

## 原发性免疫性血小板减少症患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞糖代谢紊乱的研究

刘冠宇<sup>1,2</sup>, 徐圆<sup>1,2</sup>, 杨宇<sup>1,2</sup>, 张婧<sup>1,2</sup>, 付荣凤<sup>1,2</sup>, 陈云飞<sup>1,2</sup>, 孙婷<sup>1,2</sup>,  
刘葳<sup>1,2</sup>, 薛峰<sup>1,2</sup>, 刘晓帆<sup>1,2</sup>, 杨仁池<sup>1,2</sup>, 张磊<sup>1,2</sup>, 李慧媛<sup>1,2\*</sup>

1. 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), 血液与健康全国重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津市血液病基因治疗研究重点实验室, 中国医学科学院血液病基因治疗重点实验室, 天津 300020;  
2. 天津医学健康研究院, 天津 301600

**摘要:** **目的** 探究原发性免疫性血小板减少症(ITP)患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞的糖代谢特征, 并阐明其对 CD4<sup>+</sup>T 细胞功能的调节作用。**方法** 纳入 92 例 ITP 患者和 46 例健康对照组。采用流式细胞术评估细胞渗透性荧光葡萄糖(2-NBDG)摄取及糖代谢相关酶(Glut1、LDHA、PKM2、HK2 和 PFKFB3)的表达; 利用免疫磁珠法分离 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 采用 2-脱氧葡萄糖(2-DG)抑制糖摄取后, 流式细胞术评估淋巴细胞活化情况, CCK8 检测细胞增殖, ELISA 方法检测培养上清中 IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-17 及 TGF- $\beta$ 1 水平。**结果** 与健康对照组相比, ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞离体、体外静息及重刺激后的葡萄糖摄取能力增加(离体:  $9.32\% \pm 1.67\%$  比  $3.15\% \pm 0.41\%$ ,  $P < 0.01$ ; 静息:  $12.92\% \pm 2.10\%$  比  $4.87\% \pm 1.08\%$ ,  $P = 0.02$ ; 重刺激:  $25.52\% \pm 3.44\%$  比  $14.71\% \pm 3.50\%$ ,  $P = 0.03$ )。ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞表面 GLUT1 表达增加(Glut1:  $27.70\% \pm 2.13\%$  比  $18.12\% \pm 2.22\%$ ,  $P < 0.01$ )。2-DG 抑制葡萄糖摄取后, ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞增殖、CD25<sup>+</sup>晚期活化 T 细胞比例减少[增殖(OD):  $0.40 \pm 0.14$  比  $0.25 \pm 0.04$ ,  $P = 0.03$ ; 活化:  $14.65\% \pm 2.42\%$  比  $8.71\% \pm 1.11\%$ ,  $P < 0.01$ ], 培养上清中 IL-17 水平降低, 而 IL-4 水平升高(IL-17:  $0.70 \pm 0.11$  ng/L 比  $0.44 \pm 0.06$  ng/L,  $P = 0.03$ ; IL-4:  $1.36 \pm 0.25$  ng/L 比  $2.20 \pm 0.47$  ng/L,  $P = 0.02$ )。**结论** ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞糖代谢增加可能通过促进 CD4<sup>+</sup>T 细胞活化及极化偏移参与 ITP 的发生。

**关键词:** 免疫性血小板减少症; 糖代谢; CD4<sup>+</sup>T 细胞

[中图分类号] R331.1+43

[文献标识码] A

[文章编号] 1009-6213(2024)04-0152-06

Doi:10.3969/j.issn.1009-6213.2024.04.002

## Study on glycolytic metabolism in CD4<sup>+</sup> T cells in patients with primary immune thrombocytopenia

Liu Guanyu<sup>1,2</sup>, Xu Yuan<sup>1,2</sup>, Yang Yu<sup>1,2</sup>, Zhang Jing<sup>1,2</sup>, Fu Rongfeng<sup>1,2</sup>, Chen Yunfei<sup>1,2</sup>, Sun Ting<sup>1,2</sup>, Liu Wei<sup>1,2</sup>,  
Xue Feng<sup>1,2</sup>, Liu Xiaofan<sup>1,2</sup>, Yang Renchi<sup>1,2</sup>, Zhang Lei<sup>1,2</sup>, Li Huiyuan<sup>1,2\*</sup>

