

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 中的抗炎作用是否是通过抑制 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)、重组小鼠白细胞介素 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-dextrans(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,体质量(20±3)g,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周龄C57BL/6J小鼠共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 个/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 收集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 μL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 μL。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 μL/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 μL,放入37 °C、5% CO₂

培养箱中孵育4 h,酶标仪检测450 nm A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)×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 μL Annexin V-FITC和5 μL 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)为: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-Dextrans(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-Dextrans(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 μL固定细胞10 min,用PBS洗涤细胞2次,用预冷的PBS 300~500 μL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 μL 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 μL)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 μL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,Genesys扫描仪扫描曝光,条带灰度值用ImageJ分析。

1.3 统计学处理 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试剂盒检测二甲双胍对DCs细胞活性和凋亡的影响,以确定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, P<0.01)。因此,本研究在后续的实验确定二甲双

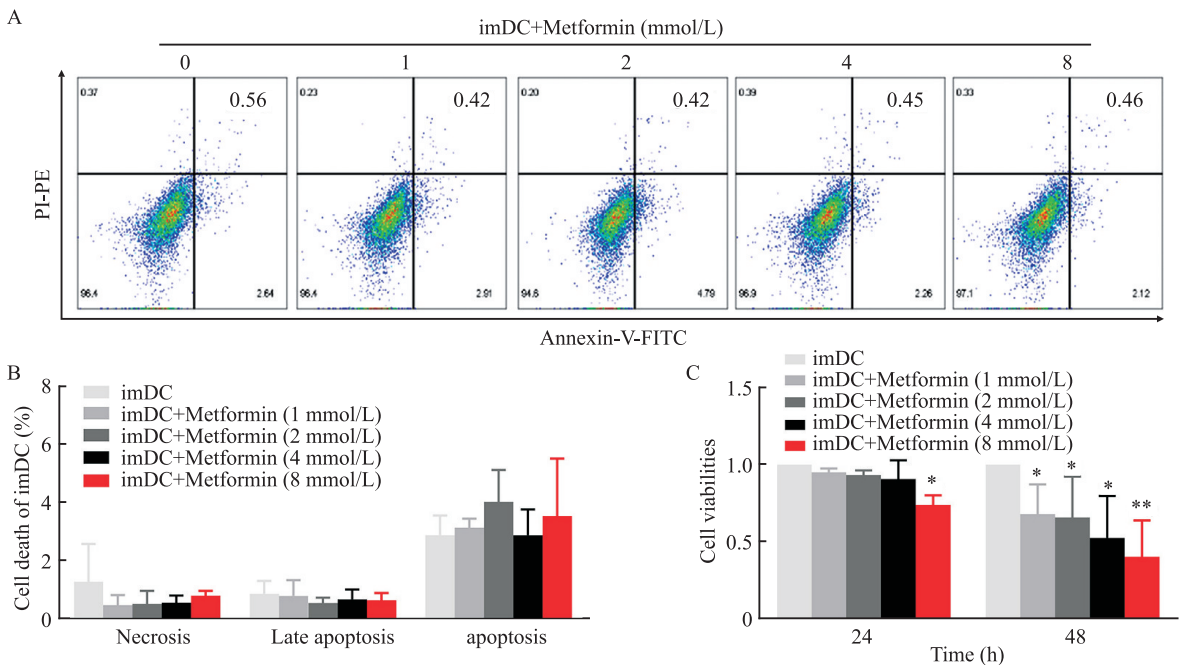


图1 二甲双胍对imDCs凋亡及细胞活性的影响

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.

胍的使用浓度为1、2、4 mmol/L,处理时间为24 h。

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, $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.0001$)。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

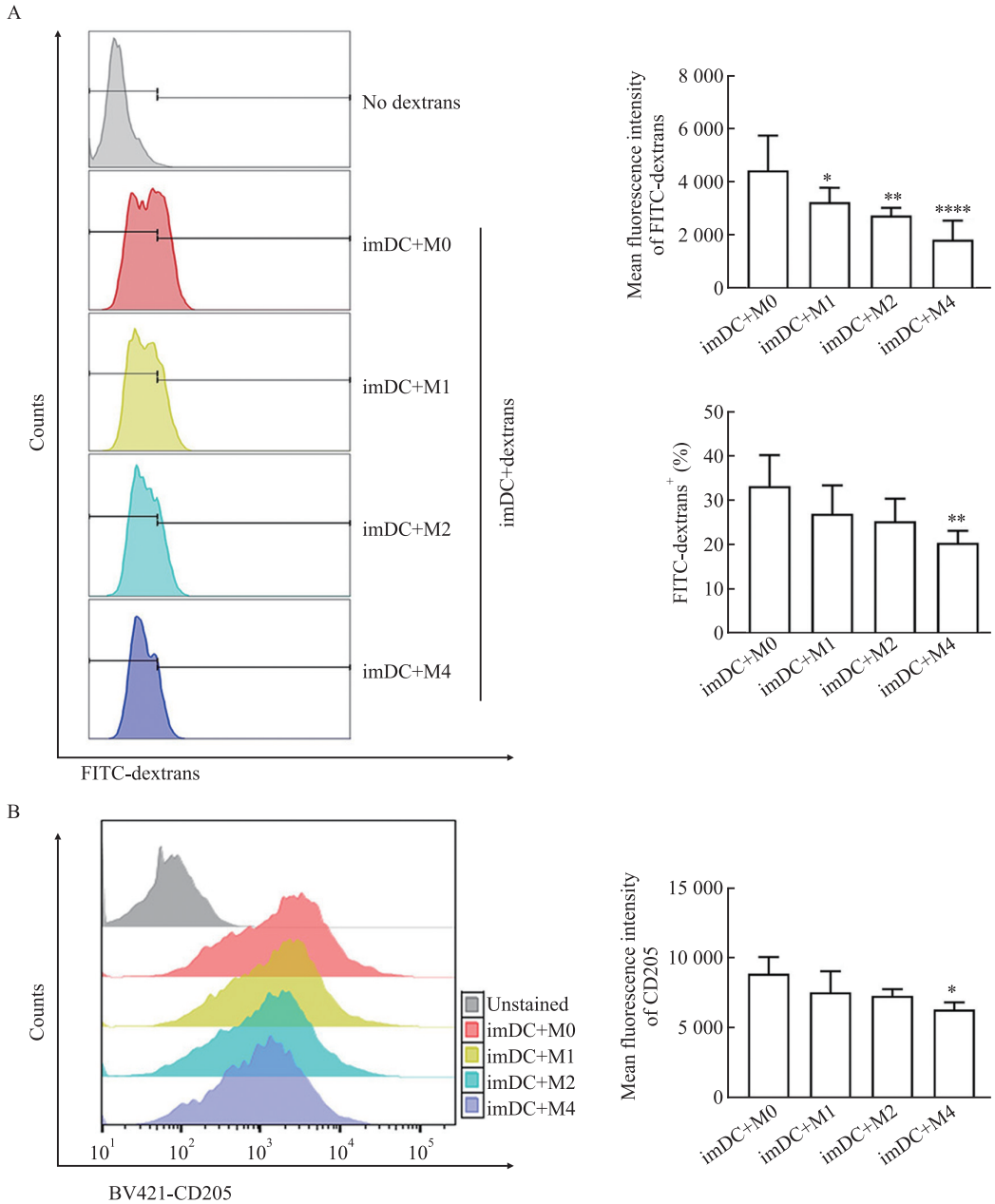


图2 二甲双胍对imDCs内吞能力及CD205的表达的影响

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.

