

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.10.006

基因 DCAF8 在多发性骨髓瘤中的临床意义

孙浩,王可飞,方腾,郝牧(北京协和医学院暨中国医学科学院血液病医院/中国医学科学院血液学研究所 实验血液学国家重点实验室 国家血液系统疾病临床医学研究中心,天津 300020)

[摘要] **目的:**寻找多发性骨髓瘤(MM)基因芯片数据集中的潜在致病基因、疾病诊断和预后相关因子并阐明其作用机制。**方法:**获取基因芯片数据集 GSE13591 和 Zhan Myeloma,使用 R 语言进行基因差异表达分析。对共同高表达基因进行 Meta 分析,得到 *P* 值中位秩次 TOP10 基因。CCLE 数据库分析 TOP10 基因在各种肿瘤细胞系中的 mRNA 表达情况,筛选出蛋白酶体通路相关基因 8(DCAF8)。cBioPortal 数据库中分析 DCAF8 基因在各种肿瘤细胞系的突变率。WB 检测 DCAF8 蛋白在骨髓瘤细胞系中的表达情况。SPSS 和 Graph Pad 软件分析 DCAF8 表达量和 MM 患者临床特征之间的相关性,进行受试者工作特征曲线(ROC 曲线)绘制和生存分析。R 语言 Custer Profiler Package 和 Metascape 数据库对 DCAF8 互作蛋白基因和共表达基因进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。**结果:**数据集 GSE13591 和 Zhan Myeloma 的上调基因取交集得到 477 个共同高表达基因。在合并数据集中对上述基因进行 Meta 分析,得到 *P* 值中位秩次 TOP10 基因,DCAF8 在 MM 细胞系中的平均表达水平最高。DCAF8 基因在浆细胞骨髓瘤中的突变率位于各种肿瘤细胞系的第一位。DCAF8 蛋白在多种 MM 细胞系中的表达量显著升高($P<0.01$)。DCAF8 表达量与 MM 患者的肿瘤负荷显著正相关,1q21 扩增阳性组的 DCAF8 的表达量显著高于 1q21 阴性组。ROC 曲线显示 DCAF8 的表达水平可以很好地区分 MM 患者和正常人($P<0.01$)。DCAF8 高表达组比 DCAF8 低表达组中位生存时间显著缩短。蛋白互作网络显示 DCAF8 可与 XPO1 蛋白直接相互作用。GO 和 KEGG 功能富集分析结果表明,DCAF8 与蛋白酶体功能、剪切体活性、组蛋白乙酰化酶活性、RNA 转运等功能相关。**结论:**DCAF8 在 MM 中显著高表达,其表达水平可以很好地区分 MM 患者和正常人;其高表达与 MM 患者的生存预后显著负相关,且与 1q21 扩增和 XPO1 蛋白相关。

[关键词] 多发性骨髓瘤;蛋白酶体通路相关基因 8;泛素-蛋白酶体通路;XPO1 蛋白

[中图分类号] R730.54;R733.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2021)10-0990-08

Expression and clinical significance of DCAF8 gene in multiple myeloma

SUN Hao, WANG Kefei, FANG Teng, HAO Mu (Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To search for potential pathogenic genes, disease diagnosis and prognosis related factors in multiple myeloma (MM) microarray datasets and clarify their mechanism. **Methods:** GSE13591 and Zhan Myeloma datasets were obtained, and the gene differential expression was analyzed by R language. Meta-analysis was performed based on merged datasets, and the TOP10 genes in median rank of *P*-value were screened. The mRNA expression of TOP10 genes in tumor cell lines were analyzed using CCLE database, and proteasome pathway related gene 8 (DCAF8) was screened. The mutation frequency of DCAF8 gene in each tumor cell lines was analyzed in cBioPortal database. Furthermore, the expression of DCAF8 protein in MM cell lines were detected by using WB. SPSS and Graph Pad software were employed to analyze the correlation between DCAF8 expression and clinical characteristics of MM patients. In addition, the receiver operating characteristic curve (ROC curve) and survival analysis were conducted according to the expression level of DCAF8. Finally, R clusterProfiler package and Metascape database were used to perform GO and KEGG functional enrichment analyses of DCAF8 interacting protein gene and co-expressed genes. **Results:** A total of 477 high expression genes were obtained from the intersection of the up-regulated genes of GSE13591 and Zhan Myeloma datasets. Meta-analysis of the above genes in

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82170194;81570181;81920108006),中国医学科学院中央级公益性科研院所科研项目(2018PT31006;2018RC320012)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82170194, No. 81570181, No. 81920108006), the Non-profit Central Research Institute Fund of the Chinese Academy of Medical Sciences (No. 2018PT31006, 2018RC320012)

[作者简介] 孙浩(1997—),男,硕士生,主要从事高危多发性骨髓瘤耐药机制方面的研究,E-mail:sunhao@ihcams.ac.cn

[通信作者] 郝牧(HAO Mu, corresponding author),博士,研究员,博士生导师,主要从事多发性骨髓瘤等浆细胞肿瘤分子发病机制方面的研究,E-mail:haomu@ihcams.ac.cn

