

DOI:10.12113/202110019

# 多发性骨髓瘤预后相关自噬基因筛选及建模

张钧栋<sup>1,2</sup>, 卢迪<sup>1</sup>, 张皓旻<sup>2</sup>, 陈浩然<sup>3</sup>, 王紫宁<sup>1,2</sup>, 卢学春<sup>2\*</sup>

(1.解放军医学院,北京 100853;2.解放军总医院 第二医学中心血液科,

国家老年疾病临床医学研究中心,北京 100853;3.山西医科大学 管理学院,太原 030604)

**摘要:**为探讨自噬相关基因(ARGs)在MM发生发展中的作用机制并建立相关的预后模型。基于MMRF与HADB数据库,通过R语言确定多发性骨髓瘤中自噬相关基因的差异表达,GO和KEGG分析自噬相关基因与多发性骨髓瘤发生发展的关系,使用COX回归算法建立多基因预后模型,Kaplan-Meier方法绘制生存曲线,ROC曲线评价预后模型的可靠性。最终从764例多发性骨髓瘤患者骨髓样本及4例正常骨髓样本中共发现104个基因的表达在多发性骨髓瘤样本中具有显著差异,其中上调基因46个,下调基因58个。GO富集主要集中在巨噬、自噬调节、细胞对外部刺激的反应等本体学注释。KEGG富集主要集中在自噬、细胞凋亡、NOD样受体信号通路、PI3K-Akt信号通路。单因素COX分析发现33个自噬相关基因与多发性骨髓瘤患者整体生存明显相关。多因素COX回归筛选出13个预后相关自噬相关基因(*NKX2-3*、*NCKAP1*、*BIRC5*、*PEX3*、*HGS*、*RUBCN*、*PARP1*、*ARSA*、*DNAJB9*、*HSP90AB1*、*EEF2*、*FKBP1B*和*CD46*)建立多发性骨髓瘤自噬相关基因预后模型。Kaplan-Meier生存曲线分析显示,高、低风险组患者的生存率具有显著差异( $P<0.001$ ),多因素COX回归分析表明,年龄、ISS分期和风险值是多发性骨髓瘤患者的独立预后指标( $P<0.05$ ),ROC曲线下面积分别为0.561、0.685和0.719。得出如下结论:多发性骨髓瘤自噬相关基因预后模型可用于预测多发性骨髓瘤患者的生存情况,但需进一步的临床研究加以证实。

**关键词:**多发性骨髓瘤;自噬相关基因;预后

中图分类号:Q786 文献标志码:A 文章编号:1672-5565(2023)02-114-07

## Screening of autophagy-related genes and establishment of a prognostic model for multiple myeloma

ZHANG Jundong<sup>1,2</sup>, LU Di<sup>1</sup>, ZHANG Haomin<sup>2</sup>, CHEN Haoran<sup>3</sup>, WANG Zining<sup>1,2</sup>, LU Xuechun<sup>2\*</sup>

(1. Medical School of Chinese PLA, Beijing 100853, China; 2. National Clinical Research Center for Geriatric Disease,

Department of Hematology of the Second Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China;

3. School of Management, Shanxi Medical University, Taiyuan 030604, China)

**Abstract:** The mechanism of an autophagy-related gene (ARG) in the occurrence and development of multiple myeloma (MM) was explored and a related prognostic model was established. On the basis of the MMRF and HADB databases, the differential expression of ARGs in MM was determined by R language, the relationship between ARGs and the occurrence and development of MM was analyzed by GO and KEGG, the multi-gene prognostic model was established by COX regression algorithm, the survival curve was drawn by Kaplan-Meier method, and the reliability of the prognostic model was evaluated by ROC curve. Finally, a total of 104 differentially expressed ARGs were extracted from bone marrow samples of 764 MM patients and four normal bone marrow samples. It was found that there were significant differences in the expression of 104 genes in MM samples, including 46 up-regulated genes and 58 down-regulated genes. GO enrichment mainly focused on ontology annotations such as macrophagy, autophagy regulation, and cell response to external stimuli. KEGG enrichment was mainly concentrated in autophagy, apoptosis, NOD-like receptor signal pathway, and PI3K-Akt signal pathway. Univariate COX analysis showed that 33 ARGs were significantly correlated with the overall survival of MM patients. Thirteen prognostic ARGs (*NKX2-3*, *NCKAP1*, *BIRC5*, *PEX3*, *HGS*, *RUBCN*, *PARP1*, *ARSA*, *DNAJB9*, *HSP90AB1*,

收稿日期:2021-10-29;修回日期:2022-05-20;网络首发日期:2022-06-15.

