遗传性血液病研究进展

李慧媛, 杨仁池*

中国医学科学院&北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020

* 联系人, E-mail: rcyang65@163.com

收稿日期: 2017-09-20; 接受日期: 2017-10-23; 网络版发表日期: 2017-12-14

中国医学科学院医学与健康科技创新工程(批准号: 2016-12M-1-002)和国家重点研发计划(批准号: 2016YFC0901503)资助

摘要 遗传性血液病是指遗传因素引起的血液系统造血功能紊乱的疾病, 主要包括遗传性红细胞系统疾病、遗传性白细胞系统疾病及遗传性出血性疾病几大类。这些疾病的诊断除了与其他血液病相似的基本检查外, 基因检测是最为准确的诊断标准, 但约有1/2的致病基因尚未被发现。目前, 大部分遗传性血液病主要是针对症状的替代疗法, 虽然可以很好地控制症状, 但不能根治疾病。由于基因治疗能对突变基因进行修复, 近年来其在遗传性血液病中的研究受到关注并取得了令人欣喜的成果, 但仍然不能彻底克服致癌性及持续表达等问题, 尚需进一步优化及研究。本文以地中海贫血、血小板无力症和血友病为代表, 简述目前遗传性血液病的研究进展及尚需解决的问题。

关键词 遗传性血液病, 地中海贫血, 血小板无力症, 血友病, 基因治疗

遗传性血液病是致病基因通过不同方式在代际间遗传而引起的疾病的总称, 包括白细胞、红细胞、血小板和凝血因子相关的各种疾病。有些地域分布不同发病率不同, 有些则没有种族或地域分布差异。其中, 地中海贫血是我国最为常见的遗传性血液病, 主要分布在南部地区。近年来, 随着二代基因测序技术的普遍应用及诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS cells)和转基因小鼠(*Mus musculus*)技术的发展, 遗传性血液病的基因突变及突变位点的功能逐渐被发现, 一方面进一步揭示了疾病发病机制, 另一方面为将来基因治疗提供了参考。目前, 血小板无力症是发病机制研究较为清楚的遗传性血液病之一, 且已经成为研究血小板功能和发育的一个重要人体模型。由于生命科学技术进展和制药业的发展等, 部

分遗传性血液病可以完全治愈, 有些虽然不能根治但是可以很好地控制症状, 患者生活质量可以和正常人无异。作为遗传性血液病, 尤其是单基因遗传病, 目前基因治疗的潜能受到大量关注, 且逐渐被认为是将来治疗遗传性疾病的主要策略。近年来, 血友病的基因治疗取得了令人欣喜的成绩。本文主要就这几种代表性的遗传性血液病进行探讨。

1 地中海贫血

地中海贫血(thalassemia, 简称地贫)是由于珠蛋白基因缺陷, 造成一种或多种珠蛋白肽链合成缺失或不足, 最终导致溶血性贫血的一类遗传性血红蛋白病, 临床上以 α 和 β 地贫最为常见。 α -地贫主要以 α 链合成

引用格式: 李慧媛, 杨仁池. 遗传性血液病研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1306-1312

Li H Y, Yang R C. Research progress of hereditary blood diseases (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1306-1312, doi: 10.1360/N052017-00271

基因的缺失型突变为主, 而 β 地贫主要为单核苷酸点突变、插入或小核苷酸序列的插入导致 β 珠蛋白基因重要功能区域的移码突变^[1], 大片段缺失情况并不常见. 另外, 由于基因突变导致地贫患者蛋白表达及细胞分化等也存在多种异常, 例如, (i) 由于贫血导致的代偿效应, β 地贫患者血浆中红系成熟相关miR-451及miR-155的表达明显上升^[2]; (ii) 重型、轻型 β 地贫患者及正常对照外周血细胞中长片段非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 及mRNA的表达各不相同, 提示这些差异可能与临床表现相关^[3]; (iii) 重型 β 地贫患者外周血中CD4⁺CD8⁺, CD4⁺CD8⁻ T及NKT细胞比例明显增加, 考虑这可能是重型 β 地贫患者易发生感染的原因^[4]; (iv) β 地贫患者红细胞发育过程中自噬现象明显升高^[5].

