

二甲双胍通过影响 F-actin 重构抑制未成熟树突状细胞的免疫功能

刘鲜梅,程芝梅,周恩劫,李隽永,金貽俊,周黎明,许敏

(贵州医科大学附属医院介入科,贵阳 550004)

摘要 **目的** 探究二甲双胍对未成熟树突状细胞(imDCs)免疫功能的影响及机制。**方法** 不同浓度二甲双胍处理小鼠骨髓来源的 imDCs,通过细胞凋亡及细胞活性实验确定二甲双胍在本研究中的作用浓度和时间。用抗原内吞实验分析二甲双胍对 imDCs 抗原捕获能力的影响,并进一步利用流式细胞技术、激光共聚焦荧光显微镜及 Western blot 实验分析 imDCs 细胞表面的白细胞分化抗原 205(CD205)的表达、纤维状肌动蛋白(F-actin)的含量及其调控机制。**结果** 凋亡和细胞活性实验确定本研究中二甲双胍的处理浓度为 1、2、4 mmol/L,处理时间为 24 h。二甲双胍能抑制 imDCs 的抗原捕获能力,下调其细胞表面 CD205 的表达,抑制 RhoA-ROCK1-LIMK1-Cofilin 信号通路影响 F-actin 的聚合,干扰 imDCs 细胞骨架的动态重构。**结论** 二甲双胍能通过下调 CD205 的表达及扰乱 F-actin 重构抑制 imDCs 抗原捕获能力。

关键词 未成熟树突状细胞;二甲双胍;抗原捕获能力;F-actin 重构;CD205;RhoA-ROCK-LIMK-Cofilin 信号通路

中图分类号 R 392.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0480-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.013

自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)是机体的免疫平衡被打破,免疫反应过度增强引起的疾病状态。研究^[1-2]表明,二甲双胍能显著抑制 AID 组织微环境内的高炎症状态,缓解 AID 动物的临床症状,表明二甲双胍具有显著的抗炎作用,可能在 AID 中有积极的治疗作用和应用潜力,但仍需要更多的研究证据支撑。

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是体内功能最为强大的专职抗原提呈细胞,包括未成熟树突状细胞(imature DCs, imDCs)和成熟树突状细胞(mature DCs, mDCs)两个功能状态^[3]。imDCs 发挥抗原捕获作用,捕获抗原后,imDCs 发育为 mDCs,具有强大的抗原提呈能力,刺激 T 细胞活化及向不同的亚群分化,介导适应性免疫应答^[3]。imDCs 对抗原的有效摄取是启动 DCs 活化成熟并有效激活适应性免疫应答的先决条件。研究^[4-6]表明,DCs 的过度

激活与 AID 发生发展呈正相关。二甲双胍在 AID 中的抗炎作用是否通过抑制 imDCs 抗原捕获能力,进而阻碍 DCs 分化成熟来实现的仍不清楚。本研究旨在探究二甲双胍对 imDCs 的抗原摄取能力的影响及其机制,为理解二甲双胍的抗炎作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 盐酸二甲双胍(货号:IM0140)购自北京索莱宝生物科技有限公司;重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rmGM-CSF)(货号:315-03)、重组小鼠白介素 4(recombinant mouse interleukin 4, rmIL-4)(货号:214-14)购自美国 Peprotech 公司;HyClone RPMI 1640 培养基(货号:SH30027.01)购自美国 Cytiva 公司;Gibco 胎牛血清(货号:A5256701)购自美国赛默飞世尔公司;青霉素-链霉素(货号:P1400)、红细胞裂解液(货号:R1010)、CCK-8 试剂盒(货号:CA1210)、4%PFA(货号:P1110)、10×多聚赖氨酸(货号:P2100)、抗荧光衰减封片剂(含 DAPI)(货号:S2110)、BCA 蛋白定量试剂盒(货号:PC0020)购自北京索莱宝生物科技有限公司;RIPA 裂解液(货号:

2025-12-27 接收

基金项目:贵州省科技计划项目(自然科学类)(编号:黔科合基础-ZK[2023]一般 402);贵州医科大学附属医院博士启动基金项目(编号:gyfybsky-2023-04);贵州医科大学附属医院国家自然科学基金培育计划项目(地区基金)(编号:gyfybsfc[2023]-22)

作者简介:刘鲜梅,女,主治医师;

许敏,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,通信作者,

E-mail: 411327391@qq.com

MA0152)、凋亡试剂盒(货号:MA0220)购自大连美伦生物技术有限公司;FITC-dextran(40 ku)(货号:HY-172163B)、罗丹明-鬼笔环肽(货号:HY-K0903)购自上海MEC公司;BD流式抗体BV421-CD205(货号:566376)购自上海优宁维生物科技股份有限公司;RhoA抗体(货号:ab87027)、ROCK1抗体(货号:ab45171)购自英国Abcam抗体公司;LIMK1抗体(货号:HA723020)购自杭州华安生物技术有限公司;Cofilin抗体(货号:66057-1-Ig)购自武汉Proteintech公司;磷酸化LIMK1(p-LIMK1)抗体(货号:AP0387)、HRP-GAPDH抗体(货号:AC054)购自武汉爱博泰克公司;磷酸化Cofilin(p-Cofilin)抗体(货号:3313)购自美国CST抗体公司。

