DOI：10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.009

· 论著 ·

单细胞 RNA 测序揭示多发性骨髓瘤中造血干细胞介导的免疫和造血重建

李倩[1,2]，林丽[2]，高爽[2]，陈琳[2]，张志影[2]，马静[2]，刘素[2]，李楠[2]，赵丽娜[2]，曹增[1]，赵海丰[1]，王亚非[1,2*]
[1]天津医科大学肿瘤医院血液科，恶性肿瘤国家临床医学研究中心，天津市肿瘤防治重点实验室，天津市恶性肿瘤临床医学研究中心，天津 300060
[2]天津市肿瘤医院空港医院血液移植科，天津 300308

摘要：目的 系统性揭示高剂量化疗联合自体造血干细胞移植（auto-HSCT）过程中多发性骨髓瘤（MM）患者骨髓肿瘤微环境（TME）的动态重塑规律，特别是免疫重建、造血恢复及细胞间相互作用的演变过程。**方法** 利用单细胞 RNA 测序（scRNA-seq）技术，对接受高剂量美法仑治疗及 auto-HSCT 的 MM 患者骨髓样本进行纵向分析，通过高分辨率解析移植前后骨髓细胞的转录组图谱。**结果** （1）绘制了免疫重建轨迹，发现前 B 细胞、B 细胞、单核细胞、T 细胞和自然杀伤（NK）细胞在移植后呈现特异性恢复模式，其基因表达谱显示代谢和免疫功能的重编程；（2）血管生成相关通路分析表明，健康供体的免疫细胞维持血管完整性，而 MM 患者的免疫细胞则表现出干扰素（IFN）-α/γ 信号通路的异常激活；（3）造血干细胞（HSC）分析显示 MM 微环境通过肿瘤坏死因子 α（TNF-α）/核因子-κB（NF-κB）通路诱导炎症重编程，而治疗可恢复造血平衡；（4）细胞间通讯分析揭示了 MM 中肿瘤特异性相互作用（如 TNFSF10-TNFRSF10B）形成的免疫抑制微环境，以及移植后免疫调节相互作用的恢复（如 LGALS9-CD45）。**结论** 这些发现不仅为理解 MM auto-HSCT 的治疗机制提供了新的见解，也为开发针对免疫重建和微环境调控的联合治疗策略提供了理论依据，提示在移植后可能存在免疫调节治疗的窗口期。

关键词：多发性骨髓瘤；骨髓；单细胞 RNA 测序；免疫重建；造血干细胞
中图分类号：R733.3，R551.3

基金项目：国家自然科学基金项目（82270208）；天津市重点医学学科建设项目（TJYXZDXK-3-003A）
* 通信作者
利益冲突：作者均声明无利益冲突
伦理批件：EK20250309
知情同意：有
引用本文：李倩，林丽，高爽，等. 单细胞 RNA 测序揭示多发性骨髓瘤中造血干细胞介导的免疫和造血重建[J]. 再生医学研究，2026，1（3）：161-174. doi：10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.009.

Single-cell RNA sequencing reveals hematopoietic stem cell-mediated immune and hematopoietic reconstitution in multiple myeloma

LI Qian[1,2], LIN Li[2], GAO Shuang[2], CHEN Lin[2], ZHANG Zhiying[2], MA Jing[2], LIU Su[2], LI Nan[2], ZHAO Li'na[2], CAO Zeng[1], ZHAO Haifeng[1], WANG Yafei[1,2*]
[1]Department of Hematology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center of Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China
[2]Department of Blood and Marrow Transplantation, Tianjin Cancer Hospital Airport Hospital, Tianjin 300308, China

Abstract: Objective This study aims to systematically reveal the dynamic remodeling patterns of the bone marrow tumor microenvironment (TME) in multiple myeloma (MM) patients during high-dose chemotherapy combined with autologous hematopoietic stem cell transplantation

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82270208); Tianjin Key Medical Discipline Construction Project (TJYXZDXK-3-003A)
* Corresponding author
Conflicts of interest: Authors all declare no conflicts of interest.
Ethical approval: EK20250309
Informed consent: available.
Cite this article: Li Q, Lin L, Gao S, *et al*. Single-cell RNA sequencing reveals hematopoietic stem cell-mediated immune and hematopoietic reconstitution in multiple myeloma[J]. Zaisheng Yixue Yanjiu, 2026, 1(3): 161-174. doi: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.009.

(auto-HSCT), particularly focusing on the evolution of immune reconstitution, hematopoietic recovery, and intercellular interactions. **Methods** This study employed single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) technology to conduct longitudinal analysis of bone marrow samples from MM patients who received high-dose melphalan treatment and auto-HSCT, providing high-resolution profiling of the transcriptional landscape of bone marrow cells before and after transplantation. **Results** (1) Immune reconstitution trajectories were mapped, revealing specific recovery patterns of pre-B cells, B cells, monocytes, T cells, and natural killer (NK) cells after transplantation, with their gene expression profiles indicating reprogramming of metabolic and immune functions; (2) Analysis of angiogenesis-related pathways showed that immune cells from healthy donors maintained vascular integrity, while those from MM patients exhibited abnormal activation of the interferon (IFN)-α/γ signaling pathway; (3) Hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs) analysis indicated that the MM microenvironment induced inflammatory reprogramming through the tumor necrosis factor α (TNF-α)/nuclear factor-κB (NF-κB) pathway, and treatment restored hematopoietic balance; (4) Intercellular communication analysis revealed the formation of an immunosuppressive microenvironment in MM through tumor-specific interactions (such as TNFSF10-TNFRSF10B), as well as the restoration of immunomodulatory interactions after transplantation (such as LGALS9-CD45). **Conclusion** These findings not only provide new insights into the therapeutic mechanism of MM auto-HSCT but also offer a theoretical basis for the development of combined treatment strategies targeting immune reconstitution and microenvironment regulation, suggesting a potential window for immunomodulatory therapy after transplantation.

Key words: Multiple myeloma; Bone marrow; Single-cell RNA sequencing; Immune reconstitution; Hematopoietic stem cells

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种以骨髓浆细胞恶性增生为特征的血液系统恶性肿瘤,发病机制复杂,涉及肿瘤细胞与骨髓微环境的多层次相互作用。MM 的进展不仅依赖于肿瘤细胞本身的基因及表观遗传学改变,还深受骨髓内多种细胞类型及其分泌因子的影响[1-2]。骨髓微环境由多种细胞组成,包括造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)、间充质干/祖细胞、内皮细胞、免疫细胞[如 T 细胞、巨噬细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞等]以及脂肪细胞等,这些细胞通过细胞间信号通路、细胞外囊泡及代谢重编程等多种方式影响 MM 细胞的生存、增殖及耐药性[3-5]。MM 患者中,骨髓微环境表现出免疫抑制、促肿瘤炎症和促进血管生成等特点,为肿瘤细胞提供了“保护伞”,促进疾病进展和治疗抵抗[6]。因此,深入解析骨髓微环境的细胞组成及其动态变化,对于理解 MM 的发病机制及发现新的治疗靶点具有重要意义。

HSC 作为骨髓内多能干细胞,承担着维持终生正常造血的重任,同时参与调节免疫系统的功能。研究[7-8]表明,MM 的发生发展过程中,HSCs 的功能受到显著影响,其细胞谱系分化、增殖状态及信号通路调控均发生改变,进而影响骨髓微环境的免疫平衡和造血重建。此外,骨髓中的间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在 MM 微环境中表现出亚群异质性,包括骨生成、血管生成和免疫调节等多种功能亚群,其比例和功能随着疾病进展发生动态变化,部分 MSC 亚群被认为促进免疫抑制微环境的形成,支持肿瘤生长[9]。MM 微环境中还存在脂肪细胞的代谢异常和分泌表型变化,这些骨髓脂肪细胞与 MM 细胞相互作用,促进肿瘤细胞耐药和进展[3]。免疫细胞方面,骨髓中的调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)、骨髓驻留巨噬细胞及髓系抑制细胞等均参与调节免疫反应,形成肿瘤免疫逃逸的机制[10-12]。然而,MM 患者在接受自体造血干细胞移植(autologous hematopoietic stem cell transplantation, auto-HSCT)后,骨髓微环境如何变化,目前尚不清楚。

传统的研究手段多依赖于群体细胞分析,难以揭示骨髓微环境中细胞的异质性和复杂的细胞间相互作用。近年来,单细胞 RNA 测序技术(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)的兴起为高分辨率解析骨髓微环境提供了强有力的工具。该技术可以揭示单个细胞的转录组信息,解析细胞亚群的特征、谱系关系及其动态演变,同时结合空间转录组学和多组学数据,更加全面地描绘骨髓微环境的细胞组成和功能状态[13-15]。在 MM 研究中,scRNA-seq 不仅揭示了肿瘤细胞的克隆异质性和分化轨迹,还揭示了免疫细胞、MSCs 和内皮细胞等微环境细胞的多样性与功能分化,明确了它们在免疫调节、造血支持和肿瘤促进中的作用[9, 16-17]。此外,单细胞技术还揭示了 MM 微环境中免疫抑制机

