

小鼠颌下腺类器官辐射损伤模型的建立*

唐锦平^{1,2}, 姚茜^{1,3}, 崔昆^{1,3}, 苏敬雅^{1,3}, 刘欣丽^{1,3}, 卢苇^{1,2}, 霍慧敏^{1,3}, 黄中恒^{1,2}, 韦正波^{1,2}, 谢莹^{1,3,△}

(1. 广西区域性高发肿瘤早期防治研究重点实验室, 南宁 530021; 2. 广西医科大学附属肿瘤医院, 南宁 530021; 3. 广西医科大学生命科学研究院, 南宁 530021)

摘要 目的: 本实验拟建立小鼠颌下腺(SMG)的类器官辐射损伤模型, 为唾液腺辐射损伤修复相关研究提供模型支持。**方法:** 取4周龄小鼠SMG组织利用胶原酶消化成单细胞悬液, 接种于基质胶中培养并传代。利用倒置相差显微镜观察SMG类器官生长形态。组织包埋后通过免疫荧光技术检测细胞角蛋白(CK8)及水通道蛋白(AQP5)表达情况。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定培养上清液中唾液淀粉酶(AMS)含量, 利用电子直线加速器对小鼠SMG类器官模型进行不同剂量(0 Gy、5 Gy、10 Gy、15 Gy)的X线照射; 通过ATP细胞活力试剂盒检测各组细胞活性。**结果:** 小鼠SMG类器官呈类圆形球体生长, 随着传代培养可见小叶结构形成。小鼠SMG类器官中CK8、AQP5染色阳性, 细胞培养上清液中可检测到AMS表达, 证实SMG类器官属腺上皮来源并具有分泌AMS功能。放射性照射使类器官增殖速度减慢, 球体周围近似崩解形态。ATP细胞活力检测显示, 细胞活力随着照射剂量的增加而下降($P < 0.05$), 照射剂量为10 Gy时, 细胞活力约为0 Gy组的50%。**结论:** 小鼠SMG类器官辐射损伤模型构建成功, 且10 Gy为唾液腺辐射损伤修复相关研究的最适宜的放射剂量。

关键词 颌下腺细胞; 类器官; 辐射损伤

中图分类号: R33 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2023)06-960-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.06.010

Establishment of radiation injury model of mouse submandibular gland organoids

Tang Jinping^{1,2}, Yao Xi^{1,3}, Cui Kun^{1,3}, Su Jingya^{1,3}, Liu Xinli^{1,3}, Lu Wei^{1,2}, Huo Huimin^{1,3}, Huang Zhongheng^{1,2}, Wei Zhengbo^{1,2}, Xie Ying^{1,3}. (1. The Key Laboratory of Early Prevention and Treatment Research of Regional High Incidence Tumors in Guangxi, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Medical University Cancer Hospital, Nanning 530021, China; 3. Life Sciences Institute, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To establish a radiation injury model of mouse submandibular gland (SMG) organoids to provide support for the research on the repair of radiation injury of the salivary gland. **Methods:** The SMG tissue of 4-week-old mice was digested into single cell suspension by collagenase, and then the suspension was inoculated into Matrigel for culture and passage. The growth morphology of SMG was observed by inverted phase contrast microscope. The expressions of cytokeratin (CK8) and aquaporin (AQP5) were detected by immunofluorescence after tissue embedding. The content of salivary amylase (AMS) in the culture supernatant was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mouse SMG organoid model was irradiated with different doses (0 Gy, 5 Gy, 10 Gy, 15 Gy) by electron linear accelerator. The cell viability of each irradiation dose group was detected by the ATP cell viability kit. **Results:** The mouse SMG organoids grew like round spheres, and the lobular structures were formed with the passage culture. CK8 and AQP5 staining were positive in mouse SMG organoids, and AMS expression was detected in the supernatant of cell culture, which confirmed that SMG organoids were derived from glandular epithelium and had the function of secreting AMS. Radiation slowed down the proliferation of organoids, and the shape around the sphere was approximately disintegrated. ATP cell viability detection showed that the cell viability decreased with the increase of irradiation dose ($P <$

*基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 82160386);
广西自然科学基金资助项目(No. 2021GXNSFAA075042;
No. 2023GXNSFAA026189)

△通信作者, E-mail: xieying@gxmu.edu.cn

收稿日期: 2023-02-15

0.05). When the irradiation dose was 10 Gy, the cell viability was about 50% of that of the 0 Gy group. **Conclusion:** The mouse SMG organoid model is successfully established, and 10 Gy is the most appropriate radiation dose for the research on the repair of radiation injury of salivary gland.