the merged dataset was performed, the TOP10 genes in median *P*-value rank were HGF, AKAP1, TCTA, NEB, DCAF8, COPS6, MAP3K5, PON2, BAG1 and CD59. The analysis of CCLE database showed that the average expression level of DCAF8 was the highest in MM cell lines. The mutation frequency of DCAF8 gene in plasma cell myeloma ranked first among all tumor cell lines in cBioPortal database. The result of WB showed that the level of DCAF8 protein was increased significantly in a variety of MM cell lines compared with 293T control. The results showed that the expression of DCAF8 was positively correlated with the tumor load of MM patients, and the expression of DCAF8 in positive group of 1q21 amplification was significantly higher than that in negative group. The results of ROC curve based on GSE13591 and GSE16558 manifested that the expression level of DCAF8 had a good diagnostic value for MM ($P < 0.01$). The survival analysis related to DCAF8 expression was conducted using the GSE2658, GSE4452 and GSE9782 datasets, and it showed that the level of DCAF8 expression was negatively correlated with the overall survival (OS) rate of MM patients. Protein interaction network showed that DCAF8 could interact with XPO1 protein directly. The GO and KEGG functional enrichment analysis showed that DCAF8 was related to proteasome function, spliceosome activity, histone acetylase activity, RNA transport, etc. **Conclusion:** DCAF8 is highly expressed in MM significantly, and its expression level can distinguish MM patients from normal people. Its expression is negatively correlated with the overall survival time of MM patients. Remarkably, DCAF8 is related to 1q21 amplification and could interact with XPO1 protein directly. Therefore, DCAF8 maybe a new biomarker of MM.

[Key words] multiple myeloma (MM); proteasome pathway related gene 8(DCAF8); ubiquitin-proteasome pathway; XPO1 protein

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(10): 990-997. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.10.006]

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性浆细胞肿瘤,中位发病年龄约为65岁^[1],是仅次于非霍奇金淋巴瘤的血液系统第二大恶性肿瘤^[2]。MM发病机制复杂,肿瘤细胞的遗传异质性较高,遗传学不稳定性是其主要特征^[3]。近年来,随着蛋白酶体抑制剂、免疫调节剂和单克隆抗体等新药的应用,MM患者的治疗反应和生存时间有了明显的改善和延长^[4]。但是,MM目前仍然无法治愈,复发耐药是其临床治疗面临的主要挑战^[5]。多数患者在疾病后期会出现蛋白酶体抑制剂硼替佐米等药物耐药^[6],因此,筛选出MM肿瘤细胞与正常浆细胞之间的差异表达基因,深入分析蛋白酶体通路相关基因,明确这些基因对于MM患者诊断和生存预后评估的价值,阐明MM发生发展和耐药的分子机制等,都有利于为临床精准诊疗以及克服MM患者的耐药性提供新的靶点信息。本文首次阐明蛋白酶体通路相关基因DNA损伤结合蛋白1与cullin4A相关因子8[DNA damage-binding protein 1 (DDB1) and cullin 4A (CUL4) associated factor 8, DCAF8]在MM中的表达情况及临床意义,发现DCAF8可作为MM诊断和预后评估的新型标志物,且有望成为MM的精准诊疗靶点。

1 材料与方法

1.1 基因芯片数据的获取和差异表达分析

在 Oncomine 数据库 (<https://www.oncomine.org/>)^[7-8] 中检索得到含“Multiple Myeloma vs Normal”的mRNA数据集。下载两个源数据集,使用R软件4.0.2独立样本 t 检验方法进行MM vs Normal两组的差异表达分析,以 $P < 0.01$ 且 $|\log FC| \geq 1$ 筛选差异基因,并利用pheatmap package绘制差异基因热

图。绘制Venn图,得到两数据集的共同高表达基因。

1.2 数据集合并,对共同高表达基因进行Meta分析

将上述两个数据集合并,利用combat package去除批次效应,对上述477个基因进行荟萃分析,得到 P 值中位秩次排序TOP10基因。

1.3 查询TOP10基因在各肿瘤细胞系中的mRNA表达情况

登录CCLE数据库(<https://portals.broadinstitute.org/ccle/about>)^[9],在其中检索得到TOP10基因在各肿瘤细胞系中的mRNA表达情况。

1.4 分析DCAF8基因在各肿瘤细胞系中的突变情况

登录cBioPortal数据库(<http://cbioportal.org>),使用数据集Cancer Cell Line Encyclopedia (Broad, 2019),分析DCAF8基因在多种肿瘤细胞系中的突变情况。

1.5 WB检测DCAF8蛋白在骨髓瘤细胞系中的表达

用RIPA裂解液裂解细胞,提取上清液。采用BCA法测量蛋白浓度后取等量蛋白质样品(20 μ g/孔),常规4%~20% SDS-PAGE,湿转膜仪转移到0.45 μ m PVDF,5%脱脂奶粉封闭,加入一抗(1:1 000)于4 $^{\circ}$ C下孵育过夜,PBST清洗,二抗(1:5 000)室温孵育1 h,Millipore显色,暗室洗片^[10]。

1.6 分析DCAF8与MM临床特征之间的相关性

在GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中检索得到含有MM患者性别、年龄、ISS和R-ISS分期、血清化验检查结果、骨髓单克隆浆细胞比例、1q21扩增情况等多种临床特征信息的两个数据集GSE136324^[11]和GSE2658^[12]。在其中筛选出DCAF8的表达数据和相对应的患者临床特征信息,利用SPSS、Graph Pad软件分析DCAF8表达量与患

者临床特征间的相关性。

1.7 绘制 ROC 曲线

在 GEO 数据库中检索得到含有 MM 患者和正常人临床信息的两个数据集 GSE13591^[13] 和 GSE16558^[14]。在其中筛选出 DCAF8 的表达数据和相对应的临床诊断信息, 利用 Graph Pad 软件绘制 ROC 曲线。

