

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.07.013

## 单细胞测序技术在多发性骨髓瘤研究及其精准医疗中的应用

### Single-cell sequencing technology in the study of multiple myeloma and its application in precision medicine

黄婷<sup>a</sup>综述; 王小中<sup>b</sup>审阅(南昌大学第二附属医院 a. 输血科; b. 检验科, 江西 南昌 310006)

**[摘要]** 由于多发性骨髓瘤(MM)细胞及其微环境的高度异质性,导致其诊断和治疗方面面临巨大挑战。单细胞测序(sc-Seq)技术是一种以单个细胞为测试对象,分析其细胞内遗传信息的研究工具,近年来sc-Seq在MM研究及治疗中广泛应用,为其更精准的诊断及个体化治疗作出了重要贡献。本文论述了近年来sc-Seq技术在MM细胞异质性、免疫微环境、生物标志物及其在精准诊疗等方面应用的研究进展,为MM的基础与临床诊疗研究提供了参考依据。

**[关键词]** 单细胞测序;多发性骨髓瘤;精准医疗;细胞异质性;液体活检;免疫微环境

**[中图分类号]** R733.3;R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)07-0634-05

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是血液系统中常见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>,其分子遗传学突变复杂、染色体易畸变、骨髓瘤细胞与其外围环境之间的相互作用,这些因素一起促进了骨髓瘤细胞的增殖、存活和耐药<sup>[2-3]</sup>。另外,MM克隆内显著的遗传异质性使得对其精准治疗面临极大的挑战<sup>[4-6]</sup>。传统测序对象是混合细胞样本,获得数据是所有细胞基因表达的平均水平信息,容易忽略数量占比虽小但有着重要作用的细胞信息。随着流式细胞技术、微流控制技术等技术单个细胞获取技术方法的涌现,结合第二代测序平台的建立,单细胞测序(single-cell sequencing, sc-Seq)技术得到广泛应用<sup>[7-8]</sup>。sc-Seq技术是指以单个细胞为测试对象,通过对单细胞样本制备和捕获,应用高通量测序技术全方位分析单个细胞内的遗传信息的方法,可以精确地检测单个细胞内的基因表达,有助于了解细胞的异质性。本综述详细介绍了sc-Seq技术在MM及其前体阶段应用的进展,总结了在MM研究中sc-Seq技术在发现新肿瘤细胞亚群、精确识别肿瘤细胞间的异质性、发掘新的生物标志物、分析免疫细胞图谱、了解免疫微环境等方面的重要作用,讨论了其在精准诊疗应用中的前景和挑战,以期对相关研究者或临床医生在MM的基础研究或临床治疗方面提供较为全面的理论参考资料。

#### 1 sc-Seq在MM基因异质性研究中的应用

##### 1.1 MM基因的异质性

内部克隆异质性是肿瘤的普遍特征,MM也不例外。MM是一个多阶段进展的疾病,包括最初阶段意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(monoclonal gammopathy of undermined significance, MGUS)、冒烟型骨髓瘤(smoldering myeloma, SMM)至最终进展

至有症状MM,其中起着推动作用的便是遗传学异质性和克隆演变。KEATS等<sup>[9]</sup>通过连续比较基因组杂交分析,首次提出了MM细胞克隆演变过程的模式。在细胞克隆演变过程中,细胞基因组DNA的突变不断积累,致使其遗传多样性增加,最终导致肿瘤具有不同基因突变型的亚细胞克隆,从而使不同亚克隆肿瘤细胞的生物学特性如侵袭能力、生长速度、对药物的抗性等产生明显差异,并在驱动基因驱动下保留优势肿瘤亚群<sup>[10-12]</sup>。其中KRAS、NRAS、BRAF、TP53、DIS3等基因的驱动突变使浆细胞克隆具有更好的克隆适应性和选择性优势,使这些细胞能够向MM进化。这种克隆内显著的遗传异质性被认为是MM患者预后不同的关键因素,也是寻找单一治疗方法的主要障碍<sup>[13]</sup>。另外,研究人员一直未能明确病情稳定的MGUS和SMM如何转化为活动期MM的关键因素。鉴于MM大部分的遗传复杂性可能出现在无症状阶段,有望开发出起源于亚克隆性和克隆性异质性的先兆疾病早期检测方法。只有开发了这些工具,临床医生才能有效地实施精确干预,以延缓或防止疾病进展。

