

5-羟甲基胞嘧啶在神经退行性疾病中的作用研究进展

李小桃¹⁾ 朱爱琴²⁾

1)青海大学研究生院,青海 西宁 810000 2)青海省人民医院,青海 西宁 810007

通信作者:朱爱琴

【摘要】 神经退行性疾病是一种慢性进行性疾病,包括阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、多系统萎缩(multiple system atrophy, MSA)、亨廷顿病(Huntington disease, HD)等,其病因目前尚不清楚。近年研究表明,5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)可能参与了AD、PD、HD等多种神经退行性疾病的发生机制。本文就近年来5hmC与表观遗传学的关系、TET家族蛋白及5hmC在神经退行性疾病中的作用进行综述。

【关键词】 神经退行性疾病;阿尔茨海默病;帕金森病;多系统萎缩;亨廷顿病;5-羟甲基胞嘧啶;TET家族蛋白;表观遗传学

【中图分类号】 R74 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5110(2022)07-0895-04

基金项目: 青海省卫生健康系统重点课题(编号:2021-wjzd-03);青海省科技厅重点研发与转化计划(编号:2021-SF-133)

Study on 5-hydroxymethyl cytosine in neurodegenerative diseases

LI Xiaotao¹⁾, ZHU Aiqin²⁾

1)Graduate School of Qinghai University, Xining 810000, China; 2)Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, China

Corresponding author: ZHU Aiqin

【Abstract】 Neurodegenerative disease is a chronic progressive disease. Including Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), multiple system atrophy (MSA), Huntington Disease (HD), etc. The etiology of 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) is still unclear. Recent studies have shown that 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) may be involved in the pathogenesis of various neurodegenerative diseases such as AD, PD and HD. This article reviews the relationship between 5hmC and epigenetics, TET family proteins and the role of 5hmC in neurodegenerative diseases in recent years.

【Key words】 Neurodegenerative diseases; Alzheimer's disease; Parkinson's disease; Multiple system atrophy; Huntington's disease; 5-hydroxymethylcytosine; TET family proteins; Epigenetics

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的中老年神经系统退行性疾病,临床上包括运动迟缓、静止性震颤、肌强直、姿势平衡障碍等运动症状及睡眠障碍、嗅觉障碍、自主神经功能障碍、认知和精神障碍等非运动症状^[1]。帕金森病患病率、发病率随年龄的增长而成倍升高,随着老龄化社会的到来,老龄人口的增加导致全球(特别是中国)帕金森病患

病率呈明显上升态势,中国65岁以上老年人群PD患病率为1.7%^[2]。近年的研究表明,表观遗传调控介导了遗传和环境因素的相互作用,主要通过DNA甲基化、去甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA的复杂相互作用,从而调控DNA表达。表观遗传是大脑适应环境应激的主要机制,而表观遗传调控的失衡则与神经退行性疾病的发生和发展密切相关,尚未确定

DOI: 10.12083/SYSJ.220383

本文引用信息: 李小桃,朱爱琴. 5-羟甲基胞嘧啶在神经退行性疾病中的作用研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2022, 25(7): 895-898. DOI: 10.12083/SYSJ.220383

Reference information: LI Xiaotao, ZHU Aiqin. Study on 5-hydroxymethyl cytosine in neurodegenerative diseases[J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2022, 25(7): 895-898. DOI: 10.12083/SYSJ.220383

