

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.08.025

珠蛋白生成障碍性贫血患者外周血中蛋白质与非编码 RNA 作为潜在生物标志物的研究进展*

张思雯^{1,2}, 徐两蒲¹综述, 黄海龙^{1,2△}审校

1. 福建省妇幼保健院/福建医科大学附属医院医学遗传诊疗中心/福建省产前诊断与出生缺陷重点实验室, 福建福州 350001; 2. 福建医科大学医学技术与工程学院, 福建福州 350004

摘 要: 珠蛋白生成障碍性贫血又称为地中海贫血(简称地贫), 是一种遗传性溶血性贫血, 其中常见的一类是 β -地贫, β -地贫是由 β -珠蛋白基因点突变或片段缺失或插入引起的 β -珠蛋白肽链的合成发生障碍, 导致红细胞平均体积与红细胞平均血红蛋白浓度降低, 且常伴随血红蛋白水平降低。随着对 β -地贫发生机制的研究不断深入, 以及更多灵敏检测技术的应用, 越来越多的新型生物标志物被发现并显示出良好的临床应用前景。该文系统总结近 5 年来 β -地贫外周血中报道的各种蛋白质(红细胞转铁蛋白受体 1、 α -血红蛋白稳定蛋白、热休克蛋白 70、缺血修饰清蛋白、补体调节蛋白 CD35 和 CD55、血浆蛋白 C、蛋白 S 及抗凝血酶Ⅲ)和非编码 RNA(微小 RNA、长链非编码 RNA 及环状 RNA), 旨在为该病的诊断和治疗提供新思路 and 方向。

关键词: 珠蛋白生成障碍性贫血; 外周血; 生物标志物; 蛋白质; 非编码 RNA

中图分类号: R556.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2023)08-1130-07

Research progress of protein and non-coding RNA in peripheral blood of thalassemia as potential biomarkers*

ZHANG Siwen^{1,2}, XU Liangpu¹, HUANG Hailong^{1,2△}

1. Fujian Maternity and Child Health Hospital/Medical Genetic Diagnosis and Therapy Center of Hospital Affiliated of Fujian Medical University/ Key Laboratory of Prenatal Diagnosis and Birth Defects of Fujian, Fuzhou, Fujian 350001, China; School of Medical Technology and Engineering, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350004, China

Abstract: Thalassemia is a hereditary hemolytic anemia, among which the common type is β -thalassemia. β -thalassemia is a disorder in the synthesis of β -globin peptide chain caused by point mutation or fragment deletion or insertion of β -globin gene, resulting in decreased mean volume of red blood cells and mean hemoglobin concentration of red blood cells, often accompanied by decreased hemoglobin. With the deepening of the research on the mechanism of β -thalassemia and the application of more sensitive detection techniques, more and more novel biomarkers have been discovered and show a good clinical application prospect. In this paper, various proteins (transferrin receptor 1, α -hemoglobin stabilizing protein, heat shock protein 70, ischemia modified albumin, complement regulatory proteins CD35 and CD55, plasma protein C, protein S and antithrombin Ⅲ) and non-coding RNAs (microRNAs, long-chain non-coding RNAs and circular RNA) reported in peripheral blood of β -thalassemia in the past 5 years were systematically summarized, aiming to provide new ideas and directions for the diagnosis and treatment of this disease.

Key words: thalassemia; peripheral blood; biomarkers; protein; non-coding RNAs

珠蛋白生成障碍性贫血又称为地中海贫血(简称地贫), 为单基因遗传病, 是一种由珠蛋白生成障碍引起的溶血性贫血, β -地贫是其主要的一类。 β -地贫的主要分子基础是 HBB 基因发生突变或者缺失, 引起 β -珠蛋白链生成障碍, 导致多余的 α -珠蛋白沉积在红细胞膜上, 造成细胞破坏而产生溶血^[1]。根据临床症状的不同, β -地贫可分为轻型、中间型和重型 3 种, 其

中轻型 β -地贫患者一般为无贫血症状或轻度贫血。中间型 β -地贫患者表型轻重不一, 贫血程度有很大差异, 轻者只有轻度地贫表征, 没有明显临床症状; 而重者则需要定期输血, 出现肝、脾肿大等明显地贫特征。重型 β -地贫患者发病过程呈慢性进行性贫血, 伴有轻度黄疸, 肝、脾肿大, 发育不良, 并且具有典型的地贫特殊面容。近年来, 随着各种检测技术不断提高及 β -

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81970170); 福建省自然科学基金资助项目(2019J01510)。