##### 1.2 sc-Seq在MM基因异质性及其克隆演变中的应用

MM患者肿瘤样本的sc-Seq提供了亚克隆性和克隆进化存在的证据,并能够识别MGUS、SMM、MM不同疾病阶段的转录组谱。首批单细胞全外显子测序基因分型的研究在6例t(11;14)MM患者中进行<sup>[14]</sup>,发现MM中存在2~6个主要亚克隆,以及存在线性和分支进化进展模式。随后的单细胞基因组工

**[基金项目]** 江西省教育厅科学技术研究项目(N0. GJJ2200244)

**[作者简介]** 黄婷(1988—),女,博士生,主要从事血液病的研究, E-mail: huangting1215@163.com

**[通信作者]** 王小中, E-mail: wangxzlj@126.com

作一直致力于对MM及其无症状前体进行分子图谱分析<sup>[15]</sup>。LEDERGOR等<sup>[16]</sup>用单细胞转录组测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术对MGUS、SMM、MM和轻链淀粉样变性患者的样本进行基因表型分析,发现在上述疾病的不同阶段都存在转录异质性。SMM患者和MM患者之间的分子图谱相似,与连续批量测序研究中确定的克隆稳定性结果一致。此外,JANG等<sup>[17]</sup>对患有MGUS、SMM、新诊断MM和复发和/或难治性MM的个体进行scRNA-seq分析,发现了反映疾病阶段的44个持续过表达的基因,其表达水平与MM进展、复发难治性MM总生存率密切相关。

最初scRNA-seq依赖于在单个时间点采集的患者样本。随着sc-Seq联合多组学的应用,整合相同细胞的转录组学和遗传分析建立了单细胞肿瘤簇的分子克隆演变史。sc-Seq研究<sup>[18]</sup>表明,浆细胞克隆具有转录稳定性,在向MM的转变过程中并没有出现新的转录簇。相比之下,簇中更多的动态转移和克隆性生长导致疾病复发,与治疗干预引起的克隆性倾斜一致。通过追踪诱导细胞可塑性和治疗逃逸的遗传异常和转录适应机制,可以改善MM患者的预后。新的治疗技术,例如对侧支敏感性的进化引导,可能被用作控制或克服有害的克隆进化,并引导MM细胞克隆对另一种新药物的敏感性<sup>[19]</sup>。在MM中,关于这种策略的数据可以通过从单细胞肿瘤反应数据开发的侧支敏感性图来获取。这些研究表明,MGUS或SMM进展迅速的个体可能携带突变的亚克隆基因,被认为处于向MM转化的门槛上。只要有正确的基因组信息和临床干预,可以在无症状状态转化为MM之前拦截克隆进化。然而,目前小队列批量测序研究不足以在所有MM队列中推广,需要从随访时间更长、队列更大的患者中提取更多的序列样本。由此可见,sc-Seq分析揭示了浆细胞遗传异质性、细胞类型构成和状态、基因表达特征和克隆进化模式,推动了起源于亚克隆性和克隆性异质性MM先兆疾病的早期检测方法的研究,同时整合多组学数据应用于临床。

## 2 sc-Seq在MM液体活组织检查中的应用

### 2.1 MM的液体活组织检查

疾病状态的无创监测、早期进展预测、治疗反应评估和复发的早期发现均依赖于分子标志物。液体活组织检查的对象是外周血中存在的肿瘤细胞附属产物,如循环游离DNA(circulating cell-free DNA, cfDNA)和循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)等,其样本收集简便、非侵入性,其检测结果可