1.8 生存分析

在 GEO 数据库检索得到含 MM 患者生存信息的数据集, GSE2658^[12]、GSE4452^[15] 和 GSE9782^[16]。提取 DCAF8 的表达数据和患者的生存预后信息, 利用 Graph Pad 软件的 Log Rank 检验比较两组 MM 患者的总体生存率。

1.9 GO 和 KEGG 功能富集分析

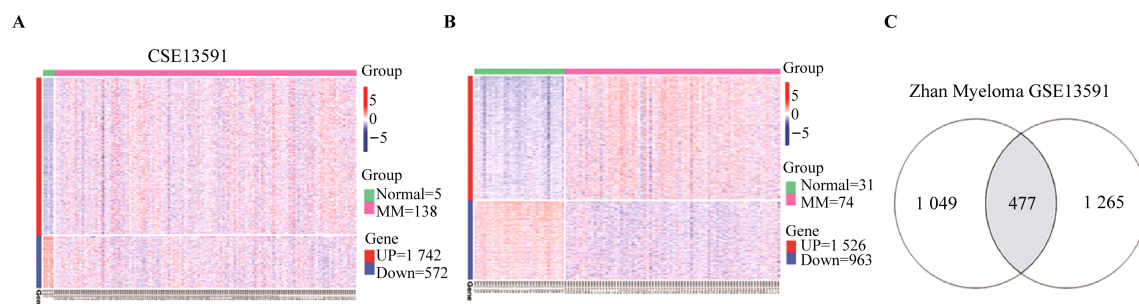
使用 STRING 数据库得到经实验验证的与 DCAF8 相互作用的 TOP40 蛋白, 构建 PPI 网络。使用 R 语言的 Oncomine Package 提取 DCAF8 的共表达基因, 筛选相关性 >0.5 的 135 个基因, 再与上述 TOP40 蛋白基因合并, 用 R 语言的 clusterProfiler

Package 和 Metascape 数据库进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。

2 结果

2.1 基因芯片数据的差异表达分析

Oncomine 数据库中有 2 个包含“Multiple Myeloma vs Normal”的 mRNA 数据集, GSE13591^[13] 和 Zhan Myeloma^[17]。其中: GSE13591 纳入 133 例 MM 患者, 5 例正常人; Zhan Myeloma 纳入 74 例 MM 患者, 31 例正常人。样本均为通过抗 CD138 磁珠对单核细胞富集得到的骨髓浆细胞。数据取 log₂ 标准化后满足正态分布, 使用 R-4.0.2 软件对 GSE13591 和 Zhan Myeloma 进行 MM vs Normal 两组独立样本 *t* 检验, 并用 pheatmap package 绘制差异基因热图, 如图 1 A 和 B。GSE13591 数据集上调 1 742 个基因, 下调 572 个基因; Zhan Myeloma 上调 1 526 个基因, 下调 963 个基因。将两数据集的上调基因绘制 Venn 图, 得到共同高表达基因 477 个(图 1)。



A: Heatmap of differential genes in GSE13591; B: Heatmap of differential genes in Zhan Myeloma;

C: Venn map of common up-regulated genes in GSE13591 and Zhan Myeloma datasets

图1 多发性骨髓瘤患者与正常人的差异基因

Fig.1 Differential genes between MM patients and normal people

2.2 合并数据集荟萃分析共同高表达基因

将两个数据集的共同高表达基因按照差异 *P* 值由小到大排序, 计算的中位秩次 Median Rank 为两数据集 *P* 值秩次的中位数。将 GSE13591 和 Zhan Myeloma 数据集合并, 利用 R 语言的 combat package 去除批次效应。使用合并数据集对上述共同高表达基因进行荟萃分析, 方法为数据取 log₂ 标准化后, 进行 MM vs Normal 两组独立样本 *t* 检验, 得到 *P* 值。筛选中位秩次 TOP10 的基因(表 1)。

2.3 TOP10 基因在各种类型肿瘤细胞系中的 mRNA 表达情况

CCLE 数据库收集多种肿瘤细胞系的 mRNA 转录组的芯片数据和二代测序数据。在 CCLE 数据库中检索 TOP10 基因在各种常见类型肿瘤细胞系中的 mRNA 表达情况。在 38 个肿瘤细胞系芯片数据显

表1 荟萃分析得到的中位秩次 TOP10 基因

Tab.1 TOP10 genes of median rank in Meta-analysis

Overall rank	Gene	<i>P</i>	Median rank
1	HGF	1.33×10^{-19}	11.5
2	AKAP1	3.31×10^{-10}	24.0
3	TCTA	1.62×10^{-9}	25.0
4	NEB	4.92×10^{-8}	50.0
5	DCAF8	3.28×10^{-7}	63.0
6	COPS6	5.96×10^{-10}	72.0
7	MAP3K5	8.79×10^{-8}	83.5
8	PON2	6.38×10^{-7}	83.5
9	BAG1	2.75×10^{-6}	115.0
10	CD59	4.07×10^{-8}	115.5

