

# 改良组织贴壁法分离培养新生乳小鼠原代肺成纤维细胞的研究

郑晓丹, 王 婷, 胡玉海 (武汉市汉口医院检验科, 武汉 430010)

**摘要:** 目的 建立改良版简单高效的原代小鼠肺成纤维细胞 (lung fibroblast, LFB) 分离培养方案, 研究其体外生长特性。方法 无菌条件下, 分别取3天龄小鼠和8周龄小鼠肺组织, 剪成1mm<sup>3</sup>大小, 分别采用含10g/dl胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和20g/dl胎牛血清的高糖DMEM培养液进行组织贴壁法培养。采用差时贴壁法对LFB进行纯化, 倒置显微镜下动态观察细胞生长状态及贴壁状态, 采用流式细胞特异性分子染色法对LFB进行鉴定, 传代培养后的第3代细胞采用CCK-8 (cell counting kit-8) 法检测细胞活性。结果 3天龄小鼠在20g/dl FBS浓度条件下采用改良组织贴壁法进行培养, 培养后第2天开始向周边呈放射状长出细胞, 第7天细胞生长密度达90%, 细胞形态呈长梭形。经差时贴壁法纯化后, CD140a阳性且CD45阴性细胞占比可达90%以上, 连续传代3次后保持较好细胞活性。结论 改良的组织贴壁法可简单高效地获得大量纯化的、活性好的小鼠LFB, 为肺部炎症、肿瘤及药物体外疗效等研究奠定基础。关键词: 肺成纤维细胞; 原代培养; 组织贴壁法; 流式细胞染色

中图分类号: R-332 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414 (2024) 06-206-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.06.036

## Study on Isolation and Culture of Primary Lung Fibroblasts from Newborn Mice by Improved Tissue Adhesion Method

ZHENG Xiaodan, WANG Ting, HU Yuhai (Department of Clinical Laboratory, Wuhan Hankou Hospital, Wuhan 430010, China)

**Abstract: Objective** To establish an improved simple and efficient method for isolation and culture of primary lung fibroblasts (LFB) from neonatal mice, and study their growth characteristics in vitro. **Methods** The lungs of 3-days-old mice or 8-weeks-old mice were taken under sterile conditions, and the stromal tissue was cut into 1mm<sup>3</sup> tissue mass. High-glucose DMEM culture medium containing 10g/dl fetal bovine serum (FBS) or 20g/dl FBS was used for tissue adhesion culture. The LFB was purified by the differential time adhesion method, and the growth morphology and adherence state of the cells were observed dynamically under an inverted microscope. The primary LFB was identified by flow cytometry. The activity of the third-generation cell after culture was detected by CCK-8 assay. **Results** Lung tissues in mice at 3 days of age and 20g/dl FBS concentration cultured by the improved tissue mass adherent cultured method began to grow radially to the periphery on the 2nd day. On the day 7th, the cells growth density reached 90%, and the cell morphology was as a spindle. The CD140a positive and CD45 negative cells reached more than 90% after purification by differential time adhesion method, and the cells still maintain good cell activity after cultured for 3 generations. **Conclusion** The improved tissue adhesion method can obtain a large number of purified mice LFB with good activity simply and efficiently, which lays a foundation for the study of lung inflammation, tumors and in vitro efficacy of drugs.

**Keywords:** lung fibroblast; primary culture; tissue adhesion method; flow cytometry staining

肺成纤维细胞 (lung fibroblast, LFB) 是一种异质性细胞, 作为肺脏组织基质细胞之一, 其不仅可维持肺脏的结构完整性, 同时在肺纤维化、炎症及肿瘤等疾病中也发挥重要作用<sup>[1-3]</sup>。原代分离培养LFB的遗传特征同体内肺组织接近, 更能反映细胞在体内的生长特性, 使用原代细胞进行生物学研究的重要性已得到广泛认识<sup>[4]</sup>。因此分离培养出活性好、纯度高的LFB对于研究肺脏炎症、肿瘤