1.1.2 动物及伦理 C57BL/6J小鼠20只,雄性6~8周龄,SPF级,购自贵州医科大学动物中心,所有动物根据贵州医科大学动物伦理委员会批准的动物实验指南的要求进行处理。伦理审批号为:2201198。

1.2 方法

1.2.1 小鼠骨髓来源的DCs的体外培养 取6~8周C57BL/6J小鼠共约20只,行颈椎脱臼法处死后放入75%的乙醇中消毒5~10 min,无菌术取出股骨及胫骨,剥除肌肉组织,剪去骨的两端,用1 mL注射器吸取无菌PBS反复冲洗骨髓腔直至骨变白。用吸管吹打冲洗下来的骨髓至完全分散,过无菌200目滤网去除杂质及组织碎片获得骨髓细胞悬液,1 000 r/min离心5 min,去上清液。以1:10的体积加入红细胞裂解液,室温放置2~4 min裂解红细胞,然后加入含10% FBS的RPMI1640终止裂解,洗涤2次后获得骨髓细胞。以 2×10^6 /mL的细胞浓度重悬于RPMI1640完全培养基(RPMI1640 + 10%胎牛血清 + 1%青霉素-链霉素)中,加入20 ng/mL rmGM-CSF和10 ng/mL rmIL-4,置于CO₂培养箱中培养,隔日半量换液并加入相应的细胞因子,至第7天收集悬浮细胞即为imDCs。

1.2.2 CCK-8试剂盒检测imDCs的细胞活性 收imDCs,调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL,加到96孔细胞培养板中,每孔80 μ L细胞悬液,加入二甲双胍(0、1、2、4、8 mmol/L)及用PBS补齐体积后,总体积100 μ L。0 mmol/L组为对照组,1、2、4、8 mmol/L组为处理组,不加细胞的完全培养基(100 μ L/孔)作为空白组,每次实验每组3个重复。二甲双胍处理24 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μ L,放入37 °C、5% CO₂培养箱中孵育4 h,酶标仪检测450 nm OD值,计

算细胞活力[细胞活性(%)=(处理组A值-空白组A值)/(对照组A值-空白组A值) \times 100%],进行统计分析。

1.2.3 细胞凋亡测定 二甲双胍(0、1、2、4、8 mmol/L)处理imDCs 24 h后,收集细胞,用预冷的PBS洗涤2次,根据凋亡试剂盒的操作方法分别加入10 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI,轻轻混匀,室温避光孵育15 min后,上流式细胞仪检测,用Flow Jo软件对数据进行分析。

1.2.4 imDCs的内吞能力检测 不同浓度的二甲双胍(0、1、2、4 mmol/L)处理imDCs,标记组别(后续实验组别同此):imDC+M0、imDC+M1、imDC+M2、imDC+M4,处理24 h后收集细胞,调整每组细胞浓度为 1×10^6 个/mL。将每组细胞悬液加入24孔细胞培养板,每孔0.5 mL,再加入0.5 mL FITC-Dextran(终浓度为1 mg/mL),混匀后,放入37 °C细胞培养箱中孵育2 h,同时设置未加颗粒组作为阴性对照。取另一24孔细胞培养板,加入细胞悬液,每孔0.5 mL,放置在冰上让细胞预冷30 min,然后加入0.5 mL FITC-Dextran(终浓度为1 mg/mL),混匀后,继续置于冰上孵育2 h。孵育结束后,收集细胞至1.5 mL EP管置于冰上,加入4% PFA 500 μ L固定细胞10 min,用PBS洗涤细胞2次,用预冷的PBS 300~500 μ L重悬细胞后上流式细胞仪检测,用Flow Jo软件对数据进行分析。

1.2.5 流式细胞技术检测CD205的表达 收集二甲双胍(0、1、2、4 mmol/L)处理后的imDCs,用PBS洗涤细胞2次,500 μ L 4% PFA固定细胞10 min。然后再用PBS洗涤细胞2次,弃上清液后用1% BSA(100 μ L)重悬细胞,加入BV421-CD205抗体,混匀后,室温孵育20 min。孵育结束后用PBS洗涤细胞2次,最后一次弃上清液后,用预冷PBS 300~500 μ L重悬细胞。流式细胞仪检测,结果通过Flow Jo软件进行分析。

1.2.6 激光共聚焦荧光显微镜检测imDCs内的纤维状肌动蛋白(filamentous actin, F-actin)和细胞形态 无菌盖玻片置于6孔培养板中,在37 °C条件下,用1 mg/mL的多聚赖氨酸包被盖玻片30 min。收集二甲双胍(0、4 mmol/L)处理后的imDCs,调整每组细胞浓度为 1×10^6 个/mL,往6孔板中(含盖玻片)加入细胞悬液0.5 mL,37 °C的细胞培养箱中孵育1 h,吸弃细胞悬液,然后用PBS轻轻洗涤盖玻片2次,去除未贴壁的细胞。imDCs经固定(4% PFA, 15

min)、透膜(0.1% TritonX-100, 5 min)、封闭(1% BSA, 20 min)后,用罗丹明标记鬼笔环肽工作液(用PBS, 1:200)对F-actin染色,室温避光孵育20 min。然后用PBS轻轻洗涤2次,用含荧光淬灭剂的DAPI工作液封片,透明指甲油固定后用激光共聚焦荧光显微镜摄取图片(拍摄过程中保证两组细胞的荧光强度和曝光时间一致)。用ImageJ软件对细胞的F-actin荧光强度和铺展面积进行分析。

