

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DE GENES DE VULNERABILITE A LA SCHIZOPHRENIE : ETUDE DE REGIONS ET DE GENES CANDIDATS

BAUCHE Stéphanie

Soutenance le 4 juillet 2002

RESUME

La schizophrénie est une psychose grave qui touche des sujets jeunes et qui évolue vers une dissociation progressive de la personnalité. Les bases physiopathologiques du syndrome schizophrénique, cliniquement hétérogène, ne sont toujours pas élucidées. Les études de ségrégation ont montré que la transmission de la schizophrénie n'obéit pas à un modèle de transmission mendélienne. Il s'agit d'un syndrome à hérédité complexe dans lequel plusieurs gènes à effet mineur pourraient agir avec des facteurs environnementaux.

Afin de mettre en évidence des facteurs de prédisposition à la schizophrénie, (i) j'ai participé à une étude multicentrique visant à confirmer les résultats des premiers criblage du génome de familles de schizophrènes. Dans le cadre de l'anticipation, (ii) j'ai participé à l'étude de gènes candidats KCNN3 (hSKCa3) et PPP2R2B (SCA12) et (iii) j'ai recherché un allongement anormal de polyalanines dans les protéines lymphoblastocytaires de patients schizophrènes présentant un phénomène d'anticipation.

Aucun locus majeur de susceptibilité n'a été mis en évidence sur le chromosome 1q que ce soit dans les 43 familles de l'île de la Réunion analysées ou dans l'ensemble de familles de l'étude muticentrique. Par ailleurs, ni le gène KCNN3 ni le gène PPP2R2B ne sont impliqués dans la prédisposition à la schizophrénie en tant que gènes majeurs dans la population d'Afrique du Sud. Une protéine candidate contenant un allongement de polyalanine est décelée dans une famille de schizophrènes présentant le phénomène d'anticipation. Cette étude encore préliminaire, sera poursuivie en incluant l'ensemble des familles présentant une anticipation.

Mots clés : schizophrénie, chromosome 1q, KCNN3, PPP2R2B, polyalanines.

Sommaire

A <i>Introduction</i>	5
1) <i>Définition de la schizophrénie</i>	5
2) <i>La composante génétique de la schizophrénie</i>	6

3) <i>Le mode de transmission de la schizophrénie</i>	7
4) <i>L'utilisation de la génétique moléculaire dans l'identification de gènes de susceptibilité à la schizophrénie</i>	8
a/ <i>Outils moléculaires disponibles</i>	8
(i) Développement des cartes génétiques	9
(ii) Premiers résultats du séquençage du génome humain	9
(iii) Identification de gènes responsables de maladies génétiques	10
b/ <i>Méthode d'analyse statistique</i>	10
(i) Etudes de liaison :	11
" Les méthodes paramétriques : exemple de la méthode des lod score	11
" Les méthodes non-paramétriques :	12
(ii) Etudes d'association :	14
c/ <i>Criblages du génome de familles de schizophrènes</i>	15
d/ <i>Etudes de régions candidates identifiées par les premiers criblages du génome humain</i>	17
e/ <i>Etudes de gènes candidats</i>	18
* L'anticipation et la schizophrénie	19

Abréviations

ASP	A ffected S ib P air
BSA	B ovine S erum A lbumine
C.finale	C oncentration finale
cM	centiM organ (unité de mesure de la carte génétique : 1 cM correspond à 1% de recombinaison)
ddl	degré de liberté
dNTP	D esoxy N T ri- P hosphate (avec N : bases A , T , G , C)
DTT	D i T hio T hréitol
EDTA	Tétraacétate d'éthylènediamine
Kb	K ilobase (mille paires de bases)
ml	m icrolitre (10^{-6} litre)
mM	M illi M olaire (10^{-3} molaire)
MgCl₂	Chlorure de magnésium
MLS	M aximized L od S core
ng	n anogramme (10^{-9} gramme)
NPL	N on P arametric I od score
pb	p aire de b ases
PCR	P olymerase C hain R eaction (réaction de polymérisation en chaîne)
PAGE	P olyacrylamide G el E lectrophoresis
SDS	S odium D odécyl S ulfate
SDS-PAGE	G el d'électrophorèse en condition dénaturante

TDT	Transmission Disequilibrium Test
Tris	Hydroxyméthyl aminométhane
Zmax	Valeur maximale du lod score, par extension cette nomenclature est également utilisée pour les lods scores obtenus par analyse de liaison non-paramétrique



Introduction

1)Définition de la schizophrénie

La schizophrénie est une psychose présentant divers aspects cliniques (Schultz et coll., 1999). Elle est caractérisée par un désordre de la pensée ainsi que par des réponses émotionnelles inappropriées (Andreasen et coll., 1993, 1995). La maladie apparaît en général au cours de l'adolescence ou de la post-adolescence sans qu'il y ait eu dans la majorité des cas d'antécédent psychiatrique. Des anomalies lors des nombreuses transformations hormonales et biochimiques du cerveau au cours de la puberté ainsi que les sollicitations pour acquérir une indépendance socio-professionnelle pourraient expliquer l'apparition de la schizophrénie chez le jeune adulte. La sévérité des symptômes varie d'une personne à l'autre. L'évolution de la maladie comprend des épisodes aigus avec aggravation des symptômes et des rémissions où les symptômes persistent le plus souvent à minima. La plupart du temps, les personnes de l'entourage du malade se rendent compte d'un bouleversement qui se caractérise par un changement du comportement, une baisse de performance dans le travail et une détérioration dans les relations sociales. Les schizophrènes s'isolent du monde extérieur. Ils peuvent être sujet à des délires et, tenir des propos en dehors de la réalité. Par exemple, ils se croient parfois espionnés et sont persuadés que des personnes complotent contre eux. Ils se prennent parfois pour un Messie et sont persuadés de détenir des pouvoirs et des capacités hors du commun. Souvent ce délire s'accompagne d'hallucinations auditives : ils entendent des voix. Ils peuvent également présenter des troubles du cours de la pensée, s'interrompre et repartir sur une autre idée.

En dehors des épisodes aigus le comportement des malades peut apparaître normal ou plus ou moins déficitaire (repli sur soi, bizarrerie de comportement...). La difficulté à discerner si un événement se situe dans la réalité ou s'ils sont sujets à des déformations de leurs perceptions reste un problème inhérent à ces malades. Devant la complexité du diagnostic des différents symptômes, plusieurs classifications internationales ont successivement été établies. Récemment les critères diagnostiques de l'Association de Psychiatrie Américaine (APA (The American Psychiatric Association), 1994. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) classe les schizophrénies en plusieurs sous-types cliniques. On parlera (i) de schizophrénie paranoïde pour les patients où prédomine un délire polymorphe de persécution avec des hallucinations, (ii) de schizophrénie désorganisée pour ceux où prédominent des propos incohérents, (iii) de schizophrénie déficitaire pour ceux où les symptômes négatifs prédominent (repli sur soi, isolement). La schizophrénie est décrite comme un ensemble hétérogène de symptômes. Le syndrome peut se manifester par un trouble passant relativement inaperçu jusqu'à une forme très sévère. La schizophrénie affecte autant les hommes que les femmes. Elle est généralement plus grave chez les hommes que chez les femmes.

La recherche génétique dans le secteur de la psychopathologie a tout particulièrement mis l'accent sur la schizophrénie. Elle affecte plus de 60 millions de personnes dans le monde, sa fréquence est en effet estimée à 1% (Lindström et coll., 1997). La recherche sur la schizophrénie représente donc un enjeu primordial en santé publique (O'Donovan et coll., 1996).

2) La composante génétique de la schizophrénie

Dans un premier temps, les études d'agrégation familiale ont montré un nombre plus important d'apparentés atteints dans certaines familles de schizophrènes en comparaison avec la population générale (McGue and Gottesman, 1991). Ces études rapportent le chiffre de 8 à 18% de risque de développer la maladie pour un enfant ayant un de ses parents atteint. Si les deux parents souffrent de schizophrénie, ce pourcentage s'élève de 15 à 50 % (Shields and Gottesman, 1977).

Des études de jumeaux et d'adoption ont été conduites pour déterminer la part des facteurs génétiques et celle des facteurs environnementaux dans le déterminisme de la schizophrénie.

Les études de jumeaux ont montré une concordance de 48 % pour les jumeaux monozygotes (vrais jumeaux) et de 17 % pour les jumeaux dizygotes (faux jumeaux) (Gottesman et coll., 1991). Ceci signifie qu'environ une fois sur deux des jumeaux monozygotes, génétiquement identiques, diffèrent pour la pathologie (c'est-à-dire que si l'un des jumeaux est atteint, le deuxième à 50 % de risque de l'être).

