

Tet 蛋白在阿尔茨海默病疾病进程中的作用研究进展

张弘, 刘昊晨, 何华, 柳晓泉*

(中国药科大学药物代谢动力学研究中心, 江苏 南京 210009)

[摘要] 阿尔茨海默病 (AD) 的疾病成因至今尚未被阐明, 目前占据主流的 A β 学说应用于临床试验的多次失败使得研究者更加迫切地探求 AD 的发病原因。近年来对于 AD 的研究表明: DNA 甲基化和去甲基化的动态平衡变化可能在 AD 早期起重要作用。Tet 蛋白作为重要的 DNA 去甲基化酶家族在 AD 疾病进程中的作用研究受到广泛关注。综述 Tet 蛋白家族调节的 DNA 去甲基化过程与 AD 疾病进程关系的研究进展, 以期为 AD 疾病进程研究及其早期诊断提供新思路。

[关键词] 阿尔茨海默病; DNA 去甲基化; Tet 蛋白; 5-羟甲基胞嘧啶

[中图分类号] R741.02

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2019) 02-0093-07

Advances in the Role of Tet Protein in the Progression of Alzheimer's Disease

ZHANG Hong, LIU Haochen, HE Hua, LIU Xiaoquan

(Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] The causes of Alzheimer's disease (AD) have not been fully elucidated, and the failures of the prevailing A beta theory in clinical trials make it more urgent to seek the causes of AD. Recent studies on AD have suggested that the dynamic balance between DNA methylation and demethylation might play an important role in early stages of AD pathology. Ten-eleven translocation proteins (Tets), an important protease family of DNA demethylation, are under extensive investigations on their roles in the progression of AD. In this paper, the implication of the DNA demethylation process regulated by Tet family in the progression of AD was reviewed, hoping to provide new ideas for the research on AD progression and the early diagnosis of AD.

[Key words] Alzheimer's disease; DNA demethylation; ten-eleven translocation protein; 5-hydroxymethylcytosine

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种慢性神经退行性疾病^[1]。AD 的疾病成因至今尚未被阐明^[2], 但随着神经细胞培养和动物模型研究的深入, 人们发现某些早期环境改变诱导的 DNA 甲基化水平变化可导致 β -淀粉样蛋白 (amyloid- β peptide, A β) 表达上调, 从而将 AD 发病与 DNA 甲基化联系起来^[3]。此后, 人们开始在全基因组水平和基因特异性水平上展开了对 AD 样本 DNA 甲基化的研究^[4]。同时, 作为 DNA 甲基化的重要标志物 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, 5mC) 和 5-羟甲基胞嘧啶 (5-hydroxymethylcytosine, 5hmC), 其含量在 AD 患者多个脑区的显著变化引起了研究者的注意^[5-6], 这表明 DNA 甲基化和去甲基化的动态变化可能在 AD 疾病进程中起重要作用。作为介导 DNA 去甲基化的重要催化酶, Tet 蛋白家族 (ten-eleven translocation proteins, Tets) 的研究受到越来越

多的关注, 本文对 Tet 蛋白在 AD 疾病进程中的作用研究进展进行综述, 以期寻找 AD 的早期诊断方法与新的治疗策略提供参考。

1 Fe²⁺、 α 酮戊二酸依赖的 Tet 蛋白家族

过去普遍认为, DNA 甲基化是细胞为了自身发展而沉默一些基因组的不必要基因的过程。在去甲基酶发现之前, DNA 甲基化被认为是一种转录沉默中重要的不可逆机制, 该观点在发现 Tets 具有 DNA 去甲基化能力之后被推翻, 这意味着在生物体的整个生命过程中 DNA 甲基化是一种高度动态平衡过程^[7]。Tet 蛋白最初是在急性髓细胞和淋巴细胞白血病的罕见病例中被发现^[8]。在哺乳动物中 Tet 蛋白存在 3 个亚型即 Tet1、Tet2 和 Tet3。

所有 Tet 蛋白均含有一个 C 端催化域, 由一个富含半胱氨酸的区域和一个双链螺旋状结构组成 (见图 1)^[9], 其是二价铁离子 (Fe²⁺) 和 α -酮戊二酸 (α -ketoglutarate, AKG) 依赖的双加氧酶超家族; Tets 需要 Fe²⁺ 作为辅因子, AKG 作为辅底物来催化其反应。铁结合位点的基因突变可以消除 Tets 的活性。在氧

接受日期: 2018-12-28

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 81503145, No. 81773806); 中央高校基本科研业务费资助项目 (No. 2632018ZD10, No. 2632018TD34)