示, TOP10 基因中只有 DCAF8 在血液肿瘤中表达量位于前列(包括多种淋巴瘤、AML 等), 且在 MM 中表

达量为第一位(图2)。该结果进一步证明了DCAF8在MM中异常高表达。

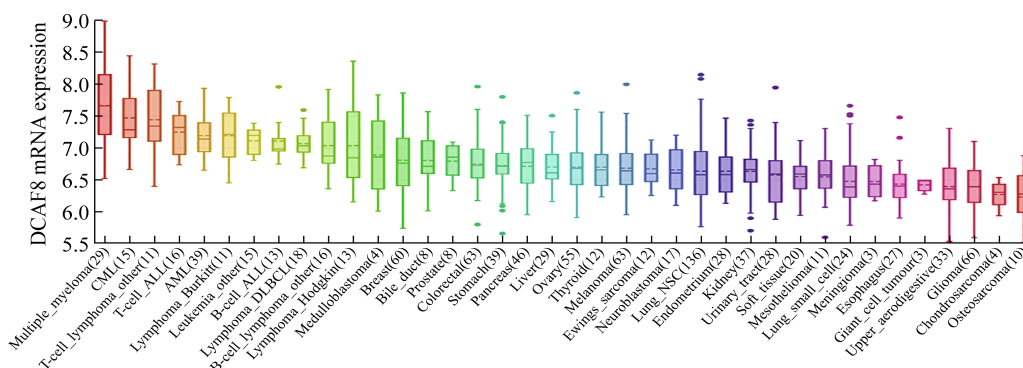


图2 DCAF8 mRNA在38个肿瘤细胞系中的平均表达水平
Fig.2 Average expression level of DCAF8 mRNA in 38 tumor cell lines

2.4 DCAF8基因在各种肿瘤细胞系中的突变情况

采用 cBioPortal 数据库,使用数据集 Cancer Cell Line Encyclopedia (Broad, 2019),分析 DCAF8 基因在各种肿瘤细胞系中的突变情况。结果显示, DCAF8 基因在多种肿瘤细胞系中均出现突变,在多

种血液肿瘤中的突变率位于前列(包括骨髓瘤、多种淋巴瘤等),而且在浆细胞骨髓瘤中的突变率为第一位(图3)。该结果提示 DCAF8 在血液肿瘤尤其是浆细胞骨髓瘤的发生发展中可能具有重要意义。

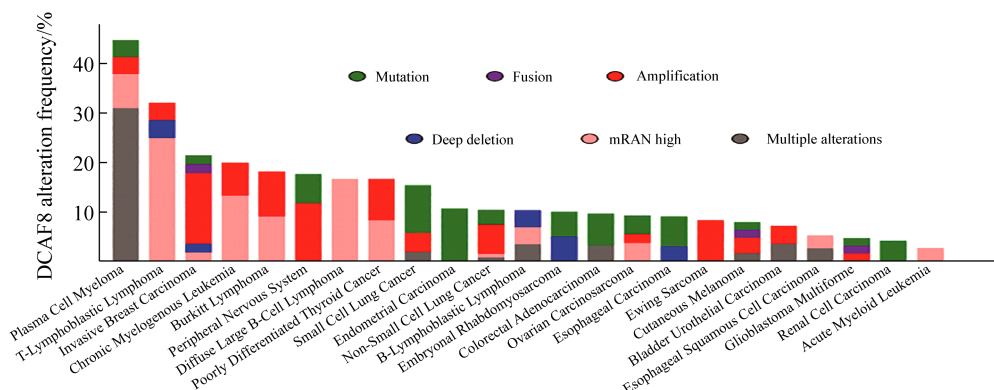


图3 DCAF8 基因在23个肿瘤细胞系中的突变情况
Fig.3 Mutations of DCAF8 gene in 23 tumor cell lines

2.5 DCAF8蛋白在MM细胞系中的表达情况

蛋白印迹检测 DCAF8 蛋白表达量,结果如图 4 所示。在骨髓瘤细胞系 RPMI-8226、8226 DOX、ARP1、ANBL6 BR、KMS11、H929 和 U266 细胞中均可见 DCAF8 蛋白的表达。与人胚肾细胞系 293T 对照比较,DCAF8 蛋白在 8226 DOX、ANBL6 BR、H929 和 U266 细胞系中的表达均有增加,尤其是在 H929 和 U266 细胞系中 DCAF8 蛋白的表达量显著升高。

2.6 DCAF8表达水平与MM患者临床特征之间的相关性分析

在 GEO 数据库中检索得到数据集 GSE136324^[11]和 GSE2658^[12]。GSE136324 纳入了 436 名初诊 MM 患者的基因表达信息以及患者性别、年龄、疾病 ISS 及 R-ISS 分期、血清白蛋白含量、 β_2 微

