

饥饿对小鼠脑中 tau 蛋白磷酸化和 O-GlcNAc 糖基化的影响 *

石俊^{1,2)}** 李旭^{1,3)}** 卢芬^{1,4)} 陈晓钎¹⁾ 王建枝¹⁾*** 龚成新^{1,5)}***

¹⁾华中科技大学同济医学院病理生理学系, 湖北省神经系统疾病重点实验室, 武汉 430030;

²⁾中山大学珠海校区党政办公室, 珠海 519000;

³⁾河南省肿瘤医院病理室, 郑州 450003;

⁴⁾河南省人民医院神经内科, 郑州 450003;

⁵⁾*Department of Neurochemistry, New York State Institute for Basic Research in
Developmental Disabilities, Staten Island, New York 10314, USA)*

摘要 为了探讨大脑中葡萄糖摄取和代谢障碍在阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 神经退行性病变中的作用, 将昆明种小鼠进行饥饿和再喂食处理, 并使用多种磷酸化 tau 蛋白特异性的抗体和蛋白 O-GlcNAc 糖基化特异性抗体进行检测, 观察饥饿及恢复喂食后不同时间点大脑皮质中 tau 蛋白糖基化及多个位点磷酸化的变化。结果显示: 饥饿处理引起小鼠大脑皮质中总蛋白和 tau 蛋白的 O-GlcNAc 糖基化水平降低, 同时 tau 蛋白磷酸化水平升高, 饥饿引起的 tau O-GlcNAc 糖基化和磷酸化改变均在恢复进食后逆转成正常水平。该研究结果提示: 大脑中 tau 蛋白的磷酸化和 O-GlcNAc 糖基化之间存在相互调节, 脑中葡萄糖代谢障碍可能通过下调 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平使 tau 蛋白产生异常过度磷酸化, 进而促发 AD 的病理进程。这一结果为在早期阶段通过逆转 tau 蛋白异常过度磷酸化治疗 AD 成为可能提供了实验基础。

关键词 阿尔茨海默病, tau 蛋白, 磷酸化, O-GlcNAc 糖基化, 饥饿

学科分类号 R745.7, Q513

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种中枢神经退行性疾病, 其主要表现为进行性认知和记忆功能障碍, 是中老年人群中痴呆最常见的病因。在 AD 脑中, 与神经元丢失相伴出现的主要有两大病理改变: 位于神经元内由异常过度磷酸化的 tau 蛋白构成的神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT)^[1] 以及神经元外由 β 淀粉样蛋白 (β -amyloid, A β) 沉积构成的老年斑 (senile plaque, SP)^[2]。

Tau 蛋白是一种脑特异性微管相关蛋白, 其功能受蛋白磷酸激酶和蛋白磷酸酯酶的双重调节, 适度磷酸化的 tau 可与微管结合, 促进微管组装并维持其稳定性, 从而保证细胞骨架的完整性及轴浆运输的正常进行。异常磷酸化的 tau 则失去上述功能, 可见 tau 蛋白的异常过度磷酸化在 AD 的发病机制中起着重要作用^[3]。

尽管 tau 蛋白异常过度磷酸化确切机制尚未完全明了, 但现在普遍认为 AD 是多病因性疾病。环

境、代谢、遗传因素都可通过各种途径导致相同特征的脑损伤, 如老年斑、神经元纤维缠结、神经元丢失和最终形成的痴呆。其中一个被公认的代谢因素是大脑中葡萄糖摄取和代谢障碍。这一障碍早于 AD 发作, 且随着 AD 病情加重而恶化^[4]。这个事实提示, 大脑中葡萄糖急剧减少很可能在 AD 病理发病机制中起重要作用, 但其机理尚不清楚。

许多新近的研究证明, tau 是 AD 脑中 NFT 主要蛋白质成分, 异常过度磷酸化的 tau 是形成 NFT 及 AD 分子机理的关键因素^[5]。我们最近发现, 人脑