制，如 Tregs 的激活状态、髓系抑制细胞与骨髓巨噬细胞的相互作用，以及免疫检查点分子的表达动态，为免疫治疗策略的开发提供了理论基础[6, 11, 18]。同时，$CD8^+$ T 细胞和 NK 细胞等免疫效应细胞的重建对于移植后的肿瘤监测至关重要，其中 $CD8^+$ T 细胞靶向 MM 细胞，NK 细胞提供早期先天免疫[19]。然而，移植后的免疫再生和功能往往受损。了解免疫谱系的定量和功能恢复情况可以指导增强免疫监视的策略。有效的造血重建取决于移植的造血干/祖细胞（hematopoietic stem and progenitor cells，HSPCs），并受骨髓微环境信号的调节，而在 MM 中，这些信号常常因恶性浆细胞、基质重塑和异常细胞因子信号传导而受到破坏。然而，MM 患者在接受 auto-HSCT 后，骨髓微环境、HSPCs 的分化轨迹如何适应或恢复正常，目前尚不清楚。

综上所述，MM 的发展与骨髓 HSCs 及其微环境的复杂相互作用密不可分。传统研究方法难以全面刻画骨髓内细胞的异质性和动态变化，而 scRNA-seq 技术的应用突破了这一瓶颈，为揭示 MM 中 HSC 介导的免疫调节和造血重建机制提供了新的视角和手段。在本研究中，我们利用 scRNA-seq 技术，绘制了 MM 患者在接受大剂量美法仑 auto-HSCT 前后骨髓微环境的图谱，重点关注 HSC 在免疫调节和造血重建中的作用。研究发现，大剂量美法仑 auto-HSCT 有助于 MM 患者骨髓中前 B 细胞、T 细胞、NK 细胞和 HSPCs 的良好重建。研究结果为全面理解 MM 患者接受治疗后的骨髓单细胞图谱提供了新的见解，为深入理解 MM 的发病机制和开发精准治疗策略奠定了基础。

1　资料与方法

1.1　scRNA-seq 数据分析

对新分离的骨髓单个核细胞（bone marrow mononuclear cells，BMMCs）进行 scRNA-seq 以生成高分辨率转录组谱。采用 AO/PI 双染色试剂盒（No. K2238，APExBIO Technology）。文库使用 10x Genomics Chromium 平台构建，并在 Illumina NovaSeq X 上测序，目标深度为每细胞 50 万 reads。使用 Cell Ranger v7.2.0 软件对原始数据进行处理，与 GRCh38 参考基因组比对，并按照指南[20]进行下游分析。数据分析的其他细节在补充方法中提供。所有参与者在样本采集前均签署了书面知情同意书。本研究方案已获天津医科大学肿瘤医院伦理委员会批准（批准号：EK20250309）。所有程序均依照《赫尔辛基宣言》及相关伦理规定执行。

1.2　统计学分析

所有统计学分析均使用 Rv4.3.1 进行。两组间比较采用 *Mann-Whitney U* 检验，多组比较采用 *Kruskal-Wallis* 检验。使用 χ^2 检验评估分类变量。$P<0.05$（双尾）被认为具有统计学差异。

2　结果

2.1　通过 auto-HSCT 治疗实现前 B 细胞重建及功能恢复

MM 具有恶性浆细胞增殖和免疫失调的双重特征，这导致了疾病进展和治疗抵抗。为了探究 auto-HSCT 后大剂量美法仑治疗对免疫重建以及 HSCs 恢复的影响，我们对正常（健康供体）组（$n=3$，GSE120221）、未经治疗的肿瘤（MM）组（$n=3$，GSE189460）以及 MM 患者 auto-HSCT 后接受大剂量美法仑治疗的治疗组（$n=3$）的 BMMCs 进行了 scRNA-seq 分析。3 组信息见表 S1-3。由于健康个体和接受 auto-HSCT 的患者所拥有的骨髓资源有限且珍贵，我们无法在短时间内收集大量样本以满足验证的要求。由于这一限制，特别是在统计效力和普遍适用性方面，我们的发现应被理解为推动未来验证的初步见解。为了揭示潜在机制，我们从以下 3 个方面进行了深入分析：（1）前 B 细胞、B 细胞、单核细胞、T 细胞、NK 细胞的免疫重建；（2）通过 HSPCs 分化实现的造血恢复；（3）免疫微环境中细胞间的通讯。这些综合分析旨在全面了解该疗法如何重塑 MM 患者的骨髓。

前 B 细胞代表 B 淋巴细胞生成过程中的一个关键过渡阶段，在 MM 患者中显著减少（肿瘤组 0.1% *vs* 正常组 0.57%），但在治疗组为 0.97%，表明 B 细胞谱系的重新激活（图 1A）。时间轨迹分析揭示，肿瘤组的前 B 细胞聚集在早期发育阶段，而治疗组的前 B 细胞则向更成熟的状态发展（图 1B，图 S1A-B）。沿着这条轨迹的基因表达动态被分为 6 个簇，前 50 个基因以热图形式展示（图 S1C）。在分化过程中，*IGKC*、*IGLC2* 和

JCHAIN 的表达逐渐降低(图 S1D–E),这凸显了它们在前 B 细胞成熟过程中的作用。差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)分析显示,治疗组白细胞介素–6(interleukin–6, IL–6)/酪氨酸蛋白激酶 2(Janus kinase 2, JAK2)/信号转导及转录激活蛋白 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路的重新激活(图 1C),这表明 IL–6 介导的对 B 细胞系重建和成熟的支持作用。在肿瘤组与正常组之间有 1672 个基因上调,237 个基因下调(图 1D),而在治疗组与肿瘤组之间有 238 个基因上调,1547 个基因下调(图 1E)。交叉 DEGs 确定了 40 个基因(肿瘤组↓ *vs* 正常组,治疗组↑ *vs* 肿瘤组,例如 *RPS17*、*RPS28*、*RPL31*、*HLA–DPB1*)可能促进了前 B 细胞的恢复(图 1F),以及 799 个基因(肿瘤组↑ *vs* 正常组,治疗组↓ *vs* 肿瘤组)与 MM 相关的停滞有关(图 1G)。肿瘤组的前 B 细胞激活了诸如干扰素(interferon, IFN)–γ 反应、G2M 检查点、补体和同种异体排斥等通路(图 1H)。在治疗组,部分下调的基因与这些通路存在重叠(图 1I),这表明在前 B 细胞重建过程中,应激反应与发育进程之间存在着关键的平衡。