Keywords submandibular gland cells; organoids; radiation injury

头颈癌(head and neck cancer, HNC)是指发生于头颈面部软组织、耳、鼻、咽喉等部位的恶性肿瘤,其发病率在全身恶性肿瘤中位居第七,2020年全球约有93万例新发HNC患者及47万例死亡患者^[1]。放疗是治疗HNC的重要手段之一,但常伴随一系列不良反应,如放射性口腔黏膜炎^[2]、放射性涎腺炎^[3]等。研究表明,超过80%的HNC患者在放疗后出现唾液分泌减少、吞咽困难等症状,严重影响患者的生存质量^[4]。当前唾液腺辐射损伤相关研究多局限于组织形态学层面,且研究模型以Coppers等^[5]建立的大鼠口干症动物模型为主。但是动物模型不仅成本高、周期长、还存在种属差异的问题,因此,若能构建更为便捷适宜的体外细胞模型将对相关研究起到重要作用。类器官(organoids)是来源于原始组织,在体外通过3D培养系统构建出的高仿真细胞模型,具有高保真、稳定、可持续扩增的优势。本实验拟在体外构建小鼠颌下腺(submandibular gland, SMG)类器官,使用不同剂量的射线对类器官进行照射,并筛选出适宜的照射剂量,建立小鼠SMG类器官辐射损伤模型,为唾液腺辐射损伤的防治相关研究提供模型支持。

1 材料和方法

1.1 实验动物 C57BL/6J小鼠,4周龄,雄性,体重16~18 g,购自广西医科大学实验动物中心。12 h光照和12 h黑暗的交替环境下饲养,正常摄食和饮水,室温(25±2)°C,湿度45%~55%,定期检测环境卫生。本实验经广西医科大学动物伦理委员会批准,严格遵守国家有关实验动物伦理学和使用准则。

1.2 主要试剂 DMEM/F12培养基(货号12634010)、胎牛血清(货号10091148)、GlutaMAX™(货号35050079)、HistoGel(货号R904012)、胰蛋白酶—EDTA(0.05%)(货号25300120)均购自美国Ther Fisher公司;A83-01(货号HY-10432)、DAPT(货号HY-13027)购自美国Med Chem express生物科技公司;R-spondin-1条件培养基来自自己转染R-spondin-1的293T细胞(购自美国ATCC细胞库);DAPI购自上海希格玛高技术有限公司;ABW基质胶(货号082755)购自上海诺娃医药科技有限公司;水通道

蛋白5(AQP5)兔单克隆抗体购自沈阳万类生物科技有限公司;细胞角蛋白8(CK8)鼠单克隆抗体、山羊抗小鼠二抗均购自泰州佰嘉生物科技有限公司;山羊抗兔二抗购自英国Abcam公司;细胞培养板购自美国Corning公司;CellTiter-Glo®3D Cell Viability Assay(货号G9683)购自美国Promega公司;小鼠淀粉酶(amylase, AMS)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(货号F30179-B)购自上海科兴生物科技有限公司。

1.3 原代培养及传代 以1%戊巴比妥钠过量麻醉的方法处死小鼠后用碘伏和75%酒精消毒,无菌条件下使用眼科剪及眼科镊切取双侧SMG组织,在4°C的PBS缓冲液中清洗多次,剥离腺体表面的包膜、脂肪组织及纤维结缔组织。随后用眼科剪将腺体剪切成1 mm×1 mm×1 mm的组织块,加入含I型胶原酶、透明质酸酶IV型、Dnase I型的酶解液37°C消化20~40 min,离心,去除酶解液,PBS缓冲液清洗2遍,用200目滤网进行过滤,过滤后再次离心,收集细胞,使用基质胶重悬细胞,然后将基质胶置于37°C培养箱中,30 min凝固,添加完全培养基,包含DMEM/F12培养基、2 mmol/L的GlutaMAX™、100 ng/mL表皮生长因子(EGF)、100 ng/mL A83-01、10% R-spondin-1条件培养基,放置在37°C、5% CO₂、湿度85%的恒温培养箱中培养。每2~3 d更换1次培养基。类器官消化传代:弃去培养基,使用PBS缓冲液清洗2~3次,添加中性蛋白酶溶解基质胶,用PBS清洗释放的类器官,离心,收集沉淀,接着使用胰蛋白酶—EDTA(0.05%)将所得沉淀物处理为单细胞悬液,传代。

