



血红素是红细胞中必要辅基及关键调控者

刘金花, 高洁, 佟静媛, 李亚朴, 石莉红*

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: shilihongxys@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2017-10-17; 接受日期: 2017-11-17; 网络版发表日期: 2017-12-14

天津市应用基础面上项目(批准号: 15JCYBJC54500)、中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(批准号: 2016-12M-1-018, 2016-12M-3-002)和国家自然科学基金(批准号: 31471291, 81700105)资助

摘要 血红素不但能作为血红素蛋白的重要辅基参与细胞电子传递、送氧、酶作用等重要生理活动, 而且是红细胞稳态及分化的关键调控者. 本综述主要从3个方面小结了红细胞中血红素的研究进展. 首先, 在血红素生物合成方面, 介绍了血红素生物合成过程、其起始及中间产物的跨膜运输及调控机制的研究现状. 其次, 重点阐述了血红素作为红细胞稳态及分化的调控者对红系特异基因的转录调控、mRNA稳定性及翻译、蛋白稳定性、miRNA加工合成等过程的调控机制. 最后, 简单总结了血红素的合成异常导致的疾病及可能的治疗策略. 总之, 红细胞稳态的维持需要协调平衡血红素合成, 蛋白(尤其是珠蛋白)产生以及铁代谢等生物过程, 对它们调控关系的阐明有助于深入了解红细胞分化的调控机制, 同时也对红细胞相关疾病的研究及治疗有指导意义.

关键词 血红素, 红细胞, 分化调控, 卟啉症, 铁幼粒细胞性贫血

血红素是所有细胞的必要成分, 是血红蛋白、肌红蛋白、呼吸性细胞色素、细胞色素P450(CYP450)、过氧化物酶、过氧化氢酶、色氨酸吡咯酶、一氧化氮合成酶等的重要辅基, 参与血红素蛋白传递电子、送氧、酶作用等生理活动. 约85%的血红素在骨髓中合成, 主要用于满足红细胞中血红蛋白合成所需, 其余则主要在肝脏中合成, 用于合成细胞色素P450. 在红细胞中, 血红素与4个珠蛋白肽链(2个 α -, 2个 β -珠蛋白肽链)合成了血红蛋白, 为机体提供所需氧气. 研究表明, 红细胞分化过程中血红素含量与珠蛋白产量、铁含量等息息相关, 彼此制约, 互相平衡, 共同调控红细胞的稳态及分化. 本综述主要阐述血红素在红细胞中的合成及调控功能.

1 血红素的生物合成、调控及物质转运研究

1.1 血红素的生物合成过程

血红素是在骨髓中红系前体细胞和网织红细胞中合成的, 其合成反应过程目前研究得较为透彻, 分别由分布于线粒体和细胞质中的8个催化反应协作完成(图1)^[1]. 血红素生物合成的第一步是在线粒体中完成, 由 δ -氨基酮戊酸合成酶2 (δ -aminolevulinate synthase 2, ALAS2)催化甘氨酸(glycine)及琥珀酰辅酶A (succinyl-CoA)缩合成 δ -氨基酮戊酸(δ -aminolevulinate, ALA), 因此ALAS2也是红细胞血红素合成过程中的限速酶. δ -氨基酮戊酸合成后被转运出线粒体进入细胞质, 此后血红素合成的第二至第五步都

引用格式: 刘金花, 高洁, 佟静媛, 等. 血红素是红细胞中必要辅基及关键调控者. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1253–1263

Liu J H, Gao J, Tong J Y, et al. Heme is an essential prosthetic group and a key regulator during erythropoiesis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1253–1263, doi: 10.1360/N052017-00274

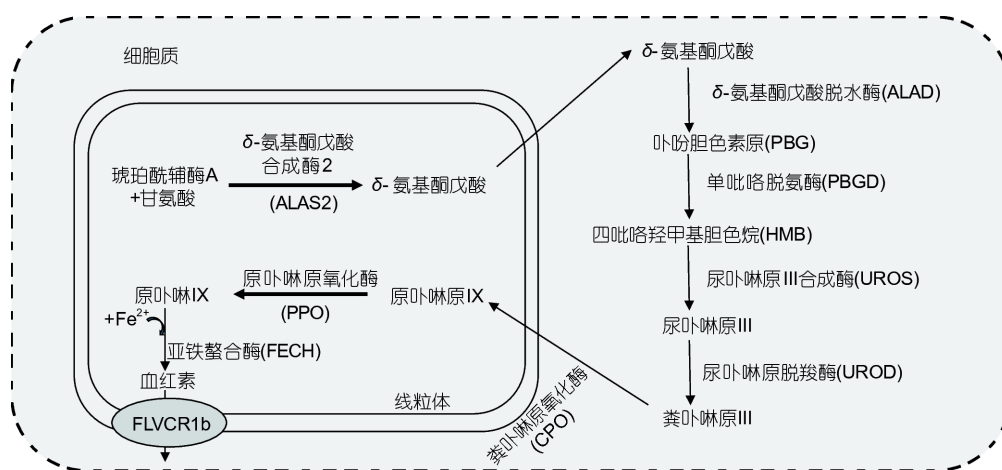


图1 血红素生物合成途径中的各种酶与中间代谢产物

是在细胞质内完成. 首先是delta-氨基酮戊酸被delta-氨基酮戊酸脱水酶(aminolevulinic acid dehydratase, ALAD)缩合形成单吡咯(porphobilinogen, PBG)^[2-4]; 其次, 4分子单吡咯头尾相连在细胞质单吡咯脱氨酶(porphobilinogen deaminase, PBGD)的作用下脱胺聚合形成线性的四吡咯羟甲基胆色烷(1-hydroxymethylbilane, HMB)^[4,5]; 接下来, 线性的四吡咯羟甲基胆色烷吡啉大环中的D环在尿卟啉原III合成酶(uroporphyrinogen III synthase, UROS)的作用下发生分子重排, 生成尿卟啉原III^[6,7]; 最后, 尿卟啉原脱羧酶(uroporphyrinogen decarboxylase, UROD)催化在尿卟啉原羧甲基侧链上的4个羧基基团依次脱落, 生成粪卟啉原^[8]. 至此完成了血红素在细胞质中的合成. 粪卟啉原氧化酶(coproporphyrinogen oxidase, CPO)位于哺乳动物线粒体内外膜间隙, 它能催化吡咯环A和B丙酸基团脱氢脱羧, 生成原卟啉原IX^[9]; 原卟啉原IX由线粒体内外膜间隙进入线粒体基质中, 在原卟啉原氧化酶(protoporphyrinogen oxidase, PPO)的作用下, 去掉6个氢原子, 形成原卟啉IX^[10]; 血红素合成的最后一步是由另一限速酶亚铁螯合酶(recombinant ferrochelatase, FECH)将铁离子插入原卟啉IX中, 生成了血红素^[11,12], 至此血红素的生物合成过程结束.