结果,二甲双胍严重损伤了imDCs的抗原捕获能力。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, $P<0.001$),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复杂而有序的调控,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),异常提呈自身抗原,驱动Th17细胞分化,同时抑制调节性T细胞

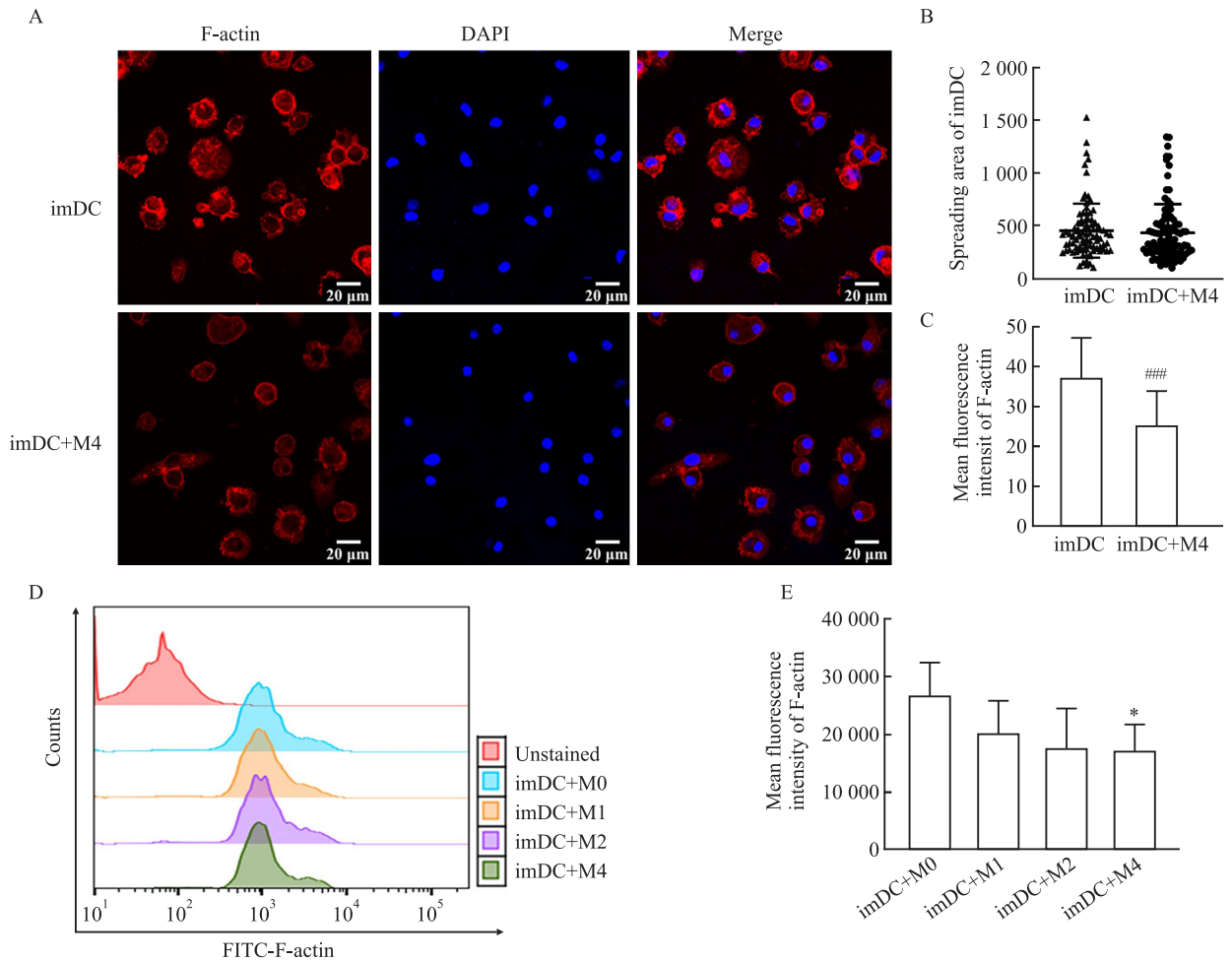


图3 二甲双胍对imDCs的F-actin含量的影响

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, $n = 5$; * $P<0.05$ vs imDC+M0 group; ### $P<0.001$ vs imDC group.

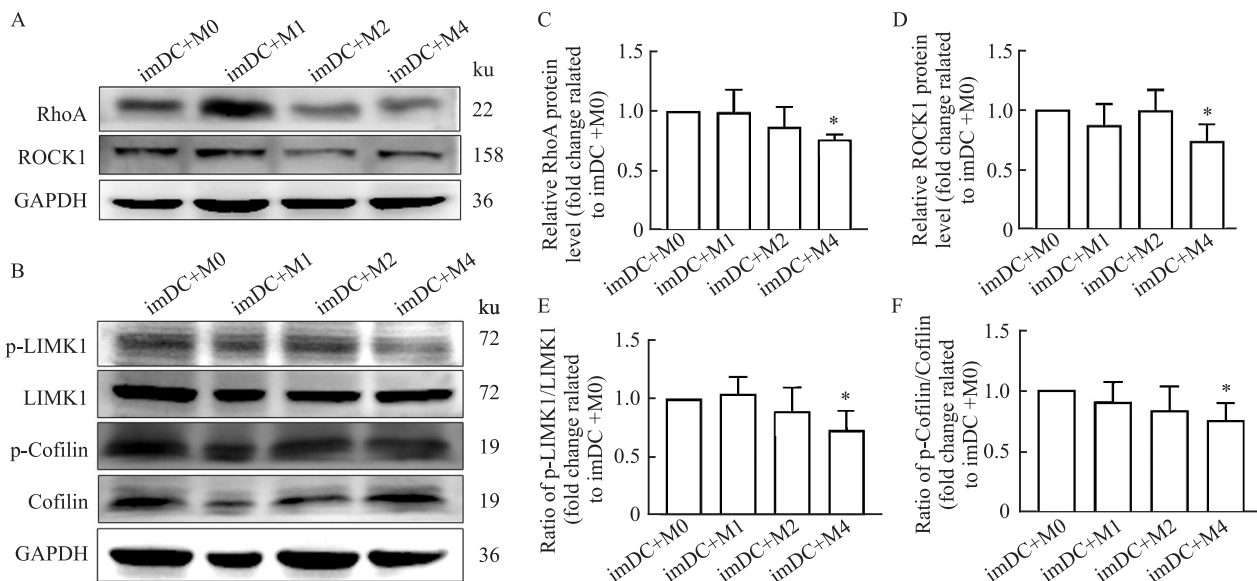


图4 二甲双胍对imDCs的RhoA-ROCK1-LIMK1-Cofilin信号通路的影响

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-F: The corresponding statistical graphs, $n=3$ or 4 ; * $P<0.05$ vs imDC+M0 group.