***通讯作者:** 柳晓泉, 教授, 博士生导师;

研究方向: 药物代谢动力学;

Tel: 025-83271260; **E-mail:** lxq@cpu.edu.cn

化反应中, 一个 Tet 蛋白将一个氧原子从氧分子 (O_2) 转移至底物的羟基 (羟基化), 将另一个氧原子结合到 AKG, 从而导致 AKG 的脱羧作用, 释放 CO_2 并产生琥珀酸盐^[10]。Tet 蛋白可以反复氧化 DNA 的 5mC 生成 5hmC、5-甲酰胞嘧啶 (5-formylcytosine, 5fC) 和 5-羧基胞嘧啶 (5-carboxylcytosine, 5caC) (见图 2)。一方面, 5fC 和 5caC 可由胸腺嘧啶 DNA 糖基酶 (thymine DNA glycosylase, TDG) 进一步催化, 进行碱基基础切除修复 (base excision repair, BER), 该

过程被称为 DNA 的主动脱甲基化^[11]; 另一方面, 在 DNA 复制过程中, 5hmC 不能被 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 识别, 5mC 到 5hmC 的转换将停止, 维持现有的 DNA 甲基化模式, 并导致增殖细胞中的 DNA 被动甲基化减少。因此, 通过促进主动 DNA 脱甲基化和减少 DNA 被动甲基化从而调节基因的表达, 可以动态地调节全局或特定细胞的 5mC 和 5hmC 水平^[12]。

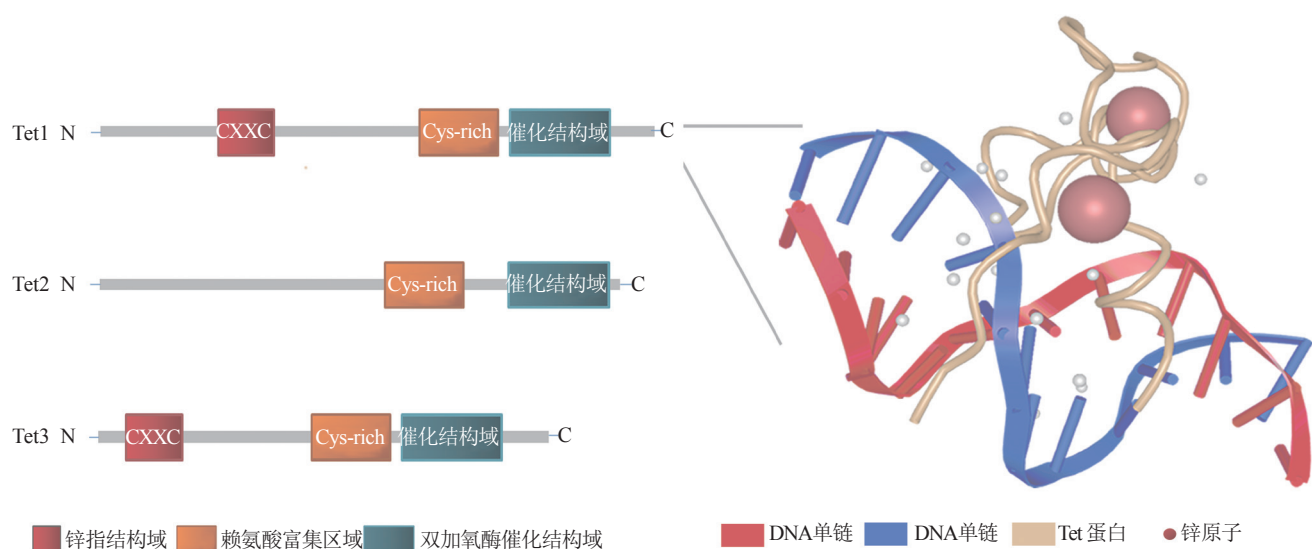


图 1 Tet蛋白结构和Tet1空间结构简图

Figure 1 Schematic diagrams of Tet proteins and schematic spatial structure of Tet1