Une autre façon de faire la part entre une origine environnementale ou génétique a été donnée par les études d'adoption qui étudient des individus génétiquement prédisposés ou non à la schizophrénie et qui ne partagent pas le même environnement familial. Le but de ces études est de déterminer la

contribution des parents adoptifs atteints ou non au développement de la schizophrénie chez l'enfant adopté prédisposé ou non. Ces études montrent que le risque de développer une schizophrénie est pratiquement le même pour des enfants de parents schizophrènes, qu'ils soient élevés par leurs parents biologiques ou adoptés à la naissance et donc élevés par des parents adoptifs. Pearson a développé une méthode statistique : la corrélation, qui traduit les ressemblances familiales en caractères mesurables. En utilisant cette méthode, Magnello démontre qu'il existe une corrélation entre le risque de développer la schizophrénie et le degré de parenté entre l'enfant adopté et le cas familial de schizophrénie (Magnello et coll., 1998).

Les résultats des études d'adoption sont en accord avec ceux des études de jumeaux. Ils mettent l'accent sur la contribution des gènes dans la prédisposition à la schizophrénie. En utilisant les différentes classifications des schizophrénies qui tentent de regrouper les symptômes, les études d'adoption ont montré que la maladie était plus fréquemment héritée sous sa forme la plus grave (Gottesman et coll., 1991).

L'ensemble des études d'agrégation familiale, de jumeaux et d'adoption montre l'existence d'une composante génétique dans la schizophrénie, les facteurs environnementaux qu'ils soient d'ordre biologique ou d'ordre socio-culturel contribuant au déclenchement de ce syndrome (Kendler et coll., 1994). La schizophrénie est un syndrome multifactoriel.

3) Le mode de transmission de la schizophrénie

Le mode de transmission de la schizophrénie n'est pas de type mendélien classique, c'est-à-dire ni autosomique dominant, ni récessif ni lié au chromosome X. Les hypothèses de transmission de la schizophrénie selon un mode autosomique dominant et récessif sont à exclure. On devrait trouver 50 % des enfants atteints en cas de transmission autosomique dominante et 25 % en cas de transmission récessive si les deux parents sont porteurs du gène malade ; ce qui n'est pas le cas pour la schizophrénie. L'hypothèse de transmission liée au chromosome X est également à exclure car on retrouve autant de garçons atteints que de filles atteintes dans les familles de schizophrènes.

Les études d'agrégation sont plus en faveur de l'implication de plusieurs gènes dans le syndrome schizophrénique. De nombreux modèles impliquant plusieurs gènes ont été proposés. La transmission de ce syndrome est compatible avec un modèle multifactoriel qui combinerait les effets de plusieurs gènes ayant chacun un rôle équivalent mineur (Gottesman et coll., 1987). L'hypothèse de ce modèle

polygénique est en accord avec les résultats des analyses de ségrégation. Dans ce modèle, l'hérédité est estimée à 80 % environ, les 20% restant étant dus à l'impact des facteurs environnementaux, ces derniers constituent donc une part non négligeable dans le développement du syndrome.

Cependant ces études ne permettent pas de déterminer le nombre de gènes mineurs, ni leur mode de fonctionnement. Neel (1972), développe l'idée que l'un des gènes impliqués a un poids plus important (gène majeur) et combine ses effets à ceux de poids moins important (gènes mineurs) pour déclencher la personnalité schizotypique, la schizophrénie étant déclenchée par les facteurs environnementaux. L'existence d'un gène majeur unique ne peut cependant pas être exclue dans certaines familles (Gottesman et coll., 1987).

La schizophrénie est un syndrome multifactoriel à hérédité complexe. L'utilisation d'outils toujours plus performants en biologie moléculaire permet désormais de rechercher des gènes de prédisposition à la schizophrénie. Grâce au développement important d'outils d'exploration du génome, de nombreux marqueurs génétiques polymorphes ont été identifiés et sont utilisés de façon quotidienne dans l'identification d'association entre un marqueur et une maladie. Plus de 5000 de ces marqueurs ont été identifiés, recensés et ordonnés les uns par rapport aux autres par le Génethon (Weissenbach et coll., 1992 ; Dib et coll., 1996). Il est actuellement possible de mettre en place des technologies permettant d'analyser de manière fiable un très grand nombre de génotypes à partir de l'ADN génomique d'individus atteints et de leur familles.

4) L'utilisation de la génétique moléculaire dans l'identification de gènes de susceptibilité à la schizophrénie

a/ Outils moléculaires disponibles

(i) Développement des cartes génétiques

En raison de l'importante complexité du génome humain, son étude nécessite l'établissement de cartes génétiques permettant de se repérer le long des chromosomes grâce à des marqueurs polymorphes composés de fragments d'ADN isolés à partir du génome. Sturtevant et Morgan, en 1913, établissent la théorie chromosomique de l'hérédité, montrant que deux marqueurs localisés sur un même chromosome sont généralement transmis ensemble à la génération suivante.

A partir de 1970, une collection de marqueurs utilisables en génétique humaine s'est développée sous la forme de fragments d'ADN génomique définissant chacun un locus unique dans le génome. Ces fragments d'ADN ont été identifiés en fonction de leur polymorphisme qui se manifeste par des variations nucléotidiques au sein de la même séquence. Chaque variation définit un allèle (voir définition en annexe 1).

En 1992, le professeur Jean Weissenbach établit la première carte génétique humaine au Généthon, fondée sur le développement de marqueurs de type microsatellites caractérisés par des répétitions de dinucléotides supérieures à 12 répétitions pour la plupart (encore appelés CA repeat). Depuis, plusieurs cartes génétiques sont disponibles (carte de Marshfield, site web : <http://www.Marshfield.com>) ainsi que des cartes génétiques intégrées (cartes intégrées du généthon/CEPH du site web : <http://www.genethon.fr>).

(ii) Premiers résultats du séquençage du génome humain

Le “ Projet Génome Humain ” a démarré au début des années 90. Ce programme international a pour but de déterminer la séquence des 3,5 milliards de nucléotides des 23 paires de chromosomes constituant la double hélice d'ADN. Le séquençage des grandes molécules d'ADN comme un chromosome commence par une étape cartographique consistant à reconstituer l'ordre des fragments qui proviennent de la molécule qui compose la carte physique. La séquence du génome humain donne une estimation d'environ 30 000 gènes (Deloukas et coll., 1998). La mise en évidence de nouvelles variations de séquences entre les ADN des différents individus permet d'établir des “ empreintes génétiques ”. On définit une empreinte génétique avec un large échantillon de marqueurs choisis en fonction non seulement de leur spécificité mais aussi en fonction de leur polymorphisme (polymorphisme défini par des variations de séquences). Chacune de ces variations constitue les

différents allèles du marqueur.

En 1996, les responsables des centres nationaux d'étude du génome ont procédé au “ partage ” du génome afin de répartir son séquençage. Dès 1998, la France débute le séquençage du chromosome 14 qui sera entièrement assuré par le Génoscope dans la génopole d'Evry.

Le 15 Mars 1999, les instituts nationaux de la santé américaine (National Institute of Health (NIH)) ont annoncé que le projet international du décryptage du génome humain avait achevé avec succès sa phase d'essai et que le financement du séquençage de l'ADN à grande échelle était décidé.

Au 31 Décembre 2001, 63 % de la séquence du génome était complètement identifiée avec encore 34,8 % partiellement connue et 2,2 % toujours inconnue. On estime que la séquence la entière du génome humain sera connue en 2003, mais les résultats obtenus à ce jour permettent d'espérer de l'atteindre bien plus tôt.

Plusieurs milliers de gènes responsables de maladies génétiques complexes pourront être trouvés plus rapidement grâce à la séquence du génome humain.

(iii) Identification de gènes responsables de maladies génétiques

En 1999, 487 gènes de maladies avaient déjà été localisés dont 77 identifiés avec l'aide de l'Association Française pour la Myopathie (AFM) et/ou du Généthon. Ces gènes étaient en majorité ceux identifiés dans des maladies mendéliennes classiques. Dans un premier temps, le criblage du génome de familles de malades permet de définir des intervalles du génome dans lesquels se trouverait un gène responsable de la maladie étudiée. Tous les gènes localisés dans cet intervalle pourront alors être séquencés de façon systématique.

b/ Méthode d'analyse statistique

(i) Etudes de liaison :

Les études de liaison permettent statistiquement d'identifier des régions candidates lors d'un criblage du génome.

Ces études permettent de suivre la transmission des marqueurs d'une génération à l'autre dans des familles de patients, en confrontant les résultats à la transmission apparente de la pathologie. L'analyse de liaison génétique (ou linkage) teste la co-ségrégation entre un (ou plusieurs) marqueur(s) et un trait de la maladie. Elle conduit à la localisation d'un gène dans une région chromosomique, première étape vers son identification.

Plus un marqueur est proche du gène " malade ", plus la probabilité de les séparer lors des étapes de la réplication de l'ADN (recombinaison ou crossing-over) sera plus faible que celle de les hériter ensemble.

Plusieurs méthodes d'analyse permettent d'évaluer l'hypothèse d'une liaison génétique (Linkage) entre des marqueurs polymorphes de l'ADN et un gène putatif participant à l'étiologie de la maladie, qu'on suppose localisé au voisinage des marqueurs étudiés.

