

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2404153

论著·实验研究

结核杆菌抗原85B抑制自噬促进霍奇金淋巴瘤 细胞凋亡机制研究

程永凤¹ 沈亦平^{1,2} 王学梅¹ 李丹露¹ 樊春艳¹ 古丽巴哈·买买提¹ 严媚¹

(1.新疆医科大学第一附属医院儿科, 新疆乌鲁木齐 830054;

2.哈佛大学医学院波士顿儿童医院, 美国波士顿 02115)

[摘要] **目的** 探讨结核杆菌抗原85B (mycobacterial antigen 85B, Ag85B) 抑制自噬促进霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma, HL) 细胞凋亡及机制。**方法** 回顾性收集新疆医科大学第一附属医院收治的80例HL及同期30例淋巴结反应性增生患儿 (对照组) 临床资料及病理组织切片。采用免疫组化分析微管相关蛋白1轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)、自噬降解底物蛋白1 (sequestosome 1, P62/SQSTM1)、Beclin-1在HL及对照组患儿病理组织中的表达。将人霍奇金淋巴瘤细胞 (HDLM-2) 分为HDLM-2组、HDLM-2+结核杆菌抗原85B (mycobacterial antigen 85B, Ag85B) 组 (Ag85B分别为0.5、1、2、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。采用CCK8法检测HDLM-2细胞增殖; 实时荧光定量聚合酶链式反应法检测LC3、P62、Beclin-1、磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、蛋白激酶B (protein kinase B, Akt)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) mRNA的表达; 凋亡试剂盒检测细胞凋亡。**结果** HL组LC3、Beclin-1阳性表达高于对照组 ($P<0.05$), P62阳性表达低于对照组 ($P<0.05$); III~IV期较I~II期LC3、Beclin-1阳性表达增高, P62阳性表达降低 ($P<0.05$)。细胞实验结果显示, HDLM-2+Ag85B组与HDLM-2组比较, 细胞增殖受抑, LC3和Beclin-1的mRNA表达减低, P62、PI3K、Akt和mTOR的mRNA表达增高, 细胞凋亡增加, 且在Ag85B为2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, Ag85B干预HDLM-2细胞24 h作用最强, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 自噬在HL患儿中增强, 且随疾病的分期增加而增强; Ag85B可抑制HL肿瘤细胞增殖及自噬, 促进细胞凋亡, 其机制可能与促进PI3K/Akt/mTOR通路相关。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (11): 1218-1224]

[关键词] 霍奇金淋巴瘤; 结核杆菌抗原85B; 自噬; 凋亡; 人霍奇金淋巴瘤细胞

Mechanism by which mycobacterial antigen 85B inhibits autophagy and promotes apoptosis in Hodgkin lymphoma cells

CHENG Yong-Feng, SHEN Yi-Ping, WANG Xue-Mei, LI Dan-Lu, FAN Chun-Yan, MAIMAITI Gulibaha, YAN Mei. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Yan M, Email: 13669901666@163.com)

Abstract: Objective To investigate the mechanism by which mycobacterial antigen 85B (Ag85B) inhibits autophagy and promotes apoptosis in Hodgkin lymphoma (HL) cells. **Methods** The clinical data and pathological tissue slides were retrospectively collected from 80 HL children and 30 children with reactive lymphadenopathy (control group) treated at the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University. Immunohistochemical analysis was performed to assess the expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), sequestosome 1 (P62/SQSTM1), and Beclin-1 in the pathological tissues of HL and control groups. Human Hodgkin lymphoma cells (HDLM-2) were divided into the HDLM-2 group and the HDLM-2+Ag85B groups (with Ag85B concentrations of 0.5, 1, 2, and 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The

[收稿日期] 2024-04-28; [接受日期] 2024-09-05

[基金项目] 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年科学基金 (2022D01C739); 国家自然科学基金 (82160031); 国家自然科学基金 (82071276); “天山英才”医药卫生高层次人才培养计划领军人才 (TSYC202301A002)。