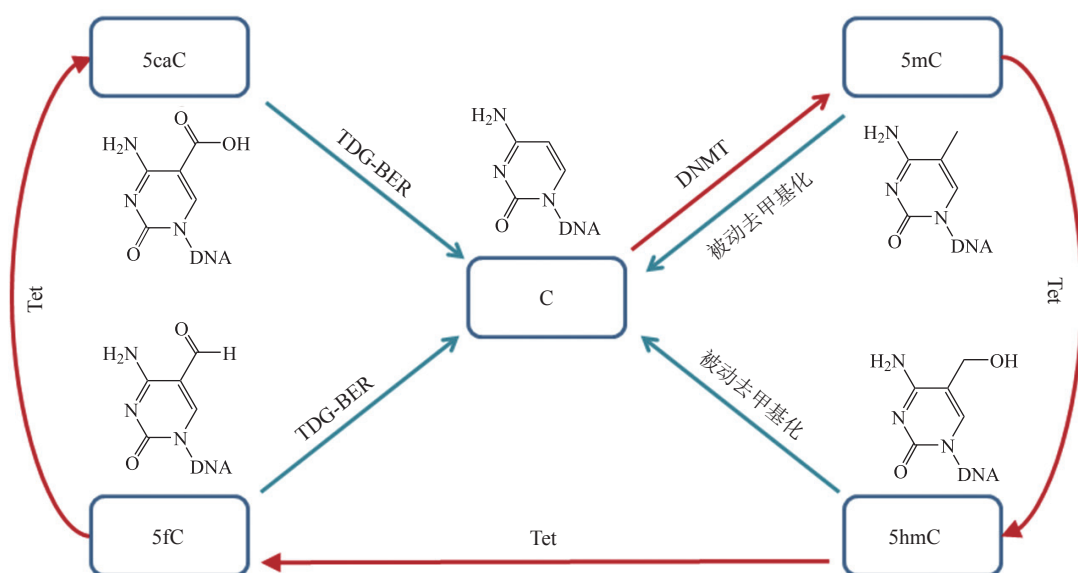


图 2 DNA甲基化、去甲基化修饰示意图

Figure 2 Schematic diagram of DNA methylation and demethylation

在基因表达调控方面, Tet 蛋白起着至关重要的作用。目前普遍认为, Tet 蛋白通过其甲基胞嘧啶双加氧酶活性动态调节 DNA 甲基化, 进而调节基因转录。DNA 甲基化水平与基因转录成反比。作为 DNA 去甲基酶, Tet 蛋白可动态调节 DNA 甲基化水平: 一方面, Tet 蛋白通过结合到 CpG 富集区域来调节 DNA 甲基化, 进而抑制 DNMT 活性; 另一方面, Tet 蛋白通过其羟化酶活性将 5mC 转换成 5hmC 以调控 DNA 甲基化^[12]。

Tet 蛋白可影响神经干细胞 (neural stem cell, NSC) 和胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC) 的增殖分化 (见图 3)^[13]。多项研究表明 Tet1 影响成人神经发育^[14], 在 *Tet1* 敲除 (*Tet1* knockout, *Tet1*-KO) 小鼠中, 放射状胶质细胞 (radial glia like cell,

RGL) 的增殖没有变化, 但中间神经元祖细胞 (neural intermediate progenitor cell, nIPC) 的增殖减少, 导致新生神经元数量减少^[15]。Tet2 可与神经转录激活因子 Foxo3a (forkhead box O 3a) 相互作用, 参与成人神经干细胞 (adult neural stem cell, aNSC) 关键基因的转录过程^[16]。Moran-Crusio 等^[17]的研究发现, Tet2 的耗竭刺激了 aNSC 的增殖, 但减弱了 aNSC 的分化。同时, 过表达的 Tet2 和 Tet3 也推动 ESC 的分化过程。在 *Sirt6* 敲除 ESC 中, 抑制 *Oct4*、*Sox2* 和 *Nanog* (*Sirt6* 的下游基因) 的表达, 可上调 Tet 蛋白, 导致 ESC 倾向于分化成神经外胚层而非内皮层或中胚层, 这表明 *Sirt6* 调控的 ESC 分化是一种 Tet 蛋白依赖的调控方式^[18]。