这种表观遗传分子是神经退行性疾病发生和发展的原因还是结果,需深入研究^[3]。

1 5hmC 与表观遗传学

1.1 5hmC 在表观遗传学中的作用 20 世纪 40 年代由康拉德·瓦丁顿博士提出“表观遗传学”的学科^[4]。表观遗传学是对 DNA 和 DNA 包装的修饰,其不涉及 DNA 序列的改变^[5]。5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)氧化为 5hmC 可能是 DNA 的稳定修饰^[6]。5hmC 是表观遗传基因调控的重要标志。研究表明,5mC 修饰可抑制基因表达,而基因内部的 5hmC 修饰则促进基因表达^[7]。最近的一项研究得出结论,5hmC 在有丝分裂后神经元中含量最高,其神经元中的积累具有细胞特异性并与基因表达相关,5hmC 通过减少与甲基 CpG 结合蛋白 2(methyl-CpG binding proteins, MeCP2)结合,从而促进基因转录^[8]。多项研究表明,5hmC 不仅仅是 DNA 去甲基化的中间体,而且是一种真正的表观遗传标记^[9]。

1.2 5hmC 与 TET 蛋白 DNA 去甲基化是一种将甲基化胞嘧啶转化为未修饰的胞嘧啶的过程,在表观遗传学上属于 DNA 甲基化的逆过程^[10]。TET 蛋白是一种依赖 α -酮戊二酸(α -KG)/ Fe^{2+} 的双加氧酶^[11],TET 催化胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸岛(CpG)中的 5mC 氧化 5hmC,5hmC 进一步氧化为 5-甲酰基胞嘧啶(5-formylcytosine, 5fC)或 5-羧基胞嘧啶(5-carboxylcytosine, 5caC),再经胸腺嘧啶糖苷酶(thymine DNA glycosylase, TDG)碱基切除修复得到未被修饰的胞嘧啶完成去甲基化过程^[12]。TET 蛋白通过修饰 DNA 甲基化在发育中发挥关键作用,TET 包括 3 种不同的 TET 蛋白变体:TET1、TET2 和 TET3。研究表明,TET1 缺乏损害了人类胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)向神经外胚层分化的内在能力^[13]。研究发现,TET1 在幼稚和致敏多能细胞中大量表达,TET2 在血清/白血病抑制因子中培养的胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)中异常表达^[14]。TET1 对胚胎干细胞的自我更新和维持发挥重要作用,TET2 经常发生突变和参与胚胎生殖干细胞中基因序列的高效重排^[15]。有文献报道 TET3 是维持多能性基因沉默和神经干细胞身份所必需的,可能是通过调节神经前体细胞中的 DNA 甲基化水平来实现的^[16]。

2 5hmC 与神经退行性疾病

2.1 TET2 与神经细胞 小胶质细胞在神经炎症反

应和神经退行性病变中起关键作用,在神经元损伤或感染时,小胶质细胞将启动炎症反应,TET2 是小胶质细胞促炎反应的主要调节因子,TET2 调节基因的早期转录和晚期炎症反应。TET2 可能是对抗神经退行性疾病的潜在靶点^[17]。

2.2 大脑中 5hmC 的分布 近几年的研究表明,不同组织中的 5hmC 含量差异很大。大脑内 5hmC 的含量最高^[18],研究发现,5hmC 在大脑皮质、海马、小脑和脑干等大脑区域中存在,以下丘脑中 5hmC 含量最丰富。5hmC 因不同种类的神经元中含量也不一致,在 ESC(小鼠胚胎干细胞)和神经组织中发现 MeCP2 与基因体上的 5hmC 结合可能促进基因表达^[19]。最近发现一种 DNA 核苷酸 5-羟甲基-2'-脱氧胞苷(5-hydroxymethyl-2'-deoxycytidine, hmdC),其在浦肯野细胞和颗粒细胞中占一定的比例。hmdC 是在大脑中富集的核 DNA 的组成部分,在神经元功能的表观遗传控制中起作用^[20]。