网络首发地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1513.Q20220614.1908.006.html>

基金项目:2019年度保健专项科研课题(No.19BJZ28);国家重点研发计划(No.2020YFC2002706).

\*通信作者:卢学春,男,教授,研究方向:内科血液病学,临床生物信息学. E-mail:luxuechun@126.com.

*EEF2*, *FKBP1B*, and *CD46*) were selected by multivariate COX regression to establish ARGs prognostic model for MM. Kaplan-Meier survival curve analysis showed a significant difference in survival rate between high risk group and low risk group ( $P < 0.001$ ). Multivariate COX regression analysis showed that age, ISS stage, and risk value were independent prognostic indicators of MM patients ( $P < 0.005$ ). The area under the ROC curve was 0.561, 0.685, and 0.719. The following conclusions are drawn: the ARGs prognostic model of MM can be used to predict the survival of patients with MM, but it needs to be verified by further clinical studies.

**Keywords:** Multiple myeloma; Autophagy-related genes; Prognosis

多发性骨髓瘤(Multiple Myeloma, MM)是一种以骨髓中单克隆浆细胞增殖为特征的血液系统恶性肿瘤。MM细胞产生的大量单克隆免疫球蛋白使内质网聚集了大量未折叠或错误折叠的蛋白。近年来,随着蛋白酶体抑制剂等新型药物的应用,MM的生存率有了显著提高<sup>[1]</sup>。硼替佐米、来那度胺和地塞米松是目前新诊断MM的一线治疗标准<sup>[2]</sup>。蛋白酶体抑制剂、免疫调节物质和经典化疗药物是复发性MM主要的治疗措施<sup>[3]</sup>。但即使在这些治疗下,几乎所有MM患者最终都会复发,而且不同患者间的预后存在高度异质性。因此,对MM患者进行风险分层,寻找可靠的预后生物标志物,可以更好地提高预后的准确性,指导临床治疗具有重要意义。当前针对MM的预后评估系统较多,包括国际分期系统(International Staging System, ISS)、R-ISS分期、梅奥mSMART分期、Durie-Salmon(DS)分期等。近年来也有学者提出将炎症指数评分及营养状况评分纳入到MM患者的预后评估中<sup>[4-5]</sup>。但上述评分系统尚不能反映MM患者疾病状态的全貌。自噬作为一种细胞自我清除的机制,可使细胞质内错误折叠的蛋白质和受损细胞器自动降解,对MM细胞的生存至关重要<sup>[6]</sup>。此外,营养缺乏、缺氧、DNA损伤或活性氧等不利于细胞生存的条件均会触发自噬,克服细胞能量缺乏,清除多余物质,达到维持细胞存活的目的<sup>[7]</sup>。研究发现,通过敲除*Beclin-1*基因抑制自噬或使用自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤和氯喹可诱导MM细胞凋亡,阻止自噬小体的形成,但同时也发现过度自噬可以导致MM细胞死亡<sup>[8-9]</sup>。因此,在MM的发生发展中,自噬似乎是一把双刃剑。最近的研究显示,通过识别自噬相关基因(Autophagy-Related Genes, ARGs)可以有效识别不同风险级别的类风湿性关节炎和结肠癌等<sup>[10-11]</sup>。目前,国内尚无基于ARGs评分与MM预后关系的相关研究,本研究拟采用生物信息学分析方法,通过MM患者转录组与临床数据,系统分析MM ARGs的差异表达并预测MM预后的生物标志物,建立MM预后模型。

## 1 材料方法

### 1.1 数据来源

为确定可预测MM患者预后的ARG,本研究以:(1)数据来源于初次诊断MM患者;(2)至少10个生物学重复;(3)数据为原始fastq数据采用HTSeq2比对定量后的FPKM文件,三点为标准,以“Multiple Myeloma/MM”为关键词,在Gene Expression Omnibus(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、The Cancer Genome Atlas(TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov/>)、National Cancer Institute center for cancer Research(NCICCR, <https://portal.gdc.cancer.gov/repository>)、Human Protein Atlas(HPA, <https://www.proteinatlas.org/>)和Multiple Myeloma Research Foundation(MMRF, <https://themmrf.org/>)数据库进行检索。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 ARGs的差异分析

应用R语言“limma”软件包,以 $|\log_2 FC| > 1$ (FC表示两样品间表达量的比值),错误发现率(False Discovery Rate, FDR)  $< 0.05$ 为条件筛选多发性骨髓瘤患者骨髓样本与正常骨髓样本中的差异ARGs(Differential Expression Autophagy-Related Genes, DEARGs),绘制差异表达火山图。