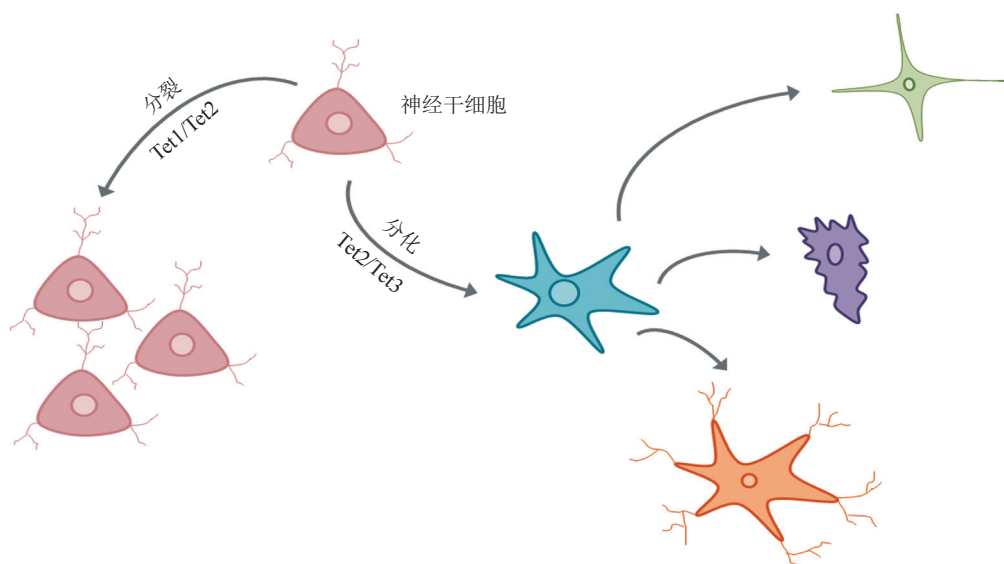


图 3 Tet蛋白影响神经干细胞分裂分化过程示意图

Figure 3 Schematic diagram of the influence of Tet proteins on the division and differentiation of neural stem cells

此外, Tet 蛋白表达还与认知功能有关^[19]。研究发现, *Tet1*-KO 动物的海马神经元受损, 学习和认知功能存在缺陷^[15]。在与神经发生相关的老年海马体中, Tet2 表达有所下降; 在幼年小鼠海马中模拟与年龄相关的 Tet2 损失, 可以减少神经元形成, 损害认知能力; 在成熟的海马体中恢复 Tet2, 可以恢复神经元再生能力, 增强认知能力; 这表明 Tet2 是认知损伤恢复的关键分子介质^[20]。Tet2 在整个大脑皮层处于高表达状态, 一项关于 Tet2 和大脑低灌注的研究表明: 大脑皮层中 Tet2 的增加对于神经元的存活至关重要。功能性实验结果也表明: 初生的皮质神经元 Tet2 耗竭容易导致细胞的死亡^[21]。Tet3 在原代皮层神经元的表达具有活动

依赖性, 在成人的前额皮质中 Tet3 的表达是快速行为适应的必要条件, 并且在恐惧消退的记忆形成中起关键作用^[22]。

2 Tet蛋白在AD疾病进程中的作用

Tet 蛋白在 AD 疾病进程中主要具有三方面作用: 1) *Tet* 基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 可能与迟发型 AD (late-onset AD, LOAD) 具有一定联系^[23]; 2) AD 状态下 Tet 活性改变可导致脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 表达调控异常从而损伤认知功能^[24]; 3) AD 疾病进程中 Tet 蛋白活性改变可能

导致海马体区域 DNA 甲基化异常加重,从而导致认知功能损伤^[25]。

2.1 Tet基因SNP与迟发型AD的关联

Morgan 等^[23]收集了 1 160 名 LOAD 患者和 1 389 名对照组患者的 DNA 样本和临床数据,分析其 10 号染色体上已知基因的 SNP 发现,LOAD 患者 Tet 基因(rs5030882)的 SNP 相较对照组有所降低,这表明 Tet 基因的 SNP 可能参与 LOAD 的疾病进程。此外,Tet 蛋白表达的下调引起神经元形成减少从而导致学习和认知功能障碍,可能是 AD 疾病进程中重要的一环。

2.2 Tet介导的脑源性神经营养因子表达调控异常

Tet 活性改变导致相关 BDNF 表达调控异常,这在 AD 疾病进程中起重要作用。BDNF 基因的表达受到严格控制,其异常调节与 AD 和一系列神经发育障碍有关,而 BDNF 启动子的表观遗传调控是由 Tet1 完成的,Tet1 可通过控制 BDNF 启动子的可访问性来调控 BDNF 的表达^[24]。对 Tet1-KO 小鼠的分析发现,多个神经元活动调节基因(包括 *Npas4*、*c-cfo* 和 *Arc*)呈下行调节,此外 Tet1-KO 小鼠也出现海马区异常和记忆力减退,最终导致突触可塑性受损、记忆减退,这表明神经元 Tet1 可调节正常神经细胞的甲基化水平,从而调控基因的表达^[26]。

