



Tau 蛋白介导阿尔兹海默病的机理及相关药物

刘鹏, 赵玉芬, 李艳梅*

生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室; 清华大学化学系, 北京 100084

*通讯作者, E-mail: liym@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2010-02-28; 接受日期: 2010-04-28

摘要 阿尔兹海默症是一种以智力缓慢丧失为特征的神经退行性疾病, 主要病理特征之一为神经细胞内出现大量神经纤维缠结. 神经纤维缠结的主要成分为异常磷酸化的 Tau 蛋白, 研究 Tau 蛋白的结构和功能以及神经纤维缠结形成的分子机制具有重要的生理意义. Tau 和 A β 是阿尔兹海默病药物开发的两个重要靶点, 随着近期一些以 A β 为靶点的药物临床研究宣告失败, 越来越多的研究组已经开始考虑改变研发阿尔兹海默病药物的策略, 并开始转向以 Tau 为靶点的药物开发. 本文综述了 Tau 介导阿尔兹海默病的机理及相关药物的研究进展.

关键词

阿尔兹海默病
磷酸化
Tau 蛋白
聚集

1 阿尔兹海默病

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD), 又称老年痴呆症, 是大脑半球的语言、记忆和推理等智能处于受损状态而产生的一种神经退行性疾病, 是老龄人口中发病率最高的疾病之一^[1], 严重危害人类健康. 2005 年的一次世界流行病学调查结果表明^[2], 目前全球已经有 2430 万阿尔兹海默病患者, 每年新增病例 460 万 (每 7 秒就有 1 例新患者). 并且这个数量每 20 年就会增加 1 倍, 到 2040 年, 总数可能达到 8110 万, 大部分患者集中在发展中国家. 据预测, 我国的阿尔兹海默病患者数量从 2001 年到 2040 年将会增长 3 倍, 届时中国的阿兹海默病患者将达到 1500 万. 这将成为一个严重的社会问题.

阿尔兹海默病是由阿尔兹海默博士在 1906 年首次报道的^[3]. 他在诊断一名 50 岁妇女的时候发现, 该妇女开始有进展性妄想症和短期记忆力缺失, 而后明显痴呆, 直到死亡约经历 5 年, 该疾病即为“早老性痴呆”. 人们为纪念阿尔兹海默博士的杰出贡献, 后将该病改名为阿尔兹海默病.

2 Tau 蛋白病理学与阿尔兹海默病

阿尔兹海默病在医学上的主要特征是在脑中出现非正常的蛋白质沉积, 该蛋白质沉积大致可以分为两种: 细胞外的淀粉样多肽沉积 (俗称老年斑)^[4] 以及细胞内的神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFT)^[5]. 老年斑是由一种 β -淀粉样肽 (简称 A β) 的沉积作用所产生的^[6, 7]. 而 A β 是由淀粉前体蛋白 (简称 APP) 的水解生成. APP 是一种含有 770 个氨基酸残基的蛋白质, 其中的跨膜区域已证明可以被剪切形成淀粉样沉积的片断.

细胞内的神经纤维缠结 (NFT) 主要由双螺旋纤维 (paired helical filaments, PHF) 聚集而成, 而研究表明病理的双螺旋纤维主要是由过度磷酸化的 Tau 蛋白组成^[8, 9]. 据相关报道, 病人的脑中神经纤维缠结数量可以作为临床检测阿尔兹海默病程度的一个重要指标^[10]. 此外, 人们还发现在匹克氏病^[11] (Pick disease) 和多系统萎缩疾病中的进行性核上麻痹症^[12] (progressive supranuclear palsy) 等类型的脑部神经退行性疾病中, 也观察到神经纤维缠结 (图 1), 然而在这些疾病中却未发现以 A β 淀粉样聚集而产生的淀粉

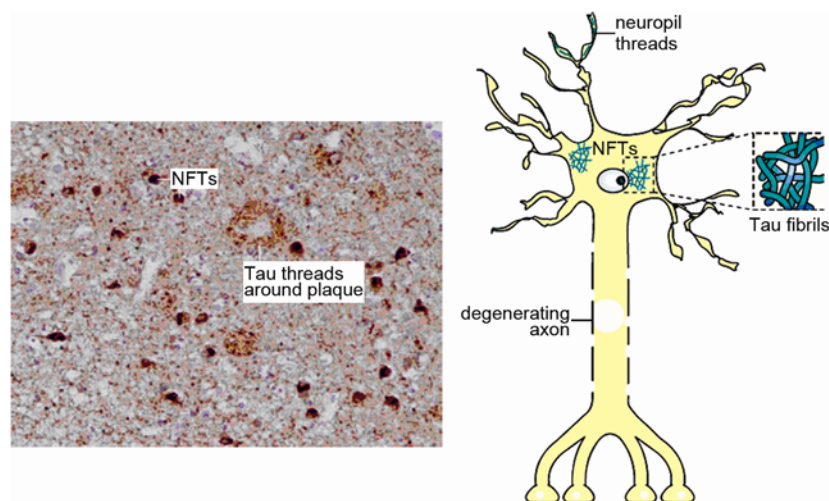


图1 阿尔兹海默病人大脑中的神经纤维缠结^[13]

