

糖尿病大鼠脑 GSK-3 与 PP-2A 失调诱导 tau 蛋白过度磷酸化

曲忠森¹⁾ 赵永波^{1)*} 刘文文¹⁾ 王建枝²⁾

(¹⁾上海交通大学附属第一人民医院神经科, 上海 200080; (²⁾华中科技大学同济医学院病理生理系, 武汉 430030)

摘要 探讨胰岛素缺乏的糖尿病大鼠皮层糖原合酶激酶-3(GSK-3)及蛋白磷酸酯酶-2A(PP-2A)变化及其对 tau 蛋白磷酸化的作用。用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立胰岛素缺乏的糖尿病大鼠模型, 用放射性配体结合实验检测了 GSK-3 和 PP-2A 的活性, 蛋白质印迹检测了 tau 蛋白的磷酸化水平及 PP-2A 的表达。结果提示: 在糖尿病大鼠皮层, GSK-3 活性升高, PP-2A 活性及表达降低, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202 和 Ser396/Ser404 位点磷酸化。应用 GSK-3 的选择性抑制剂 Li_2CO_3 后, GSK-3 活性降低, PP-2A 活性及表达恢复, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202 和 Ser396/Ser404 位点磷酸化水平降低。研究提示: 糖尿病大鼠皮层 GSK-3 升高可能抑制 PP-2A 的活性, 升高的 GSK-3 和降低的 PP-2A 协同促进 tau 蛋白的磷酸化。

关键词 糖尿病, 糖原合酶激酶-3, 蛋白磷酸酯酶-2A, tau 蛋白, Li_2CO_3

学科分类号 R587.1, Q55

神经元内神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)是老年性痴呆(Alzheimer's disease, AD)的两大病理学特征之一, NFT 主要由异常过度磷酸化的 tau 蛋白组成^[1], 在 AD 神经元中, 蛋白激酶/蛋白磷酸酯酶磷酸化系统失衡, 导致 tau 蛋白异常、过度磷酸化。糖原合酶激酶-3(GSK-3)是 tau 蛋白过度磷酸化的重要激酶之一^[2], 而磷酸酯酶活性降低, 尤其是蛋白磷酸酯酶-2A(PP-2A)活性降低, 对 tau 蛋白的异常过度磷酸化也起关键性作用^[3]。

糖尿病(diabetes mellitus, DM)人群中 AD 的发病率明显高于非 DM 人群^[4], I 型 DM 患者在学习、记忆及解决问题能力上出现减退^[5]。研究证实: 在非胰岛素依赖型(II 型)DM 患者的骨骼肌及外周组织, GSK-3 的表达及活性异常升高^[6,7]。Zhao 等^[8]报道, DM 小鼠可引起海马 tau 蛋白的 Ser199/Ser202 位点出现过度磷酸化, 但此时 GSK-3、PP2A 的表达降低; 也有报道在饥饿的小鼠海马, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202、Ser262, 及 Ser396/Ser404 位点过度磷酸化, 伴有 GSK-3、PP-2A 活性的降低, 而 PP-2A 本身也可以使 GSK3Ser9 去磷酸化^[1], 从而激活 GSK-3^[9]。在糖尿病大鼠脑中, GSK-3 与 PP-2A 的活性发生何种变化及其对 tau 蛋白的磷酸化起何种作用, 尚不明

确, 为此, 用链脲佐菌素建立胰岛素缺乏的 DM 大鼠模型, 检测 GSK-3、PP-2A 活性, 及 tau 蛋白的磷酸化, 用 GSK-3 选择性抑制剂 Li_2CO_3 抑制 GSK-3, 观察 GSK-3 对 PP-2A 的作用, 以及此变化对 tau 蛋白磷酸化的影响, 探讨 DM 并发 AD 样病变的可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠, 4 月龄, 体重 200~250 g, 由中国科学院上海分院实验动物中心提供。

1.2 实验试剂

链脲佐菌素(streptozotocin, STZ) (美国 Sigma 公司), γ -³²P ATP (北京福瑞生物工程公司)。酶活性测定底物(phospho-GS peptide 购自美国 Upstate 公司), Li_2CO_3 (上海化学试剂集团公司), R123d 抗体购自 Santa Cruz 公司, 单克隆抗体 PHF-1 (检测磷酸化 Ser396/Ser404 位点), Tau-1 (检测非磷酸化 Ser198/ Ser199/Ser202 位点), 多克隆抗体 111e (检

