

糖尿病环境下成骨细胞 *KDM6B* 表达的变化*

唐宇^{1,2,3}, 胡赞^{1,2,3}, 罗丹^{1,2,3}, 丁晓倩^{1,2,3}, 李彩玉^{1,2,3}, 郑雷蕾^{1,2,3}△

1. 重庆医科大学附属口腔医院(重庆 401145); 2. 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室(重庆 401145);

3. 重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室(重庆 401145)

【摘要】 目的 研究糖尿病环境下骨髓间充质干细胞(BMSCs)的成骨分化能力及组蛋白去甲基化酶 *KDM6B* 表达的变化情况。**方法** 制备糖尿病大鼠模型,分离培养糖尿病模型大鼠及正常大鼠来源的 BMSCs, BMSCs 以高糖、晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation products, AGE)模拟糖尿病环境,即将 BMSCs 分为 6 组:糖尿病组(糖尿病大鼠来源)和正常组(正常对照大鼠来源),高糖组(含 D-葡萄糖 30 mmol/L)和正常组(含普通浓度的 D-葡萄糖 5.5 mmol/L 作为高糖对照),AGE 组(含 AGE 300 μ g/mL)和牛血清白蛋白(BSA,作为 AGE 对照)组(含 BSA 300 μ g/mL)。除糖尿病组 BMSCs 为糖尿病大鼠来源,其余 BMSCs 为正常对照大鼠来源。各组 BMSCs 分别成骨诱导 7 d 后,进行碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染色,观察 BMSCs 的诱导骨向分化能力;以实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测各组 BMSCs 的成骨相关基因 *Runt* 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, *Runx2*)、组蛋白去甲基化酶 *KDM6B* mRNA 的表达,以 Western blot 检测 H3K27Me3 蛋白的表达。**结果** 糖尿病组、高糖组及 AGE 组 BMSCs 的 ALP 染色细胞数均少于其相应对照组($P<0.05$),*Runx2*、*KDM6B* mRNA 表达也均低于其对照组($P<0.05$),而 H3K27Me3 蛋白表达均高于其对照组($P<0.05$)。**结论** 糖尿病环境下 BMSCs 成骨分化能力减弱,且 *Runx2* mRNA 表达受到抑制,可能与 *KDM6B* 的表达抑制后 H3K27Me3 表达增加有关。

【关键词】 糖尿病 成骨细胞 表观遗传 *KDM6B*

Study on the Expression of *KDM6B* of Osteoblast in Diabetic Environment TANG Yu^{1,2,3}, HU Yun^{1,2,3}, LUO Dan^{1,2,3}, DING Xiao-qian^{1,2,3}, LI Cai-yu^{1,2,3}, ZHENG Lei-lei^{1,2,3}△. 1. Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401145, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Science, Chongqing 401145, China; 3. Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401145, China

△ Corresponding author, E-mail: zheng_lei_lei@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the ability of osteogenic differentiation and the expression of histone demethylases *KDM6B* in bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) in diabetic environment. **Methods** Diabetic model rats was successfully established, and BMSCs from diabetic model rats and normal rats were isolated and cultured for further study. When cultured cells, we added high concentration of glucose and advanced glycosylation products (AGE) in the medium to imitating the diabetic environment. BMSCs were divided into 6 groups: diabetes group (derived from diabetes SD rats), normal group (derived from normal SD rats), high glucose group (30 mmol/L D-glucose), normal glucose group (5.5 mmol/L D-glucose), AGE group (AGE 300 μ g/mL) and BSA group (BSA 300 μ g/mL). BMSCs in diabetes group were derived from diabetes SD rats, while others were derived from normal SD rats. After 7 d of osteogenic induction, the cells were examined the ability of osteogenic differentiation by alkaline phosphatase (ALP) staining, the transcription levels of Runt-related transcription factor 2 (*Runx2*) and *KDM6B* were determined by RT-PCR, and the expression levels of H3K27Me3 protein were examined by Western bolt. **Results** Compared with the control groups, the numbers of ALP stained cells and the mRNA levels of *Runx2* and *KDM6B* in diabetes group, high glucose group and AGE group were all decreased ($P<0.05$), while H3K27Me3 protein expression levels were all increased ($P<0.05$). **Conclusion** The ability of osteogenic differentiation of BMSCs in diabetic environment was weakened, and the expression of *Runx2* mRNA was inhibited, which may be related to the increased expression of H3K27Me3 after the inhibition of *KDM6B* expression.