样斑纹。所以,从 Tau 蛋白病理学角度研究神经退行性疾病可能会具有更普遍的生物学意义。

3 Tau 蛋白

3.1 Tau 蛋白的结构及其功能

人体 Tau 蛋白基因位于第 17 号染色体的长臂上,包含了 16 个外显子,这个单独的 Tau 基因可以通过它的信使 RNA 的选择性切割编码出 6 种长短不同的 Tau 蛋白异构体(如图 2),这些异构体由 352~441 个氨基酸残基组成,分子量 37~46kD 不等,6 种异构体主要差异在于 N 端的一个或二个片段以及 C 端的三个或四个重复片段。Tau 蛋白从结构上可以被分成两大结构域:突出区和微管结合区(如图 3),突出区包括分子 N 端三分之二的部分,而微管结合区域包括分子 C 端的三分之一的部分。在各个区域中,有一些特定的结构域主导了 Tau 蛋白的特征和功能。Tau 的主要生理功能是促进微管自聚集和稳定微管^[14],这一点对于神经元胞内物质的传输至关重要^[15]。此外, Tau 蛋白与其它结构和功能蛋白的结合也表明了 Tau 可能不止在正常的骨架结构上而且在神经元的信号转导上都扮演了重要的角色。最近有报道发现, Tau 通过磷酸化也可参与细胞发育的调节。Tau 蛋白主要分布于中枢和周围神经系统神经细胞的轴突中^[16]。

Tau 蛋白微管结合区域又可以被划分为真正的微管蛋白结合区域和 C 末端酸性区。微管结合区域包括三段或四段相似但不完全相同的由 31 个或 32

个氨基酸残基组成的重复片段,分别命名为 R1、R2、R3 和 R4 (图 2、图 3),在重复片段中 N 端的 18 个氨基酸残基被认为具有最强的微管蛋白结合能力。重复片段可以结合微管并促进微管自聚集,这是 Tau 蛋白最重要的生理功能,通过 Tau 蛋白稳定微管约占全部微管相关蛋白 (MAPs) 的 80% 以上, Tau 对于微管聚集的起始和延长以及微管的稳定都起了十分重要的重要。对于微管聚集的起始,微管蛋白的成核是一个

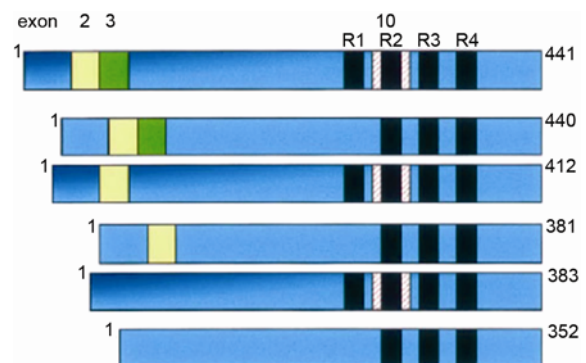


图2 Tau 蛋白的 6 种异构体示意图^[16]

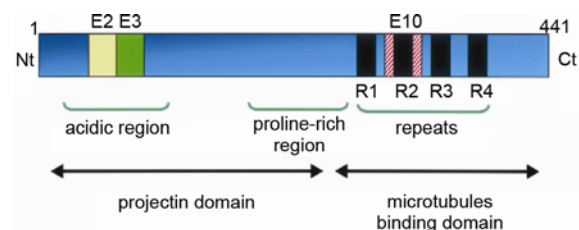


图3 Tau441 功能区域示意图^[16]

必要的过程, 而 Tau 则促进了微管蛋白的成核. Tau 与微管蛋白的结合也促进了微管的延长和稳定. Tau 结合微管蛋白有两种方式, Tau 可以结合在微管蛋白的表面或插入微管蛋白中形成一个共同体.

Tau 蛋白的 N 端被认为是从微管表面凸出来的部分, 故命名为突出区, 突出区可以进一步划分为两个部分, N 端的一段蛋白酸性区和 C 端的脯氨酸富集区. 突出区的具体功能至今为止还没有完全被理解. 有假设称 Tau 蛋白的这个区域决定了突触中微管和神经元树突之间的空间大小, 这段区域还可能和其他细胞骨架蛋白相互作用, 如神经质膜等^[17]. 由于酸性区的存在, 这个区域还可能包括阳离子结合区域, 如 Fe 离子等. 还有报道称, 这个区域还可能通过和 PLC- γ 和 Src 等蛋白激酶相结合, 进而参与细胞信号转导的某些过程^[18].