生物本身特性、基因表达、药物体外疗效等至关重要。目前原代LFB分离培养过程中易出现细胞污染、分离出的细胞量少、活性差等不足<sup>[5-7]</sup>。本研究旨在介绍一种简单高效的LFB原代培养方法, 在传统组织贴壁法的基础上进行一些改进, 在较短时间内分离出数量多、活性好的LFB, 供体内外进一步实验研究。

### 1 材料与与方法

1.1 研究对象 无特定病原体 (specific patho-

基金项目: 武汉市卫健委中医药科研项目面上项目 (立项编号: WZ24A25)。

作者简介: 郑晓丹 (1990-), 女, 硕士, 主管技师, 研究方向: 肿瘤免疫, E-mail: 283350862@qq.com。

通讯作者: 胡玉海 (1975-), 女, 本科, 主任技师, 研究方向: 免疫学检验, E-mail: xyz27315@126.com。

gen free, SPF)级 C57BL/6 小鼠, 3 天龄; SPF 级 C57BL/6 小鼠, 8 周龄, 购自山东省医学科学院实验动物中心, 饲养于 25℃ ~ 27℃, 50% ~ 60% 湿度的 SPF 级小鼠 (individual ventilated cages, IVC) 独立送风隔离笼内, 自由饮食饮水, 昼夜交替光照。

1.2 仪器与试剂 磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer solution, PBS, Gibco 公司); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, BI 公司); 高糖 DMEM 培养液 (Hyclone 公司); 胰蛋白酶 (北京莱索宝科技有限公司); CCK-8 (Dojindo 公司); 75g/dl 酒精, 流式荧光抗体 CD45-APC, CD140a-FITC (BD Pharmingen 公司)。流式细胞仪 (BD 公司); 超净工作台 (苏州安泰空气技术公司); CO<sub>2</sub> 细胞培养箱 (Forma Scientific 公司); 细胞培养瓶 (Gibco 公司); 倒置显微镜 (Nikon 公司); 低温离心机 (Thermo 公司); 手术剪, 平皿, 玻璃移液管, 无菌滤网。

### 1.3 方法

1.3.1 细胞分离: 3 天龄小鼠 5 只, 8 周龄小鼠 5 只。根据小鼠年龄和肺组织块培养时 DMEM 培养液所含 FBS 浓度不同, 将小鼠分为 3 天龄 10g/dl FBS (每 100ml DMEM 培养液中含 10ml FBS) 组、3 天龄 20g/dl FBS (每 100ml DMEM 培养液中含 20ml FBS) 组、8 周龄 10g/dl FBS 组和 8 周龄 20g/dl FBS 组等 4 组。均按以下步骤分离 LFB: ①处死小鼠, 75g/dl 酒精消毒小鼠, 将小鼠固定在超净工作台内的无菌腊盒上。②无菌手术剪剪开胸腹部皮肤, 剪断肺门处结缔组织, 分离出肺脏, 置于盛有 1 × PBS 的平皿中, 使用注射器抽吸 1 × PBS 冲洗肺组织, 直至肺组织发白。③将肺组织剪碎至 1mm<sup>3</sup> 大小的组织块, 越小越好。④事先将 T 型培养瓶瓶壁上用含 FBS 的 DMEM 培养液 (提前预热至 37℃) 浸湿, 将无菌玻璃移液管头端烧弯并冷却, 用玻璃移液管弯头端吸取组织碎块, 再“喷到”培养瓶侧壁上, 按 0.3 ~ 0.5 cm 间距均匀地接种在培养瓶侧壁上。⑤将培养瓶竖直放于 37℃, 5% (v/v) CO<sub>2</sub> 培养箱中, 使组织块干贴壁 4 ~ 5h。⑥待组织块贴牢, 缓慢放平培养瓶, 让细胞培养液缓缓漫过组织块, 避免因放平过快导致组织碎块浮起。⑦每隔 1 ~ 2 天为组织碎块换液一次, 换液时注意缓慢将培养瓶竖起, 吸弃原培养液, 加入新培养液后, 再将培养瓶缓慢放平。