地贫的常规治疗方案是输血辅以去铁治疗, 必要时考虑脾栓塞或切脾的手术. 另外, 通过植入正常造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)产生正常血红蛋白复合物是目前能根治地贫的唯一手段, 且越早移植效果越好, 长期有效率能达90%以上^[6]. 然而, 部分研究者提出由于缺乏完全随机对照及半随机对照临床实验, 无法准确评估异基因移植治疗不同亚型 β 地贫患者的有效性及安全性^[7]. 更令人惊讶的是, 最新一项长达30年的HSC移植后长期随访研究发现考虑到排斥及严重移植物抗宿主病等不良事件的影响, HSC移植患者长期随访后总生存率与传统治疗的患者并无明显差异^[8], 因而考虑移植时要综合评估移植获得的收益及风险.

由于HSC移植成本较高, 找到HLA相合供者较难, 一定程度上限制了移植HSC疗法的应用. 因而, 急需其他能有效治愈地贫的替代方案出现. 基因调控治疗能从根本上解除病因从而改善症状, 2010年, Cavazzana-Calvo等人^[9]采集一例 β 型地贫患者HSC, 体外整合正常 β 珠蛋白基因后回输至患者体内, 促进正常 β 珠蛋白表达, 使患者3年免除输血, 该研究让研究者看到了基因治疗地贫的希望. 同时, 近年来基因编辑技术的发展解决了同源重组及慢病毒可能激活原癌基因等问题, 极大地促进了基因治疗的发展. 目前常用的策略有直接编辑 β 珠蛋白基因(hemoglobin beta gene, *HBB*)的缺陷或间接操控其余珠蛋白表达. 直接编辑方面, 研究者通过CRISPR-Cas9技术离体纠正 β 血红蛋白病患者来源HSC中的*HBB*异常, 进而促进患者来源

HSC在红系分化的过程中能有效地表达 β 珠蛋白^[10]; 或采用碱基编辑技术直接纠正人类胚胎中*HBB*-28基因突变, 进而阻止胎儿发生 β 地贫^[11]. 间接方面, 研究者通过CRISPR-Cas9技术去除 β 型地贫患者HSC细胞中的 α 珠蛋白增强子MCS-R2, 造成 α 珠蛋白减少^[12]; 或采用锌指核酸酶技术在 β 地贫患者红系祖细胞*SOX6*基因结合域上引入插入缺失标记进而活化胎儿血红素的表达^[13], 最终改善患者体内珠蛋白链不平衡状态, 达到治疗 β 型地贫的目的. 此外, 目前临床上还通过药物活化进行基因治疗, 例如, 通过去甲基酶及丁酸钠激活 γ 珠蛋白合成, 在功能上代偿体内 β 珠蛋白不足, 缓解临床症状^[14,15].

伴随分子生物学技术的发展, 数字PCR、高分辨率溶解曲线分析、探针等技术开始用于地贫的人群筛查及产前诊断, 极大地提高了精确度及诊断速度, 同时降低了DNA量的需求^[16,17], 最终通过优生指导, 有效降低重型地贫患儿的出生率, 从根本上减轻家庭与社会的压力和负担.

2 血小板无力症

血小板无力症由Glanzmann首先报告, 故称为GT (Glanzmann thrombasthenia). GT是由于血小板膜糖蛋白GP II b/IIIa复合物的量变及质变导致纤维蛋白原不能结合到血小板表面, 从而影响了正常止血过程.