*国家自然科学基金资助项目(30472030, 30400068), 国家重点基础研究发展计划资助项目(973)(2006CB500703)。

** 共同第一作者。*** 通讯联系人。

王建枝. Tel: 027-83692625, Fax: 027-83693883,

E-mail: Wangjz@mails.tjmu.edu.cn

龚成新. Tel: +1-718-4945248, Fax: +1-718-4941080,

E-mail: cxgong@ultinet.net

收稿日期: 2006-01-16, 接受日期: 2006-03-22

tau除了能被磷酸化修饰之外,还能被 O-GlcNAc 糖基化所修饰,而且 tau 的 O-GlcNAc 糖基化可以反过来调节 tau 的磷酸化^[5,6]. 由于蛋白质 O-GlcNAc 糖基化受糖代谢调节,以上发现提示一种可能性,即大脑中葡萄糖的利用降低可能会因减少 tau 的 O-GlcNAc 糖基化,进而促进 tau 的异常过度磷酸化而促使 AD 形成. 为了验证这一假说,本实验利用小鼠饥饿模型,研究了大脑中葡萄糖摄取和代谢障碍对 tau 的 O-GlcNAc 糖基化和磷酸化的影响及其可能机制.

Table 1 Primary antibodies employed in this study

Antibody	Type ¹⁾	Specificity ²⁾	Phosphorylation sites ³⁾	Reference/Source
RL2	Mono	O-GlcNAc		Affinity Bioreagents, Inc., Golden, CO
CTD110.6	Mono	O-GlcNAc		Covance, Richmond, CA
sWGA ⁴⁾	lectin	O-GlcNAc		EY Labs, San Mateo, CA
pT205	Poly	P-tau	Thr205	Biosource, Camarillo, CA
pT217	Poly	P-tau	Thr217	Biosource
pS396	Poly	P-tau	Ser396	Biosource
PHF-1	Mono	P-tau	Ser396/Ser404	[7]
R134d	Poly	Total tau		[8]

¹⁾Poly, polyclonal; mono, monoclonal. ²⁾P-tau, phosphorylated tau. ³⁾Numbered according to the largest isoform of human brain tau^[9]. ⁴⁾sWGA (succinyl wheat germ agglutinin) is a chemically modified lectin rather than an antibody.

1.2 小鼠分组及处理

1.2.1 将 45 只小鼠随机分为 9 组, 每组 5 只. 分别称重后放入 9 个悬吊的铁丝笼中, 每笼为一组. 第一组为对照组, 正常喂食; 第二、三、四、五组分别移除食物 24 h、36 h、48 h、60 h; 第六、七、八、九组为移除食物 48 h 后分别恢复正常喂养 6 h、12 h、24 h、36 h. 9 组动物在移除食物的过程中始终给予饮水.

1.2.2 将每组动物分别颈椎脱臼处死, 用剪刀去头, 沿颅中缝剪开分出大脑, 用刀片沿颅中缝方向将小鼠整个大脑分成左右两半, 一半备用, 另一半迅速分离出大脑皮质用作免疫印迹.

1.3 脑匀浆制备

将大脑皮质组织放入匀浆器内, 加入 2.5 ml 匀浆缓冲液(50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.0, 0.15 mol/L sucrose, 1.0 mmol·L⁻¹ Na₃VO₄, 50 mmol·L⁻¹ NaF, 1.0 mmol·L⁻¹ PMSF, 100 mmol·L⁻¹ GlcNAc, 2.0 mmol·L⁻¹ benzamidine, 2.0 mg/L aprotinin, 2.0 mg/L leupeptin, 2.0 mg/L pepstatin A, 1.0 mmol·L⁻¹ EGTA, 1.0 mmol·L⁻¹ EDTA), 在冰浴下制备匀浆.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验动物为华中科技大学同济医学院动物中心提供的 8~10 周雄性小鼠. 实验中所用的所有抗体(primary antibodies)及其特性均列于表 1 中. 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗或羊抗兔二抗从 Pierce Chemical 公司购买, ECL (enhanced chemiluminescent) 试剂盒从 Santa Cruz Biotechnology 公司购买.

