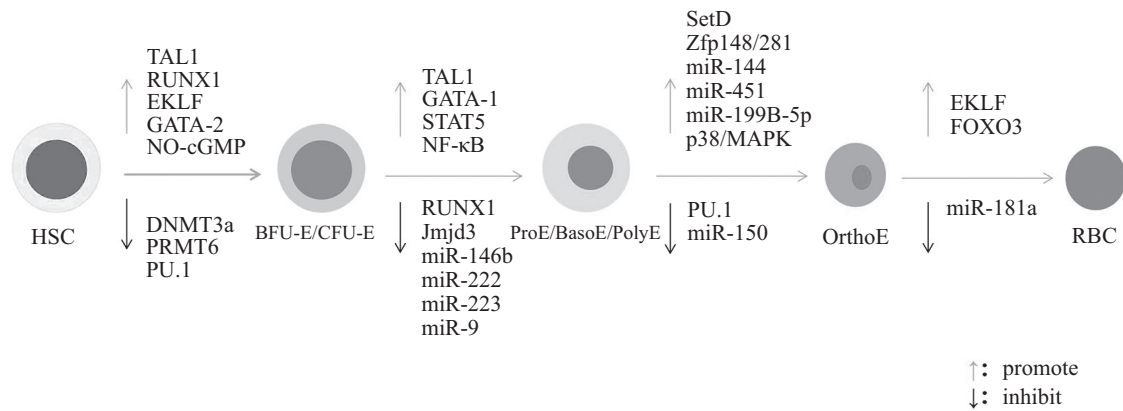


图3 对红细胞生成的分子水平调控

Fig.3 Molecular regulation of erythropoiesis

86%的CKOP2小鼠存活。

部分贫血对EPO不敏感或EPO治疗无效,如溶血性贫血和DBA均不适用EPO治疗,关于其他细胞因子,如TGF-β也有所研究。在TGF-β介导的信号转导中,TGF-β的受体分为3型,其中TβRIII与所有TGF-β亚型结合,并增强TGF-β介导的信号转导作用。在BFU-E中,TβRIII可用来区分早晚期BFU-E。BFU-E在早晚期的转变中,TβRIII水平高的细胞中的Smad2和Smad3的磷酸化也更高,说明TβRIII表达的瞬时升高促进TGF-β信号转导,并且TGF-β抑制剂可以通过促进BFU-E的自我更新来增加红细胞的生成量,也说明了该类型药物在治疗EPO无反应性贫血中的有效性<sup>[78]</sup>。在β-地中海贫血小鼠中,TGF-β超家族的GDF11除了过表达外,还通过Smad2/3信号对Fas-FasL凋亡途径进行负调控,使用ActRIIA的配体陷阱Sotatercept可以阻断GDF11的过表达,改善中度β-地中海贫血小鼠的无效红细胞生成、贫血、铁过载等症<sup>[79]</sup>。BMP也属于TGF-β超家族,BMP-Smad的下游靶基因包括调节铁稳态的铁调素Hepcidin。铁调素过高会患上缺铁性贫血,抑制BMP-Smad途径从而抑制hepcidin可能是未来对于高水平Hepcidin引起的遗传性和获得性贫血潜在的治疗机会。

## 7 小结

现有对红系细胞分化调控的研究,包括转录因子、表观遗传调节和信号通路等,主要集中在转录变化上,其他调控的作用靶点大多都是红系主调控转录因子GATA-1、GATA-2、TAL1等(图3)。目前,关于转录后调控的研究相对较少,可能是由于对这

部分的探索相对于转录而言更加困难,使得研究受限,但相关研究不可忽视。这些对红细胞生成的影响因素中的许多最初是通过已有大数据的随机筛选发现的,而后对其进行单独的研究,所以它们之间互相的功能作用研究也还较为缺乏。除此之外,如何将部分研究从小鼠转移到人红细胞来进行验证也是个问题,需要进一步改进体外的研究方式,从而精确探究人红细胞的变化和调节规律。进一步加深对红细胞生成的了解,才能完善红细胞异常疾病的发病机制,从而有针对性地寻求更好的治疗方法。