传统观点认为GT为常染色体隐性遗传病, 整合素GP II b或GPIIIa编码基因*ITGA2B*和*ITGB3*的突变是引发GT的根本原因. 目前已发现的突变类型登记在国际GT在线数据库中(<https://glanzmann.mcw.edu>). 突变类型包括碱基缺失、插入、倒置、转换导致的移码、无义及错义突变等, 罕见大的基因缺失^[18]. 其中, 错义突变最为常见, 它们主要影响蛋白加工, 最近也有研究显示这些突变改变外显子剪切调节序列进而造成剪切失败^[19]. 另外, 碱基插入或缺失造成的无义突变也较普遍, 这些突变会伴随剪切异常, 进而造成截断蛋白及mRNA的不稳定^[20]. 最终, 任何一个亚基的突变都会影响GP II b/IIIa复合物的形成或转运, 进而阻止纤维蛋白原与血小板结合, 造成凝血异常. 而无法形成复合物的GP II b及GPIIIa被蛋白酶降解. 近年来, 为期8年的关于GT基因突变筛查的国际研究“Genoscope study”发现GT患者基因突变谱是在不断更新的, 这可

能是由于GP II b/IIIa复合物结构不断变化而造成, 这种变化模式符合达尔文定律^[21]. 由于正常血小板表面GP II b/IIIa复合物拷贝数大约为100000, 且个体间表达差异约为2倍, 因而携带治病基因的杂合子个体能表达50%功能正常的GP II b/IIIa复合物, 足以支持正常止血过程, 通常不发病^[20]. 值得注意的是, 本研究组最近研究发现, 患者中除了GP II b/IIIa基因突变的纯合子之外, 还有部分是双重杂合突变. 另外, 除了常见的隐性遗传突变外, 近年来一些GT相关的罕见常染色体显性突变也逐渐被报道^[22-24], 这些突变一方面会通过促进受体内化导致血小板及巨核细胞表面GP II b/IIIa复合物表达下降; 另一方面造成GP II b/IIIa复合物的持续活化, 引发outside-in信号, 进而引起细胞骨架的重建损伤, 最终造成血小板功能异常及前体血小板生成损伤, 引发血小板减少并伴有巨大血小板, 因而这部分病人表现为血小板数量及功能均异常^[25]. 此外, GP II b/IIIa复合物活化时GPIIIa胞浆段结合蛋白Kindlin-3^[26]及血小板活化钙离子信号重要调节蛋白CalDAG-GEFI^[27,28]的突变也会造成GT类似的疾病症状.

受基因突变的影响, GT患者体内血小板相关蛋白表达也存在异常. 研究者最近检测了2位由于纯和ITGA2B突变导致I型GT患者的血小板蛋白表达谱, 发现GT患者凝血因子XIII B链、血纤维蛋白溶酶原等的表达消失或下降, 提示这些蛋白的表达异常与血小板功能异常相关^[29].

目前GT主要治疗是止血和支持对症处理. 血小板输注是最为有效和主要的止血方法, 然而, 最近有研究显示, GT患者血小板能与输注血小板竞争, 进而降低输注血小板的止血功能, 因而研究者建议临床医生选择大剂量血小板进行输注, 以稀释GT患者的血小板^[30]. 另外, 由于rFVIIa能与血小板表面结合进而促进IX及X因子活化, 促进凝血酶的产生, 进而增强血小板的黏附及聚集, 近年也开始用于GT治疗. 多项相关临床研究实验结果显示, rFVIIa在GT患者出血治疗及预防上有效性和安全性均较高. 尤其当患者血小板输注无效或产生抗血小板抗体时, rFVIIa是一个很好的选择^[31-33].

除了这些常规治疗方式外, 其他治疗方案还有HSC移植及基因治疗等. 对于反复严重出血, 且血小板输注无效的患者HSC移植是一种有效的治疗选择, 但由于GT患者在接受HSC移植后可能产生抗GP II b/IIIa

抗体且骨髓移植本身风险很大, 因而考虑这种措施时需要充分权衡利弊^[34]. 另外, 随着基因治疗的兴起, 其在GT中的治疗潜能近十年来受到大量关注. 目前, 多位研究者通过分子生物学的方法将GP II b/IIIa亚基转染HSC, 并移植入实验动物, 进而诱导实验动物血小板表面表达正常GP II b/IIIa复合物^[35], 此外, 诱导患者iPS, 体外分化为血小板后过表达CD41^[36], 最终成功部分纠正血小板功能异常. 然而, 目前这些研究尚停留在实验阶段, 将来临床应用还需要考虑抗体产生的可能性以及病毒载体致癌危险.