[作者简介] 程永凤, 女, 博士, 主治医师。

[通信作者] 严媚, 女, 教授, 主任医师。Email: 13669901666@163.com。

CCK8 method was used to measure HDLM-2 cell proliferation; qRT-PCR was employed to detect the expression of LC3, P62, Beclin-1, Akt, and mTOR mRNA in cells. An apoptosis kit was used to detect cell apoptosis. **Results** The positive expression of LC3 and Beclin-1 in the HL group were higher than those in the control group ($P<0.05$), while the positive expression of P62 was lower than that in the control group ($P<0.05$). In stages III-IV compared to stages I-II, the positive expression of LC3 and Beclin-1 increased, while the positive expression of P62 decreased ($P<0.05$). Cell experiment results showed that the HDLM-2+Ag85B group had suppressed cell proliferation compared to the HDLM-2 group, with decreased mRNA expression of LC3 and Beclin-1, and increased mRNA expression of P62, PI3K, Akt, and mTOR, leading to increased cell apoptosis. Notably, when Ag85B was at a concentration of 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, it had the strongest effect on HDLM-2 cells after 24 hours ($P<0.05$). **Conclusions** Autophagy is enhanced in children with HL and increases with disease stage. Ag85B can inhibit the proliferation and autophagy of HL tumor cells and promote apoptosis, possibly related to the activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(11): 1218-1224]

Key words: Hodgkin lymphoma; Mycobacterial antigen 85B; Autophagy; Apoptosis; Human Hodgkin lymphoma cell

霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma, HL) 是一种少见的累及淋巴结及淋巴系统的恶性肿瘤, 可分为结节性淋巴细胞为主型 HL 和经典型 HL (classic HL, cHL)。HL 起源于 B 细胞淋巴造血系统, 占有所有肿瘤的 1% 及所有淋巴瘤的 10%^[1-2]。在我国, HL 占全部淋巴瘤的 8.54%^[3], 新疆占比较全国稍高, 为 11%^[4]。随着放化疗、干细胞移植等治疗手段的进展, 大多数患者在化疗后可长期缓解, 但其中 20%~30% 的患者会复发, 10%~15% 的患者对初始治疗无效^[5-8]。目前研究发现, 自噬在 HL 细胞的生长、生存和持续的代谢中具有重要作用, 自噬是 HL 治疗新策略的有用靶点^[9]。

结核杆菌抗原 85B (mycobacterial antigen 85B, Ag85B) 是结核杆菌的主要分泌蛋白。有文献报道, Ag85B 在体内可抑制前列腺癌生长并改善肿瘤微环境, 增高血清 γ -干扰素和白介素-2 水平, 减低白介素-4 表达, 激活了 T 辅助细胞 1 免疫, 产生保护性免疫应答^[10]。此外, Ag85B 也可以抑制成纤维细胞的自噬^[11], 但其在 HL 中的作用尚不明确。本研究通过临床样本及体外实验, 检测自噬相关指标微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)、自噬降解底物蛋白 1 (sequestosome 1, P62/SQSTM1)、Beclin-1 的表达变化, 探讨 Ag85B 对 HL 的作用及可能机制, 为寻找改善 HL 疾病预后的诊治方案提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2014 年 12 月—2019 年 1 月于新疆医科大学第一附属医院首次确诊为 HL 的患儿, 依据指南^[12]对其进行诊断及分期, 所有患儿入组前均未进行化疗。收集患儿的性别、年龄、诊断、肿瘤分期

等, 收集患儿组织切片。同期病理明确诊断为淋巴结反应性增生患儿 30 例 (病理排除恶性疾病, 非急性感染期、无慢性疾病的患儿的颈部淋巴结活检样本), 收集临床资料及病理白片作为对照组。本研究经该院伦理委员会批准 (批号: K202307-21), 患儿监护人签署知情同意书。

1.2 材料

人霍奇金淋巴瘤细胞 HDLM-2 (深圳豪地华拓生物科技有限公司), 胎牛血清、DMEM (美国 Gibco 公司), 青霉素、链霉素、PE 偶联 Annexin-V 凋亡检测试剂盒 (美国 BD 公司)。结核 Ag85B (北京博奥森生物技术有限公司)。CCK-8 试剂盒 (广州晶平生物科技有限公司)。LC3、P62、Beclin-1 抗体、免疫组化试剂盒 (武汉三鹰生物技术有限公司)。实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (北京全式金生物技术有限公司)。辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔、羊抗鼠二抗 (美国 Abcam 公司)。

