

• 论 著 •

microRNA 在重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中的表达研究*蓝慧娟[△], 熊礼宽[△], 马 竞

(广东省深圳市宝安区妇幼保健院中心实验室/深圳市出生缺陷医学研究重点实验室 518000)

摘要:目的 探讨 microRNA(miRNA)在重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中的表达情况。方法 采用 miRNA 芯片检测重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血和实时定量 PCR 技术研究 miRNA 差异表达情况。结果 miRNA 芯片结果显示,在样本组中 26 个表达显著上调,30 个表达显著下调。随机挑选表达上调的 hsa-miR-618 和表达下调的 hsa-miR-103a-2-5p 进行实时定量 PCR 检测,结果显示其表达趋势与芯片结果一致,验证芯片结果可靠性。使用数据库软件预测出 17 个表达上调和 24 个表达下调的 miRNA 与重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血可能相关的靶基因。结论 miRNA 在重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中存在显著差异表达。进一步研究 miRNA 在重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中的调控通路可为其发病机理研究及疾病治疗提供新方向和思路。

关键词: microRNA; β -珠蛋白生成障碍性贫血; microRNA 芯片

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)08-1016-04

MicroRNA expression in patients with β -thalassemia major*LAN Huijuan, XIONG Likuan[△], MA Jing(Department of Central Laboratory, Shenzhen Baoan Maternal and Child Health Hospital /
Shenzhen Laboratory of Birth Defects, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

Abstract: Objective To explore microRNA (miRNA) expression patients with β -thalassemia major. **Methods** MiRNA differential expression were detected in β -thalassemia major by miRNA microarray analysis and quantitative real-time PCR. **Results** The results of miRNA array showed that 26 differential expression miRNAs were up regulated and 30 differential expression miRNAs were down regulated. Hsa-miR-618 which expression was up regulated and hsa-miR-103a-2-5p which expression was down regulated were selected for quantitative real-time PCR detection. It was showed that the expression tendency of hsa-miR-618 and hsa-miR-103a-2-5p were consistent. So the method of miRNAs array was reliable. The target genes of 17 miRNAs which were up regulated and 24 miRNAs which were down regulated were predicted by using database software. **Conclusion** It is notable that the differential expression of miRNAs in patients with β -thalassemia major. It will be afforded new direction and thinking for the mechanism research and disease treatment through the further research of the miRNAs regulation pathway in β -thalassemia major.

Key words: microRNA; β -thalassemia major; microRNA microarray

β -珠蛋白生成障碍性贫血是我国南方最常见的一种遗传性慢性小细胞低色素性溶血性贫血。 β -珠蛋白生成障碍性贫血是由于 β -珠蛋白基因突变导致肽链表达失衡,从而引起溶血性贫血。重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者无有效的治疗方法,只能靠定期输血维持生命,大部分患者由于长期输血引起并发症,在青少年期死亡。microRNA(miRNA)是一种内源性非编码小 RNA,通常在转录后水平调控 mRNA 表达。有研究表明 miRNA 在红细胞生长分化过程中起重要作用。本文采用 miRNA 芯片筛选重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中相关 miRNA,结合实时定量 PCR,运用生物信息学数据库和软件分析预测 miRNA 在重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血中可能调控靶基因。

1 材料与方法

1.1 材料 对照组(组 1):2012—2016 年收集 10 例血常规、血红蛋白检测、珠蛋白生成障碍性贫血基因检测均正常者全血,其中男 6 例,女 4 例,年龄 17~23 岁,平均(19.0 $\pm$ 3.2)岁。重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血组(组 2):2012—2016 年收集 10 例重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者全血,其中男 6 例,女

4 例,年龄 6~19 岁,平均(10.9 $\pm$ 3.9)岁。 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测及临床综合确诊为重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血。患者信息及基因型见表 1。

1.2 方法

1.2.1 样本总 RNA 提取 抽取重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血组,对照组 EDTA 抗凝全血 2~3 mL,分别保存于-80℃备用,每个样本取 500 μ L 按组混合,使用 Trizol 试剂(Invitrogen 公司)从两组全血中提取总 RNA, NanoDrop1000 分光光度计 230、260 和 280 nm 波长下检测总 RNA 质量。

1.2.2 miRNA 芯片检测 RNA 通过质检合格后,使用 miRCURYTM Array Power Labeling kit (Exiqon)对 miRNA 进行标记,将样品与 miRCURYTM LNA Array(v. 18.0)(Exiqon)芯片杂交,使用 Axon GenePix 4000B 芯片扫描仪扫描芯片。GenePix Pro 6.0 读取芯片扫描图像,并提取探针的信号值,分析筛选差异表达 miRNA。