△ 通信作者, E-mail: huanghailong@fjmu.edu.cn。

地贫机制研究不断深入,外周血中一些新型的生物标志物被发现具有检测 β -地贫疾病发生、评估临床治疗策略疗效、预测并发症发生及监测预后等作用,表明这些标志物对提高 β -地贫的诊疗水平具有较大帮助。本文对 β -地贫患者外周血中发现的蛋白质与非编码 RNA 两大类生物标志物进行分析,以期对 β -地贫的早期筛查、鉴别诊断和预防提供参考。

1 外周血蛋白质分子

1.1 红细胞转铁蛋白受体 1(TfR1) TfR1 是介导铁离子进入细胞的主要受体蛋白,通过与转铁蛋白结合并以内吞小泡的方式将铁运输到细胞内。作为一种穿膜的糖蛋白,TfR 的细胞外部分经剪切后形成可溶性 TfR。LI 等^[2]研究发现, β -地贫携带者体内红细胞生成的改变与铁代谢功能障碍有关,降低 TfR1 的表达是 β -地贫一种新的潜在治疗方法,可以改善无效红细胞生成并逆转铁超载。WANG 等^[3]对 TfR1 在造血系统中的功能及机制进行研究显示,TfR1 是造血系统发育过程中造血细胞分化必需的蛋白质分子,并提供了 TfR1 作为造血系统利用铁途径的直接体内证据。随着 TfR1 在造血系统中研究的不断深入,发现外周血 TfR1 表达水平与 β -地贫患者体内无效红细胞生成呈正相关,借此可推测患者疾病的严重程度。因此,TfR1 可作为 β -地贫的生物标志物,在 β -地贫诊断、预后及治疗监测中具有较高价值。

脱铁转铁蛋白(Apo-Tf)是一种不含铁的转铁蛋白,是铁代谢途径中另一个值得关注的 β -地贫生物标志物。Apo-Tf 可以通过降低 β -地贫患者体内 TfR1 的表达逆转无效红细胞生成,同时诱导铁限制性红细胞生成,从而预防铁超载。建立 β -地贫小鼠模型并进行慢性 Apo-Tf 治疗发现, β -地贫小鼠贫血症状有所改善,进一步证实了 Apo-Tf 在预防组织铁蓄积和延缓 β -地贫进展中的作用^[4]。目前,虽然 Apo-Tf 缓解贫血的机制还不是十分清楚,但当前有研究已提示,Apo-Tf 可以用于 β -地贫的治疗,也是 β -地贫一种有前景的生物标志物^[4]。

1.2 α -血红蛋白稳定蛋白(AHSP) AHSP 是近年来发现的一种小的、由 102 个氨基酸构成的红细胞系特异蛋白。AHSP 具有可逆性结合并稳定机体内游离 α -珠蛋白的能力,阻止其产生细胞毒性物质,在 β -地贫患者体内 AHSP 的稳定表达显得尤为重要。然而在有关作用机制的研究中尚不清楚 AHSP 基因是否是 β -地贫的遗传修饰因子。随着检测技术的不断提高,AHSP 在 β -地贫中的功能的研究也不断深入,其表达水平与 β -地贫疾病严重程度具有明显的相关性。RAY 等^[5]通过对 HbE/ β -地贫患者的 AHSP 基因进行 2 代测序发现,基因型相似但表型表达不同的 HbE/ β -地贫患者中存在 AHSP 基因突变,并且 AHSP 基因外显子突变在输血依赖性地贫患者中更常见。有研究发现,AHSP 基因是抗氧化转录因子 NF-

E2 相关因子 2(Nrf2)的靶基因,面对 β -地贫患者体内的过量游离 α -珠蛋白,Nrf2 能够介导 AHSP 的反馈调节,使 AHSP 的表达在 β -地贫患者体内保护性上调^[6]。尽管目前国内外对 AHSP 的表达与各种类型 β -地贫之间关系的研究还暂无定论,同时 ASHP 基因表达在 β -地贫中的作用也处于不断探索中,但可以肯定的是,AHSP 可作为 β -地贫外周血潜在生物标志物,能对疾病的临床症状起修饰作用,并且可以作为 β -地贫治疗的一种调节剂。