1.3.2 细胞纯化: ①组织碎块连续培养 5 ~ 7 天, 显微镜下观察细胞达到 80% 以上融合时, 将培养瓶内培养液吸弃, 加入 4ml 1 × PBS 润洗 2 次。②加入 1 ~ 2 ml 消化液 (含 2.5g/L 胰蛋白酶和 0.2g/L EDTA), 显微镜下观察, 见到大量细胞触角回缩, 随即加入 4ml 含 10g/dl FBS 的 DMEM 培养液终止消化, 并将细胞连同组织碎块全部从瓶壁上吹打下来。③采用无菌滤网将细胞 - 组织块混合液过滤至无菌

离心管中, 以去除组织碎块。④ 300g 离心 5min, 弃上清。加入 2ml 含 10g/dl FBS 的 DMEM 培养液重悬细胞。⑤接种于培养瓶中, 置于 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中静置 20 ~ 30 min。⑥显微镜下观察到部分细胞贴壁, 且摇晃培养瓶也不浮起, 将细胞悬液倒入另一培养瓶中, 在细胞培养箱中继续静置培养 20 ~ 30min, 再重复上述操作。所获的第一瓶和第二瓶细胞以成纤维细胞为主, 第三瓶细胞以内皮细胞为主。

1.3.3 纯化后细胞培养: ①超净工作台内, 吸弃培养瓶内旧培养液。② 1 × PBS 润洗细胞 2 次。③加入 5 ml 含 10g/dl FBS 的 DMEM 培养液。④置于 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱培养。⑤每隔 1 ~ 2 天换液一次。

### 1.3.4 细胞鉴定

1.3.4.1 显微镜观察: 上述纯化后的细胞, 每天一次在显微镜下观察细胞形态及生长情况。

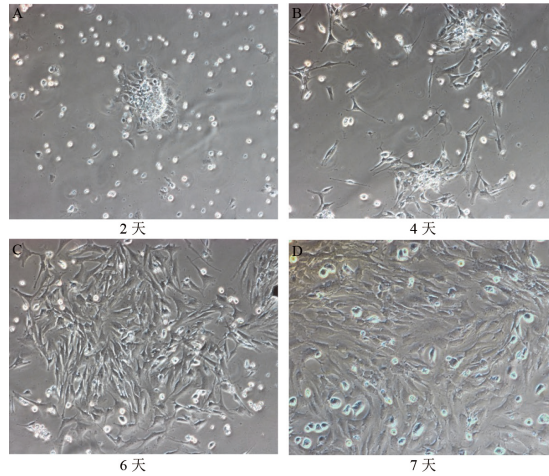
1.3.4.2 流式细胞染色: ①上述纯化后的细胞, 用 1 × PBS 洗 2 遍后, 加入 20 μl 大鼠血清, 室温封闭 20min; ②加入流式胞外标记荧光抗体 CD45-APC, CD140a-FITC, 4℃避光孵育 30min; ③ 1 × PBS 洗 2 遍, 无菌滤网过滤转管后上流式仪, 检测细胞 CD45 和 CD140a 表达情况。

1.3.5 细胞活性测定: ①取对数生长期的原代细胞 (第 3 代), 经过润洗、消化、离心、重悬细胞, 按照 2 × 10<sup>4</sup> 个/ml 细胞密度接种于 96 孔板中, 加入含 10g/dl FBS 的 DMEM 培养液, 终体积为 200 μl。②置于 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中, 分别培养 1 ~ 7 天, 注意每隔 2 天换液一次。③种板 1 ~ 7 天, 取出相应天数的 96 孔板, 弃去旧培养液, 加入 10 μl CCK-8 和 90 μl DMEM 的混合液。④置于 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中孵育 2 ~ 3h 后, 于酶标仪中 450nm 处测定吸光度 (A<sub>450nm</sub>) 值。⑤统计 7 天的 A<sub>450nm</sub> 值, 绘制细胞生长曲线。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件分析数据。计量资料采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 改良法细胞分离纯化情况 见图 1。3 天龄 20g/dl FBS 组肺组织碎块贴壁培养第 2 天, 倒置显微镜下观察, 可见组织块周边有较多卵圆形细胞贴壁生长、组织块边缘有大量长梭形细胞“爬出”。第 4 天, 卵圆形贴壁细胞无明显增长, 组织块边缘长梭形细胞较第 2 天明显增多, 密度达到 50%。第 6 天, 长梭形细胞生长密度达 70% ~ 80%。第 7 天, 长梭形细胞生长密度达 90%。在组织块贴壁后第 5 ~ 7 天, 经差时贴壁法纯化后, 所获得的第一瓶和第二瓶细胞以成纤维细胞为主。