2.3 Tet介导的海马体DNA甲基化异常

与正常对照组相比,临床前 AD (preclinical AD, PCAD) 和晚期 AD (late-stage AD, LAD) 受试者的海马-海马旁回 (hippocampus/parahippocampal gyrus, HPG) 中 5hmC 水平显著升高,表明 HPG 在疾病进展早期开始主动去甲基化,PCAD 组和 LAD 组的 HPG 中 Tet1 显著升高,其表达增加可能是导致 5mC 氧化明显增加的原因^[25]。研究发现,Tet1 蛋白水平变化与 5hmC 水平变化之间不匹配,提示核定位的 Tet 蛋白的活性可能受到损害^[25]。总之,在 AD 的临床症状出现之前,易受攻击的大脑区域的去甲基化模式已经发生了改变,这表明在 AD 的发病机制中,DNA 去甲基化过程起到重要作用^[25]。中枢神经系统中 Tet1 缺乏,可减少海马齿状回的 aNSC 增殖,同时导致成人亚粒区神经祖细胞减少。有研究表明:Tet1-KO 小鼠显示出海马神经受损,进而导致学习和记忆的损伤^[13]。另有研究表明:在 AD 患者海马体内 Tet1 蛋白表达减少^[26],这可能是导致 AD 患者学习障碍产生的原因之一。

3 Tet蛋白代谢产物在AD疾病进程中的作用

5hmC 是 5mC 经 Tet 蛋白催化得到的脱甲基化产物,其在大脑中广泛存在,在发育过程和神经元活动中受到动态调节^[27],近年来的研究发现,5hmC 在转录表观遗传调节中起着重要作用,能够调节大脑发育和维持成人大脑的功能。因此,5hmC 的分布或功能异常可能是神经退行疾病的重要因素^[28]。通过对不同去甲基化区域的基因进行筛选发现,与正常对照组相比,AD 患者海马体内 5hmC 的改变影响了包括能量代谢、细胞功能、基因表达、蛋白质降解、细胞结构稳定性等重要信号通路^[29]。同时,5hmC 在额颞上回的富集与 AD 的病理特征(包括神经系统缠结、A β 沉积和泛素负荷)呈正相关,这表明 5hmC 可能是参与 AD 疾病进程的主要分子成分^[30]。

研究表明:AD 晚期几个脑区 5hmC 水平较低^[4,31],如新皮质、海马、鼻内皮和小脑。但也有研究表明:在 AD 患者内皮、海马和颞回神经中存在 5hmC 水平升高^[6,32]。这些差异可能是由于研究者研究的脑群(例如鼻内皮质、海马和颞回)以及测定手段(例如免疫组织化学、蛋白免疫印迹)不同而产生的。

全基因组的研究发现,一些基因与 AD 患者前额皮质异常的神经形态和突触功能有关,对死后的 AD 患者前额皮质的 5hmC 进行全基因组测序及转录测序发现,325 个含有不同去甲基化位点(differentially hydroxymethylated loci, DhML)的基因^[33]。这些基因的表达与神经元投射发育和神经发生的通路有关,由这些基因编码的蛋白质与 AD 相关的基因形成直接的蛋白质-蛋白质相互作用,从而扩大了与 AD 相关的基因网络^[33]。同时,在 DhML 中发现了与 AD 相关的 SNP,表明这些 SNP 可能识别在 AD 发病机制中起作用的表观遗传基因调控区域^[33]。通过全基因组捕获和高通量测序技术发现,与老年斑显著相关的 517 个不同去甲基化区域(differentially hydroxymethylated region, DhMR)和 60 个与神经纤维缠结相关的 DhMR。同时还发现,基因体的 DNA 去甲基化主要与顺式排列基因表达呈正相关^[34]。通过观察 *APP-PSEN1* 双转基因(DTg)小鼠的大脑皮层、小脑和海马区发现,在海马体中 5hmC 的含量显著下降,但在大脑皮层和小脑中并未发现 5hmC 含量下降;通过全基因组分析确定了 DTg 小鼠的 DhMR,发现其在内含子、外显子和基因间区域

中高度富集, 同时在与神经元发育/分化和神经元功能/生存相关的多个信号通路中, 与 DhMR 关联的基因高度富集^[35]。

总之, 5hmC 水平的变化不仅与正常的大脑功能和衰老有关, 也与 AD 有关。虽然目前仍缺乏在关键脑区特定神经元群体中去甲基化特定模式的信息, 但研究发现通过 DNA 去甲基化过程可以控制 AD 转录变化以引起分子级联的改变, 最终导致 AD 出现或加速 AD 的形成^[36]。

