

综述

巨噬细胞与红系造血的关系

张然然 综述 竺晓凡 审校

(中国医学科学院血液学研究所 / 北京协和医学院血液病医院儿童血液病诊疗中心, 天津 300020)

[摘要] 巨噬细胞在红系生成的动态平衡中, 主要作用是促进有核红细胞分化成熟为网织红细胞, 并清除衰老的红细胞。近期的小鼠实验证明, 红系造血岛中的巨噬细胞特异性表型为 CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺。红系祖细胞与中央巨噬细胞的分子连接能够保证红系造血岛的功能性和完整性。红系 Kruppel 样因子 1 (KLF1) 的研究新进展, 为造血岛巨噬细胞的重要作用提供了新的依据。而无论在健康或者疾病状态, 巨噬细胞在红系生成中都发挥着重要的作用, 为将来治疗真性红细胞增多症及 β-地中海贫血等疾病提供了一种潜在的靶向治疗方法。 [中国当代儿科杂志, 2016, 18(1): 94-99]

[关键词] 红系造血岛; 红系生成; 巨噬细胞; 红细胞; 贫血

Relationship between macrophages and erythropoiesis

ZHANG Ran-Ran, ZHU Xiao-Fan. Diagnosis and Treatment Center of Pediatric Blood Diseases, Institute of Hematology and Blood Disease Hospital, Pecking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China (Email: xfzhu1981@126.com)

Abstract: Macrophages have two major roles in regulating the dynamic equilibrium in erythropoiesis, promoting the differentiation and maturation of nucleated red blood cells into reticulocytes and removing old red blood cells. A recent mouse study has demonstrated that the phenotype of macrophages in erythroblastic islands is CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺. Molecular connections between erythroid progenitor cells and central macrophages help to maintain the function and integrity of erythroblastic islands. New research advances in Kruppel-like factor 1 (KLF1) provide new evidence for the important role of macrophages in erythroblastic islands. Macrophages play an important role in erythropoiesis both in sickness and in health, and provide a potential targeted therapy for diseases such as polycythemia vera and beta-thalassemia in the future. [Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(1): 94-99]

Key words: Erythroblastic island; Erythropoiesis; Macrophage; Red blood cell; Anemia

巨噬细胞来源于造血干细胞, 同时又参与并构成了造血微环境, 从骨髓释放入血的单核细胞进入组织后即发展成巨噬细胞。不同组织中的巨噬细胞具有明显的异质性, 与造血关系最密切的是存在于造血组织中的巨噬细胞, 包括骨髓内巨噬细胞和胎肝巨噬细胞^[1]。在哺乳动物中, 红细胞的增殖、分化和去核化过程都发生在一个特定的部位, 称为红系造血岛。50多年前首先在骨髓中发现造血岛, 而后证明在脾脏红髓及胚胎肝脏中同样存在。造血岛由发育中的各阶段红细胞围绕一个巨噬细胞周围组成。人类骨髓中一般有 5~30

个红细胞围绕在一个巨噬细胞周围^[2]。造血岛巨噬细胞对于有核红细胞的分化和成熟十分重要, 并且他们可分泌细胞因子维持有核红细胞的生存^[3], 传递铁给有核红细胞^[4-5], 支持大量的血红蛋白合成, 吞噬并降解红细胞去核后的细胞核, 这对于生成网织红细胞是非常重要的步骤^[6]。