(regulatory T cells, Tregs)的分化增殖及功能,使Th17/Tregs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、Tregs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Tregs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_{regs} 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/Cofilin信号通路,使p-Cofilin/Cofilin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.

(下转第 494 页)

网络出版时间:2026-02-06 16:43:42 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260408.1017.014

UFL1维持前列腺癌细胞基因组稳定性的功能研究

马路遥¹,王昊^{1,2}

(¹安徽理工大学医学院,淮南 232001;²中国科学技术大学附属第一医院检验科,合肥 230001)

摘要 目的 探究UFL1维持前列腺癌(PCa)细胞基因组稳定性的功能及作用。方法 利用生物信息学以及RNA-seq分析PCa非整倍体水平高与低两组数据中的差异表达基因。通过基因集富集分析(GSEA)探索UFL1可能参与的生物学过程。通过免疫荧光技术、CCK-8实验、细胞克隆实验、划痕实验以及细胞凋亡实验,系统评估UFL1对PCa细胞有丝分裂、增殖、迁移能力及凋亡率的影响。结果 通过生物信息学分析联合RNA-seq分析显示,UFL1在具有高基因组不稳定性特征的PCa组织及细胞系中呈现低表达。GSEA分析显示,UFL1与细胞有丝分裂生物学过程相关。免疫荧光实验显示,UFL1缺失导致PCa细胞有丝分裂过程发生染色体分离错误的频率上升。CCK-8实验、细胞克隆实验、划痕实验以及凋亡实验显示,在PCa细胞中敲低UFL1后,细胞的增殖活性与迁移能力呈现减弱趋势,细胞凋亡率呈现上升趋势。结论 UFL1通过精确调控PCa细胞的有丝分裂进程以维持基因组稳定性,进而促进PCa细胞增殖。

关键词 UFL1;有丝分裂;染色体分离;基因组不稳定性;染色体不稳定性;前列腺癌

中图分类号 R 737.25

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0487-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.014

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是全球男性高发恶性肿瘤,其发病率呈现显著地域差异。尽管诊疗技术不断进步,但晚期患者5年生存率仍低至30.5%^[1-3]。因此,探究影响PCa发生发展的因素迫在眉睫。

基因组稳定性是细胞生命活动的基础^[4-5]。基因组不稳定性(genomic instability, GI)是肿瘤发生的核心特征之一,通过积累驱动基因突变或表观遗传改变,促进肿瘤异质性和进化^[6]。染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)作为GI的主要形式,以非整倍体形成为特征,与肿瘤演进密切相关^[4,6-11]。此外,有研究^[12]表明,有丝分裂异常诱导的GI可触发细胞凋亡,同时抑制增殖并诱导衰老。目前,GI在PCa中的作用尚未得到充分探索。UFL1是UFM1修饰系统的唯一E3连接酶^[13],参与DNA损伤修复等多种生物学过程^[13-17]。既往研究^[18]表明,UFL1缺失可导致端粒缩短及GI的发生,然而,其在GI调节中的作用以及在PCa中的功能作用目前尚不清楚。该研究旨在探讨UFL1在PCa细胞中调控基因组稳定性的功能及作用,为开发PCa新型治疗

方案提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 人PCa细胞系PC3、DU145和LNCaP均购自合肥万物生物科技有限公司。PC3培养于含10%胎牛血清(苏州双湖生物科技有限公司,货号:ST11-001S)和1%双抗的F12培养基(美国Gibco公司,货号:6125425),DU145和LNCaP在添加10%胎牛血清和1%双抗的RPMI-1640(美国Gibco公司,货号:6125479)培养基中培养。所有细胞均在37℃、5%CO₂条件下培养。

1.2 差异表达基因(differential expression gene, DEG)分析 从TCGA和GEO数据库获取的PCa患者转录组数据根据非整倍体水平中位值(survminer包)划分为高/低GI组,利用edgeR软件(v3.40.0)筛选显著差异基因(|Log₂FC| ≥ 1, P_{adj} < 0.05)并通过pheatmap包(v1.0.12)可视化。基于由上海昊为泰生物科技有限公司提供的DU145(高基因组不稳定性)和LNCaP(低基因组不稳定性)细胞的RNA-Seq数据,结合临床队列分析结果,采用ggVennDiagram(v1.2.0)鉴定共同差异基因。

1.3 基因集富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA) 采用ClusterProfiler软件包(v4.0.0)对TCGA-PRAD数据集中UFL1高、低表达两组样本进行GSEA分析(归一化富集分数(normalized enrich-

2025-11-27接收

基金项目:安徽省高校杰出青年科研项目(编号:2022AH020079)

作者简介:马路遥,女,硕士研究生;

王昊,男,博士,研究员,通信作者,E-mail: demo@ustc.

edu.cn

ment score, NES) $| > 1$, P . adj < 0.05), 基因集从数据库 (<http://software.broadinstitute.org/gsea/index.jsp>) 中获取, 通过 ggplot2 包 (v3.4.0) 可视化显著富集的目标 ($P < 0.001$)。

1.4 转染 采用上海汉恒生物科技有限公司提供的 shUFL1-1、shUFL1-2 及空载体 shNC 慢病毒转染 PC3 细胞, 通过 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘌呤霉素连续筛选 1 周后, Western blot 验证获得 UFL1 敲低的细胞稳株。

1.5 免疫荧光 慢病毒转染的 PC3 细胞经 12 孔板培养 48 h 后, 依次进行 4% 多聚甲醛 (美国 Sigma-Aldrich 公司, 货号: 252549) 固定 15 min、0.5% Triton X-100 (美国 Sigma-Aldrich 公司, 货号: T8787) 通透 10 min 和 0.5% BSA (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: ST025) 封闭 1 h 处理。细胞与 UFL1 一抗 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号: 96396S) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜后, 经 PBS (北京兰杰柯科技有限公司, 货号: BL302A) 洗涤与 Alexa Fluor™ 488 标记的二抗 (美国 Thermo Fisher 公司, 货号: P11047) 室温孵育 2 h, DAPI (美国 Sigma-Aldrich 公司, 货号: D9542) 染色后采用 Fluoromount (美国 Sigma-Aldrich 公司, 货号: F4680) 封片, 最终通过 LSM 880 共聚焦显微镜获取图像。