* 通讯联系人。Tel: 021-28409697, E-mail: zyb62@medmail.com.cn

收稿日期: 2006-03-06, 接受日期: 2006-03-31

测总 tau) 购自 Amersham 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及处理. SD 雄性大鼠 15 只, 随机分为对照组, DM 组, DM + Li_2CO_3 组. 除对照组外, 所有大鼠禁食 12 h, 以 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液 (pH 4.4) 在冰浴中配成 20 g/L 的 STZ 溶液, 按 55 mg/kg 腹腔注射, 72 h 后测血糖, 大于 16.7 mmol/L 者作为糖尿病模型鼠. Li_2CO_3 组: 于 DM 造模后每日给予含有 0.4% 的碳酸锂饲料^[10], 自由饮水. 各组于第 30 天实验结束时断头取脑, 迅速分离出大脑皮层备用.

1.3.2 酶活性测定.

GSK-3 活性的测定: 按照 Pei 等^[11]的方法进行. 将 7.5 μg 蛋白质加入总量为 25 μl , 含有 pH 7.4 的 30 mmol Tris、10 mmol MgCl_2 、10 mmol NaF、1 mmol Na_3VO_4 、2 mmol EGTA、10 mmol β -ME、200 μmol [γ - ^{32}P] ATP (每 pmol ATP 的计数为 1 500) 及 20 μmol phospho-GS 底物的缓冲液中, 振荡混匀, 30 $^\circ\text{C}$ 孵育 30 min, 用 25 μl 300 mmol H_3PO_4 反应液终止反应. 各反应体系分别取 25 μl 滴在磷酸纤维膜上, 以 75 mmol H_3PO_4 定时冲洗抽滤, 滤膜晾干并置入液闪瓶中, 加二甲苯闪烁液, 隔夜以液体闪烁仪计数. 酶活性用各样本与对照相比较所得相对活性表示.

PP-2A 活性的测定: PP-2A 的活性测定依照 Gong 等^[12]方法进行. 在含有 40 mmol/L Tris-HCl (pH 8.5), 20 mmol/L β -ME, 0.2 mmol/L CaCl_2 , 15 mmol/L MgCl_2 的缓冲液里用磷酸化酶 b 中和 0.5 mmol/L [γ - ^{32}P] ATP 和 10 mg/L 的磷酸化酶激酶, 经 30 min 孵育, 一部分被 γ - ^{32}P ATP 标记的、由磷酸化酶 b 转变的磷酸化酶 a, 经 Sephadex G-50 柱层析出, 收集含 γ - ^{32}P ATP 标记的磷酸化酶 a (标记率 >70%), 作为 PP-2A 的底物, 根据 PP-2A 催化的、 γ - ^{32}P 标记的磷酸化酶 a 所释放 γ - ^{32}P 的释放量, 判定 PP-2A 的活性. 反应总体积为 20 μl , 含 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.0), 10 mmol/L β -ME, 0.1 mmol/L EDTA, 7.5 mmol/L Caffeine, 7.5 mg/L [γ - ^{32}P] 磷酸化酶 a, 0.06 g/L 细胞提取物和抑制因子 -1 (PP-1 的特异性抑制剂), 用 20% 三氯乙酸终止反应, 取 7 μl 反应混合物至层析纸上, 释放出的 γ - ^{32}P 在 5% 的三氯乙酸 (0.2 mol/L NaCl 溶解) 层析液中通过上行色谱法与底物分离, 经 Cerenkov 闪烁液进行闪烁计数分析.

1.3.3 蛋白质印迹实验 (Western-blot). 将分离出的

皮层, 0~4 $^\circ\text{C}$ 用 10% 匀浆提取液匀浆. 匀浆液在 4 $^\circ\text{C}$ 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 沸水中变性 10 min, 冷却后备用. 用 10% 聚丙烯酰胺分离胶, 将蛋白质提取物分离, 再将其转印到硝酸纤维膜上. 用 5% 脱脂牛奶室温下封闭 1 h. 然后在硝酸纤维膜上滴加 5% 脱脂牛奶稀释的特异性抗体 Tau-1 (1 : 30 000 稀释), PHF-1 (1 : 250 稀释), 111e (1 : 1 000 稀释), R123d (1 : 1 000 稀释) 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 2 h, 0.05 mol TBS (pH 7.5) 漂洗, 再用 5% 脱脂牛奶稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗, 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h, 0.05 mol TBS 漂洗, ALP 显色 10 min. 蛋白质浓度测定采用 BCA 法. 采用 Kodak 图象分析系统及 Image-Proplus 软件分析结果.

