

DOI: 10.13376/j.cbls/2022035

文章编号: 1004-0374(2022)03-0294-08

热休克蛋白与红系发育

刘 瑞^{1,2}, 罗赛群¹, 孙曙明^{1,2}, 刘 静^{1,2}, 陈慧勇^{1,2*}

(1 中南大学生命科学学院, 长沙 410013; 2 中南大学血液学基础与应用湖南省重点实验室, 长沙 410078)

摘要: 热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是一类广泛存在且高度保守的分子伴侣蛋白质, 参与生物体多种生理生化过程的调控。红细胞生成起源于造血干细胞, 发育调控高度特化且机制复杂。在生理性红细胞发育过程中, 红系细胞的增殖与分化、血红蛋白的合成与降解及线粒体自噬等生命活动都需要热休克蛋白的参与。不仅如此, 越来越多的证据表明, 地中海贫血、纯红细胞再生障碍性贫血及骨髓异常增生综合征等红细胞异常相关疾病的发生与热休克蛋白的异常表达有关。因此, 全面了解红系发育中热休克蛋白的作用与机制将有助于阐明这些红细胞异常相关疾病的发生机理, 并由此探索更多的治疗策略。该文就目前热休克蛋白与红系发育相关的研究进行综述, 并对相关疾病诊疗研究新方向提出展望。

关键词: 热休克蛋白; 红细胞生成; 分子伴侣; 血红蛋白; 线粒体

中图分类号: Q462; Q71 **文献标志码:** A

Heat shock proteins and erythropoiesis

LIU Rui^{1,2}, LUO Sai-Qun¹, SUN Shu-Ming^{1,2}, LIU Jing^{1,2}, CHEN Hui-Yong^{1,2*}

(1 School of Life Sciences, Central South University, Changsha 410011, China; 2 Key Laboratory of Basic and Applied Hematology in Hunan Province, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: Heat shock proteins (HSPs) are highly conserved and ubiquitous molecular chaperones that regulate various physiological and biochemical processes. Mature erythrocytes originate from hematopoietic stem cells. The regulation of erythrocyte development is highly specialized and the mechanisms are complex. Interestingly, HSPs are required in almost all stages of physiological erythropoiesis, including the proliferation and differentiation of erythroid cells, the synthesis and degradation of hemoglobin and mitophagy. Moreover, increasing evidence shows that the development of certain red blood cell disorders, such as thalassemia, pure erythrocyte aplastic anemia, and myelodysplastic syndromes are associated with dysregulated heat shock proteins. Therefore, a comprehensive understanding of how heat shock proteins regulate erythropoiesis will help to clarify the pathogenesis of these diseases, and further explore more treatment strategies. In this review, we describe current researches on the roles of heat shock proteins in erythroid development to provide knowledge basis and a new therapeutic idea for the future treatment of erythrocytes disorders.

Key words: heat shock protein; erythropoiesis; chaperone; hemoglobin; mitochondria

热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 最初由意大利科学家 Ritossa 在高温休克的果蝇唾液腺中偶然发现, 故而命名为热休克蛋白^[1]。除热刺激外,

营养缺失、中毒、缺氧、渗透胁迫、创伤等其他应激源也可诱导 HSP 表达, 因此 HSP 也被称为应激蛋白 (stress protein, SP)^[2-3]。HSP 广泛存在于生物界,

收稿日期: 2021-11-16; 修回日期: 2021-12-28

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFA0107800); 国家自然科学基金项目(81920108004、81770107); 湖南省重点研发计划(2022SK2037); 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30892); 长沙市自然科学基金项目(kq2014139)

*通信作者: E-mail: chenhuiyong@csu.edu.cn; Tel: 0749-84805449

在进化上高度保守, 常作为分子伴侣在多种细胞的蛋白质折叠、重塑、运输和降解过程中发挥作用^[4-6], 进而参与机体应激损伤修复、细胞凋亡、免疫、肿瘤发生发展, 乃至红细胞的发育调控等多种生命活动^[7-11]。

红细胞是循环系统中最主要的血细胞。造血干细胞经红系造血祖细胞进入红系终末分化阶段, 即原始红、早幼红、中幼红和晚幼红等4个有核红系前体细胞阶段, 后脱核生成网织红细胞, 并进一步发育为成熟红细胞, 最后进入循环系统发挥作用^[12]。在哺乳动物红细胞终末分化进程中, 血红蛋白开始大量合成, 细胞核逐渐浓缩丢失, 同时线粒体也自噬消失^[13-14]。红细胞生成是一个从DNA、RNA到蛋白质水平均受到高度特化调控的过程^[15-17]。早在1980年代, 在多种生物(如鸡、人类)的有核红系前体细胞及网织红细胞中就曾发现HSP70富集^[18-20]。近年多项研究表明, HSP异常表达与地中海贫血病、纯红细胞再生障碍性贫血(又名Diamond-Blackfan anemia, DBA)及骨髓异常增生综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)等红细胞异常相关疾病的发生有关^[21-24]。

