

α -酮戊二酸在间充质干细胞成骨分化研究中的进展

刘雨阳, 李建军

中国医科大学附属盛京医院创伤骨科, 辽宁 沈阳 110004

摘要: 间充质干细胞通过许多信号级联反应被推向不同谱系的分化,其成骨分化机制的研究对于与创伤、代谢及免疫相关的骨科疾病临床治疗有着相当重大的意义。现阶段表观遗传学及细胞代谢是间充质干细胞成骨分化的热门研究方向,两者的作用机制也相互交叉呈网络状。 α -酮戊二酸是细胞氧化代谢中的重要调节位点,无论在常氧还是缺氧环境中都发挥影响细胞增殖分化的作用,它还可以通过激活 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶(2-OGDDs)来影响表观遗传调控,后者对间充质干细胞成骨分化有着深刻的影响。 α -酮戊二酸对于间充质干细胞成骨分化影响的研究可以在一定程度上更好的揭示决定细胞命运的因素,为间充质干细胞在临床上应用所存在的问题带来新的解决思路。

关键词: α -酮戊二酸; 间充质干细胞; 成骨分化; 细胞代谢; 表观遗传学

中图分类号: R329.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)06-0850-04

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种多能细胞,其主要具有成骨、成脂及软骨形成三重分化潜力,用于驱动对这些谱系分化的分化协议已经被常规地使用^[1],如成骨分化诱导通常涉及地塞米松、 β 甘油磷酸及抗坏血酸。MSCs 首次发现于骨髓中,在再生医学中的应用前景广阔,特别是对于骨修复来说其临床应用研究十分热门。当然 MSCs 在临床上实际应用中还有问题亟待解决,如细胞离体培养储存相关化学成分的风险,局部注射治疗后相关分子机制研究及组织工程学上应用优化^[2]等。基于 MSCs 在创伤、代谢及免疫相关的骨科疾病临床治疗的重要意义,所以对其成骨分化相关分子机制研究的继续深入还是十分必要的。

α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, AKG),也被称为 2-氧戊二酸(2-oxoglutarate),是细胞碳代谢中基本的位点之一,也是三羧酸循环的关键中间产物^[3]。AKG 的产生和利用途径的改变都会在一定程度上影响细胞的增殖分化,且此方面的机制与骨形成有关^[4]。作为重要的线粒体代谢信号平台的中间产物,AKG 及其相关代谢物在细胞分化领域起到十分重要的调节作用^[5]。如 AKG 的细胞渗透性衍生物, α -酮戊二酸二甲酯(dimethyl- α -ketoglutarate, DMKG),可以通过毒性积累诱导 DNA 损伤、低氧诱导因子(hypoxic inducible factor, HIF)-1 α 降解和下调乙酰化组蛋白 H3(Lys 27)从而促进 MSCs 核质空泡化,并在此研究中还发现其抑制成骨和成脂诱导下的 MSCs 相关谱系分化关键基因表达^[6]。国内外对 AKG 在 MSCs 分化相关的探索还有待深入,但随着对于其在细胞代谢和表观遗传学中研究的加深,很多研究都表明 AKG 对于 MSCs 成骨分化十分重要。以下对 AKG 在 MSCs 成骨分化研究中的进展进行

综述。

1 AKG 参与细胞分化

糖酵解及三羧酸循环能够将能量途径、代谢编程及表观遗传修饰联系起来,从能量及代谢物的调控来调节基因转录,从而促成对于细胞分化命运的决定,AKG 就是此类过程中重要的中间代谢物^[7]。AKG 参与各类细胞分化机制的研究当然也是离不开细胞代谢及表观遗传学两大主题。有实验发现 DMKG 支持幼稚胚胎干细胞自我更新^[8],同时另外的研究表明 AKG 可促进从去甲基化反应中诱导的多功能干细胞分化^[9]。而对恶性增殖的癌症细胞研究发现,AKG 拮抗其他代谢物从而抑制肿瘤细胞增殖,但其机制仍未完全了解^[10]。以上均说明对于 AKG 在细胞增殖分化中所扮演的角色的研究还需继续加深,也体现出其在细胞分化中的重要地位。