1.4 苏木精—伊红(HE)染色及免疫荧光法鉴定

将收集的小鼠SMG组织固定在4%多聚甲醛中,24 h后石蜡包埋,切成4 μm厚的组织切片,行HE染色。基质胶内SMG的类器官,经PBS清洗后包埋于HistoGel组织胶中,70%酒精脱水固定后石蜡包埋并切片,行免疫荧光鉴定。免疫荧光染色步骤:将石蜡切片脱蜡,在预热的10 mmol/L柠檬酸钠回收缓冲液(pH=6.0,含有0.1%吐温)中煮沸15 min;彻底清洗后,分别加入一抗CK8(1:200)、AQP5(1:200)稀释液孵育过夜,加入二抗(1:800),DAPI染色;荧光显微镜下观察、拍照,使用Image J软件进

行图像分析。

1.5 培养基成分优化试验 将SMG消化成单细胞悬液后计数,按10 000~20 000个细胞/20 μ L的密度接种于基质胶中,凝固后各组添加相应培养基,每隔2~3 d进行细胞换液,并在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中孵育。添加的1号培养基^[6]包含DMEM/F12培养基、2 mmol/L的GlutaMAX™、100 ng/mL EGF、100 ng/mL A83-01、10%R-spondin-1条件培养基。2号培养基^[7]包含DMEM/F12培养基、2 mmol/L的GlutaMAX™、100 ng/mL EGF、10 μ g/mL胰岛素、0.4 μ g/mL氢化可的松。通过倒置显微镜观察类器官形成情况,比较细胞的扩增能力。

1.6 分化试验 3号培养基是在1号培养基条件下添加胎牛血清及10 μ mol/L的DAPT,检测并评估SMG类器官的分化能力,每2~3 d换液。第10天在倒置相差显微镜下观察细胞的生长状态。

1.7 AMS含量测定 100 μ mol/L毛果芸香碱溶于培养基中刺激类器官24 h后,收集细胞上清液,离心后除去杂质及细胞碎片,取上清液,检测AMS含量。以正常培养的SMG类器官上清液为对照组。按照ELISA试剂盒说明书步骤进行检测。

1.8 辐照处理及ATP值测定 为了确定SMG类器官辐照敏感性,以10 000个细胞/20 μ L的密度将细胞接种于基质胶中,在孔板中培养至直径30 μ m左右进行照射处理。利用直线加速器分别给予0 Gy、5 Gy、10 Gy、15 Gy剂量照射,每个照射剂量设4个复孔。1周后在显微镜下观察细胞球形态变化,并对各组细胞进行ATP测定评估各组细胞活力。ATP测定方法为吸弃每孔的培养基,用PBS清洗2~3次,加入ATP试剂工作液(100 μ L/孔),由ATP试剂液与培养基1:1混合而成,震荡混匀5 min后使细胞裂解,然后将培养板置于常温孵育20 min,使用酶标仪运用发光法进行检测。