.. Les méthodes paramétriques : exemple de la méthode des lod score

La méthode des lods-scores est celle qui est la plus utilisée pour l'analyse de liaison paramétrique (Morton, 1955). Cette méthode est un rapport de vraisemblance entre l'hypothèse d'une liaison et celle d'une absence de liaison. Elle permet théoriquement d'estimer les distances génétiques (en centimorgan, voir abréviation) entre le marqueur et le gène putatif. Toutefois, cette méthode est extrêmement dépendante du modèle de transmission utilisé (notamment de la valeur de la pénétrance et de la fréquence du gène morbide qui sont inconnues).

$$\log \frac{\text{Probabilité de n'avoir aucun recombinant (0 \%)} }{\text{Probabilité d'avoir la moitié de recombinants (50 \%)} } = Z$$

Le seuil de significativité (existence d'une liaison génétique significative entre le marqueur et la maladie) plutôt qu'un résultat dû au hasard est obtenu pour un lod score Z_{\max} supérieur ou égale à +3. De même, un résultat de Z_{\max} inférieur ou égale à -2 exclut la liaison pour ce marqueur. Lorsque le résultat est compris entre +3 et -2, on ne peut pas conclure sur l'existence d'une liaison et il faut donc augmenter la taille de l'échantillon ou tester d'autres populations.

On peut noter que très peu de lods scores atteignent ces seuils, ils ne présentent alors que des preuves éventuelles de liaison. La taille des échantillons, ainsi que l'homogénéité phénotypique sont des paramètres cruciaux à contrôler. La méthode des lod scores peut s'appliquer pour tester la recombinaison entre un marqueur et le locus morbide (méthode deux points). Elle peut également s'appliquer pour tester la recombinaison entre plusieurs marqueurs liés et le locus morbide. Dans ce dernier cas, on parle alors de ségrégation d'un haplotype avec la pathologie qui est étudiée. Ce type d'analyse est qualifié de multipoints par opposition aux analyses deux points. Il existe également des tests d'hétérogénéité qui testent à la fois la liaison génétique et l'homogénéité génétique de

l'échantillon de familles.

L'application de la méthode du lod score à la schizophrénie possède plusieurs limites. Cette méthode nécessite de connaître la mode de transmission de la maladie (autosomique ou lié au sexe, dominant ou récessif), sa fréquence, le taux de pénétrance du gène (le pourcentage de sujets porteurs d'une mutation du gène de la maladie qui exprime cette pathologie) et le taux de phénocopies. Cette méthode est adaptée pour la recherche de gènes majeurs, ce qui n'est actuellement pas démontré dans la schizophrénie.

“ Les méthodes non-paramétriques :

Diverses méthodes d'analyse de liaison non-paramétrique évaluent s'il existe un excès d'allèles partagés au sein d'une même fratrie (ressemblance par état ou ressemblance par descendance selon les méthodes) ou dans une même famille. En appliquant ces méthodes aux maladies à hérédité complexe, pour obtenir une puissance statistique suffisante, il est important d'analyser un très grand échantillon de familles, la puissance relative de ce calcul étant faible. L'estimation du nombre de familles à analyser avec cette méthode est de l'ordre de 500 à 1000 pour les maladies à hérédité complexe (Krugliak et coll., 1996). La réduction de la taille de l'échantillon est cependant possible si l'on se place dans une population génétiquement isolée où l'on peut estimer que l'hétérogénéité de la maladie est réduite.

Méthode des paires de germains atteints

La méthode de paires de germains atteints est la plus utilisée des analyses non-paramétriques. Elle présente en effet l'avantage de ne pas avoir à tenir compte des sujets non malades pour lesquels il est impossible de savoir s'ils possèdent ou non le gène morbide ou s'ils le possèdent sans l'exprimer (pénétrance nulle pour les non-atteints ou incomplète pour le spectre de la schizophrénie). Toutefois, cette méthode est moins puissante que la méthode du lod score lorsque le mode de transmission est

connu.

Elle présente plusieurs avantages par rapport à l'étude de liaison non paramétrique car elle ne nécessite pas de connaître les paramètres de transmission de la maladie (en particulier le taux de pénétrance, la fréquence du gène et le taux de phénocopies).

Si la fréquence de partage (supérieure à 50 %) est plus élevée que le taux prédit (50 %) par une ségrégation au hasard des marqueurs utilisés, les régions chromosomiques en question sont alors suspectées (régions candidates). Cette méthode est moins puissante que le lod score, mais elle permet dans un premier temps de pouvoir réduire l'intervalle d'étude lorsqu'on ignore totalement la localisation génétique de la maladie.

Calcul du lod score maximal (MLS)

La méthode des paires de germains atteints peut être étendue à tous les types de paires d'apparentés comportant au moins un atteint. Les allèles identifiés par descendance (Identity By Descent : IBD) peuvent être recherchés au sein de ces paires de germains atteints. Si l'IBD ne peut être déterminée par manque d'informativité du marqueur ou si les paires de germains atteints ne sont pas génotypés, Risch (1990) propose de calculer un lod-score non paramétrique $T(Z)$ puis de trouver la valeur du vecteur Z appelé " Maximum Likelihood Estimate " ou MLE pour laquelle $T(Z)$ soit maximal ($T(Z)$ maximal : Maximal Lod Score ou MLS). Holmans (1993), démontre que les contraintes de Risch sur les valeurs de Z sont insuffisantes et qu'il faut restreindre la recherche du MLS aux valeurs mathématiques possibles de Z afin d'augmenter la puissance du test. C'est la méthode du triangle des possibles car les valeurs possibles de Z sont inscrites dans un triangle.

Méthode du lod score non-paramétrique

Une autre méthode de liaison non paramétrique baptisée NPL (Non-Parametric Lod score) est également une extension de la méthode des paires de germains atteints. Elle consiste à déterminer les allèles identifiés par descendance entre tous les atteints d'une famille; le NPL permet d'accorder

plus d'importance à la transmission d'un même allèle à plusieurs apparentés atteints qu'à la transmission d'un certain allèle à une paire de germains atteints. Les NPL obtenus pour chaque famille sont pondérés et additionnés pour un marqueur donné.

Le programme GENEHUNTER 2.0 permet d'analyser la transmission des "allèles critiques" dans des familles de schizophrènes.

Ce logiciel est à la fois utilisé pour les analyses non-paramétriques du MLS (Maximum Lod Score) et du NPL dans des familles à hérédité complexe.

(ii) Etudes d'association :

Les études d'association permettent de comparer les distributions des allèles ou des génotypes pour un marqueur donné entre des schizophrènes et des témoins de la même ethnie. Lorsque la fréquence est plus élevée pour l'un des allèles étudiés chez les atteints, cela suggère que le marqueur étudié pourrait participer à la prédisposition de la pathologie. Cependant la différence de distribution entre les atteints et les témoins ne pourra être observée que si la distance entre le locus marqueur et le locus pathologique est faible (séparation d'environ 1 cM).

Les études d'association peuvent être utilisées pour évaluer la contribution d'un polymorphisme génétique donné dans les gènes candidats qui peuvent influencer le fonctionnement ou l'expression de la molécule étudiée.

Il existe principalement trois types d'analyse d'association : les études cas-témoins, les études de liaison et les autres méthodes telle que le TDT (Transmission Disequilibrium Test).

Les études cas-témoins comparent par des méthodes statistiques classiques tel que le test du Chi 2, les distributions génotypiques et/ou alléliques des locus considérés entre les individus atteints et les témoins.

Le déséquilibre de liaison repose sur la coségrégation de deux loci marqueurs sur un même chromosome, sachant qu'il peut exister une association plus fréquente entre les allèles de chacun des haplotypes (loci).

Le déséquilibre de liaison évolue d'une génération à l'autre sous l'effet des recombinaisons génétiques (crossing-over) (Feingold et coll., 1980).

D'autres méthodes, comme le TDT (Transmission Disequilibrium Test) est un test de liaison en présence d'association. Du fait de la difficulté de détenir une population témoin adéquate, il repose sur la transmission d'allèles d'un parent hétérozygote à son enfant atteint. Sous l'hypothèse d'absence de liaison et d'association, chacun des deux allèles du parent sera transmis de façon identique.

Au cours de ces dix dernières années, la génétique moléculaire a bénéficié du développement de nombreuses technologies comme la cartographie du génome qui a permis la localisation chromosomique de multiples gènes dans un premier temps et ensuite leur clonage. Les trois principales stratégies pour mettre en évidence des gènes de prédisposition dans la schizophrénie sont :

- 1- le criblage systématique du génome humain à partir de l'ADN de familles de schizophrènes*
- 2- l'étude de gènes candidats dans des familles de schizophrènes ou dans des cas sporadiques et*
- 3- le criblage des différentes expressions de cDNA de tissus de cerveaux de schizophrènes ou dans des tissus de modèles animaux avec des puces à ARN.*

c/ Criblages du génome de familles de schizophrènes

Plus de 20 criblages du génome de familles de schizophrènes ont été réalisés. Aucun d'entre eux ne détecte de gène majeur, mais l'ensemble des résultats montre l'existence de plusieurs régions candidates pouvant contenir un locus de susceptibilité.

En utilisant les seuils “ suggestifs ” et “ significatifs ” définis par Lander et Kruglyak pour les maladies à hérédité complexe, des régions significatives et suggestives ont été montrées. On trouvera ci-dessous, criblage par criblage, les principaux résultats de ces analyses.