对于骨组织细胞来说,近来有研究证明 AKG 对人和鼠成骨细胞系均有促成骨作用且促进成骨细胞矿化,其影响机制中包括 JNK 和 mTOR/S6K1/S6 等信号通路参与在内,而 AKG 也在动物实验中被证实对骨质生长的促进作用^[11]。研究 AKG 在 MSCs 成骨分化中的作用可能会更好的揭示干细胞分化的机制,再利用相关机制为 AKG 及 MSCs 在临床上的使用提供现存问题的解决方案和新的应用方向。

2 AKG 相关 MSCs 成骨分化机制

2.1 细胞代谢 细胞代谢与干细胞命运有着密切的联系,AKG 更是在其中承担着重要的角色^[12]。有学者确定了 MSCs 在成骨分化期间确实经历了不同的生物能量变化,激活了氧

化磷酸化的线粒体过程,且此过程中低 HIF/高氧化磷酸化状态支持成骨,此状态的逆转会破坏成骨,成骨分化-MSCs (OST-MSCs) 中的氧化磷酸化对 HIF-1 敏感,再由于 HIF-1 抑制氧化磷酸化,因此推断 HIF-1 α 在成骨分化中必是下调^[13]。但 HIF-1 α 介导的细胞对缺氧的适应能力对于 MSCs 细胞命运及生物活性都有着决定作用^[14],所以对于 HIF-1 α 的稳定性问题是 MSCs 成骨分化过程中必须考虑的影响因素。而 AKG 在细胞面对低氧环境时,从谷氨酰胺代谢中的产出会增加,后进入线粒体逆转部分三羧酸循环,使细胞适应于低氧环境^[15]。且在低氧环境下细胞的代谢重编程使依赖于 AKG 的双加氧酶响应于 HIF-1 α 水平改变而起到调节作用^[16]。如脯氨酰羟化酶,其在细胞内感测氧气及 AKG 浓度的变化,后通过介导泛素-蛋白酶途径来调控 HIF-1 α 水平^[17]。而高水平和低水平的 AKG 量均可能会阻碍细胞对于低氧的反应,所以维持细胞内一定水平的 AKG 量对于 HIF-1 的激活至关重要^[10,18]。当然 AKG 与 HIF-1 α 之间的作用机制是否可以在 MSCs 成骨分化过程中的产生积极影响还需要探究。

MSCs 在体内微环境的特征就在于低氧张力,有证据证明对于干细胞的“缺氧预处理”不仅可以提高临床上使用 MSCs 时对于炎症的抑制,还可以提高细胞免疫反应,并对细胞增殖及分化有着增强的作用,在临床应用中不损伤干细胞分化潜能的前提下促进细胞扩增^[19]。“缺氧预处理”的 MSCs 还比“常氧预处理”的 MSCs 表现出更高的移植的存活率^[20]。所以临床上对于 MSCs 成骨分化的应用也是躲不过“缺氧”这一因素的,而如上所述 AKG 在细胞缺氧环境中从谷氨酰胺代谢中更多的产生进入三羧酸循环中补充柠檬酸,并影响脂肪酸代谢及保持线粒体完整性,而相关研究也发现脂肪酸代谢在缺氧诱导 MSCs 来说十分重要^[21]。Wang 等^[22]通过实验得出缺氧会诱导还原型辅酶 I 的积累致使从非 HIF 信号途径激活谷氨酰胺代谢重编程,维持细胞碳-氮稳态,保证细胞的内稳态。因此在上述“预处理”中将 AKG 考虑进去还是有必要的。多项研究证明 HIF-1 α 及活性氧参与的代谢调节对于 MSCs 在缺氧环境的存活及功能的研究为临床上利用 MSCs 治疗相关疾病的途径提供良好的改良方向^[23-25]。AKG 对于上述物质有着不能忽视的调节作用,提示 AKG 在 MSCs 成骨分化过程中可通过其所涉及的细胞代谢相关过程参与调控。

2.2 表观遗传调控 骨重塑中无论骨重建还是骨吸收都与表观遗传调控息息相关, MSCs 成骨分化在骨形成的过程中也离不开 DNA 及组蛋白的修饰^[26]。有学者表明任何原因引起的有效 AKG 浓度改变会造成相应的表观遗传学变化,从而产生相关的生理病理学效应^[27],而表观遗传变化与维持干细胞特性密切相关^[28]。所以 AKG 在表观遗传学的表现对于 MSCs 成骨分化的意义是很有探讨价值的。