1.6 细胞克隆实验 慢病毒转染的 PC3 细胞 (shNC 组、shUFL1-1 组、shUFL1-2 组) 以 800 个/孔的密度接种于 6 孔板, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内恒温培养 12 d 出现可见集落。弃去培养基, 细胞经 4% 多聚甲醛室温固定 15 min, PBS 洗涤后用结晶紫 (大连美仑公司, 货号: MB4721-1) 染色 15 min, PBS 冲洗烘干后拍照记录, 利用 ImageJ 分析处理数据。

1.7 CCK-8 实验 采用 96 孔板培养系统, 分别接种 5 000 个经 shNC (对照组) 及 shUFL1-1、shUFL1-2 (实验组) 转染的 PC3 细胞, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内孵育, 设置 0、24、48、72 h 4 个时间点。各组细胞经 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养后, 更换为含 10 μL CCK-8 试剂 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: C0037) 的 100 μL 新鲜培养基, 继续孵育 3 h 后使用酶标仪检测 450 nm 吸光度值并绘制增殖曲线。

1.8 细胞划痕实验 在 6 孔板内分别接种经 shNC、shUFL1-1、shUFL1-2 转染的 PC3 细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 至完全汇合后, 使用 10 μL 枪头垂直均匀地划 3 条竖线, PBS 清洗 3 次后更换无血清培养基。分别在 0、24 和 48 h 进行显微拍照, 通过 ImageJ 软件定量分析细胞迁移率。

1.9 流式细胞术 采用 UFL1 慢病毒感染 PC3 细胞 48 h 后制备 5 $\times 10^5$ 个/mL 单细胞悬液, 经 PBS 洗涤后按凋亡检测试剂盒 (江苏凯基生物技术有限公司, 货号: KGA1102-50) 说明书进行 Annexin V-FITC/PI 双染, 流式细胞仪检测后通过 FlowJo 10 软件分析细胞凋亡率。

1.10 Western blot 实验 细胞样品经 PBS 洗涤后采用含蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂 I 和磷酸酶抑制剂 II (美国 TargetMol 公司, 货号: C0001、C0002、C0003) 的预冷 RIPA 裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: P0013B) 冰上裂解 30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心后取上清液与 5 \times SDS 上样缓冲液混合并 100 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min。蛋白质经 7.5% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离后转印至 0.22 μm PVDF 膜 (美国 Sigma-Aldrich 公司, 货号: ISEQ00010), 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后依次进行一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育和酶标二抗 (美国 Affinity 公司, 货号: S0001) 室温 1 h 孵育, TBST 洗涤后采用 ECL 化学发光试剂盒 (美国 MedChemExpress 公司, 货号: HY-K2006) 显影。抗体 UFL1 购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号: 96396S; GAPDH 购自美国 Abclonal 公司, 货号: A19056。

1.11 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。对涉及不同时间点的两组或多组数据比较, 采用两因素方差分析 (Two-way ANOVA)。若方差分析结果显示总体差异有统计学意义, 则进一步采用 Tukey's post hoc 检验进行多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UFL1 表达水平影响肿瘤组织及细胞非整倍体的程度 为探索基因组稳定性在 PCa 中的作用, 该研究利用生物信息学分析联合 RNA-seq 分析, 发现 12 个重合基因 ($|\text{Log}_2\text{FC}| \geq 1$, P . adj < 0.05), 包括 UFL1、DPM1、TNMD、TRC7、ZNF43、GYG2、MYCN、ETV1、JUN、MAF、FOSL1、HSF1 (图 1A-1C), 其中, UFL1 基因表达存在一定的差异, 且在非整倍体水平高的肿瘤组织及细胞中, 表达水平呈低表达状态, 因此, 挑选 UFL1 作为调控基因组稳定性的对象。

2.2 UFL1 参与 PCa 细胞有丝分裂过程 鉴于 CIN 主要由有丝分裂染色体分离异常导致, 为探究 UFL1

是否与PCa细胞有丝分裂过程相关,该研究基于TCGA-PRAD数据集,根据 *UFL1* 表达水平的中位值将样本分为高、低表达两组,并进行GSEA分析。分析结果显示,*UFL1* 高表达组在有丝分裂相关通路中呈现富集趋势,包括“有丝分裂中期和后期”(NES=2.902, $P. adj < 0.001$)及“有丝分裂前期”(NES=2.110, $P. adj < 0.001$)等(图2)。上述结果表明,

UFL1 高表达与有丝分裂进程密切相关,提示 *UFL1* 可能在PCa细胞有丝分裂调控中发挥重要作用。

2.3 *UFL1* 表达水平与PCa细胞有丝分裂异常相关 为明确 *UFL1* 在有丝分裂过程中的作用,该研究通过免疫荧光检测 *UFL1* 缺失对PC3细胞染色体分离的影响。结果显示,与对照组 shNC相比,*UFL1* 敲低组 shUFL1-1、shUFL1-2细胞中有丝分裂异常比

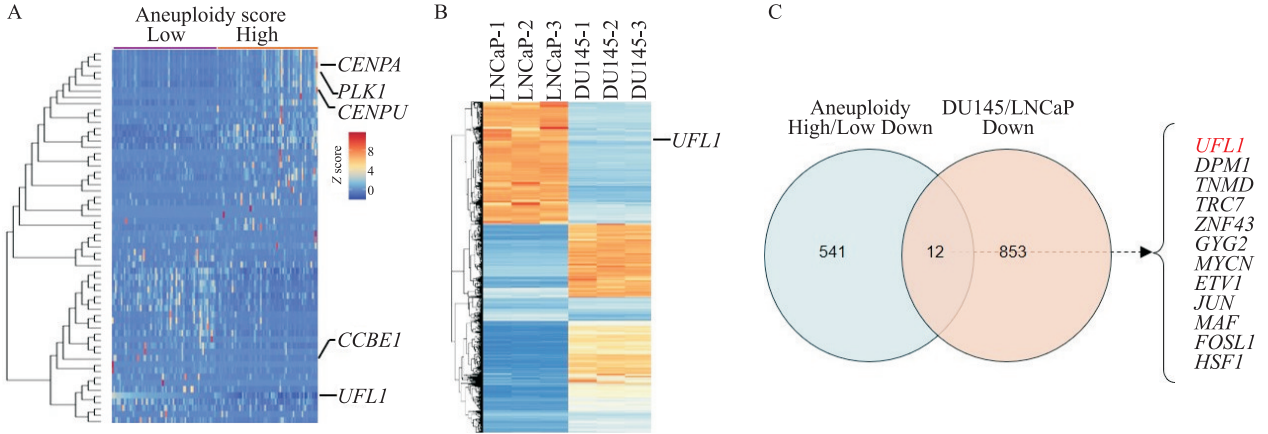


图1 *UFL1* 与肿瘤组织及细胞非整倍体程度的相关性

Fig. 1 The correlation between *UFL1* and the degree of aneuploidy in tumor tissues and cells

A: Heatmap of differentially expressed genes (DEGs) between high- and low-aneuploidy groups; B: DEG heatmap of DU145 and LNCaP cell lines stratified by aneuploidy level; C: Venn diagram of overlapping DEGs.