【Key words】 Diabetes Osteoblast Epigenetics *KDM6B*

* 国家自然科学基金(No. 81470772)、重庆市科卫联合医学科研重点项目(No. 2018ZDXM020)、重庆市自然科学基金(No. cstc2016jcyjA0238)和 2016 年重庆高校创新团队建设计划(No. CXTDG201602006)资助

△ 通信作者, E-mail: zheng_lei_lei@163.com

糖尿病是一种常见的代谢内分泌疾病,可对多种组织造成慢性损害,其在骨骼系统的并发症为糖尿病性骨质疏松,是糖尿病患者骨骼功能障碍和长期疼痛的重要原因^[1]。糖尿病性骨质疏松的发病机制复杂多样,目前研究表明,其机制可能与糖尿病环境下成骨细胞和破骨细胞的动态平衡受到影响有关^[2-3]。

表观遗传与既往的基因调控方式不同,其不用改变 DNA 碱基序列就能调控基因表达,并在生物体内可以遗传,包括 DNA 的甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码 RNA(如微小 RNA)等^[4]。组蛋白去甲基化酶 KDM6B(即 JMJD3)可以使组蛋白 H3 肽链中的 27 位赖氨酸上的 3 个甲基(H3K27Me3)去甲基化,与组蛋白赖氨酸甲基转移酶(histone lysine methyltransferases, KMTs)共同调节组蛋白赖氨酸的甲基化水平^[5]。为进一步探索糖尿病骨质损害的表现遗传学机制,本研究通过糖尿病大鼠建模、高糖以及晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation products, AGE)体外模拟糖尿病环境,观察分析糖尿病环境下骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)的成骨分化能力、KDM6B 及成骨相关基因 Runt 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, *Runx2*)表达的变化情况。

1 材料与方法

1.1 实验动物

3~4 周龄 SD 大鼠 8 只(体质量 60~80 g, 雄性),购于重庆医科大学实验动物中心。动物生产许可证号为 SCXK(渝)2017-0001,使用许可证号为 SYXK(渝)2017-0023。动物饲养在 12 h 光照/黑暗、恒温恒湿的环境下。实验处置符合动物伦理学标准。

1.2 主要试剂

链脉佐菌素(STZ)(Sigma, 美国),柠檬酸、柠檬酸钠(苏州华航化工, 中国),胎牛血清、PBS、DMEM-F12、H-DMEM 培养基(Hyclone, 美国),总 RNA 提取试剂盒(Promega, 美国),0.25%胰酶、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染色试剂盒、SDS-PAGE 凝胶试剂盒、Beyo ECL Plus 超敏 ECL 化学发光试剂盒(碧云天, 中国上海),H3K27Me3 抗体(CST, 美国),AGEs(博奥森, 中国北京),牛血清白蛋白(BSA)(BioFroxx, 德国)。

1.3 糖尿病大鼠模型的建立

随机取 8 只 SD 大鼠,适应性喂养 2 周后,随机分为,糖尿病组和正常对照组(各 4 只)。参照课题组前期建模方法^[6],糖尿病组大鼠用高糖高脂饲料喂养 4 周后禁食 12 h,按照 30 mg/kg 一次性腹腔推注 STZ 柠檬酸缓冲液,同时,正常对照组大鼠用普通饲料喂养 4 周并禁食 12 h,一次性腹腔推注柠檬酸缓冲液,两组大鼠继续原饲料喂养。72 h 后剪尾取静脉血,测两组大鼠空腹血糖(测前禁食 8 h),以血糖 > 16.7 mmol/L 为胰岛素敏感性降低,符合此标准的视为糖尿病大鼠建模成功,腹腔注射后 3 周再剪尾取血,测量空腹血糖,以确保血糖浓度 > 16.7 mmol/L。建模成功的糖尿病大鼠的和正常对照大鼠继续原饲料喂养,进行后续实验。