4 Tet蛋白应用于AD治疗的前景

现阶段虽然没有以 Tet 蛋白为靶点的 AD 治疗药物, 但通过调节 Tet 蛋白表达来改善学习和认知功能或可成为潜在的改善或治疗 AD 的可行方案。如在与神经发生相关的老年海马体中, Tet2 表达和 5hmC 水平有所下降。在幼年的小鼠海马中模拟与年龄相关的 Tet2 损失, 可以减少神经元形成, 损害认知能力^[20]。在成熟的海马体中过表达 Tet2 可以恢复神经元再生能力, 增强认知能力, 这表明 Tet2 是神经元恢复的关键分子介质^[20]。在对 5xFAD 小鼠 (一种过表达 2 个与 AD 相关的人源化基因 *APP* 和 *PS1* 的转基因小鼠) 进行环境强化训练后发现, Tet2 蛋白表达上调, 小鼠记忆和认知能力有所改善^[37], 表明 Tet2 可能是 AD 治疗或辅助治疗的潜在靶点。此外, 有研究表明 Tet3 是调节焦虑、空间学习和短期记忆的关键参与者, Tet3 的缺乏会导致关键神经元活动调节基因中的 DNA 超甲基化^[38]。Tet3 可以精准地定位于涉及溶酶体功能、mRNA 出路和基本切除修复途径的关键基因的转录起始位点, 同时 Tet3 可作为 5caC 的调节剂, 通过基础切除修复, 从大脑有丝分裂的神经元主动清除 5mC 的蓄积, 从而起到预防神经退行性疾病的作用^[39]。

此外, 由于 Tet 蛋白具有神经元亲和性, 越来越多的研究者将其作为脑靶向药物的靶头应用于 AD 药物。纳豆激酶具有抗 A β 、抗纤维蛋白溶解和抗血栓活性, 是针对 A β 的潜在药物, 通过纳米封装可改善其不稳定性, 但纳米材料的亲水性限制其通过血脑屏障, 借助 Tet1 蛋白的神经元亲和性, 将聚乳酸-共聚乙醇酸 (PLGA)-包裹纳豆激酶与 Tet1 蛋白结合, 能在不影响其药效的同时增强血脑屏障对药物的通过率, 实现纳豆激酶的脑靶向性从而作为抗 AD 的有效治疗药物^[40]。Jia 等^[41] 研制出的由转铁蛋白 (Tf) 和 Tet-1 蛋白功能化的双脑靶向聚合物 (Tf/Tet-1-POs) 能够促进姜黄素

进入大脑并提供神经保护。小鼠大脑毛细血管内皮细胞与神经元共培养模型的细胞摄取结果表明: Tf/Tet-1-POs 具有明显的转运特性, 对神经元具有亲和性, 由 Tf/Tet-1-POs 包裹的姜黄素血脑屏障通过率明显升高。

5 Tet相关生物标志物用于AD诊断面临的挑战

研究人员通过全基因组捕获并进行高通量测序, 研究 5hmC 在 AD 大脑内特定基因组位点的全基因组分布发现, DNA 去甲基化在 AD 病理过程中发挥重要作用^[33-34]。进一步的研究发现, BDNF 的外周血异常甲基化与 AD 发病风险有关^[42], 提示外周血特定基因去甲基化位点可能与 AD 疾病进程具有一定关系, 这为 DNA 甲基化/去甲基化相关生物标志物作为 AD 早期诊断生物标志物提供可能。

现有的大多数 DNA 甲基化相关生物标志物的临床研究是针对死后的 AD 患者样本进行基因组甲基化和去甲基化的研究, 并没有将基因组甲基化和去甲基化相关生物标志物与早期 AD 患者的神经心理测试以及影像学建立联系, 这是目前 DNA 甲基化作为 AD 生物标志物相关研究的局限^[43]。若能对早期 AD 患者进行长时间跟踪随访, 定期监测其外周血中 5mC 和 5hmC 含量的变化, 通过外周血高通量测序分析不同位点 DNA 甲基化和去甲基化, 并建立其与 AD 患者的神经心理学以及影像学相关数据的联系, 找出相关性较强的甲基化或去甲基化位点加以验证, 最终找出与 AD 疾病相关的血液 DNA 甲基化相关生物标志物, 这有可能成为 AD 早期诊断研究的一大突破。