1.2 血红素生物合成过程的调控机制

虽然血红素合成的步骤研究的相对清楚, 但是每一步的调控机制仍然有待进一步研究. 目前仅对血红素合成过程中的限速酶ALAS2的调控研究较为深入,

其他酶的调控机制研究尚浅.

哺乳动物细胞中的ALAS有两种类型: 管家型ALAS1及红细胞中特异表达的ALAS2 (又命名为ALAS-E), 属于同工酶, 分别位于在人类基因组3p.21及Xp11.2^[13,14]. 在非红细胞中, ALAS1是血红素合成的限速酶. 血红素在转录水平、转录后水平及翻译后蛋白稳定性方面均可以负反馈调控ALAS1的表达^[15-17]. 作为红细胞血红素合成的限速酶, ALAS2基因也在转录及转录后等不同水平受到严格调控. 在转录水平, 红系分化的重要转录因子GATA1, TAL1, LMO2等能够形成增强子复合物, 结合在ALAS2基因启动子及内含子的GATA位点, 通过远距离增强子环来促进ALAS2的转录, 从而确保ALAS2的表达及血红素的合成与红系分化的进程一致^[18-21]. 同时, ALAS2 mRNA在转录后水平受到铁结合蛋白(iron responsive protein, IRP)-铁反应原件(iron response element, IRE)的调控(即IRP-IRE体系): 在机体缺铁时, IRP结合在ALAS2 mRNA 5'非翻译区的IRE序列上以阻止其mRNA翻译, 使ALAS2蛋白合成减少^[22]; 而当机体铁充足时, 血红素合成增加, 血红素结合在IRP2蛋白血红素调控区(HRM, 即蛋白中富含半胱氨酸脯氨酸区)来促使IRP2泛素化并降解, 解除了其对ALAS2 mRNA翻译的抑制, 增加了ALAS2的蛋白合成, 形成了红细胞中血红素对ALAS2正反馈调控^[23,24].

其他参与血红素生物合成过程酶的调控机制研究较少. 不同于ALAS2, 其他血红素合成过程中的相关酶均未发现组织特异性同工酶. 不过它们几乎都在

pre-mRNA水平通过可变剪切产生两个不同的转录本,即管家型和红细胞特异型转录本^[25,26]。这两种类型的转录本差异之一通常在于启动子序列不同,红细胞型转录本上富含红系重要转录因子如GATA1, TAL1, NF-E2, SP1等的结合序列^[25,27-29]。另外,两个转录本偶有核苷酸序列不同,例如,ALAD管家型比红细胞特异转录本缺少一段5'非翻译区^[25],而PBGD管家型转录本上多了17个氨基酸序列^[30]。其中的一个特例是尿卟啉原脱羧酶,虽然也有两个转录起始位点,但是它不具有双启动子序列,不过它仍然能在红细胞中高表达,当前调控机制未明^[31]。

最近研究表明,血红素合成过程中另一限速酶FECH受到红细胞生成素(erythropoietin, EPO)信号通路的调控,首次将红细胞中重要的信号通路和血红素的合成联系起来^[32]。在红细胞中,EPO结合受体后激活偶联在其受体上的JAK-STAT信号通路,使STAT5发生磷酸化,激活下游系列靶基因。而GATA1下游靶基因AKAP10能够将蛋白激酶A (protein kinase A, PKA) 锚定于线粒体外膜上。在没有受到外界刺激的情况下PKA激酶催化活性被自身的抑制基团所抑制,在EPO通路被激活后,磷酸化的STAT5能与PKA相互作用形成复合物,促使PKA的抑制及催化基团进行分离,PKA催化基团使位于线粒体外膜上的FECH发生磷酸化,提高了其激酶的活性,促进了血红素的生成。该研究同时提出细胞核编码的线粒体蛋白需在线粒体外膜附近发生去折叠以暴露其修饰蛋白,并进入线粒体内部才能行使其功能。这一发现是对传统在线粒体内外膜间隙进行蛋白修饰理论的挑战。

1.3 铁调控通路(IRP-IRE)调控血红素合成

血红素合成关键基因或铁代谢转运过程中的重要基因mRNA上都含有IRE,例如,ALAS2、铁蛋白(ferritin)和铁转运蛋白(ferroportin)的mRNA含有5' IRE,而铁转运蛋白受体1 (transferrin receptor1, TfR1)和二价金属离子转运体1 (divalent metal-ion transporter-1, DMT1) mRNA含有3' IRE。铁反应蛋白含有两个不同的家族成员,IRP1和IRP2,其中IRP2在机体铁离子稳态平衡中起更主要的作用^[33]。IRPs结合在mRNA 5' IRE能抑制翻译,而结合在3' IRE能维持mRNA的稳定性,抑制其降解^[22]。IRP和IRE的结合主要受控于细胞中铁含量的多少。机体缺铁时,IRP2能结合在ALAS2

mRNA的5' IRE抑制其翻译,抑制血红素合成;在铁含量充足时,IRP2和FBLX5相互作用,募集泛素连接酶E3,促使IPR2发生降解^[34,35],对ALAS2 mRNA翻译的抑制作用解除,ALAS2蛋白合成增加,促使血红素合成。