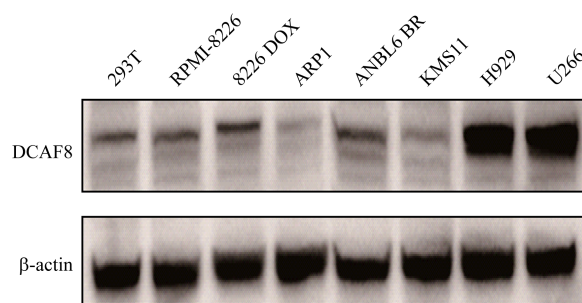
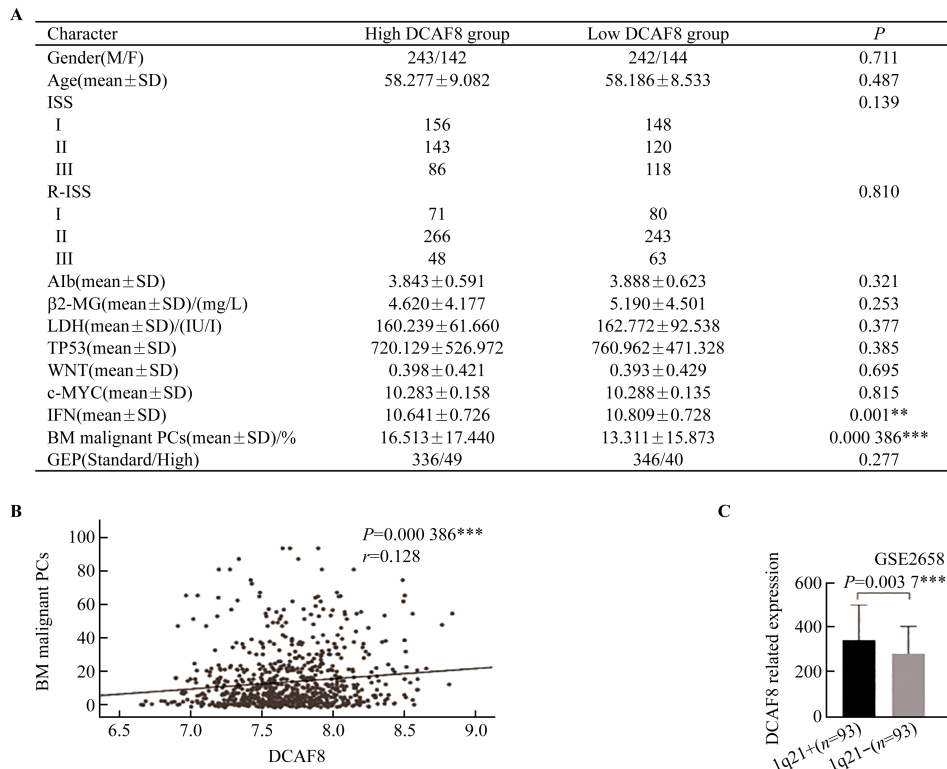


图4 DCAF8蛋白在各骨髓瘤细胞系中的表达情况
Fig.4 Expression of DCAF8 protein in a variety of MM cell lines

球蛋白含量、干扰素蛋白量等血清化验检查结果以及骨髓单克隆浆细胞比例等临床信息。根据DCAF8 mRNA表达量高低,将MM患者分为两组,

使用SPSS软件比较两组临床特征之间的差别。结果显示,DCAF8表达量与骨髓单克隆浆细胞比例显著正相关,即DCAF8高表达组的MM肿瘤负荷显著高于低表达组。骨髓单克隆浆细胞比例是多发性骨髓瘤的一个重要诊断依据,这提示DCAF8可能参与MM的发生及进展(图5A、B, $P<0.001$)。此外,DCAF8表达量与患者血清干扰素蛋白含量负相关, $P=0.001$ 。GSE2658数据集含有414例初诊MM患

者,其中含有1q21信息的有186例。将患者按照有无1q21扩增分为两组,用Graph Pad软件比较两组DCAF8表达水平的差别。结果显示,q21扩增阳性组的DCAF8的表达量显著高于1q21扩增阴性组(图5C, $P<0.001$)。2018年的一项基于1905例初诊MM患者的Meta分析指出1q21扩增是MM的高危因素^[18],因此,DCAF8高表达可能是1q21扩增阳性患者预后不良的原因之一。



A: The correlation between DCAF8 and the clinical characters of MM; B: The positive correlation between DCAF8;

C: Relative expression of DCAF8 in positive group and negative group of 1q21 amplification

图5 DCAF8与MM临床特征的相关性

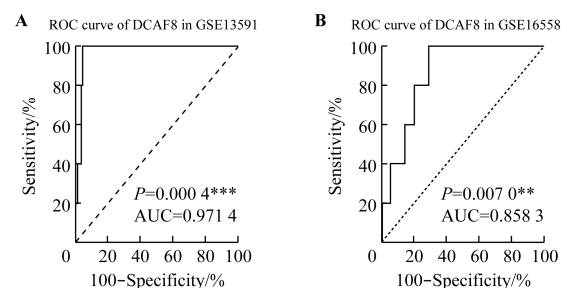
Fig.5 The correlation between DCAF8 and the clinical characteristics of MM

2.7 DCAF8 mRNA表达水平对于区分MM患者和正常人有很高的灵敏性和特异性

在GEO数据库中检索得到两个数据集GSE13591^[13]和GSE16558^[14],其中GSE13591中含有103例MM患者、15例正常人的数据,GSE16558中含有60例MM患者、5例正常人的数据。两数据集的样本均为使用抗CD138磁珠富集得到的骨髓浆细胞。根据DCAF8表达水平绘制ROC曲线(图6),ROC曲线下面积(AUC)均>0.85, $P<0.01$,说明DCAF8 mRNA表达水平对于区分MM患者和正常人有很高的灵敏性和特异性。

2.8 DCAF8高表达组比DCAF8低表达组中位生存时间显著缩短

在GEO数据库中检索得到3个含有MM患者生存数据的数据集。其中GSE2658^[12]数据集包含414



A: ROC curve of DCAF8 expression in GSE13591;