以指导MM患者的诊断和精确药物治疗,并有可能实时监测疾病,是一种很有前途的研究技术。CTC是一种罕见的肿瘤细胞,它从骨髓渗出到外周血中,有助于在没有浆细胞白血病的情况下在整个骨骼中建立MM病变的运输和转移过程<sup>[20]</sup>。鉴于CTC是完整的细胞,它们用于DNA、RNA和蛋白质含量的多组学分析。然而,从大量白细胞的背景中富集并选择CTC,然后从这一微小的细胞中提取核酸,是一个巨大的技术挑战。cfDNA包含肿瘤来源的DNA,这些DNA是在非肿瘤DNA的背景下流入外周血的,非肿瘤DNA主要来自于凋亡细胞。cfDNA可用于分析肿瘤基因组的突变和非遗传方面,包括甲基化模式、片段组学和拓扑学<sup>[21-22]</sup>。

### 2.2 sc-Seq技术在MM液体活组织检查中的应用

由于肿瘤细胞和微环境存在异质性,相同的治疗对同一个患者不同部位的肿瘤细胞群的反应存在差异,单一部位的骨髓穿刺不能反映患者肿瘤细胞的总体特征,然而从患者的多个肿瘤部位获取骨髓样本又是一个巨大的挑战<sup>[23]</sup>。液体活检的出现打破了这一僵局,在MM中,液体活检不仅可以捕捉MM患者的肿瘤异质性,又由于恶性浆细胞可重复采样(因为原始肿瘤没有被切除)并且具有足够的产量用于捕获分析,使得CTC在MM中具有较大的临床应用潜力<sup>[24-25]</sup>。鉴于CTC是完整的细胞,它们可以被捕获用于DNA、RNA和蛋白质含量的多组学分析。sc-Seq的飞速发展推进了有关CTC在MM中的临床研究。首批关于MM液体活检的sc-Seq来自LOHR等<sup>[26]</sup>对10例来自MM患者的CTC和配对骨髓的分析,该研究证明了CTC在MM中的临床应用潜力。他们将单个CTC进行基因分型,并与临床级别的骨髓样本批量测序进行比较,结果发现在骨髓中检测到的所有与MM相关的克隆性突变(KRAS、BRAF、IRF4和TP53)都在单个CTC中检测到。重要的是,在2例临床骨髓测序未能报告MM突变的患者中,单一的CTC分析能够检测到并恢复TP53、NRAS和BRAF的驱动突变。这一结果表明,单个CTC具有与原代骨髓细胞相似的遗传和转录信息,在MM的发展或诊断、治疗过程中,液体活检可以伴随甚至取代骨髓活检,用于患者来源肿瘤细胞的遗传和转录图谱分析,从而实现风险分层和精准医学,而不需要骨髓活检。此外,这项研究还发现,单个CTC中存在异常基因表达,这是由于原发MM事件,如易位:携带t(11;14)和t(6;14)的细胞分别过表达CCND1和CCND3。这些数据说明了单个CTC在诊断和监测先兆疾病患者分子表型方面的额外潜力。GO富集分析表明,CTC逃离骨髓的机制可能涉及炎症、缺氧、

细胞周期、细胞迁移和上皮向间充质转化等分子途径<sup>[27]</sup>。液体活检可以作为一种有用的筛查工具使MM早期预警成为可能。但是,液体活检与临床常规使用的骨髓样本的诊断率是否等效仍有待确定。随着sc-Seq分析等精准技术的更新迭代,相信血清生物标志物终将进入临床应用。

### 3 sc-Seq在MM免疫微环境研究中的应用

#### 3.1 MM的免疫微环境

基因组研究表明,MM具有广泛的克隆异质性;然而,很多已经存在遗传改变浆细胞群的MGUS或SMM期患者却没有症状,提示仅仅有单克隆浆细胞基因组的改变不足以驱动MM的发生发展。MM的特征是浆细胞在骨髓微环境中恶性增生。复杂的骨髓微环境中存在多种细胞如骨髓基质细胞、成骨细胞、破骨细胞及间充质干细胞、免疫细胞等以及非细胞成分,对骨髓瘤细胞的增殖起到维持作用,尤其是多种免疫细胞,如T细胞、NK细胞、巨噬细胞、DC等发生显著的功能紊乱,产生免疫抑制微环境,进一步促进了MM的发生发展和免疫逃逸<sup>[28-29]</sup>。近年来,免疫治疗成为了治疗MM的基石,阐明MM免疫抑制微环境的形成过程及其分子机制,对于进一步发展免疫治疗具有重要的临床意义。