1.4 血红素合成的跨膜运输

血红素的合成是在线粒体及胞质中协作完成,由此需要胞质线粒体的物质跨膜运输,但是现有研究对此知之甚少。血红素合成起始需要将胞质中的甘氨酸及ALAS2运送进线粒体内,而合成产物ALA需要被运出线粒体进入胞质。目前仅知甘氨酸转运入线粒体由线粒体内膜上的SLC25A38介导^[36],而合成产物ALA转运出线粒体则由线粒体内膜上SLC25A38及ABCB10共同介导^[37,38],但它们及ALAS2如何通过线粒体外膜仍不清楚。

而ALA在胞质中经历了多步催化反应生成粪卟啉原III以后,它需要跨越线粒体外膜,进入线粒体的内外膜间隙。体外竞争性实验证实,粪卟啉原III可以作为线粒体外膜上ABCB6底物,提示ABCB6介导了粪卟啉原III跨入线粒体外膜^[39]。但是,该结论目前仍有争议。首先因为ABCB6表达不特异,它同时还出现在细胞质膜^[40]、高尔基体^[41]及溶酶体^[42]上,无法解释为什么粪卟啉原III被特异性地介导入线粒体膜间隙。而且ABCB6的缺陷引起了眼睛^[43]、皮肤^[44]等发育问题,并没有引发卟啉相关疾病。而Abcb6基因敲除小鼠(*Mus musculus*)无显著异常,ATP依赖的粪卟啉原III线粒体摄入受阻,但是对非ATP依赖的粪卟啉原III的摄入无影响^[45],提示至少还有其他途径存在。

线粒体蛋白与血红素合成基因的相关性分析得出线粒体内膜蛋白TMEM14C与血红素合成显著相关^[46]。随后,在TMEM14C功能缺失小鼠(*Mus musculus*)中发现原卟啉原的累积,提示TMEM14C介导了原卟啉原进入线粒体基质^[47]。但是至今未有TMEM14C缺失或者缺陷引发疾病的报道,提示存在其他代偿性通路的可能性。此外,在植物、动物等不同模型体外生化实验都发现原卟啉原是TSPO的配体,提示了TSPO可能是运载原卟啉原进入线粒体的分子载体^[48,49]。但是最近研究发现,在TSPO基因敲除小鼠中原卟啉原进入线粒体、血红素合成、红细胞分化等过程均未受到影响,说明哺乳动物中TSPO不是运载原卟啉原所必需

的^[50]。也就是说原卟啉原进入线粒体内膜的通道及载体仍不确定,有待于继续研究。

血红素合成的最后一步需要将铁转运至线粒体基质中与原卟啉一起形成血红素,在红细胞中铁是通过线粒体膜上MFRN1 (别名SLC25A37)进入线粒体,而在非红细胞中铁是通过MFRN2 (别名SLC25A28)进入线粒体^[51]。研究表明,在小鼠MEL细胞系中敲低线粒体膜蛋白SLC25A39会影响铁的摄入,而Slc25a39的过表达能补偿酵母同源基因*mtm1Delta*缺失突变造成的铁缺乏表型,提示Slc25a39可能是哺乳动物红细胞线粒体膜上新的铁通路^[46],但是该基因的功能确认还需要更多体内外实验数据的支持。总的来说,线粒体膜上铁通路的研究已较为清晰,相对而言,铁运输载体的研究则刚刚开始。龙胆酸(gentisic acid, GA)被认为是铁转运进线粒体基质的主要载体。在斑马鱼(*Danio rerio*)胚胎中抑制龙胆酸的合成后,血红素及血红蛋白合成受到抑制,红系分化受阻^[52]。但是在小鼠中阻断龙胆酸合成后小鼠仅出现轻微贫血症状^[53],而在人红白血病细胞系中阻断其合成则不影响线粒体中铁的摄取^[54],提示在哺乳动物中存在其他目前未知的铁运载分子。

哺乳动物中存在两种形式的FLCVR1,一种是位于细胞质膜上FLCVR1a和位于线粒体膜上的FLCVR1b (别名SLC49A1)。血红素合成后被位于线粒体膜上的FLCVR1b运出,与胞质中的珠蛋白肽链一起形成血红蛋白,进行氧气的输送,而胞质中富裕的血红素被位于胞膜上的FLVCR1a转运出细胞^[55,56]。FLVR1b缺失后红细胞分化严重受阻,提示其对红系分化必不可少^[56,57]。FLCVR1a基因敲除后,小鼠虽出现了出血、水肿及骨骼发育异常,胚胎在子宫内不能正常发育而死亡等表型,但其胎肝红细胞生成无异常,提示在FLCVR1a缺失的情况下FLCVR1b能够完成红细胞分化^[57]。总的来说,目前的研究中,血红素在线粒体中的转运通路的研究取得了一些进展,但是目前对血红素运载体知之甚少,是否存在伴侣蛋白协助其转运或存在特异的载体蛋白有待于进一步探索。

2 血红素在红细胞分化中的调控作用研究

血红素不但以重要的辅基分子参与多种细胞活动,而且参与调控基因转录、RNA尤其是miRNA的成

熟、蛋白翻译、蛋白的稳定性等过程。在红细胞中,血红素通过调控自身的生物合成、珠蛋白的产生、铁结合蛋白的稳定性等多个方面参与红细胞的稳态及分化的调控。

2.1 血红素调控基因转录

血红素调控基因转录主要有两种方式, (i) 通过改变其他转录因子的功能或定位来实现对下游靶基因的转录调控^[58]; (ii) 通过募集转录激活或抑制因子至下游靶基因启动子区域的血红素应答顺式作用元件上进行转录调控^[59]。

血红素能与转录抑制因子BACH1结合来调控下游红系特异基因的转录。BACH1属于碱性亮氨酸拉链家族成员,是转录抑制因子。在红细胞中能感应血红素含量(sensor)。血红素能与BACH1富含半胱氨酸与脯氨酸区域结合,改变了BACH1细胞内定位并促使其降解。在血红素合成缺乏时, BACH1结合在小Maf蛋白家族成员的Maf识别序列(Maf-recognition elements, MAREs)并与其形成二聚体以拮抗小Maf蛋白对其下游红系特异靶基因的转录激活^[58]。血红素合成充足时,血红素结合在BACH1蛋白的C-末端的CP富含区域,使其不能结合在MAREs序列上,造成了BACH1与小Maf的分离, BACH1出核,在胞质中被泛素化、降解^[60,61]。与此同时,血红素还促使细胞核中的NF-E2或NRF2结合在MAREs位点与小MAF蛋白形成二聚体,转录激活红系特异基因^[62-64]。这些基因包括珠蛋白基因(其增强子位点控制区(locus control regions, LCR)存在MAREs结合序列)^[65,66]和血红素降解过程的限速酶血红素氧化酶(heme oxygenase 1, HMOX-1)(其增强子E1和E2上都含有MAREs序列)^[67]。