3 血友病

血友病是一种X染色体连锁的隐性遗传出血性疾病, 其发病原因是由于编码凝血因子的基因突变导致血浆中相应的凝血因子合成减少或者功能缺陷. 其中凝血因子VIII (FVIII)缺乏称为血友病A (hemophilia A, HA), 凝血因子IX (FIX)缺乏称为血友病B (hemophilia B, HB). 血友病患者基本是男性. 然而, 有些女性致病基因携带者由于偏移的X染色体失活也会出现出血症状^[37]. 常见的基因突变包括基因重排、点突变造成的错义突变、无义突变、拼接位点的改变或消失、大小片段的缺失及插入等.

凝血因子的替代治疗是目前治疗和预防出血的最主要策略. 近年来, 研究者通过将基因重组凝血因子与Fc受体/白蛋白融合表达或PEG聚合化法进行改进, 得到半衰期较长的长效重组蛋白来源凝血因子, 解决常规凝血因子需要频繁注射的问题. 目前部分产品已逐渐进入临床使用(如AFSTYLATM rFVIII, RIXUBISTM rFIX, IDELVIONTM rFIX-FP等)^[38]. 然而, 伴随着替代治疗的广泛应用, 治疗相关FVIII抑制物的产生成为替代治疗最主要的问题, 它不仅增加了治疗难度, 同时也增加了患者的致残率和死亡率^[39].

研究表明, 患者抑制物发生的危险因素包括遗传和非遗传两大主要因素. 遗传因素目前公认的主要有FVIII基因突变、种族、家族史及免疫相关基因的多态性等. 这些因素可能造成部分HA患者在接触FVIII制品前血浆中就含有抗FVIII非中和抗体, 这部分携带抗体的患者将来替代治疗过程中更容易出现抑制物^[40]. 此外, 关于携带抑制物患者全外显子组测序研究结果发现多个免疫调节相关分子的有害突变及LCT基因

rs3754689的错义突变易导致抑制物的产生^[41]。非遗传因素包括外伤史、暴露日、输注剂量和药物品种及治疗策略等。流行病学证据显示,对于先前未接受过治疗的患者在接受重组人FVIII(rFVIII)输注后,不同rFVIII产品抑制物的产生比例不同^[42,43];二代rFVIII抑制物产生率大于三代产品^[44];rFVIII制品抑制物发生率明显高于使用血浆源性FVIII制品(pdFVIII)的患者^[45]等。那么是什么原因导致不同来源FVIII及不同种类rFVIII抑制物的产生率不同呢?研究者推测这主要是由于不同产品FVIII免疫原性不同所造成,而FVIII制品的免疫原性主要由以下5个方面决定^[46]:(i)FVIII编码序列的异质性可能引入抗原反应,尤其是pdFVIII来源不同供者,SNP的存在可能引发患者对FVIII的免疫反应。(ii)FVIII的翻译后修饰。例如,rFVIII的Tyr1680位点不完全硫酸盐化,以及非人细胞系产生rFVIII的翻译后修饰方式与人不同等都会增加其免疫原性。(iii)血管性血友病因子(vWF)。vWF能促进调节性T细胞(Treg)产生,进而下调FVIII与树突细胞的接触。(iv)产品稳定剂的应用。第二代产品培养体系中含有人血白蛋白,第三代产品在任何阶段均不含人或动物血浆来源的蛋白,因此在重组制品中安全性最高。(v)抗原竞争与旁路抑制。由于抗原竞争的存在,FVIII在注射期间尽量避免接受疫苗接种;另外,pdFVIII其他蛋白成分会活化体内特异性Treg,进而抑制FVIII引起的CD4⁺T细胞活化。基于旁路抑制机理,研究者构建FVIII特异性嵌和抗原受体(ASN8CAR),将其转到Treg上制备ASN8CAR-Treg,通过促进旁路抑制减少抑制物的产生^[47]。