#### 3.2 sc-Seq在MM免疫微环境检测中的应用

传统测序技术对肿瘤微环境(TME)的异质性束手无策,随着sc-Seq技术的发展和运用,对MM的TME形成以及免疫细胞功能失调有了更深的认识<sup>[30-31]</sup>。一项对来自MGUS、低危或高危SMM和MM的患者骨髓微环境样本(CD138<sup>+</sup>或CD45<sup>+</sup>细胞部分)进行scRNA-seq的分析发现,在无症状阶段即可表现出免疫细胞组成失调,伴随NK细胞、非经典单核细胞和巨噬细胞以及T细胞大量聚集,其中细胞毒性记忆T细胞表达的颗粒酶转变可能与MM的一种免疫逃逸机制相关<sup>[24]</sup>。有研究<sup>[32]</sup>证明,MM浆细胞和TME之间的相互作用可诱导肿瘤细胞休眠。休眠的MM浆细胞对标准疗法具有抵抗力,有助于形成微小残留病(minimal residual disease, MRD),以后导致疾病复发、进展。对小鼠休眠浆细胞群的scRNA-seq分析显示,它们表达髓样转录组特征的基因上调,包括IRF7、Ax1、Mpeg1、Spic、Sirpa等,这一现象解释了为什么克隆稳定/静止进展的个体在MGUS或SMM阶段有基因组突变的浆细胞而没有症状<sup>[33]</sup>。总之,sc-Seq分析表明,尽管驱动基因改变是维持肿瘤细胞适应性的关键,但表型可塑性和肿瘤生态系统内微环境的相互作用也会影响肿瘤的分化。

另外,sc-Seq分析推动了靶向MM的TME治疗

研究。DE JONG等<sup>[28]</sup>通过scRNA-seq分析发现,MM的TME中非造血基质细胞,尤其是炎症间充质干细胞(inflammatory MSC, iMSC),可支持肿瘤细胞存活并参与MM细胞免疫调节基因的表达。当前治疗MM的方法不可逆转骨髓的炎症微环境,即使在治疗成功后,骨髓仍保留了iMSC特征,导致疾病无法被完全清除。进一步研究非免疫细胞在调节肿瘤和免疫反应中的分子基础和新的机制将有助于改进TME靶向治疗方法,以克服表型可塑性和肿瘤繁殖。如果能够逆转MM免疫抑制微环境,将可有助于完全清除MRD,使得治愈MM成为可能<sup>[34-35]</sup>。

早期单细胞研究有力地证明了免疫分子表达、细胞类型组成特征以及肿瘤细胞和免疫微环境之间的串扰(免疫抑制肿瘤微环境)在疾病进展中起着关键作用<sup>[30, 32-33]</sup>。目前,MM的预后风险模型依赖于MM的临床和遗传生物标志物;然而,它们无法解释免疫性或非免疫性TME中同时发生的变化。sc-Seq技术能对TME中的免疫细胞类型进行准确分析,通过评估疾病进展或治疗反应,在改善患者预后分层方面也具有潜在的实用价值,并可帮助寻找肿瘤治疗潜在的新靶点。