1.3 HL 病理组织免疫组化

组织样本均经过 10% 福尔马林固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 3 μm 厚连续切片, 脱蜡至水, 通过抗原修复、封闭后, 加入 LC3、P62、Beclin-1 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 二抗孵育后, DAB 显色、复染细胞核、脱水封片, 显微镜镜检, 图像采集分析。抗原在组织中表达, LC3、P62、Beclin-1 阳性产物均位于细胞浆, 少数定位于细胞核, 视野中出现粗细一致的棕黄色为阳性染色, 无棕黄色反应为阴性染色。随机选取 LC3、P62、Beclin-1 的 3 个视野采集图像, 采用 Image J 软件统计各样本不同视野棕色面积与视野总面积的比值, 以此为 LC3、P62、Beclin-1 蛋白阳性区域占比。

1.4 CCK8 法检测 HDLM-2 细胞增殖

HDLM-2 细胞用含 10% 胎牛血清、1% 青霉素链霉素双抗的 DMEM 培养基，37℃、CO₂ 培养箱培养。根据 Ag85B 浓度情况，将细胞分为 HDLM-2 组、HDLM-2+Ag85B 组（Ag85B 分别为 0.5、1、2、4 μg/mL），每组 3 个复孔。

CCK8 法检测 HDLM-2 细胞增殖。HDLM-2 细胞离心，1 000 r/min，5 min，重悬细胞，调整细胞数为 5 × 10⁵/mL。根据上述分组，将 5 组细胞接种至 96 孔板，每孔 100 μL 细胞悬液，每组 3 个复孔，37℃、CO₂ 培养箱培养。分别在细胞培养 0、12、24、48、72 h 时，每孔加入 10 μL CCK8 溶液，孵育 2 h，用酶标仪在波长 450 nm 下测定吸光度，绘制增殖抑制率曲线。

抑制率 = (Ac-As) / (Ac-Ab) × 100%。As：实验孔（含有 HDLM-2 的培养基、CCK8、Ag85B）吸光度；Ac：对照孔（含有 HDLM-2 的培养基、CCK8、无 Ag85B）吸光度；Ab：空白孔（不含细胞和 Ag85B 的培养基、CCK8）吸光度。

1.5 qRT-PCR 检测 Ag85B 干预 HDLM-2 后 LC3、P62、Beclin-1、PI3K、Akt、mTOR mRNA 的表达

基因引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物名称	引物序列
P62	5'-GGGGACTTGGTTGCCCTTTT-3'
	5'-CAGCCATCGCAG ATCACATT-3'
LC3	5'-GATGTCCGACTTATTCGAGAGC-3'
	5'-TTGAGCTGTAAGCGCCTTCTA-3'
Beclin-1	5'-GGCTGAGAGACTGGATCAGG-3'
	5'-CTGCCTCTGGCCATAACG-3'
PI3K	5'-CCACGACCATCATCAGGTGAA-3'
	5'-CCTCACGGAGGCATTCTAAAGT-3'
Akt	5'-ATTGTGAAGGAGGGTTGGCTG-3'
	5'-CCGCTCCTTGTAGCCAATGAA-3'
mTOR	5'-CTGGGGCTGCTTTCTGT-3'
	5'-ACGGTTTTCTGCCTCTTGT-3'
GAPDH	5'-ACCACAGTCATGCCATCAC-3'
	5'-TCCACCACCCTGTTCTCTGTA-3'

采用 qRT-PCR 检测各组 HDLM-2 细胞 LC3、P62、Beclin-1、磷脂酰肌醇 3-激酶（phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K）、蛋白激酶 B（protein kinase B, Akt）、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

（mammalian target of rapamycin, mTOR）mRNA 的表达。将 HDLM-2 离心重悬，调整细胞数为 1 × 10⁶/mL，接种于 6 孔板。根据 CCK8 检测结果，选取 HDLM-2 组、HDLM-2+Ag85B（2 μg/mL）组，干预时间为 24 h，作为处理条件，每组 3 个复孔。提取每组细胞总 RNA，逆转录反应合成 cDNA，参照说明书以 20 μL 体系进行 qRT-PCR 反应。反应条件：95℃ 预变性 60 s，95℃ 变性 10 s，60℃ 退火/延伸 20 s，44 个循环周期。采用 2^{-ΔΔCt} 法，以 GAPDH 为内参，计算 mRNA 的相对表达水平。

