

総説

認知症とタウ蛋白との関係

高島 明彦

学習院大学・理学部生命科学科 大学院自然科学研究科生命科学専攻

微小管と微小管結合タンパク

タウ蛋白は微小管結合蛋白のうち微小管形成を促進する“タウ因子”としてKirshnerらによってブタ脳から単離され、タウ蛋白と呼ばれるようになった¹⁾。微小管は主要な細胞骨格の一つであり、細胞の形態、細胞分裂、細胞内輸送等に関与している。微小管は α 、 β チューブリンのヘテロ二量体を単位としたプロトフィラメントを形成している。微小管はプラス極、マイナス極という極性を持ち β サブユニットが存在する末端では重合・脱重合の速度が大きいプラス極と呼ばれる。反対側の α サブユニットが存在する側がマイナス極である。チューブリンはGTP結合型またはGDP結合型をとるGTPaseであり、 β サブユニットに結合しているGTP結合型は微小管に次々組み込まれ微小管伸長に寄与する。GTPが加水分解されGDP結合型の末端では脱重合しやすいため、微小管末端がGTP結合型かGDP結合型チューブリンかによって微小管は伸長、退縮を繰り返す動的安定状態にある。このような微小管の動的安定性の調節は細胞分裂の際など生命現象に深く関与している。神経細胞では樹状突起、軸索など複雑な形態を保持するため微小管を安定化するタウや、MAP2という微小管結合タンパク質が結合し微小管を形成している。神経細胞の分化に伴いタウは軸索に局在するようになり、MAP2は樹状突起に局在する。このように微小管結合タンパク質を目印にして軸索/樹状突起の極性が決定する。

軸索基部では微小管は安定で寿命が長く α チューブリンのLys40がアセチル化を受けている。しかし、このアセチル化が微小管の安定化に寄与しているわけではない。微小管は軸索の先端に行くほど動的で形態も複雑となっているが細胞体から先端に向けて微小管の向きが揃いプラス端は先端に存在し効率的な軸索輸送に寄与している。樹状突起では細胞体に近い部位では異なる向きの微小管が混在し、遠位部位ではプラス端が先端に存在している。近年の研究ではスパイン内に非常に動的な微小管が存在することが明らかになり、スパイン形成に関与していることが示唆されている²⁾。

タウタンパク質

タウ蛋白はランダムコイル構造の蛋白であることから熱

に安定で酸にも安定で変性をしない生化学的にユニークな特徴を有している。その性質を利用して簡便な精製法として組織ホモジネートを熱処理、または酸処理後遠心することによって可溶性画分の中にタウが回収される。タウの半数の配列はグリシン、プロリンという非極性アミノ酸、セリン、スレオニンなど極性を持ちリン酸化によって負電荷をもつアミノ酸、リシン正電荷をもつアミノ酸によって構成されている。アミノ末端から120残基は負に荷電したアミノ酸に富む配列で構成されている。X線構造解析では結晶が得られず、naturally unfolded proteinと考えられている。

ヒトタウ遺伝子は17番染色体長腕17q21に存在し16個のエクソンからなる。タウ蛋白はエクソン2、エクソン2と3、及びエクソン10の選択的スプライシングによってアミノ酸が352-441個からなる分子量の異なる6種類のアイソフォームを発現している(図1A)。タウのC末側には31または32個のアミノ酸からなるPGGGというモチーフを含む繰り返し配列が存在しリピート領域と呼ばれる。R1はQ244-K274、R2はV275-S305、R3はV306-Q336、R4はV337-N368で構成される。R2はエクソン10の配列に存在するため、R1、R2、R3、R4の4-リピートタウ(4R)とR1、R3、R4から構成される3リピートタウ(3R)が存在する。エクソン2と3がない0N3R、0N4R、エクソン2を持つ1N3R、1N4R、エクソン2と3を持つ2N3R、2N4Rと呼ばれる6種類のタウがヒトでは発現している。リピート部分を

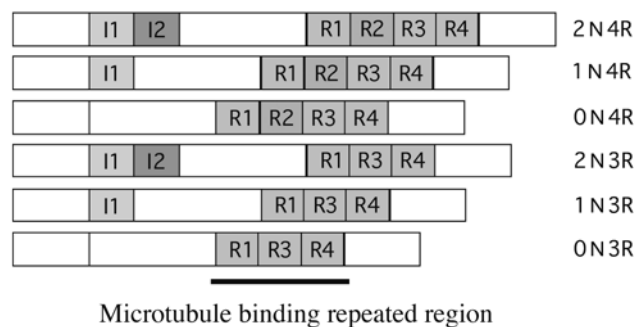


図1(A). タウの構造 タウはAlternative splicingによって6種類が存在する。N末部位でExon2, 3によって0N, 1N, 2Nと呼ばれる3種類が存在し、微小管結合部位にあるExon10によって4R, 3Rの2種類が存在する。