1.2.3 实时定量 PCR 根据芯片筛查结果,随机选择表达显著上调的 hsa-miR-618 和表达显著下调的 hsa-miR-103a-2-5p 进行实时定量 PCR 检测,对比芯片结果验证芯片结果可靠性。

* 基金项目:广东省科技计划项目(2013B022000010);深圳市宝安区科技计划项目(2013064);深圳市三名工程项目:出生缺陷预防研究与转化团队。

作者简介:蓝慧娟,女,主管技师,主要从事分子细胞遗传学方向的研究。 [△] 通信作者, E-mail: xionglk@sina.cn。

使用 U6(不同样品间表达量基本恒定)作为内参。反转录引物见表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。反转录循环条件设置为:16 ℃,30 min;42 ℃,40 min;85 ℃,5 min;反应结束后,将其放在冰上待用或-20 ℃保存。荧光实时定量 PCR 引物见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。95 ℃,10 min;40 个 PCR 循环(95 ℃,10 s;60 ℃,60 s,收集荧光)。各样本 miRNA 和内参(U6)分别进行实时定量 PCR 反应。数据采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行分析。

1.2.4 靶基因预测 通过 <http://microrna.sanger.ad.uk/sequences/>可获取显著表达 miRNA 序列、基因位点、基因结构及相关疾病和参考文献等详细资料信息。使用 <http://www.targetscan.org/> 预测显著差异表达 miRNA 与重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血可能相关靶基因。

表 1 重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者信息及基因型				
序号	性别	年龄(岁)	输血年限(年)	β-珠蛋白生成障碍性贫血基因型
1	女	12	11	41-42M/N,654M/N
2	女	12	10	654M/N,17M/N
3	女	10	9	41-42M/N,βEM/N
4	男	9	6	654M/N,17M/N
5	男	19	18	654M/654M
6	男	15	14	654M/N,-28M/N
7	男	8	7	654M/N,17M/N
8	女	11	10	654M/N,17M/N
9	男	6	8	654M/N,17M/N
10	男	7	6	41-42M/N,17M/N

2 结 果

2.1 总 RNA 质量检测结果 使用 NanoDrop ND-1000 定量 RNA 并检测 RNA 质量。 A_{260} 为核酸的吸收峰的吸收波长, A_{280} 为蛋白和酚类物质最高吸收峰的吸收波长, A_{230} 是碳水化

合物最高吸收峰的吸收波长, $OD_{260/280}$ 比值接近 2.0,RNA 纯度越好。 $OD_{260/230}$ 比值大于 1.8,说明杂质较少。检测结果见表 4。

表 4 样本总 RNA 质量检测结果			
样本组	$OD_{260/280}$	$OD_{260/230}$	质控结果
对照组	2.08	2.09	通过
重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血组	2.07	2.12	通过

2.2 miRNA 芯片检测 使用 GenePix Pro 6.0 读取芯片扫描图像,并提取探针的信号值。对全部芯片进行中值标准化,使用标准化的信号值计算两组样本的差异倍数,筛选差异表达探针。当差异倍数 ≥ 1.5 ,表示差异表达显著上调,差异倍数 ≤ 0.5 ,表示差异表达显著下调。实验结果显示,重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血组与对照组芯片数据比对有 26 个表达显著上调的 miRNA,30 个 miRNA 表达显著下调。

2.3 实时定量 PCR 检测结果 实时定量 PCR 检测 hsa-miR-618 和 hsa-miR-103a-2-5p 在对照组和重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血组的表达情况,结果显示 hsa-miR-618β-珠蛋白生成障碍性贫血组/对照组为 1.856,提示 hsa-miR-618 相对对照组表达上调,hsa-miR-103a-2-5pβ-珠蛋白生成障碍性贫血组/对照组为 0.333,提示 hsa-miR-103a-2-5p 相对对照组表达下调(见表 5),其检测结果上显示的表达趋势与芯片结果相符,证明芯片结果可靠。

2.4 靶基因预测结果 使用 <http://www.targetscan.org/> 预测显著差异表达 miRNA 与重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血可能相关靶基因。结果预测 17 个显著上调表达的 miRNA 和 24 个表达显著下调的 miRNA 靶基因可能与重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血有关。见表 6、7。

表 5 实时定量 PCR 结果

miRNA	组别	Ct_{U6}	Ct_{miRNA}	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	组 2/组 1
hsa-miR-618	组 1	14.295	27.244	12.949	0.000	1.000	1.856
	组 2	14.496	26.553	12.057	-0.892	1.856	
hsa-miR-103a-2-5p	组 1	14.295	16.867	2.572	0.000	1.000	0.333
	组 2	14.496	18.603	4.107	1.535	0.333	