3 5hmC 与 AD

AD 是发生于老年和老年前期、以进行性认知功能和行为损害为特征的中枢神经系统退行性疾病。有研究发现,AD 患者海马区 5hmC 水平显著降低,海马 5hmC 与淀粉样斑块病理之间存在负相关^[21]。研究^[22-23]发现,在 AD 患者的内嗅皮层和小脑中 5hmC 显著下降,表明其在 AD 的表观遗传改变中发挥作用。研究发现,5mC 和 5hmC 水平的整体变化发生在 AD 的两个易感区域——额叶中回(middle frontal gyrus, MFG)和颞叶中回(middle temporal gyrus, MTG),发现 AD 患者 MFG 和 MTG 中的 5mC 和 5hmC 水平显著增加。这些变化与 $A\beta$ 、NFTs 和泛素负荷呈正相关,同时 5hmC 与 AD 的生物标志物 β 淀粉样蛋白呈正相关,提示可能与 AD 病理严重程度有关^[24]。不同研究间存在差异,可能是因大脑不同区域的分析以及使用了不同的免疫组织化学定量技术。5hmC 修饰失调可能早在胎儿发育时就影响结构性大脑发育,迟发性 AD 的人类死后大脑中 5hmC 发生强烈的改变^[25]。3xTg 小鼠(一种 AD 小鼠模型)的神经元中发现全基因组的 5hmC 减少,大脑中 5hmC 水平的失调在 AD 神经退行性病变中起重要作用^[26]。

4 5hmC 与 PD

帕金森病是一种慢性进行性神经退行性疾病,伴运动障碍,包括震颤、运动迟缓、肌强直和姿势平衡障碍等症状。研究发现,帕金森病患者的小脑

DNA 样本中具有更高的 5hmC 水平^[27]。在小鼠 MPTP 诱导帕金森病模型中检测到帕金森病理的主要脑区黑质和纹状体区 RNA 5hmC 水平下降^[28]。一项以 1-甲基-4-苯基-吡啶离子(MPP⁺)作为神经毒素处理 SH-SY5Y 细胞构建 PD 细胞损伤模型的研究发现, MPP⁺诱导的帕金森病细胞模型中 TET2 表达增加^[29], TET2 蛋白可能是 PD 新型的表观遗传学标志物, 提示将来也许可以使用 TET2 抑制剂治疗 PD。在 6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导的 PD 大鼠模型的纹状体脑组织中研究 5hmC 水平发现, 5hmC 含量通常随年龄增长而增加^[30]。PD 不同脑区的 5hmC 表达水平不同, 可能反映了由于疾病相关功能障碍的代偿, 基因表达的表观遗传调控改变可导致 PD 发生有害变化^[31]。有研究发现帕金森病患者大脑壳核中腺苷 A2A 型受体(adenosine A2A receptor, A2AR)过表达, 5hmC 水平降低与纹状体 A2AR 水平降低有关, 还发现大鼠纹状体中基因组 5hmC 水平随着大鼠的生长而增加, 表明 5hmC 介导的表观遗传修饰也介导了纹状体中 5hmC 水平与年龄相关的变化^[32]。维生素 C 可辅助 TET2/3 增强 5hmC 水平, 促进多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)向中脑多巴胺神经元(midbrain dopaminergic, mDA)神经元分化。维生素 C 能显著增加神经元活动和多巴胺释放, 受维生素 C 调节的 TET-5hmC 通路对于人类 mDA 神经元的重要发育阶段至关重要^[33]。近年来, 脑脊液中检测出差异性甲基化基因^[34], 脑脊液可能成为 PD 的潜在诊断标记物, 有助于 PD 早期诊断^[35-36]。

5 5hmC 与 MSA

MSA 是一种快速进展的散发性成人神经退行性疾病, 具有多种临床表现, 包括帕金森综合征、小脑综合征和自主神经功能衰竭。在病理学上, MSA 被归类为 α -突触核蛋白病之一, α -突触核蛋白聚集被认为是该病发病机制的罪魁祸首。相对于对其他突触核蛋白病(如帕金森病和路易体痴呆)发病机制的研究, 对 MSA 发病机制的研究很少^[37]。有研究发现, 5-hmC 在 MSA 患者的小脑白质中显著上调^[38]。MSA 患者前额叶皮层中 *AREL1* 基因呈现从胞嘧啶甲基化到胞嘧啶羟甲基化的转变, *AREL1* 基因在 MSA 患者中减少可能与 MSA 患者 5hmC 水平增加相关^[39]。