## 参考文献 (References)

- [1] ROMANO O, PETITI L, FELIX T, et al. GATA factor-mediated gene regulation in human erythropoiesis [J]. *iScience*, 2020, 23(4): 101018.
- [2] PARKINS A C, SHARPE A H, ORKIN S H J N. Lethal β-thalassaemia in mice lacking the erythroid CACCC-transcription factor EKLf [J]. *Nature*, 1995, 375(6529): 318-22.
- [3] SIATECKA M, BIEKER J. The multifunctional role of EKLf/KLF1 during erythropoiesis [J]. *Blood*, 2011, 118(8): 2044-54.
- [4] CHEN C, LODISH H F J E H. Global analysis of induced transcription factors and cofactors identifies Tfdp2 as an essential coregulator during terminal erythropoiesis [J]. *Exp Hematol*, 2014, 42(6): 464-76.
- [5] GNANAPRAGASAM M N, MCGRATH K E, CATHERMAN S, et al. EKLf/KLF1-regulated cell cycle exit is essential for erythroblast enucleation [J]. *Blood*, 2016, 128(12): 1631-41.
- [6] MENON V, GHAFARI S J. Transcription factors FOXO in the regulation of homeostatic hematopoiesis [J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25(4): 290.
- [7] PORCHER C, SWAT W, ROCKWELL K, et al. The T cell leukemia oncoprotein SCL/tal-1 is essential for development of all hematopoietic lineages [J]. *Cell*, 1996, 86(1): 47-57.
- [8] ROBB L, ELWOOD N J, ELEFANTY A G, et al. The scl gene product is required for the generation of all hematopoietic lin-