每个样本均经过 3 次实验 (包括 2 次重复实验), 统计后作为实验结果.

1.3.4 统计学处理. 所有数据均采用 ($\bar{x} \pm s$), 采用 SPSS12.0 统计软件进行一元因素方差分析. $P < 0.05$ 为差异具有显著性.

2 结 果

2.1 酶活性的测定

为揭示 GSK-3 和 PP-2A 是否参与 β -细胞损毁型 DM 的作用, 我们检测了 GSK-3 和 PP-2A 的活性. GSK-3 是参与 tau 异常磷酸化的众多蛋白激酶中非常重要的一种^[13], 在 DM 患者及小鼠骨骼肌中 GSK-3 活性异常增加. 我们在实验中发现 (图 1): DM 大鼠皮层 GSK-3 活性较正常大鼠皮层升高了 82% ($P < 0.01$), Li_2CO_3 处理后明显抑制 DM 大鼠皮层 GSK-3 活性 ($P < 0.01$), 使 GSK-3 活性降低了 69%. 另一方面, PP-2A 活性降低在 tau 蛋白的

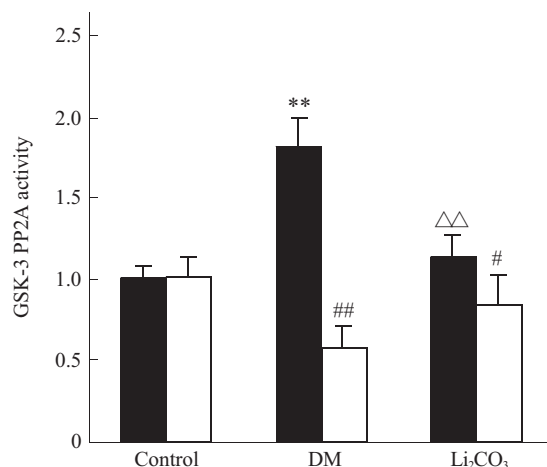


Fig. 1 Changes of GSK-3 and PP-2A activity

** $P < 0.01$ vs control group, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs DM group, $##$ $P < 0.01$ vs control group, $###$ $P < 0.05$ vs DM group. ■: GSK-3, □: PP-2A.

异常过度磷酸化中起关键性作用^[4]. 我们在实验中也发现: DM 大鼠皮层 PP-2A 活性较正常大鼠皮层降低了 44% ($P < 0.01$), Li_2CO_3 处理后可使 DM 大鼠皮层 PP-2A 活性升高 26% ($P < 0.05$). 该结果提示 DM 大鼠皮层 GSK-3 活性异常升高, PP-2A 活性降低, 用 Li_2CO_3 抑制 DM 大鼠皮层 GSK-3 活性后, PP-2A 的活性出现明显的恢复 (图 1).

2.2 tau 蛋白磷酸化的检测

GSK-3 是促使 tau 蛋白磷酸化的重要激酶, 而 PP-2A 是促使 tau 蛋白去磷酸化的重要酯酶. DM 组大鼠 GSK-3 活性较正常对照组明显增高, PP-2A 活性较之明显降低, 为探讨它们对 DM 大鼠皮层 tau 蛋白磷酸化的影响, 本实验进一步对 tau 蛋白磷酸化水平进行了检测. Ser198/Ser199/Ser202 位点

和 Ser396/Ser404 位点不仅是 GSK-3 的作用位点, 也是 PP-2A 的作用位点^[15,16]. Tau-1 在 Ser198/Ser 199/Ser202 位点识别非磷酸化的 tau 蛋白, 在 DM 大鼠显色降低, 提示 tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202 位点被磷酸化, 用识别磷酸化位点的 PHF-1 抗体检测发现, tau 蛋白在 Ser396/Ser404 位点被磷酸化. Li_2CO_3 处理后, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202 及 Ser396/Ser404 位点磷酸化水平几乎恢复到正常水平. 111e 显色(识别总 tau 蛋白)在各组间无显著性差异 ($P > 0.05$, 图 2c), 说明上述处理不影响总 tau 蛋白总的含量. 这些结果提示: 在糖尿病大鼠皮层神经元, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202 及 Ser396/Ser404 位点磷酸化, 而 Li_2CO_3 可以抑制这些位点的磷酸化 (图 2).