1.3 热休克蛋白 70(HSP70) 在红系细胞的生长、成熟过程中会短暂激活半胱天冬酶-3,以阻止过多的红细胞生成,而活化的半胱天冬酶可以切割红细胞关键转录因子 GATA 结合蛋白-1(GATA-1),导致红细胞的成熟停滞和/或细胞凋亡。作为 HSP 家族成员之一,HSP70 在促红细胞生成素的作用下进入细胞核保护转录因子 GATA-1 免受切割。体外培养 β -地贫患者成熟阶段的红细胞中 HSP70 直接和游离的 α -珠蛋白链结合,致使其被隔离在细胞核外而不发挥对 GATA-1 切割的保护作用,导致红细胞成熟受到阻滞^[7]。通过小分子化合物破坏细胞质中的 HSP70- α -珠蛋白复合体或减少 HSP70 核输出可以增加 HSP70 的核定位,从而保护 GATA-1 免受切割,降低细胞成熟停滞。HSP70 的定位受肿瘤抑制蛋白(XPO1)调控,通过使用 XPO1 抑制剂可以增加 HSP70 核定位的数量,保护 GATA-1 免受切割,促进终末分化,从而改善 β -地贫患者无效红细胞生成。LEVIN 等^[8]研究发现,通过细胞外囊泡释放到外循环的 HSP70 可能会作为一种免疫调节剂,加重 β -地贫患者体内无效红细胞生成。因此,深入研究 β -地贫患者体内外周血 HSP70 表达水平和 HSP70 在细胞内定位十分重要。此外,HSP70 可以作为生物标志物反映 β -地贫患者体内红细胞的成熟状态,了解患者的疾病进程,评估治疗方案的疗效。

1.4 缺血修饰清蛋白(IMA) 目前,对 β -地贫患者最常用的治疗手段之一是输血并辅以铁螯合剂治疗,但部分患者常常出现铁超载的风险。当机体发生铁超载时容易诱发氧化应激(OS),在 OS 和机体缺血的双重状态下,血清清蛋白分子的 N 端被自由基等物质破坏而转变成 IMA。IMA 之前一直被认为是心肌缺血和急性冠脉综合征的早期标志物。近几年有研究发现,IMA 表达水平在其他非心肌缺血性疾病中也升高,表明 IMA 并不是组织器官特异性标志物。IMA 可以作为反映 β -地贫患者体内 OS 的一种有效且灵敏的生物标志物,也可以用于筛查 β -地贫患者的心血管并发症风险。ODAMANAL 等^[9]通过比较 β -地贫患者和健康人群的血清蛋白水平发现,IMA 的表达水平随 OS 增加而增加,进一步揭示了 IMA 与 β -地贫患者体内 OS 和铁负荷状态的关系。此外,有研究通过评估 IMA 的表达与血脂、血糖失调之间的关系发现,血

清 IMA 的表达水平与总胆固醇和血浆动脉粥样硬化指数变化呈正相关, IMA 可能是血脂失调的预测因子和有效的抗氧化剂, 对 β -地贫患者治疗具有重要意义^[10]。所以, IMA 作为 β -地贫一种重要的生物标志物是十分有前景的, 可以直接反映患者体内的 OS 状态并动态监测铁负荷情况, 从而达到预测和早期防治 β -地贫的目的。

1.5 补体调节蛋白 CD35 和 CD55 从溶血的角度研究发现, 补体系统因红细胞破裂激活, 因而根据补体调节蛋白的表达水平也可以推测患者体内目前的无效造血情况。目前, 在 β -地贫患者补体系统中研究较多的补体调节蛋白是补体受体 1 (CR1/CD35)、衰变加速因子 (DAF/CD55) 及膜反应性溶解抑制物 (MIRL/CD59)。例如, KURTOGLU 等^[11] 通过流式细胞术对 β -地贫患者外周血 CD35、CD55 及 CD59 进行定量分析发现, 补体调节蛋白 CD59 表达水平没有明显差异, 而 CD55 和 CD35 低表达水平在该病溶血中发挥作用, 并且可能是患者出现慢性并发症的原因之一。黄映红等^[12] 于 2019 年通过对重型 β -地贫患儿外周血红细胞中补体蛋白 CD55 和 CD59 表达水平进行检测, 进一步证实 CD55 的表达水平明显降低, 导致补体系统对红细胞造成破坏。因此, 补体调节蛋白 CD35 和 CD55 可作为 β -地贫外周血的潜在生物标志物, 上调这些补体调节蛋白表达或许可及时避免补体系统对患者自身红细胞造成的破坏, 减轻贫血症状, 达到更好的疗效。但是关于 CD35 和 CD55 表达水平降低的具体原因, 及其与补体和血栓形成及输血之间的关系还需要进一步深入研究。