1.6 细胞凋亡检测

结合 CCK8、qRT-PCR 检测结果，选取 HDLM-2 组、HDLM-2+Ag85B（2 μg/mL）组，干预时间为 24 h，作为处理条件，每组 3 个复孔，检测细胞凋亡。根据 PE 偶联 Annexin-V 凋亡检测试剂盒方法步骤执行。两组细胞离心，弃去上清，预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次，1 000 r/min，离心 5 min，收集 HDLM-2 细胞，1 × Binding buffer 调整细胞为 2 × 10⁶/mL，取 100 μL 细胞悬液于流式管中，加入 5 μL PE Annexin V、5 μL 7-AAD 轻轻混匀，室温避光孵育 15 min，每管加入 400 μL 的 1 × Binding buffer，混匀，1 h 内上机检测。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析，采用 GraphPad Prism 8.0、Microsoft Excel 和 Adobe Photoshop 进行作图及分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，两组间比较采用两样本 *t* 检验，多组独立样本比较采用单因素方差分析，*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料分析

本研究共纳入 80 例 HL 患儿，对其临床分型、年龄、性别、有无 B 症状以及分期等多个临床数据进行分析，见表 2。

2.2 LC3、P62、Beclin-1 在组织中的表达与临床特征的相关性

免疫组化检测 HL 组及对照组 LC3、P62、Beclin-1 蛋白的表达。HL 组 LC3、Beclin-1 的表达及阳性区域占比高于对照组，P62 表达及阳性区域占比低于对照组，差异有统计学意义（各指标阳性区域占比 χ^2 分别为 4.04、4.06、6.36，*P* 分别为 0.044、0.044、0.012），见图 1 及图 2。

HL 组 I ~ II 期患儿 LC3、Beclin-1 阳性区域占比低于 III ~ IV 期, P62 阳性区域占比高于 III ~ IV 期, 差异有统计学意义 (χ^2 分别为 5.70、4.71、9.83, P 分别为 0.017、0.030、0.002)。

表 2 霍奇金淋巴瘤患儿临床资料 ($n=80$)

项目	$n(\%)$
病理分型	
结节性淋巴细胞为主型	1(1)
cHL	79(99)
淋巴细胞为主型	0(0)
结节硬化型	54(68)
混合细胞型	25(31)
淋巴细胞消退型	0(0)
年龄 (岁)	
2~<7	52(65)
7~14	28(35)
性别	
男	66(82)
女	14(18)
B 症状	
有	36(45)
无	44(55)
分期	
I ~ II 期	40(50)
III ~ IV 期	40(50)

注: [cHL] 经典型 HL。B 组症状有下列之一^[12]: (1) 不明原因发热 $>38^{\circ}\text{C}$, 连续 3 d 以上, 排除感染; (2) 夜间盗汗 (可浸透衣物); (3) 体重于诊断前半年内下降 $>10\%$ 。