- eages in the adult mouse [J]. *EMBO J*, 1996, 15(16): 4123-9.
- [9] DUMITRIU B, PATRICK M R, PETSCHKE J P, et al. Sox6 cell-autonomously stimulates erythroid cell survival, proliferation, and terminal maturation and is thereby an important enhancer of definitive erythropoiesis during mouse development [J]. *Blood*, 2006, 108(4): 1198-207.
- [10] KATO H, ITOH-NAKADAI A, MATSUMOTO M, et al. Infection perturbs Bach2-and Bach1-dependent erythroid lineage 'choice' to cause anemia [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(10): 1059-70.
- [11] JIAN W, YAN B, HUANG S, et al. Histone deacetylase 1 activates PU.1 gene transcription through regulating TAF9 deacetylation and transcription factor IID assembly [J]. *FASEB J*, 2017, 31(9): 4104-16.
- [12] WILLCOCKSON M, TAYLOR S, GHOSH S, et al. Runx1 promotes murine erythroid progenitor proliferation and inhibits differentiation by preventing Pu.1 downregulation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(36): 17841-7.
- [13] LI X, ROMAIN R, PARK D, et al. Stress hematopoiesis is regulated by the Krüppel-like transcription factor ZBP-89 [J]. *Stem Cell*, 2014, 32(3): 791-801.
- [14] WOO A, PATRY C, GHAMARI A, et al. Zfp281 (ZBP-99) plays a functionally redundant role with Zfp148 (ZBP-89) during erythroid development [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(16): 2499-511.
- [15] XU Z, HUANG S, CHANG L, et al. Identification of a TAL1 target gene reveals a positive role for the LIM domain-binding protein Ldb1 in erythroid gene expression and differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7585-99.
- [16] FUJIWARA T, SASAKI K, SAITO K, et al. Forced FOG1 expression in erythroleukemia cells: Induction of erythroid genes and repression of myelo-lymphoid transcription factor PU.1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 485(2): 380-7.
- [17] KADRI Z, LEFEVRE C, GOUPILLE O, et al. Erythropoietin and IGF-1 signaling synchronize cell proliferation and maturation during erythropoiesis [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(24): 2603-16.
- [18] YAMANE T, ITO C, WASHINO A, et al. Repression of primitive erythroid program is critical for the initiation of multilineage hematopoiesis in mouse development [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(2): 323-30.
- [19] PAPAGEORGIOU D, KARKOULIA E, AMARAL-PSARRIS A, et al. Distinct and overlapping DNMT1 interactions with multiple transcription factors in erythroid cells: evidence for corepressor functions [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(12): 1515-26.
- [20] TADOKORO Y, EMA H, OKANO M, et al. *De novo* DNA methyltransferase is essential for self-renewal, but not for differentiation, in hematopoietic stem cells [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(4): 715-22.
- [21] CHALLEN G, SUN D, JEONG M, et al. Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation [J]. *Nat Genet*, 2011, 44(1): 23-31.
- [22] KUNIMOTO H, MCKENNEY A, MEYDAN C, et al. Aid is a key regulator of myeloid/erythroid differentiation and DNA methylation in hematopoietic stem/progenitor cells [J]. *Blood*, 2017, 129(13): 1779-90.
- [23] LI Y, LIU D, LI Z, et al. Role of tissue-specific promoter DNA methylation in regulating the human EKLF gene [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2018, 71: 16-22.
- [24] DEVILBISS A W, SANALKUMAR R, HALL B D, et al. Epigenetic determinants of erythropoiesis: role of the histone methyltransferase SetD8 in promoting erythroid cell maturation and survival [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(12): 2073-87.
- [25] MALIK J, GETMAN M, STEINER L A J M, et al. Histone methyltransferase Setd8 represses Gata2 expression and regulates erythroid maturation [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(12): 2059-72.
- [26] LI Y, SCHULZ V P, DENG C, et al. Setd1a and NURF mediate chromatin dynamics and gene regulation during erythroid lineage commitment and differentiation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(15): 7173-88.
- [27] GUO Y, FU X, JIN Y, et al. Histone demethylase LSD1-mediated repression of GATA-2 is critical for erythroid differentiation [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3153-62.
- [28] KARIA D, GILBERT R C, BIASUTTO A J, et al. The histone H3K4 demethylase JARID1A directly interacts with hematopoietic transcription factor GATA1 in erythroid cells through its second PHD domain [J]. *R Soc Open Sci*, 2020, 7(1): 191048.
- [29] YU S H, ZHU K Y, ZHANG F, et al. The histone demethylase Jmjd3 regulates zebrafish myeloid development by promoting spi1 expression [J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2018, 1861(2): 106-16.
- [30] PAPADOPOULOS P, KAFASI A, DE CUYPER I M, et al. Mild dyserythropoiesis and  $\beta$ -like globin gene expression imbalance due to the loss of histone chaperone ASF1B [J]. *Hum Genomics*, 2020, 14(1): 1-12.
- [31] HONG W, KIM A, KY S, et al. Inhibition of CBP-mediated protein acetylation by the Ets family oncoprotein PU.1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(11): 3729-43.
- [32] CHOI Y, ELAGIB K, DELEHANTY L, et al. Erythroid inhibition by the leukemic fusion AML1-ETO is associated with impaired acetylation of the major erythroid transcription factor GATA-1 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(6): 2990-6.
- [33] ZHENG W, DONG X, YIN R, et al. EDAG positively regulates erythroid differentiation and modifies GATA1 acetylation through recruiting p300 [J]. *Stem Cell*, 2014, 32(8): 2278-89.
- [34] KUPPERS D, ARORA S, LIM Y, et al. N-methyladenosine mRNA marking promotes selective translation of regulons required for human erythropoiesis [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4596.
- [35] VAN ZALEN S, LOMBARDI A, JESCHKE G, et al. AUF-1 and YB-1 independently regulate  $\beta$ -globin mRNA in developing erythroid cells through interactions with poly(A)-binding protein [J]. *Mech Dev*, 2015, 136: 40-52.
- [36] YANG G, HUANG S, WU J, et al. Regulated Fox-2 isoform expression mediates protein 4.1R splicing during erythroid differentiation [J]. *Blood*, 2008, 111(1): 392-401.
- [37] YAMAMOTO M, CLARK T, GEE S, et al. Alternative pre-mRNA splicing switches modulate gene expression in late erythropoiesis [J]. *Blood*, 2009, 113(14): 3363-70.
- [38] HEINICKE L, NABET B, SHEN S, et al. The RNA binding protein RBM38 (RNPC1) regulates splicing during late erythroid differentiation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78031.
- [39] HUANG S, ZHANG H, YU B, et al. Protein 4.1R exon 16 3'