1 造血岛巨噬细胞的表型

直到 20 世纪中期, 关于造血岛巨噬细胞的表面表型并不十分清楚, 因此大多数实验都是基于

[收稿日期] 2015-08-14; [接受日期] 2015-10-20
[作者简介] 张然然, 女, 硕士研究生, 住院医师。

体外显微镜的观察。在小鼠实验中许多抗原被证明可以表达在造血岛巨噬细胞表面，例如，唾液酸黏附素（CD169 或 Siglec-1），在小鼠中选择性清除 CD169 阳性的巨噬细胞，可以使骨髓中有核红细胞的数目减少^[7-8]。同样被发现可以表达于造血岛巨噬细胞表面，并且在与有核红细胞的连接中非常重要的其他黏附分子主要有 VCAM-1、 α V 整合素^[9] 和 ER-HR3^[10]。巨噬细胞幼红细胞黏附蛋白（EMP）是第一个被证明能同时表达于造血岛巨噬细胞表面及有核红细胞表面的分子。Emp 基因敲除的小鼠胚胎在孕期第 12.5 天，出现有核红细胞在外周血中聚积以及胎肝中红系造血岛数量减少的现象，最后小鼠死于胚胎期^[7]。这表明巨噬细胞表面的 EMP 对于体外造血岛的构建十分重要。然而上述的这些分子并不是特异性表达于造血岛巨噬细胞表面的，这阻碍了关于造血岛巨噬细胞的细胞及分子生物学研究。

2014 年 Jacobsen 等^[11] 在一项研究中将针对造血岛巨噬细胞表达的 CD169、VCAM-1 和 ER-HR3 的抗体与抗粒细胞抗原 CD11b（ α M 整合素）、F4/80（小鼠巨噬细胞特异性表面抗原）和 Ly-6G（主要表达于粒细胞表面，同时也可表达于部分巨噬细胞表面）抗原的抗体联合起来。通过流式细胞的方法证明，在成年鼠的骨髓和脾脏巨噬细胞表面均可以表达以上抗原，即 CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺。另外，给小鼠注射一定剂量的粒细胞集落刺激因子，可以选择性地减少骨髓中大约 90% 的这一类的巨噬细胞，同时，可以减少 50%~90% 所有阶段的红细胞的生成及网织红细胞数量。有两种小鼠模型证明 CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺ 巨噬细胞为造血岛巨噬细胞，一个是选择性减少 Siglec1-DTR 小鼠的 CD169⁺ 的巨噬细胞（Siglec1-DTR 小鼠即白喉毒素受体基因敲除的小鼠，其结果可以清除体内 CD169⁺ 巨噬细胞而不是单核细胞）。第二个模型是通过静脉注射氯膦酸二钠脂质体从而清除体内的吞噬细胞。结果表明，在这两种模型中，均引起了骨髓中有核红细胞和网织红细胞的减少，并且骨髓及脾脏中的 CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺ 的巨噬细胞也减少^[11]。上述研究结果与 2013 年 Chow 等^[12] 报道一致，从小鼠造血岛分离出来的巨噬细胞是 CD169⁺ 的巨噬细胞，

而且清除该巨噬细胞后可以阻碍红系造血。这些研究更加明确了造血岛巨噬细胞的表型为 CD169⁺ VCAM-1⁺ ER-HR3⁺ CD11b⁺ F4/80⁺ Ly-6G⁺。

2 造血岛巨噬细胞与有核红细胞之间的分子连接

有核红细胞与巨噬细胞的分子连接是保证红系造血岛的功能性和完整性的重要组成部分。地塞米松等糖皮质激素则是因为破坏了这种分子连接，从而可以促进有核红细胞的释放^[13]。有核红细胞在整个进化过程中都会广泛表达细胞黏附因子，这些黏附因子不仅有助于与细胞外基质蛋白（如纤连蛋白和层粘连蛋白的黏附）的黏附，而且有助于黏附于巨噬细胞表面^[14]。目前，较为明确的分子连接有以下几个：有核红细胞表面的 ICAM-4 与巨噬细胞表面的 α V β 3 整合素；有核红细胞表面的 α 4 整合素和 β 1 整合素结合形成 VLA-4 受体与巨噬细胞表面的 VCAM-1 结合；同时表达于红细胞与巨噬细胞表面的 EMP 之间的连接^[15]。