2.2.1 赖氨酸组蛋白脱甲基酶(KDMs)与 MSCs 成骨分化 赖氨酸甲基化是一种可逆的修饰,其去除是由 KDMs 催化的。其家族中 KDM 2~9 是含有 Jumonji C (JmjC) 结构域的 KDMs 家族成员,该家族利用 Fe(II) 和 AKG 依赖机制,其能够使单甲基、二甲基和三甲基化的赖氨酸去甲基化,所以它们可能有

着更广泛的去甲基化作用。KDMs 广泛参与包括胚胎发生、细胞周期过程、细胞命运决定、DNA 复制和修复过程中的动态调节及各种人类疾病中并发挥着重要的作用^[29],当然在 MSCs 成骨分化过程中也十分关键。KDM6B 促进 MSCs 成骨分化,且有研究证实 miR-99a 作为 BMSCs 成骨分化的抑制性调节因子并确定 KDM6B 是 miR-99a 的新靶点^[30]。Yang 等^[31]在原始 MSCs 中敲低 KDM7A 后发现成脂分化过程被抑制,成骨分化过程促进。还有研究证明 KDM5A 在骨质疏松小鼠的骨形成调节中具有抑制作用,使用 KDM5A 抑制剂预处理可以部分地挽救骨质疏松症期间的骨丢失,进一步探索发现其机制是通过降低 Runx2 启动子上的 H3K4me3 水平而作为成骨分化的内源调节剂,并且此过程还取决于其组蛋白甲基化活性^[32-33]。而对于 MSCs 来说其在体内成脂分化一直被认为是骨质疏松症骨质流失的罪魁祸首之一,也是阻断成骨分化的诱因^[34]。相关研究指出 KDMs 对于 MSCs 成脂分化的影响是深远且复杂的^[33,35]。例如作为 H4R3me2a 去甲基化酶, JmjD6 可调节脂肪来源的间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, ADSCs)的增殖及迁移能力^[36]。

代谢底物或抑制剂的变化可立即改变已在基因组特定区域招募的酶的活性,从而导致组蛋白甲基化水平的改变,因此,组蛋白修饰的代谢控制取决于底物和抑制剂的可用性。作为含有 JmjC 结构域的 KDMs,其活性依赖于 AKG、O₂ 和 Fe(II)^[37], AKG 的细胞内水平对于多种 KDMs 都有促进作用,而与其相关的代谢物(如琥珀酸、富马酸和 2-羟基戊二酸酯等)可以抑制去甲基化酶活性造成超甲基化的出现^[38]。成纤维细胞的相关研究中^[39]发现,分化诱导的细胞内 AKG 水平增加,伴随着 H3K27me2 的去甲基化以允许基因重编程及肌成纤维细胞分化,暗示着 AKG 对于去甲基化酶的调控作用,并且此研究推测这种关键去甲基化酶是 JmjD3。而在巨噬细胞中 AKG 就是通过 JmjD3 依赖的表观遗传重编程来调控巨噬细胞极化方向,且在 AKG/琥珀酸比率升高时发现 M2 型巨噬细胞极化增强^[40]。而对于 T 细胞分化来说, AKG 介导的 H3K27me3 和 DNA 甲基化状态改变也是十分重要的^[41-42]。这些都说明 AKG 介导 KDMs 活性来影响细胞分化,也就暗示着 KDMs 影响 MSCs 成骨分化的机制中 AKG 可能是不可或缺的因素。

2.2.2 10-11 易位甲基胞嘧啶双加氧酶(TETs)与 MSCs 成骨分化 TET 蛋白可以活化 DNA 甲基化的脱甲基作用。TET 蛋白的缺乏会干扰 5-甲基胞嘧啶和 5 羟甲基胞嘧啶的动态分配,从而导致分化从一个谱系转换到另一种谱系^[43],近年来 TETs 在调节谱系特异性基因表达的研究越来越多,外胚层、中胚层和内胚层谱系中的 TETs 在谱系分化定型中均有着很重要的作用^[44]。而在 MSCs 中, TETs 基因转录及蛋白表达水平均在成骨诱导下出现显著变化,并且通过基因组学技术及芯片证明得出, TET₁ 是 MSCs 成骨和成脂分化的抑制剂,考虑其机制是通过招募其他表观遗传修饰物(如 SIN3A 和 EZH2)的间接机制起作用,而 TET₂ 直接促进 MSCs 成骨和脂肪形成分化,其在成骨诱导下在骨相关基因 RUNX2 和 BMP2 的内含