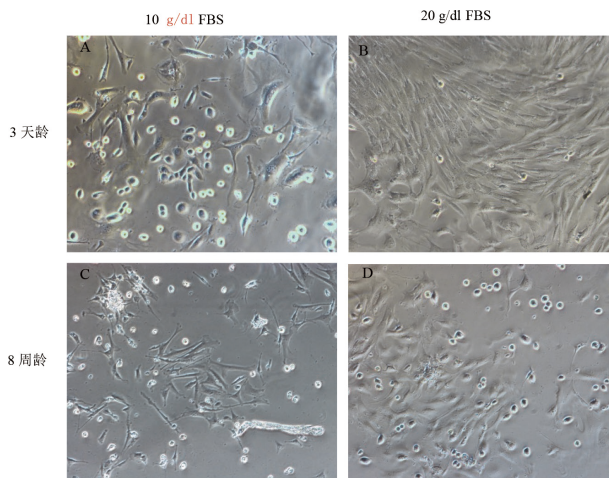


A: 肺组织块贴壁培养第2天; B: 第4天; C: 第6天; D: 第7天。

图1 小鼠肺组织块贴壁不同时间点细胞生长情况 (100×)

2.2 部分培养条件优化前后比较 见图2。组织碎块贴壁培养第7天, 倒置显微镜下可见3天龄20g/dl FBS组较8周龄20 g/dl FBS组肺组织块周边长出更多成纤维细胞

出更多成纤维细胞; 3周龄20g/dl FBS组较3周龄10g/dl FBS组肺组织块周边长出更多成纤维细胞。

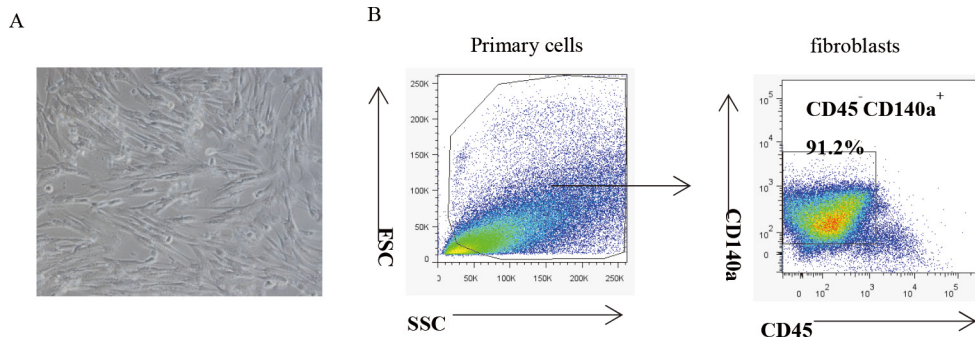


A: 3天龄小鼠肺组织块, 采用10g/dl FBS培养; B: 3天龄小鼠肺组织块, 采用20g/dl FBS培养; C: 8周龄小鼠肺组织块, 采用10g/dl FBS培养; D: 8周龄小鼠肺组织块, 采用20g/dl FBS培养。均为组织碎块贴壁培养第7天。

图2 不同血清培养浓度和小鼠不同年龄对贴壁法分离培养LFB的影响 (100×)

2.3 细胞形态观察与流式染色鉴定 见图3。纯化后的LFB在显微镜下可见增殖状态良好, 其胞体较大, 呈特征性多突的梭形、纺锤形或星形, 细胞核呈规则的卵圆形, 完全伸展的细胞呈扁平长梭形,

轮廓不清。培养3~4天, 细胞几乎完全融合。经流式特异性荧光抗体染色后上流式仪检测, 90%以上细胞表达CD140a(成纤维细胞特异性表面分子)且不表达CD45, 原代培养的LFB纯度高。