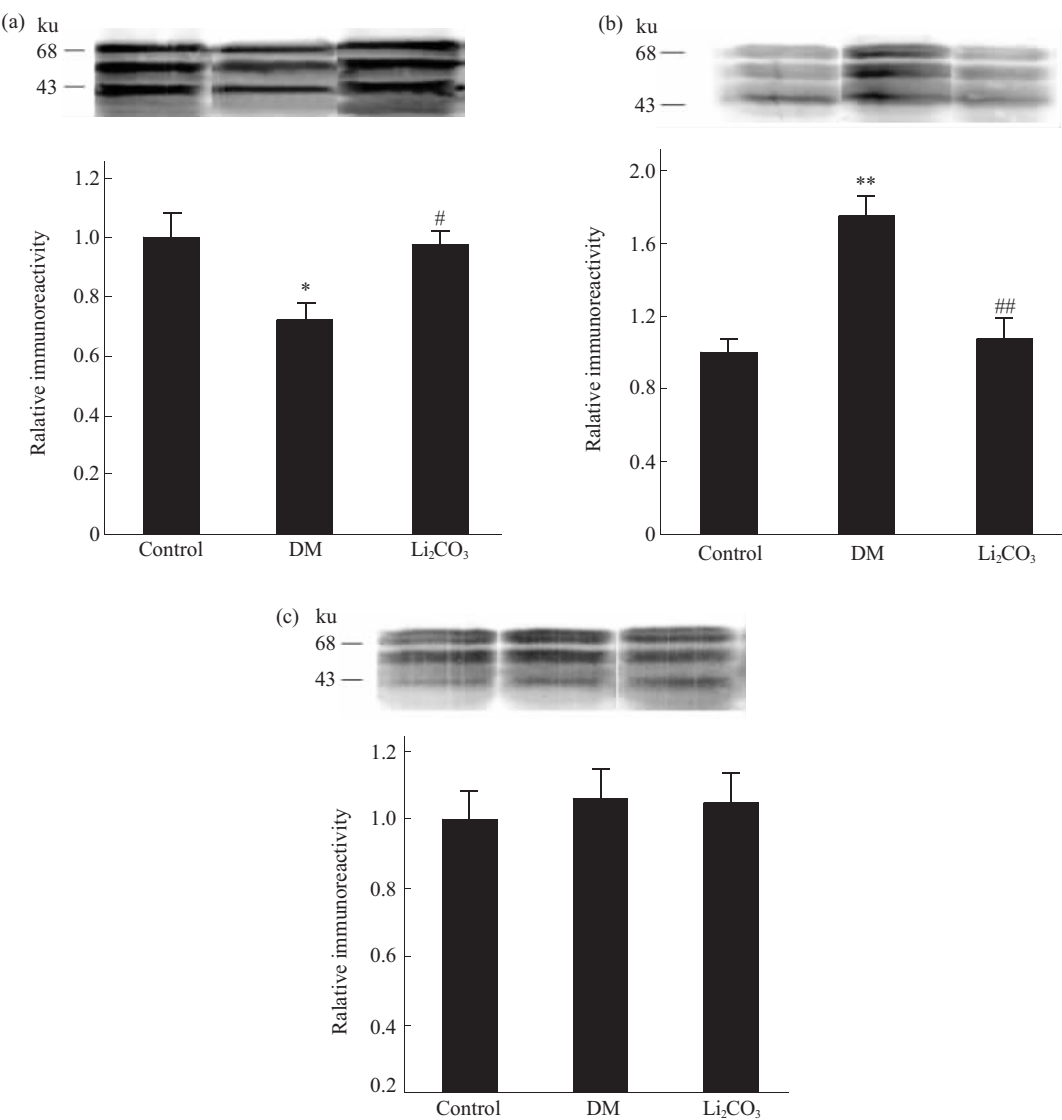


Fig. 2 Level of Tau-1 tau (a) , PHF-1 tau (b) and total tau by 111e (c) in cortex
(a) * $P < 0.05$ vs control group, # $P < 0.05$ vs DM group. (b) ** $P < 0.01$ vs control group, ## $P < 0.01$ vs DM group. (c) $P > 0.05$.