1. Hematology Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences (Institute of Hematology, Chinese Academy of Medical Sciences), National Key Laboratory of Blood and Health, National Clinical Research Center for Hematological Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecology, Tianjin Key Laboratory of Gene Therapy for Hematological Diseases, Key Laboratory of Gene Therapy for Hematological Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China; 2. Tianjin Institute of Medical Health, Tianjin 301600, China

**Abstract: Objective** To investigate the glycolytic metabolic characteristics of CD4<sup>+</sup> T cells in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP) and to elucidate their regulatory role on CD4<sup>+</sup> T cell function. **Methods** A total of 92 ITP patients and 46 healthy controls were enrolled in this study.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82070125, 82170127)

\* 通讯作者: 李慧媛, E-mail: lihuiyuan@ihcams.ac.cn

Flow cytometry was used to assess 2-NBDG uptake and the expression levels of glycolytic enzymes (GLUT1, LDHA, PKM2, HK2, and PFKFB3). CD4<sup>+</sup> T cells were isolated using immunomagnetic beads. Following glucose uptake inhibition in CD4<sup>+</sup> T cells, flow cytometry method was used to evaluate lymphocyte activation, CCK8 assay for cell proliferation, and ELISA method was used to detect levels of IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17, and TGF- $\beta$ 1 in the culture supernatant. **Results** Compared to the healthy control group, ITP patients showed increased glucose uptake in CD4<sup>+</sup> T cells in vivo, in vitro at rest, and after restimulation (in vivo: 9.32% $\pm$ 1.67% vs 3.15% $\pm$ 0.41%,  $P$ <0.01; resting: 12.92% $\pm$ 2.10% vs 4.87% $\pm$ 1.08%,  $P$ =0.02; restimulation: 25.52% $\pm$ 3.44% vs 14.71% $\pm$ 3.50%,  $P$ =0.03). Expression level of GLUT1 on the cell surface membrane of CD4<sup>+</sup> T cells was significantly increased in ITP patients (GLUT1: 27.70% $\pm$ 2.13% vs 18.12% $\pm$ 2.22%,  $P$ <0.01). After inhibiting glucose uptake with 2-DG, the proliferation of CD4<sup>+</sup> T cells, the proportion of CD25<sup>+</sup>late-activated T cells were reduced in ITP patients [proliferation (OD): ITP: 0.40 $\pm$ 0.14 vs 0.25 $\pm$ 0.04,  $P$ =0.03; activated: ITP: 14.65% $\pm$ 2.42% vs 8.71% $\pm$ 1.11%,  $P$ <0.01], and the levels of IL-17 in the culture supernatant decreased, while IL-4 levels increased in ITP patients (IL-17: 0.70 $\pm$ 0.11 ng/L vs 0.44 $\pm$ 0.06 ng/L,  $P$ =0.03; IL-4: 1.36 $\pm$ 0.25 ng/L vs 2.20 $\pm$ 0.47 ng/L,  $P$ =0.02). **Conclusion** The increased glycolytic metabolic characteristics in CD4<sup>+</sup> T cells of ITP patients may contribute to the pathogenesis of ITP by promoting CD4<sup>+</sup> T cell activation and polarization shift.

**Keywords:** Immune thrombocytopenia; Glycolytic metabolism; CD4<sup>+</sup>T cell

原发性免疫性血小板减少症(primary immune thrombocytopenia, ITP)是一种常见的自身免疫性疾病,特征为由免疫介导的血小板破坏和血小板生成受损造成血小板计数减少<sup>[1]</sup>。CD4<sup>+</sup> T细胞在ITP的发病机制中发挥重要作用,其亚群失衡被认为与ITP的发病机制密切相关<sup>[2]</sup>。具体而言,ITP患者中Th1和Th17细胞增加,而Treg细胞减少,导致免疫耐受失衡,促使血小板破坏<sup>[3]</sup>。

近年来,代谢重编程在T细胞功能中的作用逐渐被认识。T细胞活化行使的功能高度依赖于糖酵解,而不同的T细胞亚群表现出不同的代谢特征<sup>[4]</sup>。例如,Th1和Th17细胞依赖糖酵解来满足其能量需求<sup>[5]</sup>。因此,T细胞的代谢重编程可能影响其分化、功能以及细胞因子的分泌,进而影响免疫反应进程。鉴于糖代谢在免疫调控中的重要作用,它参与了系统性红斑狼疮、类风湿关节炎及I型糖尿病等多种自身免疫性疾病的发生<sup>[6-9]</sup>。因此,靶向调节糖代谢关键位点可能成为治疗自身免疫性疾病的新思路。本研究旨在通过检测ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞在不同状态下的糖代谢差异及靶向干预糖代谢对CD4<sup>+</sup>T细胞生理过程的影响,探讨糖代谢在ITP发病中的作用。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