血友病基因治疗近年来也取得了不错的进展。至目前为止,临床试验中首次采用基因治疗成功治愈血友病的案例是Nathwani等人^[48]将携带密码子优化FIX基因的AAV8载体通过外周静脉注射的方式注射到6名未产生抑制物的重型HB患者中进行基因治疗,结果所有患者FIX表达均明显上调,达到治疗水平,其中两位高剂量注射患者虽然产生了针对病毒的免疫清除反应,但短期注射糖皮质激素之后能抑制这种免疫反应,并未使转基因表达丢失。之后研究者延长观察周期至3年,且增加了高剂量组患者人数,也得到了类似的结果^[49]。在最近国际血栓与止血会议上,有多个研究组报道将携带密码子优化的FIX基因的AAV5载

体或携带FIX R318L功能获得转基因的AAV8载体注射到中重度及重度HB患者后,能明显提高血浆FIX水平,且并未发现抗病毒抗体,展现了基因治疗的潜能。另外,近年来研究者还通过采用基因编辑技术原位修复致病基因的点突变^[50],或将目的基因敲入到指定的表达水平较高的基因位点(如血清白蛋白基因位点),异位表达凝血因子基因^[51]的办法来增加患者FVIII的表达。这些方法并未引入外源性的启动子,因而排除了外源启动子激活原癌基因的风险。除此之外,随着iPS技术的兴起,由于iPS的无免疫原性及无限扩增潜能,使得分选血友病患者外周血单个核细胞,诱导iPS后进行基因编辑并筛选出基因修复后细胞,体外诱导分化为HSC、内皮或肝细胞之后移植回病人体内的治疗策略成为未来基因治疗的趋势。基于此思路,Liang研究组^[52]及Kim研究组^[53]分别采用TALEN及CRISPR-Cas9技术成功原位修复父母来源iPS中FVIII因子22号内含子的倒位。Yakura等人^[54]将血小板因子PF4-FVIII表达元件导入HA小鼠来源的iPS细胞系中。当iPS细胞分化为巨核细胞/血小板后,可在PF4启动子的驱动下合成FVIII。修复的iPS细胞也可在体外分化为内皮祖细胞后将其植入HA小鼠,其FVIII表达水平在3个月内达到正常水平的8%~12%。

4 结语

很多遗传性疾病都是由于基因缺陷引起的,因而采用二代测序方法积极绘制疾病突变频谱,一方面进行突变相关的临床资料分析,能明显提高临床的诊疗水平;另一方面积极开展人群普查和遗传咨询,做好婚前指导和产前诊断,能最大程度降低遗传学血液病患儿的出生率,从根本上减轻家庭与社会的压力和负担。此外,基因治疗是将发生异常的基因进行修正而实施治疗的方法,理论上它能从根本上治愈遗传性疾病。因而突变谱的绘制能进一步明确遗传性血液病的分子机制,为实施基因治疗提供前提。目前,虽然基因治疗技术还存在致癌性及难以维持持续表达等问题,但已在各方面显示出它的优越性。随着基因编辑技术、基因表达调控体系及靶细胞的进一步优化,相信基因治疗会为治疗遗传性血液病带来曙光。