此外,在秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)研究中发现了一种血红素依赖的转录调控模式(heme dependent transcription regulation),即在血红素摄取足量时,转录抑制因子能结合在血红素应答基因1 (heme responsive gene 1, *HRG1*)启动子区域的23 bp血红素应答反应区(heme responsive element, HRE), *HRG1*表达下调,减慢肠道对血红素的摄取。而当血红素不足时,增强子或者转录激活因子能结合在*HRG1*的启动子区域的血红素应答反应区,上调其表达,加速肠道对血红素的摄取^[59]。但目前仍不确定在高等哺乳动物中是否也存在这种调控模式。

2.2 血红素调控红细胞中蛋白翻译

血红素调节性抑制剂(heme regulated inhibitor, HRI)主要表达在红细胞中,是平衡红细胞珠蛋白及血红素合成的主要蛋白,含有两个富含半胱氨酸与脯氨酸的血红素结合区.它属于蛋白激酶家族成员,能磷酸化真核生物翻译起始因子的 α 亚单位(eukaryotic translation initiation factor, eIF2 α),其磷酸化将导致mRNA翻译受阻. HRI蛋白上有两个血红素结合区域,其酶活性直接受血红素含量调控^[68].在血红素合成不足时, HRI能在多位点发生自发磷酸化激活自身酶活性,促使eIF2 α 少,平衡红细胞内珠蛋白和血红素的产量.而在血红素大量合成后,它能结合在HRI的血红素结合区域,使其不能发生自发激活,从而降低eIF2 α 的磷酸化水平,促使 α 、 β 珠蛋白mRNA的翻译,促进血红蛋白的生成及红细胞分化^[69].这一调节机制也在*Hri*^{-/-}敲除小鼠中得到验证. *Hri*^{-/-}敲除小鼠表现出高色素,大红细胞贫血症状,并丧失了应对铁缺失的适应性调控能力.在生理条件下,应对铁缺失,机体会减慢甚至停止血红蛋白的合成,从而引起低色素,小细胞贫血.给*Hri*^{-/-}敲除小鼠喂以缺铁饲料后,引发高色素大红细胞性贫血,红系前体细胞被破坏,导致它们的异常增生.而红系前体细胞的破坏主要是由过量的珠蛋白发生聚合、沉淀导致红系前体细胞死亡^[70].这些数据充分证明了HRI在平衡红细胞中血红素及珠蛋白合成中的重要作用,避免了过量蛋白引发的蛋白毒性.与此同时,过量的血红素生成也能诱发细胞的氧化应激反应,产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),抑制红系分化,诱导细胞凋亡.而HRI在抑制珠蛋白mRNA翻译的同时,通过eIF2 α 磷酸化还选择性增强了*ATF4* mRNA的翻译,通过激活*ATF4*下游的基因*CHOP*, *GADD34*, *HO-1*等的表达来缓解血红素或者蛋白合成过多造成的氧化应激或内质网应激,促进红细胞分化成熟^[71].

此外,在中度 β 地中海贫血的小鼠模型中,由于 β 珠蛋白的合成不足造成 α 珠蛋白过量生成, HRI的表达增加被认为是抑制红系前体细胞中 α 珠蛋白过量生成.如果中度 β 地中海贫血的小鼠中敲除*Hri*基因,小鼠胚胎死于严重贫血,说明HRI的表达对于 β 地中海贫血小鼠中红系前体细胞的存活至关重要^[72].由于血红素-eIF2 α 磷酸化-ATF4信号通路能应对珠蛋白聚集沉淀造成的细胞氧化应激,利用eIF2 α 去磷酸化的抑制剂salu-

brinal,能缓解 β 地中海贫血症患者的临床症状.因此salubrinal有望作为一个治疗地中海贫血症的新药^[71].

2.3 血红素调控miRNA的加工合成

miRNA在红细胞分化中的重要作用已经进行了广泛深入的研究^[73,74].研究发现,血红素还可以通过调控pri-miRNA的加工过程,在miRNA层面调控红系分化.三价铁血红素结合在RNA结合蛋白DiGeorge第8关键区的第352个氨基酸的半胱氨酸残基上,引起DGCR8的二聚化,促使了pri-miRNA剪切加工为成熟miRNA的过程^[75,76].

3 血红素相关疾病的研究进展

血红素生物合成途径中每一个酶发生异常都与一种卟啉病相关(表1)^[77].卟啉症根据合成途径中间代谢产物初始积累的部位,又可分为肝细胞性和红细胞生成性卟啉症.本研究重点关注铁粒幼细胞性贫血(sideroblastic anemia, SA)及红细胞生成性卟啉症.

3.1 铁粒幼细胞性贫血

SA的特征是骨髓中出现大量环形铁粒幼细胞,它们主要是线粒体中积累了大量铁的异常红系前体细胞.该病的其他临床特征还包括红系无效造血、组织铁增高及外周血出现不同比例低色素性红细胞. SA可分为遗传性和获得性两种^[78]. SA包括X连锁、常染色体和线粒体遗传3种类型.已知的主要基因突变包括血红素合成酶*ALAS2*, *SLC25A38*、铁硫簇生物合成相关基因*ABCB7*, *GLRX5*、铁离子氧化酶*STEAP3*以及线粒体蛋白合成酶线粒体DNA, *PUS1*, *YARS2*, *TRNT1*和*SLC19A2*,这些基因突变约占遗传性SA的60%^[79,80].在所有已知基因突变的遗传性铁粒幼细胞性贫血中, X连锁铁粒幼细胞贫血病(XLSA)是最普遍的一种.它是由血红素合成的限速酶*ALAS2*突变引起^[81].在100多个SA发病个体或者家系中已经发现了至少60多种位于外显子区域的反义突变,使其功能受损^[82-84].最近也有研究发现,位于启动子、内含子等非编码调控区域的突变(GATA位点突变)造成了*ALAS2*的表达减少^[18,85,86]. *ALAS2*基因的突变所造成*ALAS2*功能受损或表达减少,降低了原卟啉的产生,血红素合成减少及铁利用率的下降,造成了大量铁在线粒体中的累积,引起