1.2.7 流式细胞技术检测 imDCs 的 F-actin 含量 收集二甲双胍(0、4 mmol/L)处理后的 imDCs, PBS 洗涤细胞 2 次, 4% 多聚甲醛固定细胞 10 min 后, 用 0.1% Triton X-100 透膜 5 min, 再用 PBS 洗涤细胞 2 次。每组细胞中加入鬼笔环肽工作液(用 1% BSA, 1:100)100 μL 重悬细胞, 混匀后, 室温孵育 20 min。孵育结束后, PBS 洗涤细胞 2 次, 再用预冷的 PBS 300 ~ 500 μL 重悬细胞, 上流式细胞仪检测, 结果通过 Flow Jo 软件进行分析。

1.2.8 蛋白提取及 Western blot 实验 收集二甲双胍(0、1、2、4 mmol/L)处理后的 imDCs, 用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解液裂解细胞, 在 12 000 r/min、4 °C 下离心 10 min, 收集上清液即为提取到的总蛋白。用 BCA 蛋白定量试剂盒定量蛋白浓度, 95 °C 以上水浴 5 min, 使蛋白变性。用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白成分, 并转移到 0.45 μm 的 PVDF 膜上, 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h 后, 抗兔-RhoA、

ROCK1、p-LIMK1/LIMK1、p-Confilin/Confilin、GAPDH 抗体(一抗)4 °C 孵育过夜。TBST 洗涤后于室温孵育 HRP 标记的二抗 1 h, 再用 TBST 洗涤 3 次, Gene-sys 扫描仪扫描曝光, 条带灰度值用 ImageJ 分析。

1.3 统计学处理 本课题的所有实验数据均等于或大于 3 次独立生物学重复。实验结果以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)的形式表示, 两组间比较采用配对 *t*-test 对数据进行统计学分析, 多组间的比较采用单因素方差分析。利用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行分析及统计图绘制, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二甲双胍对 imDCs 凋亡和细胞活性的影响 在进行细胞功能实验之前, 本研究先用凋亡试剂盒和 CCK-8 试剂盒检测了二甲双胍对 DCs 细胞活力和凋亡的影响, 以确定在本研究中二甲双胍的使用浓度和处理时间。结果显示, 二甲双胍(1、2、4、8 mmol/L)处理 24 h 对 imDCs 的凋亡无明显影响(图 1A、1B, $P > 0.05$), 但 8 mmol/L 的二甲双胍处理 imDCs 24 h 使其细胞活性显著下降, 处理 48 h 后, 在各浓度条件下 imDCs 的细胞活性均出现显著下降(图 1C, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。因此, 本研究在后续的实验确定二甲双胍的使用浓度为 1、2、4 mmol/L, 处理时间为 24 h。

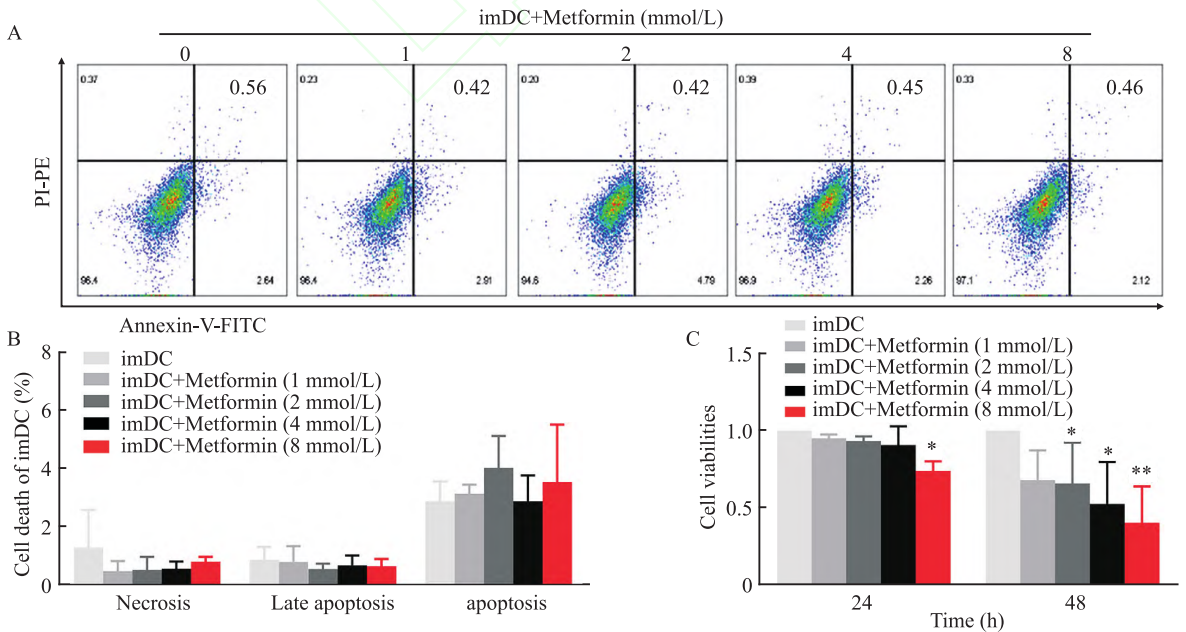


图 1 二甲双胍对 imDCs 凋亡及细胞活性的影响

Fig. 1 The effects of metformin on the cell apoptosis and viabilities of imDCs

A: The diagram of Flow cytometry; B: The corresponding statistical graph, $n=3$; C: Cell viabilities analysis of imDCs treated by metformin at different concentrations for 24 or 48 h, $n=5$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs imDC group.