本研究共纳入92名ITP患者。诊断符合《成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南(2020年版)》标准<sup>[10]</sup>,并排除继发性血小板减少症,包括自身免疫性疾病、甲状腺疾病、淋巴系统增殖性疾病等情况。以同期46名健康志愿者作为正常对照,男23名,女23名,中位年龄为40(16~64)岁。患者资料见表1。本研究得到医院伦理委员会批准(批号:IIT2021012-EC-1),所有对象均签署知情同意书。

### 1.2 主要试剂和仪器

淋巴细胞分离液Ficoll-Hypaque:购于中国灏洋生物科技公司;Human anti-CD4阳选免疫磁珠及磁珠分选柱购自德国MiltenyiBiotec公司;Anti-CD3/CD28和2-NBDG购自美国Invitrogen公司;PMA、ionomycin和2-DG购自美国Sigma-Aldrich公司;IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-4、TGF- $\beta$ 1 ELISA试剂盒购自中国欣博盛公司;CCK8购自中国索莱宝公司;流式抗体:FITC-CD3、Percp-cy5.5-CD8、PE-CD3、PE-cy7-CD25和PE-CD69购自美国Biolegend公司;AF647-GLUT1购自美国BD Biosciences公司;PE-PKM2, HKII,

表 1 ITP 患者病历资料

患者特征	ITP 组	治疗组	未治疗组例
病程			
新诊断 ITP [n(%)]	18(19.6)	10(27.0)	8(14.5)
持续性 ITP [n(%)]	28(30.4)	9(24.3)	19(34.6)
慢性 ITP [n(%)]	46(50.0)	18(48.7)	28(50.9)
性别			
男 [n(%)]	39(42.4)	14(37.8)	25(45.5)
女 [n(%)]	53(57.6)	23(62.2)	30(54.5)
中位年龄(范围,岁)	44(14~79)	44(14~71)	45(14~79)
中位血小板计数(范围,×10 <sup>9</sup> /L)	18(1~87)	20(1~87)	18(1~84)
中位病程(范围,月)	12(0.5~600)	12(0.5~480)	20(0.5~600)

LDHA, PFKFB3 rabbit mAb, AF647-anti-rabbit IgG 购自美国 Cell Signaling Technology 公司;流式机器 LSR-Fortessa 购自美国 BD Biosciences 公司;流式检测结果采用 FlowJo V10.0 软件进行分析。

### 1.3 分离外周单个核细胞

采集 5~10 mL 外周血于 EDTA 抗凝管中, 800 r/mim 离心 10 min, 吸取上层血浆。将下层血细胞用 PBS 溶液 1:1 稀释, 加入 5 mL 淋巴细胞分离液, 缓慢混合后以 1 800 r/mim 离心 20 min。分层后, 取中间白膜层单个核细胞, 加入 PBS 洗涤两次, 计数并收集外周单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)用于后续实验。

### 1.4 免疫磁珠分选 CD4<sup>+</sup>T 细胞

根据细胞计数用适当体积的预冷磁珠分选缓冲液重悬 PBMCs, 按比例加入 CD4<sup>+</sup>T 细胞分选磁珠, 4 °C 孵育 15 min。用预冷分选缓冲液洗涤细胞后, 通过磁珠分选柱进行纯化。用流式细胞术检测分选效率, 确保达 90% 以上。

### 1.5 葡萄糖摄取检测

离体糖摄取: 用无葡萄糖的 RPMI1640 完全培养基将 PBMCs 调至 1×10<sup>6</sup>/mL, 按 500 μL/孔分装入 48 孔板。加入终浓度为 5 μmol/L 的 2-NBDG, 在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养 30 min。离心收集细胞, 加入 PE-CD3 和 APC-CD8 抗体, 室温孵育 15 min, PBS 洗涤两次后进行流式细胞检测。

静息及重刺激糖摄取: 用 RPMI1640 完全培养基将 PBMCs 调至 1×10<sup>6</sup>/mL, 按 500 μL 每孔分装入 48 孔板, 在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下静息培养 24 h。然后