1 热休克蛋白家族成员概述

HSP家族成员众多, 根据分子量大小不同, 可分为HSP110、HSP90、HSP70、HSP60及小分子热休克蛋白(small heat shock protein, sHSP)等不同亚家族。这些HSP成员在生物进化过程中高度保守, 如不同生物来源的HSP70核苷酸序列有50%~98%的相似性^[25]。大部分HSP属于ATP依赖性分子伴侣, 具有ATP酶活性, 但sHSP以不依赖ATP的方式发挥作用^[26-27]。最常见的HSP70亚家族有13个成员, 由HSPA基因家族编码。HSP90亚家族也有5个成员, 由HSPC基因家族编码^[28]。

不同HSP家族成员定位于不同亚细胞区, 并可根据细胞所处环境的不同而发生定位改变。如细胞应激时, 原本均匀分布在核和胞浆的HSP70迅速进入细胞核并包围核仁, 以增强细胞的耐受性或发挥抗细胞凋亡功能^[29]。细胞内的HSP作为分子伴侣维持其他蛋白质动态平衡, 而胞外的HSP则会触发其定向的自身免疫反应性, 比如胞外的HSP70可作为MHC-I分子交叉呈递的免疫原, 具有免疫调节功能^[30-31]。现已明确, HSP异常高表达与肿瘤的发生发展密切相关, 可作为恶性肿瘤的一种分子标志, 并参与肿瘤的生长、侵袭、转移等^[32-35]。

不仅如此, HSP还参与了生理性与病理性红细胞生成的调控, 表1列举了参与红系发育及肿瘤免疫调控的主要HSP成员。

2 热休克蛋白与红细胞数量控制

红细胞是脊椎动物运输氧气的媒介, 其数目失衡或质量失常均会导致疾病发生。因此, 健康成熟红细胞的适当生成与不断更新是维持机体生命活动有序进行的必需条件。而适当数目的红细胞生成是建立在一定的红系细胞增殖、凋亡调控基础上的, HSP70和HSP27在其中发挥关键调节作用^[51, 53]。

HSP70可在人类有核红系前体细胞中持续表达, 并在前体细胞成熟晚期转移至核内与GATA-1结合, 保护GATA-1免受半胱天冬蛋白水解酶3(caspase-3)的剪切, 防止其降解^[36, 54]。GATA-1是促红细胞生成的主要转录调节因子, 具有抗凋亡活性, 以维持红系前体细胞的生存^[55]。HSP70不仅可以通过稳定GATA-1抑制红系前体细胞凋亡, 还能与细胞凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)结合, 使AIF滞留于细胞质中, 抑制其促凋亡活性^[58-59]。因此, 即使在正常红系分化过程中存在短暂caspase激活和AIF释放等促凋亡因素, 但细胞并未凋亡。除HSP70外, 红系前体细胞中表达的HSP27也发挥着凋亡调节作用。HSP27是一种不依赖于ATP的小分子应激蛋白, 同时也是调节GATA-1表达水平和活性的另一重要蛋白。HSP27磷酸化入核后, 与GATA-1结合, 诱导GATA-1发生泛素化和蛋白酶体降解, 这可能是GATA-1更新的一种方式^[51]。综上, GATA-1一方面因HSP70的保护而免受caspase-3的剪切, 另一方面又受到HSP27诱导的蛋白酶体降解, 或许正是在这两种热休克蛋白协同精准调控下, 机体GATA-1水平保持平衡, 红细胞生成数量得以维持稳定。

而在病理情况下, 如重型 β -地中海贫血, 由于 β -珠蛋白亚基缺乏, 有核红系前体细胞中大量游离的 α -珠蛋白链与HSP70相结合, 阻断HSP70入核, 导致GATA-1失去保护而发生过度降解, 细胞大量凋亡, 红系发育停滞^[21]。相应地, 若提高红系前体细胞核内HSP70的蛋白质水平则能一定程度改善重型 β -地中海贫血的分化阻滞^[56]。与重型 β -地中海贫血类似, MDS的红细胞生成障碍也与HSP70核定位缺失相关, 发生机制同样也涉及到GATA-1蛋白稳定性下降^[22, 57]。