#### 1.2.2 功能富集分析

使用R软件“clusterProfiler”程序包对DEARGs进行GO和KEGG功能富集分析,以 $adj.P < 0.05$ 为标准对结果进行筛选。

#### 1.2.3 DEARGs预后模型的生存分析

应用R语言“survival”软件包中的单因素COX回归算法以 $P < 0.05$ 为筛选条件,分析与MM患者预后相关ARGs,并绘制森林图。随后对与预后生存相关的ARGs构建多因素COX模型,计算每个MM样本的风险值,并依据风险值的中位值将所有样本分为高风险组和低风险组,绘制两组生存曲线。

#### 1.2.4 与生存相关的独立预后分析

应用单因素和多因素COX分析方法评价患者

年龄、性别、分期、家族史、风险评分对 MM 患者预后的影响,绘制森林图。应用多指标受试者操作特征 (Receiver Operating Characteristic, ROC) 曲线评价这些因素独立预测 MM 患者预后的准确性。

## 2 结果

### 2.1 数据的获取

从MMRF 数据库 (<https://themmrf.org/>) 下载 764 例 MM 患者的骨髓组织转录组和临床数据,结合 4 例来自人类蛋白质图谱 (Human Protein Atlas, HPA, <https://www.proteinatlas.org/>) 的正常骨髓样本。基于人类自噬数据库 (Human Autophagy Database, HADb) (<http://www.autophagy.lu/>) 中的 232 个 ARGs, 构建 MM ARGs 表达谱,用于后续分析。

### 2.2 筛选差异 ARGs

应用 R 语言“limma”软件包从 764 例 MM 骨髓样本及 4 例正常骨髓样本中提取差异表达 ARGs,同时提取临床资料完整的 744 例 MM 患者的年龄、性别、分期、家族史等临床信息 (见表 1)。结果显示:有 104 个基因的表达在 MM 样本中具有显著差异 ( $|\log_2FC| > 1, FDR < 0.05$ ), 其中上调基因 46 个, 下调基因 58 个 (见图 1)。

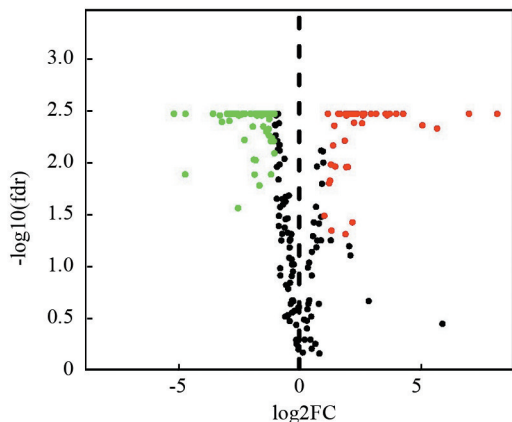
### 2.3 差异 ARGs 的富集分析

对 104 个 DEARGs 进行功能富集分析,GO 富集分析显示,差异表达 ARGs 主要集中在巨自噬、自噬调节、细胞对外部刺激的反应等本体学注释 (见图 2)。KEGG 通路显示,DEARGs 主要集中在自噬、细胞凋亡、NOD 样受体信号通路、PI3K-Akt 信号通路等 (见图 3)。

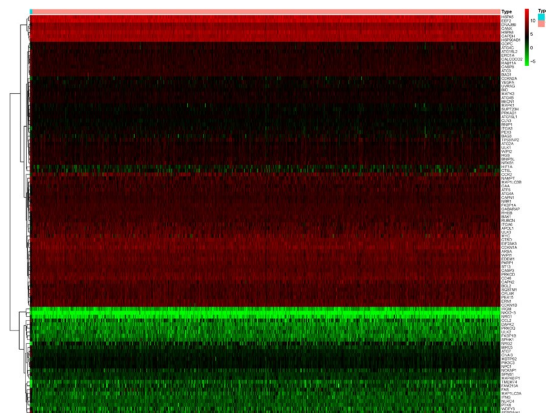
表 1 纳入研究患者基本资料

Table 1 Basic data of patients included in the study

临床特征	例 (%)	
年龄	≤65	461 (61.962)
	>65	283 (38.038)
性别	男	438 (58.871)
	女	306 (41.129)
ISS 分期	I 期	262 (35.215)
	II 期	270 (36.290)
	III 期	212 (28.495)