加入或不加入 PMA(50 ng/mL)和 ionomycin(1 μg/mL)培养 3 h 后, 更换为无葡萄糖培养基继续孵育 30 min。加入终浓度为 5 μmol/L 的 2-NBDG 检测葡萄糖摄取, 步骤同上。

### 1.6 代谢酶检测

每管取 150 μL 全血, 加入 Percp-cy5.5-CD8 和 FITC-CD3 抗体, 室温孵育 15 min。裂红液溶血后 PBS 洗涤 1 次, 加入流式破膜/固定液处理 20 min, 洗涤后重悬细胞。直标方案: 加入 PE-PKM2 和 AF647-GLUT1, 室温孵育 30 min, 洗涤 2 次后用 2% PFA 重悬, 等待上机检测。间标方案: 各管分别加入 Hexokinase II, LDHA 及 PFKFB3 抗体(稀释比例为 1:100), 室温孵育 30 min, 洗涤 1 次后, 继续加入 AF647-Anti-rabbit IgG(稀释比例为 1:100), 室温孵育 45 min, 洗涤 2 次后用 2% PFA 重悬, 等待上机检测。

### 1.7 2-DG 干预方案

将分离的 CD4<sup>+</sup>T 细胞用 PRMI1640 完全培养基重悬至浓度 1×10<sup>6</sup>/mL, 按 100 μL/孔分装入 96 孔板。每孔加入 0.1 μL 的 anti-CD3/28 和终浓度为 5 ng/mL 的重组人 IL-2。实验组加入终浓度为 100 μmol/L 的 2-DG, 对照组加入等体积 DMSO。在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养 72 h, 收集细胞及培养上清用于活化及细胞因子检测。细胞增殖检测实验中, 在培养结束前 6 h(即培养 66 h 后)加入 CCK8, 培养 72 h 后采用酶标仪检测吸光度。

### 1.8 细胞活化检测

将收集的 CD4<sup>+</sup>T 细胞用 100 μL PBS 重悬,

加入 FITC-CD3, Percp-cy5.5-CD8, PE-cy7-CD25 及 PE-CD69 抗体室温孵育 15 min 后,用 PBS 洗涤 2 次并用 2%PFA 重悬待测。

### 1.9 细胞因子检测

采用 ELISA 方法检测细胞培养上清中 IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL4 及 TGF- $\beta$ 1 浓度,具体操作步骤按照产品说明书进行。

### 1.10 统计分析

数据以平均数  $\pm$  标准误表示,使用 Graph Pad Prism 8.0.1 软件进行统计分析。两组间的差异使用独立样本非参数检验,多组差异采用单因素方差分析,2-DG 处理结果采用配对样本非参数检验进行分析。 $P \leq 0.05$  被认为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 葡萄糖摄取结果分析

采用 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>设门后分析 CD4<sup>+</sup>T 细胞的糖代谢强度,结果显示:与健康对照组相比,ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞离体条件下葡萄糖摄取能力增加(图 1A,离体:9.32% $\pm$ 1.67% 比 3.15% $\pm$ 0.41%, $P < 0.01$ )。在离体静息 24 h 后,无论重刺激与否,葡萄糖摄取能力均高于健康对照(图 1B,静息:12.92% $\pm$ 2.10%