表1 主要人类热休克蛋白家族成员及功能

亚家族	主要成员	别名	亚细胞定位	主要生物学功能	红细胞发育中的调控作用
HSP70	热休克蛋白70 (HSP70)	HSPA1或HSP72	主要分布在细胞质, 热激后可入核	诱导型HSP70, 参与多肽的合成、组装以及向线粒体、内质网的转运 ^[29]	在终末红系分化过程中入核保护GATA-1, 从而抑制红细胞凋亡 ^[36]
	热休克同源蛋白70 (HSC70)	HSPA8或HSP73	主要分布在细胞质	组成型HSP70, 主要调控蛋白质的内吞和自噬; 调节细胞凋亡、胚胎发育和衰老 ^[37]	可通过调节 <i>BCCL11A/BIM</i> mRNA稳定性和功能性HRI而参与造血调控 ^[38-39]
	葡萄糖调节蛋白78 (GRP78)	HSPA5或BIP	主要位于内质网腔	组成型HSP70, 与进入内质网的未折叠蛋白质的疏水氨基酸结合, 防止多肽链不正确地折叠和聚集; 参与内质网应激而调控细胞凋亡 ^[40]	尚未见报道
	葡萄糖调节蛋白75 (GRP75)	HSPA9/mot-2/ PBP74/Mortalin/ mtHSP70	主要存在于线粒体	组成型HSP70, 可能在调控细胞增殖和衰老方面发挥作用 ^[41]	与线粒体铁硫簇(ISC)组装蛋白相互作用, 通过稳定ISC组装来调节红细胞生成 ^[42]
HSP90	热休克蛋白90 α (HSP90 α)	HSPC1	细胞质	促进多种类固醇激素受体、转录因子、蛋白激酶的正确折叠, 并参与细胞信号转导途径 ^[43] ; 与肿瘤细胞的侵袭和迁移密切相关, 可作为如肝癌等恶性肿瘤检测的标志物 ^[44]	在正常红细胞发育过程中作为 β / γ -珠蛋白的特异分子伴侣维持其稳定并促进成熟 ^[45]
	热休克蛋白90 β (HSP90 β)	HSPC3	细胞质	参与内质网蛋白的折叠、转运等; 抑制错误折叠蛋白分泌, 调节内质网应激, 诱导细胞凋亡; 与内质网中的Ca ²⁺ 结合, 介导肿瘤和病毒感染细胞免疫原性的产生 ^[46]	尚未见报道
	葡萄糖调节蛋白94 (GRP94)	HSP90B1或HSPC4	内质网	线粒体呼吸的负调节因子, 能够调节氧化磷酸化和有氧糖酵解之间的平衡; 维持线粒体完整性及细胞内稳态; 抵御由氧化应激导致的细胞凋亡 ^[47]	尚未见报道
HSP60	热休克蛋白60 (HSP60)	HSPD1、CPN60或线粒体 HSP60	线粒体	促进线粒体蛋白输入、折叠和重塑; 与线粒体DNA复制、传递密切相关; 从线粒体释放到细胞质中积累后具有促凋亡作用 ^[48]	与小鼠胚胎发育时期卵黄囊细胞存活密切相关 ^[49]
HSP110	热休克蛋白105 (HSP105)	HSP105A或HSP105B	细胞质、细胞核	作为HSP70与HSC70的核苷酸交换因子, 促进ADP从HSP70/HSC70释放, 从而触发客户/底物蛋白释放 ^[50] ; 可结合内源性或外源性抗原多肽激活免疫效应细胞, 进而启动免疫应答反应	尚未见报道
sHSPs	热休克蛋白27 (HSP27)	HSPB1	细胞核、细胞质	保护细胞免受肿瘤坏死因子- α (TNF- α)介导的细胞凋亡; 与雌激素反应性恶性肿瘤相关 ^[51]	磷酸化后诱导乙酰化的GATA-1发生泛素化和蛋白酶体降解, 有利于红系分化 ^[51]
	α -珠蛋白稳定蛋白 (AHSF)	/	细胞质	血红素蛋白稳定性调控 ^[52]	在正常红细胞发育过程中作为 α -珠蛋白的特异性分子伴侣维持其稳定并促进成熟 ^[52]

3 热休克蛋白与珠蛋白合成调控

血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 作为红细胞携氧的分子基础, 其大量合成是红系发育过程中的重要事件。成人血红蛋白 (HbA) 是由 2 个 α -珠蛋白和 2 个 β -珠蛋白亚基组成的异四聚体, 其中每个亚基结合一分子血红素。在一些血红蛋白病中, 血红蛋白合成异常引起过量游离珠蛋白、血红素或其合成中间体积聚, 导致红细胞成熟受损^[60-61]。HSP 则直接或间接参与了血红蛋白合成过程中的转录、翻译、蛋白质折叠及稳定性等多个层次的调节。

HSP 影响珠蛋白基因转录主要是通过稳定 GATA-1 实现的, GATA-1 是调控珠蛋白编码基因的重要转录因子。在 DBA 有核红系前体细胞中, HSP70 存在过度的泛素蛋白酶体降解, GATA-1 因此失去保护而受到 caspase-3 的剪切, 珠蛋白基因转录合成被抑制, 血红素相对过量而大量游离, 继而引发系列病征^[62]。HSP 对珠蛋白翻译的调控则是通过真核翻译起始因子 eIF2 α 激酶家族成员 HRI (heme-regulated inhibitor, 血红素调节翻译抑制因子), HRI 是珠蛋白翻译起始的负调控因子^[63-65]。研究表明, HSP 参与功能性 HRI 形成, 如包含 HSP70 或 HSP90 的蛋白质复合物可结合新生的 HRI 进行共翻译, 促进其折叠, 这是形成 HRI 激酶活性的前提^[66-67]。但 Uma 等^[38]发现 HSP70 亚家族成员 HSC70 能抑制 HRI 的激酶活性。此外, Shan 等^[42]在体外研究中发现, HSP70 亚家族成员 HSPA9 可通过稳定铁硫簇蛋白组装而调控红细胞生成, 当其缺失时会导致铁硫簇蛋白合成受损, 从而抑制 Alas2 表达, 最终抑制血红素合成和红系分化, 而 HSPA9 在一些 MDS 亚型中经常缺失, 因此这一过程可能与 MDS 发生有关。