表 1 血红素合成过程中酶突变引起的卟啉病

血红素合成相关的酶	酶突变后相关卟啉病	疾病分类
	SA	红细胞生成性
ALAS2	X染色体连锁的红细胞生成型原卟啉病(erythropoietic protoporphyria, EPP) (XLPP)	红细胞生成性
ALAD	δ-氨基酮戊酸脱氢酶卟啉病(δ-aminolavulinic acid dehydrase porphyria, ADP)	红细胞生成性、肝脏型
PBGD	急性间歇性卟啉病(acute intermitent porphyria, AIP)	肝脏型
UROS	先天性红细胞生成型卟啉病(hereditary erythropoietic porphyria, CEP)	红细胞生成性
UROD	肝脏-红细胞生成型卟啉病(HEP)	红细胞生成性、肝脏型
	迟发性皮肤型卟啉病(porphyrria cutanea tarda, PCT)	肝脏型
CPO	遗传性粪卟啉病(hereditary coproporphyria, HCP)	肝脏型
PPO	混合型卟啉病(variegated porphyria, VP)	肝脏型
FECH	EPP	红细胞生成性

了环铁. ALAS2酶与PLP结合才能发挥其催化活性, 而 *ALAS2*基因的反义突变减弱了与PLP的结合, 因此给该类病患服用PLP治疗能显著缓解其病症. 但是50%病患对PLP不应答, 对于这些病患, 使用ALA是一个潜在替代治疗策略.

3.2 红细胞生成性卟啉症

红细胞生成性卟啉症(erythropoietic porphyria)包括CEP和红细胞生成性原卟琳症(erythropoietic protoporphyria, EEP). CEP较为罕见, 而EEP主要包括两种亚型, EPP和XLPP, 分别由血红素合成限速酶FECH及ALAS2突变引起^[87].

EPP呈常染色体显性遗传, 是由*FECH*基因突变引起. 为儿童最常见卟啉病, 居成人卟啉病第3位. EPP患者被认为是常染色体显性遗传, 但是大多数情况下*FECH*的表达量远低于预期的50% (其表达量为30%甚至更低). 随后研究发现, 这是因为这些EPP患者另一亲本等位基因上存在内含子多态性(IVS3-48C)^[88], 这一多态性增加了位于正常剪切位点上游63 bp处的隐性剪接位点, 造成了其mRNA提前终止, 降解, 导致了*FECH*表达降低^[89].

3.3 XLPP

XLPP是由于*ALAS2*功能获得性突变引起的一种X染色体连锁的EPP, 该突变在FECH合成正常的情况下

使细胞内合成过多的原卟琳^[90]. 与EPP不同的是, *ALAS2*获得性突变同时增加了游离及锌原卟琳的水平, 不过仍然以游离原卟琳增高为主.

3.4 先天性红细胞生成性卟啉症

CEP是由UROS缺乏所致的常染色体隐性遗传性卟啉症, 该病导致 I 型卟琳, 特别是尿卟琳及粪卟琳积蓄^[91,92]. 最近研究报道, *ALAS2*获得性伴随突变能加重疾病症状^[93]. 此外, 在该病中还发现了*GATA1* R216-W的突变^[94].

4 展望

综上所述, 血红素通过调控亮氨酸拉链转录抑制因子(BACH1)在转录水平调控了红细胞中珠蛋白的生成, 而红系分化重要调控因子通过在转录水平调控血红素合成过程中重要酶的转录过程来控制血红素的生成. 珠蛋白、血红素合成限速酶ALAS2在转录后受到IRP-IRE系统的调控, 铁含量可在转录后水平上调控红系分化关键基因的表达. 血红素还在蛋白水平直接调控血红素结合蛋白, 铁反应蛋白的稳定性等. 此外, 血红调节抑制因子还在调控珠蛋白和血红素合成的平衡. 由此, 红细胞的稳态及分化是细胞内铁、血红素、珠蛋白等关键分子或蛋白协同及平衡的结果, 对这种相互关系或平衡体系的深入了解对于红细胞疾病的发病机制及治疗具有重要的指导意义.