1.6 血浆蛋白 C、蛋白 S 和抗凝血酶 III 脾切除术作为一种重型 β -地贫的治疗手段, 术后并发症尤其是血栓栓塞近年来逐渐受到广泛关注。为了更好地认识 β -地贫患者脾切除术后可能引发的高凝状态, 对于凝血相关生物标志物的研究显得十分重要。 β -地贫患者血液的慢性高凝状态常伴有一系列凝血指标的改变, 尤其是蛋白 C、蛋白 S 和抗凝血酶 III 表达水平明显降低, 这些凝血因子常促进高凝状态形成, 并且增加脾切除术后血栓形成。梁海媚等^[13] 通过深入研究天然凝血因子蛋白 C、蛋白 S 和抗凝血酶 III 活性在 β -地贫中的临床意义, 进一步证实了 β -地贫患者血浆蛋白 C 与蛋白 S 活性明显降低, 为患者外周血高凝状态提供了直接证据, 同时也为患者血栓形成提供了新的监测指标。因此, 血浆蛋白 C、血浆蛋白 S 和抗凝血酶 III 可作为 β -地贫的生物标志物, 尤其是对于脾切除的患者, 具有监测其术后凝血和血栓形成的作用。

此外, PALLEWAR 等^[14] 认为, β -地贫患者慢性高凝状态的病因除抗凝和促凝蛋白水平改变外, 还包括内皮细胞止血作用的激活、红细胞膜脂质过氧化及磷脂酰丝氨酸外翻、游离血红蛋白引起的氧化损伤和血小板活化与聚集等。所以, 在 β -地贫脾切除术患者

血栓形成过程中起重要作用的磷脂酰丝氨酸、组织因子和组织因子途径抑制物等也可作为评价血液高凝状态变化的参考指标和 β -地贫的潜在生物标志物, 并且可为 β -地贫患者脾切除术后治疗提供更多参考。

2 外周血非编码 RNA

2.1 微小 RNA (miRNAs) miRNAs 是一类由内源基因编码的长度约为 22 个核苷酸的单链、非编码 RNA 分子, 能够与靶基因 mRNA 中的相应序列结合, 导致 mRNA 降解或翻译抑制。随着对造血系统疾病研究的不断深入, miRNAs 和珠蛋白之间的关系也逐渐被报道, 一部分 miRNAs 具有诱导 γ -珠蛋白合成的作用, 而另外一部分 miRNAs 具有抑制 γ -珠蛋白合成的作用, 这一发现为 β -地贫的治疗提供了新思路。通过统计 β -地贫患者外周血 miRNAs 的表达水平发现, 一些 miRNAs 在胎儿血红蛋白 (HbF) 高表达的 β -地贫患者中持续性异常表达^[15]。目前, 已有较多学者对 β -地贫患者和健康人群外周血中明显差异的 miRNAs 进行了功能研究, 分析其对 γ -珠蛋白的调控机制和具体作用靶点 (表 1)。根据 miRNAs 对于 γ -珠蛋白表达的调控效果, 将其分为上调 γ -珠蛋白生成的 miRNAs 和下调 γ -珠蛋白生成的 miRNAs, 并根据其调控靶点具体进行讨论。

2.1.1 上调 γ -珠蛋白生成的 miRNAs 调控 γ -珠蛋白生成作用靶点中最受关注的是 B 细胞淋巴瘤因子 11A (BCL11A) 基因。BCL11A 作为一种关键的调节转录因子, 通过抑制 γ -珠蛋白基因启动子阻遏血红蛋白转换, 而下调 BCL11A 可以提高 HbF 水平而改善 β -地贫患者的贫血症状。例如, miR-486-3p 作为 BCL11A 的直接抑制因子可以通过与 BCL11A 3'-非编码区 (UTR) 结合来调控 BCL11A 的表达, 并且发现这种表达与年龄呈负相关, 随年龄增加而减少^[16]。DE VASCONCELLOS 等^[17] 通过诱饵设计靶向抑制 let-7a 和 let-7b 表达, 发现明显提高了 γ -珠蛋白 mRNA 和 HbF 的表达水平, 同时降低了 BCL11A 的表达水平。WANG 等^[18] 通过分析儿童与成人 β -地贫患者外周血 miRNAs 的表达差异发现, let-7 在 β -地贫的发病机制中有至关重要的作用, 参与了多个信号通路及生物学过程。同时其提出 miR-190-5p 和 miR-1278-5p 可能也是通过靶向 BCL11A 来调节血红蛋白转换。GHOLAMPOUR 等^[19] 研究发现, miR-30a 在红系前体细胞中过表达导致 BCL11A 表达水平降低, 并且与 γ -珠蛋白表达水平升高有关, miR-30a 通过靶向 BCL11A 调节中间型地贫红系前体细胞中 γ -珠蛋白生成。