- splice site activation requires coordination among TIA1, Pebp1, and RBM39 during terminal erythropoiesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(9): e00446-16.
- [40] NAARMANN-DE VRIES I, URLAUB H, OSTARECK D, et al. Caspase-3 cleaves hnRNP K in erythroid differentiation [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3): e548.
- [41] DE NAARMANN VRIES I, BRENDLE A, BÄHR-IVACEVIC T, et al. Translational control mediated by hnRNP K links NMHC IIA to erythroid enucleation [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(6): 1141-54.
- [42] ALVAREZ-DOMINGUEZ J R, HU W, YUAN B, et al. Global discovery of erythroid long noncoding RNAs reveals novel regulators of red cell maturation [J]. *Blood*, 2014, 123(4): 570-81.
- [43] HU W, YUAN B, FLYGARE J, et al. Long noncoding RNA-mediated anti-apoptotic activity in murine erythroid terminal differentiation [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(24): 2573-8.
- [44] LIU J, LI Y, TONG J, et al. Long non-coding RNA-dependent mechanism to regulate heme biosynthesis and erythrocyte development [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4386.
- [45] VIAN L, DI CARLO M, PELOSI E, et al. Transcriptional fine-tuning of microRNA-223 levels directs lineage choice of human hematopoietic progenitors [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(2): 290-301.
- [46] JIANG L, WANG X, WANG Y, et al. Quantitative proteomics reveals that miR-222 inhibits erythroid differentiation by targeting BLVRA and CRKL [J]. *Cell Biochem Funct*, 2018, 36(2): 95-105.
- [47] BARROGA C, PHAM H, KAUSHANSKY K J. Thrombopoietin regulates c-Myb expression by modulating micro RNA 150 expression [J]. *Exp Hematol*, 2008, 36(12): 1585-92.
- [48] SUN Z, WANG Y, HAN X, et al. miR-150 inhibits terminal erythroid proliferation and differentiation [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(40): 43033-47.
- [49] ZHANG Y, LI L, YU C, et al. miR-9 upregulation leads to inhibition of erythropoiesis by repressing FoxO3 [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6519.
- [50] XU P, PALMER L, LECHAUVE C, et al. Regulation of gene expression by miR-144/451 during mouse erythropoiesis [J]. *Blood*, 2019, 133(23): 2518-28.
- [51] LI Y, BAI H, ZHANG Z, et al. The up-regulation of miR-199b-5p in erythroid differentiation is associated with GATA-1 and NF-E2 [J]. *Mol Cells*, 2014, 37(3): 213-9.
- [52] WANG F, ZHU Y, GUO L, et al. A regulatory circuit comprising GATA1/2 switch and microRNA-27a/24 promotes erythropoiesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(1): 442-57.
- [53] ZHAI P, WANG F, SU R, et al. The regulatory roles of microRNA-146b-5p and its target platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  (PDGFRA) in erythropoiesis and megakaryocytopoiesis [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(33): 22600-13.
- [54] FIGUEROA A, FASANO J, MARTINEZ-MORILLA S, et al. Via miR-181a regulates erythroid enucleation the regulation of Xpo7 expression [J]. *Haematologica*, 2018, 103(8): e341-4.
- [55] VATIKIOTI A, KARKOULIA E, IOANNOU M, et al. Translational regulation and deregulation in erythropoiesis [J]. *Exp Hematol*, 2019, 75: 11-20.
- [56] HU W, YUAN B, LODISH H F J D C. Cpeb4-mediated translational regulatory circuitry controls terminal erythroid differentiation [J]. *Dev Cell*, 2014, 30(6): 660-72.
- [57] CHENNUPATI V, VEIGA D F, MASLOWSKI K M, et al. Ribonuclease inhibitor 1 regulates erythropoiesis by controlling GATA1 translation [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1597-614.
- [58] SANKARAN V G, WEISS M J. Anemia: progress in molecular mechanisms and therapies [J]. *Nat Med*, 2015, 21(3): 221-30.
- [59] KHAJURIA R K, MUNSCHAUER M, ULIRSCH J C, et al. Ribosome levels selectively regulate translation and lineage commitment in human hematopoiesis [J]. *Cell*, 2018, 173(1): 90-103.
- [60] ZHU L, HE X, DONG H, et al. Protein arginine methyltransferase 1 is required for maintenance of normal adult hematopoiesis [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(13): 2763.
- [61] HERKT S, KUVARDINA O, HERGLOTZ J, et al. Protein arginine methyltransferase 6 controls erythroid gene expression and differentiation of human CD34 progenitor cells [J]. *Haematologica*, 2018, 103(1): 18-29.
- [62] YONEZAWA T, TAKAHASHI H, SHIKATA S, et al. The ubiquitin ligase RNF38 promotes RUNX1 ubiquitination and enhances RUNX1-mediated suppression of erythroid transcription program [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(3): 905-9.
- [63] NGUYEN A T, PRADO M A, SCHMIDT P J, et al. UBE2O remodels the proteome during terminal erythroid differentiation [J]. *Science*, 2017, 357(6350): eaan0218.
- [64] LIANG L, PENG Y, ZHANG J, et al. Deubiquitylase USP7 regulates human terminal erythroid differentiation by stabilizing GATA1 [J]. *Haematologica*, 2019, 104(11): 2178.
- [65] MA W, WANG X, LI C, et al. GPS2 promotes erythroid differentiation by control of the stability of EKLF protein [J]. *Blood*, 2020, 135(25): 2302-15.
- [66] CAI Y, PI W, SIVAPRAKASAM S, et al. UFBP1, a key component of the Ufm1 conjugation system, is essential for ufmylation-mediated regulation of erythroid development [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(11): e1005643.
- [67] ZHANG Z, PARKER M P, GRAW S, et al. O-GlcNAc homeostasis contributes to cell fate decisions during hematopoiesis [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(4): 1363-79.
- [68] HAN J W, VALDEZ J L, HO D V, et al. Nuclear factor-erythroid-2 related transcription factor-1 (Nrf1) is regulated by O-GlcNAc transferase [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 110: 196-205.
- [69] SHI J, YUAN B, HU W, et al. JAK2 V617F stimulates proliferation of erythropoietin-dependent erythroid progenitors and delays their differentiation by activating Stat1 and other nonerythroid signaling pathways [J]. *Exp Hematol*, 2016, 44(11): 1044-58.
- [70] OKUTANI Y, KITANAKA A, TANAKA T, et al. Src directly tyrosine-phosphorylates STAT5 on its activation site and is involved in erythropoietin-induced signaling pathway [J]. *Oncogene*, 2001, 20(45): 6643-50.
- [71] BENEDEUCE E, MATTE A, DE FALCO L, et al. Fyn kinase is a novel modulator of erythropoietin signaling and stress erythropoiesis [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(1): 10-20.
- [72] MYKLEBUST J, BLOMHOFF H, RUSTEN L, et al. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is important for erythropoietin-