参考文献

- 1 Giardine B, Borg J, Viennas E, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. *Nucl Acids Res*, 2014, 42: D1063–D1069
- 2 Leecharoenkiat K, Tanaka Y, Harada Y, et al. Plasma microRNA-451 as a novel hemolytic marker for β 0-thalassemia/HbE disease. *Mol Med Rep*, 2017, 15: 2495–2502
- 3 Ma J, Liu F, Du X, et al. Changes in lncRNAs and related genes in β -thalassemia minor and β -thalassemia major. *Front Med*, 2017, 11: 74–86
- 4 Zahran A M, Saad K, Elsayh K I, et al. Characterization of circulating CD4⁺ CD8⁺ double positive and CD4⁺ CD8⁺ double negative T-lymphocyte in children with β -thalassemia major. *Int J Hematol*, 2017, 105: 265–271
- 5 Wu L, Xu W, Xu L, et al. Mitophagy is increased during erythroid differentiation in β -thalassemia. *Int J Hematol*, 2017, 105: 162–173
- 6 Srivastava A, Shaji R V. Cure for thalassemia major—from allogeneic hematopoietic stem cell transplantation to gene therapy. *Haematologica*, 2017, 102: 214–223
- 7 Jagannath V A, Fedorowicz Z, Al Hajeri A, Sharma A. Hematopoietic stem cell transplantation for people with β -thalassaemia major. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 11: CD008708
- 8 Caocci G, Orofino M G, Vacca A, et al. Long-term survival of beta thalassemia major patients treated with hematopoietic stem cell transplantation compared with survival with conventional treatment. *Am J Hematol*, 2017, 92: 1303–1310
- 9 Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, et al. Transfusion independence and *HMG2* activation after gene therapy of human β -thalassaemia. *Nature*, 2010, 467: 318–322
- 10 Dever D P, Bak R O, Reinisch A, et al. CRISPR/Cas9 β -globin gene targeting in human haematopoietic stem cells. *Nature*, 2016, 539: 384–389
- 11 Liang P, Ding C, Sun H, et al. Correction of β -thalassemia mutant by base editor in human embryos. *Protein Cell*, 2017, 8: 811–822
- 12 Mettananda S, Fisher C A, Hay D, et al. Editing an α -globin enhancer in primary human hematopoietic stem cells as a treatment for β -thalassemia. *Nat Commun*, 2017, 8: 424
- 13 Modares M, Shariati L, Hejazi Z, et al. Inducing indel mutation in the *SOX6* gene by zinc finger nuclease for gamma reactivation: an approach towards gene therapy of beta thalassemia. *J Cell Biochem*, 2017, in press doi: 10.1002/jcb.26412
- 14 Shi L, Cui S, Engel J D, et al. Lysine-specific demethylase 1 is a therapeutic target for fetal hemoglobin induction. *Nat Med*, 2013, 19: 291–294
- 15 Tayebi B, Abrishami F, Alizadeh S, et al. Modulation of microRNAs expression in hematopoietic stem cells treated with sodium butyrate in inducing fetal hemoglobin expression. *Artif Cells Nanomed Biotech*, 2017, 45: 146–156
- 16 Lee T H, Hsu Y C, Chang C L. Detection of SEA-type α -thalassemia in embryo biopsies by digital PCR. *Taiwanese J Obstetrics Gynecol*, 2017, 56: 487–494
- 17 Charoenkwan P, Sirichotiyakul S, Phusua A, et al. High-resolution melting analysis for prenatal diagnosis of beta-thalassemia in northern Thailand. *Int J Hematol*, 2017, 106: 757–764
- 18 Nurden A T, Pillois X, Fiore M, et al. Expanding the mutation spectrum affecting α IIB β 3 integrin in Glanzmann thrombasthenia: screening of the *ITGA2B* and *ITGB3* genes in a large international cohort. *Hum Mutat*, 2015, 36: 548–561
- 19 Sandrock-Lang K, Oldenburg J, Wiegering V, et al. Characterisation of patients with Glanzmann thrombasthenia and identification of 17 novel mutations. *Thromb Haemost*, 2015, 113: 782–791
- 20 Nurden A T, Fiore M, Nurden P, et al. Glanzmann thrombasthenia: a review of *ITGA2B* and *ITGB3* defects with emphasis on variants, phenotypic variability, and mouse models. *Blood*, 2011, 118: 5996–6005
- 21 Pillois X, Nurden A T. Linkage disequilibrium amongst *ITGA2B* and *ITGB3* gene variants in patients with Glanzmann thrombasthenia confirms that most disease-causing mutations are recent. *Br J Haematol*, 2016, 175: 686–695
- 22 Bury L, Malara A, Gresele P, et al. Outside-in signalling generated by a constitutively activated integrin α IIB β 3 impairs proplatelet formation in human megakaryocytes. *PLoS ONE*, 2012, 7: e34449
- 23 Kobayashi Y, Matsui H, Kanai A, et al. Identification of the integrin β 3 L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant thrombocytopenia with anisocytosis. *Br J Haematol*, 2013, 160: 521–529
- 24 Hauschner H, Mor-Cohen R, Messineo S, et al. Abnormal cytoplasmic extensions associated with active α IIB β 3 are probably the cause for macrothrombocytopenia in Glanzmann thrombasthenia-like syndrome. *Blood Coagul Fibrinol*, 2015, 26: 302–308
- 25 Bury L, Falcinelli E, Chiasserini D, et al. Cytoskeletal perturbation leads to platelet dysfunction and thrombocytopenia in variant forms of Glanzmann thrombasthenia. *Haematologica*, 2016, 101: 46–56
- 26 Crazzolaro R, Maurer K, Schulze H, et al. A new mutation in the *KINDLIN-3* gene ablates integrin-dependent leukocyte, platelet, and osteoclast function in a patient with leukocyte adhesion deficiency-III. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62: 1677–1679
- 27 Canault M, Ghalloussi D, Grosdidier C, et al. Human CalDAG-GEFI gene (*RASGRP2*) mutation affects platelet function and causes severe