注: $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{U6}$; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{组2} - \Delta Ct_{组1}$ 。

表 6 重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血芯片检测 17 个表达上调的 miRNA 靶基因预测

miRNA 名称(差异倍数)	靶基因	靶基因全称
hsa-miR-4513(4.333);hsa-miR-4499(4.184);hsa-miR-1267(5.983)	BTLA	B and T lymphocyte associated
hsa-miR-675-5p(5.256);hsa-miR-4255(3.416)	EPB41L2	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 2
hsa-miR-4261(69.500);hsa-miR-184(5.583)	EPB41L5	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 5
hsa-miR-4723-5p(9.248);hsa-miR-5698(2.919)	EPB41L1	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 1
hsa-miR-9-3p(3.582)	EPB41L4A	erythrocyte membrane protein band 4.1 like 4A
hsa-miR-3158-5p(4.984)	BCL6	B-cell CLL/lymphoma 6
hsa-miR-639(15.056)	BCL7A	B-cell CLL/lymphoma 7A
hsa-miR-187-3p(4.654)	BCL10	B-cell CLL/lymphoma 10
hsa-miR-3655(13.850)	EPO	erythropoietin
hsa-miR-145-3p(4.576)	ATRAX	Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked
hsa-miR-4711-3p(15.009)	HBG1	hemoglobin,gamma A
hsa-miR-596(2.052)	SPTB	spectrin,beta,erythrocytic

表 7 重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血芯片检测 24 个表达下调的 miRNA 靶基因预测

miRNA 名称(差异倍数)	靶基因	靶基因全称
hsa-miR-424-5(0.119);hsa-miR-363-3p(0.139)		
hsa-miR-32-5p(0.140);hsa-miR-182-5p(0.162)		
hsa-miR-500a-3p(0.171);hsa-miR-15a-5p(0.198)		
hsa-miR-151a-3p(0.259);hsa-miR-92b-3p(0.279)		
hsa-miR-25-3p(0.291);hsa-miR-16-5p(0.336)		
hsa-miR-195-5p(0.339);hsa-miR-367-3p(0.342)	BTLA	B and T lymphocyte associated
hsa-miR-140-5p(0.113);hsa-miR-374c-5p(0.153)		
hsa-miR-15b-3p(0.180)	EPB41L2	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 2
hsa-miR-4301(0.086);hsa-miR-301a-3p(0.140)		
hsa-miR-130b-3p(0.317)	EPB41L5	erythrocyte membrane protein band 4.1-like 5
hsa-miR-30e-3p(0.153)	ATRXL	alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked
hsa-miR-302a-5p(0.323)	BCL7B	B-cell CLL/lymphoma 7B
hsa-miR-29c-5p(0.172)	BCL9	B-cell CLL/lymphoma 9
hsa-miR-3613-5p(0.075)	GATA2	GATA binding protein 2
hsa-miR-362-3p(0.282);hsa-miR-362-5p(0.244)	HBG1	hemoglobin, gamma A

3 讨 论

miRNA 是一类长度约为 22 个核苷酸的内源性小分子单链非编码 RNA。miRNA 广泛存在于动植物体内,可负调控生物体内与生长发育及疾病发生发展相关的基因表达。在人类红细胞分化过程含有丰富的 miRNA^[1],miRNA 通过调控其靶基因表达从而调控红细胞分化过程中血红蛋白的表达。例如 Mittal 等^[2]研究发现 miR-320a 在红系分化过程中其表达与靶基因 SMAR1 表达呈负相关,SMAR1 表达增加,有利于促进红细胞分化成熟。另有报道在 K562 细胞红系分化过程中发现 miR-199b-5p 表达显著上调,其调控通路为转录因子 GATA-1 和 NF-E2 与 miR-199b-5p 结合调控其转录,miR-199b-5p 则通过调节靶基因 c-Kit 调控红细胞生长成熟。Li 等^[3]在 K562 and TF-1 细胞中过表达 MiR-200a 结果发现红细胞生长分化受到抑制,其作用靶基因为 PDCD4 和 THRB^[4]。Obeidi 等^[5]研究发现在鼠胚胎干细胞中过表达 Mir-451 可诱导红细胞分化。Li 等^[6]发现在 K562 过表达 miR-218 可以抑制红系分化并通过结合 5-氨基酮戊酸合酶 2 (ALAS2)的 3'-非翻译区 (UTR)抑制 ALAS2 表达从而改变 K562 中的铁代谢。Sun 等^[7]等通过实验研究认为 miR-150 在红细胞末端增殖分化中起重要调控作用。