とは異なり、微小管結合能を保持している。発生段階の進行に伴って脱リン酸化酵素が活性化すると、胎児型のリン酸化タウは急速に減少する。

タウをリン酸化する酵素としては、Pro指向性のものとして、mitogen activated protein (MAP), glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β), cyclin-dependent kinases (CDK)として知られるcdc2やcdk5など、Pro指向性ではないものとしては、microtubule-affinity regulating kinase (MAPK), Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII)などが知られている。その他、FynなどのSrcキナーゼによるTyrのリン酸化も報告されている。

一方、タウの脱リン酸化に関わる酵素として、protein phosphatase (PP) 1, PP2A, PP2B, などの可能性が考えられているが、脳内では主にPP2Aがその役割を担っていると考えられており、実際にAD脳でその活性低下も報告されている⁶⁾。

PHF-tauに特異的なリン酸化部位としては、抗体AT100の認識部位(Thr212, Ser214)やSer422が知られている。特に、AT100認識部位はGSK3 β でリン酸化され得ることから、GSK3 β とADとの関連が強く示唆されている⁷⁾。一方、Ser422については、GSK3 β はリン酸化を行えない。ここをリン酸化する酵素の一つとして、c-Jun NH2-terminal kinase (JNK)の可能性が考えられている。JNKは、細胞ストレスや炎症因子、Abの添加などによって活性化する。また、ホスファターゼの阻害でSer422のリン酸化されたタウが増加することから、キナーゼのみならずホスファターゼの関与も示唆されている⁸⁾。

(2) 糖鎖修飾

O結合型糖鎖付加はよく見られる糖鎖修飾であり、Proに隣接したSerやThrにO-GlcNAcが付加されるというものである。タウもこの修飾を受けるが、糖鎖が付加される箇所はリン酸化部位より少ない。タウはこの修飾により、リン酸化されにくくなることが分かっている⁹⁾。さらにO-GlcNAc付加酵素であるOGTを前脳でノックアウトすると神経変性が観察された。アルツハイマー病脳では病態の進行に伴ってO-GlcNAcされたタウ量が減少していることが示された¹⁰⁾。一方で、AD脳においては、異常にリン酸化されたタウがN-glycosylationされており、PHF構造の維持に寄与していることがわかっている¹¹⁾。

(3) ユビキチン化

ユビキチンは、標的となるタンパク質のLys残基に共有結合で付加され、26Sプロテアソームによる分解シグナルとしての役割を担うことでよく知られている。神経原線維変化がユビキチンの抗体によっても免疫染色されることから、PHF-タウがユビキチン化を受けていることが明らかにされた¹²⁾。微小管結合領域に存在するLys254, 257, 311, 317がその標的部位である。AD脳由来のタウを用いた解析により、ユビキチン化を受けたタウの多くはモノユビ

キチン化されており、一部はポリユビキチン化されていることが明らかにされた。また、ここで見られたタウはN末端側が削られたものであることが明らかにされた¹⁴⁾。過剰にリン酸化を受けたタウはPHF-tauとして凝集し、その後N末端側が削られ、それらがユビキチン化を受けているものと考えられている。

タウのユビキチン化に関与するE3 ligaseとしては、the carboxyl terminus of heat-shock cognate 70-interacting protein (CHIP)が同定されている¹⁴⁻¹⁶⁾。我々のグループは、AD患者由来の脳でCHIPの量が上昇していること、またCHIPを欠くマウスでは不溶性タウが上昇することを確認した¹⁷⁾。

(4) ニトロ化

ニトロ化とは、チロシン残基の芳香環にニトロ基が共有結合的に付加されることである。NFT中にニトロ化されたタウが存在することが明らかにされており¹⁸⁾、ニトロ化によってタウの微小管との結合能が失われると考えられている¹⁹⁾。特に、Tyr29がニトロ化されたタウは深刻なAD脳に特異的に見つかっている。

アルツハイマー病とタウ病理

神経原線維変化は過剰にリン酸化したタウが凝集し線維化した細胞内沈着物である。アルツハイマー病における神経脱落部位では神経原線維変化が観られる。神経原線維変化を持つ神経細胞の数と脱落した神経細胞の数は正の相関があり、神経細胞の脱落は神経原線維変化形成の数倍の速度で引き起こされている²⁰⁾。このことは、神経細胞死と神経原線維変化形成が共通の機構で活性化されていることを示唆している。さらに、テトラサイクリンによって変異タウの発現を調節することの出来るマウスで神経原線維変化が形成される時期にタウ発現を減少すると神経細胞死と記憶障害の改善が観られたがタウ発現が減少した後も神経原線維変化は形成された²¹⁾。このことは神経原線維変化そのものには神経毒性は観られず線維化する以前のタウの状態に毒性と記憶障害の原因があると考えられた。