3.2 Tau 蛋白磷酸化修饰

在正常的发育过程中, Tau 蛋白经历各种翻译后修饰, 包括磷酸化, 糖基化, 泛素化, 硝基化等, Tau 蛋白翻译后修饰已经被大量的进行了研究, 研究人员在大量的神经退行性疾病中都发现了翻译后修饰程度加深的 Tau 蛋白. 在众多的翻译后修饰中, 磷酸化被研究的最为广泛. Tau 蛋白是一种磷蛋白, 通常情况下每 mol 的 Tau 蛋白包括 1~3 mol 的磷酸. 而在 AD 病人脑中, 磷酸化水平是正常 Tau 蛋白的 3~4 倍.

Tau 过度磷酸化是蛋白激酶和蛋白磷酸化酶调节失衡的结果, 目前为止, 已知的功能相关的磷酸化位点只有丝氨酸和苏氨酸 (少数还报道有酪氨酸), 这表明丝氨酸和苏氨酸的磷酸化与去磷酸化在阿尔兹海默病中扮演了十分重要的角色. 图 4 为磷酸化与去磷酸化过程的示意图.

目前为止, 在人脑 Tau 蛋白最长的异构体 Tau441 中公认的丝氨酸和苏氨酸磷酸化位点总共有 79 个, 在它们中间, 有 30 多个位点已经通过用特异抗体和质谱等方法被鉴定在 AD 病人样本中存在. 在这些已经检测出的位点中, 由于 Ser262, Ser285, Ser305, Ser324, Ser352 和 Ser356 位于微管结合区域 (图 5), 这些位点的过度磷酸化已经被认为可能比其他位点的磷酸化对 Tau 生理功能影响更大, 如促进和稳定微管的能力. 这些重要位点的磷酸化性质已经被进行了大量的研究^[21-27]. 尽管如今已经鉴定出了这些位点的过度磷酸化在 AD 病人脑中存在, 但哪些位点在 AD 病的产生中更重要, 哪些位点会使 Tau 变得更有毒性等问题仍然没有被完全理解. 这在今后的研究中都将成为研究的热点.

3.3 Tau 蛋白 O-GlcNAc 化修饰

除了磷酸化, Tau 蛋白中还存在着很多其他的翻译后修饰形式: 包括糖基化、硝基化、泛素化等等^[28]. 最近的研究发现牛脑中的 Tau 蛋白能被 O-GlcNAc 糖基化修饰^[29]. O-GlcNAc 是一种蛋白 O-糖基化修饰, 它是通过 O-连接糖苷键将 β -N-乙酰葡萄糖胺与蛋白上的丝氨酸或者苏氨酸键连而成的 (图 6)

据研究, O-GlcNAc 化和磷酸化可以在多肽骨架上的同一个位点或区域上进行相互竞争^[30]. Hart 和他的合作者通过检测在 RNA Pol II 的 CTD 上的 O-

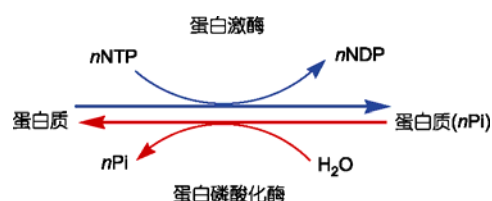


图 4 蛋白质可逆磷酸化过程示意图

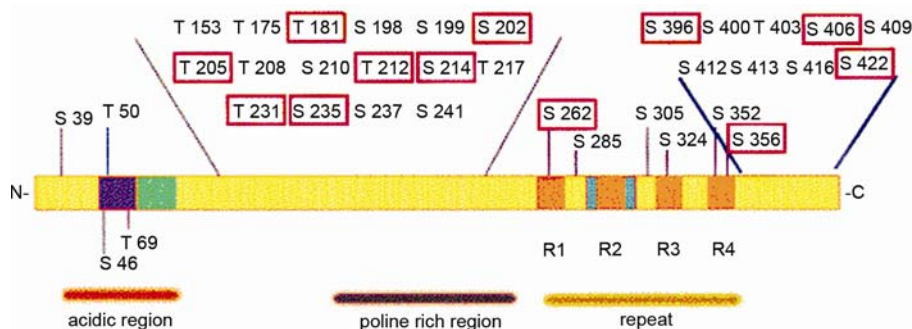


图 5 部分已经被实验证实的磷酸化位点^[19, 20]

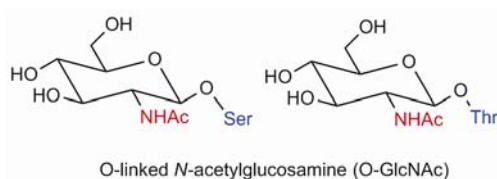


图6 O位N-乙酰葡萄糖胺修饰

GlcNAc 和 O-磷酸化后, 深入证明了在一个相似底物上的磷酸化能够阻碍糖基化, 反之也同样成立. 这些数据进而引出了一个蛋白调节模型^[31], 即不同的后修饰形式是可以共存的, 而且一系列的去糖基化/磷酸化和/或者去磷酸化/糖基化调节对于改变一个蛋白的行为过程是必不可少的.