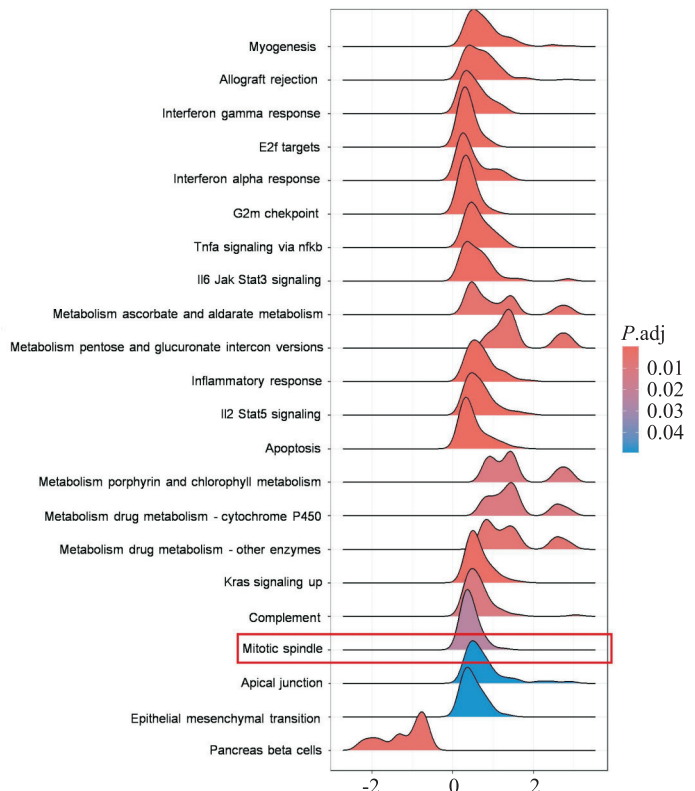
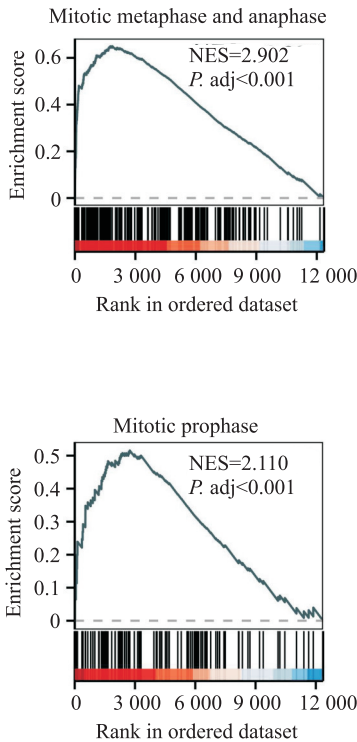


图2 *UFL1* 与PCa细胞有丝分裂过程相关

Fig. 2 *UFL1* regulated the mitotic progression of PCa cells

例升高。具体表现为,滞后染色体的发生率由对照组的(4.7±0.4)%升高至敲低组的(18.5±1.7)%($t=13.62, P<0.001$)和(17.3±1.3)%($t=15.56, P<0.0001$);染色体桥的形成频率由(4.6±0.4)%上升至(14.2±0.9)%和(13.6±0.9)%($t=16.8, 16.46$, 均 $P<0.0001$)。上述结果表明,UFL1缺失可干扰染色体分离的正确性,沉默UFL1表达导致PC3细胞中滞后染色体和染色体桥发生频率上升(图3),表明UFL1对PCa细胞中正常有丝分裂过程发挥重要作用。

2.4 UFL1的表达水平影响PCa细胞的增殖能力
为进一步检测UFL1在PCa细胞中的作用,该研

究评估了UFL1缺失对细胞增殖的影响。Western blot结果显示,在经慢病毒UFL1转染的PC3细胞中,UFL1表达下调(图4A)。细胞克隆实验结果显示,shUFL1-1和shUFL1-2组细胞的增殖数量较shNC组有所减少($n=3, t=6.183, 6.325$, 均 $P<0.001$,图4B、4C)。CCK-8实验结果表明,与shNC组相比,shUFL1-1和shUFL1-2组细胞吸光度值有所降低($t=5.629, 10.690, 16.240, 7.495, 11.700, 33.270$, 均 $P<0.0001$,图4D)。综合实验结果表明,UFL1基因被敲低后,PC3细胞增殖能力受到抑制。