1.4 全骨髓贴壁法分离培养 BMSCs

参照文献方法^[7]进行大鼠 BMSCs 原代取材。脱颈处死大鼠,75%乙醇中浸泡 15 min,于超净工作台分别取大鼠股骨和胫骨,剪去两端,暴露骨髓腔,从中分离原代 BMSCs,使用原代贴壁法分离培养 BMSCs。离心后将原代 BMSCs 重悬于 DMEM-F12 培养液(含 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素),并接种于 10 cm 细胞培养皿,在 37℃、体积分数为 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。原代 BMSCs 接种 24 h 后半换液,3 d 后首次全换液,此后隔天换液一次,第 12 d 相差显微镜下可见细胞克隆开始形成,待细胞融合密度达到 90% 时用胰酶消化进行细胞传代。

1.5 成骨诱导及 ALP 染色

以 ALP 染色判断成骨细胞骨向分化能力,ALP 染色越深表示 ALP 活性越高,说明骨向分化程度越高。取第 3 代 BMSCs 以 5×10^4 mL⁻¹ 密度接种于 60 mm 培养皿,加入 DMEM-F12 培养液(含 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素),37℃、体积分数为 5% CO₂ 环境下培养。待细胞增殖达 70%~80% 时,弃原培养液并用 PBS 冲洗后,将细胞随机分为 6 组:①糖尿病组和正常组:细胞分别来源于糖尿病大鼠和正常对照大鼠,加入成骨诱导液(H-DMEM 培养液、10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素、10 mmol/L β -甘油磷酸钠、50 μ g/mL 维生素 C、 10^{-7} mol/L 地塞米松,下同)培养 7 d,隔天换液;②高糖组和正常组:细胞均来源于正常对照大鼠,分别加入含高糖(30 mmol/L D-葡萄糖)和普通糖(5.5 mmol/L D-葡萄糖作为高糖对照)的成骨诱导液培养 7 d,隔天换液;③ AGE 组和 BSA 组:细胞

均来源于正常对照大鼠,分别加入含 300 $\mu\text{g/mL}$ AGE 和 BSA (作为 AGE 对照)的成骨诱导液培养 7 d,隔天换液。各组细胞成骨诱导液培养 7 d 后,采用试剂盒对各组细胞进行 ALP 染色,6 h 后在倒置相差显微镜下观察(各组细胞随机取 3 个视野)。

1.6 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 表达

取第 3 代 BMSCs,以 $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 密度接种于 6 孔板,按照上述方法分 6 组成骨诱导 7 d 后,采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA,用反转录试剂盒合成 cDNA,然后采用 ABI 7900 Real-time PCR 仪进行基因片段扩增。*Runx2*、*KDM6B*、*GAPDH* 基因序列参照美国国立生物技术信息中心(NCBI)资料,用 Primer-BLAST 软件设计引物,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。基因序列如下,*Runx2* 上游引物序列:5'-CCTTCCCTCCGAGACCCTAA-3',下游引物序列:5'-ATGGCTGCTCCCTTCTGAAC-3',*KDM6B* 上游引物序列:5'-AAGACCCCTCCATGGGAAGTT-3',下游引物序列:5'-AACTGTCCAAGCTGTTCCCA-3',*GAPDH* 上游引物序列:5'-AGTGCCAGCCTCGTCTCAT A-3',下游引物序列:5'-ACCAGCTTCCCATTCTCAGC-3'。反应条件按产品说明进行,实验重复 3 次。目的基因的表达采用以 *GAPDH* 为内参照,计算 ΔCt ,以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.7 Western blot 检测 H3K27Me3 蛋白表达

取第 3 代 BMSCs,以 $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 密度接种于 10 cm 培养皿,按照上述方法分 6 组成骨诱导 7 d 后,采用 Western blot 检测各组总蛋白中 H3K27Me3 的表达及核蛋白中 *GAPDH* 的表达。各组分别加入蛋白裂解液裂解细胞(含蛋白抑制剂 PMSF),刮下细胞裂解液后离心,取上清用 BCA 法测定其蛋白浓度,加入蛋白电泳上样缓冲液。煮沸后,进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶蛋白(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE)电泳,电转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭,分别用一抗和二抗进行免疫反应,最后化学发光显影,用凝胶成像仪拍照并测定各显色条带的灰度值,以目的条带与 *GAPDH* 灰度值的比值为 H3K27Me3 蛋白的相对表达量。