参考文献

- 1 Anderson, J.D.P.K.E. 卟啉症. 8th ed. 威廉姆斯血液学. 北京: 人民卫生出版社, 2004
- 2 Falk J E, Dresel E I B, Rimington C. Porphobilinogen as a porphyrin precursor and interconversion of porphyrins, in a tissue system. *Nature*, 1953, 172: 292–294
- 3 Gibson K D, Neuberger A, Scott J J. The enzymic conversion of delta-aminolaevulinic acid to porphobilinogen. *Biochem J*, 1954, 58: xli–xlii
- 4 Schubert H L, Erskine P T, Cooper J B. 5-Aminolaevulinic acid dehydratase, porphobilinogen deaminase and uroporphyrinogen III synthase. In: Warren M J, ed. *Tetrapyrroles: Birth, Life and Death*. New York: Landes Bioscience and Springer Science Business Media, 2009
- 5 Shoolingin-Jordan P M, Al-Dbass A, McNeill L A, et al. Human porphobilinogen deaminase mutations in the investigation of the mechanism of dipyrromethane cofactor assembly and tetrapyrrole formation. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31: 731–735
- 6 Shoolingin-Jordan P M. Porphobilinogen deaminase and uroporphyrinogen III synthase: structure, molecular biology, and mechanism. *J Bioenerg Biomembr*, 1995, 27: 181–195
- 7 Mathews M A A, Schubert H L, Whitby F G, et al. Crystal structure of human uroporphyrinogen III synthase. *EMBO J*, 2001, 20: 5832–5839
- 8 Straka J G, Kushner J P. Purification and characterization of bovine hepatic uroporphyrinogen decarboxylase. *Biochemistry*, 1983, 22: 4664–4672
- 9 Phillips J D, Whitby F G, Warby C A, et al. Crystal structure of the oxygen-dependant coproporphyrinogen oxidase (Hem13p) of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2004, 279: 38960–38968
- 10 Porra R, Falk J. The enzymic conversion of coproporphyrinogen III into protoporphyrin IX. *Biochem J*, 1964, 90: 69–75
- 11 Koch M, Breithaupt C, Kiefersauer R, et al. Crystal structure of protoporphyrinogen IX oxidase: a key enzyme in haem and chlorophyll biosynthesis. *EMBO J*, 2004, 23: 1720–1728
- 12 Karlberg T, Hansson M D, Yengo R K, et al. Porphyrin binding and distortion and substrate specificity in the ferrochelatase reaction: the role of active site residues. *J Mol Biol*, 2008, 378: 1074–1083
- 13 Bishop D F, Henderson A S, Astrin K H. Human delta-aminolevulinic synthase: assignment of the housekeeping gene to 3p21 and the erythroid-specific gene to the X chromosome. *Genomics*, 1990, 7: 207–214
- 14 Medlock A E, Dailey H A. Regulation of mammalian heme biosynthesis. In: Warren M J, ed. *Tetrapyrroles: Birth, Life, and Death*. New York: Landes Bioscience and Springer Science Business Media, 2009
- 15 Munakata H, Sun J Y, Yoshida K, et al. Role of the heme regulatory motif in the heme-mediated inhibition of mitochondrial import of 5-aminolevulinic synthase. *J Biochem*, 2004, 136: 233–238
- 16 Yamamoto M, Hayashi N, Kikuchi G. Evidence for the transcriptional inhibition by heme of the synthesis of delta-aminolevulinic synthase in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 1982, 105: 985–990
- 17 Yamamoto M, Hayashi N, Kikuchi G. Translational inhibition by heme of the synthesis of hepatic δ -aminolevulinic synthase in a cell-free system. *Biochem Biophys Res Commun*, 1983, 115: 225–231
- 18 Zhang Y, Zhang J, An W, et al. Intron 1 GATA site enhances ALAS2 expression indispensably during erythroid differentiation. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 657–671
- 19 Harigae H, Nakajima O, Suwabe N, et al. Aberrant iron accumulation and oxidized status of erythroid-specific delta -aminolevulinic synthase (ALAS2)-deficient definitive erythroblasts. *Blood*, 2003, 101: 1188–1193
- 20 Surinya K H, Cox T C, May B K. Identification and characterization of a conserved erythroid-specific enhancer located in intron 8 of the human 5-aminolevulinic synthase 2 gene. *J Biol Chem*, 1998, 273: 16798–16809
- 21 Tanimura N, Miller E, Igarashi K, et al. Mechanism governing heme synthesis reveals a GATA factor/heme circuit that controls differentiation. *EMBO Rep*, 2016, 17: 249–265
- 22 Hentze M W, Muckenthaler M U, Andrews N C. Balancing acts. *Cell*, 2004, 117: 285–297
- 23 Ishikawa H, Kato M, Hori H, et al. Involvement of heme regulatory motif in heme-mediated ubiquitination and degradation of IRP2. *Mol Cell*, 2005, 19: 171–181
- 24 Yamanaka K, Ishikawa H, Megumi Y, et al. Identification of the ubiquitin-protein ligase that recognizes oxidized IRP2. *Nat Cell Biol*, 2003, 5: 336–340
- 25 Kaya A H, Plewlnska M, Wong D M, et al. Human δ -aminolevulinic dehydratase (ALAD) gene: structure and alternative splicing of the erythroid