(a) ARGs 差异基因火山图



(b) ARGs 差异基因热图

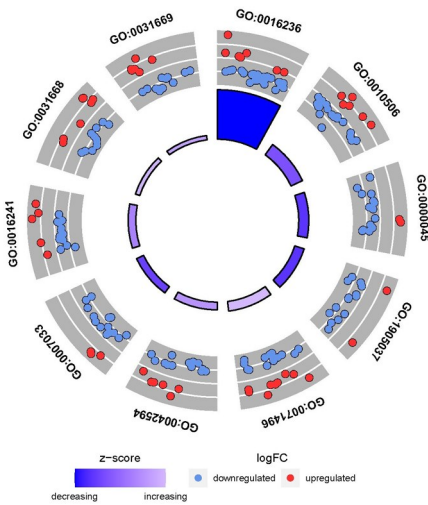
图 1 MM 患者骨髓样本与正常对照骨髓样本中 ARGs 差异基因火山图及热图

Fig.1 Volcano map and heat map of ARGs differential genes in bone marrow samples of MM patients and normal controls

注:红点代表上调的差异 ARGs,绿点代表下调的差异 ARGs,黑点表示在 MM 骨髓样本中未差异表达的 ARGs。

### 2.4 DEARGs 的生存分析

对 744 个临床信息完整的样本进行生存分析。使用上述 104 个 DEARGs 单因素 COX 分析共发现 33 个 ARGs 与 MM 患者整体生存明显相关,其中 13 个 ARGs 是风险基因 ( $HR > 1$ )。进一步使用多因素 COX 回归筛选出 13 个预后相关 ARGs (*NKX2-3*, *NCKAP1*, *BIRC5*, *PEX3*, *HGS*, *RUBCN*, *PARP1*, *ARSA*, *DNAJB9*, *HSP90AB1*, *EEF2*, *FKBP1B*, *CD46*), 详见表 2。根据每个基因的 mRNA 表达水平和风险系数计算每个患者的风险值,风险值计算公式为:风险值 =  $(1.911) \times NKX2-3$  表达值 +  $(-0.212) \times NCKAP1$  表达值 +  $(0.189) \times BIRC5$  表达值 +  $(-0.253) \times PEX3$  表达值 +  $(0.353) \times HGS$  表达值 +  $(-0.493) \times RUBCN$  表达值 +  $(0.406) \times PARP1$  表达值 +  $(-0.192) \times ARSA$  表达值 +  $(-0.199) \times DNAJB9$  表达值 +  $(0.318) \times HSP90AB1$  表达值 +  $(-0.29) \times EEF2$  表达值 +  $(-0.246) \times FKBP1B$  表达值 +  $(-0.162) \times CD46$ , 将 MM 患者分为高风险组和低风险组, Kaplan-Meier 生存曲线分析显示,高、低风险组患者的生存率比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ) (见图 4)。



(a) GO功能富集结果

ID	Description
GO:0016236	macroautophagy
GO:0010506	regulation of autophagy
GO:0000045	autophagosome assembly
GO:1905037	autophagosome organization
GO:0071496	cellular response to external stimulus
GO:0042594	response to starvation
GO:0007033	vacuole organization
GO:0016241	regulation of macroautophagy
GO:0031668	cellular response to extracellular stimulus
GO:0031669	cellular response to nutrient levels

(a) GO功能富集具体编号与通路名称

图 2 GO 功能富集分析结果

Fig.2 Results of GO enrichment analysis

注:图中 ID 号码为 GO 通路的编号,红色为富集通路中上调基因,蓝色为下调基因。

表 2 单因素和多因素 COX 分析结果

Table 2 Results of univariate and multivariate COX analyses

基因	单因素分析结果		多因素分析结果		
	HR(95%CI)	P value	HR(95%CI)	P value	系数
NKY2-3	3.476(1.113,10.856)	0.032	6.762(1.697,26.946)	0.006	1.911
FKBP1B	0.590(0.427,0.817)	0.001	0.782(0.558,1.097)	0.155	-0.246
NCKAP1	0.748(0.651,0.858)	<0.001	0.809(0.701,0.934)	0.003	-0.212
BIRC5	1.582(1.390,1.802)	<0.001	1.208(1.038,1.406)	0.015	0.189
PEX3	0.808(0.660,0.989)	0.038	0.777(0.592,1.019)	0.068	-0.253
HGS	1.436(1.055,1.956)	0.021	1.423(0.981,2.066)	0.063	0.353
RUBCN	0.695(0.550,0.879)	0.002	0.611(0.470,0.793)	<0.001	-0.493
PARP1	1.435(1.127,1.826)	0.003	1.500(1.135,1.983)	0.004	0.406
ARSA	0.732(0.602,0.891)	0.002	0.825(0.666,1.024)	0.080	-0.192
CD46	0.795(0.649,0.975)	0.028	0.850(0.683,1.058)	0.146	-0.163
DNAJB9	0.623(0.496,0.783)	<0.001	0.819(0.623,1.077)	0.153	-0.200
HSP90AB1	1.612(1.178,2.208)	0.003	1.375(0.977,1.935)	0.068	0.318
EEF2	0.700(0.578,0.849)	<0.001	0.746(0.613,0.907)	0.003	-0.293