A: 倒置显微镜下观察纯化后培养3天的原代细胞 (100×); B: 流式细胞特异性分子染色检测及flowjo软件分析鉴定。

图3 原代LFB形态及特异性分子染色鉴定

2.4 细胞活性 见图4。培养第3代的原代小鼠LFB生长良好,增殖活跃,呈对数生长。接种第1天为潜伏生长期,1天后进入指数生长期,指数生长期约有3天,随后进入平台生长期,5天后增殖逐渐缓慢,出现衰老和死亡。

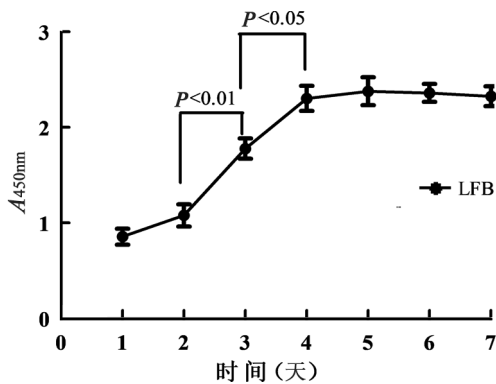


图4 CCK8法检测纯化的第3代小鼠LFB生长曲线

### 3 讨论

成纤维细胞是肺脏中占比最大的组织基质细胞,不仅可维持肺脏组织结构,同时也参与肺脏免疫反应<sup>[1]</sup>。研究表明,在炎症反应的不同阶段,LFB通过分泌CXCL9, CXCL10, IL-12, IL-15等因子,不但可招募不同免疫细胞,同时也会影响原位淋巴细胞的表型和功能<sup>[8-10]</sup>。因此,建立一种稳定有效的LFB分离培养方案是研究肺脏炎症反应的基础,对于肺脏炎症、肿瘤等疾病的防治研究具有深远意义。

原代培养的LFB因其遗传物质的表达特征同体内组织相似,更能反映体内细胞生长特性,因此是研究肺脏炎症、肿瘤生物本身特性、基因表达、药物体外疗效实验的良好模型<sup>[11]</sup>。然而原代培养过程复杂,环节较多,不可控因素众多,取材对象、取材手法、分离方法等任一因素都会影响培养结果<sup>[12-13]</sup>。原代细胞分离培养的方法主要有机械分散法、酶消化法以及组织块贴壁法<sup>[7,14]</sup>。机械分散法是将组织剪碎后用吸管反复吹打,分散组织细胞,然后将碎组织放在注射器内(九号针头),使细胞通过针头压出。此法适合纤维成分较少的脑组织、部分胚胎组织,以及一些肿瘤组织等,因此该方法不适合LFB的分离培养<sup>[15]</sup>。酶消化法和组织块贴壁法是目前成纤维细胞原代培养使用较多的两种方法。然而酶消化法存在诸多不足:①消化时间、消化液浓度对实验结果影响较大,消化时间不足或消化液浓度过低会导致消化不充分,消化下来的细胞量较少,反之则会影响细胞活性,进而影响后续实验。②酶消化法步骤较组织贴壁法复杂,耗时较长,且易造成污染。③消化下来的细胞量远不如组织贴壁法多。一只新生乳鼠采用组织贴壁法可获得3~4瓶T25的原代细胞,远高于消化法获得1~2瓶的

细胞量。④组织贴壁法获得的成纤维细胞为自然“爬出”,更能反映体内生长特性<sup>[16]</sup>。

与以往组织贴壁法相比,本研究建立的改良版组织贴壁法分离培养原代LFB,具有耗时短、获得细胞量大等优势,其主要有以下几个要点:①整个实验全程需要严格遵守无菌操作流程。手术器械需要高压灭菌,超净工作台需要紫外线照射及75g/dl乙醇提前消毒,乳小鼠需在75g/dl乙醇中浸泡约1min。多项原代细胞分离培养的研究均因忽略无菌操作而导致细胞被污染<sup>[5,17]</sup>。②使用新生乳鼠作为取材对象。本研究发现乳小鼠较成年小鼠肺组织碎块贴壁后成纤维细胞可更早从组织块四周大量“爬出”,钱凯等<sup>[18]</sup>在小胶质细胞原代培养中也证实了这一现象。③提高组织块培养时DMEM培养液所含FBS浓度至20g/dl。本研究中,将FBS浓度由10g/dl提高至20g/dl,肺组织块可以更早生长出大量成纤维细胞。④组织块尽量剪碎,剪得越碎越利于成纤维细胞“爬出”。⑤培养瓶先竖立让组织块“干贴壁”4~5h,确保组织块已紧紧贴壁后,再将培养瓶缓慢放平,避免组织块浮起。

