

# 低剂量西达本胺治疗原发性免疫性血小板减少症及其作用机制研究

赵红玉<sup>1</sup> 李大启<sup>1</sup> 王娟<sup>1</sup> 侯宇<sup>2</sup> 孙璐<sup>2</sup> 彭军<sup>2</sup> 侯明<sup>2</sup>

<sup>1</sup>山东第一医科大学附属济南市中心医院血液科, 济南 250013; <sup>2</sup>山东大学齐鲁医院血液科, 济南 250012

通信作者: 侯明, Email: houming@medmail.com.cn

**【摘要】** **目的** 探讨低剂量(0.1 mg/kg)西达本胺治疗原发性免疫性血小板减少症(ITP)的作用及机制。**方法** ①应用C57BL/6J小鼠建立ITP被动模型,灌胃给予0、0.01、0.1、0.5、5.0 mg/kg西达本胺,观察治疗前后ITP小鼠模型外周血血小板计数。②应用C57BL/6J小鼠建立ITP主动模型,灌胃给予0.1 mg/kg西达本胺,观察治疗前后ITP小鼠模型外周血血小板计数;4周后处死小鼠,流式细胞术检测脾细胞中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>自然调节性T细胞(nTreg)比例并应用ELISA方法检测小鼠外周血IL-6水平。③分离ITP患者外周血单个核细胞,与低剂量西达本胺共培养72 h后检测nTreg细胞比例;免疫磁珠法分离CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg细胞)以及CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>效应T细胞,将二者以1:4比例混合共培养,加入低剂量西达本胺干预,检测Treg细胞对效应T细胞增殖的抑制作用。**结果** ①低剂量西达本胺可明显提高ITP被动模型鼠外周血血小板水平。②低剂量西达本胺可显著提高ITP动物模型外周血血小板水平,降低出血相关死亡率。③低剂量西达本胺可显著提高ITP动物模型脾细胞中nTreg比例、降低血清IL-6水平。④低剂量西达本胺可显著提高ITP患者外周血单个核细胞培养体系中nTreg细胞比例、增强Treg细胞对效应T细胞增殖的抑制作用。**结论** 低剂量西达本胺可促进nTreg生成、增强Treg细胞的免疫抑制功能、降低IL-6水平,促进免疫耐受,对ITP有较好的治疗作用。

**【关键词】** 西达本胺; 免疫性血小板减少症; 调节性T细胞; 免疫耐受

**基金项目:**国家自然科学基金(81270578)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.04.006

## Effect and mechanism of low-dose chidamide on the treatment of primary immune thrombocytopenia

Zhao Hongyu, Li Daqi, Wang Juan, Hou Yu, Sun Lu, Peng Jun, Hou Ming

<sup>1</sup>Department of Hematology, Jinan Central Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250013; <sup>2</sup> Department of Hematology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 215002

Corresponding author: Hou Ming, Email: houming@medmail.com.cn

**【Abstract】** **Objective** To explore the effect and mechanism of low-dose chidamide on the treatment of primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** Passive ITP animal model and active ITP animal model were established by C57BL/6J mice. Different doses of chidamide (0, 0.01, 0.1, 0.5, and 5 mg/kg) were orally administrated twice a week for 120 hours in passive ITP mice. Secondly, low-dose chidamide (0.1 mg/kg) was given intragastrically administrated twice a week in active ITP mice. The platelet counts in the peripheral blood before and after treatment were detected. Four weeks later, mice were executed to prepare splenocyte suspension; natural regulatory T cells (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> nTreg cells) in splenocyte suspension were detected by flow cytometry. Serum IL-6 was measured by ELISA. Peripheral blood mononuclear cells from ITP patients were co-cultured with low-dose chidamide in vitro. After incubation for 72 hours, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells of mononuclear cells was detected. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> effector T cells were separated by immunomagnetic beads. The Treg cells and effector T cells were co cultured in a ratio of 1:4, and treated with low-dose chidamide. The proliferation of effector T cells was detected. **Results** Chidamide with low dose (0.1 mg/kg) significantly improved platelet counts in passive ITP mouse model, as well as in the ITP active mouse model and reduced the mortality related to bleeding. Low-dose chidamide significantly increased the number and proportion of nTreg cells in mouse splenocytes, and decreased serum IL-6 level in active ITP mice. In ITP patients, low-dose chidamide also significantly expanded Treg cells in the PBMC culture system. Besides, the