在这些分子连接中，EMP 似乎是最重要的。它是由基因编码的细胞表面黏附分子，该基因缺失时会导致胚胎期贫血及造血岛形成受损。ICAM-4 基因敲除的小鼠则不会出现贫血，但是在体内或体外培养时造血岛的数量会减少，这是由于 ICAM-4 的减少导致与造血岛巨噬细胞表面的 α V 整合素之间的连接减少，从而影响了体外造血岛的形成^[9]。而 α V 整合素的减少会导致胚胎在第 10~12 天死亡，而它在胎肝中造血岛形成中的作用是未知的^[16]。一般来说，生物学上都是形成 $\alpha\beta$ 异二聚体，所以造血岛巨噬细胞表面证明存在 α V 二聚体也是令人感兴趣的。实验敲除 β 3 基因的小鼠只出现了轻微的贫血（外周血中红细胞压积的减少，网织红细胞和 CD71 阳性有核红细胞数量的增多）以及轻微的造血岛生成障碍（每个造血岛中有核红细胞数量的减少），所以我们设想 β 3 整合素在造血岛中可能只是一个候补搭档^[17]。

2013 年的一项研究证明， α 4 β 1 整合素是一个与蛋白 CD81、CD82、CD151 复杂结合存在于巨噬细胞表面的大的跨膜分子（即 VLA-4），与有核红细胞表面的 VCAM-1 结合形成连接^[18]。在造血细胞中选择性清除 VCAM-1 基因， α 4 整合素基

因或者 $\beta 1$ 整合素基因, 其结果都可以导致自发、密集的造血干祖细胞动员到外周血中^[19-20]。在这 3 种条件的突变中, 基础的红细胞生成是正常的, 但是对 $\beta 1$ 基因缺失小鼠中予以苯肼 (PHZ) 处理时 (可以形成溶血性贫血), 其脾脏和骨髓的有核红细胞是明显减少的, 造血的恢复明显受损。而 $\alpha 4$ 和 VCAM-1 基因缺失的小鼠同样予以 PHZ 时对造血恢复的损伤小一些^[21]。另外, 这些小鼠的外周循环中有核红细胞的数目反常性增高^[22]。说明 VCAM-1 与 VLA-4 的连接对于维持有核红细胞与造血岛巨噬细胞的稳定连接十分重要。

3 人类的造血岛巨噬细胞

尽管已经在人类骨髓中发现了红系造血岛, 目前对于巨噬细胞的研究主要来源于小鼠实验^[23], 所以人类造血岛巨噬细胞的特异性标志以及它与小鼠的造血岛巨噬细胞之间的关系仍然不清楚。2013 年 Ramos 等^[24] 在健康人及真性红细胞增多症 (简称真红)、 β -地中海贫血 (简称 β -地贫) 的患者骨髓中分离出来的有核红细胞, 与同条件下分离出来的巨噬细胞同时体外培养时, 有核红细胞表现出增殖分化增强。而利用半透膜将有核红细胞与巨噬细胞分离开来时, 红细胞则没有增殖。因此, 有核红细胞与巨噬细胞之间的直接连接对于有核红细胞的增殖和分化十分重要。Chow 等^[12] 从健康供者骨髓抽取物中检测到其单核细胞及巨噬细胞表面的 CD169 以及 VCAM-1 的表达。这两种抗原在 CD15⁺ CD14⁻ 的粒细胞或者 CD15⁺ CD14⁻ 的单核细胞表面是不表达的, 而在 CD15⁻ CD163⁺ 的巨噬细胞表面可以表达。从而证明, 与小鼠相似, 人类骨髓中的巨噬细胞表面也表达 CD169 以及 VCAM-1。华中科技大学的研究人员检测到, 在骨髓造血干细胞移植后患者骨髓造血岛增加的同时, 血液及骨髓中单核细胞表面表达的 EMP 蛋白及 mRNA 是增加的; 而在严重的贫血的患者中, 红系造血岛和 EMP 是几乎检测不到的, 在给予促红细胞生成素治疗后, 造血岛及 EMP 的表达同时增加, 表明 EMP 在建立人类红系造血岛中可能也具有重要的作用^[25]。