### 4 sc-Seq在MM精准医疗中的机遇和挑战

精准医疗是指通过患者的临床病史信息、病理、影像和基因组信息、分子图谱等,在正确的时间,用正确的治疗方法,治疗正确的患者,为患者量身定制个体化治疗方案。MM中特定的驱动基因突变及其共性或排他性的功能相关性在很大程度上仍未被探索。由于肿瘤内不同的亚克隆具有不同的特性,它们对治疗的反应也会不同。传统转录组测序技术明确了实现精准医疗面临的第一步挑战是揭示肿瘤细胞的分子异质性,而sc-Seq可以提供患者的多种致病基因的分子信息,同时结合大数据,锁定更多的疾病特征,为肿瘤诊疗提供精准的遗传信息,从而指导制定预防和治疗方案,真正实现“对症下药”。

为了使精准医疗真正具有变革意义,必须致力于通过MM的早期诊断和治疗,特别是在MGUS或SMM阶段,提高患者生活质量和降低医疗成本。sc-Seq可能揭示驱动发病机制分子事件的顺序以及这些事件是如何赋予风险的,从而使在临床证据或症状出现之前就能够基于分子标志物识别肿瘤。这种方法可以帮助根据高危预后事件或驱动程序突变状态,决定早期干预是否有利于患者,在转变为显性MM,当高度变异的克隆变得更难瞄准和根除之前,阻止疾病进展。另外,sc-Seq分析在液体活检应用时样本易于采集,可以指导MM患者的管理和精准医

疗,具有实时监测疾病进程的潜力。

## 5 结 语

sc-Seq是基于第二代测序技术进一步发展起来的新兴技术,它拓宽了对MM的理解,推动了MM个体化诊疗的发展,使之向精准医疗策略迈进。同时,对MM异质性的研究又进一步推动了sc-Seq分析等精准检测技术的改进和应用。将基因测序与表型分析相结合的多组学研究将提供真正的从MGUS、SMM到MM的整个疾病过程中细胞类型和微环境失调的全貌。精准预防策略仍在开发中,并将针对患有MGUS和SMM的无症状个体进行早期干预,以阻止MM的进展。过去十年中获得的基因组信息研究结果将转化为有可能改善MM患者预后的方法。最终,这些数据将能够帮助专业人员对MM各疾病阶段进行分子图谱分析、识别关键的致癌基因,并制定专门的治疗方案,推动精准诊疗和精准预防的发展<sup>[36-38]</sup>。