L'ensemble de ces résultats suggère des régions de susceptibilité sur les chromosomes 1q, 6p et 6q, 8p, 10p, 13q et 22q et à moindre échelle sur les chromosomes 2q et 18p. Certaines régions sont communes aux troubles bipolaires et à la schizophrénie sur les chromosomes 1q, 18p et 22q (Blackwood et coll., 2001 ; Mors et coll., 1997 ; Saleem et coll., 2001).

[Les résultats les plus significatifs sont obtenus pour le chromosome 1q21-22 (164,1 à 175,6 cM) en criblant 22 familles informatives du Canada d'origine Celtique ou Germanique avec un lod score classique de 6.5 (Brzustowicz et coll., 2000). Ekelund et coll. (2001) montrent également dans l'isolat de Finlande un locus de susceptibilité sur le chromosome 1 à 30 cM plus centromérique que le locus montré par Brzustowicz et coll.

Un autre résultat significatif a été montré par Blouin et coll. (1998) sur le chromosome 13q32 (à 84,9 cM) selon les critères de Lander et Kruglyak. Le criblage du génome des familles de ce même groupe montre également des locus suggestifs sur les chromosomes 8 en p21 (à 50,1 cM) et 22 en q11 (à 32,9 cM).

[Les autres principaux criblages du génome de familles de schizophrènes sont les suivants :

Le consortium National Institute of Mental Illness (NIMH), en criblant le génome de familles américaines d'origine européennes (Caucasiens) (Faraone et coll., 1998) trouve une région d'intérêt sur le chromosome 10 en 10p (à 48,9 cM). En parallèle, un second consortium s'est mis en place pour cribler le génome de 30 familles de schizophrènes afro-américains (Kaufmann et coll., 1998). Des liaisons suggestives ont été montrées sur les chromosomes 6q, 8p, 9p et 15q.

[Coon et coll. (1994) montrent une liaison suggestive sur le chromosome 4 (à 58 cM sur la carte de

Marshfield) et sur le chromosome 22 (à 47,3 cM) dans une population d'Europe de l'Est et d'origine Espagnole.

[Moises et coll. (1995), dans un consortium international (Australie, Canada, Angleterre, Italie, Scotland, Suède, Taiwan et les Etats-unis) montrent des régions de susceptibilité sur les chromosomes 6 (à 49,5 cM), 9 (à 70,3 cM) et 20 (à 48 cM).

[Levinson et coll. (1998) en étudiant des familles australiennes et américaines (72 % de caucasiens et 21 % d'Afro-américains) montrent des régions suggestives sur les chromosomes 2 en 2q (à 125 cM) et 10 en 10p (à 125,4 cM).

[Shaw et coll. (1998), dans un groupe international de familles caucasiennes des Etats-Unis, de Grande-Bretagne, d'Irlande, d'Italie du nord et de Belgique décrivent de nombreuses régions possédant une association possible avec le syndrome schizophrénique sur le chromosome 1 (à 200,3 cM), sur le chromosome 2 (à 77,9 cM), sur le chromosome 4 (à 88,4 cM), sur le chromosome 5 (à 11,8 cM), sur le chromosome 10 (à 117,4 cM), sur le chromosome 11 (à 85,5 cM), sur le chromosome 12 (à 61,3 cM), sur le chromosome 13 (à 26,9, 63,9 et 102,7 cM respectivement), sur le chromosome 14 (à 68,6 cM), sur le chromosome 16 (à 85,9 cM) et sur le chromosome 22 (à 45,8 cM).

[Schwab et coll. (2000) confirment certains des résultats déjà trouvés en criblant 71 familles de schizophrènes. Les régions de susceptibilité par ordre de significativité décroissante sont situées sur les chromosomes 6p (région HLA à 47,7 cM), 10p, 5q, 1q et 18p en utilisant la méthode des lod scores classique (analyse multipoint) et sur le chromosome 10p en utilisant la méthode des NPL, enfin sur les chromosomes 10p et 18p pour le TDT.

[Williams et coll. (1999) en criblant 196 familles de schizophrènes avec un “ pannel ” de 229 marqueurs microsatellites distants les uns des autres par 17,26 cM sur les chromosomes 2q, 4p, 10q, 15q, 18p, 20q et Xcent, confirment la région de susceptibilité sur le chromosome 18q avec la méthode du maximum Lod score (MLS > 1,5).

L'ensemble de ces résultats suggèrent des régions de susceptibilité sur les chromosomes 1q, 6p et 6q, 8p, 10p, 13q et 22q.

L'étude des nombreux criblages du génome pour la schizophrénie, n'a jusqu'à présent jamais permis de déterminer l'implication d'un locus majeur de susceptibilité. Cependant les résultats montrent l'existence de plusieurs régions de susceptibilité et sont donc en accord avec un modèle polygénique.

d/ Etudes de régions candidates identifiées par les premiers criblages du génome humain

Les premiers criblages du génome de familles de schizophrènes, ont suggéré l'implication de différentes régions sur un ensemble de chromosomes, écartant par la même occasion l'hypothèse d'un modèle de transmission mendélienne classique. Certaines de ces régions ont été étudiées plus en détail pour confirmer ou non les premiers résultats internationaux. Straub et coll., (1995) a étudié l'extrémité du bras court du chromosome 6 (6p22-p24). Il montre une liaison significative avec la schizophrénie pour plus de 25 % des familles de paires de germains atteints provenant d'Irlande en utilisant 16 marqueurs situés sur une région de 107 cM. Schwab et coll., (1995) a également mis en évidence parmi des paires de germains schizophrènes, un partage allélique de 58 % dans la même région que Straub. Par ailleurs, un locus potentiel sur le chromosome 18 (entre 41,2 cM et 52,0 cM) a également été récemment reporté par Schwab et coll. (2000).

Dans le cadre de la collaboration multicentrique (NIMH), Levinson et ses collaborateurs ont également testé des régions de susceptibilité pour la schizophrénie sur les chromosomes 5q, 6p et 6q, 8, 10, 13 et 22. Les résultats les plus significatifs sont obtenus pour les chromosomes 6q, 8p et 10p (Pulver et coll, 1994 ; Levinson et coll., 1996 ; Levinson et coll., 2000).

Il est encore impossible de discerner parmi les régions de susceptibilité suggérées celles qui sont impliquées dans la schizophrénie. D'autres études sont nécessaires afin de pallier les difficultés

rencontrées : multiplicité des cartes génétiques utilisées, intervalles entre les marqueurs, choix de la population étudiée. Tous ces paramètres peuvent entraîner de grandes fluctuations au niveau de la reproductibilité des résultats voire être à l'origine de faux positifs.

e/ Etudes de gènes candidats

En dehors de l'approche systématique du criblage du génome de familles de schizophrènes, la recherche de gènes de susceptibilité peut être conduite par une approche " gène candidats " c'est-à-dire des gènes susceptibles d'être impliqués dans les mécanismes physiopathologiques de la schizophrénie. Le choix est dicté par des arguments pharmacologiques (différences de réponses à un médicament) et cytogénétiques (aberrations chromosomiques en particulier anomalies de nombres des chromosomes sexuels chez les schizophrènes, translocations...). Des études de liaison et d'association seront conduites entre des marqueurs des gènes candidats et le syndrome schizophrénique. Les études d'association sont basées sur la corrélation entre un phénotype et un allèle ou un génotype particulier dans une population donnée.

Parmi les gènes candidats qui ont été étudiés, on ne retrouve pas de liaison significative entre la schizophrénie et les gènes étudiés. Cependant, certains d'entre eux participent de façon mineure à la vulnérabilité génétique à la schizophrénie dans certaines populations : les gènes du récepteurs dopaminergiques D3 (DRD3 , localisation en 3q13.3) dans la population caucasienne (Crocq et coll., 1992 ; Williams et coll, 1998) ; D2 (DRD2, localisation en 11q) dans la population japonaise (Arinami et coll. , 1993), les gènes d'enzymes intervenant dans les voies des catécholamines comme les gènes de la tyrosine hydroxylase (TH, localisation en 11p) dans une population caucasienne (Meloni et coll., 1995), de la catéchol-O-méthyltransférase (COMT, localisation en 22q) dans une population caucasienne (Kunugi et coll., 1997) et dans une population de Taiwan (Liou et coll., 2001), le gène du récepteur sérotoninergique 2A (5HTR2A, localisation en 13q14.2) dans une population caucasienne (Williams et coll., 1996).

Cependant la liste des gènes candidats à étudier s'allonge considérablement en intégrant les différentes hypothèses concernant l'apparition de la schizophrénie, comme des anomalies du développement cérébral, d'autres systèmes de neurotransmission tel le système gabaergique, glutamaergique, etc...Le choix de gènes candidats est très vaste et les études d'association significatives génèrent très souvent des faux positifs.

Une des possibilités pour réduire le choix des gènes étudiés est de s'intéresser à des mécanismes biologiques associés à des phénomènes cliniques. Une de ces possibilités est d'étudier des gènes pouvant être impliqués dans l'anticipation.