2.5 UFL1可影响PCa细胞的凋亡 通过流式细胞术检测PC3细胞的凋亡率,结果显示,与对照组

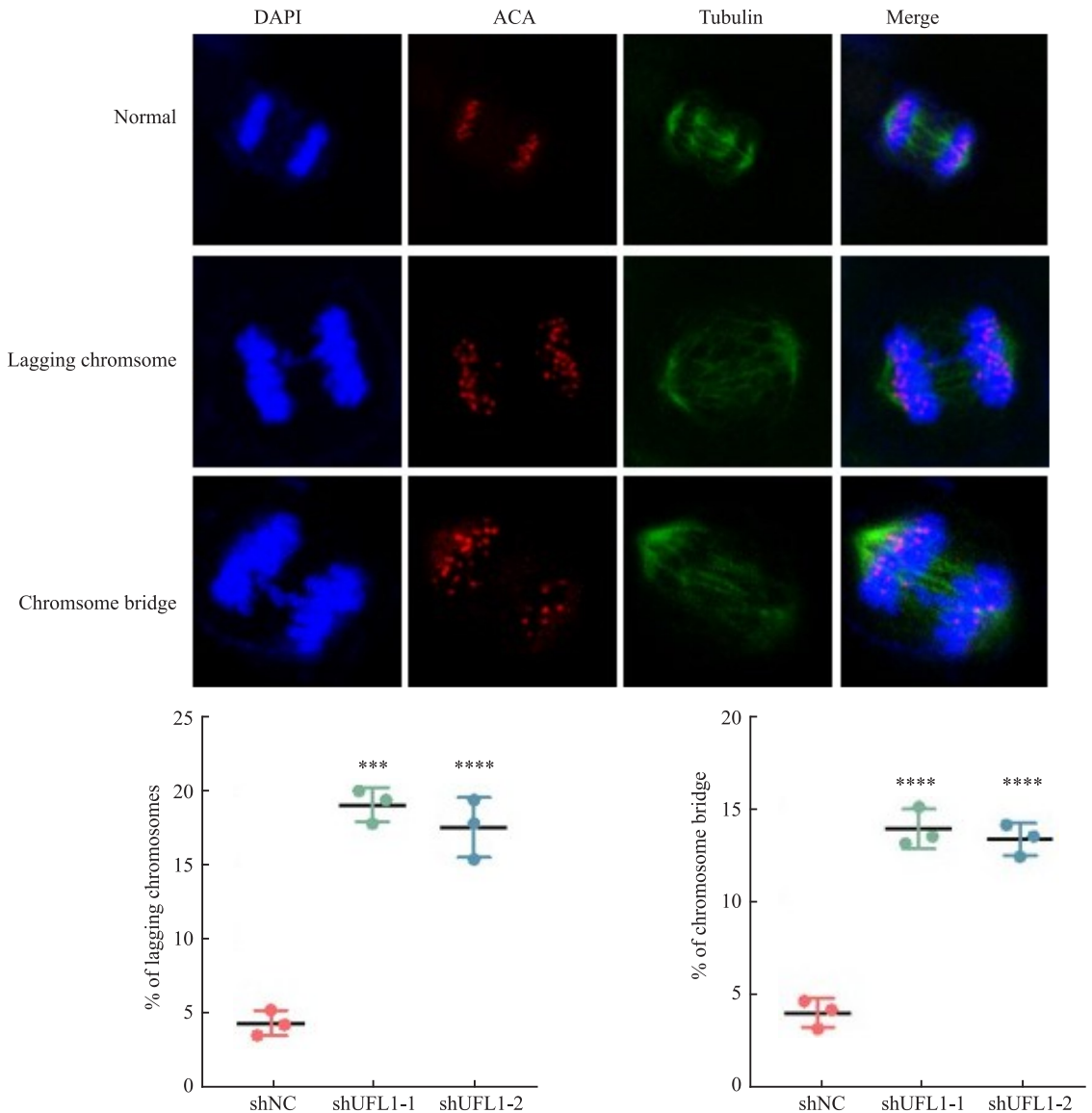


图3 UFL1对PCa细胞有丝分裂进程的调控作用

Fig. 3 The regulatory effect of UFL1 on the mitotic progression of PCa cells

*** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs shNC group.

shNC 相比, *UFL1* 敲低后的细胞凋亡率呈现升高趋势(图 5A、5B)。shNC 组的凋亡率为(5.6±0.8)%, 而 *UFL1* 敲低组 shUFL1-1 和 shUFL1-2 的细胞凋亡率分别增加至(20.2±1.6)%和(18.8±1.6)%, 差异均有统计学意义($t=13.80, 12.57$, 均 $P<0.001$)。结果表明, 下调 *UFL1* 表达可促进 PC3 细胞凋亡。

2.6 UFL1 表达下调可影响 PCa 细胞迁移能力

细胞划痕实验结果显示, 敲低 *UFL1* 可抑制 PC3 细胞的迁移能力。在划痕后 24 h 和 48 h, 对照组 shNC 的细胞迁移率分别为(33.4±3.6)%和(53.8±3.1)%; 而在 *UFL1* 敲低组 shUFL1-1 和 shUFL1-2 细胞中, 24 h 的迁移率分别降至(13.1±1.9)%($t=$

9.30, $P<0.01$)和(12.2±3.2)%($t=7.97, P<0.01$), 48 h 后则分别为(24.7±3.5)%($t=11.70, P<0.01$)和(24.7±1.9)%($t=18.22, P<0.001$)。上述结果表明, *UFL1* 缺失能够抑制 PC3 细胞的迁移能力(图 6)。

3 讨论

PCa 作为男性常见的恶性肿瘤之一, 其发病率在全球范围内居高不下, 位列男性癌症致死原因第五位^[1, 19]。该疾病通常进展缓慢, 早期症状隐匿, 致使多数患者确诊时已进展至晚期^[1]。基因组稳定性是细胞正常增殖与分化的基础, 同时也是实现遗传信息高保真传递至子代细胞的前提^[4-5]。GI 与多种

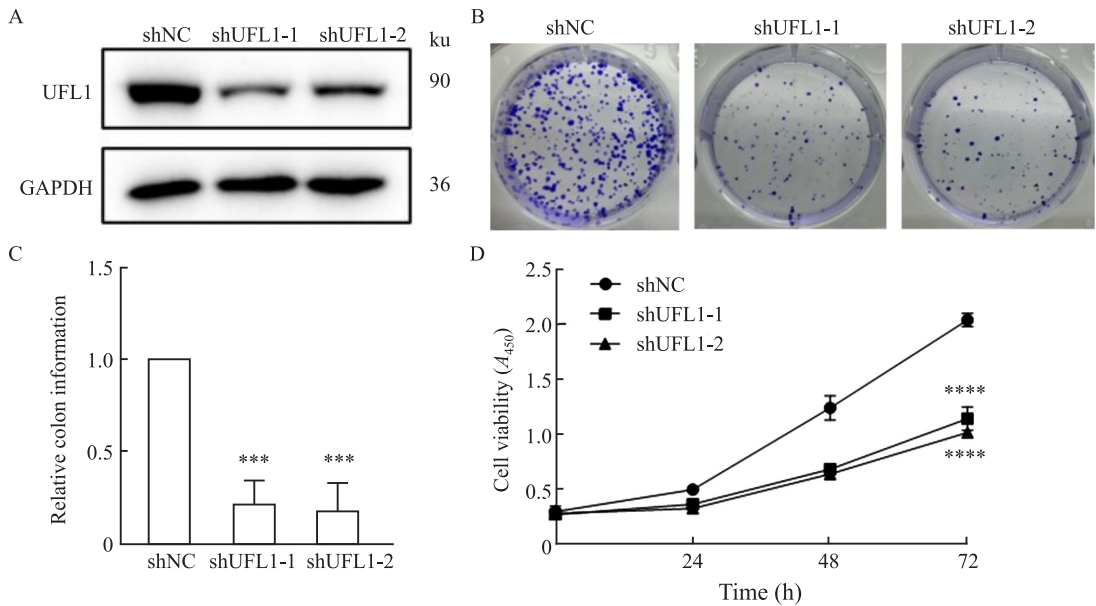


图 4 UFL1 对细胞增殖能力的调控作用

Fig. 4 The regulatory effect of UFL1 on cell proliferation ability

A: Transfected PC3 cells were analyzed for *UFL1* expression by Western blot; B, C: Colony formation assays were performed to evaluate the proliferative capacity of PC3 cells after *UFL1* knockdown; D: CCK-8 assays measured the proliferation rates of *UFL1*-deficient PC3 cells at specified time intervals (0, 24, 48, and 72 h); *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs shNC group.