除了转录和翻译调控以外, 机体中还存在不同的分子伴侣以维持珠蛋白亚基的稳定性, 如 α -珠蛋白稳定性与可溶性的维持离不开 α 血红蛋白稳定蛋白 (AHSP)。AHSP 是一种小分子红系蛋白, 可作为分子伴侣与游离 α -珠蛋白特异性结合, 促进 α -珠蛋白结构完整, 避免其沉积在细胞膜上^[68-69]。Kong 等^[52]在 β -地中海贫血小鼠模型中发现 AHSP 缺失会加重 α -珠蛋白沉积。除维持 α -珠蛋白的稳定外, 体外实验表明 AHSP 还可以将结合氧的 α -珠蛋白传递给 β -珠蛋白, 以形成血红蛋白四聚体^[52, 68]。那么对于 β -珠蛋白亚基, 其特异性分子伴侣呢? 据体外研究报道, HSP90 可结合未成熟且无血红素

的 β -珠蛋白或 γ -珠蛋白并维持其稳定, 然后以 ATP 依赖形式驱动 β -珠蛋白或 γ -珠蛋白的血红素嵌合反应, 从而促使它们成熟^[45]。但 HSP90 与 β -珠蛋白的相互作用位点及具体调控机制尚不清楚。

4 热休克蛋白与红细胞内线粒体稳态调节

线粒体参与重要的细胞过程, 如 ATP 产生、细胞凋亡以及血红蛋白合成等。但当血红蛋白完全合成后, 为优化红细胞的携氧功能, 哺乳动物会在网织红细胞阶段通过线粒体自噬以完成线粒体清除^[70-71]。Joo 等^[72]发现, 用 HSP90 抑制剂 17AAG 处理分化进程中的红系前体细胞, 能形成自噬体的网织红细胞数目显著减少, 而线粒体蛋白水平和线粒体总质量相应增加。HSP90 促进线粒体自噬的机制可能与 Unc-51 样激酶 1 (ULK1) 有关。ULK1 是自噬泡形成所必需的一种蛋白质, 活化后能诱导自噬发生, 而 ULK1 的稳定与活化均需要分子伴侣 HSP90 的参与^[72-73]。

实际上, 线粒体中高表达的 HSP70 亚家族成员 HSPA9 同样在红细胞生成中发挥了重要作用^[74]。斑马鱼 *Hspa9b* 基因突变可选择性引起红系和粒系细胞发育受损、血细胞数量下降及贫血等与人类 MDS 相似的症状, 具体机制是功能性 HSPA9 蛋白缺失造成活性氧大量产生, 细胞氧化损伤增加, 凋亡随之发生^[75]。人类 *Hspa9b* 基因定位于 5q31.2, 此位点在 MDS 患者中经常发生缺失, 而敲除人类原代造血细胞中的 *Hspa9b* 也会显著延迟红系前体细胞的成熟^[76-77]。因此, HSPA9 很有可能是红系前体细胞线粒体功能维持的一种重要调节分子, 关系到红系早期发育能否正常进行。与线粒体有关的细胞凋亡还可能是由于线粒体膜电位的下降, 如 HSP60 缺失即会降低线粒体膜电位, 诱导小鼠胚胎造血时期的卵黄囊红细胞凋亡, 最终胚胎因严重贫血死亡^[49]。

5 总结与展望

综上, HSP 家族成员众多, 在红细胞的发育与成熟中发挥多种功能。首先是 HSP70, 它是 HSP 主要成员, 本身也存在不同亚家族成员, 它们不仅是红系发育关键转录因子 GATA-1 的分子伴侣, 也是翻译起始负调控因子 HRI 和凋亡诱导因子 AIF 等的分子伴侣, 直接或间接调节红系细胞的凋亡、血红蛋白和血红素的合成及红系前体细胞线粒体功能的发挥。其次是 HSP90, 它也参与了功能性 HRI

形成, 并作为 β -珠蛋白亚基和自噬泡形成因子 ULK1 的分子伴侣, 调控血红蛋白合成与稳定及线粒体自噬。另外, 还有 ASHP、HSP60、HSP27 等也在红细胞发育过程中发挥着重要作用 (图 1)。