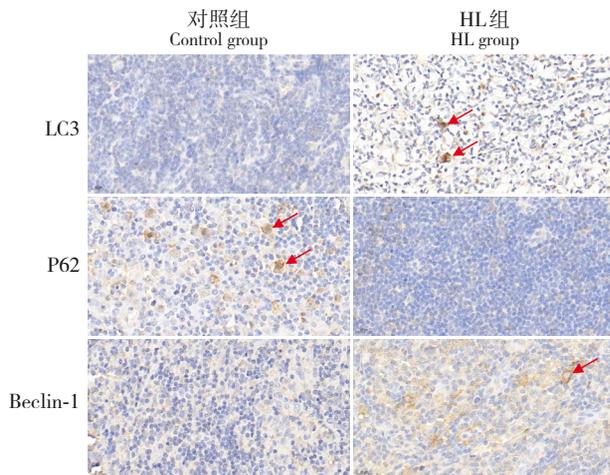


图 1 对照组与 HL 组 LC3、P62、Beclin-1 表达 ($\times 40$)
图中红色箭头所指为阳性表达细胞。

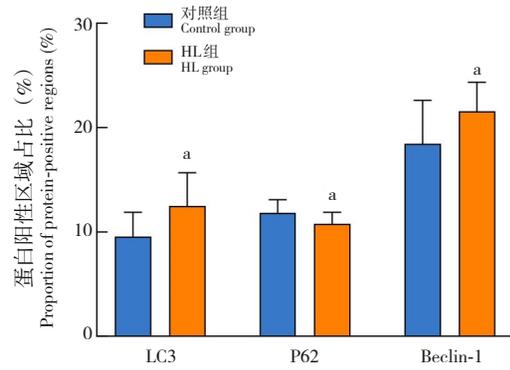


图 2 对照组及 HL 组患儿组织中 LC3、P62、Beclin-1 蛋白阳性区域占比 a 示与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 CCK8 法检测 HDLM-2 细胞增殖

根据 OD 值绘制细胞增殖抑制率曲线, 从图可看出, Ag85B 不同浓度干预 HDLM-2 细胞, $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ Ag85B 干预 HDLM-2 细胞 24 h 时抑制率最高, 细胞增殖受抑最明显 (图 3), 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.4 qRT-PCR 检测各组细胞 LC3、P62、Beclin-1、PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达

根据 2.3 结果, 按上述条件处理 HDLM-2 组及 HDLM-2+Ag85B ($2 \mu\text{g}/\text{mL}$) 组细胞, 行 qRT-PCR 检测。结果显示, HDLM-2+Ag85B ($2 \mu\text{g}/\text{mL}$) 组细胞中 LC3、Beclin-1 mRNA 表达水平低于 HDLM-2 组, P62、PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达水平高于 HDLM-2 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 细胞凋亡检测

进一步细胞凋亡检测, 结果显示, HDLM-2+Ag85B ($2 \mu\text{g}/\text{mL}$) 组细胞凋亡高于 HDLM-2 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5。

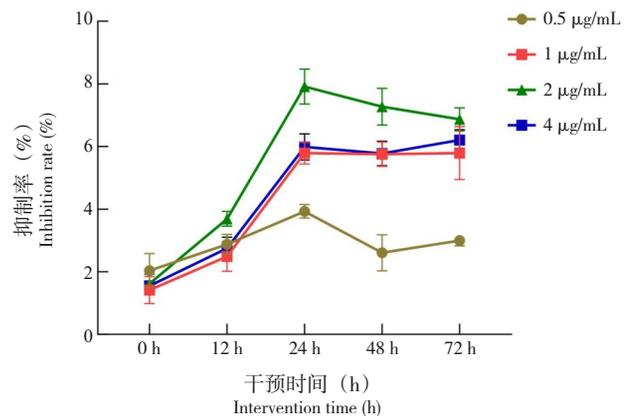


图 3 Ag85B 对 HDLM-2 细胞增殖抑制率 在 Ag85B 干预 HDLM-2 细胞 24 h 细胞增殖抑制最明显, 且在 Ag85B 浓度为 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 增殖抑制最强, 随着浓度增高及干预时间的增长, 细胞增殖抑制未见明显增加。

表 3 Ag85B 对 HDLM-2 细胞的增殖抑制率 ($\bar{x} \pm s$, %, $n=3$)

组别	12 h	24 h	48 h	72 h
0.5 $\mu\text{g/mL}$ 组	2.87 ± 0.32	3.92 ± 0.21^a	2.61 ± 0.57^a	2.99 ± 0.16^a
1 $\mu\text{g/mL}$ 组	2.48 ± 0.47	5.79 ± 0.34^{ab}	$5.75 \pm 0.38^{a,b}$	5.79 ± 0.84^b
2 $\mu\text{g/mL}$ 组	3.69 ± 0.23	7.91 ± 0.55	7.27 ± 0.58	6.87 ± 0.36
4 $\mu\text{g/mL}$ 组	2.74 ± 0.35	$5.98 \pm 0.41^{a,b,c}$	$5.77 \pm 0.39^{a,b}$	6.20 ± 0.33^b
<i>F</i> 值	6.97	3.09	5.41	5.93
<i>P</i> 值	0.005	0.005	0.005	0.005

注: a 示与 2 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, $P<0.05$; b 示与 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, $P<0.05$; c 示与 1 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, $P<0.05$ 。