在人体中, 应用抗 $\alpha 4$ 整合素或者 VLA-4 的抗体, 将会导致短暂的贫血以及血液循环中有核红

细胞数量的增加, 这表明它们参与了人类红系祖细胞与造血岛巨噬细胞之间的分子连接^[26]。应用这些抗体的同时可以释放造血干细胞和造血祖细胞进入外周血, 所以 VLA-4 对于造血干细胞与其他干细胞龛中基质巨噬细胞的连接也十分重要^[27]。

4 巨噬细胞在有核红细胞去核化中的作用

巨噬细胞在有核红细胞成熟分化的最后阶段具有十分重要的作用。有核红细胞最终的成熟和网织红细胞的分离是一个不同步的过程, 它首先形成两个子细胞, 固缩的细胞核以及其他细胞器堆积在一个子细胞中 (即膜包裹的细胞核), 另一个子细胞也就是网织红细胞, 从造血岛释放入血液循环中^[28]。

在这个非同步的过程中, 膜表面受体 (如 $\alpha 4\beta 1$ 整合素等)、磷脂酰胆碱等膜质以及细胞骨架组成部分都是非常重要的。造血岛巨噬细胞分泌特定的蛋白分子来承担连接、吞噬及降解膜包裹的核的任务。而其中 EMP 是这个过程中关键的分子, 因为 EMP 基因缺失的小鼠会出现造血岛及有核红细胞去核化的减少^[8]。原肌球蛋白调节蛋白 (Tmod3) 是细胞骨架中与原肌球蛋白结合的蛋白质, Tmod3 缺失的小鼠胚胎在第 14.5~18.5 天死于贫血, 同时伴有造血岛形成障碍, 及 BFU-Es、CFU-Es、胎肝中有核红细胞数量的减少^[29]。MerTK (络氨酸激酶) 受体是巨噬细胞表面受体的代表之一, 它可以通过蛋白 S 连接到细胞膜表面的磷脂酰胆碱上从而吞噬膜包裹细胞核^[30-31]。其他相关的跨膜络氨酸激酶, 如 Axl TK 同样具有重要作用。健康小鼠中同时敲除 MerTK 受体和 Axl 基因时, 比单独敲除每一个基因将会出现更为严重的骨髓和脾脏贫血^[32]。以上是在有核红细胞在分化成熟阶段作用较为重要的几个分子, 而且红系的去核成熟是一个非常有效率的过程, 巨噬细胞在吞噬膜包裹细胞核的同时, 大约每秒钟可以生产一百万个网织红细胞。

5 红系 Kruppel 样因子 1 在协调造血岛中的作用

红系 Kruppel 样因子 1 (KLF1) (以前被称为

EKLF) 在小鼠及人类中血红蛋白的生成、细胞核的压缩、去核化以及铁的代谢等过程中具有关键的调节作用。它主要是在基因水平调节红系的生成。Klf1 基因缺失的实验小鼠都会出现循环中有核红细胞数目的明显增加, 这表示该基因的缺失将导致有核红细胞的去核化障碍。由于 KLF1 蛋白能够直接促进 *Icam4* 基因的转录^[33], 在 Klf1 基因缺失的小鼠和人类细胞中, ICAM-4 的表达水平也会降低^[34]。上述结果说明, KLF1 可以在基因水平调节有核红细胞与造血岛巨噬细胞之间的分子连接。

通常骨髓造血祖细胞分化成为粒-单祖细胞和巨-红祖细胞, 巨噬细胞来源于粒-单祖细胞而红细胞来源于巨-红祖细胞, 传统观念认为这两个谱系是平行的, 而巨噬细胞与红细胞并不直接来源于同一个祖细胞。数十年来 KLF1 一直被认为是红细胞内特异性表达的转录因子, 而在 2011 年, Porcu 等^[35] 的报道称, 在造血岛巨噬细胞内发现了 KLF1 蛋白或者它的 DNA 结合活性, 表明巨噬细胞内也可能表达 KLF1。目前这个报道还是有争议的, 因为 KLF1 的免疫荧光信号究竟是来自于巨噬细胞还是来自于被吞噬的红细胞尚不清楚。