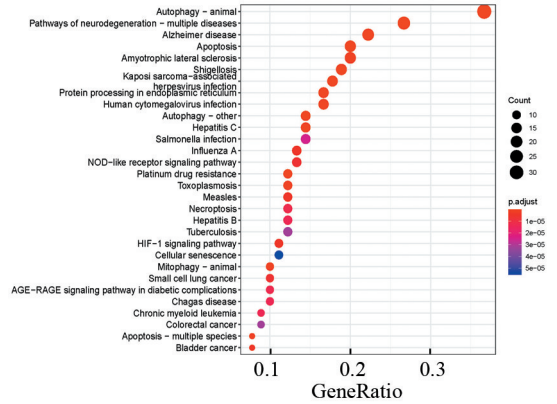


图 3 KEGG 功能富集分析结果

Fig.3 Results of KEGG enrichment analysis

注:横坐标代表富集在各通路的基因数目,纵坐标代表通路名称, $P < 0.05$ 。

### 2.5 风险值及其他临床特征的独立预后分析及风险模型准确性评估

单因素分析显示,MM 患者的年龄、性别、分期和风险值与 OS 有关( $P < 0.05$ )。此外,根据临床病理特征年龄、性别、分期、家族史和风险值进行多因素 COX 回归分析表明,年龄、分期、风险值可作为评估 MM 患者预后的独立因素( $P < 0.05$ ,见图 5),ROC 曲线下面积分别为 0.561、0.685、0.719(见图 6)。

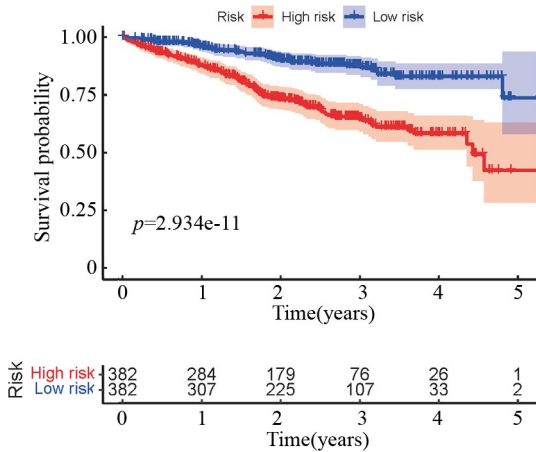


图4 高风险组和低分险组MM患者Kaplan-Meier生存曲线

Fig.4 Kaplan-Meier survival curve of MM patients in high risk group and low risk group

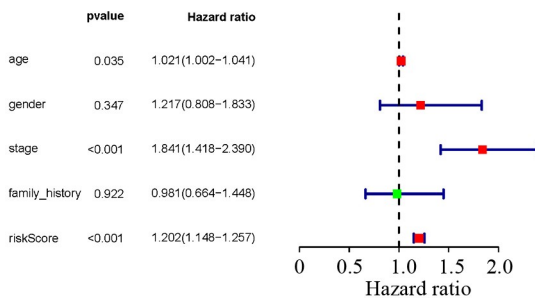


图5 多因素COX回归分析影响745例患者总体生存期的因素  
Fig.5 Analysis of factors affecting overall survival of 745 patients by multivariate COX regression