Gong 小组在近年的研究中发现 Tau 蛋白的很多磷酸化位点上, O-GlcNAc 化可以对磷酸化产生负调节的作用^[32]. 在动物的饥饿模拟实验中, 老鼠脑中糖的低摄入以及低新陈代谢速度可以有效的降低 O-GlcNAc 的水平, 而同时, Tau 蛋白多数磷酸化位点被进行了高度的磷酸化^[33]. 这些结果都说明 Tau 蛋白可以被 O-GlcNAc 糖基化修饰, 同时 Tau 蛋白的磷酸化也可以被 O-GlcNAc 糖基化所调节.

微管结合区域中的 4 个重复片段被认为在 Tau 蛋白聚集过程中扮演了非常关键的角色. 李艳梅课题组对 Tau 蛋白微管结合区域的磷酸化和糖基化的研究表明, 第一重复片段 R1 的 262 位和第四重复片段 R4 中的 365 位因为可以同时被磷酸化和 O-GlcNAc 糖基化被广泛的认为是重要的聚集调节位点. 通过对 Tau 肽 R1 及相应的磷酸化形式 pR1 聚集性质的研究, 该课题组发现 R1 片段在体外能够发生聚集, 并且 Ser262 位上的磷酸化修饰能够在聚集过程中加速聚集^[34]. 通过磷酸化前后 R1 片段构象的详细分析, 该课题组推测磷酸化有利于 R1 片段形成聚集过渡态, 从而更有利于 Tau 多肽聚集的发生. 该课题组还报道了 R4 片段能够在体外自聚集, 并且 365 位丝氨酸的磷酸化能够调节这个聚集过程^[35]. 而 365 位的 O-GlcNAc 糖基化则能够明显的降低 R4 片段的聚集速度^[36]. 这些发现为进一步了解 Tau 蛋白的聚集机理提供了有价值的信息.

3.4 Tau 蛋白与 Cu²⁺

铜被认为是人体一种必需的微量元素, 它的主要功能是协同促进并维持某些酶和蛋白质的生物活

性. 据报道, 如果铜代谢通路异常, 可能会诱发多种神经退行性疾病, 如阿尔兹海默病、Prion 病等. 临床研究发现, 铜离子、锌离子以及三价铁离子广泛分布在阿尔兹海默病患者大脑的老年斑里及附近^[37], 这也证明铜离子等金属离子在阿尔兹海默病中可能扮演了非常重要的角色. 据研究, 铜离子在阿尔兹海默病中主要有两种病理作用, 一是促进 Tau 蛋白和 A β 多肽的聚集, 二是在氧化压力的产生过程中起了关键性的做用.

李艳梅课题组对铜离子与 Tau 蛋白片段的结合性质进行了广泛深入的研究. 通过对 Tau 肽 R2 和 R3 与铜离子结合的性质的研究, 发现 R2 和 R3 与铜离子结合有高度 pH 值依赖性^[38]. 此外, 该课题组同时还确认了 R2 和 R3 与铜离子的结合位点, 这些结合位点与铜离子配位后可以形成了一个以铜离子为中心的平面四边形结构^[39]. 同时还证实了 R2 和 R3 的构象受铜离子影响很大, α 螺旋的结构含量可以随着铜离子的浓度增加而增加; 因为 α 螺旋和 β 折叠两种构象在 Tau 蛋白形成双螺旋纤维过程中起非常重要的作用, 所以认为铜离子可能在 Tau 蛋白聚集和沉积进而形成神经纤维缠结的过程中起了诱导作用, 进而导致了阿尔兹海默病的发生. 此外, 研究还发现 Cu²⁺ 可以通过 268 位的组氨酸与 R1 片段结合, 体外实验显示 Cu²⁺ 可以抑制 R1 片段的聚集^[40].

李艳梅课题组还研究了 Tau 肽与铜离子的氧化还原关系, 证明了铜离子可以催化 Tau 蛋白片段 R2 的氧化, 并产生活性氧. 分析了铜离子催化 R2 氧化过程中活性氧的产生. 有研究者通过实验证明了铜离子催化 R2 氧化过程中有过氧化氢的生成, 但过氧化氢没有进一步与一价铜离子反应生成羟基自由基^[41]. 这个结果为理解铜离子在 Tau 介导的阿尔兹海默病的过程中的角色提出了一个新的视角.

4 以 Tau 为靶点的药物治疗研究

自 1906 年发现首例阿尔兹海默病患者至今, 已经过了一百多年. 百余年中, 虽然人类对阿尔兹海默病的发病过程及机制有了不断深入的了解, 然而人类对阿尔兹海默病缺乏有效的治疗方法仍是一个不争的事实^[42].