1.8 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述。组间比较

采用独立样本的 t 检验。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BMSCs 的分离培养

由图 1 可见,分离培养的 BMSCs 在铺板后第 4 天正常大鼠(图 1 A)的 BMSCs 呈长梭型,增殖旺盛,形态饱满,漩涡状明显;而糖尿病大鼠(图 1B)的 BMSCs 生长速度明显略慢,细胞棱角不分明,形态扁平。

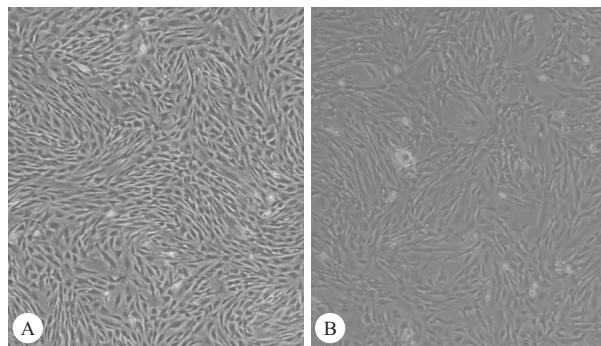


图 1 正常大鼠(A)和糖尿病大鼠(B)来源的 BMSCs 形态特征。 $\times 40$

Fig 1 Morphology of primary cultured BMSCs for normal rats (A) and diabetes (B). $\times 40$

2.2 各组 BMSCs 成骨诱导后 ALP 染色比较

见图 2。各组 BMSCs 分别成骨诱导第 3 天时,倒置相差显微镜下见各组细胞形态均由原来的长梭型变为短而圆钝的形态,糖尿病组(图 2A)、高糖组(图 2C)和 AGE 组(图 2E)BMSCs 密度明显低于其对照组(图 2B、2D、2F)。在成骨诱导第 7 天时分别进行 ALP 染色,6 h 后倒置相差显微镜下可见糖尿病组(图 2G)、高糖组(图 2I)和 AGE 组(图 2K)BMSCs 的 ALP 染色细胞数均明显少于其对照组(图 2H、2J、2L)。

2.3 糖尿病大鼠 BMSCs 的 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 和 H3K27Me3 蛋白的表达

糖尿病组和正常组的 BMSCs 成骨诱导 7 d, qRT-PCR 结果(图 3A)显示,糖尿病大鼠来源 BMSCs 的 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 表达降低($P < 0.05$), Western blot 结果(图 3B)显示,糖尿病组 BMSCs 的 H3K27Me3 蛋白表达高于正常组($P < 0.05$)。

2.4 高糖环境下 BMSCs 的 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 和 H3K27Me3 蛋白的表达

高糖组和正常组的 BMSCs 成骨诱导 7 d, qRT-

PCR 结果(图 4A)显示,与正常组相比,高糖组 BMSCs 的 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 表达降低($P<0.05$), Western blot 结果(图 4B)显示,高糖组 BMSCs 的 H3K27Me3 蛋白表达高于正常组($P<$

0.05)。
2.5 AGE 作用下 BMSCs 的 *Runx2* 及 *KDM6B* mRNA 和蛋白的表达
AGE 组 和 BSA 组的 BMSCs 成骨诱导 7 d,