1.4 样品蛋白质浓度测定

用牛血清白蛋白作为蛋白质标准液, 采用 BCA 法(Pierce, USA)测定样品的蛋白质含量.

1.5 免疫印迹

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分离胶浓度为 10%, pH 8.8, 浓缩胶浓度 4%, pH 6.8. 每泳道上样量 15 μg, 电泳结束后将蛋白质从聚丙烯酰胺凝胶转移至 PVDF 膜(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA), 用辣根过氧化物酶系统显色.

1.6 统计学分析

免疫印迹条带采用 Kodak Digital Science ID 图象分析系统(USA)进行灰度测定, 将对照组灰度设为 1, 全部数据用 SPSS11.0 软件分析, 统计方法采用方差检验.

2 结 果

2.1 饥饿诱导小鼠大脑皮质中总蛋白和 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低

为了观察饥饿处理对小鼠脑组织中 O-GlcNAc 糖基化的影响, 我们在实验中应用凝集素 sWGA

与 O-GlcNAc 特异的糖基化抗体 RL2 和 CTD110.6 对不同处理组的蛋白 O-GlcNAc 糖基化进行检测. 在免疫印迹法中, sWGA 可识别包括糖链和肽链在内的所有 O-GlcNAc 残基末端, 而抗体 RL2 和 CTD110.6 具有肽特异性, 只识别 O-GlcNAc 修饰的蛋白质 (多肽)^[9]. 结果如图 1a 所示: 饥饿 24 h 后 sWGA 抗体显色开始减弱, 饥饿 36 h 后 sWGA 抗体显色明显减弱, 饥饿 48 h 和 60 h 后 sWGA 抗体