proliferation of effector T cells was suppressed. **Conclusion** Low-dose chidamide enhances the proliferation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells to mediate immunosuppressive function. Serum IL-6 is inhibited for further immune tolerance. In vivo animal study suggests that low-dose chidamide has a novel therapeutic effect on ITP.

**【Key words】** Chidamide; Immune thrombocytopenia; Regulatory T cell; Immunological tolerance

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81270578)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.04.006

成人原发免疫性血小板减少症(ITP)的年发病率为(5~10)/10万,60岁以上老年人是高发人群,是临床最为常见的出血性疾病<sup>[1]</sup>。ITP的发病机制复杂,主要机制是免疫紊乱所引起的血小板破坏增多和生成减少。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)抑制T细胞活化及增殖,减轻血小板破坏,其数量及功能下降可导致ITP发生<sup>[2-3]</sup>。

多项研究发现,标准剂量组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)具有抑制肿瘤细胞增殖、阻滞细胞周期的作用<sup>[4-6]</sup>,在低剂量时则具有免疫调节活性。低剂量HDACi可抑制幼年特发性关节炎、炎症性肠病、结肠炎动物模型炎症反应,调节免疫细胞因子活性<sup>[7]</sup>;低剂量HDACi亦可上调Foxp3<sup>+</sup>自然调节性T细胞(nTreg)数量与功能,减轻移植物抗宿主病(GVHD)反应<sup>[8]</sup>。目前低剂量HDACi在ITP中研究尚少,在本研究中我们就低剂量HDACi西达本胺对ITP小鼠模型和患者进行体内和体外研究,探讨低剂量西达本胺在ITP中的潜在的治疗价值和作用机制。

## 对象与方法

1. 被动ITP小鼠模型构建:以健康雄性成年C57BL/6J小鼠为研究对象,6~8周龄,中位血小板计数为 $1\ 040(880\sim 1\ 247)\times 10^9/L$ ,建模前对照组和治疗组两组血小板基线水平差异无统计学意义,给予静脉注射抗血小板单克隆抗体(大鼠抗小鼠CD41,克隆号MWRG30,美国BD公司产品),初始剂量为0.3 mg/kg体重,随访剂量为每36 h 0.1 mg/kg。如未经治疗,ITP被动模型小鼠血小板减少持续时间5~8 d。在第1次静脉注射抗血小板单克隆抗体的同时,对被动ITP小鼠给予西达本胺(0、0.01、0.1、0.5、5 mg/kg每周2次)灌胃。股静脉采血,每周2次检测小鼠血常规,探索西达本胺最佳治疗剂量。

2. 主动ITP动物模型构建:以健康成年C57BL/6J小鼠血小板作为供者免疫CD61敲除C57BL/6小鼠,使得CD61基因敲除C57BL/6小鼠持续获得对

正常血小板的免疫杀伤反应,然后取CD61基因敲除鼠的脾细胞,植入接受过放疗的严重免疫缺陷(SCID)鼠体内,使小鼠免疫系统持续产生致病性抗体,从而构建出能产生自发免疫的ITP主动模型。ITP主动模型小鼠能够较好地模拟人体ITP的发病过程并具有ITP的临床特征,如未经治疗,ITP主动模型血小板减少持续时间为28~35 d。然后,将主动ITP模型小鼠分为对照组与治疗组(两组基线血小板水平差异无统计学意义)。对照组给予磷酸缓冲盐溶液(PBS)灌胃,考虑主动ITP模型相对于被动ITP模型免疫性血小板减少机制更为复杂,治疗组在建模同时给予低剂量西达本胺(0.1 mg/kg,每周3次)灌胃。小鼠股静脉采血,每周检测1次血常规。