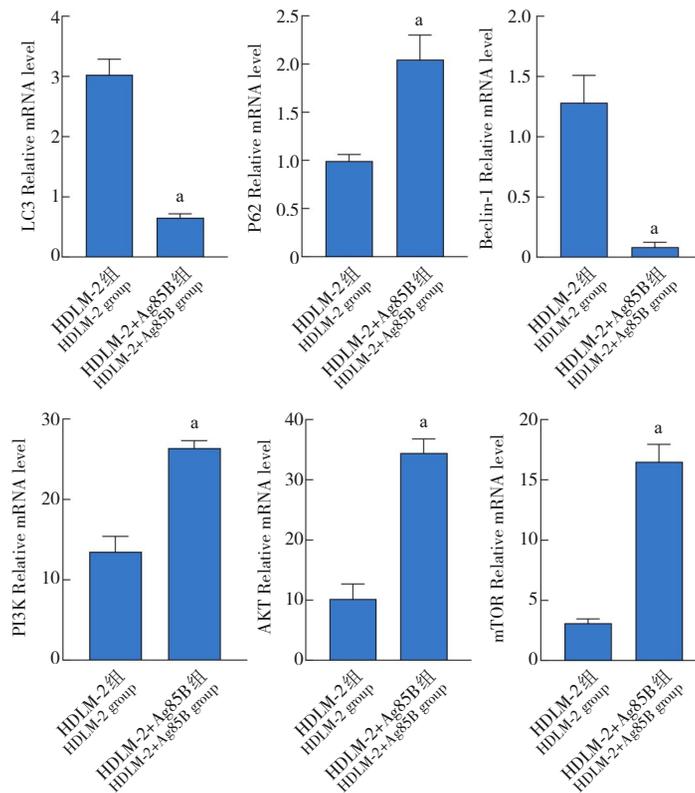


图 4 HDLM-2 组及 HDLM-2+Ag85B (2 $\mu\text{g/mL}$) 组细胞 LC3、P62、Beclin-1、PI3K、Akt、mTOR mRNA 相对表达量 a 示与 HDLM-2 组比较, $P<0.05$ 。

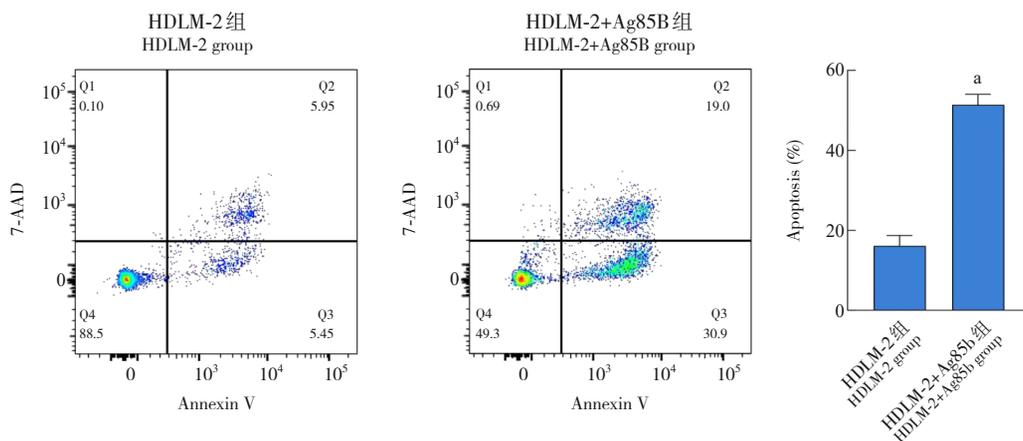


图 5 HDLM-2 细胞凋亡 Q2 区及 Q3 区分别代表早期及晚期凋亡, HDLM-2+Ag85B (2 $\mu\text{g/mL}$) 组细胞总体凋亡高于 HDLM-2 组。a 示与 HDLM-2 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

HL是一种起源于B细胞淋巴造血系统的肿瘤，病因尚不明确，其肿瘤细胞体积大，呈镜影样，细胞数量稀少，不到总细胞数的1%，大量的炎症细胞背景构成肿瘤细胞生存的微环境^[13]。随着诊疗技术进展，HL总体预后尚可，但仍有部分患儿初始治疗无效或复发，目前的治疗策略也有一定的不良反应，如继发性肿瘤、器官毒性、不孕症等，因此，进一步治疗HL患者的目标是增加疗效的同时降低毒性^[14]。