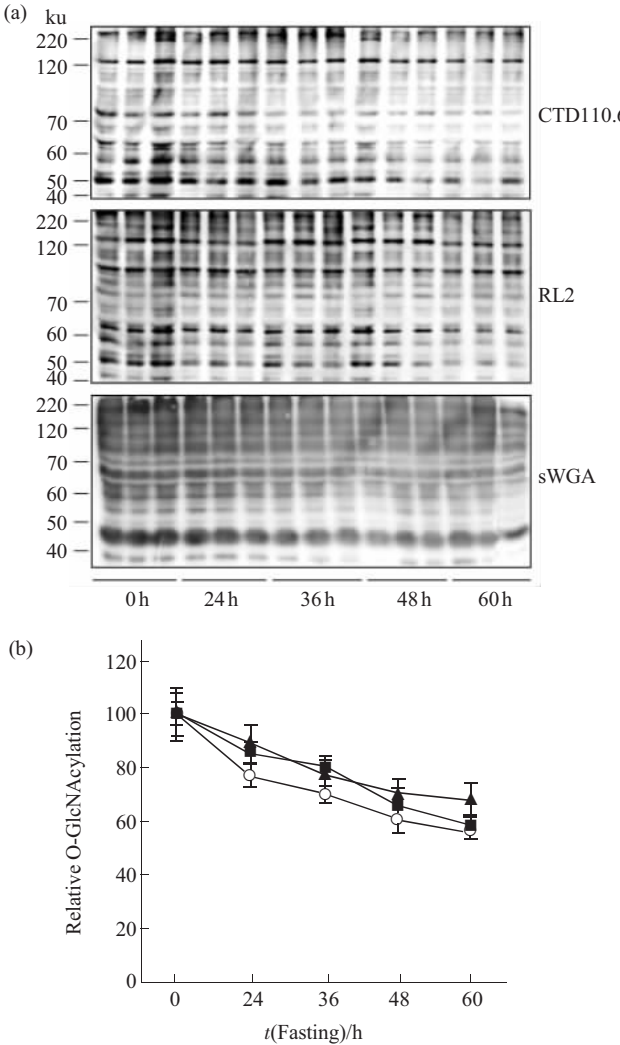


Fig. 1 Effect of fasting on global protein O-GlcNAcylation in the mouse brain

(a) O-GlcNAcylation of proteins (15 μ g protein/lane) in the crude cerebral cortical extracts of mice after fasting for the indicated periods of time was detected by Western blots developed with anti-O-GlcNAc antibody CTD110.6 or RL2 and with O-GlcNAc-specific lectin sWGA. Each lane was from an individual mouse brain. Molecular mass markers in ku are shown on the left of the blots. (b) The blots as shown in panel (a) were quantitated desitometrically and the data are presented as $\bar{x} \pm s$ of the relative staining intensity. Statistical analysis indicated that fasting-induced decrease of global protein O-GlcNAcylation was significant ($P < 0.05$). $\circ-\circ$: CTD110.6; $\blacksquare-\blacksquare$: RL2; $\blacktriangle-\blacktriangle$: sWGA.

显色最弱. RL2 和 CTD110.6 抗体的结果与 sWGA 的结果基本相同. sWGA、RL2 和 CTD110.6 3 种抗体在不同处理组 (24、36、48、60 h 组) 与对照组 (0 h) 相比均有显著差异 (图 1b, $P < 0.05$). 图 1 结果提示: 饥饿诱导小鼠大脑皮质中总蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低.

通过对比用 RL2 和 CTD110.6 染色的免疫印迹图与用 tau 抗体 R134d 染色的免疫印迹图, 我们发现, RL2 和 CTD110.6 在 50~65 ku 之间的染色蛋白带为 tau 蛋白带. 因此, 我们将其作显色强度定量图象分析. 结果发现: 饥饿诱导小鼠大脑皮质中 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低 (图 2).

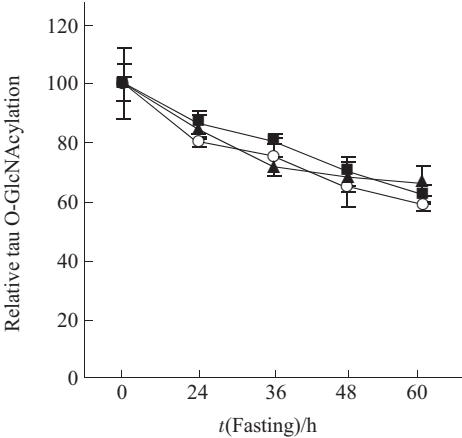


Fig. 2 Alteration of tau O-GlcNAcylation in mouse brains during fasting

O-GlcNAcylation of tau in the crude extracts of the cerebral cortex of mice after fasting for the indicated periods of time was detected by Western blots developed with anti-O-GlcNAc antibody CTD110.6 or RL2 and with O-GlcNAc-specific lectin sWGA, as shown in Figure 1a. The tau bands between 50 ~ 65 ku were then quantitated densitometrically, and the relative levels ($\bar{x} \pm s$) of tau O-GlcNAcylation (staining intensity) are plotted versus the periods of fasting. Statistical analysis indicated that fasting-induced decrease of tau protein O-GlcNAcylation was significant ($P < 0.05$). $\circ-\circ$: CTD110.6; $\blacksquare-\blacksquare$: RL2; $\blacktriangle-\blacktriangle$: sWGA.

2.2 饥饿诱导 tau O-GlcNAc 糖基化水平降低的同时伴有 tau 磷酸化水平升高

为了观察饥饿诱导 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低的同时 tau 蛋白磷酸化水平的改变, 我们采用了免疫印迹技术, 用识别非磷酸化依赖的总 tau 抗体 R134d 及能识别特定定位点磷酸化的 tau 蛋白抗体 pT205、pT217、pS396 和 PHF-1 (表 1) 对 tau 蛋白磷酸化水平进行检测. 图 3 结果显示: 在蛋白质上样量相同情况下, 识别非磷酸化依赖的总

tau 抗体 R134d 对不同时间处理组的免疫印迹显色结果基本一致, tau 蛋白的含量无明显差异, 提示饥饿处理不影响 tau 蛋白的总含量. 而用能识别特定位点磷酸化的 tau 蛋白抗体 pT205、pT217、pS396 和 PHF-1 检测的结果为: 饥饿 36 h、48 h、60 h 组的免疫印迹显色结果比对照组 (0 h) 明显增强, 即饥饿 36 h 后即发生了 tau 蛋白 Thr205、Thr217、Ser396 及 Ser396/404 位点的过度磷酸化修饰. 提示饥饿所致的 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低可能引起 tau 蛋白磷酸化水平升高.