而 2014 年 Xue 等^[36] 发表的文章对巨核细胞和红细胞的发育以及 KLF1 受限表达于红细胞的观点提出了挑战。作者将 Klf1 启动子驱动的绿色荧光蛋白 (GFP) 基因导入到胚胎造血干细胞中, 结果发现, KLF1 并不表达于骨髓造血祖细胞及巨噬或粒系祖细胞, 而在胎肝中有相当一部分的 F4/80⁺ 的巨噬细胞是 GFP⁺ 的。由此可以推断, KLF1 蛋白可能是特异性地表达于分化成熟的造血岛巨噬细胞, 而不是所有类型的巨噬细胞, 这样, KLF1 可能会在协调铁代谢、巨噬细胞与有核红细胞之间去核化的过程发挥着重要的作用^[36]。值得注意的是, Xue 等^[36] 并没有表明在造血岛巨噬细胞中检测到 KLF1 蛋白, 而只是检测到了 Klf1 启动子驱动 GFP, 目前还没能利用反转录 PCR 的方法检测到 Klf1 mRNA 表达于成年小鼠骨髓 CD11b⁺ F4/80⁺ CD169⁺ 巨噬细胞中, 因此上述的推断还不能完全证实。可能造血岛巨噬细胞中 KLF1 是存在的, 但是利用现有的抗体通过免疫荧光和免疫印迹的方法是检测不到的。

巨噬细胞内存在的 Dnase2a 基因可以编码一

种核酸酶, 对于降解细胞核十分重要。Dnase2a 基因缺失的小鼠一般会因贫血而死于孕中期, 且伴有有核红细胞的过量存在^[37]。通过移植的相关方法研究证明, 这种贫血并不是红细胞自身问题引起的, 而是造血岛巨噬细胞的缺陷造成了未降解的细胞核 DNA 过量堆积, 从而引发了炎症反应^[33]。因此, Dnase2a 基因对于巨噬细胞降解细胞核十分重要。Porcu 等^[35] 已经证明在 Klf1 缺失的小鼠中, Dnase2a 基因表达是下降的, 因此推测, Klf1 可以通过调节 Dnase2a 基因的表达从而调控造血岛巨噬细胞的吞噬与降解过程。

Xue 等^[36] 的这篇文章提供了一种可能性, Klf1 启动子可能只在 F4/80⁺ 的巨噬细胞的转录环境中才可以驱动 GFP 表达, 因此, Klf1 启动子在体内可能有两种作用, 除了直接调节有核红细胞中的 Klf1 编码序列, 它还可以在巨噬细胞内激活 Dnase2a 基因。因此, 它可以同时调节有核红细胞的核固缩以及造血岛巨噬细胞吞噬和降解的复杂过程。而目前证明, KLF1 的基因突变可以导致先天性红细胞生成异常性贫血 (CDA) 的新的形式, 即 IV 型^[38]。

6 应力状态下巨噬细胞对红系造血的作用

Socolovsky^[39] 认为, Chow 等^[12] 和 Ramos 等^[24] 两组人员都研究了巨噬细胞减少对于红系生成的影响, 并重点强调了应力状态下以及红细胞疾病如真红、 β -地贫等状态下巨噬细胞的重要角色。其中 Chow 等^[12] 实验组利用 Siglec1-DTR 的小鼠和氯膦酸二钠脂质体清除单核巨噬细胞的小鼠两种模型, 研究了正常无疾病状态下巨噬细胞的减少对机体造成的影响, 同时, 也研究了利用 PHZ (苯胍) 引起的溶血性贫血、失血性贫血、骨髓抑制时造血恢复中巨噬细胞的作用, 并研究了真红的小鼠模型; 而 Ramos 等^[24] 只研究了氯膦酸二钠脂质体导致的单核细胞减少对于真红及 β -地贫小鼠模型的影响。两组研究都观察到当清除单核细胞或者 CD169⁺ 的巨噬细胞时, 骨髓中有核红细胞都会减少。当长期给予氯膦酸二钠脂质体 (超过 12 周) 将会导致贫血, 这种贫血是以缺铁性贫血为特征的, 而补充铁剂也不能纠正。因此, 造血岛巨噬细胞在造血恢复中的铁运输与回收过程中具有非