主动ITP模型小鼠在建模成功后尾静脉采血,ELISA法检测治疗组及对照组小鼠血清IL-6水平,发现两组之间差异无统计学意义。

建模4周后处死小鼠,制备小鼠脾细胞悬液,采用流式细胞术检测小鼠脾细胞中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>nTreg比例。摘眼球采血,收集血清,ELISA法检测治疗组及对照组小鼠血清IL-6水平。

3. 病例组:2015年9月至到2018年6月在山东大学齐鲁医院、济南市中心医院住院治疗的ITP患者13例,男6例,女7例,中位年龄33(22~65)岁,中位血小板计数为 $16(3\sim 22)\times 10^9/L$ 。所有患者均符合2009年美国血液学会ITP临床诊断标准<sup>[9]</sup>,包括新诊断ITP 2例、持续性ITP 2例、慢性ITP 8例(表1)。采样前至少1个月没有进行治疗且不伴有妊娠、糖尿病、高血压病、动脉粥样硬化、肥胖症、消化道溃疡、急慢性感染性疾病及自身免疫性疾病。

4. 健康对照组:选取15例健康志愿者作为健康对照组,男7例,女8例,中位年龄34(21~55)岁,中位血小板计数为 $196(129\sim 268)\times 10^9/L$ 。采集ITP患者及健康对照组的外周血5 ml,采用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(PBMC)。

5. PBMC体外培养体系及流式细胞术检测:将 $1\times 10^6$ 分离的PBMC细胞与RPMI 1640培养基共培

养,以 5 μg/ml 植物血凝素、5 ng/ml IL-2 刺激淋巴细胞体外生长,建立 PBMC 体外培养体系。

将 ITP 患者与健康对照组 PBMC 细胞与 0、1.0、10.0 nmol/L 西达本胺共培养,收集细胞用于流式细胞术检测。以 PEcy5-CD4、FITC-CD25、APC-Foxp3 单克隆抗体标记 Treg 细胞,流式细胞术检测 PBMC 细胞中 nTreg 细胞比例。

6. 低剂量西达本胺对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 的影响:以免疫磁珠法分选 ITP 患者 Treg 细胞及 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>效应 T 细胞 (Teff),将 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> Teff 加入 2.5 nmol/L 荧光染料 5,6-羧荧光素 (CFSE) 染色,按照 2×10<sup>5</sup>/孔种于圆底 96 孔板,培养体系中加入抗 CD3 抗体,抗 CD28 抗体 (1 nmol/L) 刺激淋巴细胞生长。将免疫磁珠法分离的 Treg 细胞按照与 Teff 细胞 1:4 的比例加入圆底 96 孔板共培养,加或不加低剂量西达本胺 (10 nmol/L) 干预。设置 Teff 细胞组、Treg+Teff 组、西达本胺+Treg+Teff 组,72 h 后分别行流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例。

7. 统计学处理:采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学数据分析,以 Kaplan-Meier 法计算生存期和出血相关死亡率等,并进行显著性检验。以 Mann Whitney U 检验或配对 t 检验比较两组之间差异是否有统计学意义,以 one-way ANOVA 检验多组之间差异是否有统计学意义,P<0.05 时认为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 低剂量西达本胺对被动 ITP 模型小鼠外周血小板水平的影响:建模第 120 h,0.1 mg/kg 西达本