6 结语与展望

基因表观遗传调控的改变可能在 AD 的神经退化及认知功能障碍中起关键作用。Tet 蛋白的相关表达调控影响了神经细胞的分裂和分化, 进而影响了机体的认知功能, 成为影响 AD 疾病进程的重要环节。以 Tet 蛋白作为潜在治疗靶点可能成为下一阶段 AD 治疗的研究方向之一。Tet 蛋白作用于 5mC 得到的脱甲基化产物 5hmC 可作为独立的表观遗传生物标志物, 5hmC 在不同脑区的分布异常影响了 AD 患者的认知功能, 同时对外周血中特定基因的 5mC 及 5hmC 的测序用作 AD 早期诊断的研究也已不断深入, 相关生物标志物有望成为 AD 早期诊断研究的新方向。

【参考文献】

- [1] Qazi T J, Quan Z, Mir A, *et al.* Epigenetics in Alzheimer's disease: perspective of DNA methylation[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(2): 1026-1044.
- [2] Burns A, Iliffe S. Alzheimer's disease[J]. *BMJ*, 2009, 338: b158. Doi: 10.1136/bmj.b158.
- [3] Wu J, Basha M R, Brock B, *et al.* Alzheimer's disease (AD)-like pathology in aged monkeys after infantile exposure to environmental metal lead (pb): evidence for a developmental origin and environmental link for AD[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(1): 3-9.
- [4] Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, *et al.* Epigenetic changes in Alzheimer's disease: decrements in DNA methylation[J]. *Neurobiol Aging*, 2010, 31(12): 2025-2037.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Guo J U, Su Y J, Zhong C, *et al.* Emerging roles of TET proteins and 5-hydroxymethylcytosines in active DNA demethylation and beyond[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(16): 2662-2668.
- [8] Ko M, An J, Pastor W A, *et al.* TET proteins and 5-methylcytosine oxidation in hematological cancers[J]. *Immunol Rev*, 2015, 263(1): 6-21.
- [9] XU C, Liu K, Lei M, *et al.* Zinc finger region of human TET1 in complex with CpG DNA[J]. *Structure*, 2008, 26: 85-95.
- [10] Rose N R, McDonough M A, King O N F, *et al.* Inhibition of 2-oxoglutarate dependent oxygenases[J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(8): 4364-4397.
- [11] Zusso M, Barbierato M, Facci L, *et al.* Neuroepigenetics and Alzheimer's disease: an update[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 64(3): 671-688.
- [12] Li D, Guo B, Wu H, *et al.* TET family of dioxygenases: crucial roles and underlying mechanisms[J]. *Cytogenet Genome Res*, 2015, 146(3): 171-180.
- [13] Zhou H, Wang B, Sun H, *et al.* Epigenetic regulations in neural stem cells and neurological diseases[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 6087143. Doi: 10.1155/2018/6087143.
- [14] Wu X, Li G, Xie R. Decoding the role of TET family dioxygenases in lineage specification[J]. *Epigenet Chromatin*, 2018, 11(1): 58. Doi: 10.1186/s13072-018-0228-7.
- [15] Jobe E M, Zhao X. DNA methylation and adult neurogenesis[J]. *Brain Plast*, 2017, 3(1): 5-26.
- [16] Li X, Yao B, Chen L, *et al.* Ten-eleven translocation 2 interacts with forkhead box O3 and regulates adult neurogenesis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15903. Doi: 10.1038/ncomms15903.
- [17] Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, *et al.* Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(1): 11-24.
- [18] Etchegaray J P, Chavez L, Huang Y, *et al.* The histone deacetylase SIRT6 controls embryonic stem cell fate via TET-mediated production of 5-hydroxymethylcytosine[J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(5): 545-557.
- [19] Zhang R R, Cui Q Y, Murai K, *et al.* Tet1 regulates adult hippocampal neurogenesis and cognition[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13(2): 237-245.
- [20] Gontier G, Iyer M, Shea J M, *et al.* Tet2 rescues age-related regenerative decline and enhances cognitive function in the adult mouse brain[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(8): 1974-1981.
- [21] Mi Y, Gao X, Dai J, *et al.* A novel function of TET2 in CNS: sustaining neuronal survival[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(9): 21846-21857.
- [22] Li X, Wei W, Zhao Q Y, *et al.* Neocortical Tet3-mediated accumulation of 5-hydroxymethylcytosine promotes rapid behavioral adaptation[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(19): 7120-7125.
- [23] Morgan A R, Hamilton G, Turic D, *et al.* Association analysis of 528 intra-genic SNPs in a region of chromosome 10 linked to late onset Alzheimer's disease[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B(6): 727-731.
- [24] Ambigapathy G, Zheng Z, Keifer J. Regulation of BDNF chromatin status and promoter accessibility in a neural correlate of associative learning[J]. *Epigenetics*, 2015, 10(10): 981-993.
- [25] Bradley-Whitman M A, Lovell M A. Epigenetic changes in the progression of Alzheimer's disease[J]. *Mech Ageing Dev*, 2013, 134(10): 486-495.
- [26] Rudenko A, Dawlaty M M, Seo J, *et al.* Tet1 is critical for neuronal activity-regulated gene expression and memory extinction[J]. *Neuron*, 2013, 79(6): 1109-1122.
- [27] Kremer E A, Gaur N, Lee M A, *et al.* Interplay between TETs and microRNAs in the adult brain for memory formation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1678. Doi: 10.1038/s41598-018-19806-z.
- [28] 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.