B: ROC curve of DCAF8 expression in GSE16558

图6 DCAF8表达量的ROC曲线

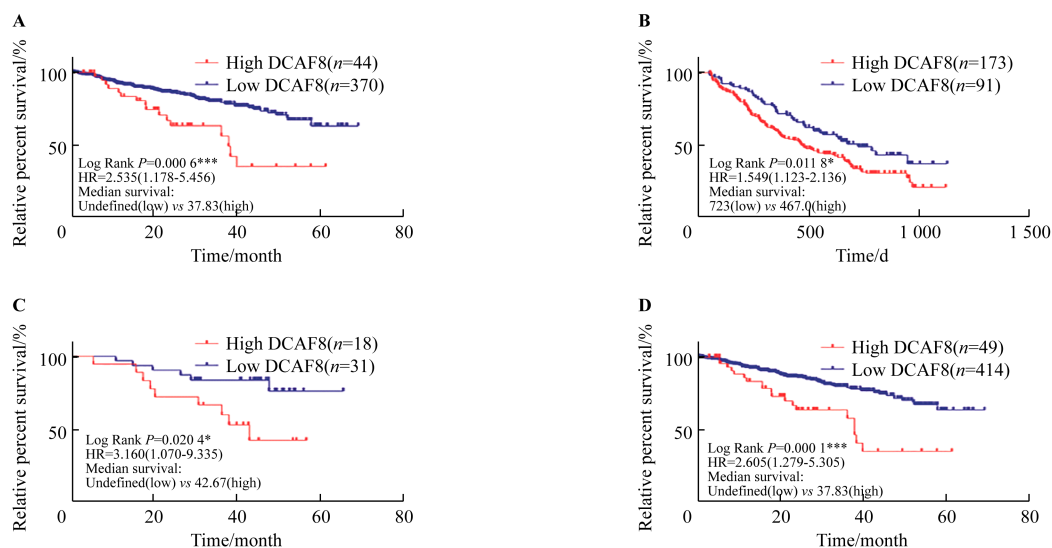
Fig.6 ROC curve with DCAF8 expression

例初诊MM患者的数据;GSE9782^[16]数据集纳入了264例MM患者的数据;GSE4452^[15]数据集含有65例MM患者的数据;3个数据集样本均为由骨髓穿刺标本富集得到的MM浆细胞。GSE2658和GSE4452数

据集均来源于 Affymetrix U133 Plus 2.0 微阵列平台。根据 DCAF8 表达量高低将患者分为两组, 使用 GraphPad 软件 Log Rank 检验比较两组 MM 患者的总体生存率(图 7)。

在 3 个 MM 数据集中, DCAF8 高表达组比 DCAF8 低表达组中位生存时间显著缩短($P < 0.05$, 图 7A、B、C), 其中: GSE2658 数据集, $P = 0.0006$, $HR = 2.535$ (1.178 – 5.456); GSE9782 ($n = 264$) 数据集,

$P = 0.0118$, $HR = 1.549$ (1.123 – 2.136), 高表达 DCAF8 组中位 OS 为 467 d, 低表达组中位 OS 为 723 d; GSE4452 ($n = 49$) 数据集, $P = 0.0204$, $HR = 3.160$ (1.070 – 9.335)。GSE2658 和 GSE4452 数据均来源于 Affymetrix U133 Plus 2.0 微阵列, 因此将 GSE4452 和 GSE2658 的样本数据整合, 进行生存分析得到的结果同样具有统计学差异(图 7D, $P = 0.0001$, $HR = 2.605$)。



A: GSE2658; B: GSE9782; C: GSE4452; D: Combination of GSE2658 and GSE4452

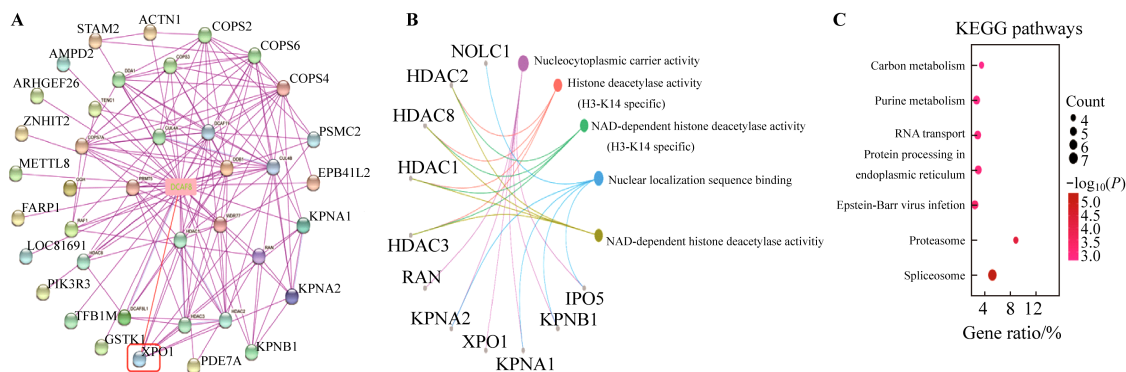
图 7 DCAF8 高表达组比 DCAF8 低表达组中位生存时间显著缩短

Fig.7 The median survival time of DCAF8 high expression group was significantly shorter than that of DCAF8 low expression group

2.9 功能富集分析结果

使用 STRING 数据库得到经实验验证的与 DCAF8 相互作用的 TOP40 蛋白, 构建 PPI 网络, 结果显示 DCAF8 可与 XPO1 蛋白直接相互作用(图 8A)。DCAF8 蛋白含有 WD40 结构域, 有文献^[19]报道核输出蛋白 XPO1 能够将 DCAF8 蛋白从胞核转运至胞质, 调节 DCAF8 蛋白的亚细胞定位, 提示 DCAF8 蛋白可能

与 XPO1 抑制剂 Selinexor 对 MM 患者的治疗作用有关。在 Oncomine 数据库中检索 MM 患者表达数据集中与 DCAF8 共表达的基因, 使用 R 语言的 Oncomine Package 提取提取共表达系数大于 0.5 的 135 个基因。将上述 TOP40 蛋白基因与共表达 135 个基因合并, 使用 R 语言 clusterProfiler Package 和 Metascape 数据库进行 GO 和 KEGG 功能富集分析(图 8B、C)。



A: PPI network of TOP40 proteins interacting with DCAF8; B: GO(MF) enrichment by using R clusterProfiler package;