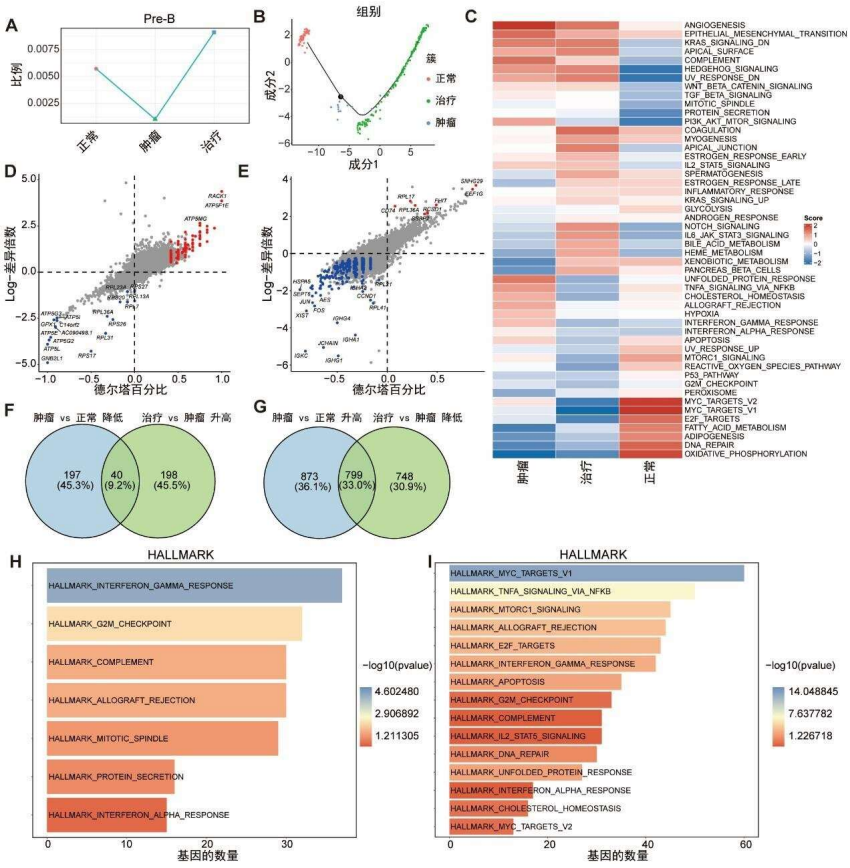


图 1　通过 auto–HSCT 治疗对前 B 细胞的重组及功能重塑进行鉴定。A:在正常组(HD)、肿瘤组(MM)和治疗组(auto–HSCT)中,前 B 细胞在骨髓细胞总数中的比例;B:通过 Monocle 2 推断出的前 B 细胞的伪时间轨迹,细胞按样本组进行着色;C:对各组中前 B 细胞所富集的标志性通路进行的 GSVA 分析;D–E:前 B 细胞在(D)肿瘤组与正常组之间以及(E)治疗组与肿瘤组之间的 DEGs 的火山图;F:肿瘤组与治疗组下调的 DEGs 的交集(n=40)的维恩图;G:肿瘤组与治疗组下调的 DEGs 的交集(799 个)的维恩图;H:肿瘤组与正常组之间的 HALLMARK 富集差异的条形图;I:肿瘤组与治疗组之间的 HALLMARK 富集差异的条形图。HD:健康供体;MM:多发性骨髓瘤;auto–HSCT:自体外周血干细胞移植;GSVA:基因集变异分析;DEGs:差异表达基因。

Figure 1　Identification of the reconstitution and functional remodeling of pre–B cells by auto–HSCT therapy. A: Proportion of pre–B cells among total bone marrow cells in HD (for normal), MM (for tumor), and auto–HSCT (for treatment) groups; B: Pseudotime trajectory of pre–B cells inferred by Monocle 2, with cells colored by sample group; C: GSVA analysis of hallmark pathways enriched in pre–B cells across groups; D–E: Volcano plots of DEGs in pre–B cells between (D) MM *vs.* HD and (E) auto–HSCT *vs.* MM; F: Venn diagram of intersecting DEGs downregulated in MM and upregulated post–HSCT (n=40); G: Venn diagram of 799 intersecting DEGs upregulated in MM and downregulated after HSCT; H: The bar plot of HALLMARK enrichment differences between MM group and HD group; I: The bar plot of HALLMARK enrichment differences between MM group and auto–HSCT group. HD: health donor; MM: multiple myeloma; auto–HSCT: autologous hematopoietic stem cell transplantation; GSVA: gene set variation analysis; DEGs: differentially expressed genes.

2.2　通过 auto-HSCT 治疗实现 B 细胞重建及功能恢复

在 auto-HSCT 后，Monocle 2 显示 B 细胞具有不同的发育路径（图 S2A），肿瘤组和治疗组样本沿着分化分支的分布不同（图 S2B），这表明存在分化改变。基因表达分析发现不同组别之间存在不同的转录程序（图 S2C-E），其中 BANK1 是 B 细胞分化的关键调节因子（图 S2D）。DEG 分析发现，与正常组相比，肿瘤组有 2457 个上调基因和 377 个下调基因（图 2A），而治疗组与肿瘤组相比有 1246 个上调基因和 1067 个下调基因（图 2B）。基因集变异分析（gene set variation analysis，GSVA）显示正常组血管生成通路激活，表明其具有稳态血管作用。相比之下，肿瘤组 B 细胞表现出显著的 IFN-γ 反应通路激活，这表明存在免疫重编程。同时，我们还发现治疗组出现了 HEME 代谢的激活，这表明存在应激适应和免疫恢复（图 2C）。对 DEG 的交叉比较得出 59 个基因（肿瘤组↓ *vs* 正常组，治疗组↑ *vs* 肿瘤组）以及 723 个方向相反的基因（肿瘤组↑ *vs* 正常组，治疗组↓ *vs* 肿瘤组）（图 2D-E），这些基因代表了免疫功能障碍和恢复的候选调节因子，如核糖体蛋白小亚基（ribosomal protein small subunit，*RPS*）家族、核糖体蛋白大亚基（ribosomal protein large subunit，*RPL*）家族、*SLC25A6*、*COX7C*。

2.3　通过 auto-HSCT 治疗实现单核细胞的重建及功能恢复

单核细胞的伪时间分析呈现出一条明显的线性轨迹，分为两个分支，表明存在不同的发育命运，正常组单核细胞几乎全部处于状态 1（图 S3A-B）。状态特异性基因特征（图 S3C-E）反映了治疗组免疫重新激活和炎症情况，其中 CD52 可能是一个调节因子（图 S3D）。转录组比较显示，在肿瘤组与正常组之间有 1962 个基因上调，286 个基因下调（图 2F），而在治疗组与肿瘤组之间有 435 个基因上调，1193 个基因下调（图 2G）。GSVA 显示治疗组早期雌激素反应激活，表明雌激素可能影响单核细胞的分化和功能状态（图 2H）。交叉分析确定了 57 个基因（肿瘤组↓ *vs* 正常组，治疗组↑ *vs* 肿瘤组）以及 915 个基因在反向对比中（肿瘤组↑ *vs* 正常组、治疗组↓ *vs* 肿瘤组）（图 2I-J）表达有所恢复或增加，这些基因涉及核糖体功能和蛋白质合成（如 *RPL36A*、*RPS15A*、*RPL27*）、线粒体代谢（如 *ALDOA*、*UQCR11*、*COX7A2*）、免疫调节（如 *S100A8*、*S100A12*、*LST1*）。研究结果表明，MM 微环境对单核细胞施加了代谢和功能抑制，而 auto-HSCT 则重新激活了关键的免疫代谢途径。

2.4　通过 auto-HSCT 治疗实现 T 细胞的重建及功能恢复

在肿瘤组，使用 Monocle 2 进行伪时间轨迹分析揭示了 5 种 T 细胞状态，治疗组细胞聚集在轨迹的终点附近，这表明其处于高度分化状态（图 S4A-B）。基因表达分析确定了不同组别之间的转录程序差异（图 S4C）。DEG 分析显示，肿瘤组与正常组相比，有 2641 个基因表达上调，362 个基因表达下调（图 3A）；而治疗组与肿瘤组相比，有 1073 个基因表达上调，859 个基因表达下调（图 3B）。GSVA 富集分析（图 3C）突显了治疗组磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶（phosphatei-dylinositol 3 kinase/serine-threonine kinase，PI3K/AKT）通路的激活。交集分析确定了 96 个免疫恢复基因和 585 个与 MM 相关的基因在 HSCs 移植后逆转（图 S5A-B）。肿瘤组 T 细胞表现出核糖体、线粒体和代谢基因（如 *RPL* 家族、*RPS* 家族、*NDUFA13* 和 *NDUFB1*）表达降低，这反映了抑制、代谢受损和翻译缺陷的状态。相比之下，治疗组 T 细胞表现出这些基因的恢复或上调表达，表明蛋白质合成能力的恢复、线粒体功能的增强、代谢灵活性的提高以及抗原处理能力的改善，从而有助于微小残留病（minimal residual disease，MRD）的清除。治疗组 TRBV中前 20 组使用的频率直方图见图 3D。T 细胞受体（T-cell receptor，TCR）品系多样性和扩增模式进一步支持了 HSCs 移植后 T 细胞免疫功能的恢复。