Tau 和 A β 是阿尔兹海默病药物开发的两个重要

靶点, 围绕着两者在阿尔兹海默病中的致病机理及谁更重要的问题学界已经争论了很多年. 在过去的二十年中, 许多研究人员把目光投向了以 $A\beta$ 为目标靶点的药物研发上. 以 $A\beta$ 为靶点的药物研究方向, 主要分为: 以抑制 $A\beta$ 产生为目标的 β -、 γ -切割酶抑制剂; 以抑制 $A\beta$ 聚集为目标的抗聚集药物 (包括金属螯合剂); 以及以清除 $A\beta$ 为目标的蛋白酶活性调控药物和免疫治疗. 然而, 随着近期一些以 $A\beta$ 为靶点的药物三期临床宣告失败, 越来越多的课题组已经开始考虑改变阿尔兹海默病的药物开发策略, 并开始转向以 Tau 为靶点的药物开发. 下面简单介绍几种近年来以 Tau 为靶点的药物开发策略及研究进展. 图 7 为现今几种以 Tau 为靶标治疗策略.

4.1 Tau 聚集抑制剂

大量的研究证明可溶性的 Tau 转变成寡聚体和纤维丝的过程中会产生毒性, 抑制 Tau 聚集成多聚体结构可能会阻止毒性的产生, 同时还能增加单体 Tau 的含量以稳定微管. 虽然用小分子阻止蛋白-蛋白相互作用被认为很难实现, 然而经过近些年的不懈努力, 许多课题组成功构建起了 Tau 蛋白聚集的体外实验平台, 并利用高通量筛选等方法对大量小分子进行筛选, 现在已经成功筛选到了一些抑制效果很好的小分子抑制剂 (图 8)^[43], 然而这些小分子能否在体内实验中发挥作用还需要进一步的研究.

4.2 Tau 过度磷酸化抑制剂

正常的 Tau 在个别的残基上有磷酸化修饰, 然而在阿尔兹海默病人脑中磷酸化程度就大大增加了.

尽管现在已经发现了 70 多个丝氨酸-苏氨酸磷酸化位点, 然而只有一小部分过度磷酸化位点被确定了出来. Ser262, Thr231 和 Ser235 位的磷酸化减弱了 Tau 微管结合能力, 同时一些位点的磷酸化和过度磷酸化增强了 Tau 聚集能力. 相反, Ser214 和 Ser262 的磷酸化阻止了 Tau 的聚集. 由于过度磷酸化能够导致 Tau 功能的丧失, 相关磷酸激酶抑制剂的开发也可能是一个有效的治疗策略^[44].

然而, 开发激酶抑制剂是很具有挑战性的, 因为现在的激酶抑制剂普遍是针对普通的 ATP 结合位点, 想选择性的抑制某一种激酶是很困难的. 此外, 激酶抑制剂还可能会产生副反应, 因为大部分激酶同时会调节多个不同的生理过程. 尽管激酶抑制剂在肿瘤的治疗中已有很多成功案例, 然而这些酶抑制剂小分子能否在阿尔兹海默病产生疗效还有待进一步研究.

由于 Tau 的 O-N 乙酰葡萄糖胺化和磷酸化是共定位调节, β -N-乙酰氨基葡萄糖转移酶抑制剂可能也是一种减少 Tau 磷酸化的有效方法. 这方面工作已经在体外实验中取得了进展, Thiamet-G (图 9) 是该类抑制剂的代表分子.

此外, 由于微管在神经退行性疾病中起到重要作用, 很多小组也致力于开发微管稳定的小分子配体, 这可能会有效的弥补由于 Tau 功能丧失所带来的病理变化. 同时, 一些课题组还致力于研究细胞内增强降解 Tau 有效性的方法, 如泛素化、热休克蛋白抑制剂的开发等, 这些工作也取得了一定的进展. 图 9 为目前针对 Tau 为靶标所开发出各种小分子抑制剂.

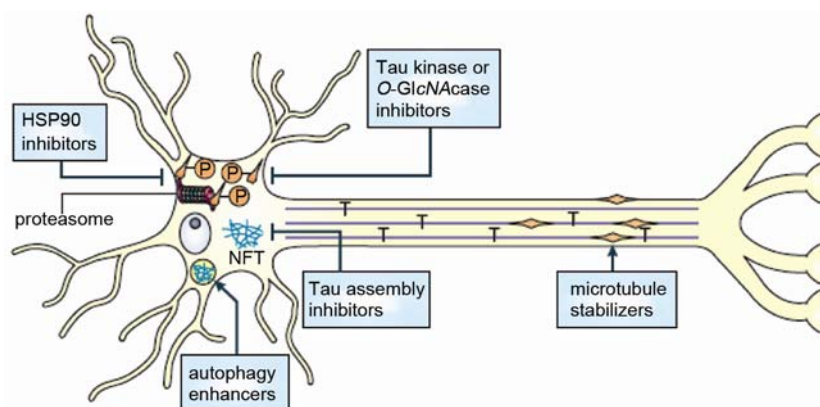


图 7 Tau 介导的神经退行性疾病相关的几种治疗策略^[13]