C: KEGG enrichment by Metascape database

图 8 DCAF8 功能富集分析结果

Fig.8 Functional enrichment analysis of DCAF8

GO 富集结果显示,其主要涉及的分子功能(MF)包括组蛋白乙酰化酶 H3K14 的活性、组蛋白去乙酰化酶的活性、核质转运体的活性等。这与文献报道一致,即 DCAF8 能够促进组蛋白 H3 的泛素化,进而改变 H3K9 的甲基化水平^[20-21]。KEGG 富集分析结果显示,其与蛋白酶体功能、剪切体活性、RNA 转运、一碳单位的代谢、嘌呤代谢、EB 病毒感染等通路相关。

3 讨论

MM 是发病率位居第二位的血液系统恶性肿瘤^[2],由于其遗传异质性高以及骨髓瘤细胞与骨髓微环境之间的复杂相互作用等因素,MM 的发病机制仍未完全阐明。随着蛋白酶体抑制剂硼替佐米和免疫调节剂来那度胺的广泛使用,MM 的 5 年生存率显著提高^[4]。但目前 MM 仍不可治愈,复发耐药仍是其临床治疗的棘手问题^[5-6]。因此,寻找 MM 的潜在致病基因、疾病诊断和预后相关因子及耐药靶点,阐明其作用机制,可为临床应用提供有效的靶点信息。

DCAF8 基因,即 DDB1 和 Cul4 相关因子 8 基因,位于 1q23.2,包含 14 个外显子。其编码的蛋白参与构成 Cullin4(Cul4)E3 泛素连接酶(CRL4),在 CRL4 泛素化底物的过程中发挥重要作用,与多种蛋白质的泛素-蛋白酶体降解途径相关^[22-23]。DCAF8 蛋白含有 WD40 结构域,能够与 CRL4 的连接蛋白 DDB1 相互作用,可招募多种靶蛋白并对其进行泛素化修饰^[19]。DCAFs 不仅是 DDB1 募集底物的桥梁,而且对底物的募集具有一定的限制作用^[24]。

目前对 DCAF8 基因的研究及报道相对较少,检索 PubMed 中 DCAF8 相关的文献仅 48 篇,且主要集中在肌肉萎缩、巨轴索神经病等疾病^[25-26]。如有文献报道核输出蛋白 XPO1 能够将 DCAF8 蛋白从胞核转运至胞质,调节 DCAF8 蛋白的亚细胞定位^[19]。另外,有少量研究报道显示 DCAF 家族可能参与肿瘤的发生发展^[24,27],DCAF8 能够促进组蛋白 H3 的泛素化,进而改变 H3K9 的甲基化水平,该过程的紊乱可能对肝癌有一定的促进作用^[20-21]。目前没有文献报道 DCAF8 基因与血液系统肿瘤之间的相关性,本文率先报道 DCAF8 在 MM 细胞中高表达及其与 MM 患者临床特征间的相关性,并分析其表达水平对 MM 诊断和预后评估的价值,具有新颖性。

本研究挖掘 MM 基因芯片数据集信息,首次发现 DCAF8 基因在 MM 细胞中的表达水平显著高于正常人,并与 MM 患者的生存预后、肿瘤负荷、1q21 扩增等密切相关。DCAF8 高表达可能是 1q21 扩增阳性患者预后不良的原因之一。同时,WB 结果显示

DCAF8 蛋白在多种 MM 细胞系中表达升高,提示 DCAF8 在 MM 中的异常高表达可能对疾病发生发展发挥了一定作用。进一步分析显示,DCAF8 高表达是 MM 的不良预后因子,且对于区分患者和正常人有较高的灵敏性和特异性。对 DCAF8 的互作蛋白基因和共表达基因进行 GO 和 KEGG 功能富集分析结果显示,DCAF8 与蛋白酶体功能、剪切体活性、组蛋白乙酰化酶活性、RNA 转运等功能相关。值得注意的是,DCAF8 能够与 XPO1 蛋白直接相互作用,因此 DCAF8 蛋白可能与 XPO1 抑制剂 Selinexor 对 MM 患者的治疗作用有关。此外,DCAF8 参与蛋白酶体调节,提示 DCAF8 可能参与 MM 肿瘤细胞对蛋白酶体抑制剂的耐药。综上,本研究为寻找 MM 的潜在致病基因、疾病诊断和预后相关因子、耐药靶点提供了一定线索。

[参考文献]

- [1] KYLE R A, GERTZ M A, WITZIG T E, et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma[J]. Mayo Clin Proc, 2003, 78(1): 21-33. DOI:10.4065/78.1.21.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA: A Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.
- [3] RAJKUMAR S V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management [J]. Am J Hematol, 2020, 95(5): 548-567. DOI:10.1002/ajh.25791.
- [4] RIA R, VACCA A. Bone marrow stromal cells-induced drug resistance in multiple myeloma [J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 21(2): 613[2021-01-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7013615/>. DOI:10.3390/ijms21020613.
- [5] HAO M, ZHANG L, AN G, et al. Bone marrow stromal cells protect myeloma cells from bortezomib induced apoptosis by suppressing microRNA-15a expression[J]. Leuk Lymphoma, 2011, 52(9): 1787-1794. DOI:10.3109/10428194.2011.576791.
- [6] BUAC D, SHEN M, SCHMITT S, et al. From bortezomib to other inhibitors of the proteasome and beyond[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(22): 4025-4038. DOI:10.2174/1381612811319220012.
- [7] RHODES D R, KALYANA-SUNDARAM S, MAHAVISNO V, et al. Oncomine 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18, 000 cancer gene expression profiles[J]. Neoplasia, 2007, 9(2): 166-180. DOI:10.1593/neo.07112.
- [8] RHODES D R, YU J, SHANKER K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform [J]. Neoplasia, 2004, 6(1): 1-6. DOI: 10.1016/s1476-5586(04)80047-2.
- [9] GHANDI M, HUANG F W, JANÉ-VALBUENA J, et al. Next-generation characterization of the cancer cell line encyclopedia [J]. Nature, 2019, 569(7757): 503-508. DOI:10.1038/s41586-019-1186-3.
- [10] YU T, DU C, MA X, et al. Polycomb-like protein 3 induces proliferation and drug resistance in multiple myeloma and is regulated by miRNA-15a[J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(7): 1063-1073. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-19-0852.