Braakらは神経原線維変化の出現する部位によって病期を6段階に分けている(図2)^{22,23)}。最初期に神経原線維変化は嗅内野に出現する。Braak stage Iでは神経原線維変化はまばらに存在するがStage IIになるとその数は増大する。Braak stage IIIになると、嗅内野II層では多数の神経原線維変化が観察されるようになる。この部分には神経原線維変化の終末像であるゴーストタンゲルが出現するようになる。海馬CA1領域はまだ多くの神経原線維変化は生じていない。Stage IVでは嗅内野に多数のゴーストタンゲルが観察されるようになる。海馬CA1では多数の神経原線維変化が出現し、CA4、鉤状回でも神経原線維変化が出現するようになる。この時期には扁桃体を含む辺縁系で多数の神経原線維変化が出現するようになる。Stage IIIおよびIVをlimbic(辺縁系)stageと呼んでいる。Stage V及び

VIでは海馬全領域で多数の神経原線維変化が観察されるようになり、辺縁系での神経原線維変化は進行し数の増大とghost tangleが出現するようになる。この時期の最も大きな特徴は新皮質にも多数の神経原線維変化が生じることである。この時期はisocortical (新皮質) stageと呼ばれる。このステージの神経原線維変化を示す患者は例外無く中等度から高度認知症を示す。BraakステージIII - IVでは神経原線維変化は大脳辺縁系に存在するが、記憶障害を主訴とする軽度認知症 (MCI) から中等度認知症 (MMSEスコア 12 - 26) を示す。BraakステージI, IIでは軽度認知症から非認知症 (MMSEスコア 28 - 30) を示す²⁴⁾。BraakステージI, IIの神経原線維変化を示す人は既に10代でみられ加齢とともに増大する。BraakステージIII, IVは50代から加齢とともに増大する。これらの事から考えるとMCIの状態から介入を始め、神経原線維変化の拡大を阻止する事によって認知症発症を遅延することが可能であるかもしれない。

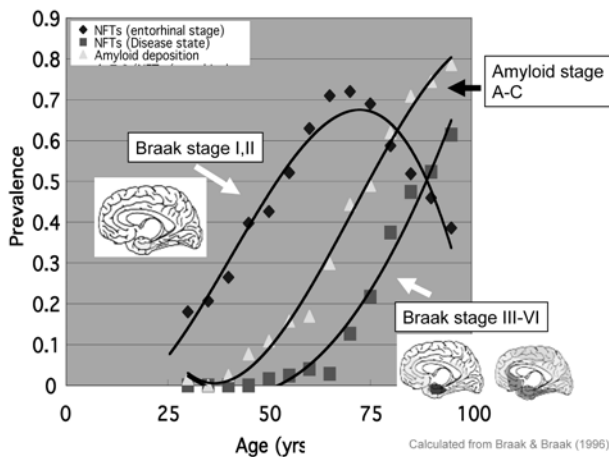


図 2. タウ病理の進展 Braakらによりタウ病理の進展は6期に分けられた。Braak stage I, IIはentorhinal stageと呼ばれ(グラフでは■)βアミロイド蓄積(グラフでは△)より前に蓄積が始まる。Braak stage III-IVでは大脳辺縁系から新皮質まで神経原線維変化が見られるようになったステージはβアミロイドが蓄積した後に観察されるようになる。縦軸は各年齢の剖検脳で観察された割合、横軸は年齢。

神経原線維変化形成機構

これまで神経原線維変化は電子顕微鏡観察から2本の細線維がヘリクス対を形成するPHFと呼ばれるタウ線維で形成されると考えられていた。一方、宮川らはPHFの極薄切片を作成し高倍率の電子顕微鏡を用いてPHFは顆粒状構造物で形成されていることを報告している^{26,27)}。その後試験管内でヘパリンなどのポリアニオンによってこれらのタウ線維を実験的に形成することが出来るようになったが、これまで細線維を見いだすことは出来なかった。神経原線維変化よりもむしろそれを形成する過程で神経細胞脱落やシナプス消失が起こるため、タウが線維化する前にもどのような凝集体を形成するかを知る必要があった。