β-珠蛋白生成障碍性贫血是指 β 链的合成部分或完全受抑制的一组血红蛋白病。许多研究表明 miRNA 在 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者红细胞体外培养过程中起重要作用。Sarakul 等^[8]在 1%低氧条件下培养 K562 细胞及合并 HBE 的重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者外周血细胞,发现 miR-210 比正常氧含量条件下表达显著增加,α、β、γ 珠蛋白表达显著增加。miR-210 很可能是一种低氧状态下的红细胞分化表达调控因子。Lulli 等^[9]发现超表达 miR-486-3P 可使 BCL11A 蛋白表达下降,γ 珠蛋白表达增加,抑制 miR-486-3P 可使 BCL11A 蛋白表达增加,γ 珠蛋白表达下降。因此 miR-486-3P 调控 BCL11A 可能与 HbF 的表达密切相关,在中间型 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者中 miR-486-3P 表达较正常组普遍增高。Sadegh 等^[10]研究发现 miR-26b 可增加 K562 细胞 γ 珠蛋白表达,在镰状细胞疾病及 β-珠蛋白生成障碍性贫血治疗中 miR-26b 可作为一种增强 γ 珠蛋白表达的药物作用靶点。

本文采用 miRNA 芯片技术研究 β-珠蛋白生成障碍性贫

血中 miRNA 表达情况,结果显示 miRNA 在重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血中出现显著差异表达。其中 26 个 miRNA 表达显著上调,30 个 miRNA 表达显著下调。采用 NanoDrop ND-1000 检测芯片杂交所提取的样本 RNA 质量合格,随机挑选芯片检测显示表达显著上调的 hsa-miR-618 和表达显著下调的 hsa-miR-103a-2-5p 进行实时定量 PCR 检测,结果显示这两个 miRNA 在重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血组中的表达趋势与芯片一致,验证了芯片结果可靠性。采用 miRNA 网络数据库软件预测显著差异表达 miRNA 与重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血可能相关靶基因。结果预测的 17 个显著上调表达的 miRNA 和 24 个显著下调表达的 miRNA 靶基因可分为 3 中类型,第 1 类为与红细胞相关(EPB41L 系列靶基因),其中上调 miRNA 中有 8 个,下调 miRNA 中有 5 个 miRNA 靶基因为此类型;第 2 类为与 B 细胞、T 细胞、淋巴细胞相关(BTLA、BCL 系列靶基因),其中上调 miRNA 中有 6 个,下调 miRNA 中有 14 个;第 3 类为与血红蛋白,珠蛋白生成障碍性贫血相关(ATRX、HBG1、SPTB、HBG1、GATA2),其中上调 miRNA 中有 3 个,下调 miRNA 中有 4 个。由此可见在重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者红细胞发育过程中可出现多个不同 miRNA 可通过调控相同靶基因从而调节各种蛋白表达的目的。

在预测差异表达 miRNA 靶基因后可通过体外培养转染目的 miRNA 的 K562 细胞,对培养过程中 miRNA、靶基因以及各种珠蛋白量进行检测,以此初步获得目的 miRNA 调节通路。本文芯片结果出现多个 miRNA 表达上调或下调,说明 miRNA 在重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血红细胞分化过程中起非常重要的调控作用,预测出差异常表达 miRNA 靶基因,可为进一步研究新的 miRNA 在重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血中调控通路提供有利数据。

参考文献

[1] Listowski MA, Heger E, Bogusławska DM, et al. MicroRNAs: fine tuning of erythropoiesis[J]. Cell Mol Biol Lett, 2013, 18(1): 34-46.

[2] Mittal SP, Mathai J, Kulkarni AP, et al. miR-320a regulates erythroid differentiation through MAR binding protein SMAR1[J]. Int J Biochem Cell (下转第 1022 页)