1.9 统计学方法 本实验数据采用SPSS 25.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采

用LSD-*t*检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

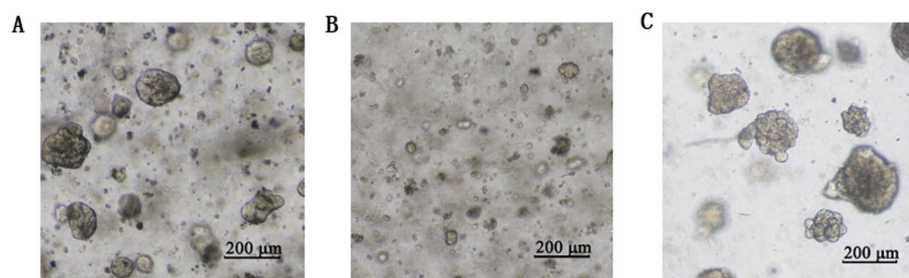
2.1 小鼠SMG类器官的构建及培养基条件验证

在培养体系中选择2种培养基配置方案,结果显示:使用1号培养基(含R-spondin-1条件培养基、A83-01)培养的SMG类器官球体在形成数量和体积上均优于用2号培养基(含胰岛素和氢化可的松)培养的细胞,而在1号培养基的基础上添加DAPT成分(3号培养基^[8])后细胞增殖速度减慢,球体可见小叶结构形成,见图1。

选择1号培养基进行类器官培养,小鼠SMG组织来源的细胞在基质胶中生长呈类球形球体结构,边缘不规则。7 d左右,类器官直径可达100 μ m左右,见图2。

2.2 小鼠SMG类器官的鉴定 免疫荧光染色法检测显示,培养的SMG类器官中CK8(导管标记物)和AQP5(腺泡细胞标记物)染色阳性,见图3A,证实培养细胞为腺上皮细胞来源。SMG类器官的HE染色切片在显微镜下可见细胞核染成深蓝色,细胞质染成红色,细胞核呈扁圆形,偏于细胞一侧,排列呈类环形分布,中间呈现大小不一的腔隙,与小鼠SMG原代组织的HE染色结果具有高度相似性,见图3B。通过ELISA的检测方法可以鉴定出类器官培养上清液中含有AMS,经毛果芸香碱刺激后分泌量增加,表明所培养类器官的有分泌AMS的功能,见图3C。

2.3 小鼠SMG类器官辐射损伤模型 显微镜下观察可见随着照射剂量增加,SMG类器官球体周围连接松散,细胞碎片增多,近似崩解的形态,见图4A。ATP细胞活力检测显示,随着照射剂量的增加,细胞活力降幅更大,见图4B。结果表明,SMG类器官损伤程度随照射剂量的增加而加重,当照射剂量为10 Gy时,细胞活力约为0 Gy的50%(IC₅₀=10.98 Gy)。