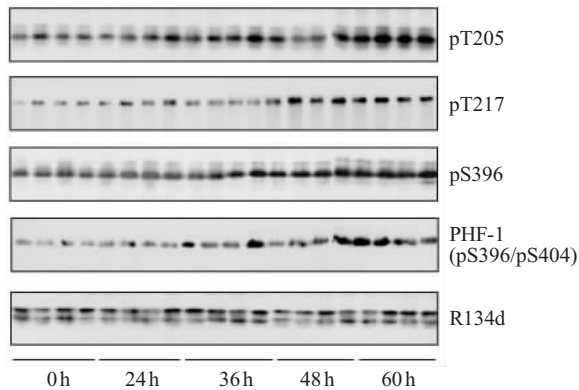


Fig. 3 Western blot analysis of tau phosphorylation in mouse cerebral cortex during fasting

Phosphorylation of tau in crude cerebrocortical extracts of mice after fasting for the indicated periods of time was detected by Western blots developed with several phosphorylation-dependent and site-specific tau antibodies and one phosphorylation-independent tau antibody R134d, as indicated on the right side of the blots. Each lane was from an individual mouse brain.

2.3 饥饿诱导 tau O-GlcNAc 糖基化和磷酸化水平的改变是可逆的

现在普遍公认, AD 脑中 tau 的异常过度磷酸化在形成神经原纤维缠结(NFT)之后是不可逆转的. 但在 AD 的早期阶段即 NFT 形成之前, AD 脑中 tau 的异常过度磷酸化是否可以逆转至今几乎未被研究. 为了研究早期 tau 高度磷酸化的可逆性, 我们观察了小鼠饥饿 48 h 之后恢复喂养期间, tau 蛋白异常过度磷酸化的进一步变化. 研究发现: 小鼠饥饿 48 h 之后的恢复喂养过程中(6 h、12 h、36 h 组), 小鼠大脑皮质中 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化和磷酸化水平的改变均恢复到正常对照组水平(图 4, 糖基化水平改变资料未显). 以上结果提示: AD 脑中 tau 的异常过度磷酸化在早期阶段是可以逆转的.

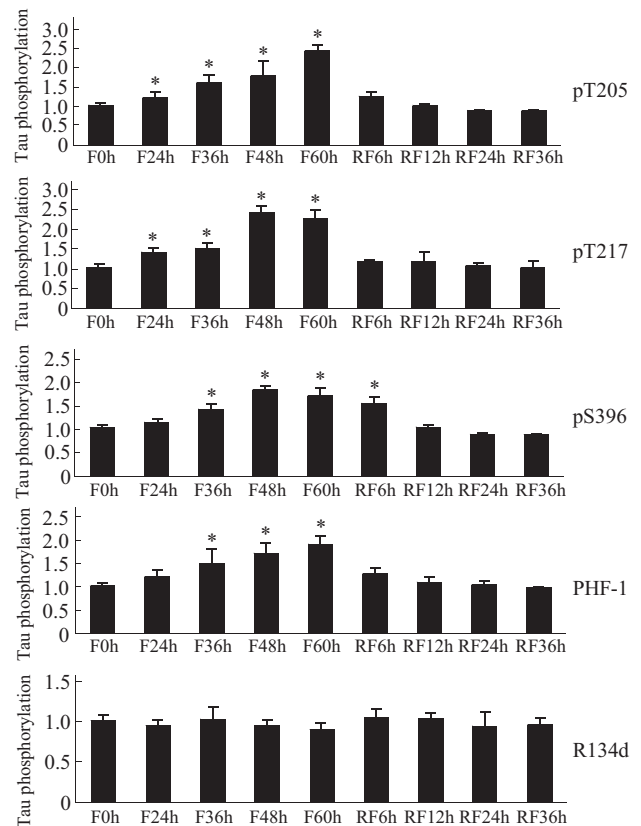


Fig. 4 Alterations of phosphorylation of tau in mouse brains during fasting and re-feeding