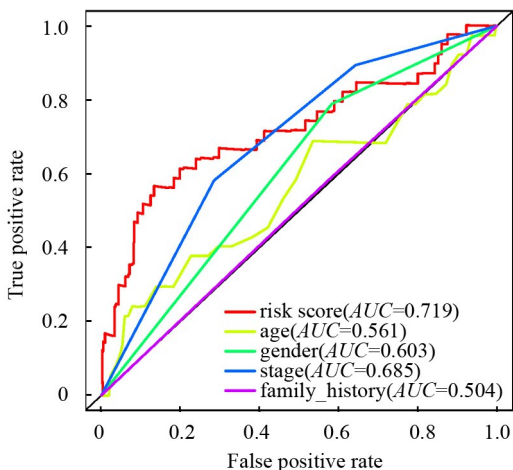


图6 5年生存多指标ROC曲线

Fig.6 Five-year survival multi-indicator ROC curve

注:横坐标为假阳性率,纵坐标为真阳性率(灵敏度)。

### 3 讨论

DNA测序数据显示,不同多发性骨髓瘤患者或同一患者随发病时间均存在巨大的遗传异质性<sup>[12]</sup>。

因此,当前对MM的生物学异质性及其对治疗的影响仍有很大的研究空间。尽管近年来出现的蛋白酶体抑制剂、免疫调节药物和单克隆抗体等许多新的治疗选择提高了MM患者的中位生存率,但仍有25%的新诊断患者生存率低于3年,且化疗耐药和复发仍然是MM临床治疗中的主要问题<sup>[13]</sup>。Deng等在血液系统恶性肿瘤中研究发现,自噬在化疗耐药方面起着至关重要的作用<sup>[14]</sup>。本研究使用MMRF数据库中764例MM患者的骨髓组织表达谱和744例MM患者临床信息,结合HADb数据库中的232个ARGs,最终得到NKX2-3、NCKAP1、BIRC5、PEX3、HGS、RUBCN、PARP1、ARSA、DNAJB9、HSP90AB1、EEF2、FKBP1B和CD46等13个预后相关基因,通过多因素COX分析和多指标ROC分析验证了年龄、分期和风险值可作为独立预后标志。

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶AMPK是细胞中的能量传感器,在分解代谢的激活和合成代谢的失活中起关键作用。研究表明,在各种生理和病理条件下,AMPK被上游激酶磷酸化并与AMP或ADP结合后活化,之后通过磷酸化mTORC1、ULK1和PIK3C3/VPS34复合物中的自噬相关蛋白来直接促进自噬,或通过调节转录因子如FOXO3、TFEB和BRD4等下游的ARGs的表达来间接促进自噬<sup>[15]</sup>。本研究中富集分析也显示大量差异表达ARGs富集到丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活化信号通路。NKX家族成员在淋巴器官发育中起着至关重要的作用<sup>[16]</sup>。尽管目前研究主要集中于NKX2-3与炎症性肠病的关系,但已有研究表明B细胞中过表达NKX2-3的转基因小鼠可通过NF-κB和PI3K-AKT途径促进B细胞向脾和结外组织迁移,导致边缘区淋巴瘤的进展<sup>[17]</sup>。本研究发现NKX2-3与MM患者预后不良高度相关,此外KEGG富集分析也发现了差异表达ARGs在PI3K-AKT信号通路的大量富集。研究表明PI3K-Akt信号通路和自噬之间存在密切关联,PI3K-Akt信号通路的激活可能会在多种癌症中诱导自噬<sup>[18-19]</sup>。Zhong等<sup>[20]</sup>研究发现,NCKAP1通过增强肝细胞癌中的Rb1/p53激活改善患者预后并抑制肝癌细胞生长,本研究中也发现NCKAP1对于MM患者的预后是一种保护性因素,但具体机制还有待进一步研究。MM治疗中产生的耐药是影响MM患者预后的重要因素,研究表明,BIRC5表达的上调与骨髓基质细胞诱导的MM耐药高度相关<sup>[21]</sup>。缺氧诱导因子1(Hypoxia inducible factor 1, HIF-1)是研究最多的ARGs之一,缺氧是癌症发生和发展的主要特征。据报道,MM中的缺氧会增强肿瘤的发生,上调原始B细胞阶段基因的表达,参与蛋白酶体抑制剂耐药的

发生<sup>[22-23]</sup>,刺激恶性浆细胞迁移<sup>[24]</sup>,促进溶骨性骨破坏及血管生成<sup>[25]</sup>。本研究中发现的 HIF-1 信号通路也再次表明 HIF-1 信号通路可能是 MM 治疗的潜在靶点。除自噬外,ARGs 可能还具有多种功能,本研究进行的 GO 和 KEGG 通路分析也发现了除自噬外的某些其他注释,包括细胞对刺激的反应,慢性髓系白血病,微生物感染和神经退行性疾病等。

虽然目前已有几种包含临床特征和分子生物学的 MM 危险分层预后模型如 Durie-Salmon 分期系统和 ISS 分期系统等,但尚无模型能够有效预测 MM 患者的预后。以往研究表明,年龄是 MM 预后的独立危险因素<sup>[26]</sup>,但在我们的研究中,年龄相较于由 ARGs 得出的风险值预后意义较小。而 ISS 分期的 ROC 值则更接近于风险值。此外,患者的肾功能状态,是否存在意义未名的单克隆免疫球蛋白血症病史,是否存在髓外疾病及影像学指标等也均与 MM 患者预后高度相关<sup>[27]</sup>。近几年来,研究人员尝试利用 ARGs 评估 MM 患者的预后情况。Jung G 等<sup>[28]</sup>检测了 89 例 MM 患者的骨髓活检标本,发现骨髓中自噬标志物 Beclin 1 和微管相关蛋白轻链 3 的高表达与更好的预后相关,但并未建立相应的预后评分系统。Zhu 等<sup>[29]</sup>则利用 GEO 数据库中 559 例 MM 患者数据建立了包含 16 个 ARGs 的 MM 患者预后评分系统,5 年生存率的 ROC 曲线下面积与本研究类似,同时找到了与本研究中相同的 *FKBP1B*、*NCKAP1* 和 *DNAJB9* 基因。与上述研究相比,本研究中利用的 MMRF 数据库样本量更大,对上述研究进行了有效补充。