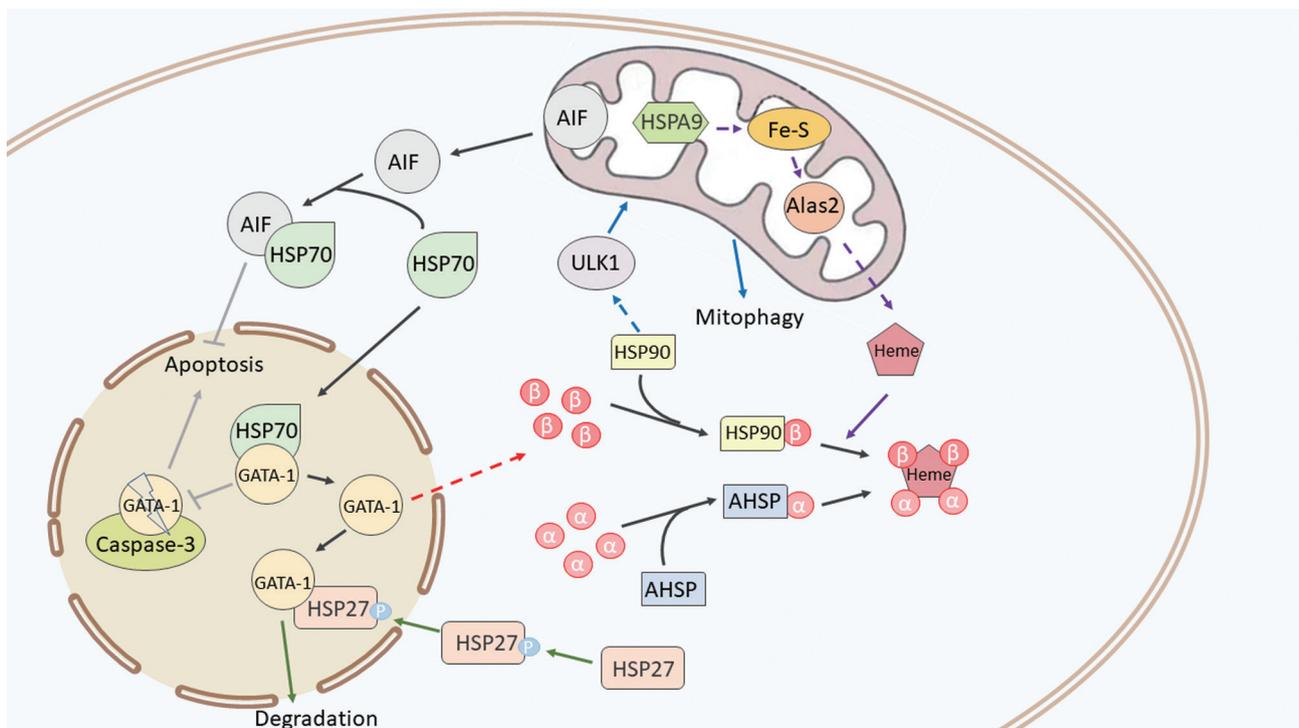
现已了解不同 HSP 成员在红系发育过程中分别发挥的作用, 但同时, 红系发育的每个调控过程可能由多个 HSP 成员共同参与, 如转录因子 GATA-1 具有不同的 HSP 分子伴侣, HSP70 可维持其蛋白质稳定性, 但 HSP27 则促进其蛋白质降解, 以平衡红系细胞的凋亡与增殖及珠蛋白的合成。而就红系细胞凋亡调控而言, 其不仅取决于 GATA-1, 还与线粒体功能有关, 线粒体功能维持又涉及到 HSP60 及 HSP70 亚家族成员 HSPA9 的作用。此外, 血红蛋白的合成调控更是复杂, 牵涉到 HSP70、HSP90 及 ASHP 等多个成员。随着研究的广泛深入开展, 不排除会有调控红系发育的 HSP 新成员被报道, 或已有 HSP 成员参与其他红系发育调控环节的新功能被发现。

以 HSP 为中心的分子伴侣调控网络在生命活动的各个环节发挥不可或缺的作用, 通过药物靶向

HSP 调控分子伴侣机制和质量控制系统或许是潜在的疾病治疗手段^[78-80]。HSP70 在有核红系前体细胞中富集, 探究其在某些与红细胞异常相关的血液疾病中的表达情况, 或许可以使其成为监测如地中海贫血、DBA 等疾病进程的生物标志物。目前已发现上述疾病与红细胞生成过程中 HSP70 的核定位缺失相关, 恢复 HSP70 在细胞核中的表达可能是一个有趣的治疗手段。低等生物 (酵母、真菌、细菌) 可编码合成一种蛋白重塑因子 HSP104^[81], 该分子可与其他分子伴侣协同溶解蛋白聚集体并恢复其功能活性, 或许可通过异位表达该分子来治疗哺乳动物的蛋白质沉积疾病, 如地中海贫血。总之, 揭示分子伴侣 HSP 在红系发育中的重要作用及相关调节机制, 不仅能从分子水平上更好地研究红系分化过程, 还能为治疗相关血液疾病提供新的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] Ritossa F. Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones*, 1996, 1: 97-8
- [2] Ellison MA, Ferrier MD, Carney SL. Salinity stress results in differential Hsp70 expression in the *Exaiptasia pallida*