Phosphorylation of tau in the crude extracts of cerebrocortical cortex of mice after fasting (F) for the indicated periods of time or re-feeding (RF) post 48-h fasting was detected by Western blots developed with several phosphorylation-dependent/site-specific tau antibodies, as shown in Figure 3. The blots were then quantitated densitometrically, and the relative levels ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$) of tau phosphorylation (staining intensity) shown. A phosphorylation-independent tau antibody R134d was also included to determine the levels of total tau, which were used for normalization of the data. * $P < 0.05$ as compared to control (F0h) group.

3 讨 论

蛋白质 O-GlcNAc 糖基化是单糖 β -N-乙酰葡萄糖胺 (β -N-acetyl-glucosamine, GlcNAc) 以 O-糖苷键链接到肽链上的一种特殊类型的蛋白质糖基化^[10]. 与经典的 O-键链接的糖基化相比, 蛋白质 O-GlcNAc 糖基化有三个关键的特征: a. 它发生在细胞核与细胞质中, 而不是在内质网与高尔基体中; b. O-GlcNAc 具有很高的动力学特征, 对于细胞内信号或细胞周期变化可快速反应, 类似于蛋白质的磷酸化; c. 至今所发现的被 O-GlcNAc 修饰的蛋白质都为磷蛋白, O-GlcNAc 糖基化和磷酸化竞

争性地修饰一些蛋白质相同的丝氨酸和 / 或苏氨酸残基. 虽然 tau 蛋白确切的 O-GlcNAc 糖基化位点还不清楚, 但 tau 蛋白磷酸化受 tau O-GlcNAc 糖基化的可逆调节表明: tau O-GlcNAc 糖基化的下调可能引起或促进 tau 的异常过度磷酸化^[1]. 而 tau 的异常过度磷酸化是 AD 患者脑中 tau 蛋白早期最具特征性的改变^[2]. 本研究的目的是利用小鼠饥饿模型进一步探讨大脑中葡萄糖摄取和代谢障碍在 AD 神经退行性病变中的作用. 我们的研究结果为脑中葡萄糖的摄取 / 代谢缺陷导致 AD 形成的分子机理提供了一个合理的解释.

AD 发病机制比较复杂, 尚未明了, 不但涉及蛋白激酶和磷酸酯酶的相互作用, 而且可能与葡萄糖的摄取和代谢障碍有关^[1,4]. 葡萄糖的摄取和代谢缺陷引起神经原纤维变性可能是散在的 AD 发病的重要原因^[4]. 然而, 这种功能缺陷的分子生物学机制我们尚不清楚. 在本研究中, 我们利用小鼠饥饿模型模拟大脑中葡萄糖的摄取和代谢低下, 使用多种磷酸化 tau 蛋白抗体和蛋白 O-GlcNAc 糖基化特异性识别抗体进行检测. 观察饥饿处理及恢复喂养后不同时间点多个位点大脑皮质中 tau 蛋白糖基化及磷酸化的变化. 在实验中我们发现, 小鼠脑中 tau 蛋白磷酸化的结果与 O-GlcNAc 糖基化的结果呈负相关性, 即饥饿处理后 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低引起了 tau 蛋白磷酸化水平升高, 而恢复喂食后 tau 蛋白的 O-GlcNAc 糖基化水平回升到正常, 同时其磷酸化水平下降. 这些结果提示: 在 AD 病人大脑中葡萄糖的摄取和代谢功能缺陷可能引起 tau 蛋白 O-GlcNAc 糖基化水平降低并导致 tau 蛋白的异常过度磷酸化. 这一结果进一步支持我们提出的新假说, 即大脑葡萄糖代谢低下可通过改变 tau 的 O-GlcNAc 糖基化和磷酸化, 在 AD 发病机制中起重要作用^[11].