常重要的作用。两实验组都还观察到,在PHZ(苯肼)引起的溶血性贫血模型小鼠中,氯磷酸二钠脂质体导致的单核细胞清除以及CD169⁺的巨噬细胞清除的小鼠模型出现造血恢复的延迟。同样,在骨髓移植及骨髓抑制期的造血恢复也在这两种模型中延迟。这些数据表明,中央巨噬细胞在健康状态下有核红细胞的分化成熟及疾病状态下红系生成的补救十分重要^[12,24]。

真红是由于JAK2基因外显子V617F点突变而触发了络氨酸激酶持续性的活化而引起的一种骨髓增殖性肿瘤^[40]。将JAK2-V617F突变基因导入到JAK2基因缺陷的小鼠中,形成了真红的小鼠模型。无论是在真红小鼠的早期还是疾病形成的阶段,给予氯磷酸二钠脂质体都可以使红细胞压积及红细胞数目正常化,并减少红细胞生成(网状红细胞计数减少),减少髓外造血,减少脾肿大。在这种脂质体治疗后,真红症状减少持续4周。因此,巨噬细胞在这种携带致病基因突变状态下的红细胞生成具有重要作用,这可能会成为一种潜在的治疗方式^[12]。

β -地贫是由于 β 珠蛋白基因突变导致 β 珠蛋白链合成不足而引起的溶血性贫血^[41]。Hbbth3阳性的小鼠模拟了人类的 β -地贫。这些小鼠中减少吞噬细胞可以改善贫血和血红蛋白生成情况。更重要的是,长期给予氯磷酸二钠脂质体可以有效改善贫血、脾肿大,这可能是延长了红细胞寿命所致。这表示,巨噬细胞可能是通过降解缺陷红细胞而加重 β -地贫的贫血症状^[24]。

7 结语

目前,对于巨噬细胞与红系造血关系的研究主要是由小鼠实验或者体外培养实验得来的,而且两者之间的关系仍然不是十分清楚。然而,在真红及 β -地贫等疾病中的研究发现,巨噬细胞在这些疾病中发挥着某种重要的作用。这种发现可能为将来治疗真红及 β -地贫等疾病提供了一种潜在的靶向治疗方法。而且近年来随着对造血岛巨噬细胞认识的逐步深入,为更好地探索巨噬细胞在红系生成过程中的作用提供了有力的帮助。

[参考文献]