总之,经过不断改进实验细节,课题组建立了这种既简单又经济省时的LFB分离培养方法,成功获得了数量多、活性好的原代LFB,且传代良好,为后续肺脏炎症、肿瘤等的研究奠定了一些基础。本次研究尚存在一定局限性:①未能对其它可能影响LFB分离培养效果的因素如组织块大小、贴壁间距等因素进行研究;②未进一步观察传代后的LFB合成和分泌胶原蛋白及其他细胞外基质等功能变化。针对以上不足,将在以后的研究中进一步完善。

### 参考文献:

- [1] YUAN Jihong, MA Yu, YUAN Linghong, et al. Baicalein attenuates bleomycin-induced lung fibroblast senescence and lung fibrosis through restoration of Sirt3 expression[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2023, 61(1): 288-297.
- [2] LIU Xue, GENG Yan, LIANG Jiurong, et al. HER2 drives lung fibrosis by activating a metastatic cancer signature in invasive lung fibroblasts[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2022, 219(10): e20220126.
- [3] MAZUMDAR A, URDINEZ J, BORO A, et al. Osteosarcoma-derived extracellular vesicles induce lung fibroblast reprogramming [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(15): 5451.
- [4] HUANG Guanling, LIANG Jiurong, HUANG Kevin, et al. Basal cell-derived WNT7A promotes fibrogenesis at the fibrotic niche in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2023, 68(3): 302-313.
- [5] 王志超, 武琦, 冯凡超, 等. 改良组织法高效分离纯化成年小鼠肺成纤维细胞 [J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(12): 2842-2844, 后插2-后插3.