- induced erythropoiesis from CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitor cells [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(9): 990-1000.
- [73] KUHRT D, WOJCHOWSKI D J B. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers [J]. *Blood*, 2015, 125(23): 3536-41.
- [74] SCHNÖDER T, ARREBA-TUTUSAUS P, GRIEHL I, et al. Epo-induced erythroid maturation is dependent on Plcγ1 signaling [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(6): 974-85.
- [75] NIU G, BRIGGS J, DENG J, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is required for hypoxia-inducible factor-1α RNA expression in both tumor cells and tumor-associated myeloid cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(7): 1099-105.
- [76] BONELLO S, ZÄHRINGER C, BELAIBA R, et al. Reactive oxygen species activate the HIF-1α promoter via a functional NFκappaB site [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(4): 755-61.
- [77] FRANKE K, KALUCKA J, MAMLOUK S, et al. HIF-1α is a protective factor in conditional PHD2-deficient mice suffering from severe HIF-2α-induced excessive erythropoiesis [J]. *Blood*, 2013, 121(8): 1436-45.
- [78] GAO X, LEE H, DA ROCHA E, et al. TGF-β inhibitors stimulate red blood cell production by enhancing self-renewal of BFU-E erythroid progenitors [J]. *Blood*, 2016, 128(23): 2637-41.
- [79] DUSSIOT M, MACIEL T, FRICOT A, et al. An activin receptor IIA ligand trap corrects ineffective erythropoiesis in β-thalassemia [J]. *Nat Med*, 2014, 20(4): 398-407.