- [1] 张玥,韩代书.红系造血微环境—成红细胞血岛[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(2):195-199.
- [2] Lee SH, Crocker PR, Westaby S, et al. Isolation and immunocytochemical characterization of human bone marrow stromal macrophages in hemopoietic clusters[J]. J Exp Med, 1988, 168(3): 1193-1198.
- [3] Gutknecht MF, Bouton AH. Functional significance of mononuclear phagocyte populations generated through adult hematopoiesis[J]. J Leukoc Biol, 2014, 96(6): 969-980.
- [4] Leimberg MJ, Prus E, Konijn AM, et al. Macrophages function as a ferritin iron source for cultured human erythroid precursors[J]. J Cell Biochem, 2008, 103(4): 1211-1218.
- [5] Korolnek T, Hamza I. Macrophages and iron trafficking at the birth and death of red cells[J]. Blood, 2015, 125(19): 2893-2897.
- [6] Soni S, Bala S, Gwynn B, et al. Absence of erythroblast macrophage protein (Emp) leads to failure of erythroblast nuclear extrusion[J]. J Biol Chem, 2006, 281(29): 20181-20189.
- [7] Crocker PR, Werb Z, Gordon S, et al. Ultrastructural localization of a macrophage-restricted sialic acid binding hemagglutinin, SER, in macrophage-hematopoietic cell clusters[J]. Blood, 1990, 76(6): 1131-1138.
- [8] Chow A, Lucas D, Hidalgo A, et al. Bone marrow CD169⁺ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche[J]. J Exp Med, 2011, 208(2): 261-271.
- [9] Lee G, Lo A, Short SA, et al. Targeted gene deletion demonstrates that the cell adhesion molecule ICAM-4 is critical for erythroblastic island formation[J]. Blood, 2006, 108(6): 2064-2071.
- [10] Sonoda Y, Sasaki K. Hepatic extramedullary hematopoiesis and macrophages in the adult mouse: histometrical and immunohistochemical studies[J]. Cells Tissues Organs, 2012, 196(6): 555-564.
- [11] Jacobsen RN, Forristal CE, Raggatt LJ, et al. Mobilization with granulocyte colony-stimulating factor blocks medullary erythropoiesis by depleting F4/80⁺VCAM1⁺CD169⁺ER-HR3⁺Ly6G⁺ erythroid island macrophages in the mouse[J]. Exp Hematol, 2014, 42(7): 547-561.
- [12] Chow A, Huggins M, Ahmed J, et al. CD169(+) macrophages provide a niche promoting erythropoiesis under homeostasis and stress[J]. Nat Med, 2013, 19(4): 429-436.
- [13] Falchi M, Varricchio L, Martelli F, et al. Dexamethasone targeted directly to macrophages induces macrophage niches that promote erythroid expansion[J]. Haematologica, 2015, 100(2): 178-187.
- [14] Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration[J]. Immunobiology, 2014, 219(3): 172-178.
- [15] de Back DZ, Kostova EB, van Kraaij M, et al. Of macrophages and red blood cells; a complex love story[J]. Front Physiol, 2014, 5: 9.