- [29] Ellison E M, Bradley-Whitman M A, Lovell M A. Single-base resolution mapping of 5-hydroxymethylcytosine modifications in hippocampus of Alzheimer's disease subjects[J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 63(2): 185-197.
- [30] Madrid A, Papale L A, Alisch R S. New hope: the emerging role of 5-hydroxymethylcytosine in mental health and disease[J]. *Epigenomics*, 2016, 8(7): 981-991.
- [31] 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.
- [32] Rao J S, Keleshian V L, Klein S, et al. Epigenetic modifications in frontal cortex from Alzheimer's disease and bipolar disorder patients[J]. *Transl Psychiat*, 2012, 2: e132. Doi: 10.1038/tp.2012.55.
- [33] Bernstein A I, Lin Y, Street R C, et al. 5-hydroxymethylation-associated epigenetic modifiers of Alzheimer's disease modulate Tau-induced neurotoxicity[J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(12): 2437-2450.
- [34] Zhao J, Zhu Y, Yang J, et al. A genome-wide profiling of brain DNA hydroxymethylation in Alzheimer's disease[J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(6): 674-688.
- [35] Shu L, Sun W, Li L, et al. Genome-wide alteration of 5-hydroxymethylcytosine in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17: 381. Doi: 10.1186/s12864-016-2731-1.
- [36] Delgado-Morales R, Esteller M. Opening up the DNA methylome of dementia[J]. *Mol Psychiatr*, 2017, 22(4): 485-496.
- [37] Griñán-Ferré C, Izquierdo V, Otero E, et al. Environmental enrichment improves cognitive deficits, AD hallmarks and epigenetic alterations presented in 5xFAD mouse model[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 224. Doi: 10.3389/fncel.2018.00224.
- [38] Antunes C, Alves N D, Guerra-Gomes S, et al. Role of ten-eleven translocation 3 (TET3) in brain function[J]. *Eur Neuropsychopharm*, 2017, 27: S596-S596.
- [39] Jin S G, Zhang Z M, Dunwell T L, et al. Tet3 Reads 5-carboxylcytosine through its CXXC domain and is a potential guardian against neurodegeneration[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(3): 493-505.
- [40] Bhatt P C, Verma A, Al-Abbasi F A, et al. Development of surface-engineered PLGA nanoparticle-delivery system of Tet 1-conjugated natto kinase enzyme for inhibition of A β_{40} plaques in Alzheimer's disease[J]. *Int J Nanomed*, 2017, 12: 8749-8768.
- [41] Jia T, Sun Z, Lu Y, et al. A dual brain-targeting curcumin-loaded polymersomes ameliorated cognitive dysfunction in intrahippocampal amyloid-beta(1-42)-injected mice[J]. *Int J Nanomed*, 2016, 11: 3765-3775.
- [42] Chang L, Wang Y L, Ji H H, et al. Elevation of peripheral BDNF promoter methylation links to the risk of Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e110773. Doi: 10.1371/journal.pone.0110773.
- [43] Fransquet P D, Lacaze P, Saffery R, et al. Blood DNA methylation as a potential biomarker of dementia: a systematic review[J]. *Alzheimers Dement*, 2018, 14(1): 81-103.



[专家介绍] 柳晓泉: 教授, 中国药科大学药物代谢研究中心博士生导师, 现任国家和江苏省药品评审专家, 江苏省青蓝工程培养对象。长期致力于药物代谢动力学基础理论和应用的研究, 以药物代谢动力学新理论、新模型、新技术和新方法的研究及其在新药开发研究中的应用为主要的研究方向, 主持3项国家自然科学基金。2004年获得江苏省科技进步一等奖1项(创新药物体内吸收、代谢、分布与排泄新理论与新模型研究); 2007年获得国家科技进步二等奖1项(临床前药物代谢动力学关键技术与研究体系)。在国内外学术刊物上发表有关的学术论文100余篇。