6 5hmC 与 HD

HD 是一种常染色体显性遗传性神经退行性疾病, 以运动(舞蹈病)、认知和精神异常为特征。该病

的致病基因为 *IT15* 基因, *IT15* 基因内含有一段多态性的三核苷酸(CAG)重复序列。CAG 重复长度影响疾病的严重程度和发病年龄。研究表明, 腺苷 A2AR 在基底神经节中高度表达, 在 HD 患者脑组织中表达水平严重降低, A2AR 是一种 G 蛋白偶联受体。研究发现, HD 患者纹状体 A2AR 水平降低与 5hmC 水平的变化有关, A2AR 活性在维持脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)水平中起至关重要的作用^[40], 5hmC 水平伴随纹状体 A2AR 蛋白的下调而发生变化, 5hmC 可能与 HD 病理变化相关。有文献报道, 与年龄匹配的野生型(WT)小鼠相比, *YAC128*(具有 128 个 CAG 重复的酵母人工染色体转基因)HD 小鼠脑组织中的 5hmC 信号显著降低^[41], 大脑中 5hmC 水平的高低可能与 HD 的进展相关。

7 结论与展望

5hmC 在基因体中富集, 与基因表达呈现更好的正相关。5hmC 在正常神经发育和成人中枢神经系统功能的维持中发挥重要作用。5hmC 的分布或功能的异常也可能是神经退行性疾病的重要因素, 并与大脑不同区域的神经发育和衰老有关, 尚未确定这种表观遗传分子是神经退行性疾病发生和发展的原因还是结果。尽管成熟神经元中有大量的 5hmC, 但尚不清楚在何种程度上以及在何处发生了活跃的 DNA 去甲基化, 还需深入研究。5hmC 水平与相关基因转录活性之间的相关性还有待于进一步的研究与证实, 破译其在组织发育和疾病中的可能作用。基因组中 5hmC 水平的检测和定量对于理解许多生物学过程和诊断变得重要。随着 5hmC 的研究深入, 有可能为我们提供一种新的治疗方法。

8 参考文献

- [1] 王晴, 李晓露, 夏建国, 等. 帕金森病伴认知障碍患者功能脑网络连通性的价值[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2022, 25(5): 540-544. DOI:10.12083/SYSJ.220337.
- [2] 刘疏影, 陈彪. 帕金森病流行现状[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2016, 16(2): 98-101.
- [3] 董思其, 陈向军. 神经退行性疾病的表观遗传学研究进展[J]. 中国临床神经科学, 2021, 29(3): 336-341.
- [4] WADDINGTON C H. The epigenotype. 1942[J]. Int J Epidemiol, 2012, 41(1): 10-13. DOI: 10.1093/ije/dyr184.
- [5] WOLFFE A P, MATZKE M A. Epigenetics: regulation through repression[J]. Science, 1999, 286(5439): 481-486. DOI: 10.1126/science.286.5439.481.
- [6] KINNEY S R, PRADHAN S. Ten eleven translocation enzymes and 5-hydroxymethylation in mammalian development and cancer[J]. Adv Exp Med Biol, 2013, 754: 57-79. DOI: 10.1007/978-1-4419-9967-2_3.
- [7] 刘文静, 王舒婕, 张巧, 等. DNA 去甲基化在恶性肿瘤中的研究