2.3 蛋白质印迹检测 PP-2A 表达的变化

为了进一步阐明 GSK-3 对 PP-2A 的作用, 我们检测了 PP-2A 表达, 结果显示: DM 大鼠皮层的 PP-2A 表达明显降低 ($P < 0.01$), 应用 Li_2CO_3 后, PP-2A 的表达增加, 与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$) (图 3)。

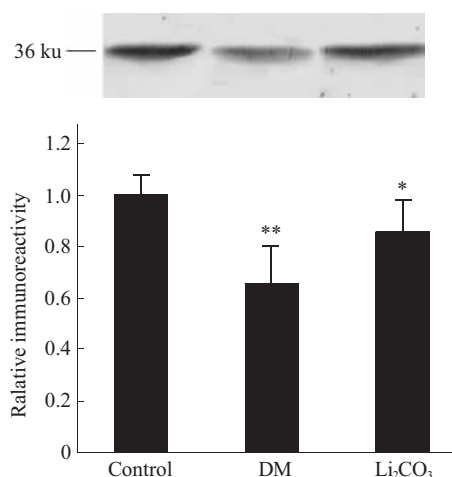


Fig. 3 The expression of PP-2A

** $P < 0.01$ vs control group, * $P < 0.05$ vs DM group.

3 讨 论

神经细胞内的 NFT 与 AD 的疾病严重程度呈正相关, 可能在 AD 的发病中起更重要作用^[7]. NFT 主要是由异常过度磷酸化的 tau 蛋白组成. GSK-3 是参与 tau 异常磷酸化众多蛋白激酶中非常重要的一种, 磷酸化 GSK-3 α 的第 21 位丝氨酸和 GSK-3 β 的第 9 位丝氨酸可以抑制 GSK-3 的活性. Li_2CO_3 可以选择性抑制 GSK-3, 而不依赖 PI3K^[18]. 另一方面, 磷酸酯酶活性降低, 尤其是 PP-2A 活性降低, 可能在 tau 蛋白的异常过度磷酸化中起关键性作用, 实验证实在 AD 脑的病变区域 PP-2A 的表达和活性均下调^[19]. PP-2A 也可调节 GSK-3 的活性, PP-2A 本身可以使 GSK-3Ser9 去磷酸化, 激活 GSK-3^[9].

胰岛素诱导多种细胞内的信号转导. 刺激小 G 蛋白 RS, 导致包括 Raf-1、MaPKK-1、 $\text{P}_{42}/\text{P}_{44}$ MAPK 和 P^{90} RSK 等蛋白激酶的激活. 激活 PI3K 及 PKB, 随后在 Ser21 位点及 Ser9 位点分别磷酸化 GSK-3 alpha 及 GSK-3 beta, 从而抑制了 GSK 的活性. 用 STZ 建立的 DM 鼠模型, 就是直接破坏大鼠胰岛 β 细胞, 引起胰岛素分泌减少, 产生 DM 样病理生理变化及临床特征^[20]. 在 DM 大

鼠脑中, 胰岛素及其受体信号转导途径对 tau 的作用尚不明确. Ring 和 Nikouline 等^[21,22]分别报道了 II 型 DM 患者骨骼肌及啮齿类动物骨骼肌中 GSK-3 活性异常升高. 因此, 我们推测 GSK-3 可能在 DM 并发中枢神经退行性变中起重要作用. 实验结果提示, 在 DM 大鼠脑中确实存在 GSK-3 活性的异常增高. 另外, 我们检测到 DM 大鼠皮层 PP-2A 活性较正常对照组降低 44%, 提示 DM 大鼠皮层也出现 PP-2A 活性降低, 进一步检测发现 DM 大鼠皮层 PP-2A 的表达也出现降低, 此结果证实, DM 大鼠皮层无论是 PP-2A 的活性还是表达都发生了降低, 但 PP-2A 的改变是何种原因导致? PP-2A 的这种改变与 GSK-3 存在怎样的关系? 为此, 应用 GSK-3 的选择性抑制剂 Li_2CO_3 抑制 GSK-3, 进一步观察 PP-2A 的活性和其表达变化, 结果证实: DM 大鼠皮层 GSK-3 受抑制后, PP-2A 的活性升高, 其表达也出现回升, 提示在 DM 大鼠皮层, GSK-3 活性异常升高后, 可能对 PP-2A 的活性和表达产生抑制作用.