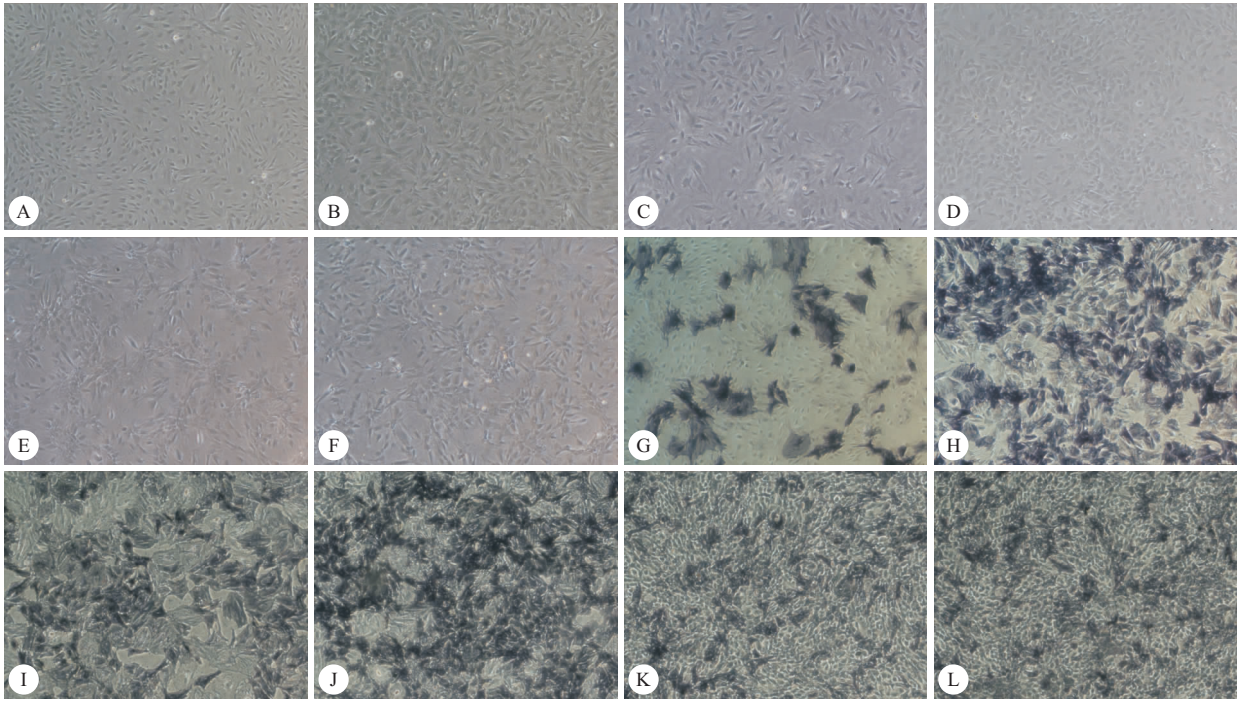


图 2 BMSCs 成骨诱导 3 d 后观察(A~F)及成骨诱导 7 d 后 ALP 染色观察(G~L)。× 40
Fig 2 Observation of BMSCs 3 d after osteogenic induction (A-F) and 7 d after osteogenic induction by ALP staining (G-L). × 40
A and G; Diabetes group; B and H; Normal group; C and I; High glucose group; D and J; Normal glucose group; E and K; AGE group; F and L; BSA group

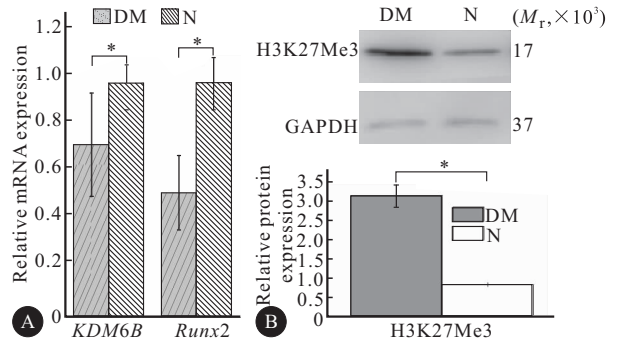


图 3 糖尿病组 BMSCs 的 *KDM6B*、*Runx2* mRNA 表达(A)和 H3K27Me3 蛋白表达(B)
Fig 3 Expressions of *KDM6B*、*Runx2* mRNA (A) and H3K27Me3 protein (B) of diabetes group