综上,虽然当前对于 MM 的治疗及预后仍存在极大的挑战,但新的治疗方法同样为 MM 患者带来了极大的希望。因此,我们看待 MM 预后不良的问题也需要综合多方面因素综合考虑。有理由相信,随着越来越多的治疗方案问世,高危 MM 中的某些亚型在日后将有可能成为低危 MM。而基于 RNA 的定量转录组分析也可以发现更多与突变无关的,涉及多基因,多途径的致病机制。DNA 和 RNA 的综合分析也将进一步为我们提供疾病的生物学进展及预后情况。

## 4 结 论

*NKX2-3*、*NCKAP1*、*BIRC5*、*PEX3*、*HGS*、*RUBCN*、*PARP1*、*ARSA*、*DNAJB9*、*HSP90AB1*、*EEF2*、*FKBP1B* 和 *CD46* 等可能是与 MM 患者预后相关对 ARGs,据此建立的预后模型对于临床具有一定指导意义,但需进一步验证。

## 参考文献(References)

- [1] KUMAR S K, DISPENZIERI A, LACY M Q, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients[J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1122-1128. DOI: 10.1038/leu.2013.313.
- [2] RAJKUMAR S V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management [J]. *American Journal of Hematology*, 2020, 95(5): 548-567. DOI: 10.1002/ajh.25791.
- [3] GERECKE C, FUHRMANN S, STRIFLER S, et al. The diagnosis and treatment of multiple myeloma[J]. *Deutsches Arzteblatt International*, 2016, 113(27-28): 470-476. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0470.
- [4] 石巧梅,朱宏,齐铭,等. 基于炎症指数的评分系统作为初诊多发性骨髓瘤患者预后标志的研究[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(7): 458-467. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2021.07.003.  
SHI Qiaomei, ZHU Hong, QI Ming, et al. The study of inflammatory index based on scoring system as a prognostic marker for newly diagnosed multiple myeloma[J]. *Journal of Clinical Hematology*, 2021, 34(7): 458-467. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2021.07.003.
- [5] 李艳青,王茵,宋颖,等. CONUT 评分对多发性骨髓瘤患者预后的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2021, 29(3): 781-786. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2021.03.020.  
LI Yanqing, WANG Yin, SONG Ying, et al. The influence of CONUT score on the prognosis of patients with multiple myeloma [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2021, 29(3): 781-786. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2021.03.020.
- [6] MILAN E, FABBRI M, CENCI S. Autophagy in plasma cell ontogeny and malignancy[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2016, 36(1): 18-24. DOI: 10.1007/s10875-016-0254-9.
- [7] DESANTIS V, SALTARELLA I, LAMANUZZI A, et al. Autophagy: A new mechanism of pro-survival and drug resistance in multiple myeloma [J]. *Translational Oncology*, 2018, 11(6): 1350-1357. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.08.014.
- [8] HOANG B, BENAVIDES A, SHI Yijiang, et al. Effect of autophagy on multiple myeloma cell viability[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2009, 8(7): 1974-1784. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-1177.
- [9] LAMY L, NGO V N, EMRE N C, et al. Control of autophagic cell death by caspase-10 in multiple myeloma[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(4): 435-449. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.02.017.
- [10] HUANG Rongzhi, ZHENG Jie, LIU Fengling, et al. A no-