胺治疗组外周血小板计数[(1198.00±82.61)×10<sup>9</sup>/L]明显高于对照组[(449.00±63.49)×10<sup>9</sup>/L]、0.01 mg/kg 组[(742.60±69.92)×10<sup>9</sup>/L]、0.5 mg/kg 组[(751.20±78.93)×10<sup>9</sup>/L]、5 mg/kg 组[(440.00±47.71)×10<sup>9</sup>/L] (F=7.822,P<0.01)。由此我们得出,0.1 mg/kg 是西达本胺最佳治疗剂量。

2. 低剂量西达本胺对主动 ITP 模型小鼠外周血小板水平的影响:建模第 7 天,主动 ITP 模型小鼠治疗组及对照组外周血小板水平均显著下降,治疗组 (n=12)、对照组 (n=10) 血小板计数分别为 (319.20±47.40)×10<sup>9</sup>/L、(244.00±66.50)×10<sup>9</sup>/L (P>0.05)。建模第 14 天,两组血小板水平降至最低,治疗组 (n=11) 血小板水平显著高于对照组 (n=8) [(166.40±29.70)×10<sup>9</sup>/L 对 (76.25±30.88)×10<sup>9</sup>/L,P<0.05];建模第 21 天,两组血小板水平均有轻度上升,治疗组 (n=11) 仍高于对照组 (n=7) [(319.10±61.71)×10<sup>9</sup>/L 对 (147.10±56.64)×10<sup>9</sup>/L,P<0.05] (图 1)。

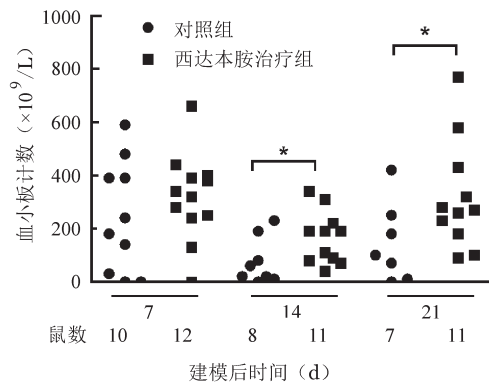


图 1 低剂量西达本胺对主动原发性免疫性血小板减少症模型鼠外周血小板水平的影响 (\*P<0.05)

表 1 13 例原发性免疫性血小板减少症 (ITP) 患者的临床特征

例号	年龄 (岁)	性别	血小板计数 (×10 <sup>9</sup> /L)	抗血小板抗体		既往主要治疗	出血症状
				GP II b/III a	GP I b/IX		
1	41	女	12	+	-	糖皮质激素,VCR	瘀斑,鼻出血
2	22	女	6	-	+	糖皮质激素,RTX	瘀斑,齿龈出血
3	37	女	25	+	-	糖皮质激素,rhTPO	瘀斑,瘀点
4	28	男	22	+	-	糖皮质激素,rhTPO,IVIG	瘀斑,瘀点
5	33	男	5	+	+	糖皮质激素,rhTPO,RTX	瘀斑,齿龈出血
6	45	女	32	-	-	糖皮质激素,IVIG,rhTPO,RTX	瘀点
7	52	女	14	-	+	糖皮质激素,VCR	瘀点,瘀斑
8	23	男	17	+	-	糖皮质激素,RTX	瘀斑
9	65	女	21	-	+	糖皮质激素,IVIG,rhTPO	鼻出血
10	47	男	16	+	-	糖皮质激素,RTX,达那唑	齿龈出血,鼻出血
11	29	女	8	+	+	糖皮质激素,RTX	泌尿生殖道出血,鼻出血
12	25	男	23	-	-	糖皮质激素,IVIG,rhTPO,RTX	瘀点
13	32	男	3	+	+	糖皮质激素,IVIG,rhTPO,RTX	瘀点,瘀斑,齿龈出血