前田らは試験管内でのタウ凝集過程をβシート構造に結

合し蛍光を発するチオフラビン(ThT)と溶液中で高解像度観察が可能な原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて観察を行った^{28,29)}。リコンビナントタウをヘパリンと混合しインキュベーションすると数時間のラグタイムを経てThTの増大が観察される。このラグタイムの間にAFMで観察される構造物は見出されない。しかし、非還元SDS-PAGEゲルで観察すると、タウ2量体はすでに存在しているがインキュベーションと共にタウ多量体(オリゴマー)が増大する。これらのサンプルを還元SDS-PAGEゲルを用いて観察するとタウオリゴマーの増大が観察されなくなることから、このタウオリゴマーは酸化ストレスによるCysのチオール基を介したジスルフィド結合が関与していることが示唆される。一方、細胞内は還元状態であること、更CysをAlaに置換したタウもラグタイムは長くなるもののThTの増大が観察されることからCysのタウオリゴマー形成への関与は十分明らかになっていない。

ThTが増大する時間帯では反応溶液中に顆粒状の構造物がAFMで観察される(図3)。この顆粒状タウオリゴマーはレーザー光散乱を用いた解析から約40個のタウ分子で構成されていることが示唆された。これらをまとめた図4に示すようにモノマータウは互いに重合し可溶性のタウオリゴマーを形成する。このタウオリゴマーがβシートを持つようになると顆粒状タウオリゴマーとなる。顆粒状タウオリゴマーが結合してタウ線維を形成する。タウオリゴマーを認識する抗体としてTOC1, T22が存在する。T22はAβ42オリゴマーをシードとしてタウオリゴマーを作成しこれを抗原として作成された抗体でモノマータウには反応せずダイマー以上のタウオリゴマーと反応性を示し、アルツハイマー病脳で増大が観察されている³⁰⁾。このタウオリゴマー抗体のエピトープは示されていないため、実際には何を認識しているのか不明である。TOC1抗体はリコンビナントタウを光化学的にクロスリンクさせたダイマーを抗原として作製された³¹⁾。抗体はダイマー以上のタウオリゴマーと反応をするが線維化タウとの反応は低い。エピトープは209-224番目のプロリンリッチ部位として知られるアミノ酸領域であった³²⁾。このことからタウがオリゴマーを形成するときこのエピトープ部位が抗原部位として出現する事が示唆される。

P301L変異を持つタウを発現するマウスの解析ではサルコシル不溶性タウ増大と神経脱落が観察されるが、神経原線維変化が見出せないこと、線維タウ、顆粒状タウオリゴマーはいずれもサルコシルに不溶性であることから顆粒状タウオリゴマーの増大が神経脱落に関与することを示唆している³³⁾。Mandelkowらは³⁴⁾タウのリピート部位を用いてタウ凝集体を作成し初代培養神経細胞またはヒトニューロプラストーマSHSY細胞に添加したところタウ線維、タウオリゴマーは細胞死を引き起こさなかったと報告している。タウオリゴマーによる細胞死機構は細胞内または細胞外で異なる機構によるのかもしれない。

タウ分泌とpropagation 2009年にM. Diamondらはモノ

マーではなく凝集したタウが細胞外から細胞内に入り細胞内で線維化する事を最初に報告した³⁵⁾。同年にGoedertらは³⁶⁾ pretangleまでの病理しか示さない野生型ヒトタウを発現するマウスに家族性前頭側頭葉認知症のP301S変異タウを発現し、神経原線維変化を示すマウスから得られた脳抽出液を注入すると神経原線維変化が見いだされたという2つの報告からヒト病理で神経原線維変化が嗅内野から新皮質へ広がり、病態が進行する理由を神経原線維変化が他の神経細胞に伝播することによると言う仮説が提唱された。プリオンの定義としては異なるものの「タウ病理のプリオン様伝播」として知られている。タウ病理の伝播機構としてヘパリンサルフェイトが関与していること³⁷⁾、凝集したリコンビナントタウでも引き起こされること、シナプスを介して伝播が起こる事がこれまで示されてきている。凝集したリコンビナントタウで伝播が観察される事から、3量体タウが伝播の最小単位となる、またはβシートを持った凝集体が必要である事がこれまでに示されている³⁸⁾。嗅内野にだけ変異タウを発現したマウスでは嗅内野に神経原線

維変化が出現した後、嗅内野2層の神経細胞の投射先である歯状回にも出現することからシナプスを介したタウ伝播が報告されている³⁹⁾。しかしながらBraakらが示すヒトのタウ病理進展は嗅内野から海馬CA1に神経原線維変化が起こり、歯状回では病態の後半で病理が見られる事になっている¹⁸⁾。近頃ではマイクログリアとエクソソームの関与⁴⁰⁾が報告されており、伝播機構の解明は単純ではないかもしれない。