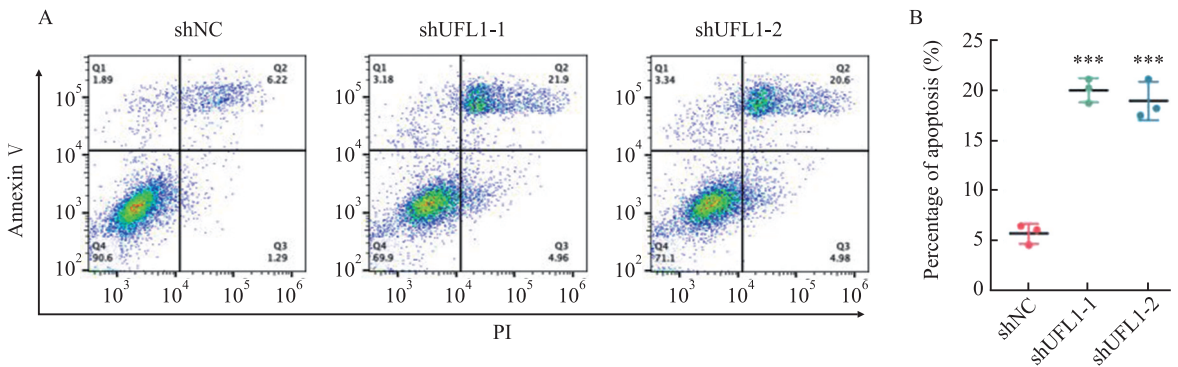


图 5 UFL1 敲低对 PCa 细胞凋亡的影响

Fig. 5 The effects of UFL1 knockdown on the apoptosis of PCa cells

*** $P<0.001$ vs shNC group.

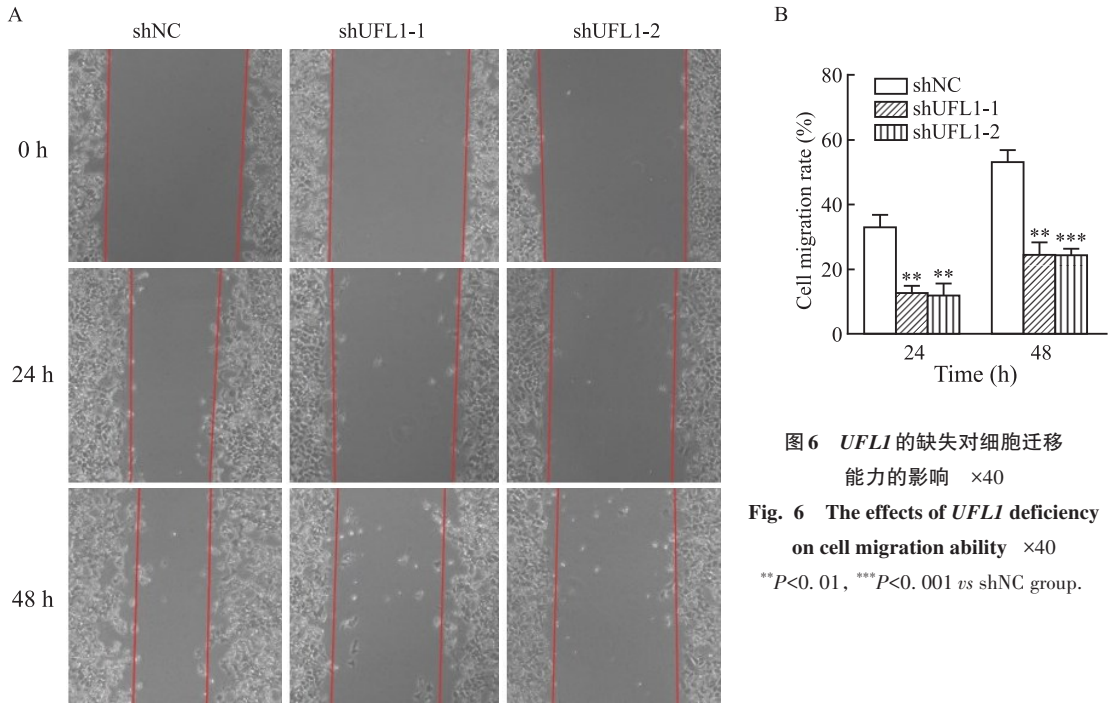


图6 *UFL1* 的缺失对细胞迁移能力的影响 ×40

Fig. 6 The effects of *UFL1* deficiency on cell migration ability ×40

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs shNC group.

疾病的发生发展密切相关,尤其在肿瘤演进中扮演关键角色^[20-22]。CIN作为GI的一种主要表现形式^[8,10],其特征是染色体数目或结构的持续改变,导致非整倍体形成,这一遗传变异在肿瘤发生及发展中具有重要作用^[4,6-9,11]。有丝分裂异常所介导的GI在一定条件下可激活细胞凋亡途径,抑制肿瘤细胞增殖并促进细胞衰老^[12]。

该研究通过整合TCGA数据库与细胞系RNA-seq数据,从非整倍体水平差异显著的PCa组织及细胞中筛选出12个重叠差异基因,其中,*UFL1*在高度非整倍体样本中一致性低表达,提示其可能作为维持基因组稳定的关键候选因子。这一研究结果与既往研究相符,如有报道^[18]表明*UFL1*缺失可导致HeLa细胞端粒缩短并引发基因组不稳定,该研究则进一步将*UFL1*的功能缺失与PCa中有丝分裂异常明确关联。

*UFL1*是UFM1修饰系统的关键组分,也是目前唯一已知的UFM1化修饰E3连接酶^[13],作为重要的调控因子,*UFL1*参与炎症反应、抗病毒免疫应答、DNA损伤修复等关键生理过程,其异常表达与包括肿瘤发生和内质网应激在内的多种病理过程密切相关^[13-17]。然而,*UFL1*在PCa中的具体功能尚不明确。该研究通过GSEA分析显示,*UFL1*高表达样本在有丝分裂相关通路中表现出富集倾向,提示其可能参与有丝分裂调控。后续免疫荧光实验结果表明,敲低*UFL1*可导致PC3细胞有丝分裂过程中滞后

染色体和染色体桥的发生频率增加,从功能层面证实*UFL1*在维持染色体正确分离中起关键作用。在此基础上,该研究进一步通过功能实验显示,*UFL1*敲低不仅诱导CIN,还可抑制PC3细胞的增殖与迁移能力,并促进细胞凋亡。上述结果共同表明,*UFL1*缺失可引起染色体分离错误,导致非整倍体细胞增多;而这些细胞由于遗传物质失衡,出现增殖阻滞或死亡。

综上所述,*UFL1*可通过维持基因组稳定性来促进PCa细胞的生长,提示其可能成为PCa治疗的潜在靶点。然而,该研究仍存在一定的局限性,尽管明确了*UFL1*缺失可导致有丝分裂异常和CIN,但其调控染色体分离及细胞凋亡的下游分子机制,特别是与Aurora B、BubR1、MAD2等有丝分裂检查点蛋白的调控关系,尚需进一步阐明。后续研究将聚焦于探索*UFL1*与有丝分裂检查点通路的功能联系,并利用动物模型对关键表型进行体内验证,以全面评估其生物学功能及转化应用潜力。

参考文献

- [1] Chu F, Chen L, Guan Q, et al. Global burden of prostate cancer: age-period-cohort analysis from 1990 to 2021 and projections until 2040 [J]. World J Surg Oncol, 2025, 23(1): 98. doi: 10.1186/s12957-025-03733-1.
- [2] 邢星,成少平,熊鹰,等. miR-181c-5p调控BIRC5对前列腺癌细胞生物学行为的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(9): 1543-50. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.