注:GP:糖蛋白;IVIG:静脉丙种球蛋白;rhTPO:重组人促血小板生成素;RTX:利妥昔单抗;VCR:长春新碱;VDS:长春地辛

3. 低剂量西达本胺对主动ITP模型小鼠脾脏nTreg细胞的影响:低剂量西达本胺治疗4周,治疗组( $n=11$ )主动ITP模型鼠 $CD4^+CD25^+$ Treg细胞比例及数量均高于对照组( $n=5$ ) $[(8.25\pm 2.42)\%$ 对 $(3.58\pm 0.51)\%$ , $P=0.024]$ 。低剂量西达本胺治疗4周,治疗组( $n=11$ )主动ITP模型鼠 $CD4^+CD25^+$ Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞比例高于对照组( $n=5$ ) $[(3.35\pm 0.39\%)$ 对 $(1.99\pm 0.30)\%$ , $P=0.008]$ 。

4. 低剂量西达本胺对主动ITP模型小鼠血清IL-6水平的影响:低剂量西达本胺治疗4周,治疗组( $n=11$ )主动ITP模型鼠IL-6水平低于对照组( $n=5$ ) $[(18.50\pm 8.22)$ pg/ml对 $(35.31\pm 16.74)$ pg/ml, $P=0.005]$ 。

5. 低剂量西达本胺对主动ITP模型小鼠出血相关死亡率的影响:低剂量西达本胺治疗组主动ITP模型小鼠血小板水平较对照组大幅上升,治疗组因血小板减低、脏器出血导致的死亡率明显下降。参照2016年原发免疫性血小板减少症出血评分系统,去除年龄因素,治疗组中位出血评分4(2~8)分,对照组中位出血评分7(5~8)分。治疗4周,治疗组、对照组死亡率分别为8.3%(1/12)、50%(5/10)( $P=0.022$ )。

6. 低剂量西达本胺对ITP患者外周血PBMC中nTreg细胞的影响:分离ITP患者及健康对照组外周血PBMC,给予植物血凝素、IL-2刺激淋巴细胞生长并进行体外培养,分别给予0、1.0、10.0 nmol/L西达本胺治疗72 h。ITP患者PBMC培养体系在西达本胺治疗72 h后,nTreg细胞比例显著上升。1 nmol/L西达本胺治疗后ITP患者与未应用西达本胺组PBMC中nTreg细胞比例分别为 $(1.69\pm 0.43)\%$ 、 $(1.41\pm 0.45)\%$ ( $P=0.07$ )。10 nmol/L西达本胺治疗后ITP患者PBMC中nTreg细胞比例高于未应用西达本胺组(0 nmol/L) $[(2.44\pm 0.54)\%$ 对 $(1.41\pm 0.45)\%$ , $P=0.016]$ 。健康对照组PBMC加入1.0、10.0 nmol/L西达本胺治疗72 h,nTreg细胞比例分别为 $(10.05\pm 2.32)\%$ 、 $(9.14\pm 2.93)\%$ ,与0 nmol/L西达本胺组 $[(7.71\pm 2.20)\%]$ 比较,差异均无统计学意义( $P$ 值分别为0.066和0.456)。

7. 流式细胞术检测低剂量西达本胺对Treg细胞抑制Teff细胞增殖的影响:Treg细胞体外单独培养72 h、Treg细胞与Teff细胞以1:4比例共培养72 h、Treg细胞与Teff细胞以1:4比例共培养并给予低剂量西达本胺(10 nmol/L)治疗72 h,三组增殖期Teff细胞占比分别为 $(45.90\pm 2.18)\%$ 、 $(40.21\pm$

$1.73)\%$ 、 $(30.26\pm 1.88)\%$ ( $P=0.002$ ),提示低剂量西达本胺体外治疗显著增强了Treg细胞对Teff细胞增殖的抑制作用。