タウが神経細胞から放出される事はYamadaらによって細胞間液中にタウが存在し、刺激によって増大することが明らかになっている。不思議な事に神経原線維変化が形成されている時期にはタウの放出は減少していた⁴¹⁾。脳脊髄液でタウが増大する事が神経変性のマーカーとして考えられておりCSF中のタウ増大が何を意味するのか今後の検討課題である。また、放出されたタウはモノマーであることが報告されており、タウの伝播機構を知る上においてもタウの放出は重要な課題だろう。

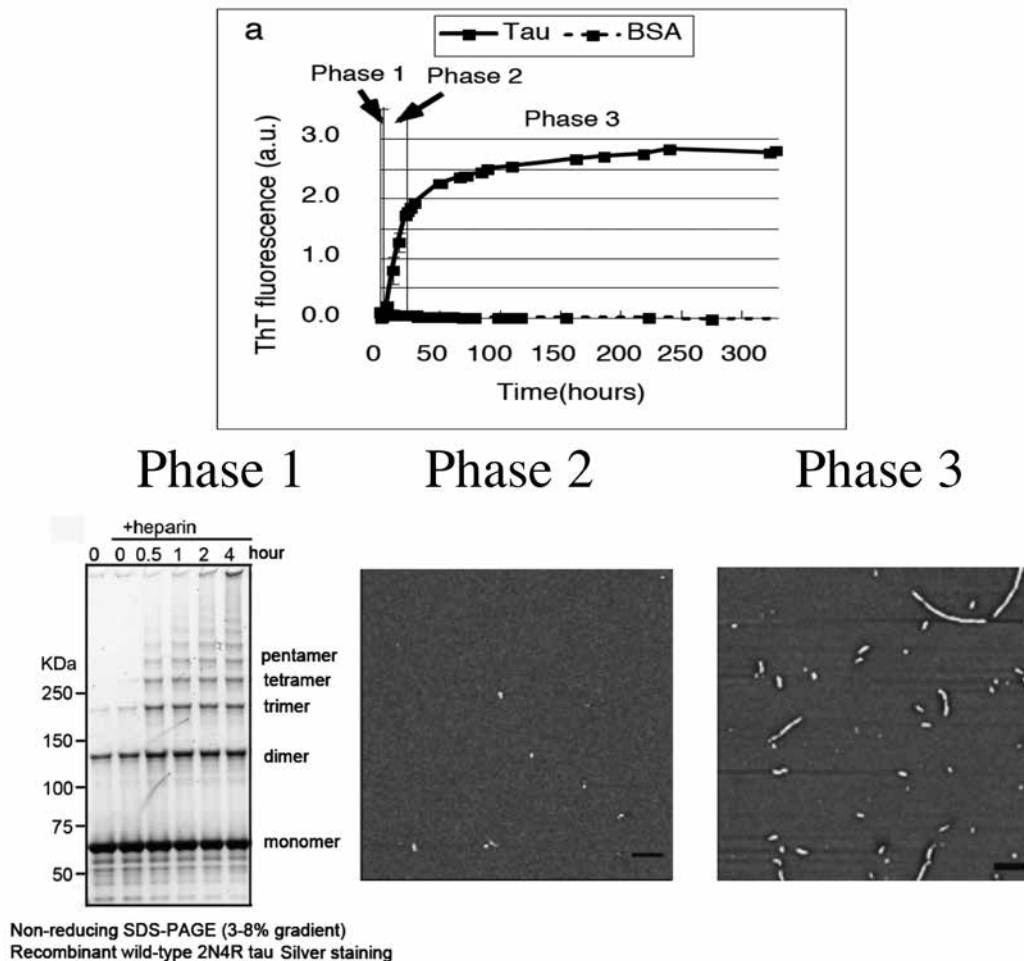


図3. タウ凝集実験 リコンビナントタウをヘパリンと混合してインキュベーションをするとタウはベータシート構造を持った凝集体を形成する。この凝集をβシートを認識するThT蛍光でモニターすると上図のようなカーブを描く。ThT蛍光が上がらない期間をPhase I, 上がり始めたところをPhase II, 上がってしまったところをPhase IIIと呼びさらに解析を行った。Phase IではAFMでも何も見えなかったがSDS-PAGEでタウのオリゴマー化がすぐに始まっていることが観察された。Phase IIでは丸い粒状の構造物が出現し、Phase IIIではそれに加えて線維が観察された。