*** L'anticipation et la schizophrénie**

Au XIX^{ème} siècle Auguste Morel décrit la dégénérescence des symptômes dans certaines maladies neurodégénératives. En 1911, Mott renomme ce phénomène "anticipation " et le généralise à de nombreuses pathologies neurologiques de type familial.

Ce phénomène clinique se caractérise par une sévérité et/ou une précocité des symptômes qui conduit à une aggravation progressive de la maladie au fil des générations. On retrouve le phénomène d'anticipation dans plus de 50 maladies dont les plus connues sont : la chorée de Huntington, la myopathie de Steinert, la maladie de Machado Joseph, la maladie de Friedreich et le retard mental lié à l'X fragile (OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man) (voir annexe 1). Des maladies touchant d'autres systèmes présentent également un phénomène d'anticipation comme par exemple : l'hypertension pulmonaire primaire, certaines formes de leucémies familiales, la neutropénie cyclique ou la cataracte zonulaire.

Un phénomène d'anticipation a été décrit dans environ 40% des familles analysées atteintes de troubles bipolaires (Mac Innis et coll., 1993 ; Nylander et coll, 1994 ; Ensgtröm et coll, 1995). Plusieurs études ont également mis en évidence une anticipation, définie par un âge de début de la maladie plus précoce au fil des générations, dans des cas familiaux de schizophrénie (Asherson et coll, 1994, Bassett & Honer 1994 ; Thibaut et coll, 1995). Ces études récentes ont essayé de prendre en compte les biais décrits par Penrose notamment en différenciant les familles dont les proposants correspondent soit à la génération parentale soit à la génération des enfants. Il existe une corrélation entre l'augmentation du nombre de répétitions CAG entre les parents et leurs enfants quand le phénotype s'aggrave au fil des générations.

Dans certaines des maladies génétiques décrites plus haut, il a été démontré que des mutations dynamiques constituent la base biologique du phénomène clinique de l'anticipation : les séquences

répétées deviennent instables et augmentent de taille de génération en génération et ceci conduit à un âge de début plus précoce et/ou à une sévérité plus importante de la maladie (Morrisson, 1996). Une anticipation existe dans des familles ayant plusieurs générations de schizophrènes (Mott, 1910, Bassett & Honer 1994 ; Thibaut et coll, 1995). Bien que l'existence de cette anticipation doive être interprétée avec prudence du fait de l'existence de certains biais (Penrose, 1948), ces résultats conduisent à rechercher l'existence de répétitions de trinuécléotides pathologiques responsables de l'anticipation dans les familles de schizophrènes même si le mécanisme biologique de l'anticipation n'est probablement pas univoque. Les régions anormales se situent tantôt dans les régions codantes tantôt dans les régions non codantes des gènes défectueux dans les maladies. La pathologie observée dans les désordres associés à une répétition de trinuécléotides peut être classée en deux catégories principales selon la séquence des triplets répétés.

Répétitions de type CAG : maladies dites de classe I

Le premier groupe de maladies, classé en type I est caractérisé par une perte neuronale progressive. Les gènes responsables des maladies appartenant à ce groupe portent tous des répétitions CAG de taille anormale qui codent pour une longue répétition de polyglutamine. La chorée de Huntington et la maladie de Machado-Joseph appartiennent à cette classe.

Autres types de répétitions : maladies dites de classe II

Les autres maladies dues à des répétitions de triplets incluent : le syndrome de l'X fragile dû à une répétition anormale de type CGG dans le gène FMR-1 (Verkerk et coll., 1991), la dystrophie myotonique ou maladie de Steinert due à une répétition anormale CTG dans le gène myotonin-protein Kinase (Brook et coll., 1992) et l'ataxie de Friedreich due à une répétition anormale GAA dans le gène de la frataxine (Campuzano et coll., 1996). Elles ont été caractérisées par une symptomatologie touchant plusieurs systèmes.

Une nouvelle classe de répétitions pathologiques

Récemment une troisième classe de répétitions a été décrite qui se distingue des types I et II par ses caractéristiques. Dans cette classe, la dystrophie musculaire oculo-pharyngée (oculopharyngeal muscular dystrophy OPMD) est une affection de transmission autosomique dominante dont la distribution géographique paraît ubiquitaire. Le gène responsable codant pour la protéine PABP2 (Poly(A) binding protein) a été isolée dans une région de 217 kb du chromosome 14 en q11. Une répétition (GCG)₆ code pour une polyalanine localisée dans la partie N-terminale de la protéine. Cette répétition est plus longue (8 répétitions) dans les 144 familles montrant cette pathologie (Brais et coll., 1998). Des phénotypes plus sévères sont observés chez les hétérozygotes composés chez lesquels on retrouve l'allèle (GCG)₉ et l'allèle (GCG)₇ qui est par ailleurs retrouvé dans 2 % de la population générale. Des phénotypes moins sévères sont observés lorsque les patients portent les deux allèles (GCG)₇. L'allèle (GCG)₇ est un exemple de polymorphisme qui peut modifier le phénotype dominant ou agir comme une mutation récessive. Les expansions pathologiques de polyalanines pourraient provoquer l'accumulation d'oligomères PABP2 par gain de fonction de la protéine PABP2

et entraîner les inclusions nucléaires filamenteuses qui sont observées dans la dystrophie musculaire oculo-pharyngée. Des allongements de polyalanines qui pourraient être pathogènes ont également été retrouvés dans certaines protéines Hox, mais leur rôle est encore inconnu (Riggins et coll., 1992).

Un allongement de polyalanines qui se manifeste par des répétitions de type GCC est également retrouvé dans certaines pathologies comme le cancer du colon ou la tumeur de la vessie.

Plusieurs approches de génétique moléculaire sont actuellement utilisées afin de rechercher une base moléculaire à l'anticipation dans la schizophrénie :

1- La méthode Rapid expansion détection (RED) (Schalling et coll., 1993) qui peut être suivie d'une éventuelle localisation chromosomique par technique d'hybridation fluorescente *in situ*.

2- La recherche d'association et/ou de liaison :

entre des polymorphismes connus et la schizophrénie avec de nouveaux ADNc contenant des répétitions trinuécléotides.

identifiés par construction et criblage de banque d'ADNc.

3- La technique de western blot basée sur la détection de séquences de polyglutamines au moyen d'un anticorps spécifique (Trottier et coll., 1995).

Utilisant la méthode RED, Lindblad et coll. (1995), ont montré une association entre la longueur des répétitions CAG et le phénotype maniaco-dépressif chez des patients scandinaves et belges. Des expansions de type CAG/CTG ont aussi été rapportées par Sirugo et coll. (1997), dans des familles de patients schizophrènes Danois. Les études de Morris (1995) et O'Donovan (1996) mettent en évidence un nombre des répétitions trinuécléotidiques de type CAG est plus élevé en moyenne dans la population de schizophrènes que dans la population de contrôles appariés pour la région géographique. La taille des expansions est plus importante chez les patients schizophrènes étudiés et il existe une corrélation entre la longueur de ces répétitions et la précocité de l'âge de début de la maladie. L'anticipation dans la schizophrénie serait due à une transmission de gènes instables, instabilité conférée par l'allongement de triplets répétés.

Ces études suggèrent l'existence d'une anticipation inhérente au mode de transmission de la schizophrénie familiale ce qui est compatible avec l'implication d'un gène ayant une faible pénétrance et une expressivité variable, modèle validé par les études de ségrégation familiale (Hall et coll., 1990).

Une autre approche est l'étude de gène candidats

Les gènes ERDA1 (localisé en 17q21.3) (Ikeuchi et coll., 1998) et CTG18.1 ((ITF2) (Breschel et coll., 1997) (localisé en 18q21.1) ont également été impliqués dans certains désordres psychiatriques

(Lindblad et coll., 1998). La transmission des allèles les plus longs des deux loci ERDA1 et CTG18.1

gène des allèles anormalement longs et instables. Ils contiennent des répétitions polymorphiques CAG très instables allant de 10 à 92 répétitions pour ERDA1 et de 10 à 700 répétitions CAG pour CTG18.1. Le gène CTG18.1 a été associé aux troubles bipolaires (Lindblad et coll., 1998).

D'autres candidats pourraient être le gène PPP2R2B (SCA12) qui contient des répétitions de triplets CAG et est localisé sur le chromosome 5q31-33 dans une région candidate pour la schizophrénie. Les analyses de plusieurs criblages du génome ont en effet montré une liaison significative pour la schizophrénie en 5q31-33 (Straub et coll., 1997 ; Schwab et coll., 1997 ; Gurling et coll., 2001), contrairement à la large étude multicentrique (Levinson et coll., 2000). Ce gène code pour une protéine phosphatase 2A, sous-unité régulatrice spécifique du cerveau (Holmes et coll., 2000).