- vel autophagy-related marker for improved differential diagnosis of rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12:743560. DOI:10.3389/fgene.2021.743560.
- [11] FAN Liyuan, LI Baosheng, LI Zhao, et al. Identification of autophagy related circRNA-miRNA-mRNA-subtypes network with radiotherapy responses and tumor immune micro-environment in non-small cell lung cancer[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 730003. DOI: 10.3389/fgene.2021.730003.
- [12] LOHR J G, STOJANOV P, CARTER S L, et al. Widespread genetic heterogeneity in multiple myeloma; implications for targeted therapy[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 91–101. DOI:10.1016/j.ccr.2013.12.015.
- [13] ANDERSON K C. Progress and paradigms in multiple myeloma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2016, 22(22):5419–5427. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-0625.
- [14] DONG Zhiwu, LIANG Shuang, HU Jun, et al. Autophagy as a target for hematological malignancy therapy[J]. *Blood reviews*, 2016, 30(5): 369–380. DOI: 10.1016/j.blre.2016.04.005
- [15] LI Yanjun, CHEN Yingyu. AMPK and autophagy[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2019, 1206:85–108. DOI: 10.1007/978-981-15-0602-4\_4.
- [16] HECKSHER-SØRENSEN J, WATSON R P, LETTICE L A, et al. The splanchnic mesodermal plate directs spleen and pancreatic laterality, and is regulated by Bapx1/Nkx3.2[J]. *Development*, 2004, 131(19):4665–4675. DOI: 10.1242/dev.01364.
- [17] ROBLES E F, MENA-VARAS M, BARRIO L, et al. Homeobox NKX2-3 promotes marginal-zone lymphomagenesis by activating B-cell receptor signalling and shaping lymphocyte dynamics [J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 11889. DOI: 10.1038/ncomms11889.
- [18] HAN Xiaobo, KOU Jiayuan, ZHENG Yinghong, et al. ROS generated by upconversion nanoparticle-mediated photodynamic therapy induces autophagy via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in M1 peritoneal macrophage[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 48(4):1616–1627. DOI: 10.33594/000000093.
- [19] WANG Jing, SUN Peng, CHEN Yijun, et al. Novel 2-phenyloxypyrimidine derivative induces apoptosis and autophagy via inhibiting PI3K pathway and activating MAPK/ERK signaling in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Scientific Reports*, 2018 19, 8(1):10923. DOI: 10.1038/s41598-018-29199-8.
- [20] ZHONG Xiaoping, KAN A, LING Yihong, et al. NCKAP1 improves patient outcome and inhibits cell growth by enhancing Rb1/p53 activation in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(5):369. DOI: 10.1038/s41419-019-1603-4.
- [21] ABDI J, RASTGOO N, CHEN Y, et al. Ectopic expression of BIRC5-targeting miR-101-3p overcomes bone marrow stroma-mediated drug resistance in multiple myeloma cells [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):975. DOI: 10.1186/s12885-019-6151-x.
- [22] MUZ B, DE LA PUENTE P, AZAB F, et al. Hypoxia promotes stem cell-like phenotype in multiple myeloma cells [J]. *Blood Cancer Journal*, 2014, 4(12):e262. DOI: 10.1038/bcj.2014.82.
- [23] KAWANO Y, KIKUKAWA Y, FUJIWARA S, et al. Hypoxia reduces CD138 expression and induces an immature and stem cell-like transcriptional program in myeloma cells [J]. *International Journal of Oncology*, 2013, 43(6): 1809–1816. DOI: 10.3892/ijo.2013.2134.
- [24] AZAB A K, HU Jinsong, QUANG P, et al. Hypoxia promotes dissemination of multiple myeloma through acquisition of epithelial to mesenchymal transition-like features [J]. *Blood*, 2012, 119(24):5782–5794. DOI: 10.1182/blood-2011-09-380410.
- [25] KOCEMBA K A, VAN ANDEL H, DE HAAN-KRAMER A, et al. The hypoxia target adrenomedullin is aberrantly expressed in multiple myeloma and promotes angiogenesis [J]. *Leukemia*, 2013, 27(8):1729–1737. DOI: 10.1038/leu.2013.76.
- [26] LUDWIG H, DURIE B G, BOLEJACK V, et al. Myeloma in patients younger than age 50 years presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10 549 patients from the International Myeloma Working Group[J]. *Blood*, 2008, 111(8):4039–4047. DOI: 10.1182/blood-2007-03-081018.
- [27] ZIOGAS D C, DIMOPOULOS M A, KASTRITIS E. Prognostic factors for multiple myeloma in the era of novel therapies[J]. *Expert Review of Hematology*, 2018, 11(11): 863–879. DOI: 10.1080/17474086.2018.1537776.
- [28] JUNG G, ROH J, LEE H, et al. Autophagic markers beclin 1 and lc3 are associated with prognosis of multiple myeloma[J]. *Acta Haematologica*, 2015, 134(1):17–24. DOI:10.1159/000368848.
- [29] ZHU Fangxiao, WANG Xiaotao, ZENG Huiqiong, et al. A predicted risk score based on the expression of 16 autophagy-related genes for multiple myeloma survival[J]. *Oncology Letters*, 2019, 18(5):5310–5324. DOI:10.3892/ol.2019.10881.