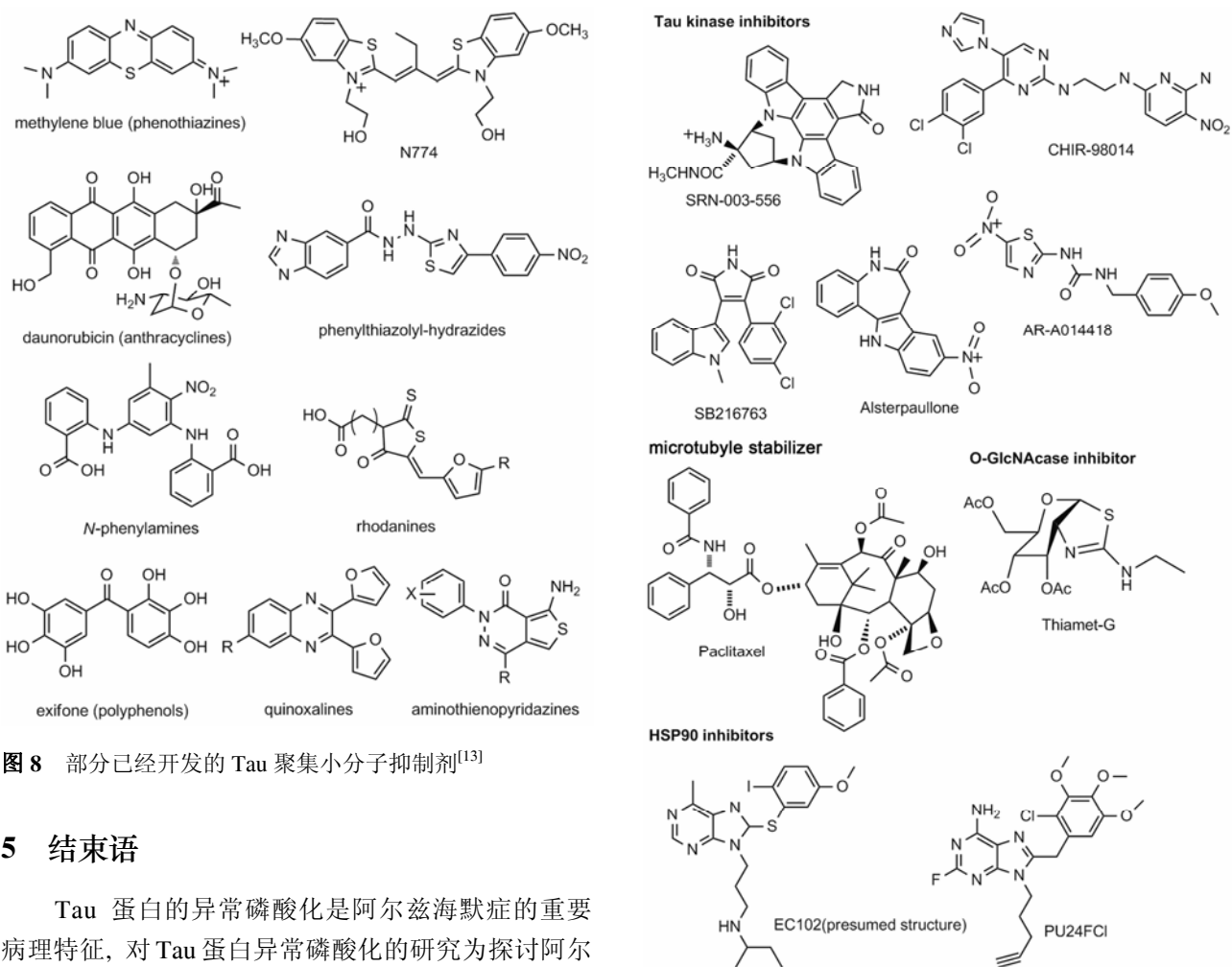


图 8 部分已经开发的 Tau 聚集小分子抑制剂^[13]

5 结束语

Tau 蛋白的异常磷酸化是阿尔兹海默症的重要病理特征, 对 Tau 蛋白异常磷酸化的研究为探讨阿尔兹海默症的发病原因提供了大量证据, 以 Tau 蛋白为靶标的药物设计也已成为研发治疗阿尔兹海默症药物的重要生长点. 可以推测在不远的将来, 随着以 Tau 蛋白异常磷酸化为切入点的阿尔兹海默发病分

图 9 部分针对潜在的 Tau 药物靶点开发出的小分子抑制剂^[13]

子机制研究的不断深入, 以 Tau 蛋白为靶标的阿尔兹海默症药物研发将会出现新突破.

致谢 本工作得到国家自然科学基金委重大研究计划 (培育项目) (90913003) 和国家自然科学基金委国际交流合作项目 (多年期合作项目 NSFC-DNRF, 中-丹) (20091350914) 资助, 特此一并致谢.