在红系前体细胞中: 核内 HSP70 与 GATA-1 结合, 保护 GATA-1 免受 caspase-3 剪切而抑制细胞凋亡; 浆内 HSP70 与 AIF 结合, 阻止 AIF 入核与细胞凋亡; 磷酸化 HSP27 入核与 GATA-1 结合, 诱导 GATA-1 降解, 维持 GATA-1 稳定与正常红系分化; 浆内 AHSP 与 HSP90 分别作为 α -珠蛋白和 β -珠蛋白的特异性分子伴侣, 调控血红蛋白合成; 浆内 HSP90 还通过促进 ULK1 稳定与活化介导线粒体自噬; 线粒体中 HSPA9 通过诱导铁硫簇蛋白组装和 Alas2 表达而促进血红素合成和终末红系分化。

图1 热休克蛋白调控红系发育的关键机制模式图

- and *Symbiodinium* symbiosis. *Mar Environ Res*, 2017, 132: 63-7
- [3] Chen B, Feder ME, Kang L. Evolution of heat-shock protein expression underlying adaptive responses to environmental stress. *Mol Ecol*, 2018, 27: 3040-54
- [4] Saibil H. Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 630-42
- [5] Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FU. *In vivo* aspects of protein folding and quality control. *Science*, 2016, 353: aac4354
- [6] Vonk WIM, Rainbolt TK, Dolan PT, et al. Differentiation drives widespread rewiring of the neural stem cell chaperone network. *Mol Cell*, 2020, 78: 329-45.e9
- [7] Moran Luengo T, Mayer MP, Rudiger SGD. The Hsp70-Hsp90 chaperone cascade in protein folding. *Trends Cell Biol*, 2019, 29: 164-77
- [8] Lazenby M, Hills R, Burnett AK, et al. The HSP90 inhibitor ganetespib: a potential effective agent for acute myeloid leukemia in combination with cytarabine. *Leuk Res*, 2015, 39: 617-24
- [9] Li X, Cai X, Zhang Z, et al. Mimetic heat shock protein mediated immune process to enhance cancer immunotherapy. *Nano Lett*, 2020, 20: 4454-63
- [10] Lim S, Cho HY, Kim DG, et al. Targeting the interaction of AIMP2-DX2 with HSP70 suppresses cancer development. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 31-41
- [11] Gautier EF, Leduc M, Cochet S, et al. Absolute proteome quantification of highly purified populations of circulating reticulocytes and mature erythrocytes. *Blood Adv*, 2018, 2: 2646-57
- [12] Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3: a011601
- [13] Zhen R, Moo C, Zhao Z, et al. Wdr26 regulates nuclear condensation in developing erythroblasts. *Blood*, 2020, 135: 208-19
- [14] Liu Y, Mei Y, Han X, et al. Membrane skeleton modulates erythroid proteome remodeling and organelle clearance. *Blood*, 2021, 137: 398-409
- [15] Hattangadi SM, Wong P, Zhang L, et al. From stem cell to red cell: regulation of erythropoiesis at multiple levels by multiple proteins, RNAs, and chromatin modifications. *Blood*, 2011, 118: 6258-68
- [16] Liang L, Peng Y, Zhang J, et al. Deubiquitylase USP7 regulates human terminal erythroid differentiation by stabilizing GATA1. *Haematologica*, 2019, 104: 2178-87
- [17] Wang Y, Li W, Schulz VP, et al. Impairment of human terminal erythroid differentiation by histone deacetylase 5 deficiency. *Blood*, 2021, 138: 1615-27
- [18] Morimoto R, Fodor E. Cell-specific expression of heat shock proteins in chicken reticulocytes and lymphocytes. *J Cell Biol*, 1984, 99: 1316-23
- [19] Singh MK, Yu J. Accumulation of a heat shock-like protein during differentiation of human erythroid cell line K562. *Nature*, 1984, 309: 631-3
- [20] Banerji SS, Laing K, Morimoto RI. Erythroid lineage-specific expression and inducibility of the major heat shock protein HSP70 during avian embryogenesis. *Genes Dev*, 1987, 1: 946-53
- [21] Arlet JB, Ribeil JA, Guillem F, et al. HSP70 sequestration by free α -globin promotes ineffective erythropoiesis in β -thalassaemia. *Nature*, 2014, 514: 242-6
- [22] Frisan E, Vandekerckhove J, De Thonel A, et al. Defective nuclear localization of Hsp70 is associated with dyserythropoiesis and GATA-1 cleavage in myelodysplastic syndromes. *Blood*, 2012, 119: 1532-42
- [23] Gastou M, Rio S, Dussiot M, et al. The severe phenotype of Diamond-Blackfan anemia is modulated by heat shock protein 70. *Blood Adv*, 2017, 1: 1959-76
- [24] Gallardo M, Barrio S, Fernandez M, et al. Proteomic analysis reveals heat shock protein 70 has a key role in polycythemia vera. *Mol Cancer*, 2013, 12: 142
- [25] Hunt C, Morimoto RI. Conserved features of eukaryotic hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp70. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1985, 82: 6455-9
- [26] Genest O, Wickner S, Doyle SM. Hsp90 and Hsp70 chaperones: collaborators in protein remodeling. *J Biol Chem*, 2019, 294: 2109-20
- [27] Mogk A, Ruder-Herreros C, Bukau B. Cellular functions and mechanisms of action of small heat shock proteins. *Annu Rev Microbiol*, 2019, 73: 89-110
- [28] Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*, 2009, 14: 105-11
- [29] Rosenzweig R, Nillegoda NB, Mayer MP, et al. The Hsp70 chaperone network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 665-80
- [30] Stocki P, Dickinson AM. The immunosuppressive activity of heat shock protein 70. *Autoimmune Dis*, 2012, 2012: 617213
- [31] Boudesco C, Cause S, Jego G, et al. Hsp70: a cancer target inside and outside the cell. *Methods Mol Biol*, 2018, 1709: 371-96
- [32] Wu J, Liu T, Rios Z, et al. Heat shock proteins and cancer. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38: 226-56
- [33] Liu J, Liu J, Guo SY, et al. HSP70 inhibitor combined with cisplatin suppresses the cervical cancer proliferation *in vitro* and transplanted tumor growth: an experimental study. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10: 184-8
- [34] Zhang Z, Jing J, Ye Y, et al. Characterization of the dual functional effects of heat shock proteins (HSPs) in cancer hallmarks to aid development of HSP inhibitors. *Genome Med*, 2020, 12: 101
- [35] Xu JY, Zhang C, Wang X, et al. Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma. *Cell*, 2020, 182: 245-61.e17
- [36] Ribeil JA, Zermati Y, Vandekerckhove J, et al. Hsp70 regulates erythropoiesis by preventing caspase-3-mediated cleavage of GATA-1. *Nature*, 2007, 445: 102-5
- [37] Li Y, Xue Y, Xu X, et al. A mitochondrial FUNDC1/HSC70 interaction organizes the proteostatic stress response at the risk of cell morbidity. *EMBO J*, 2019, 38:

- e98786
- [38] Uma S, Thulasiraman V, Matts RL. Dual role for Hsc70 in the biogenesis and regulation of the heme-regulated kinase of the α subunit of eukaryotic translation initiation factor 2. *Mol Cell Biol*, 1999, 19: 5861-71
- [39] Matsui H, Asou H, Inaba T. Cytokines direct the regulation of Bim mRNA stability by heat-shock cognate protein 70. *Mol Cell*, 2007, 25: 99-112
- [40] Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: a cell's response to stress. *Life Sci*, 2019, 226: 156-63
- [41] Starenki D, Sosonkina N, Hong SK, et al. Mortalin (GRP75/HSPA9) promotes survival and proliferation of thyroid carcinoma cells. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 2069
- [42] Shan Y, Cortopassi G. Mitochondrial Hspa9/Mortalin regulates erythroid differentiation via iron-sulfur cluster assembly. *Mitochondrion*, 2016, 26: 94-103
- [43] Schopf FH, Biebl MM, Buchner J. The HSP90 chaperone machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18: 345-60
- [44] Fu Y, Xu X, Huang D, et al. Plasma heat shock protein 90 α as a biomarker for the diagnosis of liver cancer: an official, large-scale, and multicenter clinical trial. *EBioMedicine*, 2017, 24: 56-63
- [45] Ghosh A, Garee G, Sweeny EA, et al. Hsp90 chaperones hemoglobin maturation in erythroid and nonerythroid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E1117-26
- [46] Song L, Kim DS, Gou W, et al. GRP94 regulates M1 macrophage polarization and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 318: E1004-13
- [47] Serapian SA, Sanchez-Martin C, Moroni E, et al. Targeting the mitochondrial chaperone TRAP1: strategies and therapeutic perspectives. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42: 566-76
- [48] Teng R, Liu Z, Tang H, et al. HSP60 silencing promotes Warburg-like phenotypes and switches the mitochondrial function from ATP production to biosynthesis in ccRCC cells. *Redox Biol*, 2019, 24: 101218
- [49] Duan Y, Wang H, Mitchell-Silbaugh K, et al. Heat shock protein 60 regulates yolk sac erythropoiesis in mice. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 766
- [50] Tittelmeier J, Sandhof CA, Ries HM, et al. The HSP110/HSP70 disaggregation system generates spreading-competent toxic α -synuclein species. *EMBO J*, 2020, 39: e103954
- [51] De Thonel A, Vandekerckhove J, Lanneau D, et al. HSP27 controls GATA-1 protein level during erythroid cell differentiation. *Blood*, 2010, 116: 85-96
- [52] Kong Y, Zhou S, Kihm AJ, et al. Loss of α -hemoglobin-stabilizing protein impairs erythropoiesis and exacerbates β -thalassemia. *J Clin Invest*, 2004, 114: 1457-66
- [53] Hermine O, Arlet JB, Ribeil JA, et al. HSP70, an erythropoiesis regulator that determines the fate of erythroblasts between death and differentiation. *Transfus Clin Biol*, 2013, 20: 144-7
- [54] Zermati Y, Garrido C, Amsellem S, et al. Caspase activation is required for terminal erythroid differentiation. *J Exp Med*, 2001, 193: 247-54
- [55] Doty RT, Yan X, Lausted C, et al. Single-cell analyses demonstrate that a heme-GATA1 feedback loop regulates red cell differentiation. *Blood*, 2019, 133: 457-69
- [56] Guillem F, Dussiot M, Colin E, et al. XPO1 regulates erythroid differentiation and is a new target for the treatment of β -thalassemia. *Haematologica*, 2020, 105: 2240-9
- [57] Dong XM, Zhao K, Zheng WW, et al. EDAG mediates Hsp70 nuclear localization in erythroblasts and rescues dyserythropoiesis in myelodysplastic syndrome. *FASEB J*, 2020, 34: 8416-27
- [58] Matsumori Y, Hong SM, Aoyama K, et al. Hsp70 overexpression sequesters AIF and reduces neonatal hypoxic/ischemic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25: 899-910
- [59] Lui JC, Kong SK. Heat shock protein 70 inhibits the nuclear import of apoptosis-inducing factor to avoid DNA fragmentation in TF-1 cells during erythropoiesis. *FEBS Lett*, 2007, 581: 109-17
- [60] Taher AT. Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32: xv-xvi
- [61] Da Costa L, Leblanc T, Mohandas N. Diamond-Blackfan anemia. *Blood*, 2020, 136: 1262-73
- [62] Rio S, Gastou M, Karboul N, et al. Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1. *Blood*, 2019, 133: 1358-70
- [63] Han AP, Fleming MD, Chen JJ. Heme-regulated eIF2 α kinase modifies the phenotypic severity of murine models of erythropoietic protoporphyria and β -thalassemia. *J Clin Invest*, 2005, 115: 1562-70
- [64] Zhang S, Macias-Garcia A, Ulirsch JC, et al. HRI coordinates translation necessary for protein homeostasis and mitochondrial function in erythropoiesis. *Elife*, 2019, 8: e46976
- [65] Chen JJ, Zhang S. Heme-regulated eIF2 α kinase in erythropoiesis and hemoglobinopathies. *Blood*, 2019, 134: 1697-707
- [66] Uma S, Hartson SD, Chen JJ, et al. Hsp90 is obligatory for the heme-regulated eIF-2 α kinase to acquire and maintain an activable conformation. *J Biol Chem*, 1997, 272: 11648-11656.
- [67] Shao J, Grammatikakis N, Scroggins BT, et al. Hsp90 regulates p50(cdc37) function during the biogenesis of the active conformation of the heme-regulated eIF2 α kinase. *J Biol Chem*, 2001, 276: 206-14
- [68] Weiss MJ, Dos Santos CO. Chaperoning erythropoiesis. *Blood*, 2009, 113: 2136-44
- [69] Che Yaacob NS, Islam MA, Alsaleh H, et al. α -hemoglobin-stabilizing protein (AHSP): a modulatory factor in β -thalassemia. *Int J Hematol*, 2020, 111: 352-9
- [70] Zhang J, Ney PA. Reticulocyte mitophagy: monitoring mitochondrial clearance in a mammalian model. *Autophagy*, 2010, 6: 405-8
- [71] Grosso R, Fader CM, Colombo MI. Autophagy: a necessary event during erythropoiesis. *Blood Rev*, 2017, 31: 300-5
- [72] Joo JH, Dorsey FC, Joshi A, et al. Hsp90-Cdc37 chaperone complex regulates Utk1- and Atg13-mediated