在饥饿的小鼠海马, PP-2A 对 tau 蛋白 Ser198/Ser199/Ser202、Ser396/Ser404 位点的磷酸化所起的作用比 GSK-3 重要, 因为在 GSK-3 活性降低应该减弱 tau 蛋白在上述位点的磷酸化时, 由于 PP-2A 活性的降低却出现 tau 蛋白在上述位点的磷酸化. 而在实验第 3 天出现 PP-2A 的催化亚基代偿性的升高^[9]. Zhao 等^[8]用免疫组织化学的方法也发现糖尿病小鼠海马 tau 蛋白的 Ser199/Ser202 位点出现磷酸化, 但此时 GSK-3、PP2A 的表达降低. 我们在实验中采用 30 天的 DM 大鼠皮层证实, 在 GSK-3 活性异常升高、PP-2A 的活性降低时, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202、Ser396/Ser404 位点出现磷酸化, 而这些位点既是 GSK-3 也是 PP-2A 作用的位点. 应用 GSK-3 的选择性抑制剂 Li_2CO_3 抑制 GSK-3, 进一步观察 PP-2A 的活性和其表达变化对 tau 蛋白磷酸化的影响, 结果证实, 在 DM 大鼠皮层 GSK-3 受抑制、PP-2A 的活性升高和表达回升时, tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202、Ser396/Ser404 位点出现磷酸化水平降低. 此结果证实: 在 DM 大鼠皮层, 异常升高的 GSK-3 可能抑制 PP-2A 的活性和表达, 从而协同促进了 tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202、Ser396/Ser404 位点的磷酸化.

总之, 我们用 STZ 建立胰岛素缺乏的 DM 大鼠模型, 首次从整体水平探讨 GSK-3 活性异常升

高, 以及 PP-2A 活性降低对 tau 蛋白在 Ser198/Ser199/Ser202、Ser396/Ser404 位点的磷酸化的作用, 并进一步证实了异常升高的 GSK-3 可能对 PP-2A 起抑制作用, 二者协同促进 tau 蛋白磷酸化, 对揭示 DM 早期并发 AD 样病变的机制及其治疗有潜在的意义。