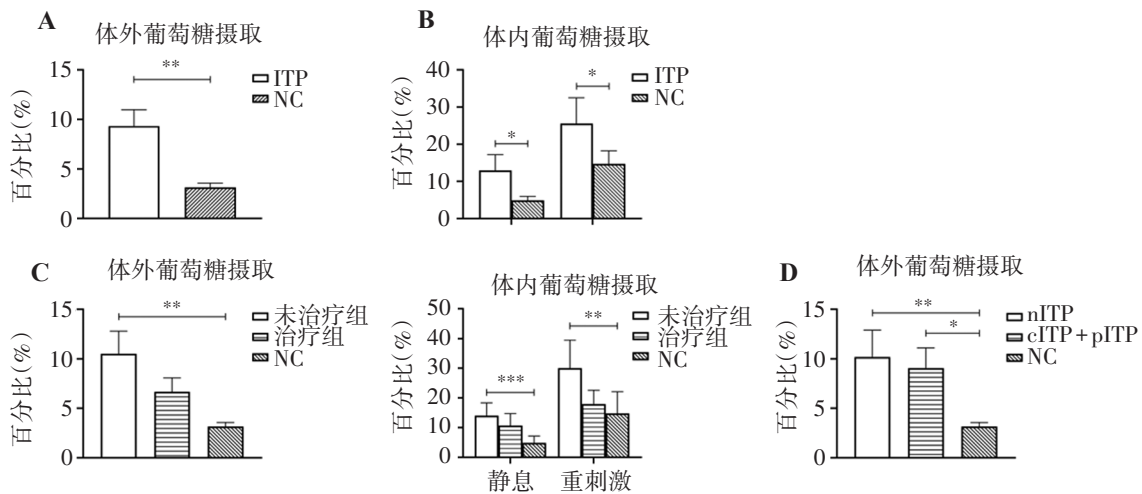
比 4.87% $\pm$ 1.08%, $P = 0.02$ ;重刺激:25.52% $\pm$ 3.44% 比 14.71% $\pm$ 3.50%, $P = 0.03$ )。同时,根据免疫抑制剂使用情况对 ITP 患者进行分组,结果显示,无论在离体、静息或重新刺激条件下,未治疗组患者葡萄糖摄取能力均高于健康对照,而治疗组与健康对照组间无显著差异(图 1C,未治疗组比健康对照组:离体:10.51% $\pm$ 2.28% 比 3.15% $\pm$ 0.41%, $P < 0.01$ ;静息:14.00% $\pm$ 2.06% 比 4.87% $\pm$ 1.08%, $P < 0.01$ ;重刺激:29.99% $\pm$ 4.53% 比 14.71% $\pm$ 3.50%, $P < 0.01$ )。根据患者病程分组,不同病程组间并未见显著差异(图 1D)。

### 2.2 糖代谢相关酶类表达检测

采用流式细胞术评估糖酵解相关酶(GLUT1、LDHA、PKM2、HK2 和 PFKPB3)的表达,结果显示,ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞表面 GLUT1 表达显著增加(图 2A, GLUT1:27.70% $\pm$ 2.13% 比 18.12% $\pm$ 2.22%, $P < 0.01$ )。GLUT1 的表达在未治疗组及治疗组间差异不显著(图 2D)。

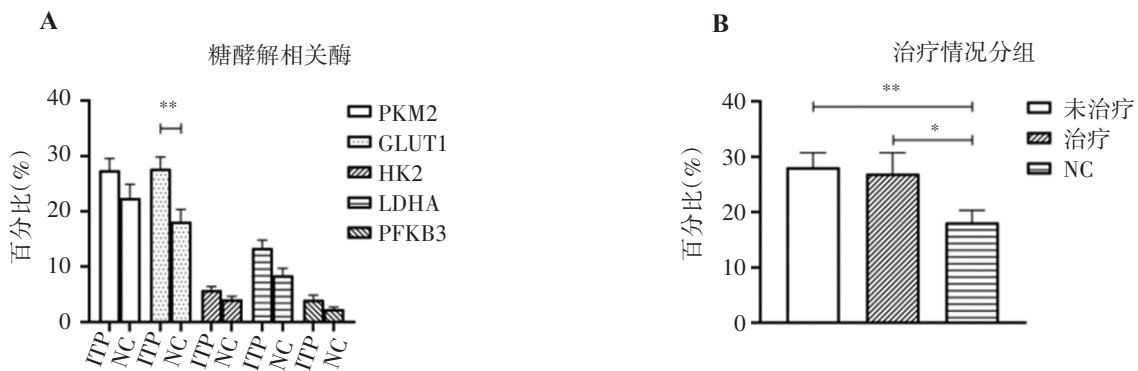
### 2.3 抑制糖摄取对 CD4<sup>+</sup>T 细胞的调控

采用 2-DG 抑制葡萄糖摄取后 ITP 患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞的增殖、CD25<sup>+</sup>晚期活化 T 细胞比例减少。培养上清中 IFN- $\gamma$  及 IL-17 水平降低,而 IL-4 水平升高。TGF- $\beta$ 1 水平无明显变化(表 2)。