- mitophagy. *Mol Cell*, 2011, 43: 572-85
- [73] Kundu M, Lindsten T, Yang CY, et al. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation. *Blood*, 2008, 112: 1493-502
- [74] Schmitz-Abe K, Ciesielski SJ, Schmidt PJ, et al. Congenital sideroblastic anemia due to mutations in the mitochondrial HSP70 homologue HSPA9. *Blood*, 2015, 126: 2734-8
- [75] Craven SE, French D, Ye W, et al. Loss of *Hspa9b* in zebrafish recapitulates the ineffective hematopoiesis of the myelodysplastic syndrome. *Blood*, 2005, 105: 3528-34
- [76] Horrigan SK, Arbieva ZH, Xie HY, et al. Delineation of a minimal interval and identification of 9 candidates for a tumor suppressor gene in malignant myeloid disorders on 5q31. *Blood*, 2000, 95: 2372-7
- [77] Chen TH, Kambal A, Krysiak K, et al. Knockdown of *Hspa9*, a del(5q31.2) gene, results in a decrease in hematopoietic progenitors in mice. *Blood*, 2011, 117: 1530-9
- [78] Kampinga HH, Bergink S. Heat shock proteins as potential targets for protective strategies in neurodegeneration. *Lancet Neurol*, 2016, 15: 748-59
- [79] Kirkegaard T, Gray J, Priestman DA, et al. Heat shock protein-based therapy as a potential candidate for treating the sphingolipidoses. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 355ra118
- [80] Barnoud T, Leung JC, Leu JI, et al. A novel inhibitor of HSP70 induces mitochondrial toxicity and immune cell recruitment in tumors. *Cancer Res*, 2020, 80: 5270-81
- [81] Zhang X, Zhang S, Zhang L, et al. Heat shock protein 104 (HSP104) chaperones soluble Tau via a mechanism distinct from its disaggregase activity. *J Biol Chem*, 2019, 294: 4956-65