- 进展[J]. 生命的化学, 2020, 40(11): 2035–2042.
- [8] MELLEN M, AYATA P, HEINTZ N. 5-hydroxymethylcytosine accumulation in postmitotic neurons results in functional demethylation of expressed genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(37): E7812–E7821. DOI: 10.1073/pnas.1708044114.
- [9] LOPEZ V, FERNANDEZ A F, FRAGA M F. The role of 5-hydroxymethylcytosine in development, aging and age-related diseases[J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 37: 28–38. DOI: 10.1016/j.arr.2017.05.002.
- [10] 宋星睿, 凌晓婷, 赵楚斌, 等. DNA 胞嘧啶的甲基化与去甲基化进展[J]. *分析科学学报*, 2021, 37(4): 473–478.
- [11] 李文, 曹俊国, 陈敏, 等. TET 介导的 DNA 主动去甲基化的机制与功能研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(5): 1304–1311.
- [12] FU T, LIU L, YANG Q L, et al. Thymine DNA glycosylase recognizes the geometry alteration of minor grooves induced by 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine[J]. *Chem Sci*, 2019, 10(31): 7407–7417. DOI: 10.1039/c9sc02807b.
- [13] LI H, HU Z, JIANG H, et al. TET1 Deficiency Impairs Morphogen-free Differentiation of Human Embryonic Stem Cells to Neuroectoderm[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10343. DOI: 10.1038/s41598-020-67143-x.
- [14] PANTIER R, TATAR T, COLBY D, et al. Endogenous epitope-tagging of Tet1, Tet2 and Tet3 identifies TET2 as a native pluripotency marker[J]. *Life Sci Alliance*, 2019, 2(5): e201900516. DOI: 10.26508/lsa.201900516.
- [15] DAHL C, GRONBAEK K, GULDBERG P. Advances in DNA methylation: 5-hydroxymethylcytosine revisited[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(11/12): 831–836. DOI: 10.1016/j.cca.2011.02.013.
- [16] SANTIAGO M, ANTUNES C, GUEDES M, et al. Tet3 regulates cellular identity and DNA methylation in neural progenitor cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(14): 2871–2883. DOI: 10.1007/s00018-019-03335-7.
- [17] CARRILLO-JIMENEZ A, DENIZ O, NIKLISON-CHIROU M V, et al. TET2 Regulates the Neuroinflammatory Response in Microglia[J]. *Cell Rep*, 2019, 29(3): 697–713. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.09.013.
- [18] WANG J, TANG J, LAI M, et al. 5-Hydroxymethylcytosine and disease[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2014, 762: 167–175. DOI: 10.1016/j.mrrev.2014.09.003.
- [19] WEN L, TANG F. Genomic distribution and possible functions of DNA hydroxymethylation in the brain[J]. *Genomics*, 2014, 104(5): 341–346. DOI: 10.1016/j.ygeno.2014.08.020.
- [20] KRIAUCIONIS S, HEINTZ N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain[J]. *Science*, 2009, 324(5929): 929–930. DOI: 10.1126/science.1169786.
- [21] CHOULIARAS L, MASTROENI D, DELVAUX E, et al. Consistent decrease in global DNA methylation and hydroxymethylation in the hippocampus of Alzheimer's disease patients[J]. *Neurobiol Aging*, 2013, 34(9): 2091–2099. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.02.021.
- [22] SHERWANI S I, KHAN H A. Role of 5-hydroxymethylcytosine in neurodegeneration[J]. *Gene*, 2015, 570(1): 17–24. DOI: 10.1016/j.gene.2015.06.052.
- [23] CONDLIFFE D, WONG A, TROAKES C, et al. Cross-region reduction in 5-hydroxymethylcytosine in Alzheimer's disease brain[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(8): 1850–1854. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.02.002.
- [24] COPPIETERS N, DIERIKS B V, LILL C, et al. Global changes in DNA methylation and hydroxymethylation in Alzheimer's disease human brain[J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(6): 1334–1344. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.031.