2.2 二甲双胍对imDCs的内吞能力和CD205的表达的影响 imDCs分布在外周组织,其主要免疫功能是负责抗原摄取和抗原加工。本研究比较分析了不同浓度二甲双胍(0、1、2、4 mmol/L)处理后的imDCs对FITC-dextrans颗粒的内吞能力,结果显示,二甲双胍使imDCs的内吞能力以浓度依赖的方式显著下降(图2A, $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。CD205是一种细胞膜糖蛋白,在imDCs的细胞表面高表达,与imDCs的抗原捕获能力密切相关。因此,本研究进一

步用流式细胞技术检测了二甲双胍处理前后的imDCs细胞表面CD205的表达,显示4 mmol/L的二甲双胍使imDCs中的CD205的表达显著下降(图2B, $P<0.05$),提示二甲双胍能通过下调imDCs细胞表面CD205的表达使imDCs内吞能力下降。

2.3 二甲双胍对imDCs的F-actin含量的影响 imDCs的细胞骨架重构在维持imDCs正常的抗原捕获过程中发挥重要的调控作用。基于前述实验结果,二甲双胍严重损伤了imDCs的抗原捕获能力。

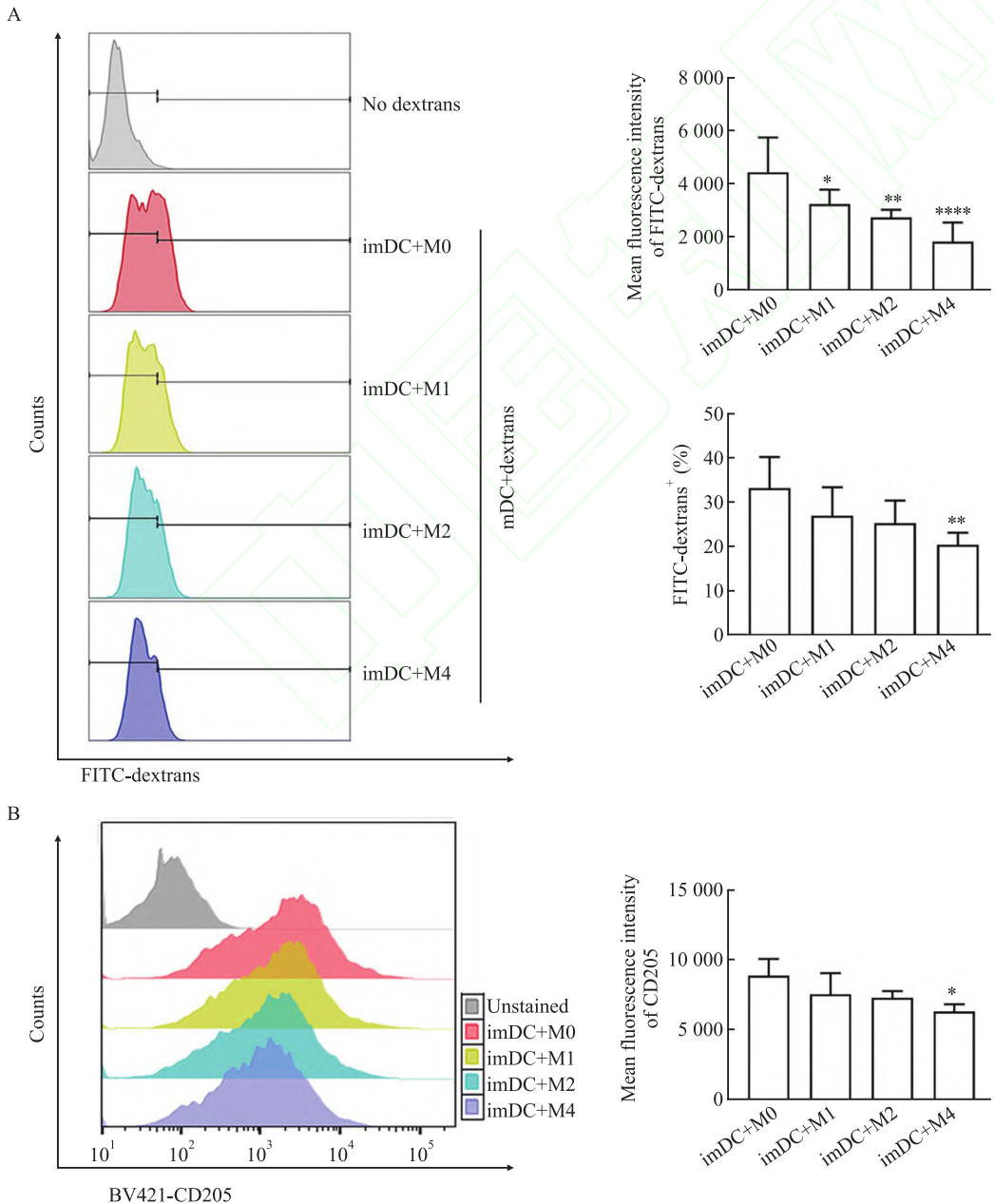


图2 二甲双胍对imDCs内吞能力及CD205的表达的影响

Fig. 2 The effects of metformin on the endocytosis abilities of imDCs and the expression of CD205

A: FITC-dextran endocytosis abilities of imDCs was measured by flow cytometry, $n = 5$; B: The expression of CD205 on imDCs treated with 4 mmol/L metformin and their fluorescence intensity and positive rate were detected by flow cytometry, $n = 3$; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$ vs imDC+M0 group.