参考文献

- 1 Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*, 2006, 368: 387—403
- 2 Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang YQ, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scuzfca M. Global prevalence of dementia: A Delphi consensus study. *Lancet*, 2005, 366: 2112—2117
- 3 Tanzi R E, Bertram L. Twenty years of the Alzheimer's disease amyloid hypothesis: A genetic perspective. *Cell*, 2005, 120: 545—555
- 4 Esch FS, Keim PS, Beattie EC, Blacher RW, Culwell AR, Oltersdorf T, McClure D, Ward PJ. Cleavage of amyloid- β peptide during constitutive processing of its precursor. *Science*, 1990, 248: 1122—1124
- 5 Mandelkow E. Alzheimer's disease: The tangled tale of Tau. *Nature*, 1999, 402: 588—589
- 6 Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Mullerhill B. The precursor of

- Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 1987, 325: 733—736
- 7 Seubert P, Oltsdorf T, Lee MG, Barbour R, Blomquist C, Davis DL, Bryant K, Fritz LC, Galasko D, Thal LJ, Lieberburg I, Schenk DB. Secretion of beta-amyloid precursor protein cleaved at the amino terminus of the beta-amyloid peptide. *Nature*, 1993, 361: 260—263
- 8 Grundkeiqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein τ (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83: 4913—4917
- 9 Grundkeiqbal I, Iqbal K, Quinlan M, Tung YC, Zaidi MS, Wisniewski HM. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem*, 1986, 261: 6084—6089
- 10 Arriagada PV, Marzloff K, Hyman BT. Distribution of Alzheimer-type pathologic changes in nondemented elderly individuals matches the pattern in Alzheimer's disease. *Neurology*, 1992, 42: 1681—1688
- 11 Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, Pickering-Brown S, Chakraverty S, Isaacs A, Grover A, Hackett J, Adamson J, Lincoln S, Dickson D, Davies P, Petersen RC, Stevens M, de Graaff E, Wauters E, van Baren J, Hillebrand M, Joosse M, Kwon JM, Nowotny P, Che LK, Norton J, Morris JC, Reed LA, Trojanowski J, Basun H, Lannfelt L, Neystat M, Fahn S, Dark F, Tannenberg T, Dodd PR, Hayward N, Kwok JBJ, Schofield PR, Andreadis A, Snowden J, Craufurd D, Neary D, Owen F, Oostra BA, Hardy J, Goate A, van Swieten J, Mann D, Lynch T, Heutink P. Association of missense and 5'-splice-site mutations in Tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*, 1998, 393: 702—705
- 12 Avila J. Tau aggregation into fibrillar polymers: Tauopathies. *FEBS Lett*, 2000, 476: 89—92
- 13 Brunden KR, Trojanowski JQ, Lee WMY. Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies. *Nature*, 2009, 8, 783—793
- 14 Drubin DG, Kirschner MW. Tau protein function in living cells. *J Cell Biol*, 1986, 103: 2739—2746
- 15 Mitchison T, Kirschner M. Cytoskeletal dynamics and nerve growth. *Neuron*, 1988, 1: 761—772
- 16 Buee L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev*, 2000, 33: 95—130
- 17 Lee G, Rook SL. Expression of tau protein in non-neuronal cells: Microtubule binding and stabilization. *J Cell Sci*, 1992, 102 (Pt 2): 227—237
- 18 Hwang SC, Jhon DY, Bae YS, Kim JH, Rhee SG. Activation of phospholipase C-gamma by the concerted action of tau proteins and arachidonic acid. *J Biol Chem*, 1996, 271: 18342—18349
- 19 Buee L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev*, 2000, 33: 95—130
- 20 Maccioni RB, Munoz JP, Barbeito L. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Arch Med Res*, 2001, 32: 367—381
- 21 Buee-Scherrer V, Condamin O, Mourton-Gilles C, Jakes R, Goedert M, Pau B, Delacourte A. AD2, A phosphorylation-dependent monoclonal antibody directed against tau proteins found in Alzheimer's disease. *Mol Brain Res*, 1996, 39: 79—88
- 22 Matsuo ES, Shin RW, Billingsley ML, Vandevoorde A, O'Connor M, Trojanowski JQ, Lee WMY. Biopsy-derived adult human brain tau is phosphorylated at many of the same sites as Alzheimer's disease paired helical filament tau. *Neuron*, 1994, 13: 989—1002
- 23 Seubert P, Mawaladewan M, Barbour R, Jakes R, Goedert M, Johnson GVW, Litersky JM, Schenk D, Lieberburg I, Trojanowskijq, Lee WMY. Detection of phosphorylated Ser262 in fetal tau, adult tau, and paired helical filament tau. *J Biol Chem*, 1995, 270: 18917—18922
- 24 Sengupta A, Kabat J, Novak M, Wu QL, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Phosphorylation of Tau at both Thr-231 and Ser-262 is required for maximal inhibition of its binding to microtubules. *Arch Biochem Biophys*, 1998, 357: 299—309
- 25 Hoffmann R, Lee WMY, Leight S, Varga I, Otvos L. Unique Alzheimer's disease paired helical filament specific epitopes involve double phosphorylation at specific sites. *Biochemistry*, 1997, 36: 8114—8124
- 26 Lu PJ, Wulf G, Zhou XZ, Davies P, Lu KP. Prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein. *Nature*, 1999, 399: 784—788
- 27 Daly NL, Hoffmann R, Otvos L, Craik DJ. Role of phosphorylation in the conformation of τ peptides implicated in Alzheimer's disease. *Biochemistry*, 2000, 39: 9039—9046
- 28 Gong CX, Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Post-translational modifications of tau. *J Neural Transm*, 2005, 112: 813—838
- 29 Arnold CS, Johnson GVW, Cole RN, Dong DLY, Lee M, Hart GW. The microtubule-associated protein Tau is extensively modified with O-linked N-acetylglucosamine. *J Biol Chem*, 1996, 271: 28741—28744
- 30 Zachara NE, Hart GW. The emerging significance of O-GlcNAc in cellular regulation. *Chem Rev*, 2002, 102: 431—438
- 31 Torres CR, Hart GW. Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. *J Biol Chem*, 1984, 259: 3308—3317