- and housekeeping mRNAs. *Genomics*, 1994, 19: 242–248
- 26 Mignotte V, Wall L, deBoer E, et al. Two tissue-specific factors bind the erythroid promoter of the human porphobilinogen deaminase gene. *Nucl Acids Res*, 1989, 17: 37–54
- 27 Tugores A, Magness S T, Brenner D A. A single promoter directs both housekeeping and erythroid preferential expression of the human ferrochelatase gene. *J Biol Chem*, 1994, 269: 30789–30797
- 28 Magness S T, Tugores A, Diala E S, et al. Analysis of the human ferrochelatase promoter in transgenic mice. *Blood*, 1998, 92: 320–328
- 29 Magness S T, Tugores A, Brenner D A. Analysis of ferrochelatase expression during hematopoietic development of embryonic stem cells. *Blood*, 2000, 95: 3568–3577
- 30 Grandchamp B, De Verneuil H, Beaumont C, et al. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase. Two isoenzymes from a single gene. *Eur J Biochem*, 1987, 162: 105–110
- 31 Romeo P H, Raich N, Dubart A, et al. Molecular cloning and nucleotide sequence of a complete human uroporphyrinogen decarboxylase cDNA. *J Biol Chem*, 1986, 261: 9825–9831
- 32 Chung J, Wittig J G, Ghamari A, et al. Erythropoietin signaling regulates heme biosynthesis. *eLife*, 2017, 6: e24767
- 33 Meyron-Holtz E G, Ghosh M C, Rouault T A. Mammalian tissue oxygen levels modulate iron-regulatory protein activities *in vivo*. *Science*, 2004, 306: 2087–2090
- 34 Salahudeen A A, Thompson J W, Ruiz J C, et al. An E3 ligase possessing an iron-responsive hemerythrin domain is a regulator of iron homeostasis. *Science*, 2009, 326: 722–726
- 35 Vashisht A A, Zumbrennen K B, Huang X, et al. Control of iron homeostasis by an iron-regulated ubiquitin ligase. *Science*, 2009, 326: 718–721
- 36 Guernsey D L, Jiang H, Campagna D R, et al. Mutations in mitochondrial carrier family gene *SLC25A38* cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nat Genet*, 2009, 41: 651–653
- 37 Tang L, Bergevoet S M, Bakker-Verweij G, et al. Human mitochondrial ATP-binding cassette transporter ABCB10 is required for efficient red blood cell development. *Br J Haematol*, 2012, 157: 151–154
- 38 Bayeva M, Khechaduri A, Wu R, et al. ATP-binding cassette B10 regulates early steps of heme synthesis. *Circul Res*, 2013, 113: 279–287
- 39 Krishnamurthy J, Ramsey M R, Ligon K L, et al. p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature*, 2006, 443: 453–457
- 40 Paterson J K, Shukla S, Black C M, et al. Human ABCB6 localizes to both the outer mitochondrial membrane and the plasma membrane. *Biochemistry*, 2007, 46: 9443–9452
- 41 Tsuchida M, Emi Y, Kida Y, et al. Human ABC transporter isoform B6 (ABCB6) localizes primarily in the Golgi apparatus. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369: 369–375
- 42 Kiss K, Brozik A, Kucsma N, et al. Shifting the paradigm: the putative mitochondrial protein ABCB6 resides in the lysosomes of cells and in the plasma membrane of erythrocytes. *PLoS ONE*, 2012, 7: e37378
- 43 Wang L, Wang L, He F, et al. ABCB6 mutations cause ocular coloboma. *Am J Hum Genet*, 2012, 90: 40–48
- 44 Liu H, Li Y, Hung K K H, et al. Genome-wide linkage, exome sequencing and functional analyses identify ABCB6 as the pathogenic gene of dyschromatosis universalis hereditaria. *PLoS ONE*, 2014, 9: e87250
- 45 Ulrich D L, Lynch J, Wang Y, et al. ATP-dependent mitochondrial porphyrin importer ABCB6 protects against phenylhydrazine toxicity. *J Biol Chem*, 2012, 287: 12679–12690
- 46 Nilsson R, Schultz I J, Pierce E L, et al. Discovery of genes essential for heme biosynthesis through large-scale gene expression analysis. *Cell Metab*, 2009, 10: 119–130
- 47 Yien Y Y, Robledo R F, Schultz I J, et al. TMEM14C is required for erythroid mitochondrial heme metabolism. *J Clin Invest*, 2014, 124: 4294–4304
- 48 Verma A, Nye J S, Snyder S H. Porphyrins are endogenous ligands for the mitochondrial (peripheral-type) benzodiazepine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 2256–2260
- 49 Frank W, Baar K M, Qudeimat E, et al. A mitochondrial protein homologous to the mammalian peripheral-type benzodiazepine receptor is essential for stress adaptation in plants. *Plant J*, 2007, 51: 1004–1018
- 50 Zhao A H, Tu L N, Mukai C, et al. Mitochondrial translocator protein (TSPO) function is not essential for heme biosynthesis. *J Biol Chem*, 2016, 291: 1591–1603

- 51 Shaw G C, Cope J J, Li L, et al. Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature*, 2006, 440: 96–100
- 52 Devireddy L R, Hart D O, Goetz D H, et al. A mammalian siderophore synthesized by an enzyme with a bacterial homolog involved in enterobactin production. *Cell*, 2010, 141: 1006–1017
- 53 Liu Z, Ciocea A, Devireddy L. Endogenous siderophore 2,5-dihydroxybenzoic acid deficiency promotes anemia and splenic iron overload in mice. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 2533–2546
- 54 Shvartsman M, Ioav Cabantchik Z. Intracellular iron trafficking: role of cytosolic ligands. *Biometals*, 2012, 25: 711–723
- 55 Quigley J G, Yang Z, Worthington M T, et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell*, 2004, 118: 757–766
- 56 Keel S B, Doty R T, Yang Z, et al. A heme export protein is required for red blood cell differentiation and iron homeostasis. *Science*, 2008, 319: 825–828
- 57 Chiabrando D, Marro S, Mercurio S, et al. The mitochondrial heme exporter FLVCR1b mediates erythroid differentiation. *J Clin Invest*, 2012, 122: 4569–4579
- 58 Ogawa K, Sun J, Taketani S, et al. Heme mediates derepression of Maf recognition element through direct binding to transcription repressor Bach1. *EMBO J*, 2001, 20: 2835–2843
- 59 Sinclair J, Hamza I. A novel heme-responsive element mediates transcriptional regulation in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem*, 2010, 285: 39536–39543
- 60 Suzuki H, Tashiro S, Hira S, et al. Heme regulates gene expression by triggering Crm1-dependent nuclear export of Bach1. *EMBO J*, 2004, 23: 2544–2553
- 61 Zenke-Kawasaki Y, Dohi Y, Katoh Y, et al. Heme induces ubiquitination and degradation of the transcription factor Bach1. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 6962–6971
- 62 Nguyen T, Yang C S, Pickett C B. The pathways and molecular mechanisms regulating Nrf2 activation in response to chemical stress. *Free Radical Biol Med*, 2004, 37: 433–441
- 63 Igarashi K, Kataokata K, Itoh K, et al. Regulation of transcription by dimerization of erythroid factor NF-E2 p45 with small Maf proteins. *Nature*, 1994, 367: 568–572
- 64 Andrews N C, Erdjument-Bromage H, Davidson M B, et al. Erythroid transcription factor NF-E2 is a haematopoietic-specific basic-leucine zipper protein. *Nature*, 1993, 362: 722–728
- 65 Brand M, Ranish J A, Kummer N T, et al. Dynamic changes in transcription factor complexes during erythroid differentiation revealed by quantitative proteomics. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11: 73–80
- 66 Sawado T, Igarashi K, Groudine M. Activation of beta-major globin gene transcription is associated with recruitment of NF-E2 to the beta-globin LCR and gene promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 10226–10231
- 67 Alam J, Wicks C, Stewart D, et al. Mechanism of heme oxygenase-1 gene activation by cadmium in MCF-7 mammary epithelial cells. Role of p38 kinase and Nrf2 transcription factor. *J Biol Chem*, 2000, 275: 27694–27702
- 68 Bauer B N, Rafie-Kolpin M, Lu L, et al. Multiple autophosphorylation is essential for the formation of the active and stable homodimer of heme-regulated eIF2 α kinase. *Biochemistry*, 2001, 40: 11543–11551
- 69 Chen J J. Translational control by heme-regulated eIF2 α kinase during erythropoiesis. *Curr Opin Hematol*, 2014, 21: 172–178
- 70 Han A P, Yu C, Lu L, et al. Heme-regulated eIF2 α kinase (HRI) is required for translational regulation and survival of erythroid precursors in iron deficiency. *EMBO J*, 2001, 20: 6909–6918
- 71 Suragani R N V S, Zachariah R S, Velazquez J G, et al. Heme-regulated eIF2 kinase activated Atf4 signaling pathway in oxidative stress and erythropoiesis. *Blood*, 2012, 119: 5276–5284
- 72 Han A P, Fleming M D, Chen J J. Heme-regulated eIF2 α kinase modifies the phenotypic severity of murine models of erythropoietic protoporphyria and β -thalassemia. *J Clin Invest*, 2005, 115: 1562–1570
- 73 Listowski M A, Heger E, Bogusławska D M, et al. microRNAs: fine tuning of erythropoiesis. *Cell Mol Biol Lett*, 2013, 18: 34–46
- 74 Azzouzi I, Schmugge M, Speer O. microRNAs as components of regulatory networks controlling erythropoiesis. *Eur J Haematol*, 2012, 89: 1–9
- 75 Faller M, Matsunaga M, Yin S, et al. Heme is involved in microRNA processing. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14: 23–29
- 76 Barr I, Smith A T, Chen Y, et al. Ferric, not ferrous, heme activates RNA-binding protein DGCR8 for primary microRNA processing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 1919–1924