Minoshima 等^[12]曾经报道 AD 病人大脑中存在区域性的葡萄糖运输和利用障碍. 大脑利用的能量主要来源于葡萄糖, 因此当可用的葡萄糖减少时大脑就很容易发生损伤. 已知 O-GlcNAc 糖基化受到两种酶的调节, OGT 和 O-GlcNAcase. 它们的功能分别是将 O-GlcNAc 连附在细胞核和细胞质蛋白上或是将其从细胞核和细胞质蛋白上裂解下来, 这两种酶与调节蛋白质磷酸化状态的 (Ser/Thr) 蛋白激酶和蛋白磷酸酯酶相类似^[13]. 饥饿时大脑中葡萄糖水平下降, 使 UDP- 乙酰氨基己糖的合成减少, 因为 UDP- 乙酰氨基己糖对葡萄糖具有依赖性, 它的

生成需要葡萄糖作为原料. 所以继而造成 UDP-GlcNAc 的显著下降. 同时 UDP-GlcNAc 又是 O-GlcNAc 糖基化的供体, 这样最终导致 AD 病人脑中蛋白质 O-GlcNAc 的数量减少. 这些事实提示大脑中葡萄糖摄取和利用障碍很可能在 AD 发病机制中起重要作用^[5,11].

Planel 等^[14]的研究报道, 饥饿也会诱导体温过低和蛋白磷酸酯酶 2A (PP2A) 及某些蛋白激酶下调, 而这种下调又反过来改变 tau 的磷酸化. 因而, tau 蛋白的磷酸化受到几条代谢途径的调节, 葡萄糖的摄取 / 代谢缺陷可能通过下调 tau 的 O-GlcNAc 糖基化水平和蛋白磷酸酯酶 2A 的活性, 导致 tau 的过度磷酸化.

现普遍认为 tau 的异常过度磷酸化在形成 NFT 之后是不可逆转的. 我们在饥饿小鼠大脑皮质的生物化学和免疫组化实验中还观察到: 饥饿诱导小鼠脑中 tau 的异常过度磷酸化早期未见 tau 蛋白聚集成 NFT. 然而, 未聚集成 NFT 的 tau 蛋白的过度磷酸化是否可以逆转, 至今几乎没有被研究. 我们现在的研究已清楚地表明: 在早期阶段, tau 的过度磷酸化在体内是可以逆转的. 本研究结果为在早期阶段, 在 tau 蛋白聚集成 NFTs 之前通过逆转 tau 的异常过度磷酸化而有效预防或治疗 AD, 提供了具有重要意义的实验基础.

参 考 文 献

- 1 Iqbal K, Alonso A C, Gong C X, *et al.* Mechanisms of neurofibrillary degeneration and the formation of neurofibrillary tangles. *J Neural Transm*, 1998, **53** (Suppl): 169~180
- 2 Selkoe D J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 1991, **6** (4): 487~498
- 3 Gong C X, Liu F, Iqbal K, *et al.* Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*, 2005, **112**(6): 813~838
- 4 Hoyer S. Causes and consequences of disturbances of cerebral glucose metabolism in sporadic Alzheimer disease: therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol*, 2004, **541**: 135~152
- 5 Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, *et al.* O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: A mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (29): 10804~10809
- 6 钱慰, 刘飞, 朱俐, 等. 蛋白质 O-GlcNAc 糖基化修饰对 tau 蛋白磷酸化修饰的影响. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30** (4): 623~628
Qian W, Liu F, Jin S, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2003, **30**(4): 623~628
- 7 Otvos L Jr, Feiner L, Lang E, *et al.* Monoclonal antibody PHF-1 recognizes tau protein phosphorylated at serine residues 396 and 404. *J Neurosci Res*, 1994, **39** (6): 669~673