- 32 Comer F I, Hart GW. O-Glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Dynamic interplay between O-GlcNAc and O-phosphate. *J Biol Chem*, 2006, 275: 29179—29182
- 33 Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Hart GW, Gong CX. O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: A mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 10804—10809
- 34 Zhou LX, Zeng ZY, Du JT, Zhao YF, Li YM. The self-assembly ability of the first microtubule-binding repeat from tau and its modulation by phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 348: 637—642
- 35 Du JT, Yu CH, Zhou LX, Wu WH, Lei P, Zhao YF, Nakanishi H, Li YM. Phosphorylation modulates the local conformation and self-aggregation ability of a peptide from the fourth tau microtubule-binding repeat. *FEBS J*, 2007, 274: 5012—5020
- 36 Yu CH, Si T, Wu WH, Hu J, Du JT, Zhao YF, Li YM. O-GlcNAcylation modulates the self-aggregation ability of the fourth microtubule-binding repeat of tau. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 375: 59—62
- 37 Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WJ, Campbell JL, Markesbery WR. Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *J Neurol Sci*, 1998, 158: 47—52
- 38 Ma QF, Li YM, Du JT, Liu HD, Kanazawa K, Nemoto T, Nakanishi HYF. Copper-binding properties of an tau peptide associated with Alzheimer's disease studied by CD, NMR, and MALDI-TOF MS. *Peptides*, 2006, 27(4): 841—849
- 39 Ma QF, Li YM, Du JT, Kanazawa K, Nemoto T, Nakanishi H, Zhao YF. Binding of copper (II) ion to an Alzheimer's Tau peptide as revealed by MALDI-TOF MS, CD, and NMR. *Biopolymers*, 2005, 79(2): 74—85
- 40 Zhou LX, Du JT, Zeng ZY, Wu WH, Zhao YF, Kanazawa K, Ishizuka Y, Nemoto T, Nakanishi H, Li YM. Copper (II) modulates *in vitro* aggregation of a tau peptide. *Peptides*, 2007, 28: 2229—2234
- 41 Su XY, Wu WH, Huang ZP, Hu J, Lei P, Yu CH, Zhao YF, Li YM. Hydrogen peroxide can be generated by Tau in the presence of Cu(II). *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 358: 661—665
- 42 Roberson ED, Mucke L. 100 years and counting: Prospects for defeating Alzheimer's disease. *Science*, 2006, 314: 781—784
- 43 Bulic B, Pickhardt M, Schmidt B, Mandelkow EM, Waldmann H, Mandelkow E. Development of Tau aggregation inhibitors for Alzheimer's disease. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 1740—1752
- 44 Wang JZ, Liu F. Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Prog Neurobiol*, 2008, 85: 148—175

Advances in Tau-mediated neurodegeneration and Tau-focused drug for Alzheimer's disease

LIU Peng, ZHAO YuFen & LI YanMei

Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus Chemistry & Chemical Biology; Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: Alzheimer's disease is the main form of dementia in today's ageing population. Aggregation of abnormally phosphorylated Tau in the form of tangles of paired helical filaments (PHFs) is one of the hallmarks of Alzheimer's disease. In Alzheimer's disease, misfolded Tau is probably a key pathological agent. The recent failure of amyloid- β -targeted therapeutics in clinical trials suggests that it is timely and prudent to consider alternative drug discovery strategies. Here, we focus on advances in Tau-mediated neurodegeneration and Tau-focused drug for Alzheimer's disease.

Keywords: Tau protein, Alzheimer's disease, phosphorylation, aggregation