子及外显子上的占有率水平增加^[45]。TETs介导的DNA去甲基化在间充质谱系中还触发了成骨细胞主基因Sp7(osterix)的表达^[46]。TET₁/TET₂沉默可在成骨细胞分化过程中阻止Sp7的表达,并改变包含组蛋白甲基化酶(COMPASS)、组蛋白去甲基化酶(Jmjd2a/Jmjd3)和SWI/sSNF的复合物对Sp7启动子的募集。还有研究发现,TET₁和TET₂是维持MSCs和骨内平衡所必需的,两者的缺失可能导致P2rx7启动子的高甲基化,阻止miR-297a-5p、miR-297b-5p和miR-297c-5p的释放,从而导致RUNX2信号的下调和骨质减少表型^[47]。

TETs是以AKG为共基质的DNA和组蛋白脱甲基酶的关键家族之一^[48],三个TET家族成员(TET₁、TET₂和TET₃)在C-末端共享一个高度保守的催化域,该催化域包含富含半胱氨酸和双链β-螺旋(DSBH)区域。DSBH区域包含铁(Fe²⁺)和AKG结合位点,它们对TET催化活性至关重要^[49]。当细胞内AKG水平升高,可观察到体内体外TET蛋白均增加,伴随着TET酶活性也更高^[50]。且与KDMs相似,TETs也容易受到富马酸和琥珀酸的竞争性抑制,导致组蛋白和DNA甲基化水平的增加^[51]。在心脏MSCs中AKG可以通过影响TET/TDG复合物来维持DNA的稳定,恢复DNA脱甲基循环^[52]。AKG不仅影响胰腺干细胞能量代谢,还可以通过上调TET酶活性改善祖细胞相关基因转录促进细胞增殖,并且AKG代谢的抑制促进细胞分化有关的基因的表达^[53]。

综上所述,AKG在MSCs成骨分化研究中有着很好的前景。AKG参与分化的调控作用不能单纯从某一方面简单分析,其调控途径也应从细胞外、胞质及线粒体内多层次进行考虑,其对骨代谢影响的具体机制也仍未得出结论,而且还有很多相关代谢产物在成骨分化过程中的作用仍存在疑问,但相信随着研究的不断深入,对MSCs成骨分化相关机制的认识将不断完善;随着AKG及MSCs在临床试验中的积极进展,AKG对MSCs成骨分化的影响可能会引入骨科疾病治疗的新途径。代谢途径及表观遗传学研究在骨科学中的重要性越来越清晰,AKG就是纷繁复杂的代谢重编程中的一个关键点,也许探索它就能打开MSCs临床应用大门重兵把守的一把锁。因此,今后有必要对其展开深入具体的研究,以进一步了解AKG在MSCs成骨分化过程中的作用,为其临床应用提供理论参考。

参考文献

[1] Almalki SG, Agrawal DK. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Differentiation*, 2016, 92(1/2): 41-51.

[2] Fitzsimmons REB, Mazurek MS, Soos A, et al. Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering [J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 8031718.

[3] Rangel-Huerta OD, Pastor-Villaescusa B, Gil A. Are we close to defining a metabolomic signature of human obesity? A systematic review of metabolomics studies [J]. *Metabolomics*, 2019, 15(6): 93.

[4] Zdzińska B, Żurek A, Kandefers-Szerszeń M. Alpha-ketoglutarate as a molecule with pleiotropic activity: well-known and novel possibilities of therapeutic use [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2017,

65(1): 21-36.

[5] Frezza C. Mitochondrial metabolites; undercover signalling molecules [J]. *Interface Focus*, 2017, 7(2): 20160100.

[6] Singh K, Krug L, Basu A, et al. Alpha-ketoglutarate curbs differentiation and induces cell death in mesenchymal stromal precursors with mitochondrial dysfunction [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(7): 1704-1718.

[7] Xu WY, Wang FZ, Yu ZS, et al. Epigenetics and cellular metabolism [J]. *Genet Epigenetics*, 2016, 8: 43-51.

[8] Carey BW, Finley LW, Cross JR, et al. Intracellular α-ketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells [J]. *Nature*, 2015, 518(7539): 413-416.