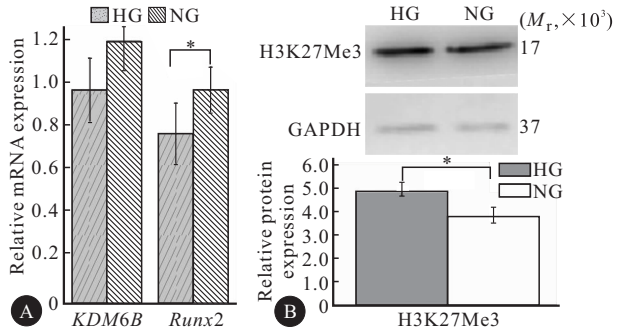


图 4 高糖组 *KDM6B*、*Runx2* mRNA 表达(A)和 H3K27Me3 蛋白表达(B)
Fig 4 Expressions of *KDM6B*、*Runx2* mRNA (A) and H3K27Me3 protein (B) of BMSCs in high glucose group

DM: Diabetes group; N: Normal group. * $P<0.05$
qRT-PCR 结果(图 5A)显示,AGE 组 BMSCs 的 *Runx2*、*KDM6B* mRNA 表达均降低, Western blot 结果(图 5B)显示,AGE 组 BMSCs 的 H3K27Me3

蛋白表达高于 BSA 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

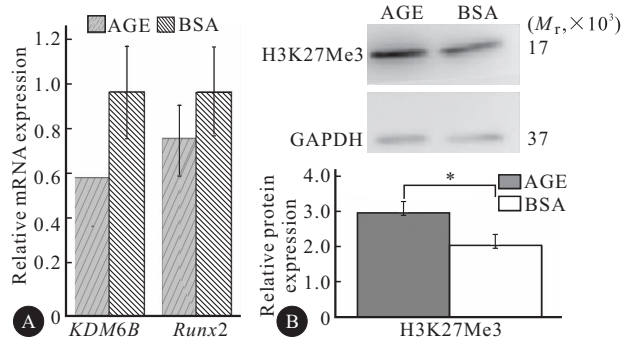


图 5 AGE 组 BMSCs 的 *KDM6B* 及 *Runx2* mRNA 表达 (A) 和 H3K27Me3 蛋白表达 (B)

Fig 5 Expression of *Runx2* and *KDM6B* mRNA (A) and H3K27Me3 protein (B) of BMSCs in AGE group

AGE: AGE group; BSA: BSA group. * $P < 0.05$

3 讨论

越来越多证据表明,糖尿病是单位体积内骨量减少、骨组织的微结构改变、骨脆性增加、骨强度减低等骨病的危险因素^[8]。QIAN 等^[7]发现 2 型糖尿病大鼠中 BMSCs 的成骨能力受到抑制,从而影响了其骨组织的生成。本课题组前期研究^[9]发现,高糖会抑制 BMSCs 的成骨分化。AGE 是导致糖尿病并发症的重要致病因素之一,有报道^[10]表明,AGE 可抑制间充质干细胞的增殖并促进其凋亡,防止其分化为骨组织,提出了 AGE 在糖尿病患者的骨骼疾病的发病机理中的有害作用。PHIMPHILAI 等^[11]研究发现,2 型糖尿病患者的成骨细胞分化明显受损,其可能与对 AGE 受体激活有更高的细胞敏感性有关。故本研究通过糖尿病大鼠建模、高糖环境和 AGE 作用进行体外模拟糖尿病状态,分析糖尿病状态下成骨细胞的成骨能力的变化情况。

组蛋白甲基化修饰是表观遗传中一个重要的修饰方式,其在基因表达调控等多种生物学过程中起着重要作用。既往已有大量研究表明 KDMs 对于干细胞的成骨分化有着重要作用。有研究^[12]发现, *KDM6B* 可以使 BMSCs 成骨基因启动子中的 H3K27Me3 去甲基化,控制 *HOX* 基因的表达,从而对骨形态发生蛋白(BMP)/Smad 信号通路进行调控,在 BMSCs 成骨分化中起关键作用。WANG 等^[13]的研究表明, *KDM5A* 可以通过减低 *Runx2* 基因上的 H3K4Me3,影响成骨细胞分化,进而导致骨质疏松。CHENG 等^[14]研究发现, *KDM4B* 基因缺