注:A. CD4<sup>+</sup>T 细胞离体葡萄糖摄取差异(ITP 组  $n = 26$ , 健康对照组  $n = 18$ );B. CD4<sup>+</sup>T 细胞体外静息及重刺激后葡萄糖摄取差异(ITP 组  $n = 36$ , 健康对照组  $n = 20$ );C. CD4<sup>+</sup>T 细胞离体/体外静息及重刺激后葡萄糖摄取差异(根据采样前是否经过免疫抑制剂治疗进行分组,离体:未治疗组  $n = 18$ , 治疗组  $n = 8$ , 健康对照组  $n = 18$ ;体外:未治疗组  $n = 21$ , 治疗组  $n = 15$ , 健康对照组  $n = 20$ );D. CD4<sup>+</sup>T 细胞离体葡萄糖摄取差异(根据病程分组,新诊断 ITP 组  $n = 6$ ,持续性 ITP+慢性 ITP 组  $n = 20$ ,健康对照组  $n = 18$ )。ITP: 免疫性血小板减少症。NC: 健康对照

图 1 ITP 与健康对照葡萄糖摄取差异



注:A.糖酵解相关酶类表达检测(ITP组n=47,NC组n=21);B. GLUT1 表达情况(根据采样前是否经过免疫抑制剂治疗进行分组,未治疗组n=30,治疗组n=17,健康对照组n=21)。ITP:免疫性血小板减少症,NC:健康对照

图2 糖代谢酶类的表达检测

表2 ITP患者与正常对照2-DG处理组及对照组增殖、CD25<sup>+</sup>晚期活化以及培养上清中相关细胞因子表达水平

组别	ITP(n=8)			NC(n=7)		
	对照	2-DG处理	P值	对照	2-DG处理	P值
增殖(OD值)	0.40±0.14	0.25±0.04	0.027*	0.69±0.22	0.27±0.04	0.016*
活化(%)	14.65±2.42	8.71±1.11	<0.004**	12.44±2.87	10.05±2.83	0.148
IFN-γ(ng/L)	336.29±147.39	183.15±28.35	0.461	467.84±96.73	173.82±44.02	0.016*
IL-17(ng/L)	0.70±0.11	0.44±0.06	0.025*	0.95±0.35	0.22±0.03	<0.004**
IL-4(ng/L)	1.36±0.25	2.20±0.47	0.023*	2.44±0.51	3.15±0.84	0.219
TGF-β1(μg/L)	562.57±83.15	588.85±48.35	0.547	926.16±154.63	837.90±133.93	0.156

IFN-γ:γ干扰素;IL-17:白介素17;IL-4白介素4;TGF-β1转化生长因子β1

### 3 讨论

原发性免疫性血小板减少症作为一种多因素参与的自身免疫病,其病理机制在过往已得到深入的研究。其中,CD4<sup>+</sup>T细胞异常,包括活化、极化偏移和调节性T细胞(Treg)的缺乏,在ITP的发病机制中起到了不可或缺的作用<sup>[11]</sup>。

近年来,代谢重编程的重要性被广泛探究,代谢是影响T细胞功能、增殖和分化的重要因素之一。糖酵解在T细胞的分化和功能行使中起着关键调节作用<sup>[12-13]</sup>。糖酵解异常可能导致Th1和Th17细胞的过度分化及功能异常,进而参与炎症反应及自身免疫性疾病的发生<sup>[14-15]</sup>。ITP患者也存在糖代谢的异常。研究表明,ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞存在从氧化磷酸化转变为糖酵解的代谢重编程,导致Th1/Th17细胞增多,Treg细胞减少,SGLT2抑制剂恩格列净可以靶向重塑ITP患者的免疫代谢<sup>[16]</sup>。此外,ITP患者Treg细胞的线粒体功能受损,导致糖酵解产生的

ATP比例升高,使患者对类固醇治疗产生耐药性<sup>[17]</sup>。激活髓源性抑制细胞的线粒体代谢能通过恢复CD4<sup>+</sup>T细胞免疫平衡,助力糖皮质激素抵抗ITP患者的治疗<sup>[18]</sup>。

与既往研究结果一致<sup>[16]</sup>,本研究显示,ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞糖摄取水平及葡萄糖转运蛋白GLUT1表达增加,证实糖代谢异常参与ITP的发生。本研究还发现,ITP患者静息状态下及活化后的糖摄取水平均高于健康对照,提示ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞在静息状态下糖代谢水平增高,活化过程进一步放大了这种异常。此外,未用免疫抑制剂治疗组患者的CD4<sup>+</sup>T细胞糖摄取水平高于健康对照,而治疗组与健康对照组无显著差异,提示免疫抑制剂的治疗可能部分通过重塑糖代谢达到治疗目的<sup>[18]</sup>。值得注意的是,与Qin等<sup>[16]</sup>研究相比,我们并未发现HK2、PKM2及PFKFB3的表达异常,这可能与检测方法不同及患者异质性相关。进一步靶向干预实验证实,抑制糖摄取能有效纠正CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖、活化及