- bleeding. *J Exp Med*, 2014, 211: 1349–1362
- 28 Kato H, Nakazawa Y, Kurokawa Y, et al. Human CalDAG-GEFI deficiency increases bleeding and delays α IIb β 3 activation. *Blood*, 2016, 128: 2729–2733
 - 29 Lorocho S, Trabold K, Gambaryan S, et al. Alterations of the platelet proteome in type I Glanzmann thrombasthenia caused by different homozygous delG frameshift mutations in ITGA2B. *Thromb Haemost*, 2017, 117: 556–569
 - 30 Al-Battat S, Rand M L, Bouskill V, et al. Glanzmann thrombasthenia platelets compete with transfused platelets, reducing the haemostatic impact of platelet transfusions. *Br J Haematol*, 2017, in press doi: 10.1111/bjh.14623
 - 31 Recht M, Rajpurkar M, Chitlur M, et al. Independent adjudicator assessments of platelet refractoriness and rFVIIa efficacy in bleeding episodes and surgeries from the multinational Glanzmann's thrombasthenia registry. *Am J Hematol*, 2017, 92: 646–652
 - 32 Poon M C, d' Oiron R, Zotz R B, et al. The international prospective Glanzmann Thrombasthenia Registry: treatment and outcomes in surgical intervention. *Haematologica*, 2015, in press doi: 10.3324/haematol.2014.121384
 - 33 Di Minno G, Zotz R B, d'Oiron R, et al. The international prospective Glanzmann thrombasthenia registry: treatment modalities and outcomes in non-surgical bleeding episodes in Glanzmann thrombasthenia patients. *Haematologica*, 2015, in press doi: 10.3324/haematol.2014.121475
 - 34 Nurden A T, Pillois X, Wilcox D A. Glanzmann Thrombasthenia: state of the art and future directions. *Semin Thromb Hemost*, 2013, 39: 642–655
 - 35 Blickstein D, Dardik R, Rosenthal E, et al. Acquired thrombasthenia due to inhibitory effect of glycoprotein IIb/IIIa autoantibodies. *Isr Med Assoc J*, 2014, 16: 307–310
 - 36 Hu L, Du L, Zhao Y, et al. Modeling Glanzmann thrombasthenia using patient specific iPSCs and restoring platelet aggregation function by CD41 overexpression. *Stem Cell Res*, 2017, 20: 14–20
 - 37 Lyu C, Shen J, Zhang J, et al. The state of skewed X chromosome inactivation is retained in the induced pluripotent stem cells from a female with hemophilia B. *Stem Cells Dev*, 2017, 26: 1003–1011
 - 38 Pipe S W. New therapies for hemophilia. *Hematology*, 2016, 2016: 650–656
 - 39 Walsh C E, Soucie J M, Miller C H, et al. Impact of inhibitors on hemophilia a mortality in the United States. *Am J Hematol*, 2015, 90: 400–405
 - 40 Cannavò A, Valsecchi C, Garagiola I, et al. Nonneutralizing antibodies against factor VIII and risk of inhibitor development in severe hemophilia A. *Blood*, 2017, 129: 1245–1250
 - 41 Gorski M M, Blighe K, Lotta L A, et al. Whole-exome sequencing to identify genetic risk variants underlying inhibitor development in severe hemophilia A patients. *Blood*, 2016, 127: 2924–2933
 - 42 Calvez T, Chambost H, Claeysens-Donadel S, et al. Recombinant factor VIII products and inhibitor development in previously untreated boys with severe hemophilia A. *Blood*, 2014, 124: 3398–3408