A:1号培养基(7 d);B:2号培养基(7 d);C:3号培养基(10 d)。

图1 不同培养基条件下颌下腺类器官培养状态

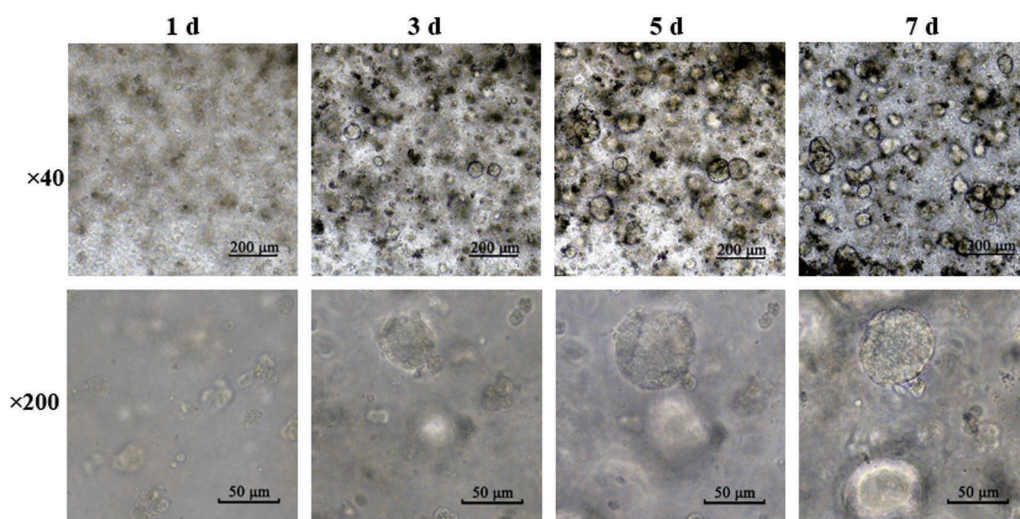
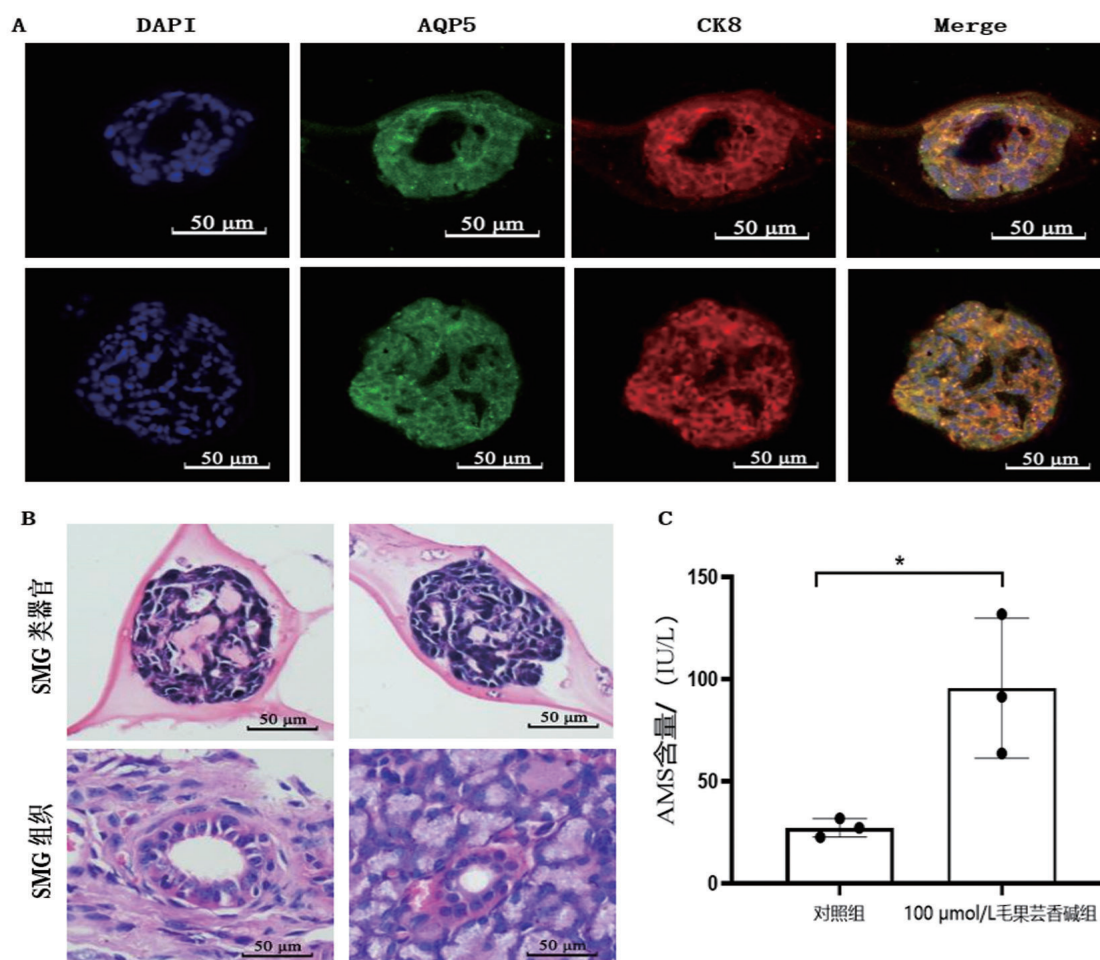
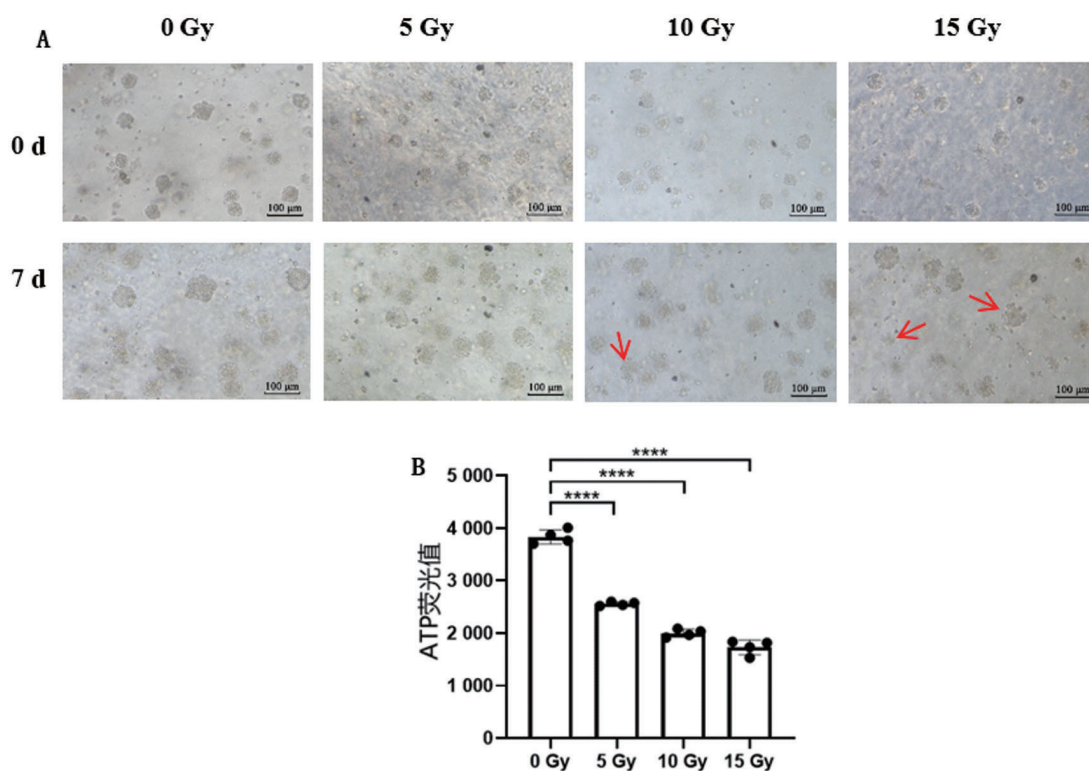