## 讨 论

ITP发病机制主要包括:①体液和细胞免疫异常共同介导的血小板破坏过多;②自身免疫紊乱引起的巨核细胞成熟障碍和血小板生成不足。ITP的治疗方案选择主要包括减少免疫性血小板破坏和促进血小板生成释放两个方面。随着对ITP的发病机制研究不断深入,糖皮质激素、CD20单抗、TPO受体激动剂应用于ITP的治疗并取得了一定疗效。然而仍有部分患者对上述治疗不能耐受、无效或复发,随时可能出现重要脏器出血而危及生命<sup>[10]</sup>。

nTreg细胞具有免疫抑制功能,能与辅助性T细胞和抗原递呈细胞(APC)相互作用,维持自身免疫耐受,减少自身免疫性疾病发生。Treg作为重要的免疫调节细胞可抑制多种免疫细胞的活性,来维持机体自身的免疫耐受。而在ITP患者中存在Treg的数量减少、功能减弱,自身活化的B细胞或Th细胞逃脱Treg的免疫监管,不断活化并产生自身抗血小板抗体,并加强了单核巨噬系统对血小板的破坏<sup>[11]</sup>,成为ITP发生的一个重要机制。

有学者报道,ITP患者树突状细胞诱导Treg细胞维护自身免疫耐受性的能力下降<sup>[12]</sup>。研究发现活动性ITP患者和非缓解ITP患者Th17/Treg细胞比值上升,Treg细胞数量下降<sup>[13]</sup>。对ITP小鼠进行研究发现,ITP小鼠 $CD4^+CD25^+$ T细胞中IL-10、TGF $\beta$ 和Foxp3基因的mRNA表达显著下降<sup>[3]</sup>。有学者分离ITP患者Treg细胞进行培养发现,ITP患者Treg细胞分泌抑制性细胞因子IL-10水平显著下降<sup>[14]</sup>。近年来研究发现,除抑制Teff细胞增殖外,Treg细胞还可以抑制B细胞的功能从而减少抗血小板自身抗体的产生<sup>[15]</sup>。以提高Treg细胞的数量与功能作为ITP治疗的靶点具有广阔的应用前景。

本研究以主动ITP模型小鼠为研究对象,给予低剂量西达本胺治疗后,模型鼠脾细胞中nTreg细胞比例上升,外周血血小板计数显著提高,出血相关死亡率显著下降。一方面佐证了Treg细胞在ITP发病过程中的重要作用,一方面提示低剂量西达本胺治疗可显著提高Treg细胞水平,提高免疫耐受,减少免疫病理机制相关血小板损害,对ITP有较好的治疗效果。

IL-6可由单核细胞、T细胞、B细胞等多种细胞

产生,可以诱导B细胞增殖分化,并且可以诱导T细胞的分化。IL-6作为炎性介质及MHC II抗原诱导物,降低CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg功能<sup>[16]</sup>,参与自身免疫疾病发生、发展的全过程。研究发现ITP患者与对照组相比,IL-6显著升高<sup>[17]</sup>。本研究发现低剂量西达本胺治疗后,ITP主动模型小鼠IL-6水平显著下降,提示低剂量西达本胺治疗可降低IL-6水平,减少免疫病理机制相关血小板损害,对ITP有治疗作用。

为进一步验证低剂量西达本胺对ITP患者有无治疗作用,本研究以ITP患者及健康对照组为研究对象,将ITP患者及健康对照组外周血PBMC分离并体外培养,给予不同浓度西达本胺治疗72h。研究发现,ITP患者PBMC培养体系在低剂量西达本胺治疗72h后,nTreg细胞比例显著上升。提示低剂量西达本胺可以诱导外周血PBMC细胞nTreg细胞生成。进一步分离Treg细胞以及CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>Teff细胞,将Treg细胞与Teff细胞以1:4比例共培养,发现低剂量西达本胺治疗后,处于增殖期的Teff细胞比例显著降低,提示低剂量西达本胺治疗亦显著提高了Treg细胞的免疫抑制作用,对ITP具有良好的治疗作用。