- WANG Zhichao, WU Qi, FENG Fanchao, et al. Isolation and purification of adult mouse lung fibroblasts by efficient and modified tissue method[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2018, 36(12): 2842-2844, F0002-F0003.
- [6] ABADE DOS SANTOS F A, CARVALHO C L, ALMEIDA I, et al. Simple method for establishing primary leporidae skin fibroblast cultures[J]. Cells, 2021, 10(8): 2100.
- [7] TAJIMA K, OKADA M, KUDO R, et al. Primary cell culture of canine corneal endothelial cells [J]. Veterinary Ophthalmology, 2021, 24(5): 447-454.
- [8] CAVAGNERO K J, GALLO R L. Essential immune functions of fibroblasts in innate host defense [J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 1058862.
- [9] GROUT J A, SIRVEN P, LEADER A M, et al. Spatial positioning and matrix programs of cancer-associated fibroblasts promote T-cell exclusion in human lung tumors[J]. Cancer Discovery, 2022, 12(11): 2606-2625.
- [10] GONG Zheng, LI Qing, SHI Jiayuan, et al. Lung fibroblasts facilitate pre-metastatic niche formation by remodeling the local immune microenvironment[J]. Immunity, 2022, 55(8): 1483-1500, e9.
- [11] PHOGAT S, THIAM F, AL YAZEEDI S, et al. 3D in vitro hydrogel models to study the human lung extracellular matrix and fibroblast function[J]. Respiratory Research, 2023, 24(1): 242.
- [12] CHARNI-NATAN M, GOLDSTEIN I. Protocol for primary mouse hepatocyte isolation [J]. STAR Protocols, 2020, 1(2): 100086.
- [13] 刘先宁, 汪耀, 朱秀萍, 等. 人角膜基质间充质干细胞的分离培养及表型鉴定 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(4): 28-30, 34.
- LIU Xianning, WANG Yao, ZHU Xiuping, et al. Isolation, culture and phenotype identification of human corneal stromal mesenchymal stem cells[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(4): 28-30, 34.
- [14] PATEL B B, CLARK K L, KOZIK E M, et al. Isolation and culture of primary embryonic zebrafish neural tissue [J]. Journal of Neuroscience Methods, 2019, 328: 108419.
- [15] VALYI-NAGY K, BETSOU F, SUSMA A, et al. Optimization of viable glioblastoma cryopreservation for establishment of primary tumor cell cultures[J]. Biopreservation and Biobanking, 2021, 19(1): 60-66.
- [16] EHLEN L, ARNDT J, TREUE D, et al. Novel methods for in vitro modeling of pancreatic cancer reveal important aspects for successful primary cell culture[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 417.
- [17] 刘姿麟, 林慕之, 况春燕, 等. 大鼠主动脉血管平滑肌细胞原代培养与鉴定 [J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(2): 125-129.
- LIU Zilin, LIN Muzhi, KUANG Chunyan, et al. Culture and identification of primary generation of vascular smooth muscle cell of rat[J]. Journal of Guizhou Medical University, 2017, 42(2): 125-129.
- [18] 钱凯, 唐琳俊, 王希, 等. 新生大鼠原代小胶质细胞分离培养方法的改良 [J]. 临床神经外科杂志, 2019, 16(1): 1-5.
- QIAN Kai, TANG Linjun, WANG Xi, et al. Modified method for cultivating primary microglia of neonatal rat[J]. Journal of Clinical Neurosurgery, 2019, 16(1): 1-5.
- 收稿日期: 2024-05-22  
修回日期: 2024-06-30
- 
- ( 上接第 134 页 )
- SRC/ERK-stabilized YTHDF2 promotes cholesterol dysregulation and invasive growth of glioblastoma[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 177.
- [13] MA Shoubao, SUN Baofa, DUAN Songqi, et al. YTHDF2 orchestrates tumor-associated macrophage reprogramming and controls antitumor immunity through CD8<sup>+</sup> T cells[J]. Nature Immunology, 2023, 24(2): 255-266.
- [14] LIAO Yuning, LIU Yuan, YU Cuifu, et al. HSP90beta impedes STUB1-induced ubiquitination of YTHDF2 to drive sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma[J]. Advanced Science Weinheim Baden Wurttemberg Germany, 2023, 10(27): 2302-23025.
- [15] WANG Liangliang, DOU Xiaoyang, CHEN Shijie, et al. YTHDF2 inhibition potentiates radiotherapy antitumor efficacy [J]. Cancer Cell, 2023, 41(7): 1294-1308, e8.
- [16] LI Yansheng, LIU Xing, CUI Xiaoteng, et al. LncRNA PRADX-mediated recruitment of PRC2/DDX5 complex suppresses UBXXN1 expression and activates NF- $\kappa$ B activity, promoting tumorigenesis[J]. Theranostics, 2021, 11(9): 4516-4530.
- [17] LIU Junliang, ZHANG Jinling, ZHANG Guowei, et al. CircMRE11A\_013 binds to UBXXN1 and integrates ATM activation enhancing lens epithelial cells senescence in age-related cataract[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(4): 5383-5402.
- [18] YI Kaikai, CUI Xiaoteng, LIU Xing, et al. PTRF/cavin-1 as a novel RNA-binding protein expedites the NF- $\kappa$ B/PD-L1 axis by stabilizing lncRNA NEAT1 [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 802795.
- [19] DAN Wenran, ZHONG Liang, ZHANG Zhonghui, et al. RIP1-dependent apoptosis and differentiation regulated by Skp2 and Akt/GSK3 $\beta$  in acute myeloid leukemia[J]. International Journal of Medical Sciences, 2022, 19(3): 525-536.
- [20] YANG Enyu, FAN Xiaowei, YE Haihan, et al. Exploring the role of ubiquitin regulatory X domain family proteins in cancers: bioinformatics insights, mechanisms, and implications for therapy[J]. Journal of Translational Medicine, 2024, 22(1): 157.
- [21] CHAI Ruichao, CHANG Yuzhou, CHANG Xin, et al. YTHDF2 facilitates UBXXN1 mRNA decay by recognizing METTL3-mediated m6A modification to activate NF- $\kappa$ B and promote the malignant progression of glioma[J]. Journal of Hematology & Oncology, 2021, 14(1): 109.
- 收稿日期: 2024-01-18  
修回日期: 2024-04-16