2024. 09. 008.
- [2] Xing X, Cheng S P, Xiong Y, et al. Effects of miR-181c-5p on biological behaviors of prostate cancer cells by regulating BIRC5 [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59 (9) : 1543-50. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492. 2024. 09. 008.
- [3] 郭亮, 肖峻, 陶陶. miR-143靶向作用于TFF3抑制前列腺癌细胞PC3的增殖[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57 (5) : 684-9. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492. 2022. 05. 003.
- [3] Guo L, Xiao J, Tao T. miR-143 targeting TFF3 inhibits proliferation of prostate cancer cell line PC3[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57 (5) : 684-9. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492. 2022. 05. 003.
- [4] Yoon J H, Kim J K, Eun J W, et al. NKX6.3 modulation of mitotic dynamics and genomic stability in gastric carcinogenesis[J]. *Cell Commun Signal*, 2025, 23 (1) : 35. doi: 10.1186/s12964-025-02030-4.
- [5] Huang R, Zhou P K. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy [J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1) : 254. doi: 10.1038/s41392-021-00648-7.
- [6] Mazzoleni A, Awuah W A, Sanker V, et al. Chromosomal instability: a key driver in glioma pathogenesis and progression [J]. *Eur J Med Res*, 2024, 29 (1) : 451. doi: 10.1186/s40001-024-02043-8.
- [7] Baker T M, Waise S, Tarabichi M, et al. Aneuploidy and complex genomic rearrangements in cancer evolution [J]. *Nat Cancer*, 2024, 5(2) : 228-39. doi: 10.1038/s43018-023-00711-y.
- [8] Nemtsova M V, Kuznetsova E B, Bure I V. Chromosomal instability in gastric cancer: role in tumor development, progression, and therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (23) : 16961. doi: 10.3390/ijms242316961.
- [9] 庄筱璇, 莫非, 窦震, 等. 有丝分裂激酶Aurora B的研究进展[J]. *生命的化学*, 2014, 34(6) : 829-36. doi: 10.13488/j.smhx. 20140617.
- [9] Zhuang X X, Mo F, Dou Z, et al. Research progress of dissecting Aurora B kinase [J]. *Chem Life*, 2014, 34(6) : 829-36. doi: 10.13488/j.smhx. 20140617.
- [10] Garrriba L, De Feudis G, Martis V, et al. Short-term molecular consequences of chromosome mis-segregation for genome stability [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1) : 1353. doi: 10.1038/s41467-023-37095-7.
- [11] 房晓, 赵薇, 喻文颖, 等. 染色体不稳定相关基因GALNT7对结肠癌细胞HCT116增殖和凋亡的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(1) : 96-101. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492. 2025. 01. 013.
- [11] Fang X, Zhao W, Yu W Y, et al. Effect of chromosome-instability-associated gene *GALNT7* on proliferation and apoptosis of HCT116 colon cancer cells [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60 (1) : 96-101. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492. 2025. 01. 013.
- [12] Hosea R, Hillary S, Naqvi S, et al. The two sides of chromosomal instability: drivers and brakes in cancer [J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1) : 75. doi: 10.1038/s41392-024-01767-7.
- [13] Tao Y, Yin S, Liu Y, et al. UFL1 promotes antiviral immune response by maintaining STING stability independent of UFMylation [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30 (1) : 16-26. doi: 10.1038/s41418-022-01041-9.
- [14] Panichnantakul P, Aguilar L C, Daynard E, et al. Protein UFMylation regulates early events during ribosomal DNA-damage response [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(9) : 114738. doi: 10.1016/j.celrep. 2024. 114738.
- [15] He C, Xing X, Chen H Y, et al. UFL1 ablation in T cells suppresses PD-1 UFMylation to enhance anti-tumor immunity [J]. *Mol Cell*, 2024, 84 (6) : 1120-38. e8. doi: 10.1016/j.molcel. 2024. 01. 024.
- [16] Yang G, Wang Y, Chen Y, et al. UFL1 attenuates IL-1 β -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81 : 106278. doi: 10.1016/j.intimp. 2020. 106278.
- [17] 邝美倩. UFL1在小鼠乳腺泌乳生理和乳腺炎中作用及其机制 [D]. 南京: 南京农业大学, 2021. doi: 10.27244/d.cnki.gnjnu. 2021. 000030.
- [17] Kuang M Q. Role and mechanism of UFL1 in lactation physiology and mastitis in mouse mammary gland [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021. doi: 10.27244/d.cnki.gnjnu. 2021. 000030.
- [18] Lee L, Perez Oliva A B, Martinez-Balsalobre E, et al. UFMylation of MRE11 is essential for telomere length maintenance and hematopoietic stem cell survival [J]. *Sci Adv*, 2021, 7 (39) : eabc7371. doi: 10.1126/sciadv. abc7371.
- [19] Wilson T K, Zishiri O T. Prostate cancer: a review of genetics, current biomarkers and personalised treatments [J]. *Cancer Rep (Hoboken)*, 2024, 7(10) : e70016. doi: 10.1002/omr. 2024. 70016.
- [20] Ciccia A, Elledge S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2) : 179-204. doi: 10.1016/j.molcel. 2010. 09. 019.
- [21] 彭昊阳. 酵母BET家族蛋白在DNA重组与染色体分离过程中的功能与机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2021. doi: 10.27379/d.cnki.gwhdu. 2021. 001271.
- [21] Peng H Y. The functions and mechanisms of yeast BET family proteins in DNA recombination and chromosome segregation [D]. Wuhan: Wuhan University, 2021. doi: 10.27379/d.cnki.gwhdu. 2021. 001271.
- [22] 陈宗军, 陈亚红, 黄丽云, 等. 非小细胞肺癌A549细胞基因组不稳定性及MYC基因突变在吉西他滨耐药中的作用 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2024, 50(2) : 355-63. doi: 10.13481/j.1671-587X. 20240208.
- [22] Chen Z J, Chen Y H, Huang L Y, et al. Effects of genomic instability and MYC gene mutation of non-small cell lung cancer A549 cells on resistance of gemcitabine [J]. *J Jilin Univ Med Ed*, 2024, 50(2) : 355-63. doi: 10.13481/j.1671-587X. 20240208.

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 486 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 signaling pathway

Fund programs 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. gyfynsfc[2023]-22)

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