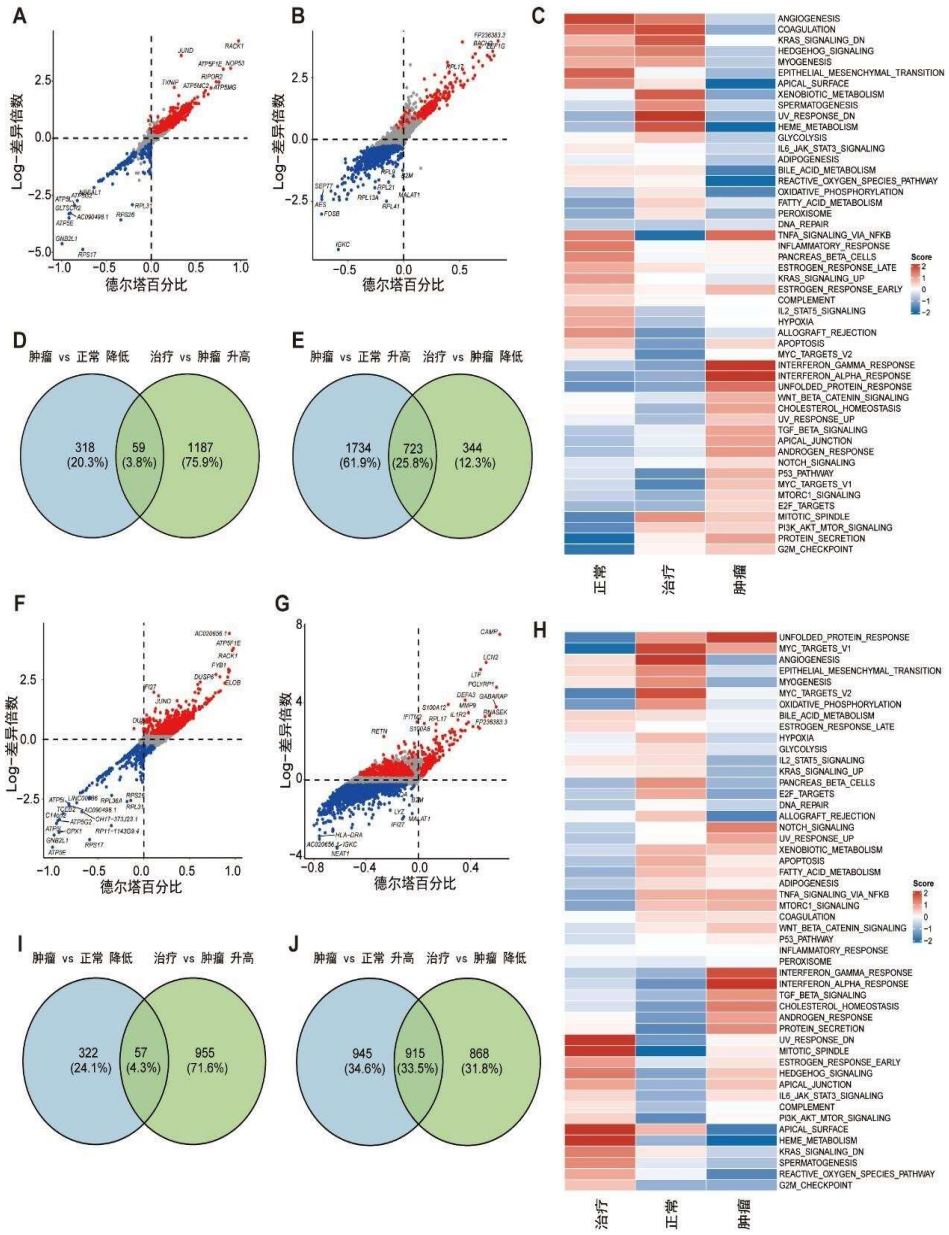


图 2　通过 auto-HSCT 治疗对 B 细胞和单核细胞的重新组合及功能重塑的鉴定。A-B：B 细胞中 DEGs 的火山图，分别对比（A）MM（肿瘤）组与健康供体（正常）组以及（B）auto-HSCT（治疗）组与 MM（肿瘤）组；C：B 细胞在正常组、肿瘤组和治疗组之间特征通路的 GSVA 富集得分；D：肿瘤组中下调基因与正常组中上调基因以及治疗组中上调基因与肿瘤组中下调基因的交集 Venn 图；E：肿瘤组中上调基因与治疗组中下调基因的交集维恩图；F-G：单核细胞中 DEGs 的火山图，分别对比（F）肿瘤组与正常组以及（G）治疗组与肿瘤组；H：单核细胞在正常组、肿瘤组和治疗组之间特征通路的 GSVA 富集得分；I：肿瘤组中下调基因与正常组中上调基因以及治疗组中上调基因与肿瘤组中下调基因的交集维恩图；J：肿瘤组中上调基因与正常组中上调基因以及治疗组中下调基因与肿瘤组中下调基因的交集维恩图。

Figure 2　Identification of the reconstitution and functional remodeling of B cells and monocytes by auto-HSCT therapy. A-B: Volcano plots of DEGs in B cells of (A) MM (for tumor) *vs.* HD (for normal) and (B) auto-HSCT (for treatment) *vs.* MM; C: GSVA enrichment scores for hallmark pathways among B cells across HD, MM, and auto-HSCT groups; D: Venn diagram of 59 intersecting DEGs between downregulated in MM *vs.* HD and upregulated in auto-HSCT *vs.* MM; E: Venn diagram of 723 intersecting DEGs between upregulated in MM *vs.* HD and downregulated in auto-HSCT *vs.* MM; F-G: Volcano plots of DEGs in monocyte of (F) MM *vs.* HD and (G) auto-HSCT *vs.* MM; H: GSVA enrichment scores for hallmark pathways among monocyte across HD, MM, and auto-HSCT groups; I: Venn diagram of 57 intersecting DEGs between downregulated in MM *vs.* HD and upregulated in auto-HSCT *vs.* MM; J: Venn diagram of 915 intersecting DEGs between upregulated in MM *vs.* HD and downregulated in auto-HSCT *vs.* MM.

2.5　通过 auto-HSCT 治疗实现 NK 细胞的重建及功能恢复

轨迹分析显示，治疗组 NK 细胞处于轨迹的起始点，分别向两个不同的方向发展，最终分别达到正常组状态 2 和肿瘤组状态 3（图 S4D-H）。DEG 分析显示，肿瘤组与正常组相比，有 2460 个基因上调，485 个基因下调（图 3E），而治疗组与肿瘤组相比，有 996 个基因上调，977 个基因下调（图 3F）。GSVA显示，治疗组 IL-6/JAK/STAT3 信号通路被激活，表明这些细胞正在接收生存和代谢支持信号（图 3G）。随后，交叉分析确定了肿瘤组与治疗组之间共有 146 个基因（图 3H），以及肿瘤组与治疗组之间重叠 639 个基因（图 3I）。肿瘤组 NK 细胞表现出核糖体、翻译、线粒体和蛋白质稳态基因（如 *RPL27A*、*RPS6*、*COX16*）的表达受到抑制，而治疗组 NK 细胞则恢复了这些途径，反映了代谢和功能能力的恢复。

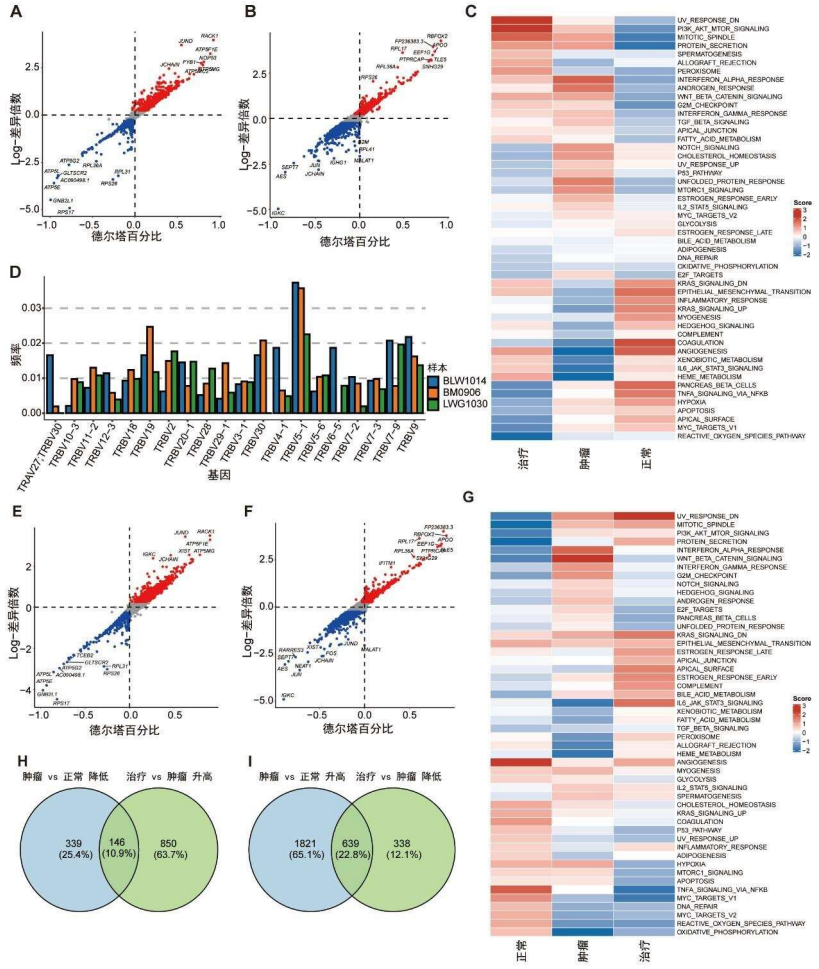


图 3　通过 auto-HSCT 治疗对 T 细胞和 NK 细胞的重组及功能重塑的鉴定。A-B：T 细胞中 DEGs 的火山图，分别对比（A）MM（肿瘤）组与健康供体（正常）组以及（B）auto-HSCT（治疗）组与肿瘤组；C：在正常组、肿瘤组和治疗组中单核细胞中标志性通路的 GSVA 富集得分；D：TRBV 中前 20 组使用频率的直方图；E-F：NK 细胞中 DEGs 的火山图，分别对比（E）肿瘤组与正常组以及（F）治疗组与肿瘤组；G：单核细胞在正常组、肿瘤组和治疗组中标志性通路的 GSVA 富集得分；H-I：肿瘤组中下调且在治疗组中上调的 146 个交集 DEGs 的维恩图，以及肿瘤组中上调且在治疗组中下调的 639 个交集 DEGs 的维恩图。NK：自然杀伤。