图2 使用1号培养基培养的小鼠SMG类器官的生长情况



A: SMG类器官表达的免疫荧光图像($\times 200$); B: 小鼠SMG类器官与SMG组织HE染色结果比对($\times 200$); C: 各组细胞AMS含量比较($n=3$), 与对照组比较, $*P<0.05$ 。

图3 小鼠SMG类器官的鉴定



A:不同照射剂量SMG类器官生长的代表性图像($\times 100$),红色箭头指示近崩解的球体;B:不同照射剂量SMG类器官的ATP活力测定值($n=4$)。与0 Gy组比较,**** $P<0.0001$ 。

图4 不同照射剂量SMG类器官生长情况

3 讨论

一直以来,传统的二维细胞系培养因操作简单而成为细胞培养的主要方式,但细胞系在培养过程中无法模拟细胞在体内的三维空间结构,且难以维持遗传稳定性^[9]。随着类器官培养技术的逐渐成熟,其不仅培养周期短、可在体外稳定传代,还弥补了二维细胞培养的诸多缺点,因此成为目前最具前景的细胞模型^[10-11]。在SMG类器官的研究中,Yoon等^[12]使用含神经调节蛋白1和维甲酸培养基培养出SMG类器官,其可持续稳定扩增长达8个月,而Oilver等^[13]用二维方式培养的唾液腺,细胞可扩增时间仅维持在4周左右。有研究表明,Wnt信号通路活化是多种上皮细胞培养成类器官的重要因素^[14-15]。R-spondin-1作为Wnt信号通路的激动剂^[16],通过与干细胞Lgr5受体相结合促进胃、小肠等细胞的增殖^[17]。A83-01能够阻断转化生长因子 β 诱导的生长抑制作用,同时抑制Smad2磷酸化,使细胞增殖活性增强,更好维持细胞干性,如Gargett等^[18]利用含

A83-01成分的培养基使小鼠子宫内膜干细胞更好地传代培养。因此,本研究对小鼠SMG类器官培养体系进行了筛选优化。结果表明,在含有R-spondin-1和A8301的培养基培养条件下小鼠SMG细胞可生长为类圆形球体结构,培养上清液中检测出唾液AMS,并且在毛果芸香碱的刺激下AMS分泌有所增加,通过HE染色及免疫荧光染色法进一步证实细胞为唾液腺上皮细胞。而在缺乏R-spondin-1和A83-01的培养基中,小鼠SMG细胞难以成球生长。这表明小鼠SMG类器官形态为致密类球体,且Wnt信号通路激活和A83-01对维持SMG细胞生长起关键作用。