## [参 考 文 献]

- [1] VAN DE DONK N W C J, PAWLYN C, YONG K L. Multiple myeloma[J]. *Lancet*, 2021, 397(10272): 410-427. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00135-5.
- [2] GIANNAKOULAS N, NTANASIS-STATHOPOULOS I, TERPOS E. The role of marrow microenvironment in the growth and development of malignant plasma cells in multiple myeloma[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4462[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33923357/>. DOI: 10.3390/ijms22094462.
- [3] SCHAVGOULIDZE A, CAZAUBIEL T, PERROT A, *et al.* Multiple myeloma: heterogeneous in every way[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(6): 1285[2023-03-10]. <https://doi.org/10.3390/cancers13061285>. DOI: 10.3390/cancers13061285.
- [4] DUTTA A K, ALBERGE J B, SKLAVENTIS-PISTOFIDIS R, *et al.* Single-cell profiling of tumour evolution in multiple myeloma - opportunities for precision medicine[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(4): 223-236. DOI: 10.1038/s41571-021-00593-y.
- [5] HU Y, CHEN W M, WANG J B. Progress in the identification of gene mutations involved in multiple myeloma[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 4075-4080. DOI: 10.2147/OTT.S205922.
- [6] SALOMON-PERZYŃSKI A, JAMROZIAK K, GŁODKOWSKA-MRÓWKA E. Clonal evolution of multiple myeloma-clinical and diagnostic implications[J/OL]. *Diagnostics*, 2021, 11(9): 1534 [2023-03-10]. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11091534>. DOI: 10.3390/diagnostics11091534.
- [7] GROSS A, SCHOENDUBE J, ZIMMERMANN S, *et al.* Technologies for single-cell isolation[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8): 16897-16919. DOI: 10.3390/ijms160816897.
- [8] GALLER K, BRÄUTIGAM K, GROBE C, *et al.* Making a big thing of a small cell - recent advances in single cell analysis[J]. *Analyst*, 2014, 139(6): 1237-1273. DOI: 10.1039/C3AN01939J.
- [9] KEATS J J, CHESI M, EGAN J B, *et al.* Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2012, 120(5): 1067-1076. DOI: 10.1182/blood-2012-01-405985.
- [10] MAURA F, RUSTAD E H, BOYLE E M, *et al.* Reconstructing the evolutionary history of multiple myeloma[J/OL]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2020, 33(1): 101145[2023-03-10]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beha.2020.101145>. DOI: 10.1016/j.beha.2020.101145.
- [11] MAURA F, BOLLI N, ANGELOPOULOS N, *et al.* Genomic landscape and chronological reconstruction of driver events in multiple myeloma[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10: 3835[2023-03-10]. <https://www.nature.com/articles/s41467-019-11680-1>. DOI: 10.1038/s41467-019-11680-1.
- [12] WALKER B A, MAVROMMATIS K, WARDELL C P, *et al.* Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2018, 132(6): 587-597. DOI: 10.1182/blood-2018-03-840132.
- [13] SANDMANN S, KARSCH K, BARTEL P, *et al.* The role of clonal evolution on progression, blood parameters, and response to therapy in multiple myeloma[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 919278[2023-03-10]. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.919278>. DOI: 10.3389/fonc.2022.919278.
- [14] MELCHOR L, BRIOLI A, WARDELL C P, *et al.* Single-cell genetic analysis reveals the composition of initiating clones and phylogenetic patterns of branching and parallel evolution in myeloma[J]. *Leukemia*, 2014, 28(8): 1705-1715. DOI: 10.1038/leu.2014.13.
- [15] XU J D, WANG Y, WEI Z, *et al.* Single-cell transcriptomes combining with consecutive genomics reveal clonal evolution and gene regulatory networks in relapsed and refractory multiple myeloma[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 9: 794144[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35071234/>. DOI: 10.3389/fcell.2021.794144.
- [16] LEDERGOR G, WEINER A, ZADA M, *et al.* Single cell dissection of plasma cell heterogeneity in symptomatic and asymptomatic myeloma[J]. *Nat Med*, 2018, 24(12): 1867-1876. DOI: 10.1038/s41591-018-0269-2.
- [17] JANG J S, LI Y, MITRA A K, *et al.* Molecular signatures of multiple myeloma progression through single cell RNA-Seq[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2019, 9: 2[2023-03-10]. <https://www.nature.com/articles/s41408-018-0160-x>. DOI: 10.1038/s41408-018-0160-x.
- [18] COHEN Y C, ZADA M, WANG S Y, *et al.* Identification of resistance pathways and therapeutic targets in relapsed multiple myeloma patients through single-cell sequencing[J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 491-503. DOI: 10.1038/s41591-021-01232-w.
- [19] FARSWAN A, JENA L, KAUR G, *et al.* Branching clonal evolution patterns predominate mutational landscape in multiple myeloma[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(11): 5659-5679[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34873486/>.
- [20] GHOBRIAL I M. Myeloma as a model for the process of metastasis: implications for therapy[J]. *Blood*, 2012, 120(1): 20-30. DOI: 10.1182/blood-2012-01-379024.
- [21] TELEKES A, HORVÁTH A. The role of cell-free DNA in cancer treatment decision making[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(24): 6115 [2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36551600/>. DOI: 10.3390/cancers14246115.
- [22] LIU M C, OXNARD G R, KLEIN E A, *et al.* Sensitive and specific

- multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(6): 745-759. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.02.011.
- [23] JIN Y X, LIANG Y X, SU Y T, *et al.* Identification of novel combined biomarkers in the diagnosis of multiple myeloma[J]. *Hematology*, 2021, 26(1): 964-969. DOI: 10.1080/16078454.2021.2003065.
- [24] MANIER S, PARK J, CAPELLETTI M, *et al.* Whole-exome sequencing of cell-free DNA and circulating tumor cells in multiple myeloma[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9: 1691[2023-03-10]. DOI: 10.1038/s41467-018-04001-5.
- [25] LIU Y, GUO J P, YI Y T, *et al.* Circulating tumor DNA: less invasive, more representative method to unveil the genomic landscape of newly diagnosed multiple myeloma than bone marrow aspirates[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(19): 4914[2023-03-10]. <https://doi.org/10.3390/cancers14194914>. DOI: 10.3390/cancers14194914.
- [26] LOHR J G, KIM S, GOULD J, *et al.* Genetic interrogation of circulating multiple myeloma cells at single-cell resolution[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(363): 363ra147[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27807282/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aac7037.
- [27] GARCÉS J J, SIMICEK M, VICARI M, *et al.* Transcriptional profiling of circulating tumor cells in multiple myeloma: a new model to understand disease dissemination[J]. *Leukemia*, 2020, 34(2): 589-603. DOI: 10.1038/s41375-019-0588-4.
- [28] DE JONG M M E, KELLERMAYER Z, PAPA ZIAN N, *et al.* The multiple myeloma microenvironment is defined by an inflammatory stromal cell landscape[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(6): 769-780. DOI: 10.1038/s41590-021-00931-3.
- [29] GARCÍA-ORTIZ A, RODRÍGUEZ-GARCÍA Y, ENCINAS J, *et al.* The role of tumor microenvironment in multiple myeloma development and progression[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(2): 217[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33435306/>. DOI: 10.3390/cancers13020217.
- [30] ZAVIDIJ O, HARADHVALA N J, MOUHIEDDINE T H, *et al.* Single-cell RNA sequencing reveals compromised immune microenvironment in precursor stages of multiple myeloma[J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(5): 493-506. DOI: 10.1038/s43018-020-0053-3.
- [31] CHEN M P, WAN Y K, LI X, *et al.* Dynamic single-cell RNA-seq analysis reveals distinct tumor program associated with microenvironmental remodeling and drug sensitivity in multiple myeloma[J/OL]. *Cell Biosci*, 2023, 13(1): 19[2023-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36717896/>. DOI: 10.1186/s13578-023-00971-2.
- [32] LAWSON M A, MCDONALD M M, KOVACIC N, *et al.* Osteoclasts control reactivation of dormant myeloma cells by remodelling the endosteal niche[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8983[2023-03-10]. <https://www.nature.com/articles/ncomms9983>. DOI: 10.1038/ncomms9983.
- [33] KHOO W H, LEDERGOR G, WEINER A, *et al.* A niche-dependent myeloid transcriptome signature defines dormant myeloma cells[J]. *Blood*, 2019, 134(1): 30-43. DOI: 10.1182/blood.2018880930.
- [34] NEUMEISTER P, SCHULZ E, PANSY K, *et al.* Targeting the microenvironment for treating multiple myeloma[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7627[2023-03-10]. <https://doi.org/10.3390/ijms23147627>. DOI: 10.3390/ijms23147627.
- [35] HO M, XIAO A, YI D N, *et al.* Treating multiple myeloma in the context of the bone marrow microenvironment[J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(11): 8975-9005. DOI: 10.3390/curroncol29110705.
- [36] PAWLYN C, DAVIES F E. Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics[J]. *Blood*, 2019, 133(7): 660-675. DOI: 10.1182/blood-2018-09-825331.
- [37] GONÇALVES J P L, BOLLWEIN C, SCHWAMBORN K. Mass spectrometry imaging spatial tissue analysis toward personalized medicine[J/OL]. *Life*, 2022, 12(7): 1037[2023-03-10]. <https://doi.org/10.3390/life12071037>. DOI: 10.3390/life12071037.
- [38] REBBECK T R, BURNS-WHITE K, CHAN A T, *et al.* Precision prevention and early detection of cancer: fundamental principles[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(7): 803-811. DOI: 10.1158/2159-8290.cd-17-1415.

[收稿日期] 2023-03-12

[修回日期] 2023-06-18

[本文编辑] 向正华