陷的小鼠会伴发肥胖和高脂血症,提示 *KDM4B* 可调控多种代谢基因的表达。

本研究结果提示,糖尿病环境下 BMSCs 成骨能力减弱且成骨相关基因 *Runx2* 表达降低,表明糖尿病状态可抑制 BMSCs 骨向分化能力,这与既往文献^[7,9-10]报道的实验结果基本一致。既往文献报道多集中于研究 KDMs 对于干细胞骨代谢的影响,鲜有文献报道糖尿病状态下骨代谢改变与 *KDM6B* 表达变化的关系。因此我们猜测,糖尿病状态下 BMSCs 骨向分化受到抑制可能与 KDMs 有一定关系。本研究结果表明,糖尿病环境下 BMSCs 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 *KDM6B* 的表达受到抑制, H3K27Me3 蛋白的表达增加,可能是糖尿病状态下 BMSCs 骨向分化抑制的原因。本研究为糖尿病性骨质疏松的表观遗传研究奠定了基础,以期对糖尿病性骨质疏松患者的治疗提供新的思路。但本研究只是表象上的探索,仍存在较多不足,比如尚未从信号通路上深入探究 *KDM6B* 对糖尿病环境下 BMSCs 成骨能力的影响,有待于下一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 李晓宇, 冯正平. 糖尿病性骨质疏松发病机制的研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(5): 580-583.
- [2] TSENTIDIS C, GOURGIOTIS D, KOSSIVA L, *et al.* Increased levels of Dickkopf-1 are indicative of Wnt/ β -catenin downregulation and lower osteoblast signaling in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus, contributing to lower bone mineral density. *Osteoporos Int*, 2017, 28(3): 945-953.
- [3] HU Z, MA C, LIANG Y, *et al.* Osteoclasts in bone regeneration under type 2 diabetes mellitus. *Acta Biomater*, 2019, 84: 402-413 [2019-01-06]. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.11.052>.
- [4] ESTELLER M. Cancer epigenetics for the 21st century: what's next. *Genes Cancer*, 2011, 2(6): 604-606.
- [5] DENG P, CHEN Q M, HONG C, *et al.* Histone methyltransferases and demethylases: regulators in balancing osteogenic and adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Int J Oral Sci*, 2015, 7(4): 197-204.
- [6] 杨兰, 郑雷蕾, 陈杨, 等. 基于 micro-CT 的 2 型糖尿病大鼠骨骼特点的研究. 四川大学学报(医学版), 2016, 47(5): 727-731.
- [7] QIAN C, ZHU C, YU W, *et al.* Bone morphogenetic protein 2 promotes osteogenesis of bone marrow stromal cells in type 2 diabetic rats via the Wnt signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 80: 143-153 [2019-01-06]. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2016.09.025>.
- [8] CHENG Y Z, YANG S L, WANG J Y, *et al.* Irbesartan

attenuates advanced glycation end products-mediated damage in diabetes-associated osteoporosis through the AGEs/RAGE pathway. *Life Sci*,2018,205:184-192[2019-01-06]. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.042>.

[9] 陈杨, 胡赞, 杨兰, 等. 不同糖浓度对颌骨骨髓间充质干细胞成骨分化的影响. *四川大学学报(医学版)*,2016,47(5):679-684.

[10] KUME S, KATO S, YAMAGISHI S, *et al.* Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage, and bone. *J Bone Miner Res*,2005,20(9):1647-1658.

[11] PHIMPHILAI M, POTHACHAROEN P, KONGTAWELERT P, *et al.* Impaired osteogenic differentiation and enhanced cellular receptor of advanced glycation end products sensitivity in patients with type 2 diabetes. *J Bone Miner Metab*,2017,35(6):631-641.

[12] YE L, FAN Z, YU B, *et al.* Histone demethylases KDM4B and KDM6B promotes osteogenic differentiation of human MSCs. *Cell Stem Cell*,2012,11(1):50-61.

[13] WANG C, WANG J, LI J, *et al.* KDM5A controls bone morphogenic protein 2-induced osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells during osteoporosis. *Cell Death Dis*,2016,7(8):e2335[2019-01-06]. <https://www.nature.com/articles/cddis2016238>. doi: 10.1038/cddis.2016.238.

[14] CHENG Y, YUAN Q, VERGNES L, *et al.* KDM4B protects against obesity and metabolic dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2018,115(24):E5566-E5575[2019-01-06]. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721814115>.

(2019-03-07 收稿,2019-06-28 修回)

编辑 沈 进