Un autre candidat est le gène KCNN3 (hSKCa3) localisé en 1q21-22. La région 1q21-22 a été liée à la schizophrénie dans un échantillon Canadien (Brzustowicz et coll., 2000) et dans une population Anglo/Islandaise (Gurling et coll., 2001). La protéine KCNN3 est un canal calcique activé par le potassium qui joue un rôle important dans l'hyperpolarisation des neurones du système nerveux central (CNS) (Sun et coll., 2001). Des études antérieures ont montré une association significative entre la schizophrénie et KCNN3. La présence d'allèles plus longs est tout d'abord décrite par Chandy et coll. (1998), dans une population Caucasienne, puis par Bowen et coll. (1998), dans une population Celte et enfin dans une population Israélienne-Ashkenase par Dror et coll. (1999).

La troisième approche est la technique de Western blot basée sur la détection de séquences de polyglutamine ou de polyalanine

Des allongements anormaux de polyglutamines ou polyalanines peuvent être détectés au niveau protéique si l'allongement trinuécléotidique est présent dans la séquence codante du gène correspondant. Dans ce contexte, il est nécessaire de fabriquer des anticorps susceptibles de reconnaître de façon spécifique les allongements de glutamines ou d'alanines. Plusieurs groupes ont conduits des travaux dans des familles de schizophrènes pour rechercher des protéines contenant des polyglutamines en utilisant l'anticorps monoclonal 1C2 développé par Trottier et coll. (1995) pour les maladies de classe I. Cet anticorps, dont l'épitope est dirigé contre une séquence polyglutaminique, reconnaît de façon spécifique une protéine acide de 60kDa (Morinière et coll., 1999) et une protéine de 50 kDa (Joober et coll., 1999). A ce jour ces protéines n'ont pas été identifiées. Par ailleurs d'autres études ne mettent pas en évidence de protéines (Jones et coll., 1997 ; Schurhoff et coll., 1997).

Les répétitions de polyalanines ont également été impliquées dans certaines pathologies telles que la dystrophie musculaire oculopharyngée. A notre connaissance, aucun anticorps dirigé contre les polyalanines n'a été développé et aucune étude concernant la recherche de polyalanine dans la schizophrénie n'est publié à ce jour.

Malgré la présence de longues répétitions dans le génome de patients schizophrènes dans certaines populations, l'ensemble des résultats concernant l'anticipation, n'a pas mis en évidence de gène majeur contenant des répétitions trinuécléotidiques stables ou instables associées à la schizophrénie. Des effets mineurs ont été montrés avec KCNN3 dans certaines populations.

Références bibliographiques

Andreasen NC, Carpenter WT Jr. Diagnosis and classification of schizophrenia. Schizophr Bull. 1993; 19 : 199-214.

Andreasen NC. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. Lancet. 1995; 346 : 477-481.

Antonarakis SE, Blouin JL, Lasseter VK, Gehrig C, Radhakrishna U, Nestadt G, Housman DE, Kazazian HH, Kalman K, Gutman G, Fantino E, Chandy KG, Gargus JJ, Pulver AE. Lack of linkage or association between schizophrenia and the polymorphic trinucleotide repeat within the KCNN3 gene on chromosome 1q21. Am J Med Genet. 1999; 88 : 348-351.

Arinami T, Itokawa M, Komiyama T, Mitsushio H, Mori H, Mifune H, Hamaguchi H, Toru M. Association between severity of alcoholism and the A1 allele of the dopamine D2 receptor gene TaqI A RFLP in Japanese. Biol Psychiatry. 1993; 33 : 108-114.

Asherson P, Walsh C, Williams J, Sargeant M, Taylor C, Clements A, Gill M, Owen M, McGuffin P. Imprinting and anticipation. Are they relevant to genetic studies of schizophrenia? Br J Psychiatry. 1994; 164 : 619-624.

Austin CP, Holder DJ, Ma L, Mixson LA, Caskey CT. Mapping of hKCa3 to chromosome 1q21 and investigation of linkage of CAG repeat polymorphism to schizophrenia. Mol Psychiatry. 1999; 4 : 261-266.

Bassett AS, Honer WG. Evidence for anticipation in schizophrenia. Am J Hum Genet. 1994; 54 : 864-870.

Blackwood DH, Fordyce A, Walker MT, St Clair DM, Porteous DJ, Muir WJ. Schizophrenia and affective disorders-- cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. Am J Hum Genet. 2001; 69 : 428-433.

Blouin JL, Dombroski BA, Nath SK, Lasseter VK, Wolyniec PS, Nestadt G, Thornquist M, Ullrich G, McGrath J, Kasch L, Lamacz M, Thomas MG, Gehrig C, Radhakrishna U, Snyder SE, Balk KG, Neufeld K, Swartz KL, DeMarchi N, Papadimitriou GN, Dikeos DG, Stefanis CN, Chakravarti A, Childs B, Pulver AE, et al. Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. Nat Genet. 1998; 20 : 70-73.

Bonnet-Brilhault F, Laurent C, Campion D, Thibaut F, Lafargue C, Charbonnier F, Deleuze JF, Menard JF, Jay M, Petit M, Frebourg T, Mallet J. No evidence for involvement of KCNN3 (hSKCa3) potassium channel gene in familial and isolated cases of schizophrenia. Eur J Hum Genet. 1999; 7 : 247-250.

Borrmann-Hassenbach MB, Albus M, Scherer J, Dreikorn B. Age at onset anticipation in familial

schizophrenia. Does the phenomenon even exist? *Schizophr Res.* 1999; 40 : 55-65.

Bowen T, Guy CA, Craddock N, Cardno AG, Williams NM, Spurlock G, Murphy KC, Jones LA, Gray M, Sanders RD, McCarthy G, Chandy KG, Fantino E, Kalman K, Gutman GA, Gargus JJ, Williams J, McGuffin P, Owen MJ, O'Donovan MC. Further support for an association between a polymorphic CAG repeat in the hKCa3 gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 1998; 3 : 266-269.

Brais B, Bouchard JP, Xie YG, Rochefort DL, Chretien N, Tome FM, Lafreniere RG, Rommens JM, Uyama E, Nohira O, Blumen S, Korczyn AD, Heutink P, Mathieu J, Duranceau A, Codere F, Fardeau M, Rouleau GA, Korczyn AD. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Genet.* 1998; 18 : 164-167.

Breschel TS, McInnis MG, Margolis RL, Sirugo G, Corneliussen B, Simpson SG, McMahon FJ, MacKinnon DF, Xu JF, Pleasant N, Huo Y, Ashworth RG, Grundstrom C, Grundstrom T, Kidd KK, DePaulo JR, Ross CA. A novel, heritable, expanding CTG repeat in an intron of the SEF2-1 gene on chromosome 18q21.1. *Hum Mol Genet.* 1997; 6 : 1855-1863.

Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H, Hunter K, Stanton VP, Thirion JP, Hudson T, et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell.* 1992; 69 : 385.

Brzustowicz LM, Hodgkinson KA, Chow EW, Honer WG, Bassett AS. Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science.* 2000; 288 : 678-682.

Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L, Cossee M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Monticelli A, et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science.* 1996; 271 : 1423-1427.

Chandy KG, Fantino E, Wittekindt O, Kalman K, Tong LL, Ho TH, Gutman GA, Crocq MA, Ganguli R, Nimgaonkar V, Morris-Rosendahl DJ, Gargus JJ. Isolation of a novel potassium channel gene hSKCa3 containing a polymorphic CAG repeat: a candidate for schizophrenia and bipolar disorder? *Mol Psychiatry.* 1998; 3 : 32-37.

Cherly M. General method for amplifying regions of very high G+C content. *Nucleic Acids Research.* 1993; 21 : 2953-2954.

Cholfin JA, Sobrido MJ, Perlman S, Pulst SM, Geschwind DH. The SCA12 mutation as a rare cause of spinocerebellar ataxia. *Arch Neurol.* 2001; 58 : 1833-1835.

Chowdari KV, Wood J, Ganguli R, Gottesman II, Nimgaonkar VL. Lack of association between schizophrenia and a CAG repeat polymorphism of the hSKCa3 gene in a north eastern US sample. *Mol Psychiatry.* 2000; 5 : 237-238.

Coon H, Jensen S, Holik J, Hoff M, Myles-Worsley M, Reimherr F, Wender P, Waldo M, Freedman R, Leppert M, et al. Genomic scan for genes predisposing to schizophrenia. *Am J Med Genet.* 1994; 54 : 59-71.

Crocq MA, Mant R, Asherson P, Williams J, Hode Y, Mayerova A, Collier D, Lannfelt L, Sokoloff P, Schwartz JC, et al. Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *J Med Genet.* 1992; 29 : 858-860.

de Chaldee M, Corbex M, Campion D, Jay M, Samolyk D, Petit M, Thibaut F, Laurent C, Mallet J. No evidence for linkage between COMT and schizophrenia in a French population. *Psychiatry Res.* 2001; 102 : 87-90.

Deloukas P, Schuler GD, Gyapay G, Beasley EM, Soderlund C, Rodriguez-Tome P, Hui L, Matise TC, McKusick KB, Beckmann JS, Bentolila S, Bihoreau M, Birren BB, Browne J, Butler A, Castle AB, Chiannilkulchai N, Clee C, Day PJ, Dehejia A, Dibbling T, Drouot N, Duprat S, Fizames C, Bentley DR, et al. A physical map of 30,000 human genes. *Science.* 1998; 282 : 744-746.