[9] TeSlaa T, Chaikovskiy AC, Lipchina I, et al. A-ketoglutarate accelerates the initial differentiation of primed human pluripotent stem cells [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(3): 485-493.

[10] Vatrinet R, Leone G, de Luise M, et al. The α-ketoglutarate dehydrogenase complex in cancer metabolic plasticity [J]. *Cancer Metab*, 2017, 5: 3.

[11] Żurek A, Mizerska-Kowalska M, Śnawińska-Brych A, et al. Alpha ketoglutarate exerts a pro-osteogenic effect in osteoblast cell lines through activation of JNK and mTOR/S6K1/S6 signaling pathways [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 374: 53-64.

[12] Bargiela D, Burr SP, Chinnery PF. Mitochondria and hypoxia; metabolic crosstalk in cell-fate decisions [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(4): 249-259.

[13] Shum LC, White NS, Mills BN, et al. Energy metabolism in mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation [J]. *Stem Cells Dev*, 2016, 25(2): 114-122.

[14] Lee HJ, Jung YH, Choi GE, et al. Role of HIF1α regulatory factors in stem cells [J]. *Int J Stem Cells*, 2019, 12(1): 8-20.

[15] Fuhrmann DC, Olesch C, Kurrle N, et al. Chronic hypoxia enhances β-oxidation-dependent electron transport via electron transferring flavoproteins [J]. *Cells*, 2019, 8(2): E172.

[16] Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 27-47.

[17] Sinha I, Sakthivel D, Olenchock BA, et al. Prolyl hydroxylase domain-2 inhibition improves skeletal muscle regeneration in a male murine model of obesity [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8: 153.

[18] Guo S, Duan R, Wang L, et al. Dietary α-ketoglutarate supplementation improves hepatic and intestinal energy status and anti-oxidative capacity of Cherry Valley ducks [J]. *Anim Sci J*, 2017, 88(11): 1753-1762.

[19] Pei M. Environmental preconditioning rejuvenates adult stem cells' proliferation and chondrogenic potential [J]. *Biomaterials*, 2017, 117: 10-23.

[20] Liu YY, Chiang CH, Hung SC, et al. Hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells ameliorate ischemia/reperfusion-induced lung injury [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0187637.

[21] Lee HJ, Jung YH, Choi GE, et al. BNIP3 induction by hypoxia stimulates FASN-dependent free fatty acid production enhancing therapeutic potential of umbilical cord blood-derived human mesenchymal stem cells [J]. *Redox Biol*, 2017, 13: 426-443.