自噬又称为Ⅱ型程序性细胞死亡，是一种在进化上相对保守并受到严格控制的代谢过程^[15]。自噬可以通过降解细胞器和生物大分子为肿瘤细胞生化反应提供重要的原料，促进肿瘤细胞的代谢稳态^[16-17]，自噬可能参与了cHL的发病机制^[9, 18]。研究表明，cHL患者中mTOR作为自噬现象中最重要的上游负向调控信号分子，主要作用于自噬诱导阶段，Beclin-1是自噬体成核的关键，LC3主要参与自噬的最后阶段，且能与P62相互作用进而调节自噬，在自噬过程中，P62自身由于与LC3的相互作用而不断降解，P62水平的降低与激活的自噬途径有关^[14]。

本研究病理组织免疫组化结果显示，HL患儿病理组织中LC3、Beclin-1阳性表达高于对照组，表达量随疾病的分期增加而增高，表明自噬可能参与了HL的发生发展。HL患儿病理组织中LC3、Beclin-1阳性表达虽然高于对照组，但总体阳性表达仍偏低，可能与HL中肿瘤细胞占比极少且肿瘤细胞分布不均相关。体外研究中，对HL细胞株(HDLM-2细胞)进行培养，Ag85B干预后可降低细胞自噬，抑制细胞增殖，差异有统计学意义。随着Ag85B浓度升高，抑制肿瘤细胞增殖及自噬能力增强，当Ag85B浓度为2 μg/mL，干预肿瘤细胞24 h时，细胞增殖及自噬抑制最明显，凋亡增加，当继续增加Ag85B浓度时(4 μg/mL)，自噬抑制未见增强，表明Ag85B对HL细胞的作用并非完全呈浓度依赖性。研究中LC3、Beclin-1与P62表达趋势并不一致，可能和P62与LC3的相互作用导致P62不断降解相关。PI3K/Akt/mTOR通路是细胞内重要的信号传导途径之一，参与调控肿瘤细胞生长、增殖、分化、自噬和凋亡等^[19]，且已被证实是调节肝癌细胞自噬的主要通路^[20]。本研究中，Ag85B干预HL细胞后，促进PI3K/Akt/mTOR

mRNA的表达，故Ag85B对HL细胞的增殖抑制可能与促进PI3K/Akt/mTOR通路相关。本研究仍有不足，在临床上仅从病理组织分析了自噬与HL的关系，且HL细胞在组织中量少，可进一步增加样本量，并在临床样本中进行相关蛋白及mRNA表达的测定，多方面评估自噬在HL中的表达情况。体外研究在细胞水平分析了结核抗原Ag85B对HL细胞的自噬抑制及增殖抑制，促进凋亡，可在动物实验中进一步验证。

综上所述，HL患儿自噬增强，自噬与HL分期呈正相关。Ag85B可能通过促进PI3K/Akt/mTOR通路，抑制HL细胞自噬，促进细胞凋亡，抑制细胞增殖，为寻找HL发病机制、疾病分期、改善疾病预后提供一定的实验室依据。Ag85B作为分枝杆菌主要分泌抗原，有望将来应用于临床，改善HL预后，但仍需在有效性、安全性、机制等多个方面深入探索。

作者贡献声明：程永凤提供基金支持、提出研究思路、撰写论文；沈亦平、严媚提供基金支持、指导论文撰写；王学梅、樊春艳负责收集病例资料、绘制表格、录入数据；古丽巴哈·买买提、李丹露负责统计学分析。

利益冲突声明：所有作者均声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Kılıçkap S, Barışta I, Ulger S, et al. Clinical features and prognostic factors of Hodgkin's lymphoma: a single center experience[J]. *Balkan Med J*, 2013, 30(2): 178-185. PMID: 25207097. PMCID: PMC4115978. DOI: 10.5152/balkanmedj.2012.110.
- [2] Jacob A, Thyagarajan B, Kumar MP, et al. Cardiovascular effects of Hodgkin's lymphoma: a review of literature[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(1): 99-107. PMID: 29255934. DOI: 10.1007/s00432-017-2560-x.
- [3] 李小秋, 李甘地, 高子芬, 等. 中国淋巴瘤亚型分布: 国内多中心性病例10002例分析[J]. *诊断学理论与实践*, 2012, 11(2): 111-115. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2870.2012.02.006.
- [4] 杨柳青, 高海霞, 马志萍, 等. 新疆地区2443例淋巴瘤构成比及临床特征分析[J]. *新疆医学*, 2021, 51(1): 13-16.
- [5] Cirillo M, Reinke S, Klapper W, et al. The translational science of Hodgkin lymphoma[J]. *Br J Haematol*, 2019, 184(1): 30-44. PMID: 30417946. DOI: 10.1111/bjh.15658.
- [6] Piris MA, Medeiros LJ, Chang KC. Hodgkin lymphoma: a review of pathological features and recent advances in pathogenesis[J]. *Pathology*, 2020, 52(1): 154-165. PMID:

31699300. DOI: 10.1016/j.pathol.2019.09.005.
- [7] Weniger MA, Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma[J]. *Leukemia*, 2021, 35(4): 968-981. PMID: 33686198. PMCID: PMC8024192. DOI: 10.1038/s41375-021-01204-6.
- [8] Desai S, Ansell SM. Future directions in Hodgkin lymphoma: checkpoint inhibitors and beyond[J]. *Leuk Lymphoma*, 2021, 62(8): 1795-1804. PMID: 33602008. DOI: 10.1080/10428194.2021.1885667.
- [9] Birkenmeier K, Moll K, Newrzela S, et al. Basal autophagy is pivotal for Hodgkin and Reed-Sternberg cells' survival and growth revealing a new strategy for Hodgkin lymphoma treatment[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29): 46579-46588. PMID: 27366944. PMCID: PMC5216819. DOI: 10.18632/oncotarget.10300.
- [10] Guo L, Xie H, Zhang Z, et al. Fusion protein vaccine based on Ag85B and STEAP1 induces a protective immune response against prostate cancer[J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(7): 786. PMID: 34358202. PMCID: PMC8310044. DOI: 10.3390/vaccines9070786.
- [11] Luo L, Zhou L, Luo L, et al. Triamcinolone acetonide induces the autophagy of Ag85B-treated WI-38 cells via SIRT1/FOXO3 pathway[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2023, 51(2): 27-35. PMID: 36916085. DOI: 10.15586/aei.v51i2.775.
- [12] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会, 中华医学会血液学分会, 中国霍奇金淋巴瘤工作组. 中国霍奇金淋巴瘤的诊断与治疗指南(2022年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2022, 43(9): 705-715. PMID: 36709163. PMCID: PMC9613489. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.09.001.
- [13] Ansell SM. Hodgkin lymphoma: a 2020 update on diagnosis, risk-stratification, and management [J]. *J Hematol*, 2020, 95(8): 978-989. PMID: 32384177. DOI: 10.1002/ajh.25856.
- [14] Kyriazopoulou L, Karpathiou G, Hatzimichael E, et al. Autophagy and cellular senescence in classical Hodgkin lymphoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 236: 153964. PMID: 35700577. DOI: 10.1016/j.prp.2022.153964.
- [15] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741. PMID: 22078875. DOI: 10.1016/j.cell.2011.10.026.
- [16] Levy JMM, Towers CG, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(9): 528-542. PMID: 28751651. PMCID: PMC5975367. DOI: 10.1038/nrc.2017.53.
- [17] White E. The role for autophagy in cancer[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 42-46. PMID: 25654549. PMCID: PMC4382247. DOI: 10.1172/JCI73941.
- [18] Lin HC, Chang Y, Chen RY, et al. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 upregulates autophagy and promotes viability in Hodgkin lymphoma: Implications for targeted therapy [J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(4): 1589-1602. PMID: 33525055. PMCID: PMC8019199. DOI: 10.1111/cas.14833.
- [19] Onorati AV, Dyczynski M, Ojha R, et al. Targeting autophagy in cancer[J]. *Cancer*, 2018, 124(16): 3307-3318. PMID: 29671878. PMCID: PMC6108917. DOI: 10.1002/encr.31335.
- [20] Wang H, Liu Y, Wang D, et al. The upstream pathway of mTOR-mediated autophagy in liver diseases[J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1597. PMID: 31835352. PMCID: PMC6953127. DOI: 10.3390/cells8121597.

(本文编辑: 张辉)

(版权所有©2024中国当代儿科杂志)