タウ抗体療法

βアミロイド抗体療法は老人斑の減少を引き起こしたが、臨床試験では脳炎を引き起こす事から中止となった。神経原線維変化に注目が集まりタウの抗体療法が神経原線維変化を減少することが報告されている。この結果が報告された時抗体はどのように神経細胞内に取り込まれタウと会合するのかというのが主な議論であった。しかし、前項で述べたようにタウは細胞外にも存在し抗体によって細胞外タウが減少しタウ伝播が抑制されると考えられた。また一方でタウ抗体をFITCでラベルし頸動脈から注入したところモデルマウスの神経原線維変化と共存することが示され、抗体が脳血液関門を通過し細胞内で凝集したタウと結合すると考えられる⁴²⁾。現在、Novakがタウ凝集シードとなるタウ断片に対する抗体を作製しPhase I 安全性試験が終了したと言われている²²⁾。

タウPET

アミロイドPETの場合細胞外のβシート構造を持つ凝集体を標的にしてコンゴレッドやチオフラビンの誘導体から作製された。タウPETの場合細胞外のβアミロイドと親和性が低く細胞内でβシート構造を持つタウ凝集体を認識する化合物を検索する必要があり、その意味で難易度が高かった。この問題に対して日本のアカデミアである放射線医学総合研究所、東北大学からそれぞれ異なるタウPET薬剤が開発された^{43,44)}。この分野の進歩は速く、すでにBraakらが病理解剖学的に示した神経原線維変化の分布拡大を正確に患者脳から検出している。タウPETによるタウ

病理の広がりや認知機能低下の相関が示されている。今年の国際アルツハイマー病学会ではタウPET陽性部位と行動心理学の関係が示され、ヒト脳のコネクトーム解析結果と比較する事でヒトの脳機能が解明される可能性が出てきた。逆に言えば近い将来、タウPETを使わなくても行動心理検査で脳機能低下部位が推測できるようになると予想される。タウPETは患者脳のタウ病理変化を客観的に判断する事が可能であるため認知症治療薬開発において重要な技術となっている。

タウ凝集阻害薬

メチレンブルーにはタウ凝集阻害効果があり、これをヒトに投与すると認知機能低下が濃度依存的に抑制される事が学会発表され大きな注目を浴びた。動物モデルでの結果は効果ありとなしが混在した状況である。タウ凝集抑制のメカニズムとしてCysチオール基の酸化によるタンパク内でのジスルフィド結合を増大させるという報告がなされている⁴⁵⁾。臨床試験第2相の結果が昨年報告され若干有意に認知症進行抑制が観察されている⁴⁶⁾。一方、添田らは顆粒状タウオリゴマー形成を阻害する化合物を探索した結果、カテコール骨格を持つ化合物がタウのシステイン残基にあるチオール基と共有結合しタウのオリゴマー形成を阻害する事を見いだした。モデル動物にカテコール核を持つ化合物イソプロテレノールを経口投与したところタウ凝集の阻害と神経脱落抑制が観察されモデルマウスでの有効性が確認されている⁴⁷⁾。