- [16] Bader BL, Rayburn H, Crowley D, et al. Extensive vasculogenesis, angiogenesis, and organogenesis precede lethality in mice lacking all alpha v integrins[J]. *Cell*, 1998, 95(4): 507-519.
- [17] Wang Z, Vogel O, Kuhn G, et al. Decreased stability of erythroblastic islands in integrin $\beta 3$ -deficient mice[J]. *Physiol Rep*, 2013, 1(2): e00018.
- [18] Spring FA, Griffiths RE, Mankelov TJ, et al. Tetraspanins CD81 and CD82 facilitate alpha4beta1-mediated adhesion of human erythroblasts to vascular cell adhesion molecule-1[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e62654.
- [19] Scott LM, Priestley GV, Papayannopoulou T. Deletion of alpha4 integrins from adult hematopoietic cells reveals roles in homeostasis, regeneration, and homing[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(24): 9349-9360.
- [20] Ulyanova T, Scott LM, Priestley GV, et al. VCAM-1 expression in adult hematopoietic and nonhematopoietic cells is controlled by tissue-inductive signals and reflects their developmental origin[J]. *Blood*, 2005, 106(1): 86-94.
- [21] Ulyanova T, Jiang Y, Padilla S, et al. Combinatorial and distinct roles of alpha(5) and alpha(4) integrins in stress erythropoiesis in mice[J]. *Blood*, 2011, 117(3): 975-985.
- [22] Ulyanova T, Padilla SM, Papayannopoulou T. Stage-specific functional roles of integrins in murine erythropoiesis[J]. *Exp Hematol*, 2014, 42(5): 404-409.
- [23] Walkley CR. Erythropoiesis, anemia and the bone marrow microenvironment[J]. *Int J Hematol*, 2011, 93(1): 10-13.
- [24] Ramos P, Casu C, Gardenghi S, et al. Macrophages support pathological erythropoiesis in polycythemia vera and beta-thalassemia[J]. *Nat Med*, 2013, 19(4): 437-445.
- [25] Mao X, Shi X, Liu F, et al. Evaluation of erythroblast macrophage protein related to erythroblastic islands in patients with hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Eur J Med Res*, 2013, 18: 9.
- [26] Robier C, Amouzadeh-Ghadikolai O, Bregant C, et al. The anti-VLA-4 antibody natalizumab induces erythroblastaemia in the majority of the treated patients with multiple sclerosis[J]. *Mult Scler*, 2014, 20(9): 1269-1272.
- [27] Papayannopoulou T, Nakamoto B. Peripheralization of hemopoietic progenitors in primates treated with anti-VLA4 integrin[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(20): 9374-9378.
- [28] Jacobsen RN, Perkins AC, Levesque JP. Macrophages and regulation of erythropoiesis[J]. *Curr Opin Hematol*, 2015, 22(3): 212-219.
- [29] Sui Z, Nowak RB, Bacconi A, et al. Tropomodulin3-null mice are embryonic lethal with anemia due to impaired erythroid terminal differentiation in the fetal liver[J]. *Blood*, 2014, 123(5): 758-767.
- [30] Toda S, Segawa K, Nagata S. MerTK-mediated engulfment of pyrenocytes by central macrophages in erythroblastic islands[J]. *Blood*, 2014, 123(25): 3963-3971.
- [31] McGrath KE. Red cell island dances: switching hands[J]. *Blood*, 2014, 123(25): 3847-3848.
- [32] Tang H, Chen S, Wang H, et al. TAM receptors and the regulation of erythropoiesis in mice[J]. *Haematologica*, 2009, 94(3): 326-334.
- [33] Siatecka M, Bieker JJ. The multifunctional role of EKLF/KLF1 during erythropoiesis[J]. *Blood*, 2011, 118(8): 2044-2054.
- [34] Tallack MR, Magor GW, Dartigues B, et al. Novel roles for KLF1 in erythropoiesis revealed by mRNA-seq[J]. *Genome Res*, 2012, 22(12): 2385-2398.
- [35] Porcu S, Manchinu MF, Marongiu MF, et al. Klf1 affects DNase II-alpha expression in the central macrophage of a fetal liver erythroblastic island: a non-cell-autonomous role in definitive erythropoiesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(19): 4144-4154.
- [36] Xue L, Galdass M, Gnanaprasam MN, et al. Extrinsic and intrinsic control by EKLF (KLF1) within a specialized erythroid niche[J]. *Development*, 2014, 141(11): 2245-2254.
- [37] Kawane K, Fukuyama H, Kondoh G, et al. Requirement of DNase II for definitive erythropoiesis in the mouse fetal liver[J]. *Science*, 2001, 292(5521): 1546-1549.
- [38] Jaffray JA, Mitchell WB, Gnanaprasam MN, et al. Erythroid transcription factor EKLF/KLF1 mutation causing congenital dyserythropoietic anemia type IV in a patient of Taiwanese origin: review of all reported cases and development of a clinical diagnostic paradigm[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2013, 51(2): 71-75.
- [39] Socolovsky M. Exploring the erythroblastic island[J]. *Nat Med*, 2013, 19(4): 399-401.
- [40] Strnad M, Todoric Zivanovic B, Tatomirovic Z, et al. JAK2V617F mutation and endogenous erythroid colony formation in patients with polycythemia vera[J]. *J BUON*, 2014, 19(4): 985-991.
- [41] Kotsis T, Pappas E, Sarmas G, et al. Carotid endarterectomy in a young symptomatic patient with β -thalassemia major[J]. *Ann Vasc Surg*, 2015, 29(4): 838. e1-5.

(本文编辑: 邓芳明)