 - 43 Collins P W, Palmer B P, Chalmers E A, et al. Factor VIII brand and the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated UK children with severe hemophilia A, 2000–2011. *Blood*, 2014, 124: 3389–3397
 - 44 Gouw S C, van der Bom J G, Ljung R, et al. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A. *N Engl J Med*, 2013, 368: 231–239
 - 45 Peyvandi F, Mannucci P M, Garagiola I, et al. A randomized trial of factor VIII and neutralizing antibodies in hemophilia A. *N Engl J Med*, 2016, 374: 2054–2064
 - 46 Lai J, Hough C, Tarrant J, et al. Biological considerations of plasma-derived and recombinant factor VIII immunogenicity. *Blood*, 2017, 129: 3147–3154
 - 47 Yoon J, Schmidt A, Zhang A H, et al. FVIII-specific human chimeric antigen receptor T-regulatory cells suppress T- and B-cell responses to FVIII. *Blood*, 2017, 129: 238–245
 - 48 Nathwani A C, Tuddenham E G D, Rangarajan S, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B. *N Engl J Med*, 2011, 365: 2357–2365
 - 49 Nathwani A C, Reiss U M, Tuddenham E G D, et al. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *N Engl J Med*, 2014, 371: 1994–2004
 - 50 Li H, Haurigot V, Doyon Y, et al. *In vivo* genome editing restores haemostasis in a mouse model of haemophilia. *Nature*, 2011, 475: 217–221
 - 51 Barzel A, Paulk N K, Shi Y, et al. Promoterless gene targeting without nucleases ameliorates haemophilia B in mice. *Nature*, 2015, 517: 360–364
 - 52 Wu Y, Hu Z, Li Z, et al. *In situ* genetic correction of F8 intron 22 inversion in hemophilia A patient-specific iPSCs. *Sci Rep*, 2016, 6: 18865
 - 53 Park C Y, Kim D H, Son J S, et al. Functional correction of large factor VIII gene chromosomal inversions in hemophilia A patient-derived iPSCs using CRISPR-Cas9. *Cell Stem Cell*, 2015, 17: 213–220
 - 54 Yakura Y, Ishihara C, Kurosaki H, et al. An induced pluripotent stem cell-mediated and integration-free factor VIII expression system. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 431: 336–341

Research progress of hereditary blood diseases

LI HuiYuan & YANG RenChi

State Key Laboratory of Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Hereditary blood diseases are disorders due to genetic factors, including hereditary red blood cell disorders, hereditary white blood disorders and hereditary bleeding disorders. These diseases can be diagnosed via gene analysis, but about half of pathogenic gene mutations of these kinds of diseases are still unknown. Currently, replacement therapies are the only effective management for the hereditary blood diseases and gene therapy may be the curative options. Recent years have found encouraging progress in gene therapy, while carcinogenesis and long-term expressions are the major concerns. In this paper, we review the recent progress and unmet needs in hereditary blood diseases.

hereditary blood diseases, thalassemia, Glanzmann thrombasthenia, hemophilia, gene therapy

doi: [10.1360/N052017-00271](https://doi.org/10.1360/N052017-00271)