另一调控 γ -珠蛋白生成的作用靶点是 MYB 原癌基因转录因子。MYB 原癌基因转录因子作为调节红细胞发育和 HbF 水平的关键因子, 可以直接激活关键的 γ -珠蛋白抑制基因抑制 HbF 的表达。通过生物信息分析来确定由 miRNAs 调控的基因网络证实,

miR-15a 和 miR-16-1 通过靶向 MYB 原癌基因转录因子上调 HbF 的表达^[16],表明调控 miR-15a、miR-16-1 和 MYB 原癌基因转录因子的表达可能会提高 HbF 的表达水平并改善 β-地贫的严重程度。此外,有研究发现,部分 miRNAs 具有影响红细胞生成过程中的 Krüppel 样因子(KLFs)调控 γ 向 β-珠蛋白基因转换功能的作用^[16]。例如,LI 等^[20]研究发现,miR-326 通过靶向 KLF1 的 3'-UTR 直接抑制其表达,从而增加 γ-珠蛋白的生成。有研究发现,miR-2355-5p 则是通过下调 KLF6 的表达水平增加 γ-珠蛋白的合成^[21]。

此外,SRY 盒转录因子 6(SOX6)基因是近年来深受关注的调控 γ-珠蛋白生成的作用靶点,该基因属于 SRY 盒转录因子家族成员,在红细胞生成过程中有调节珠蛋白 mRNA 和红系细胞增殖的作用。SOX6 作为 γ-珠蛋白的主要抑制因子,其表达下调可诱导 β-地贫红细胞中 γ-珠蛋白的生成,提示 SOX6 是改善 β-地贫贫血的潜在靶点。FORNARI 等^[22]研究揭示,SOX6 基因是 miR-19a、miR-21、miR-23b、miR-324-3p 及 miR-590-5p 的靶基因。

除上述 3 个常见的作用靶点外,一些 miRNAs 还可以通过其他作用靶点调控 γ-珠蛋白生成。例如,miR-34a 通过沉默信号传导和转录激活因子 3 (STAT3)表达间接激活 γ-球蛋白生成。尽管上述 miRNAs 在 β-地贫中的作用靶点不同,但均具有上调 γ-珠蛋白生成的能力,表明这些 miRNAs 是 β-地贫治疗潜在的生物标志物,将来可以通过控制这些 miRNAs 的表达达到治疗 β-地贫的目的。

2.1.2 下调 γ-珠蛋白生成的 miRNAs miRNAs 可以通过靶向相关蛋白或转录因子下调 γ-珠蛋白的表达。例如,miR-96 通过直接靶向 γ-珠蛋白基因的开

放阅读框降低 γ-珠蛋白的表达,与上述 BCL11A 直接抑制因子 miR-486-3p 不同的是,miR-96 的表达与年龄呈正相关^[16]。β-地贫患者红细胞生成过程中 miR-503 基本不表达,导致其靶向的细胞分裂周期素 25A (CDC25A)呈持续高表达,引起红细胞过度生长及 γ-珠蛋白表达下降。miR-150 是被铁蛋白重亚基调控的一种 miRNA,能够明显降低一系列红系特异性基因表达,包括 α-珠蛋白和 γ-珠蛋白。SRINOUN 等^[23]研究发现,miR-144 调控 Nrf2 对于改善 β-地贫红细胞 OS 耐受性十分重要。且 miR-144 能介导 Nrf2 基因沉默抑制 HbF 表达,而敲低 miR-144 可以上调 γ-珠蛋白表达。

miRNAs 除靶向调控 γ-珠蛋白生成外,还通过其他方式在 β-地贫中发挥调节作用。例如,SRINOUN 等^[24]研究发现,β-地贫/HbE 中激活 BTB-CNC 异体同源体 1(Bach1)可以促进单核细胞中 miR-155 的表达,增强单核细胞的吞噬活性,加速对异型红细胞的清除。杭筱等^[25]研究发现,miR-144/451 参与调控红细胞中 TfR1 的表达,改变其在造血细胞铁摄取与分化中的正常功能,从而影响红细胞的生成。有研究发现,miR-let-7d 通过靶向二价金属离子转运蛋白 1 (DMT1)、miR-200b 通过靶向 TfR1、miR-122 通过靶向隐藏域蛋白(HFE)和铁调素调节蛋白(HJV)在 β-地贫患者体内铁代谢循环中表达异常^[26]。表明这些 miRNAs 具有评估 β-地贫患者铁负荷的价值,以及作为治疗铁过载潜在靶点的可能性。上述 miRNAs 可作为 β-地贫外周血潜在生物标志物,为患者治疗提供新的靶点并带来新曙光,通过调节这些 miRNAs 的表达,可以达到缓解 β-地贫贫血症状的效果。