タウ凝集そのものを標的にしないタウ凝集阻害薬が開発

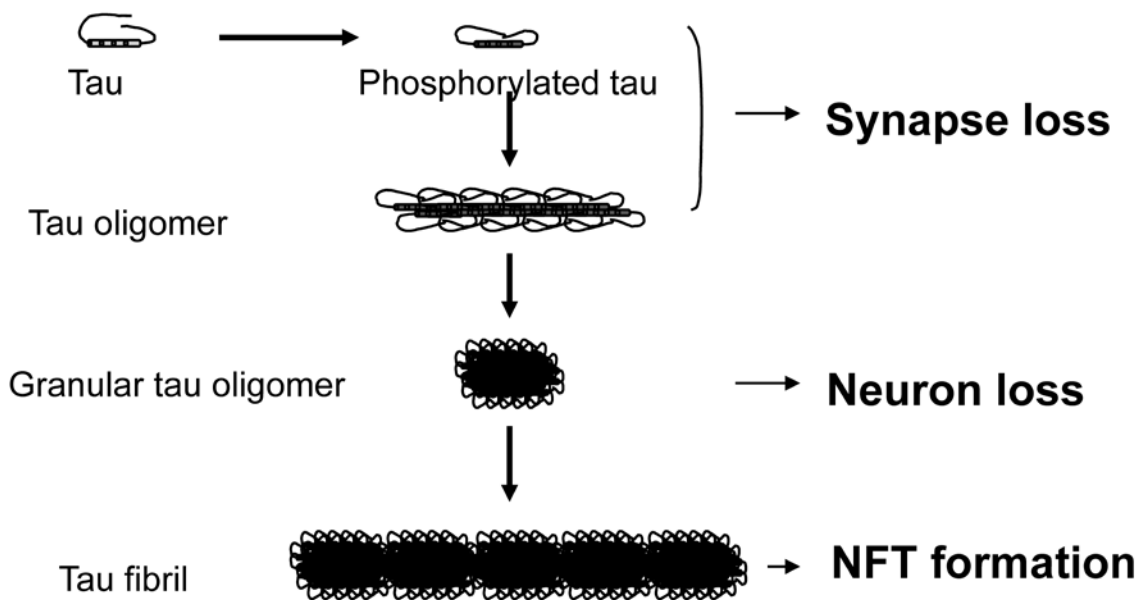


図4. タウ凝集機構と神経変性 図3の実験からタウ分子は重合し可溶性オリゴマーから顆粒状オリゴマー (granular tau oligomer)、タウ線維 (tau fibril) へと進行することが明らかになった。さらに動物モデルの観察からリン酸化タウの出現とシナプス消失が相関することが見出された。さらに顆粒状タウオリゴマーの増大は神経細胞死を引き起こすこと、また生存した細胞内では顆粒状タウオリゴマーが結合したタウ線維が神経原線維変化となることが示唆された。

されている。Ganらはタウのリジン174のアセチル化がアルツハイマー病の早期の変化である事を見いだした。リジン174がアセチル化したタウは分解が遅くなり認知機能低下を引き起こす事から、アセチル基転移酵素p300の阻害剤を見いだしこれをモデルマウスの投与したところ総タウ量の低下と海馬萎縮の抑制が観察されタウの抗アセチル化が治療標的になると報告している⁴⁸⁾。

参考文献

- 1) Weingarten MD, et al. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72(5): 1858-62.
- 2) Jaworski J, et al. Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron* 2009; 61(1): 85-100
- 3) Hirokawa N, et al. Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules. *J Cell Bio* 1988; 1107(4): 1449-59.
- 4) Gustke N, et al. Domains of tau protein and interactions with microtubules. *Biochemistry* 1994; 33(32): 9511-22.
- 5) Jeganathan S, et al. Proline-directed pseudo-phosphorylation at AT8 and PHF1 epitopes induces a compaction of the paperclip folding of Tau and generates a pathological (MC-1) conformation. *J Biol Chem* 2008; 283(46): 32066-76.
- 6) Matsuo ES, et al. 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(4): 989-1002.
- 7) Zheng-Fischhöfer Q, et al. Sequential phosphorylation of Tau by glycogen synthase kinase-3beta and protein kinase A at Thr212 and Ser214 generates the Alzheimer-specific epitope of antibody AT100 and requires a paired-helical-filament-like conformation. *Eur J Biochem* 1998; 252(3): 542-52.
- 8) Mailliot C, et al. Phosphorylation of specific sets of tau isoforms reflects different neurofibrillary degeneration processes. *FEBS Lett* 1998; 433(3): 201-4.
- 9) Liu F, et al. O-GlcNAcylation regulates phosphorylation of tau: a mechanism involved in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(29): 10804-9.
- 10) Wang AC, et al. Loss of O-GlcNAc glycosylation in forebrain excitatory neurons induces neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; pii: 201606899. [Epub ahead of print].
- 11) Wang JZ, et al. Glycosylation of microtubule-associated protein tau: an abnormal posttranslational modification in Alzheimer's disease. *Nat Med* 1996; 2(8): 871-5.
- 12) Mori H, et al. Ubiquitin is a component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Science* 1987; 235(4796): 1641-4.
- 13) Morishima-Kawashima M, et al. Ubiquitin is conjugated with amino-terminally processed tau in paired helical filaments. *Neuron* 1993; 10(6): 1151-60.
- 14) Petrucci L, et al. CHIP and Hsp70 regulate tau ubiquitination, degradation and aggregation. *Hum Mol Genet* 2004; 13(7): 703-14.
- 15) Shimura H, et al. CHIP-Hsc70 complex ubiquitinates phosphorylated tau and enhances cell survival. *J Biol Chem* 2004; 279(6): 4869-76.
- 16) Hatakeyama S, et al. U-box protein carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) mediates poly-ubiquitylation preferentially on four-repeat Tau and is involved in neurodegeneration of tauopathy. *J Neurochem* 2004; 91(2): 299-307.
- 17) Sahara N, et al. In vivo evidence of CHIP up-regulation attenuating tau aggregation. *J Neurochem* 2005; 94(5): 1254-63.
- 18) Horiguchi T, et al. Nitration of tau protein is linked to neurodegeneration in tauopathies. *Am J Pathol* 2003; 163(3): 1021-31.
- 19) Reynolds MR, et al. Tau nitration occurs at tyrosine 29 in the fibrillar lesions of Alzheimer's disease and other tauopathies. *J Neurosci* 2006; 26(42): 10636-45.
- 20) Gomez-Isla T, et al. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1997; 41(1): 17-24.
- 21) Santacruz K, et al. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 2005; 309(5733): 476-81.
- 22) Braak H, Braak E. Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 1996; 165: 3-12.
- 23) Braak H, et al. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol* 2011; 70(11): 960-9.
- 24) Jellinger KA. Clinicopathological analysis of dementia disorders in the elderly--an update. *J Alzheimers Dis* 2006; 9(3 Suppl): 61-70.
- 25) Katsuragi S, et al. Ultrastructure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease by means of tilt-stage electron microscopy. *Jpn J Psychiatry Neurol* 1991; 45(1): 91-4.
- 26) Miyakawa T, et al. Ultrastructure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1989; 57(4): 267-73.
- 27) Maeda S, et al. Granular tau oligomers as intermediates of tau filaments. *Biochemistry* 2007; 46(12): 3856-61.
- 28) Maeda S, et al. Increased levels of granular tau oligomers: an early sign of brain aging and Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 2006; 54(3): 197-201.