Figure 3　Identification of the reconstitution and functional remodeling of T cells and NK cells by auto-HSCT therapy. A-B: Volcano plots of DEGs in T cells of (A) MM (for tumor) *vs.* HD (for normal) and (B) auto-HSCT (for treatment) *vs.* MM; C: GSVA enrichment scores for hallmark pathways among monocytes across HD, MM, and auto-HSCT groups; D: The histogram plot of the frequency of use of the top 20 groups in TRBV; E-F: Volcano plots of DEGs in NK cells of (E) MM *vs.* HD and (F) auto-HSCT *vs.* MM; G: GSVA enrichment scores for hallmark pathways among monocyte across HD, MM, and auto-HSCT groups; H-I: Venn diagram of 146 intersecting DEGs downregulated in MM *vs.* HD and upregulated in auto-HSCT *vs.* MM; I: Venn diagram of 639 intersecting DEGs upregulated in MM *vs.* HD and downregulated in auto-HSCT *vs.* MM. NK: natural killer.

2.6 通过 auto-HSCT 治疗实现造血功能恢复

在 auto-HSCT 后进行高剂量化疗能够清除残留的恶性浆细胞，并通过 HSCs 的再生恢复造血功能。然而，在 MM 中，由于骨髓微环境的抑制作用，HSCs 往往数量减少且功能受损。为了全面评估该治疗对造血重建的效果，我们系统分析了正常、肿瘤以及治疗组中 HSCs 的转录动态和发育轨迹。

如图 4A 所示，HSCs 从 2.81%（正常组）下降至 0.46%（MM），但通过治疗后恢复至 2.32%，这表明祖细胞的动员和植入是成功的。Monocle 2 识别出了 5 个发育层次（状态 1-5），其中 MM 来源的 HSCs 主要聚集在较早的伪时间点（图 4B，图 S6A-B），这暗示了发育停滞，而治疗后的状态更为高级。基因分析显示在各种分化轨迹上存在显著变化（图 S6C-E）。并且观察到 DEFA3 的表达呈逐步上调趋势，这表明其在 HSCs 的分化过程中起关键作用。

GSVA 显示，在治疗组的 HSCs 中，IL-6/JAK/STAT3 信号通路被激活（图 4C），这表明增强了的存活和增殖信号促进了造血恢复。DEG 分析确定，在肿瘤组与正常组之间有 743 个上调基因和 539 个下调基因，在治疗组与肿瘤组之间有 300 个上调基因和 2372 个下调基因（图 4D-E）。DEG 的交叉比较确定，在肿瘤组与正常组之间，有 53 个基因在肿瘤组中下调但在治疗组中上调，这些基因可能代表了恢复过程中的潜在驱动因素；而在肿瘤组与治疗组之间，有 480 个基因在肿瘤组中上调但在治疗组中下调，可能与干细胞抑制或耗竭有关（如 *RPL* 家族、*RPS* 家族、*COX7C*、*MIF*）（图 4F-G）。这些 DEG 的富集分析表明，MM 患者 HSCs 中上调的基因和高剂量美法仑治疗后的 HSCs 中下调的基因都在肿瘤坏死因子 α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）/核因子-κB（nuclear factor-κB，NF-κB）通路中富集（图 4H-I），表明在造血恢复过程中存在免疫炎症调节和代谢重编程。这些研究结果突显了 HSCs 移植的再生作用，并为改善 MM 患者的移植成功率和细胞系恢复提供了新的机制见解及潜在的治疗靶点。

2.7 通过 auto-HSCT 治疗实现免疫微环境内的细胞间通讯恢复

细胞间通讯对于免疫稳态和抗肿瘤免疫至关重要。在此，我们系统地比较了正常组、肿瘤组和治疗组细胞间的相互作用，以描绘疾病进展和治疗后恢复期间的变化（图 5A-C）。数据表明，正常组表现出连接良好、平衡的网络，反映了生理性的免疫微环境。肿瘤组的相互作用减少，特别是涉及浆细胞和单核细胞的相互作用。治疗组显示出部分恢复，特别是树突状细胞、前 B 细胞、T 细胞和 NK 细胞之间的相互作用增加，表明免疫重新激活。然后我们关注浆细胞 B 细胞的相互作用（图 5D-F）。肿瘤组浆细胞对单核细胞的调节信号增加，但通过治疗这些信号消失。

此外，肿瘤组浆细胞与 T 细胞、NK 细胞和树突状细胞（dendritic cells，DCs）的交流也有所增强，但治疗组则有所减少，这表明 MM 中浆细胞与单核细胞相互作用的增强可能导致免疫失调和免疫抑制，而这种治疗带来的相互作用减少则反映了免疫重新平衡和部分功能恢复。受到这些发现的启发，我们进一步探究了配体-受体相互作用的功能意义（图 5G-I）。肿瘤组浆细胞表现出肿瘤特异性的相互作用，包括 TNFSF10-TNFRSF10、NAMPT-INSR、GRN-SORT1 和 CCL3-CCR1，这表明存在一种免疫抑制和促进增殖的微环境。相比之下，如 MIF-（CD74 + CXCR4）、LGALS9-CD44 和 ANXA1-FPR1 这样的配体-受体对仅在正常样本中观察到，表明免疫调节和细胞间平衡处于更生理的状态。治疗组显示出不同的相互作用，包括 LGALS9-CD45 和 LGALS9-CD44，反映了免疫交流的部分恢复。