- [22] Wang YY, Bai CS, Ruan YX, et al. Coordinative metabolism of glutamine carbon and nitrogen in proliferating cancer cells under hypoxia [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):201.
- [23] Lee HJ, Jung YH, Choi GE, et al. O-cyclic phytosphingosine-1-phosphate stimulates HIF1 α -dependent glycolytic reprogramming to enhance the therapeutic potential of mesenchymal stem cells [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8):590.
- [24] Martinez VG, Ontoria-Oviedo I, Ricardo CP, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha improves immunomodulation by dental mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):208.
- [25] Lv B, Li F, Fang J, et al. Hypoxia inducible factor 1 α promotes survival of mesenchymal stem cells under hypoxia [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3):1521-1529.
- [26] Yi SJ, Lee H, Lee J, et al. Bone remodeling: histone modifications as fate determinants of bone cell differentiation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):E3147.
- [27] Chang S, Yim S, Park H. The cancer driver genes IDH1/2, JARID1C/KDM5C, and UTX/KDM6A: crosstalk between histone demethylation and hypoxic reprogramming in cancer metabolism [J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(6):1-17.
- [28] Lu Y, Qu HN, Qi D, et al. OCT4 maintains self-renewal and reverses senescence in human hair follicle mesenchymal stem cells through the downregulation of p21 by DNA methyltransferases [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1):28.
- [29] Xiao F, Liao B, Hu J, et al. JMJD1C ensures mouse embryonic stem cell self-renewal and somatic cell reprogramming through controlling MicroRNA expression [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 9(3):927-942.
- [30] Tang Y, Zhang L, Tu TC, et al. MicroRNA-99a is a novel regulator of KDM6B-mediated osteogenic differentiation of BMSCs [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(4):2162-2176.
- [31] Yang XY, Wang GN, Wang Y, et al. Histone demethylase KDM7A reciprocally regulates adipogenic and osteogenic differentiation via regulation of C/EBP α and canonical Wnt signalling [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(3):2149-2162.
- [32] Wang C, Wang J, Li J, et al. KDM5A controls bone morphogenic protein 2-induced osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells during osteoporosis [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(8):e2335.
- [33] Nic-Can GI, Rodas-Junco BA, Carrillo-Cocom LM, et al. Epigenetic regulation of adipogenic differentiation by histone lysine demethylation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16):E3918.
- [34] Ambrosi TH, Scialdone A, Graja A, et al. Adipocyte accumulation in the bone marrow during obesity and aging impairs stem cell-based hematopoietic and bone regeneration [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(6):771-784.
- [35] Shen CY, Quan QL, Yang C, et al. Histone demethylase JMJD6 regulates cellular migration and proliferation in adipose-derived mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):212.
- [36] Chang B, Yue C, Zhao Y, et al. JMJD6 is a histone arginine demethylase [J]. *Science*, 2007, 318(5849):444-447.
- [37] Leon KE, Aird KM, Jumonji C demethylases in cellular senescence [J]. *Genes*, 2019, 10(1):33.
- [38] Li XJ, Egervari G, Wang YG, et al. Regulation of chromatin and gene expression by metabolic enzymes and metabolites [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(9):563-578.
- [39] Lombardi AA, Gibb AA, Arif E, et al. Mitochondrial calcium exchange links metabolism with the epigenome to control cellular differentiation [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):4509.
- [40] Liu PS, Wang HP, Li XY, et al. A-ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(9):985-994.
- [41] Chisolm DA, Savic D, Moore AJ, et al. CCCTC-binding factor translates interleukin 2-and α -ketoglutarate-sensitive metabolic changes in T cells into context-dependent gene programs [J]. *Immunity*, 2017, 47(2):251-267.
- [42] Suzuki J, Yamada T, Inoue K, et al. The tumor suppressor menin prevents effector CD8 T-cell dysfunction by targeting mTORC1-dependent metabolic activation [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):3296.
- [43] Tsagaratou A, González-Avalos E, Rautio S, et al. TET proteins regulate the lineage specification and TCR-mediated expansion of iNKT cells [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(1):45-53.
- [44] Wu XW, Li G, Xie RY. Decoding the role of TET family dioxygenases in lineage specification [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2018, 11(1):58.
- [45] Cakouros D, Hemming S, Gronthos K, et al. Specific functions of TET₁ and TET₂ in regulating mesenchymal cell lineage determination [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2019, 12(1):3.
- [46] Sepulveda H, Villagra A, Montecino M. Tet-mediated DNA demethylation is required for SWI/SNF-dependent chromatin remodeling and histone-modifying activities that trigger expression of the Sp7 osteoblast master gene during mesenchymal lineage commitment [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(20):e00177-17.
- [47] Yang RL, Yu TT, Kou XX, et al. Tet1 and Tet2 maintain mesenchymal stem cell homeostasis via demethylation of the P2rx7 promoter [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):2143.
- [48] Miro-Blanch J, Yanes O. Epigenetic regulation at the interplay between gut microbiota and host metabolism [J]. *Front Genet*, 2019, 10:638.
- [49] Yin RC, Mo JZ, Dai JY, et al. Nickel (II) inhibits Tet-mediated 5-methylcytosine oxidation by high affinity displacement of the cofactor iron (II) [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12(6):1494-1498.
- [50] Atlante S, Visintin A, Marini E, et al. A-ketoglutarate dehydrogenase inhibition counteracts breast cancer-associated lung metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(7):756.
- [51] An J, Rao A, Ko M. TET family dioxygenases and DNA demethylation in stem cells and cancers [J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(4):e323.
- [52] Spallotta F, Cencioni C, Atlante S, et al. Stable oxidative cytosine modifications accumulate in cardiac mesenchymal cells from Type2 diabetes patients; rescue by α -ketoglutarate and TET-TDG functional reactivation [J]. *Circ Res*, 2018, 122(1):31-46.
- [53] Song J, Ma D, Xing Y, et al. α -ketoglutarate promotes pancreatic progenitor-like cell proliferation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018;19(4):943.