本研究结果显示,低剂量西达本胺可促进nTreg生成、增强Treg细胞的免疫抑制功能、降低IL-6水平,促进免疫耐受,对ITP有较好的治疗作用。

#### 参考文献

- Abrahamson PE, Hall SA, Feudjo-Tepie M, et al. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura among adults: a population-based study and literature review [J]. *Eur J Haematol*, 2009, 83(2): 83-89. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2009.01247.x.
- Ji L, Zhan Y, Hua F, et al. The ratio of Treg/Th17 cells correlates with the disease activity of primary immune thrombocytopenia [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50909. DOI: 10.1371/journal.pone.0050909.
- 张萍,刘红云,刘晓燕,等.调节性T细胞在小鼠ITP发病中的作用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(3): 784-787. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2016.03.028.
- Yuan XG, Huang YR, Yu T, et al. Chidamide, a histone deacetylase inhibitor, induces growth arrest and apoptosis in multiple myeloma cells in a caspase-dependent manner [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(1): 411-419. DOI: 10.3892/ol.2019.10301.
- Zhao B, He T. Chidamide, a histone deacetylase inhibitor, functions as a tumor inhibitor by modulating the ratio of Bax/Bcl-2 and P21 in pancreatic cancer [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(1): 304-310. DOI: 10.3892/or.2014.3595.
- 李艳莹,王艳芳,王晶,等.西达本胺对人B淋巴瘤细胞株的作用及其机制研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(4): 893-899.
- Vojinovic J, Damjanov N. HDAC inhibition in rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis [J]. *Mol Med*, 2011, 17(5-6): 397-403. DOI: 10.2119/molmed.2011.00030.
- Reddy P, Maeda Y, Hotary K, et al. Histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid reduces acute graft-versus-host disease and preserves graft-versus-leukemia effect [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(11): 3921-3926. DOI: 10.1073/pnas.0400380101.
- Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group [J]. *Blood*, 2009, 113(11): 2386-2393. DOI: 10.1182/blood-2008-07-162503.
- Wong RSM, Saleh MN, Khelif A, et al. Safety and efficacy of long-term treatment of chronic/persistent ITP with eltrombopag: final results of the EXTEND study [J]. *Blood*, 2017, 130(23): 2527-2536. DOI: 10.1182/blood-2017-04-748707.
- Cheng L, Liu C, Li F, et al. The prediction value of Treg cell subtype alterations for glucocorticoid treatment in newly diagnosed primary immune thrombocytopenia patients [J]. *Thromb Res*, 2019, 181: 10-16. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.07.001.
- Catani L, Sollazzo D, Trabaneli S, et al. Decreased expression of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 in dendritic cells contributes to impaired regulatory T cell development in immune thrombocytopenia [J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(1): 67-78. DOI: 10.1007/s00277-012-1556-5.
- 曹江,李秀芹,陈翀,等.免疫性血小板减少症患者外周血Th17/Treg细胞比率失衡的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(3): 730-733.
- Tang M, Cheng L, Li F, et al. Transcription factor IRF4 dysfunction affects the immunosuppressive function of treg cells in patients with primary immune thrombocytopenia [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 1050285. DOI: 10.1155/2019/1050285.
- André S, Tough DF, Lacroix-Desmazes S, et al. Surveillance of antigen-presenting cells by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in autoimmunity: immunopathogenesis and therapeutic implications [J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(5): 1575-1587. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080987.
- Wan S, Xia C, Morel L. IL-6 produced by dendritic cells from lupus-prone mice inhibits CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cell regulatory functions [J]. *J Immunol*, 2007, 178(1): 271-279. DOI: 10.4049/jimmunol.178.1.271.
- Talaat RM, Elmaghraby AM, Barakat SS, et al. Alterations in immune cell subsets and their cytokine secretion profile in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 176(2): 291-300. DOI: 10.1111/cei.12279.

(收稿日期:2019-11-08)

(本文编辑:徐茂强)