本研究进一步检测了二甲双胍对 imDCs 的细胞形态和 F-actin 含量的影响。激光共聚焦荧光显微镜结果显示,二甲双胍对 imDCs 的细胞形态和铺展面积没有影响(图 3A、3B, $P > 0.05$),但使 imDCs 的 F-actin 的平均荧光强度明显减弱(图 3C, $P < 0.05$),提示二甲双胍能使 imDCs 内的 F-actin 含量下降。同时,流式细胞技术检测结果显示,在 4 mmol/L 的处理浓度下,二甲双胍使 imDCs 的 F-actin 含量明显减少(图 3D、3E, $P < 0.05$)。这些结果表明,二甲双胍能促进 imDCs 内 F-actin 的解聚。

2.4 二甲双胍对 RhoA-ROCK-LIMK-Cofilin 信号通路的影响 F-actin 的动态重构受到细胞骨架结合蛋白的复杂而有序地调控,其中 RhoA-ROCK-LIMK-Cofilin 通路参与调控 F-actin 的聚合和解聚。本研究结果显示,4 mmol/L 二甲双胍使 imDCs 内的

RhoA 和 ROCK1 的表达显著下降(图 4A、4C 和 4D, $P < 0.05$),抑制 LIMK1 和 Cofilin 的磷酸化,即 p-LIMK1/LIMK1 和 p-Cofilin/Cofilin 下降(图 4B、4E 和 4F, $P < 0.05$)。切割蛋白 Cofilin(非磷酸化)的主要功能是将 G-actin 从 F-actin 上切割下来,导致 F-actin 的解聚。这些结果表明,二甲双胍能抑制 imDCs 的 RhoA-ROCK1- LIMK1-Cofilin 信号通路,使其 F-actin 解聚增多,干扰 imDCs 的细胞骨架的正常重构,这可能也是二甲双胍使 imDCs 吞噬能力受损的原因。

3 讨论

在 AID 的发病机制中,DCs 的异常活化(mDCs 增多)是促进自身反应性 T 细胞(Th1、Th17 等)分化增殖的重要原因^[4-6]。mDCs 通过高表达 MHC-II 分子及共刺激分子(如 CD80/CD86),异常提呈自身抗