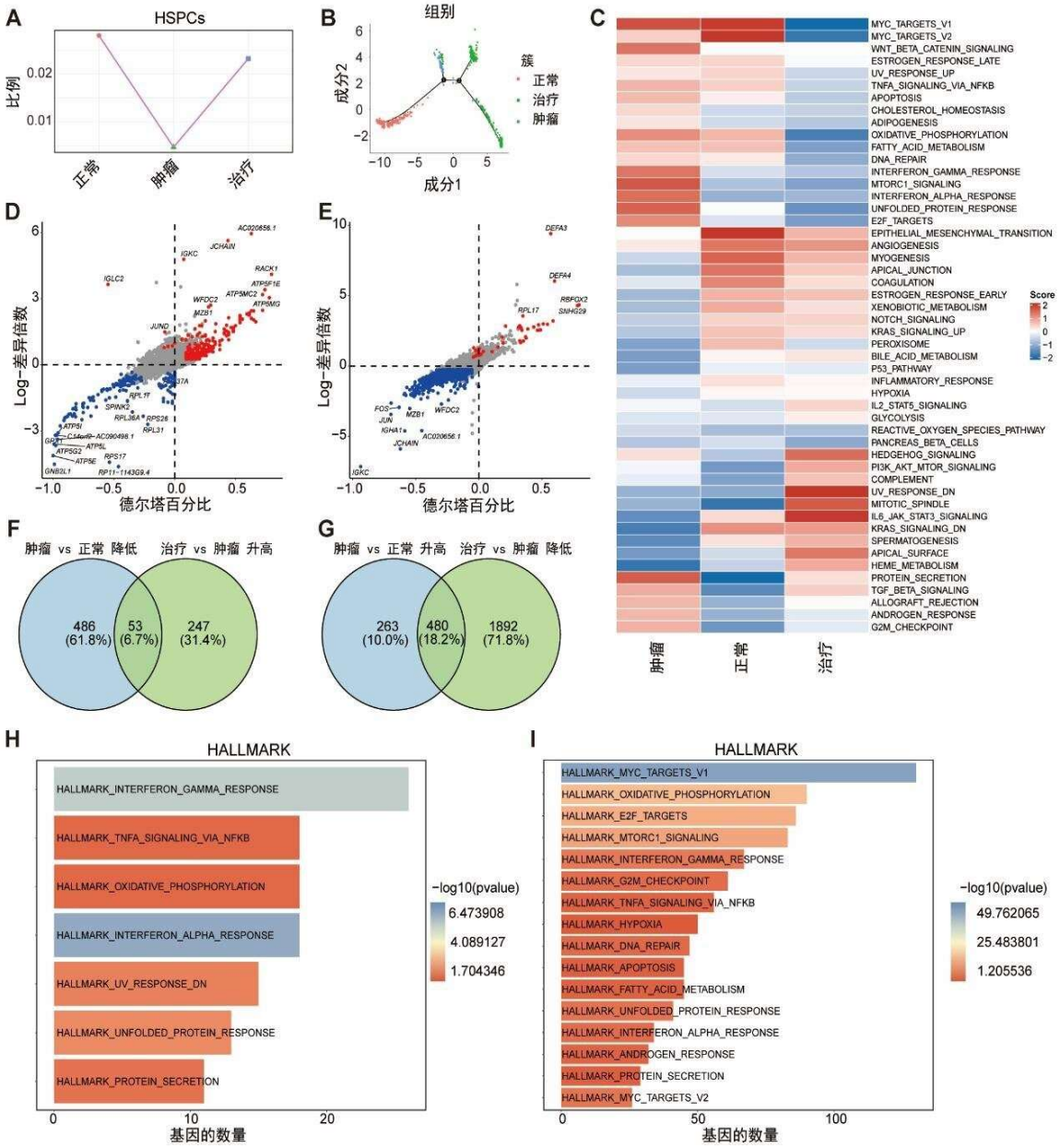


图 4　通过 auto−HSCT 治疗对造血干细胞的重组及功能重塑的鉴定。A：在 HD（正常）、MM（肿瘤）和 auto−HSCT（治疗）组中造血干细胞群体的比例；B：通过 Monocle 2 推断的细胞沿伪时间轨迹的分布，按样本组进行着色；C：在正常组、肿瘤组和治疗组中 HSPCs 之间标志性通路的 GSVA 富集得分；D−E：HSPCs 中 DEGs 的火山图比较（D）MM 与 HD 以及（E）auto−HSCT 与 MM；F：MM 与 HD 之间下调的 53 个交集 DEGs 的维恩图，以及 auto−HSCT 与 MM 之间上调的 480 个交集 DEGs 的维恩图；G：MM 与 HD 之间上调的 480 个交集 DEGs 的维恩图，以及 auto−HSCT 与 MM 之间下调的 53 个交集 DEGs 的维恩图；H：柱状图显示肿瘤组中上调基因的 HALLMARK 富集情况，与正常组相比；I：该柱状图展示了与肿瘤组相比，治疗组中下调基因的“标志性”富集情况。HSPCs：造血干/祖细胞。

Figure 4　Identification of the reconstitution and functional remodeling of HSPCs by auto−HSCT therapy. A: Proportion of HSPCs populations in HD (for normal), MM (for tumor), and auto−HSCT (for treatment) groups; B: Distribution of cells along pseudotime trajectory inferred by Monocle 2, colored by sample group; C: GSVA enrichment scores for hallmark pathways among HSPCs across HD, MM, and auto−HSCT groups; D−E: Volcano plots of DEGs in HSPCs of (D) MM *vs.* HD and (E) auto−HSCT *vs.* MM; F: Venn diagram of 53 intersecting DEGs downregulated in MM *vs.* HD and upregulated in auto−HSCT *vs.* MM; G: Venn diagram of 480 intersecting DEGs upregulated in MM *vs.* HD and downregulated in auto−HSCT *vs.* MM; H: The bar plot displays the HALLMARK enrichment of upregulated genes in the MM group compared to the HD group; I: The bar plot displays the HALLMARK enrichment of downregulated genes in the treatment group compared to the tumor group. HSPCs: hematopoietic stem and progenitor cells.

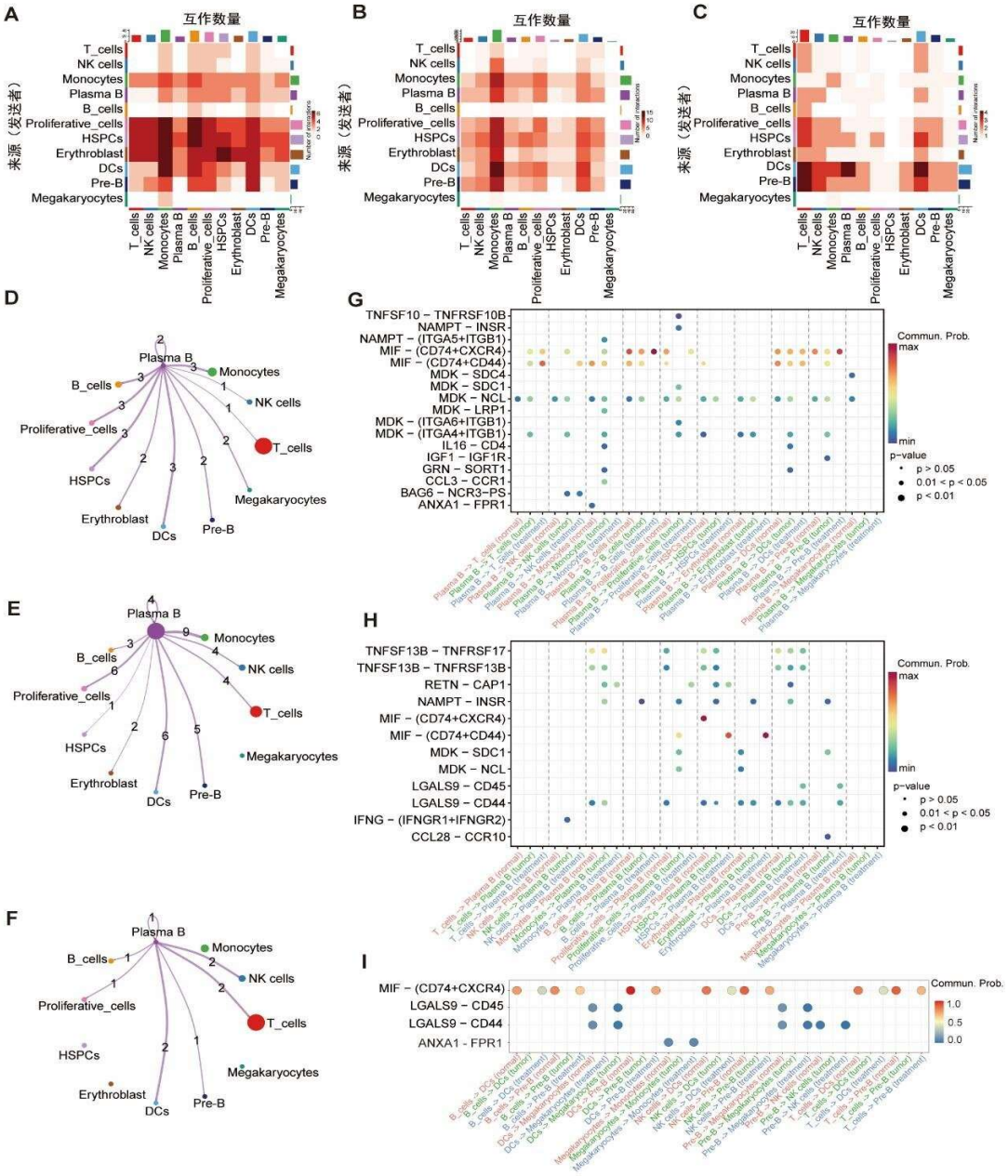


图 5　通过 auto-HSCT 治疗手段识别免疫微环境中细胞间的相互作用。A：该热图展示了 HD（正常）组中各类细胞之间的通信次数；B：该热图展示了 MM（肿瘤）组中各类细胞之间的通信次数；C：该热图展示了 auto-HSCT（治疗）组中各类细胞之间的通信次数；D：该环形图展示了正常组中浆细胞与其他细胞之间的相互作用；E：该环形图展示了肿瘤组中浆细胞与其他细胞之间的相互作用；F：该环形图展示了治疗组中浆细胞与其他细胞之间的相互作用；G：该气泡图展示了浆细胞作为发送者与其他细胞之间的相互作用；H：该气泡图展示了浆细胞作为接收者与其他细胞之间的相互作用；I：该气泡图展示了除浆细胞外其他细胞之间的配体-受体相互作用对。DCs：树突状细胞。

Figure 5　Identification of cellular interactions within the immune microenvironment by auto-HSCT therapy. A: The heatmap displays the number of communications between various types of cells in HD (for normal) group; B: The heatmap displays the number of communications between various types of cells in MM (for tumor) group; C: The heatmap displays the number of communications between various types of cells in auto-HSCT (for treatment) group; D: The chord diagram illustrates the interaction between plasma cells and other cells in HD group; E: The chord diagram illustrates the interaction between plasma cells and other cells in MM group; F: The chord diagram illustrates the interaction between plasma cells and other cells in auto-HSCT group; G: The bubble plot shows the interaction between plasma cells as the sender and other cells; H: The bubble plot shows the interaction between plasma cells as the receiver and other cells; I: The bubble plot shows the ligand-receptor pairs of interactions among other cells except plasma cells. DCs: dendritic cells.