- 8 Tatebayashi Y, Iqbal K, Grundke-Iqbal I. Dynamic regulation of expression and phosphorylation of tau by fibroblast growth factor-2 in neural progenitor cells from adult rat hippocampus. *J Neurosci*, 1999, **19** (13): 5245~5254
- 9 Goedert M, Spillantini M G, Jakes R, *et al.* Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: Sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, 1989, **3** (4): 519~526
- 10 Hart, G W. Dynamic O-linked glycosylation of nuclear and cytoskeletal proteins. *Ann Rev Biochem*, 1997, **66**: 315~335
- 11 Gong C X, Liu F, Grundke-Iqbal I, *et al.* Hypothesis: impaired brain glucose metabolism leads to Alzheimer neurofibrillary degeneration through a decrease in Tau O-GlcNAcylation. *J Alzheimer's Dis*, 2006, **9** (1): 1~12
- 12 Minoshima S, Frey K A, Koeppe R A, *et al.* A diagnostic approach in Alzheimer's disease using three-dimensional stereotactic surface projections of fluorine-18-FDG PET. *J Nucl Med*, 1995, **36** (7): 1238~1248
- 13 Hart G W, Greis K D, Dong L Y, *et al.* O-linked N-acetylglucosamine: the "yin-yang" of Ser/Thr phosphorylation? Nuclear and cytoplasmic glycosylation. *Adv Exp Med Biol*, 1995, **376**: 115~23
- 14 Planel E, Miyasaka T, Launey T, *et al.* Alterations in glucose metabolism induce hypothermia leading to tau hyperphosphorylation through differential inhibition of kinase and phosphatase activities: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2004, **24** (10): 2401~2411

Fasting Induces Decreased O-GlcNAcylation and Increased Phosphorylation of tau in Mouse Brains*

SHI Jun^{1,2)**}, LI Xu^{1,3)**}, LU Fen^{1,4)}, CHEN Xiao-Qian¹⁾, WANG Jian-Zhi^{1)***}, GONG Cheng-Xin^{1,5)***}

⁽¹⁾Hubei Provincial Key Laboratory of Neurological Diseases, Department of Pathophysiology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;

⁽²⁾Department of Administration, Sun Yat-Sen University Zhuhai Campus, Zhuhai 519000, China;

⁽³⁾Department of Pathology, Henan Tumor Hospital, Zhengzhou 450003, China;

⁽⁴⁾Department of Neurology, Henan People's Hospital, Zhengzhou 450003, China;

⁽⁵⁾Department of Neurochemistry, New York State Institute for Basic Research in Developmental Disabilities, Staten Island, New York 10314, USA)

Abstract To explore the role of impaired brain glucose uptake/metabolism in neurodegeneration of Alzheimer's disease (AD), the relationship between an impaired brain glucose uptake/metabolism (down-regulation of tau O-GlcNAcylation) and the abnormal hyperphosphorylation of tau was investigated in fasting mice. It was found that fasting caused reduction of tau O-GlcNAcylation and a concomitant increase of tau phosphorylation at several hyperphosphorylation sites as seen in AD brain. Furthermore, hyperphosphorylation of tau induced by fasting was reversible in the brain after re-feeding. These findings provide a novel mechanism explaining how impaired brain glucose uptake/metabolism may contribute to AD-like tau hyperphosphorylation and also suggest feasibility to treat AD by reversing abnormal hyperphosphorylation of tau at early stages of the disease.

Key words Alzheimer's disease, tau protein, phosphorylation, O-GlcNAcylation, fasting

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30472030, 30400068) and National Basic Research Program of China (2006CB500703).

**These authors contribute to this study equally.

***Corresponding author.

WANG Jian-Zhi. Tel: 86-27-83692625, Fax: 86-27-83693883, E-mail: Wangjz@mails.tjmu.edu.cn

GONG Cheng-Xin. Tel: +1-718-4945248, Fax: +1-718-4941080, E-mail: cxgong@ulinet.net

Received: January 16, 2006 Accepted: March 22, 2006