- 29) Lasagna-Reeves CA, et al Identification of oligomers at early stages of tau aggregation in Alzheimer's disease. *FASEB J* 2012; 26(5): 1946-59.
- 30) Patterson KR, et al. Characterization of prefibrillar Tau oligomers in vitro and in Alzheimer disease. *J Biol Chem* 2011; 286(26): 23063-76.
- 31) Ward SM, et al. TOC1: characterization of a selective oligomeric tau antibody. *J Alzheimers Dis* 2013; 37(3): 593-602.
- 32) Takashima A. Tauopathies and tau oligomers. *J Alzheimers Dis* 2013; 37(3): 565-8.
- 33) Kumar S, et al. Stages and conformations of the Tau repeat domain during aggregation and its effect on neuronal toxicity. *J Biol Chem* 2014; 289(29): 20318-32.
- 34) Frost B, et al. Propagation of tau misfolding from the outside to the inside of a cell. *J Biol Chem* 2009; 284(19): 12845-52.
- 35) Clavaguera F, et al. Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nat Cell Biol* 2009; 11(7): 909-13.
- 36) Holmes BB, et al. Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(33): E3138-47.
- 37) Falcon B, et al. Conformation determines the seeding potencies of native and recombinant Tau aggregates. *J Biol Chem* 2015; 290(2): 1049-65.
- 38) Calafate S, et al. Synaptic Contacts Enhance Cell-to-Cell Tau Pathology Propagation. *Cell Rep* 2015; 11(8): 1176-83.
- 39) Asai H, et al. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci* 2015; 18(11): 1584-93.
- 40) Yamada K, et al. In vivo microdialysis reveals age-dependent decrease of brain interstitial fluid tau levels in P301S human tau transgenic mice. *J Neurosci* 2011; 31(37):13110-7.
- 41) Boutajangout A, et al. Immunotherapy targeting pathological tau prevents cognitive decline in a new tangle mouse model. *J Neurosci* 2010; 30(49):16559-66.
- 42) Kontsekova E, et al. First-in-man tau vaccine targeting structural determinants essential for pathological tau-tau interaction reduces tau oligomerisation and neurofibrillary degeneration in an Alzheimer's disease model. *Alzheimers Res Ther* 2014; 6(4): 44.
- 43) Maruyama M, et al. Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. *Neuron* 2013; 79(6): 1094-108.
- 44) Okamura N, et al. Novel 18F-labeled arylquinoline derivatives for noninvasive imaging of tau pathology in Alzheimer disease. *J Nucl Med* 2013; 54(8): 1420-7.
- 45) Crowe A, et al. Aminothienopyridazines and methylene blue affect Tau fibrillization via cysteine oxidation. *J Biol Chem* 2013; 288(16): 11024-37.
- 46) Wischik CM, et al. Tau aggregation inhibitor therapy: an exploratory phase 2 study in mild or moderate Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2015; 44(2): 705-20.
- 47) Soeda Y, et al. Toxic tau oligomer formation blocked by capping of cysteine residues with 1,2-dihydroxybenzene groups. *Nat Commun* 2015; 6: 10216.
- 48) Min SW, et al. Critical role of acetylation in tau-mediated neurodegeneration and cognitive deficits. *Nat Med* 2015; 21(10): 1154-62.