参 考 文 献

- Wang J Z, Gong C X, Zaidi T, *et al.* Dephosphorylation of Alzheimer paired helical filaments by protein phosphatase-2A and -2B. *J Biol Chem*, 1995, **270** (9): 4854~4860
- Pei J J, Braa K E, Braak H, *et al.* Distribution of active glycogen synthase kinase-3beta (gsk-3beta) in brain staged for Alzheimer's disease neurofibrillary changes. *J Neuropathol*, 1999, **58** (9): 1010~1019
- Sontag E, Nunbhakdi-Craig V, Bloom G S, *et al.* Molecular interactions among protein phosphatase 2A, tau, and microtubules. Implications for the regulation of tau phosphorylation and the development of tauopathies. *J Biol Chem*, 1999, **274** (36): 25490~25498
- Peila R, Rodriguez B L, Launer L J, *et al.* Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: the honolulu-asia aging study. *Diabetes*, 2002, **51** (4): 1256~1262
- Biessels G J, van der Heide I P, Kamal A, *et al.* Ageing and diabetes: implications for brain function. *Eur J Pharmacol*, 2002, **441** (1~2): 1~14
- Kaidanovich O, Eldar-Finkelman H. The role of glycogen synthase kinase-3 in insulin resistance and type 2 diabetes. *Expert Opin Ther Targets*, 2002, **6** (5): 555~561
- Eldar-Finkelman H, Schreyer S A, Shinohara M M, *et al.* Increased glycogen synthase kinase-3 activity in diabetes and obesity prone C57BL/6J mice. *Diabetes*, 1999, **48** (8): 1662~1666
- Zhao Y M, Pei J J, Ji Z J, *et al.* Effect of amyloid precursor protein 17 mer peptide on microtubule structure and tau protein hyperphosphorylation in hippocampal neurons of experimental diabetic mice. *Neuroreport*, 2003, **14** (1): 61~66
- Planel E, Yasutake K, Ishiguro K, *et al.* Inhibition of protein phosphatase 2A overrides tau protein kinase I/glycogen synthase kinase 3 beta and cyclin-dependent kinase 5 inhibition and results in tau hyperphosphorylation in the hippocampus of starved mouse. *J Biol Chem*, 2001, **276** (36): 34298~34306
- Dixon J F, Hokin L E. Lithium acutely inhibits and chronically up-regulates and stabilizes glutamate uptake by presynaptic nerve endings in mouse cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (14): 8363~8368
- Pei J J, Tanaka T, Tung Y C, *et al.* Distribution, levels, and activity of glycogen synthase kinase-3 in the Alzheimer disease brain. *Neuropathol Exp Neurol*, 1997, **56** (1): 70~78
- Gong C X, Singh T J, Grundke-Iqbal I, *et al.* Phosphoprotein phosphatase activities in Alzheimer disease brain. *J Neurochem*, 1993, **61** (3): 921~927
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Quinlan M, *et al.* Microtubule-associated protein tau, A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem*, 1986, **261** (13): 6084~6089
- Kamibayashi C, Estes R, Lickteig R L, *et al.* Comparison of heterotrimeric protein phosphatase 2A containing different B subunits. *J Biol Chem*, 1994, **269** (31): 20139~20148
- Liu S J, Zhang J Y, Li H L, *et al.* Tau becomes a more favorable substrate for GSK-3 when it is prephosphorylated by PKA in rat brain. *J Biol Chem*, 2004, **279** (48): 50078~50088
- Gong C X, Lidsky T, Wegiel J, *et al.* Phosphorylation of microtubule-associated protein tau is regulated by protein phosphatase 2A in mammalian brain. Implications for neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *J Biol Chem*, 2000, **275** (8): 5535~5544
- Bancher C, Grunk-Iqbal I, Iqbal K, *et al.* Abnormal phosphorylation of tau protein ubiquitination in neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Brain Res*, 1991, **539** (1): 11~18
- Orena S J, Torchia A J, Garofalo R S. Inhibition of glycogen-synthase kinase 3 stimulates glycogen synthase and glucose transport by distinct mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2000, **275** (21): 15765~15772
- Gong C X, Shaikh S, Wang J Z, *et al.* Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated tau: decrease in Alzheimer disease brain. *J Neurochem*, 1995, **65** (2): 732~738
- 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社. 2002. 1519
- Xu S Y, Bian R L, Chen X. Methodology of Pharmacology Experimentation. Beijing: People Health Press, 2002. 1519
- Ring D B, Johnson K W, Heriksen E J, *et al.* Selective glycogen synthase kinase 3 inhibitor potentiate insulin activation of glucose transport and utilization *in vitro* and *in vivo*. *Diabetes*, 2003, **52** (3): 588~595
- Nikoulina S E, Ciaraldi T P, Mudaliar S, *et al.* Potential role of glycogen synthase kinase-3 in skeletal muscle insulin resistance of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2000, **49** (2): 263~271

Disturbance of GSK-3 and PP-2A Induced tau Hyperphosphorylation in Diabetic Rat Brain

QU Zhong-Sen¹⁾, ZHAO Yong-Bo^{1)*}, LIU Wen-Wen¹⁾, WANG Jian-Zhi²⁾

¹⁾Department of Neurology, First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China;

²⁾Department of Pathophysiology, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract The changes of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) and protein phosphatase-2A (PP-2A), and the role of them in the regulation of the abnormally hyperphosphorylated some sites of tau in the cortex of diabetic rat were investigated. The diabetic rat model was induced by streptozotocin. The activities of GSK-3, PP-2A were measured by liquid scintillation for incorporated radioactivity in control, DM, DM + Li₂CO₃ groups. The level of hyperphosphorylated tau and the expression of ³²P-PP-2A was measured respectively by Western blot. It is suggested that GSK-3 activity increases, PP-2A activity and expression decrease, and hyperphosphorylated tau be produced at Ser198/Ser199/Ser202 and Ser396/Ser404 in DM rats cortex. After the DM rat were treated with Li₂CO₃, the inhibition of GSK-3 activity and the improvement of PP-2A activity were found, and hyperphosphorylation of tau at Ser198/Ser199/Ser202 and Ser396/Ser404 were deduced. These studies firstly suggested that an increase of GSK-3 activity might inhibit PP-2A activity, and which produce hyperphosphorylated of tau at Ser198/Ser199/Ser202 and Ser396/Ser404 in DM rat cortex in common.

Key words diabetes, glycogen synthase kinase-3, protein phosphatase-2A, tau, Li₂CO₃

*Corresponding author . Tel: 86-21-28409697, E-mail: zyb62@medmail.com.cn

Received: March 6, 2006 Accepted: March 31, 2006