3 讨论

随着新兴技术 scRNA-seq 的出现,我们能够清晰地描绘出 MM 内的异质性以及细胞生态系统。然而,关于接受高剂量美法仑治疗并进行auto-HSCT的 MM 患者骨髓中的 scRNA-seq 图谱尚未得到充分理解。借助 scRNA-seq 技术,本研究提供了骨髓微环境图谱,涵盖了正常、MM(肿瘤)以及高剂量美法仑治疗的阶段,重点关注免疫重建、造血重建以及细胞间通讯。主要发现以下因素:识别治疗诱导的克隆进化和耐药机制;从 HSCs 到浆细胞的完整 B 细胞谱系的表征;确定关键的恶性增殖亚群;分析复发/难治性 MM 中的微环境重编程[21-23]。此外,既往研究[24-25]报道硼替佐米治疗或 B 细胞成熟抗原(B cell mature antigen,BCMA)靶向嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T,CAR-T)细胞疗法后的肿瘤-免疫动态。然而,对于适合进行移植的 MM 而言,auto-HSCT 治疗后细胞的复杂组成及其伴随的分子变化仍不明确。我们研究的一个重要成果是对疾病及治疗状态下血浆 B 细胞的动态特征进行了分析。

我们的研究提供了免疫重建的全面视角,展示了前 B 细胞、B 细胞、单核细胞、T 细胞和 NK 细胞的恢复轨迹,但未包括树突状细胞,因为它们可能是疾病复发的潜在风险因素。MM 表现出这些亚群的显著减少和功能障碍,而 auto-HSCT 后的大剂量美法仑治疗则显示出部分转录组的恢复。与之前关于 auto-HSCT 后免疫重建延迟但渐进的报道[19,26]一致,我们的单细胞分辨率增加了前所未有的深度,揭示了细胞类型特异性的基因模块以及不同免疫部位的不同的重建动力学。

血管生成对于发育和组织修复至关重要,最近的研究[27-29]表明,包括 NK 细胞、B 细胞和单核细胞在内的各种免疫细胞也参与了血管生成。在我们的研究中,来自 HD 的 NK 细胞、T 细胞、B 细胞和单核细胞在血管生成途径中表现出富集,维持血管的完整性和微环境的支持。然而,在 MM 中这些免疫细胞表现出对 IFN-α/γ 信号通路的普遍激活,反映了肿瘤驱动的免疫应激。在治疗组观察到以下明显的细胞类型特异性通路激活现象,例如:NK 细胞上调 IL-6/JAK/STAT3 信号通路,这反映了再重建过程中的存活和增殖;T 细胞激活 PI3K/AKT 信号通路,该通路增强了存活、细胞周期进程、分化形态以及效应器和记忆的形成[30-32];B 细胞参与血红素代谢通路,表明了应激适应和免疫重建;单核细胞激活早期雌激素反应信号通路,暗示了激素调节的分化和功能。DEGs 分析显示,MM 的免疫细胞下调了参与核糖体功能(如 RPL/RPS 家族、EEF2)、线粒体代谢(如 NDUF 家族、UQCR11、UQCRQ)以及免疫调节(如 S100 家族、ENTPD1)的基因,而在 auto-HSCT后的高剂量美法仑治疗中,这些基因表达得以恢复或增加,反映了向代谢和免疫能力的重新编程。这表明 MM 微环境会抑制免疫细胞的代谢和功能,而 auto-HSCT则会重新调整免疫亚群,以恢复翻译能力、代谢功能和抗原呈递能力。

在 MM 微环境中,恶性浆细胞通过代谢重编程(如乳酸堆积、氨基酸竞争)塑造免疫抑制生态,阻碍 T 细胞、NK 细胞等效应免疫细胞的功能恢复[33]。近期研究[34-36]显示,MM 细胞高摄取谷氨酰胺等氨基酸,并分泌大量乳酸,抑制 $CD8^+$ T 细胞的代谢适应性与细胞毒性,同时促进 Tregs 及髓系抑制细胞扩增,进一步削弱免疫监视。auto-HSCT 后,尽管部分免疫细胞数量回升,但其代谢功能仍可能受残留肿瘤微环境的影响,导致重建效率受限。因此,靶向肿瘤代谢(如乳酸脱氢酶、氨基酸转运体)可能成为增强免疫重建、清除 MRD 并改善预后的新策略。

我们的发现也为 HSCs 的恢复提供了新的见解,这是骨髓功能恢复的关键组成部分。我们发现,在 MM 患者中,HSCs 数量显著减少,但通过治疗得以恢复。通路分析显示,移植后出现了与造血、细胞周期和细胞因子反应相关的基因的上调。这突显了 auto-HSCT 后高剂量化疗在清除肿瘤细胞以及恢复骨髓微环境和造血功能方面所发挥的双重作用——这是 MM 文献中尚未充分探讨的一个方面。先前的研究[37-39]表明,肿瘤相关应激会激活 HSPCs 中的

TNF-α/NF-κB 通路,影响其存活和功能。一致地,MM 来源的 HSPCs 也表现出 TNF-α/NF-κB 相关基因的上调,而这种通路在治疗中被抑制。这些发现表明,MM 的微环境会触发肿瘤 HSPCs 中由 TNF-α/NF-κB 介导的炎症重编程过程,而该疗法则通过抑制这一途径来恢复造血平衡。

本研究的一个独特创新之处在于利用配体-受体分析对细胞间通讯进行了系统性绘制,揭示了疾病和恢复状态下免疫微环境的显著重塑。在 MM 中,肿瘤特异性相互作用,例如 TNFSF10-TNFRSF10B 和 CCL3-CCR1。这表明恶性浆细胞营造了一个免疫抑制和促进增殖的微环境,可能支持肿瘤生长和免疫逃逸。移植后的样本显示出不同的相互作用,包括 LGALS9-CD45 和 LGALS9-CD44,反映了免疫通讯的部分恢复。由于 LGALS9-CD45 可以抑制 BCR 信号传导[40],其再次出现可能反映了对浆细胞活动的免疫调节的重新建立。残留的失调的浆细胞相关途径和不完全的免疫重建表明可能存在巩固或免疫调节疗法的窗口期。

作者贡献:王亚非和李倩提出并设计该项目,进行临床数据和样本分析,生成图表,并撰写手稿。李倩从患者处收集样本和信息,协助计算分析;林丽进行计算分析,生成大部分图表,并撰写手稿;高爽生成图表;陈琳、张志影、马静、刘素、李楠、曹增和赵海丰协助收集和处理样本;赵丽娜编辑手稿。

补充资料:本研究中所用的 scRNA-seq 数据可在基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus)中获取,其登录号为 GSE304661。本研究补充方法和图表见 https://publishmedia.cbpt.cnki.net/portal/minio/webs/zsyxyj/media/web/2026/02/13/2025.0004SupplementaryData.docx。

参考文献

1 Schwestermann J, Besse A, Driessen C, *et al*. Contribution of the tumor microenvironment to metabolic changes triggering resistance of multiple myeloma to proteasome inhibitors〔J〕. Front Oncol, 2022, 12: 899272. doi: 10.3389/fonc.2022.899272.

2 Ichii M. New insights into the bone marrow niche in multiple myeloma revealed by single-cell profiling technologies. Rinsho Ketsueki, 2022, 63(9): 1188-1195. doi: 10.11406/rinketsu.63.1188.

3 Fairfield H, Dudakovic A, Khatib CM, *et al*. Myeloma-modified adipocytes exhibit metabolic dysfunction and a senescence-associated secretory phenotype〔J〕. Cancer Res, 2021, 81(3): 634-647. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-1088.

4 Garbicz F, Kaszkowiak M, Dudkiewicz-Garbicz J, *et al*. Characterization and experimental use of multiple myeloma bone marrow endothelial cells and progenitors〔J〕. Int J Mol Sci, 2024, 25(22):12047. doi: 10.3390/ijms252212047.

5 Wang H, Zhang J, Ren H, *et al*. Lipid metabolism in multiple myeloma: pathogenesis, therapeutic opportunities, and future directions〔J〕. Front Oncol, 2025, 15: 1531928. doi: 10.3389/fonc.2025.1531928.

6 Watanabe T. Realization of osteolysis, angiogenesis, immunosuppression, and drug resistance by extracellular vesicles: roles of RNAs and proteins in their cargoes and of ectonucleotidases of the immunosuppressive adenosinergic noncanonical pathway in the bone marrow niche of multiple myeloma〔J〕. Cancers (Basel), 2021, 13(12): 2969. doi: 10.3390/cancers13122969.