- [11] DANZIGER S A, MCCONNELL M, GOCKLEY J, et al. Bone marrow microenvironments that contribute to patient outcomes in newly diagnosed multiple myeloma: A cohort study of patients in the total therapy clinical trials[J/OL]. *PLoS Med*, 2020, 17(11): e1003323[2021-01-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7641353/>. DOI:10.1371/journal.pmed.1003323.
- [12] ZHAN F, HUANG Y, COLLA S, et al. The molecular classification of multiple myeloma[J]. *Blood*, 2006, 108(6): 2020-2028. DOI:10.1182/blood-2005-11-013458
- [13] AGNELLI L, MOSCA L, FABRIS S, et al. A SNP microarray and FISH-based procedure to detect allelic imbalances in multiple myeloma: an integrated genomics approach reveals a wide gene dosage effect[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009, 48(7): 603-614. DOI:10.1002/gcc.20668.
- [14] GUTIÉRREZ N C, SARASQUETE M E, MISIEWICZ-KRZEMINSKA I, et al. Deregulation of microRNA expression in the different genetic subtypes of multiple myeloma and correlation with gene expression profiling[J]. *Leukemia*, 2010, 24(3): 629-637. DOI:10.1038/leu.2009.274.
- [15] CARRASCO D R, TONON G, HUANG Y, et al. High-resolution genomic profiles define distinct clinico-pathogenetic subgroups of multiple myeloma patients[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(4): 313-325. DOI:10.1016/j.ccr.2006.03.019.
- [16] MULLIGAN G, MITSIADES C, BRYANT B, et al. Gene expression profiling and correlation with outcome in clinical trials of the proteasome inhibitor bortezomib[J]. *Blood*, 2007, 109(8): 3177-3188. DOI:10.1182/blood-2006-09-044974.
- [17] ZHAN F, HARDIN J, KORDSMEIER B, et al. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells[J]. *Blood*, 2002, 99(5): 1745-1757. DOI: 10.1182/blood.v99.5.1745.
- [18] SHAH V, SHERBORNE A L, WALKER B A, et al. Prediction of outcome in newly diagnosed myeloma: a meta-analysis of the molecular profiles of 1905 trial patients[J]. *Leukemia*, 2018, 32(1): 102-110. DOI:10.1038/leu.2017.179.
- [19] WU F, WANG S, XING J, et al. Characterization of nuclear import and export signals determining the subcellular localization of WD repeat-containing protein 42A (WDR42A)[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(8): 1079-1085. DOI:10.1016/j.febslet.2012.02.053.
- [20] LI G, JI T, CHEN J, et al. CRL4(DCAF8) ubiquitin ligase targets histone H3K79 and promotes H3K9 methylation in the liver[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(6): 1499-1511. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.01.039.
- [21] HUANG D, LIU C, SUN X, et al. CRL4(DCAF8) and USP11 oppositely regulate the stability of myeloid leukemia factors (MLFs)[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 529(2): 127-132. DOI:10.1016/j.bbrc.2020.05.186.
- [22] ANGERS S, LI T, YI X, et al. Molecular architecture and assembly of the DDB1-CUL4A ubiquitin ligase machinery[J]. *Nature*, 2006, 443: 590-593. DOI:10.1038/nature05175.
- [23] JIN J, ARIAS E E, CHEN J, et al. A family of diverse Cul4-Ddb1-interacting proteins includes Cdt2, which is required for S phase destruction of the replication factor Cdt1[J]. *Mol Cell*, 2006, 23(5): 709-721. DOI:10.1016/j.molcel.2006.08.010.
- [24] ZHOU Z, SONG X, WAVELET C M, et al. Cullin 4-DCAF proteins in tumorigenesis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1217: 241-259. DOI:10.1007/978-981-15-1025-0_15.
- [25] NOWAK M, SUENKEL B, PORRAS P, et al. DCAF8, a novel MuRF1 interaction partner, promotes muscle atrophy[J/OL]. *J Cell Sci*, 2019, 132(17): jcs233395 [2021-01-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/443.webvpn.cams.cn/31391242/>. DOI: 10.1242/jcs.233395.
- [26] KLEIN C J, WU Y, VOGEL P, et al. Ubiquitin ligase defect by DCAF8 mutation causes HMSN2 with giant axons[J]. *Neurology*, 2014, 82(10): 873-878. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000206.
- [27] ZHANG C, CHEN B, JIANG K, et al. Activation of TNF- α /NF- κ B axis enhances CRL4B(DCAF)(11) E3 ligase activity and regulates cell cycle progression in human osteosarcoma cells[J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(4): 476-494. DOI:10.1002/1878-0261.12176.

[收稿日期] 2021-03-14

[修回日期] 2021-07-28

[本文编辑] 韩丹