表 1 与 β-地贫相关的 miRNAs 及其靶分子和生物学功能

miRNAs 名称	靶分子	生物学功能	参考文献
miR-486-3p、let-7、miR-30a	BCL11A	上调 γ-珠蛋白生成	[16-19]
miR-15a、miR-16-1	MYB	上调 γ-珠蛋白生成	[16]
miR-326	KLF1	上调 γ-珠蛋白生成	[20]
miR-2355-5p	KLF6	上调 γ-珠蛋白生成	[21]
miR-19a、miR-21、miR-23b、miR-324-3p、miR-590-5p	SOX6	上调 γ-珠蛋白生成	[22]
miR-96	γ-珠蛋白基因开放阅读框	下调 γ-珠蛋白生成	[16]
miR-144	Nrf2	介导 Nrf2 基因沉默、抑制 HbF 表达	[23]
miR-155	Bach1	促进单核细胞吞噬异型红细胞	[24]
miR-144/451	TfR1	调控 TfR1 表达	[25]
miR-let-7d、miR200b、miR-122	DMT1、TfR1、HJV、HFE	参与铁代谢循环	[26]

2.2 长链非编码 RNA(lncRNAs) 研究者把长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA 统称为 lncRNAs。lncRNAs 在 20 世纪一直被认为是一种转录“噪声”,

随着新一代测序技术的出现,已有许多 lncRNAs 被挖掘出在疾病中异常表达并参与了各种生理、病理过程。LAI 等^[15]通过对 β-地贫中异常表达的 lncRNAs

和 miRNAs 与相关 ceRNA 网络进行分析发现, NR_001589、NR_120526 和 NR_120526 的表达与 HbF 水平呈正相关, 这 3 种 lncRNAs 可作为诱导 HbF 表达的修饰因子, 是 β -地贫中提高 HbF 水平的潜在治疗靶点。

MA 等^[27]使用微阵列分析 β -地贫 lncRNAs 表达谱, 筛选出 5 个表达差异最明显的 lncRNAs, 包括 DQ583499、X-inactive specific transcript、lincRNA-TPM1、MRFS16P 和 lincRNA-RUNX2-2, 后续验证发现, 这些 lncRNAs 与 β -地贫的多种临床表型有关。MORRISON 等^[28]研究发现, HBS1L-MYB 增强子区的 lncRNA-HMI 在调节血红蛋白表达中发挥着重要作用, 其下调导致 HbF 表达水平明显增加, lncRNA-HMI 可能是 β -地贫中诱导 HbF 治疗的潜在靶点。

血红蛋白亚基 β 假基因 1 (HBBP1) 基因定位于 11 号染色体短臂 1 区 5 带 4 亚带位置, 来源于编码 β -珠蛋白共同的一段假基因序列。MA 等^[29]通过全基因组分析发现, HBBP1 是一种高表达的红系特异性 lncRNA, 通过结合 RNA 结合蛋白与核糖核蛋白 A1 上调 TAL bHLH 转录因子 1 (TAL1), 从而对红细胞生成起至关重要的作用, 并且发现 HBBP1/TAL1 二者相互作用可以减轻 β -地贫患者的贫血症状。此外, 有研究也证实, HBBP1 通过增强红细胞分化因子 ELK1 的表达诱导 γ -珠蛋白生成^[30], 提示 HBBP1 可能作为 β -地贫外周血潜在生物标志物及新的诊断及治疗靶点。

2.3 环状 RNA (circRNAs) circRNAs 是一种特殊的、无 5' 帽和 3' 尾的非编码 RNA, 由 mRNA 反向剪接形成共价闭合环状结构的 RNA 分子。前期研究者普遍认为 circRNAs 是基因异常剪接的产物, 但随着新一代测序技术和生物信息学技术的不断发展, 大量 circRNAs 被发现在疾病中异常表达尤其是代谢性疾病。而在 circRNAs 的众多生物学功能中最受关注的是充当 miRNAs 海绵作用, 是指 circRNAs 通过海绵吸附 miRNAs, 竞争性结合 miRNAs 与靶基因的结合位点, 解除 miRNAs 对靶基因的抑制作用。有研究发现, 一种 circRNA 可以海绵吸附高达几十种不同的 miRNAs 而执行不同的生物学功能, 而多种不同的 circRNAs 也可以海绵吸附同一种 miRNA 而发挥相同的生物学功能^[31]。

有研究发现, 部分 circRNAs 能够与核糖体结合并且可以翻译出有效蛋白质。由于 circRNAs 具有特殊的环状结构, 使其比 mRNA 更具稳定性, 不易降解^[32]。WESSELHOEFT 等^[32]通过环化 pre-mRNA 构建出外源性 circRNAs, 以此延长 mRNA 中蛋白表达的持续时间, 发现通过高效液相色谱纯化的外源性 circRNAs 在蛋白质生成与稳定性方面较 mRNA 更好, 不仅进一步证实了 circRNAs 的蛋白编码能力, 还提示 circRNAs 有望代替 mRNA 行使相关生物学功能。尽管如此, 目前有关 circRNAs 编码蛋白质的研