此外,Notch信号通路在细胞活动的信号调节中也十分重要^[19]。 γ -分泌酶可通过影响受体胞内段(notch intracellular domain, NICD)的释放量来调控Notch信号通路状态,继而影响细胞一系列活动^[20]。DAPT是较为常用的 γ -分泌酶抑制剂^[21],其可以有效抑制NICD的释放,阻断下游靶基因的表达,下调Notch信号。因此,本研究在含有R-spondin-1和

A83-01 成分培养体系的基础上进一步添加 DAPT, 发现小鼠 SMG 类器官增殖速度减慢, 球体边缘凸起, 呈小叶结构。上述研究表明, 合理应用不同通路的机制作用有利于类器官模型的构建成功。

良好的细胞辐照模型是体外研究的重要保障。在以往的研究中, 高洋等^[22]、柳康^[23]等认为 5~7.5 Gy 是 SMG 二维细胞辐射损伤模型的合适剂量。本课题组以小鼠 SMG 类器官为模型进行辐射损伤实验, 结果显示, 随着照射剂量的增加, ATP 细胞活力检测荧光值降幅更大, 显微镜下观察到类器官球体周围近似崩解的形态, 表明细胞在受到辐射后损伤程度会随剂量增加而加重。本研究发现, 10 Gy 照射时, 细胞活力约为 0 Gy 的 50%, 鉴于基质胶对细胞辐射损伤的影响, 其最适宜的放射剂量可能略高于二维培养模型下的细胞系模型, 因此选择 10 Gy 的照射剂量可能最有利于基于类器官模型的细胞损伤修复相关研究。在未来的研究中, 仿效 Homan 等^[24]报道的有血管功能的类器官, 将唾液腺类器官血管化, 可能会对唾液腺辐射反应机制的差异有所启迪。

综上, 本研究培养了一种小鼠 SMG 类器官模型, 该模型可以用于研究 SMG 在体外的辐射反应相关机制, 并有助于研发腺体损伤修复相关药品或治疗方法, 提升患者的生活质量。

参考文献:

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] SROUSSI H Y, EPSTEIN J B, BENSADOUN R J, et al. Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis[J]. Cancer medicine, 2017, 6(12): 2918-2931.
- [3] JENSEN S B, VISSINK A, LIMESAND K H, et al. Salivary gland hypofunction and xerostomia in head and neck radiation patients[J]. Journal of the national cancer institute. Monographs, 2019, 2019(53): lgz016.
- [4] JENSEN S B, PEDERSEN A M, VISSINK A, et al. A systematic review of salivary gland hypofunction and xerostomia induced by cancer therapies: prevalence, severity and impact on quality of life[J]. Supportive care in cancer: official journal of the multinational association of supportive care in cancer, 2010, 18(8): 1039-1060.
- [5] COPPES R P, VISSINK A, KONINGS A W. Comparison of radiosensitivity of rat parotid and submandibular glands after different radiation schedules[J]. Radiotherapy and oncology : journal of the European society for therapeutic radiology and oncology, 2002, 63(3): 321-328.
- [6] MAIMETS M, ROCCHI C, BRON R, et al. Long-term in vitro expansion of salivary gland stem cells driven by wnt signals[J]. Stem cell reports, 2016, 6(1): 150-162.
- [7] 曹璐. 大鼠颌下腺上皮细胞放射性损伤模型的建立与评估[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2019.
- CAO L. Establishment and evaluation of a model of radioactive injury in rat submandibular gland epithelial cells [D]. Zunyi: Zunyi medical university, 2019.
- [8] SERRANO MARTINEZ P, CINAT D, VAN LUIJK P, et al. Mouse parotid salivary gland organoids for the in vitro study of stem cell radiation response[J]. Oral diseases, 2021, 27(1): 52-63.
- [9] DOCTOR A, SEIFERT V, ULLRICH M, et al. Three-dimensional cell culture systems in radiopharmaceutical cancer research[J]. Cancers, 2020, 12(10): 2765.
- [10] YAMADA K M, DOYLE A D, LU J. Cell-3D matrix interactions: recent advances and opportunities[J]. Trends in cell biology, 2022, 32(10): 883-895.
- [11] YAMADA K M, SIXT M. Mechanisms of 3D cell migration[J]. Nature reviews. Molecular cell biology, 2019, 20(12): 738-752.
- [12] YOON Y J, KIM D, TAK K Y, et al. Salivary gland organoid culture maintains distinct glandular properties of murine and human major salivary glands[J]. Nature communications, 2022, 13(1): 3291.
- [13] OLIVER C. Isolation and maintenance of differentiated exocrine gland acinar cells in vitro[J]. In Vitro, 1980, 16(4): 297-305.
- [14] JARDÉ T, LLOYD-LEWIS B, THOMAS M, et al. Wnt and Neuregulin1/ErbB signalling extends 3D culture of hormone responsive mammary organoids[J]. Nature communications, 2016, 7: 13207.
- [15] FARIN H F, VAN ES J H, CLEVERS H. Redundant sources of wnt regulate intestinal stem cells and promote formation of paneth cells[J]. Gastroenterology, 2012, 143(6): 1518-1529.e7.