极化异常,提示ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞糖代谢增加可能通过促进CD4<sup>+</sup>T细胞活化及极化偏移参与ITP的发生。

综上所述,本研究证实,ITP患者CD4<sup>+</sup>T细胞的糖代谢增加可能导致其过度活化和分化偏移,因而重塑糖代谢可能是治疗ITP的一种潜在治疗方法。然而,糖代谢调节T细胞的具体作用机制及靶向糖代谢治疗的安全性和有效性尚需进一步研究。

**作者贡献声明** 刘冠宇负责完成实验及撰写文章;徐圆、杨宇、张婧负责完成实验;付荣凤、陈云飞、孙婷、刘葳、薛峰、刘晓帆负责病例收集,杨仁池、张磊负责指导研究;李慧媛负责修改文章及指导研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Cines D B, Bussel J B, Liebman H A, et al. The ITP syndrome: pathogenic and clinical diversity [J]. *Blood*, 2009, 113(26):6511-6521.
- [2] Semple J W, Provan D. The immunopathogenesis of immune thrombocytopenia: T cells still take center-stage [J]. *Curr Opin Hematol*, 2012, 19(5):357-362.
- [3] Ma D, Zhu X, Zhao P, et al. Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGF-beta, IL-6) and Th1 cytokine (IFN-gamma) in patients with immune thrombocytopenic purpura [J]. *Ann Hematol*, 2008, 87(11):899-904.
- [4] Michalek R D, Gerriets V A, Jacobs S R, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4<sup>+</sup> T cell subsets [J]. *J Immunol*, 2011, 186(6):3299-3303.
- [5] Delgoffe G M, Kole T P, Zheng Y, et al. The mTOR kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment [J]. *Immunity*, 2009, 30(6):832-844.
- [6] Shan J, Jin H, Xu Y. T cell metabolism: A new perspective on Th17/Treg cell imbalance in systemic lupus erythematosus [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1027.
- [7] Zuo J, Tang J, Lu M, et al. Glycolysis rate-limiting enzymes: Novel potential regulators of rheumatoid arthritis pathogenesis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:779787.
- [8] Martins C P, New L A, O'connor E C, et al. Glycolysis inhibition induces functional and metabolic exhaustion of CD4<sup>+</sup> T cells in type 1 diabetes [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:669456.
- [9] Li S S, Niu M, Jing J, et al. Metabolomic signatures of autoimmune hepatitis in the development of cirrhosis [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:644376.
- [10] 侯明, 胡豫. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南(2020年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2020(8):617-623.
- [11] Kostic M, Zivkovic N, Cvetanovic A, et al. CD4<sup>+</sup> T cell phenotypes in the pathogenesis of immune thrombocytopenia [J]. *Cell Immunol*, 2020, 351:104096.
- [12] Leone R D, Powell J D. Metabolism of immune cells in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(9):516-531.
- [13] Sharabi A, Tsokos G C. T cell metabolism: new insights in systemic lupus erythematosus pathogenesis and therapy [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(2):100-112.
- [14] Almeida L, Lochner M, Berod L, et al. Metabolic pathways in T cell activation and lineage differentiation [J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(5):514-524.
- [15] Fox C J, Hammerman P S, Thompson C B. Fuel feeds function: energy metabolism and the T-cell response [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(11):844-852.
- [16] Qin J, Liu Q, Liu A, et al. Empagliflozin modulates CD4<sup>+</sup> T-cell differentiation via metabolic reprogramming in immune thrombocytopenia [J]. *Br J Haematol*, 2022, 198(4):765-775.
- [17] Zhan Y, Cao J, Ji L, et al. Impaired mitochondria of Tregs decreases OXPHOS-derived ATP in primary immune thrombocytopenia with positive plasma pathogens detected by metagenomic sequencing [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2022, 11(1):48.
- [18] Hou Y, Xie J, Wang S, et al. Glucocorticoid receptor modulates myeloid-derived suppressor cell function via mitochondrial metabolism in immune thrombocytopenia [J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(7):764-776

(收稿日期:2024-07-26)

(本文编辑:钱婷婷;本文审校:叶絮)