究相对较少见, 还有待于进一步探索。

β -地贫中有关 circRNAs 的研究较少见, 但是通过 circRNAs 充当 miRNA 海绵作用可以推测 circRNAs 在 β -地贫中的生物学功能。周献青等^[33]采用基因芯片检测地贫患者外周血中异常表达的 circRNAs, 随后采用实时荧光定量 PCR 验证了部分差异表达倍数排名前 10 位的 circRNAs 的相对表达水平, 主要包括 circRNA_001496 与 circRNA_100790, 其表达水平趋势与基因芯片检测结果一致, 表明地贫患者外周血中存在大量异常表达的 circRNA, 提示 circRNAs 异常表达与 β -地贫具有一定的相关性, 可能是 β -地贫新的生物标志物和精准治疗靶点。

3 小结与展望

β -地贫作为世界上最常见的单基因遗传性疾病之一, 地域分布范围十分广阔, 致病基因携带人群众多, 并且具有不同程度的临床症状, 其致病机制的研究一直受到广泛关注。21 世纪以来, 随着 β -地贫发生和发展机制研究的不断深入, 其临床治疗手段得以更新和逐渐完善, 越来越多与 β -地贫相关的生物标志物被报道出来。本文系统概括了 β -地贫患者外周血中蛋白质和非编码 RNA 这两大类潜在的生物标志物, 从疾病发生、临床治疗策略、并发症预测及预后状态监测等角度说明了上述标志物在 β -地贫中的重要临床意义。尽管如此, 目前许多上述标志物的研究还停留在表达异常分析阶段, 相关功能机制还没有得到阐明。为此, 未来还需要扩大临床样本量验证这些标志物在 β -地贫中的诊断与预后价值, 以及探索更多有价值的外周血生物标志物, 以期更好地进行 β -地贫的诊断、治疗及预防。

参考文献

- [1] TAHER A T, WEATHERALL D J, CAPPELLINI M D. Thalassaemia[J]. Lancet, 2018, 391(10116): 155-167.
- [2] LI H, CHOESANG T, BAO W, et al. Decreasing TfR1 expression reverses anemia and hepcidin suppression in β -thalassemic mice[J]. Blood, 2017, 129(11): 1514-1526.
- [3] WANG S, HE X, WU Q, et al. Transferrin receptor 1-mediated iron uptake plays an essential role in hematopoiesis[J]. Haematologica, 2020, 105(8): 2071-2082.
- [4] KAWABATA H. Transferrin and transferrin receptors update[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 133: 46-54.
- [5] RAY R, KALANTRI S A, BHATTACHARJEE S, et al. Association of alpha hemoglobin-stabilizing protein (AHSP) gene mutation and disease severity among HbE-beta thalassemia patients[J]. Ann Hematol, 2019, 98(8): 1827-1834.
- [6] HAN G, CAO C, YANG X, et al. Nrf2 expands the intracellular pool of the chaperone AHSP in a cellular model of β -thalassemia[J]. Redox Biol, 2022, 50: 102239.
- [7] MATHANGASINGHE Y, FAUVET B, JANE S M, et al.