7 Zhang P, Li X, Pan C, *et al*. Single-cell RNA sequencing to track novel perspectives in HSC heterogeneity〔J〕. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 39. doi: 10.1186/s13287-022-02718-1.

8 Yang F, Nourse C, Helgason GV, *et al*. Unraveling heterogeneity in the aging hematopoietic stem cell compartment: an insight from single-cell approaches〔J〕. HemaSphere, 2023, 7(6): e895. doi:10.1097/HS9.0000000000000895.

9 Ju FE, Huang BH, Wu H, *et al*. Integrative analysis of bulk and single-cell gene expression profiles to identify bone marrow mesenchymal cell heterogeneity and prognostic significance in multiple myeloma〔J〕. J Transl Med, 2025, 23(1): 659. doi: 10.1186/s12967-025-06637-6.

10 Haabeth OAW, Hennig K, Fauskanger M, *et al*. $CD4^+$ T-cell killing of multiple myeloma cells is mediated by resident bone marrow macrophages〔J〕. Blood Adv, 2020, 4(12):2595-2605. doi:10.1182/bloodadvances.2020001434.

11 Dahlhoff J, Manz H, Steinfatt T, *et al*. Transient regulatory T-cell targeting triggers immune control of multiple myeloma and prevents disease progression〔J〕. Leukemia, 2022,

36(3): 790-800. doi: 10.1038/s41375-021-01422-y.

12 Batorov E, Tyrinova T, Aristova T, *et al*. Associations between myeloid-derived suppressor cells, TIM-3$^+$ T cells, and clinical factors during the post-transplant neutropenia period in patients with multiple myeloma[J]. Cureus, 2025, 17(6): e86641. doi: 10.7759/cureus.86641.

13 Yao L, Jayasinghe RG, Lee BH, *et al*. Comprehensive characterization of the multiple myeloma immune microenvironment using integrated scRNA-seq, CyTOF, and CITE-seq analysis[J]. Cancer Res Commun, 2022, 2(10): 1255-1265. doi: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0022.

14 Zhou J, Chng WJ. Unveiling novel insights in acute myeloid leukemia through single-cell RNA sequencing[J]. Front Oncol, 2024, 14: 1365330. doi: 10.3389/fonc.2024.1365330.

15 Wang Z, Miao Y, Li H, *et al*. HemaScope: a tool for analyzing single-cell and spatial transcriptomics data of hematopoietic cells[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2025, 23(2): qzaf002. doi: 10.1093/gpbjnl/qzaf002.

16 Zhao Z, Zhao Z, Lin Z, *et al*. Decoding multiple myeloma: single-cell insights into tumor heterogeneity, immune dynamics, and disease progression[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1584350. doi: 10.3389/fimmu.2025.1584350.

17 John L, Poos AM, Brobeil A, *et al*. Resolving the spatial architecture of myeloma and its microenvironment at the single-cell level[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 5011. doi: 10.1038/s41467-023-40584-4.

18 Li YR, Zhou Y, Yu J, *et al*. Generation of allogeneic CAR-NK T cells from hematopoietic stem and progenitor cells using a clinically guided culture method[J]. Nat Biotechnol, 2025, 43(3): 329-344. doi: 10.1038/s41587-024-02226-y.

19 Elfeky R, Lazareva A, Qasim W, *et al*. Immune reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation using different stem cell sources[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2019, 15(7): 735-751. doi: 10.1080/1744666X.2019.1612746.

20 Su M, Pan T, Chen QZ, *et al*. Data analysis guidelines for single-cell RNA-seq in biomedical studies and clinical applications[J]. Mil Med Res, 2022, 9(1): 68. doi: 10.1186/s40779-022-00434-8.

21 Cui J, Li X, Deng S, *et al*. Identification of therapy-induced clonal evolution and resistance pathways in minimal residual clones in multiple myeloma through single-cell sequencing[J]. Clin Cancer Res, 2024, 30(17): 3919-3936. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-24-0545.

22 Wang Y, Peng Y, Yang C, *et al*. Single-cell sequencing analysis of multiple myeloma heterogeneity and identification of new theranostic targets[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(9): 672. doi: 10.1038/s41419-024-07027-4.

23 Tirier SM, Mallm JP, Steiger S, *et al*. Subclone-specific microenvironmental impact and drug response in refractory multiple myeloma revealed by single-cell transcriptomics[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6960. doi: 10.1038/s41467-021-26951-z.

24 Jung SH, Park SS, Lim JY, *et al*. Single-cell analysis of multiple myelomas refines the molecular features of bortezomib treatment responsiveness[J]. Exp Mol Med, 2022, 54(11): 1967-1978. doi: 10.1038/s12276-022-00884-z.

25 Yang Y, Qin S, Yang M, *et al*. Reconstitution of the multiple myeloma microenvironment following lymphodepletion with BCMA CAR-T therapy[J]. Clin Cancer Res, 2024, 30(18): 4201-4214. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-24-0352.

26 Steingrimsdottir H, Gruber A, Bjorkholm M, *et al*. Immune reconstitution after autologous hematopoietic stem cell transplantation in relation to underlying disease, type of high-dose therapy and infectious complications[J]. Haematologica, 2000, 85(8): 832-838.

27 Van De Veen W, Globinska A, Jansen K, *et al*. A novel proangiogenic B cell subset is increased in cancer and chronic inflammation[J]. Sci Adv, 2020, 6(20): eaaz3559. doi: 10.1126/sciadv.aaz3559.

28 Radomska-Lesniewska DM, Bialoszewska A, Kaminski P. Angiogenic properties of NK cells in cancer and other angiogenesis-dependent diseases[J]. Cells, 2021, 10(7): 1621. doi: 10.3390/cells10071621.

29 Medrano-Bosch M, Simón-Codina B, Jiménez W, *et al*. Monocyte-endothelial cell interactions in vascular and tissue remodeling[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1196033. doi: 10.3389/fimmu.2023.1196033.

30 Wohlfert EA, Clark RB. ´Vive la Résistance!´--the

PI3K-Akt pathway can determine target sensitivity to regulatory T cell suppression[J]. Trends Immunol, 2007, 28(4): 154-160. doi: 10.1016/j.it.2007.02.003.

31 Araki K, Youngblood B, Ahmed R. The role of mTOR in memory CD8 T-cell differentiation[J]. Immunol Rev, 2010, 235(1): 234-243. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00898.x.

32 Hwang JR, Byeon Y, Kim D, *et al*. Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development[J]. Exp Mol Med, 2020, 52(5): 750-761. doi: 10.1038/s12276-020-0435-8.

33 Leone RD, Powell JD. Metabolism of immune cells in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2020, 20(9): 516-531. doi: 10.1038/s41568-020-0273-y.

34 Wu S, Kuang H, Ke J, *et al*. Metabolic reprogramming induces immune cell dysfunction in the tumor microenvironment of multiple myeloma[J]. Front Oncol, 2020, 10: 591342. doi: 10.3389/fonc.2020.591342.

35 Nabe S, Yamada T, Suzuki J, *et al*. Reinforce the antitumor activity of CD8(+) T cells via glutamine restriction[J]. Cancer Sci, 2018, 109(12): 3737-3750. doi: 10.1111/cas.13827.

36 Feng B, Bai Z, Zhou X, *et al*. The type 2 cytokine Fc-IL-4 revitalizes exhausted CD8(+) T cells against cancer[J]. Nature, 2024, 634(8034): 712-720. doi: 10.1038/s41586-024-07962-4.

37 Barisas DAG, Kabir AU, Wu J, *et al*. Tumor-derived interleukin-1α and leukemia inhibitory factor promote extramedullary hematopoiesis[J]. PLoS Biol, 2023, 21(5): e3001746. doi: 10.1371/journal.pbio.3001746.

38 Bloom M, Oak N, Baskin-Doerfler R, *et al*. ETV6 represses inflammatory response genes and regulates HSPC function during stress hematopoiesis in mice[J]. Blood Adv, 2023, 7(18): 5608-5623. doi: 10.1182/bloodadvances.2022009313.

39 Talkhoncheh MS, Subramaniam A, Magnusson M, *et al*. Transient inhibition of NF-κB signaling enhances *ex vivo* propagation of human hematopoietic stem cells[J]. Haematologica, 2018, 103(9): 1444-1450. doi: 10.3324/haematol.2018.188466.

40 Giovannone N, Liang J, Antonopoulos A, *et al*. Galectin-9 suppresses B cell receptor signaling and is regulated by I-branching of N-glycans[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 3287. doi: 10.1038/s41467-018-05770-9.

（责任编辑：张跃）