Denghien I, Joover R, Rouleau GA, Neri C. Polyglutamine tracts in schizophrenia: gaining new insights. *Mol Psychiatry.* 2000; 5 : 236-237.

Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature.* 1996; 380 : 152-154.

Di Maggio C, Martinez M, Menard JF, Petit M, Thibaut F. Evidence of a cohort effect for age at onset of schizophrenia. *Am J Psychiatry.* 2001; 158 : 489-492.

Dimson C. Ethical issues in the treatment of applicants to APA-accredited Ph.D. programs. *Psychol Rep.* 1994; 74 : 1323-1330.

Dror V, Shamir E, Ghanshani S, Kimhi R, Swartz M, Barak Y, Weizman R, Avivi L, Litmanovitch T, Fantino E, Kalman K, Jones EG, Chandy KG, Gargus JJ, Gutman GA, Navon R. hKCa3/KCNN3 potassium channel gene: association of longer CAG repeats with schizophrenia in Israeli Ashkenazi Jews, expression in human tissues and localization to chromosome 1q21. *Mol Psychiatry.* 1999; 4 : 254-260.

Dworkin RH, Lewis JA, Cornblatt BA, Erlenmeyer-Kimling L. Social competence deficits in adolescents at risk for schizophrenia. *J Nerv Ment Dis.* 1994; 182 : 103-108.

Ekelund J, Hovatta I, Parker A, Paunio T, Varilo T, Martin R, Suhonen J, Ellonen P, Chan G, Sinsheimer JS, Sobel E, Juvonen H, Arajärvi R, Partonen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Meyer J, Peltonen L. Chromosome 1 loci in Finnish schizophrenia families. *Hum Mol Genet.* 2001; 10 : 1611-1617.

Engstrom C, Thornlund AS, Johansson EL, Langstrom M, Chotai J, Adolfsson R, Nylander PO. Anticipation in unipolar affective disorder. *J Affect Disord.* 1995; 35 : 31-40.

Faraone SV, Matise T, Svrakic D, Pepple J, Malaspina D, Suarez B, Hampe C, Zambuto CT, Schmitt K, Meyer J, Markel P, Lee H, Harkavy Friedman J, Kaufmann C, Cloninger CR, Tsuang MT. Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium. *Am J Med Genet.* 1998; 81 : 290-295.

Fanger CM, Ghanshani S, Logsdon NJ, Rauer H, Kalman K, Zhou J, Beckingham K, Chandy KG, Cahalan MD, Aiyar J. Calmodulin mediates calcium-dependent activation of the intermediate conductance KCa channel, IKCa1. *J Biol Chem.* 1999; 274 : 5746-5754.

Feingold N. [Linkage disequilibrium] *J Genet Hum.* 1980; 28 : 105-113.

Fujigasaki H, Verma IC, Camuzat A, Margolis RL, Zander C, Lebre AS, Jamot L, Saxena R, Anand

I, Holmes SE, Ross CA, Durr A, Brice A. SCA12 is a rare locus for autosomal dominant cerebellar ataxia: a study of an Indian family. *Ann Neurol*. 2001; 49 : 117-121.

Fischer KM. Expanded (CAG)_n, (CGG)_n and (GAA)_n trinucleotide repeat microsatellites, and mutant purine synthesis and pigmentation genes cause schizophrenia and autism. *Med Hypotheses*. 1998; 51 : 223-233.

Geller B, Cook EH Jr. Ultradian rapid cycling in prepubertal and early adolescent bipolarity is not in transmission disequilibrium with val/met COMT alleles. *Biol Psychiatry*. 2000; 47 : 605-609.

Gottesman II, McGuffin P, Farmer AE. Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull*. 1987; 13 : 23-47.

Gottesman LE, Peskin E, Kennedy K, Mossey J. Implications of a mental health intervention for elderly mentally ill residents of residential care facilities. *Int J Aging Hum Dev*. 1991; 32 : 229-245.

Gurling HM, Kalsi G, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Sherrington R, Mankoo BS, Read T, Murphy P, Blaveri E, McQuillin A, Petursson H, Curtis D. Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *Am J Hum Genet*. 2001; 68 : 661-673.

Hall JG. Genomic imprinting: nature and clinical relevance. *Annu Rev Med*. 1997; 48 : 35-44.

Hawi Z, Mynett-Johnson L, Gill M, Murphy V, Straubl RE, Kendler KS, Walsh D, Machen F, Connell H, McKeon P, Shields D. Pseudoautosomal gene: possible association with bipolar males but not with schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 1999; 9 : 129-134.

Hawi Z, Mynett-Johnson L, Murphy V, Straub RE, Kendler KS, Walsh D, McKeon P, Gill M. No evidence to support the association of the potassium channel gene hSKCa3 CAG repeat with schizophrenia or bipolar disorder in the Irish population. *Mol Psychiatry*. 1999; 4 : 488-491.

Heiden A, Willinger U, Scharfetter J, Meszaros K, Kasper S, Aschauer HN. Anticipation in schizophrenia. *Schizophr Res*. 1999; 35 : 25-32.

Holmans P, McGuffin P, Clayton D. Genome scan for association and linkage. *Genet Epidemiol*. 1995; 12 : 613-618.

Holmes SE, Hearn EO, Ross CA, Margolis RL. SCA12: an unusual mutation leads to an unusual spinocerebellar ataxia. *Brain Res Bull*. 2001; 56 : 397-403.

Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, Gorelick-Feldman DA, Kleiderlein JJ, Callahan C, Kwak NG, Ingersoll-Ashworth RG, Sherr M, Sumner AJ, Sharp AH, Ananth U, Seltzer WK, Boss MA, Vieria-Saecker AM, Epplen JT, Riess O, Ross CA, Margolis RL. Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5' region of PPP2R2B is associated with SCA12. *Nat Genet*. 1999; 23 : 391-392.

Ikeuchi T, Sanpei K, Takano H, Sasaki H, Tashiro K, Cancel G, Brice A, Bird TD, Schellenberg GD, Pericak-Vance MA, Welsh-Bohmer KA, Clark LN, Wilhelmsen K, Tsuji S. A novel long and unstable CAG/CTG trinucleotide repeat on chromosome 17q. *Genomics*. 1998; 49 : 321-326.

Imamura A, Honda S, Nakane Y, Okazaki Y. Anticipation in Japanese families with schizophrenia. *J Hum Genet*. 1998; 43 : 217-223.

Jones AL, Middle F, Guy C, Spurlock G, Cairns NJ, McGuffin P, Craddock N, Owen M, O'Donovan MC. No evidence for expanded polyglutamine sequences in bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 1997; 2 : 478-482.

Joo EJ, Lee JH, Cannon TD, Price RA. Possible association between schizophrenia and a CAG repeat polymorphism in the spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) gene on human chromosome 6p23. *Psychiatr Genet*. 1999; 9 : 7-11.

Joober R, Benkelfat C, Brisebois K, Toulouse A, Lafreniere RG, Turecki G, Lal S, Bloom D, Labelle A, Lalonde P, Fortin D, Alda M, Palmour R, Rouleau GA. Lack of association between the hSKCa3 channel gene CAG polymorphism and schizophrenia. *Am J Med Genet*. 1999; 88 : 154-157.

Joober R, Benkelfat C, Jannatipour M, Turecki G, Lal S, Mandel JL, Bloom D, Lalonde P, Lopes-Cendes I, Fortin D, Rouleau G. Polyglutamine-containing proteins in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 1999; 4 : 53-57.

Kato T. Molecular genetics of bipolar disorder. *Neurosci Res*. 2001; 40 : 105-113.

Kaufmann CA, Suarez B, Malaspina D, Pepple J, Svrakic D, Markel PD, Meyer J, Zambuto CT, Schmitt K, Matisse TC, Harkavy Friedman JM, Hampe C, Lee H, Shore D, Wynne D, Faraone SV, Tsuang MT, Cloninger CR. NIMH Genetics Initiative Millenium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African-American pedigrees. *Am J Med Genet*. 1998; 81 : 282-289.

Kendler KS, McGuire M, Gruenberg AM, Walsh D. Clinical heterogeneity in schizophrenia and the pattern of psychopathology in relatives: results from an epidemiologically based family study. *Acta Psychiatr Scand*. 1994; 89 : 294-300.

Kruglyak L, Daly MJ, Reeve-Daly MP, Lander ES. Parametric and nonparametric linkage analysis: a unified multipoint approach. *Am J Hum Genet*. 1996; 58 : 1347-1363.

Kunugi H, Vallada HP, Sham PC, Hoda F, Arranz MJ, Li T, Nanko S, Murray RM, McGuffin P, Owen M, Gill M, Collier DA. Catechol-O-methyltransferase polymorphisms and schizophrenia: a transmission disequilibrium study in multiply affected families. *Psychiatr Genet*. 1997 Autumn;7(3):97-101.

Lander ES. And Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science*. 1994 ; 265 : 2037-2048.

Lange K. The affected sib-pair method using identity by state relations. *Am J Hum Genet*. 1986; 39 : 148-150.