- The Hsp70 chaperone system; distinct roles in erythrocyte formation and maintenance [J]. *Haematologica*, 2021, 106 (6):1519-1534.
- [8] LEVIN C, KOREN A, REBIBO-SABBAH A, et al. Extracellular vesicle characteristics in β -thalassemia as potential biomarkers for spleen functional status and ineffective erythropoiesis[J]. *Front Physiol*, 2018, 9:1214.
- [9] ODAMANAL I, AYÇIÇEK A, ERSOY G, et al. Thiol disulfide homeostasis and ischemia-modified albumin level in children with beta-thalassemia[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2019, 41(7):e463-e466.
- [10] SETOODEH S, KHORSAND M, TAKHSHID M A. The effects of iron overload, insulin resistance and oxidative stress on metabolic disorders in patients with β -thalassemia major[J]. *J Diabetes Metab Disord*, 2020, 19 (2):767-774.
- [11] KURTOGLU A U, KOÇTEKIN B, KURTOGLU E, et al. Expression of CD55, CD59, and CD35 on red blood cells of β -thalassaemia patients[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2017, 42(1):78-84.
- [12] 黄映红, 颜慕霞, 陈卓瑶, 等. 重型 β 地中海贫血患儿外周血红细胞 CD55 和 CD59 表达水平检测的意义[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2019, 27(3):268-270.
- [13] 梁海媚, 龙媛, 董海群, 等. 蛋白 C、蛋白 S 及抗凝血酶 III 活性在 β 地中海贫血患者中检测的意义[J]. *广西医科大学学报*, 2020, 37(5):902-906.
- [14] PALLEWAR T S, SHARMA K, SHARMA S, et al. Endothelial activation markers in polytransfused children with beta thalassemia; study from a tertiary care centre in india[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2022, 38(1): 178-183.
- [15] LAI K, JIA S, YU S, et al. Genome-wide analysis of aberrantly expressed lncRNAs and miRNAs with associated co-expression and ceRNA networks in β -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30):49931-49943.
- [16] ELTAWHEEL N H, ELKAMAH G Y, KHAIRAT R, et al. Thiol disulfide homeostasis and ischemia-modified albumin level in children with beta-thalassemia[J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2021, 19(1):51.
- [17] DE VASCONCELLOS J F, BYRNES C, LEE Y T, et al. Tough decoy targeting of predominant let-7 miRNA species in adult human hematopoietic cells [J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1):169.
- [18] WANG H, CHEN M, XU S, et al. Abnormal regulation of microRNAs and related genes in pediatric β -thalassemia [J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(9):e23945.
- [19] GHOLAMPOUR M A, ASADI M, NADERI M, et al. MiR-30a regulates γ -globin expression in erythroid precursors of intermedia thalassemia through targeting BCL11A[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(5):3909-3918.
- [20] LI Y, LIU D, ZHANG X, et al. miR-326 regulates HbF synthesis by targeting EKLF in human erythroid cells [J]. *Exp Hematol*, 2018, 63:33-40.
- [21] CHENG Y, SHANG X, CHEN D, et al. MicroRNA-2355-5p regulates γ -globin expression in human erythroid cells by inhibiting KLF6 [J]. *Br J Haematol*, 2021, 193(2): 401-405.
- [22] FORNARI T A, LANARO C, ALBUQUERQUE D M, et al. Featured article; modulation of fetal hemoglobin in hereditary persistence of fetal hemoglobin deletion type-2, compared to Sicilian $\delta\beta$ -thalassemia, by BCL11A and SOX6-targeting microRNAs [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(3):267-274.
- [23] SRINOUN K, SATHIRAPONGSASUTI N, PAIBOONS UKWONG K, et al. MiR-144 regulates oxidative stress tolerance of thalassemic erythroid cell via targeting NRF2[J]. *Ann Hematol*, 2019, 98(9):2045-2052.
- [24] SRINOUN K, NOPPARATANA C, WONGCHANC HAI LERT M, et al. MiR-155 enhances phagocytic activity of β -thalassemia/HbE monocytes via targeting of BACH1[J]. *Int J Hematol*, 2017, 106(5):638-647.
- [25] 杭筱, 王方方, 凌玲, 等. miR-144/451 对红细胞转铁蛋白受体 1 调控作用的研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24 (1):46-49.
- [26] EL-KHAZRAGY N, MATBOULY S, HANNA D H, et al. Circulating miRNAs and tissue iron overload in transfusion-dependent β -thalassemia major: novel predictors and follow-up guide[J]. *Ann Hematol*, 2021, 100(12): 2909-2917.
- [27] MA J, LIU F, DU X, et al. Changes in lncRNAs and related genes in β -thalassemia minor and β -thalassemia major[J]. *Front Med*, 2017, 11(1):74-86.
- [28] MORRISON T A, WILCOX I, LUO H Y, et al. A long noncoding RNA from the HBS1L-MYB intergenic region on chr6q23 regulates human fetal hemoglobin expression [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2018, 69:1-9.
- [29] MA Y, LIU S, GAO J, et al. Genome-wide analysis of pseudogenes reveals HBBP1's human-specific essentiality in erythropoiesis and implication in β -thalassemia[J]. *Dev Cell*, 2021, 56(4):478-493.
- [30] MA S P, XI H R, GAO X X, et al. Long noncoding RNA HBBP1 enhances γ -globin expression through the ETS transcription factor ELK1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 552:157-163.
- [31] HSIAO K Y, LIN Y C, GUPTA S K, et al. Noncoding effects of circular RNA CCDC66 promote colon cancer growth and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(9): 2339-2350.
- [32] WESSELHOEFT R A, KOWALSKI P S, Anderson D G. Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2629.
- [33] 周献青, 张岳, 林华, 等. 地中海贫血患者血浆环状 RNA 的筛查及结果分析[J]. *海南医学*, 2020, 31(22):2906-2910.