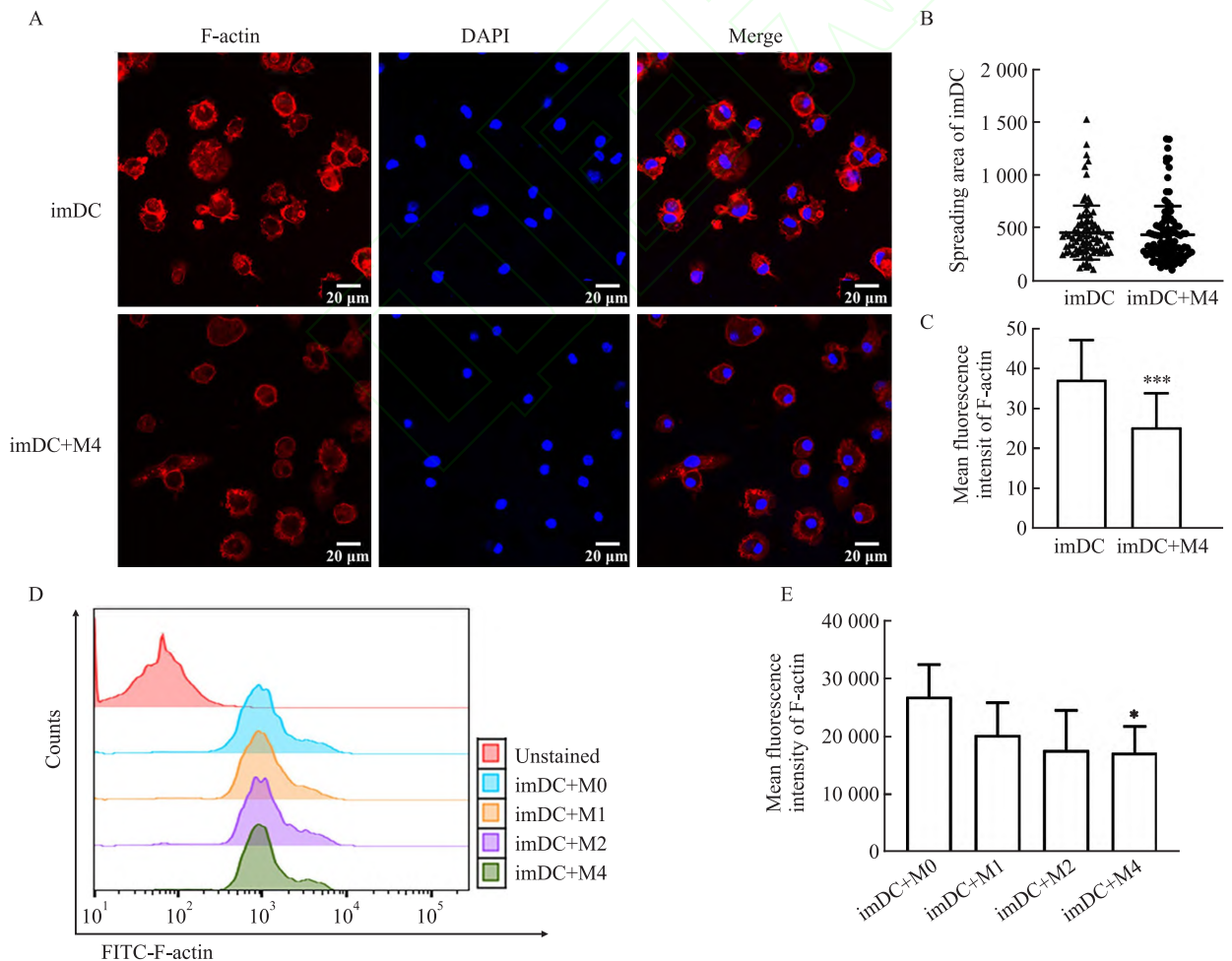


图3 二甲双胍对 imDCs 的 F-actin 含量的影响

Fig. 3 The effects of metformin on the F-actin content of imDCs

A: Images of imDCs captured by confocal laser fluorescence microscope; B: The analysis of the imDCs' spreading area, counted cells: $n = 100$; C: The mean fluorescence intensity analysis of F-actin in imDCs, counted cells: $n = 100$; D: The diagram of Flow cytometry; E: The corresponding statistical graph, $n = 5$; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs imDC+M0 group.

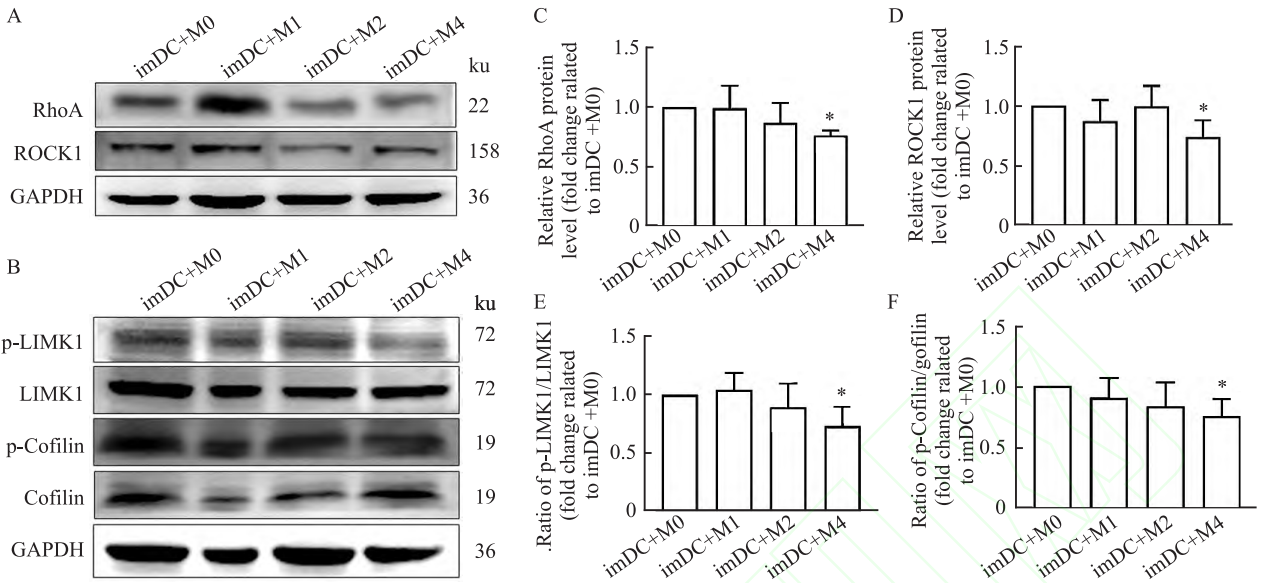


图4 二甲双胍对imDCs的RhoA-ROCK1-LIMK1-Cofilin信号通路的影响

Fig. 4 The effects of metformin on the RhoA-ROCK1-LIMK1-Cofilin signaling pathway in imDCs

A, B: Western blot was performed to detect the expression of RhoA, ROCK1, p-LIMK1, LIMK1, p-Cofilin and Cofilin; C-E and F: The corresponding statistical graphs, $n=3$ or 4 ; * $P<0.05$ vs imDC+M0 group.