- [25] KUEHNER J N, CHEN J, BRUGGEMAN E C, et al. 5-hydroxymethylcytosine is dynamically regulated during forebrain organoid development and aberrantly altered in Alzheimer's disease[J]. *Cell Rep*, 2021, 35(4): 109042. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109042.
- [26] ZHANG Y, ZHANG Z, LI L, et al. Selective loss of 5hmC promotes neurodegeneration in the mouse model of Alzheimer's disease[J]. *FASEB J*, 2020, 34(12): 16364–16382. DOI: 10.1096/fj.202001271R.
- [27] STOGER R, SCAIFE P J, SHEPHARD F, et al. Elevated 5hmC levels characterize DNA of the cerebellum in Parkinson's disease[J]. *NPJ Parkinsons Dis*, 2017, 3: 6. DOI: 10.1038/s41531-017-0007-3.
- [28] MIAO Z, XIN N, WEI B, et al. 5-hydroxymethylcytosine is detected in RNA from mouse brain tissues[J]. *Brain Res*, 2016, 1642: 546–552. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.04.055.
- [29] 吴婷婷, 刘特, 陈天骄, 等. TET2 在帕金森病细胞模型中的表达及机制研究[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(4): 638–642.
- [30] AL-MAHDAWI S, VIRMOUNI S A, POOK M A. The emerging role of 5-hydroxymethylcytosine in neurodegenerative diseases[J]. *Front Neurosci*, 2014, 8: 397. DOI: 10.3389/fnins.2014.00397.
- [31] KAUT O, KUCHELMEISTER K, MOEHL C, et al. 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine in brains of patients with multiple system atrophy and patients with Parkinson's disease[J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 96: 41–48. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2018.12.005.
- [32] ZHENG T, LV Q, LEI X, et al. Spatial distribution of 5-hydroxymethyl cytosine in rat brain and temporal distribution in striatum[J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(4): 688–697. DOI: 10.1007/s11064-015-1515-3.
- [33] XIANG L, HUANG G, SHU W, et al. Role of Chromatin Remodeling Genes and TETs in the Development of Human Midbrain Dopaminergic Neurons[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2020, 16(4): 718–729. DOI: 10.1007/s12015-020-09972-x.
- [34] MENG J, WANG F, JI L, et al. Comprehensive methylation profile of CSF cfDNA revealed pathogenesis and diagnostic markers for early-onset Parkinson's disease[J]. *Epigenomics*, 2021, 13(20): 1637–1651. DOI: 10.2217/epi-2021-0176.
- [35] 王雨朔, 孟凡超. 铁元素与帕金森病研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2021, 24(16): 1465–1472. DOI: 10.12083/SYSJ.2021.15.029.
- [36] 王正阳, 刘颖, 沈丽华. 帕金森病影像学生物标志物的研究进展[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2021, 24(14): 1271–1276. DOI: 10.12083/SYSJ.2021.14.017.
- [37] LEE H J, RICARTE D, ORTIZ D, et al. Models of multiple system atrophy[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(11): 1–10. DOI: 10.1038/s12276-019-0346-8.
- [38] KAUT O, KUCHELMEISTER K, MOEHL C, et al. 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine in brains of patients with multiple system atrophy and patients with Parkinson's disease[J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 96: 41–48. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2018.12.005.
- [39] RYDBIRK R, FOLKE J, BUSATO F, et al. Epigenetic modulation of ARL1 and increased HLA expression in brains of multiple system atrophy patients[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8(1): 29. DOI: 10.1186/s40478-020-00908-7.
- [40] VILLAR-MENENDEZ I, BLANCH M, TYEJJI S, et al. Increased 5-methylcytosine and decreased 5-hydroxymethylcytosine levels are associated with reduced striatal A2AR levels in Huntington's disease[J]. *Neuromolecular Med*, 2013, 15(2): 295–309. DOI: 10.1007/s12017-013-8219-0.
- [41] WANG F, YANG Y, LIN X, et al. Genome-wide loss of 5-hmC is a novel epigenetic feature of Huntington's disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(18): 3641–3653. DOI: 10.1093/hmg/ddt214.