- 77 Dailey H A, Meissner P N. Erythroid heme biosynthesis and its disorders. [Cold Spring Harbor Perspect Med](#), 2013, 3: a011676
- 78 Bessis M C, Jensen W N. Sideroblastic anaemia, mitochondria and erythroblastic iron. [Br J Haematol](#), 1965, 11: 49–51
- 79 Fleming M D. Congenital sideroblastic anemias: iron and heme lost in mitochondrial translation. [Hematology](#), 2011, 2011: 525–531
- 80 Bergmann A K, Campagna D R, McLoughlin E M, et al. Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. [Pediatr Blood Cancer](#), 2010, 54: 273–278
- 81 Yamamoto M, Yew N S, Federspiel M, et al. Isolation of recombinant cDNAs encoding chicken erythroid delta-aminolevulinate synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82: 3702–3706
- 82 Ducamp S, Kannengiesser C, Touati M, et al. Sideroblastic anemia: molecular analysis of the *ALAS2* gene in a series of 29 probands and functional studies of 10 missense mutations. [Hum Mutat](#), 2011, 32: 590–597
- 83 Bishop D F, Tchaikovskii V, Hoffbrand A V, et al. X-linked sideroblastic anemia due to carboxyl-terminal *ALAS2* mutations that cause loss of binding to the β -subunit of succinyl-CoA synthetase (*SUCLA2*). [J Biol Chem](#), 2012, 287: 28943–28955
- 84 Harigae H, Furuyama K. Hereditary sideroblastic anemia: pathophysiology and gene mutations. [Int J Hematol](#), 2010, 92: 425–431
- 85 Campagna D R, de Bie C I, Schmitz-Abe K, et al. X-linked sideroblastic anemia due to *ALAS2* intron 1 enhancer element GATA-binding site mutations. [Am J Hematol](#), 2014, 89: 315–319
- 86 Kaneko K, Furuyama K, Fujiwara T, et al. Identification of a novel erythroid-specific enhancer for the *ALAS2* gene and its loss-of-function mutation which is associated with congenital sideroblastic anemia. [Haematologica](#), 2014, 99: 252–261
- 87 Balwani, M. and R.J. Desnick. The porphyrias: advances in diagnosis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2012, 2012: 19–27
- 88 Gouya L, Puy H, Robreau A M, et al. The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by expression of wildtype FECH. [Nat Genet](#), 2002, 30: 27–28
- 89 Gouya L, Martin-Schmitt C, Robreau A M, et al. Contribution of a common single-nucleotide polymorphism to the genetic predisposition for erythropoietic protoporphyria. [Am J Hum Genet](#), 2006, 78: 2–14
- 90 Whatley S D, Ducamp S, Gouya L, et al. C-terminal deletions in the *ALAS2* gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. [Am J Hum Genet](#), 2008, 83: 408–414
- 91 Bishop D F, Johansson A, Phelps R, et al. Uroporphyrinogen III synthase knock-in mice have the human congenital erythropoietic porphyria phenotype, including the characteristic light-induced cutaneous lesions. [Am J Hum Genet](#), 2006, 78: 645–658
- 92 Sassa S, Kappas A. Molecular aspects of the inherited porphyrias. [J Intern Med](#), 2000, 247: 169–178
- 93 To-Figueras J, Ducamp S, Clayton J, et al. *ALAS2* acts as a modifier gene in patients with congenital erythropoietic porphyria. [Blood](#), 2011, 118: 1443–1451
- 94 Di Pierro E, Russo R, Karakas Z, et al. Congenital erythropoietic porphyria linked to GATA1-R216W mutation: challenges for diagnosis. [Eur J Haematol](#), 2015, 94: 491–497

Heme is an essential prosthetic group and a key regulator during erythropoiesis

LIU JinHua, GAO Jie, TONG JingYuan, LI YaPu & SHI LiHong

State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology, Blood Disease Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Heme, as a structural component of hemoprotein, is an essential prosthetic group which is involved in various biological processes such as oxygen transfer and storage and electron transfer. During erythroid differentiation, heme biosynthesis is robustly induced to meet the mass production of hemoglobin for body needs. Accumulating evidence indicates that heme biosynthesis in erythroid cells is elaborately orchestrated with globin formation and iron hemostasis which ensures the efficient erythropoiesis. Defects of heme biosynthesis in developing erythroblasts can have profound medical implications, resulting in sideroblastic anemias or erythropoietic porphyrias. In this review, we focus on not only the regulatory processes of heme biosynthesis pathway in erythroid cells but also the regulatory function of heme during erythropoiesis. We also discuss regulatory mechanism and potential therapeutic strategy in erythroid disorders caused by heme deficiency.

heme, erythropoiesis, differentiation regulation, porphyria, sideroblastic anemia

doi: [10.1360/N052017-00274](https://doi.org/10.1360/N052017-00274)