原,驱动Th17细胞分化,同时抑制 T_{reg} 的分化增殖及功能,使Th17/ T_{reg} 失衡导致组织内高炎症状态,促进靶器官损伤^[6]。这表明,DCs在促进AID的发生发展过程中发挥不可忽视的作用。有研究^[2]表明,二甲双胍能显著抑制AID组织微环境的高炎症状态,其中大多数研究关注的是二甲双胍对T细胞亚群(Th1、T17、 T_{reg} 等)的直接调控作用,而忽视了DCs在激活T细胞并介导T细胞向不同亚群分化中的作用,故而极少研究二甲双胍对DCs的直接靶向作用。本课题组前期的研究^[7]表明,二甲双胍能抑制DCs的分化成熟,诱导其向免疫耐受表型转化,介导 T_{reg} 分化增殖。且有研究^[8-9]表明,在实验性自身免疫性脑脊髓炎和类风湿关节炎模型中,清除过度活化的DCs可显著减轻疾病严重程度。由此可见,二甲双胍也可能通过调控DCs的表型功能在AID中发挥抗炎作用。

imDCs捕获抗原是其活化并向免疫原性表型(mDCs)转化的关键始动环节。未接受抗原刺激或不能有效摄取抗原情况下,imDCs不表达或低表达MHC-II和共刺激分子(CD80、CD86、CD40),它们不能刺激T细胞活化,而是通过诱导T细胞失能或 T_{reg} 增多来发挥介导免疫耐受的作用^[10]。基于此,本研究探索了二甲双胍对imDCs的抗原摄取能力影响,解析其与DCs分化成熟抑制的相关性。受体介导的内吞作用是imDCs捕获抗原的主要方式之一^[11]。

通过内吞实验,本研究表明,二甲双胍能显著抑制imDCs的抗原摄取能力。同时,二甲双胍还能显著下调imDCs表面的CD205的表达,一种与DCs内吞抗原相关的甘露糖受体^[12]。这些研究结果提示,二甲双胍能抑制DCs活化的始动环节——imDCs对抗原的有效摄取,影响imDCs向mDCs的发育成熟及其免疫功能,进而不能有效刺激自身反应性T细胞的分化增殖及激活促炎性免疫反应,在AID中发挥抗炎作用。

ImDCs内吞抗原的过程受到细胞骨架(F-actin)的动态重构调控,包括从抗原识别到吞噬杯、胞饮杯的形成及闭合,再到吞噬体或胞饮体形成等的系列动态过程^[11]。研究^[13]表明,二甲双胍能通过激活AMPK调节Rho家族小G蛋白的活性,调控F-actin的动态重构,继而影响细胞的生物学功能。Cofilin是一种F-actin切割蛋白,包括功能失活的磷酸化(p-Cofilin)和有生物功能的非磷酸化(Cofilin)状态,受到RhoA-ROCK-LIMK信号通路的调控。Cofilin能将肌动蛋白单体(G-actin)从F-actin的负极上游离下来,促进F-actin解聚,因此,p-Cofilin与Cofilin的比值越小,F-actin解聚越多^[14-15]。本研究表明,二甲双胍能明显抑制imDCs内RhoA-ROCK1-p-LIMK1/LIMK1-p-Cofilin/Coiflin信号通路,使p-Cofilin/Coiflin下降,促进F-actin解聚,使F-actin含量显著减少。这表明,二甲双胍能扰乱imDCs内F-actin的动态重

构,可能影响 imDCs 摄取抗原过程中“吞噬杯”和“吞噬体”的形成以及抗原向胞内内陷等过程,使其内吞能力下降。当然,其中更深层次的调控作用和机制还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Sun M, Liu H, Ju H, et al. Metformin suppresses gammadelta T17 cell differentiation alleviating DSS-induced colitis [J]. *Immunol Res*, 2025, 73 (1) : 49. doi: 10.1007/s12026-025-09601-0.
- [2] Gilbert E A B, Livingston J, Flores E G, et al. Metformin treatment reduces inflammation, dysmyelination and disease severity in a mouse model of multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Brain Res*, 2024, 1822: 148648. doi:10.1016/j.brainres.2023.148648.
- [3] Cabeza-Cabrero M, Cardoso A, Minutti C M, et al. Dendritic cells revisited [J]. *Annu Rev Immunol*, 2021, 39: 131-66. doi: 10.1146/annurev-immunol-061020-053707.
- [4] Xian H, Watari K, Ohira M, et al. Mitochondrial DNA oxidation propagates autoimmunity by enabling plasmacytoid dendritic cells to induce T_{FH} differentiation [J]. *Nat Immunol*, 2025, 26 (7) : 1168-81. doi:10.1038/s41590-025-02179-7.
- [5] Yuan B, Wang Y, Chu Y, et al. Do the monocyte-derived dendritic cells exert a pivotal role in the early onset of experimental autoimmune uveitis? [J]. *BMC Ophthalmol*, 2025, 25(1): 165. doi:10.1186/s12886-025-04014-x.
- [6] Gaudenzi C, Schioppa T, Passari M, et al. Extracellular microRNAs induce dendritic cell-dependent joint inflammation and potentiate osteoclast differentiation *via* TLR7/8 engagement [J]. *J Autoimmun*, 2024, 145: 103189. doi: 10.1016/j.jaut.2024.103189.
- [7] Liu X, Yu P, Xu Y, et al. Metformin induces tolerogenicity of

dendritic cells by promoting metabolic reprogramming [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80 (10) : 283. doi: 10.1007/s00018-023-04932-3.