[16] 刘琦,姚茜,韦正波,等.类器官培养基主要成分的作用机制及潜在功能[J].中国组织工程研究,2021,25(31):5072-5078.
LIU Q, YAO Q, WEI Z B, et al. Action mechanism and potential function on main components of organoid culture medium[J]. Chinese journal of tissue engineering research, 2021, 25(31): 5072-5078.

[17] LUGLI N, KAMILERI I, KEOGH A, et al. R-spondin 1 and noggin facilitate expansion of resident stem cells from non-damaged gallbladders[J]. EMBO reports, 2016, 17(5): 769-779.

[18] GARGETT C E, GURUNG S, DARZI S, et al. Tissue engineering approaches for treating pelvic organ prolapse using a novel source of stem/stromal cells and new materials [J]. Current opinion in urology, 2019, 29(4): 450-457.

[19] 赵刚,段序,王丹,等. Notch 信号通路对大鼠牙囊细胞增殖和成骨分化的调控作用[J].北京口腔医学,2021,29(5):271-275.
ZHAO G, DUAN X, WANG D, et al. Regulatory effect of notch signaling pathway on proliferation and osteogenic differentiation of rat dental follicle cells[J]. Beijing journal of stomatology, 2021, 29(5): 271-275.

[20] LI R, ZHANG Q. HtrA1 may regulate the osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells by TGF-β 1[J]. Journal of molecular histology, 2015, 46(2): 137-144.

[21] LAN W R, PAN S, LI H Y, et al. Inhibition of the notch1 pathway promotes the effects of nucleus pulposus cell-de-

rived exosomes on the differentiation of mesenchymal stem cells into nucleus pulposus-like cells in rats[J]. Stem cells international, 2019, 2019: 8404168.

[22] 高洋,柯学平,杨建荣.大鼠颌下腺放射性损伤的细胞学模型的建立[J].口腔生物医学,2010,1(3):140-142.
GAO Y, KE X P, YANG J R. Research of the model of salivary gland radiation injury of rat[J]. Oral biomedicine, 2010, 1(3): 140-142.

[23] 柳康. EPO对下颌腺细胞放射性损伤后细胞增殖和凋亡的影响 [D]. 长春:吉林大学,2017:15-20.
LIU K. Effect of EPO on the proliferation and apoptosis of submandibular gland cells after radiation injury [D]. Changchun: Jilin university, 2017: 15-20.

[24] HOMAN K A, GUPTA N, KROLL K T, et al. Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids in vitro[J]. Nature methods, 2019, 16(3): 255-262.

本文引用格式:

唐锦平,姚茜,崔昆,等.小鼠颌下腺类器官辐射损伤模型的建立[J].广西医科大学学报,2023,40(6):960-966.DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.06.010

TANG J P, YAO X, CUI K, et al. Establishment of radiation injury model of mouse submandibular gland organoids[J]. Journal of Guangxi medical university, 2023, 40(6): 960-966. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2023.06.010