- [2] Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(2): 78-85.
- [3] Mohr AM, Mott JL. Overview of microRNA biology[J]. *Semin Liver Dis*, 2015, 35(1): 3-11.
- [4] Lee H, Han S, Kwon CS, et al. Biogenesis and regulation of the let-7 miRNAs and their functional implications[J]. *Protein Cell*, 2016, 7(2): 100-113.
- [5] Wang T, Wang G, Hao D, et al. Aberrant regulation of the LIN28A/LIN28B and let-7 loop in human malignant tumors and its effects on the hallmarks of cancer[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 125.
- [6] Liang Y, Zhao G, Sun R, et al. Genetic variants in the promoters of let-7 family are associated with an increased risk of major depressive disorder[J]. *J Affect Disord*, 2015, 183: 295-299.
- [7] 黄芳, 胡铃敏, 刘继斌, 等. let-7 启动子区基因多态性与肝细胞肝癌遗传易感性的关联[J]. *中华预防医学杂志*, 2011, 45(12): 1093-1098.
- [8] 朱龙彪, 袁华, 张宇, 等. let-7 基因多态与中国汉族人群头颈癌易感性的关联研究[J]. *口腔生物医学*, 2014, 5(2): 57-60.
- [9] Zhang Y, Zhu L, Wang R, et al. Genetic variants in let-7/Lin28 modulate the risk of oral cavity cancer in a Chinese Han population[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 7434.
- [10] Wang Y, Wei T, Xiong J, et al. Association between genetic polymorphisms in the promoter regions of let-7 and risk of papillary thyroid carcinoma: A case-control study [J]. *Medicine*, 2015, 94(43): e1879.
- [11] 谢钰珍. let-7 启动子区域单核苷酸多态性与非小细胞肺癌易感性的相关性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [12] Sui ZY, Li J, Cheng GL, et al. A single nucleotide polymorphism in the promoter region (rs10877887) of let-7 is associated with hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15 (2): gmr15027661.
- [13] Shen LQ, Xie YZ, Qian XF, et al. A single nucleotide polymorphism in the promoter region of let-7 family is associated with lung cancer risk in Chinese [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 4504-4512.
- [14] Yan YX, Wu LJ, Zhang J, et al. Let-7 related genetic variation and risk of metabolic syndrome in a Chinese population[J]. *Endocr J*, 2015, 62(10): 887-896.
- [15] Xie K, Liu J, Zhu L, et al. A potentially functional polymorphism in the promoter region of let-7 family is associated with survival of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Epidemiol*, 2013, 37(6): 998-1002.
- [16] Tian X, Dai S, Sun J, et al. Association between TP53 Arg72Pro polymorphism and leukemia risk: a meta-analysis of 14 case-control studies [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: e24097.
- [17] Shell S, Park SM, Radjabi AR, et al. Let-7 expression defines two differentiation stages of cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(27): 11400-11405.
- [18] Sun X, Liu J, Xu C, et al. The insights of Let-7 miRNAs in oncogenesis and stem cell potency [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(9): 1779-1788.
- [19] Wang MJ, Luo YJ, Shi ZY, et al. The associations between MDM4 gene polymorphisms and cancer risk [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(34): 55611-55623.
- [20] Xu C, Zhu J, Fu W, et al. MDM4 rs4245739 A > C polymorphism correlates with reduced overall cancer risk in a meta-analysis of 69477 subjects [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (44): 71718-71726.

(收稿日期: 2016-09-12 修回日期: 2016-11-13)

(上接第 1018 页)

- [2] Biol, 2013, 45(11): 2519.
- [3] Li Y, Zhang Q, Du Z, et al. MicroRNA 200a inhibits erythroid differentiation by targeting PDCD4 and THRB [J]. *Br J Haematol*, 2017, 176(1): 50-64.
- [4] 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): 213-219.
- [5] Obeidi N, Pourfathollah AA, Soleimani M, et al. The Effect of Mir-451 Upregulation on Erythroid Lineage Differentiation of Murine Embryonic Stem Cells [J]. *Cell J*, 2016, 18(2): 165-178.
- [6] Li Y, Liu S, Sun H, et al. miR-218 Inhibits Erythroid Differentiation and Alters Iron Metabolism by Targeting A-LAS2 in K562 Cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (12): 28156-28168.
- [7] Sun Z, Wang Y, Han X, et al. miR-150 inhibits terminal erythroid proliferation and differentiation [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(40): 43033-43047.
- [8] Sarakul O, Vattanaviboon P, Tanaka Y, et al. Enhanced erythroid cell differentiation in hypoxic condition is in part contributed by miR-210 [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2013, 51(2): 98.
- [9] Lulli V, Romania P, Morsilli O, et al. MicroRNA-486-3p Regulates γ -Globin Expression in Human Erythroid Cells by Directly Modulating BCL11A [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (4): e60436.
- [10] Alijani S, Alizadeh S, Kazemi A, et al. Evaluation of the Effect of miR-26b Up-Regulation on HbF Expression in Erythroleukemic K-562 Cell Line [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2014, 6(1): 53-56.

(收稿日期: 2016-10-14 修回日期: 2016-12-25)