- [8] Moorman C D, Yu S, Briseno C G, et al. CAR-T cells and CAR-Tregs targeting conventional type-1 dendritic cell suppress experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1235222. doi:10.3389/fimmu.2023.1235222.
- [9] Umbreen H, Zhang X, Tang K T, et al. Regulation of myeloid dendritic cells by synthetic and natural compounds for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24 (1) : 238. doi:10.3390/ijms24010238.
- [10] Bosteels V, Janssens S. Striking a balance: new perspectives on homeostatic dendritic cell maturation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2025, 25(2): 125-40. doi:10.1038/s41577-024-01079-5.
- [11] Mylvaganam S, Freeman S A, Grinstein S. The cytoskeleton in phagocytosis and macropinocytosis [J]. *Curr Biol*, 2021, 31 (10) : R619-32. doi:10.1016/j.cub.2021.01.036.
- [12] Shrimpton R E, Butler M, Morel A S, et al. CD205 (DEC-205): a recognition receptor for apoptotic and necrotic self [J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(6): 1229-39. doi:10.1016/j.molimm.2008.11.016.
- [13] Szejder M, Rachubik P, Rogacka D, et al. Metformin reduces TRPC6 expression through AMPK activation and modulates cytoskeleton dynamics in podocytes under diabetic conditions [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(3) : 165610. doi:10.1016/j.bbadis.2019.165610.
- [14] Glotfelty E J, Tovar-Y-Romo L B, Hsueh S C, et al. The RhoA-ROCK1/ROCK2 pathway exacerbates inflammatory signaling in immortalized and primary microglia [J]. *Cells*, 2023, 12 (10) : 1367. doi:10.3390/cells12101367.
- [15] Ostrowska Z, Moraczewska J. Cofilin-a protein controlling dynamics of actin filaments [J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2017, 71(0): 339-51. doi: 10.5604/01.3001.0010.3818.

Metformin inhibits the immune functions of immature dendritic cells by regulating F-actin remodeling

Liu Xianmei, Cheng Zhimei, Zhou Enjie, Li Juanyong, Jin Yijun, Zhou Liming, Xu Min

(Department of Interventional Radiology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

Abstract Objective To investigate the effects of metformin on the immune functions of immature dendritic cells (imDCs) and the underlying mechanisms. **Methods** Mouse bone marrow-derived imDCs were treated with different concentrations of metformin. The working concentration and treatment time of metformin in this study were determined based on the results of cell apoptosis and cell viability assays. The effects of metformin on the phagocytic capacity of imDCs was evaluated using an antigen endocytosis assay. The expression of cluster of differentiation 205 (CD205), the polymerization of filamentous actin (F-actin), and the underlying regulatory mechanisms were investigated through flow cytometry, laser confocal fluorescence microscopy, and Western blot. **Results** The working concentrations of metformin were 1, 2, 4 mmol/L for 24 h determined by the apoptosis and cell viability assays.

Functional study of *UFL1* in maintaining genomic stability in prostate cancer cells

Ma Luyao¹, Wang Hao^{1,2}

(¹ School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001; ² Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230001)

Abstract **Objective** To explore the function and role of *UFL1* in maintaining the genomic stability of prostate cancer (PCa) cells. **Methods** The differentially expressed genes in the two groups of data with high and low PCa aneuploidy levels were analyzed using bioinformatics and RNA-seq. Gene set enrichment analysis (GSEA) was conducted to identify biological processes associated with *UFL1*. Functional assays, including immunofluorescence, CCK-8, colony formation, wound healing, and apoptosis assays, were employed to evaluate the effects of *UFL1* on the mitotic progression, proliferation, migration, and apoptosis of PCa cells. **Results** Integrated bioinformatics and RNA-seq analyses identified that *UFL1* showed low expression in PCa tissues and cell lines with high genomic instability characteristics. GSEA further indicated an association between *UFL1* and mitotic biological processes. Subsequent immunofluorescence experiments demonstrated that *UFL1* depletion increased the frequency of chromosomal segregation errors during mitosis in PCa cells. Functional *in vitro* assays, including CCK-8, colony formation, wound healing, and apoptosis analysis, consistently revealed that after the knockdown of *UFL1* in PCa cells, the proliferation activity and migration ability of the cells showed a weakened trend, while the apoptosis rate showed an upward trend. **Conclusion** *UFL1* maintains genomic stability by precisely regulating the mitotic process of PCa cells, thereby promoting the proliferation of PCa cells.

Key words *UFL1*; mitosis; chromosomal segregation; genomic instability; chromosomal instability; prostate cancer

Fund program Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2022AH020079)

Corresponding author Wang Hao, E-mail: demo@ustc.edu.cn

上接第 页

Metformin significantly suppressed the phagocytic capacity of imDCs, down-regulated the expression of the mannose receptor CD205 on the cell surface, which was closely associated with phagocytic function; Metformin inhibited the RhoA-ROCK1-LIMK1-Cofilin signaling pathway, which inhibited the polymerization of F-actin and disturbed its dynamic remodeling of imDCs. **Conclusion** Metformin can inhibit the expression of CD205 and disrupt the remodeling of F-actin, thereby suppressing the antigen-capturing capacity of imDCs.

Key words immature dendritic cells; metformin; antigen capturing ability; F-actin remodeling; CD205; RhoA-ROCK-LIMK-Cofilin pathway

Fund program Scientific and Technological Project of Guizhou Province, (No. Qiankehe base-ZK[2023] general 402); Doctoral Start-up Foundation of Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, (No. gyfybsky-2023-04); National Natural Science Foundation Incubation Plan of the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, (No. gyfynsc[2023]-22)

Corresponding author Xu Min, E-mail: 411327391@qq.com