Laurent C, Zander C, Thibaut F, Bonnet-Brilhault F, Chavand O, Jay M, Samolyk D, Petit M, Martinez M, Champion D, Neri C, Mallet J, Cann H. Anticipation in schizophrenia: no evidence of expanded CAG/CTG repeat sequences in French families and sporadic cases. *Am J Med Genet*. 1998; 81 : 342-346.

Levinson DF, Mowry BJ, Sharpe L, Endicott J. Penetrance of schizophrenia-related disorders in multiplex families after correction for ascertainment. *Genet Epidemiol*. 1996; 13 : 11-21.

Levinson DF, Mahtani MM, Nancarrow DJ, Brown DM, Kruglyak L, Kirby A, Hayward NK, Crowe RR, Andreasen NC, Black DW, Silverman JM, Endicott J, Sharpe L, Mohs RC, Siever LJ, Walters MK, Lennon DP, Jones HL, Nertney DA, Daly MJ, Gladis M, Mowry BJ. Genome scan of schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1998; 155 : 741-750.

Levinson DF, Holmans P, Straub RE, Owen MJ, Wildenauer DB, Gejman PV, Pulver AE, Laurent C, Kendler KS, Walsh D, Norton N, Williams NM, Schwab SG, Lerer B, Mowry BJ, Sanders AR, Antonarakis SE, Blouin JL, DeLeuze JF, Mallet J. Multicenter linkage study of schizophrenia candidate regions on chromosomes 5q, 6q, 10p, and 13q: schizophrenia linkage collaborative group III. *Am J Hum Genet.* 2000; 67 : 652-663.

Lindstrom J. Nicotinic acetylcholine receptors in health and disease. *Mol Neurobiol.* 1997; 15 : 193-222.

Li T, Vallada HP, Liu X, Xie T, Tang X, Zhao J, O'Donovan MC, Murray RM, Sham PC, Collier DA. Analysis of CAG/CTG repeat size in Chinese subjects with schizophrenia and bipolar affective disorder using the repeat expansion detection method. *Biol Psychiatry.* 1998; 44 : 1160-1165.

Lindblad K, Nylander PO, De bruyn A, Sourey D, Zander C, Engstrom C, Holmgren G, Hudson T, Chotai J, Mendlewicz J, et al. Detection of expanded CAG repeats in bipolar affective disorder using the repeat expansion detection (RED) method. *Neurobiol Dis.* 1995; 2 : 55-62.

Lindblad K, Nylander PO, Zander C, Yuan QP, Stahle L, Engstrom C, Balciuniene J, Pettersson U, Breschel T, McInnis M, Ross CA, Adolfsson R, Schalling M. Two commonly expanded CAG/CTG repeat loci: involvement in affective disorders? *Mol Psychiatry.* 1998; 3 : 405-410.

Lin CH, Tsai SJ, Yu YW, Yang KH, Hsu CP, Hong CJ. Study of anticipation in Chinese families with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2001; 55 : 137-140.

Liou YJ, Tsai SJ, Hong CJ, Wang YC, Lai IC. Association analysis of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenic patients in Taiwan. *Neuropsychobiology.* 2001; 43 : 11-14.

Magnello ME. Karl Pearson's mathematization of inheritance: from ancestral heredity to Mendelian genetics (1895-1909). *Ann Sci.* 1998; 55 : 35-94.

Martorell L, Pujana MA, Valero J, Joven J, Volpini V, Labad A, Estivill X, Vilella E. Anticipation is not associated with CAG repeat expansion in parent-offspring pairs of patients affected with schizophrenia. *J Med Genet.* 1999; 88 : 50-56.

Matthysse S, Holzman PS, Lange K. The genetic transmission of schizophrenia: application of Mendelian latent structure analysis to eye tracking dysfunctions in schizophrenia and affective disorder. *J Psychiatr Res.* 1986; 20 : 57-67.

McGue M, Gottesman II. The genetic epidemiology of schizophrenia and the design of linkage studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1991; 240 : 174-181.

McInnis MG, McMahon FJ, Chase GA, Simpson SG, Ross CA, DePaulo JR Jr. Anticipation in bipolar affective disorder. *Am J Hum Genet.* 1993; 53 : 385-390.

McInnis MG, McMahon FJ, Crow T, Ross CA, DeLisi LE. Anticipation in schizophrenia: a review and reconsideration. *Am J Med Genet.* 1999; 88 : 686-693.

McInnis MG, Breschel TS, Margolis RL, Chellis J, MacKinnon DF, McMahon FJ, Simpson SG, Lan TH, Chen H, Ross CA, DePaulo JR. Family-based association analysis of the hSKCa3 potassium channel gene in bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 1999; 4 : 217-219.

McInnis MG, Swift-Scanlan T, Mahoney AT, Vincent J, Verheyen G, Lan TH, Oruc L, Riess O, Van

Broeckhoven C, Chen H, Kennedy JL, MacKinnon DF, Margolis RL, Simpson SG, McMahon FJ, Gershon E, Nurnberger J, Reich T, DePaulo JR, Ross CA. Allelic distribution of CTG18.1 in Caucasian populations: association studies in bipolar disorder, schizophrenia, and ataxia. *Mol Psychiatry*. 2000; 5 : 439-442.

Merette C, Roy-Gagnon MH, Ghazzali N, Savard F, Boutin P, Roy MA, Maziade M. Anticipation in schizophrenia and bipolar disorder controlling for an information bias. *Am J Med Genet*. 2000; 96 : 61-68.

Meissner B, Purmann S, Schurmann M, Zuhlke C, Lencer R, Arolt V, Muller-Myhsok B, Morris-Rosendahl DJ, Schwinger E. hSKCa3: a candidate gene for schizophrenia? *Psychiatr Genet*. 1999; 9 : 91-96.

Meloni R, Laurent C, Campion D, Ben Hadjali B, Thibaut F, Dollfus S, Petit M, Samolyk D, Martinez M, Poirier MF, et al. A rare allele of a microsatellite located in the tyrosine hydroxylase gene found in schizophrenic patients. *C R Acad Sci III*. 1995; 318 : 803-809.

Milar KS. The first generation of women psychologists and the psychology of women. *Am Psychol*. 2000; 55 : 616-619.

Moises HW, Yang L, Kristbjarnarson H, Wiese C, Byerley W, Macciardi F, Arolt V, Blackwood D, Liu X, Sjogren B, et al. An international two-stage genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Nat Genet*. 1995; 11 : 321-324.

Moriniere S, Saada C, Holbert S, Sidransky E, Galat A, Ginns E, Rapoport JL, Neri C. Detection of polyglutamine expansion in a new acidic protein: a candidate for childhood onset schizophrenia? *Mol Psychiatry*. 1999; 4 : 58-63.

Morris AG, Gaitonde E, McKenna PJ, Mollon JD, Hunt DM. CAG repeat expansions and schizophrenia: association with disease in females and with early age-at-onset. *Hum Mol Genet*. 1995; 4 : 1957-1961.

Morrison PJ. Anticipation more anticipation. *Lancet*. 1996; 347 : 1132.

Mors O, Ewald H, Blackwood D, Muir W. Cytogenetic abnormalities on chromosome 18 associated with bipolar affective disorder or schizophrenia. *Br J Psychiatry*. 1997; 170 : 278-280.

Morton, N E. Sequential tests for the detection of linkage *Amer.J. Hum. Gen.* 1955; 7 : 277-318.

Mott FW. A lecture on heredity and insanity. *Lancet*. 1911; 1 : 1251-1259.

Neel J. Prospects for research on schizophrenia. IV. Genetic and environmental factors. Parallels in medicine. *Neurosci Res Program Bull*. 1972; 10 : 403-406.

Nurnberger JI Jr, Blehar MC, Kaufmann CA, York-Cooler C, Simpson SG, Harkavy-Friedman J, Severe JB, Malaspina D, Reich T. Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Arch Gen Psychiatry*. 1994; 51 : 849-859.

Nylander PO, Engstrom C, Chotai J, Wahlstrom J, Adolfsson R. Anticipation in Swedish families with bipolar affective disorder. *J Med Genet*. 1994; 31 : 686-689.

O'Donovan MC, Owen MJ. The molecular genetics of schizophrenia. *Ann Med*. 1996; 28 : 541-546.

- O'Donovan MC, Owen MJ. Candidate-gene association studies of schizophrenia. *Am J Hum Genet.* 1999; 65 : 587-592.
- Ohara K. Anticipation, imprinting, trinucleotide repeat expansions and psychoses. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2001; 25 : 167-192.
- Ohara K, Ikeuchi T, Suzuki Y, Ohtani M, Ohara K, Tsuji S. A CAG trinucleotide repeat expansion and familial schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2000; 94 : 257-262.
- Petronis A, Vincent JB, Surh LC, Ashizawa T, Kennedy JL. Polyglutamine-containing proteins in schizophrenia: an effect of lymphoblastoid cells? *Mol Psychiatry.* 2000; 5 : 234-236.
- Petronis A, Paterson AD, Kennedy JL. Schizophrenia: an epigenetic puzzle? *Schizophr Bull.* 1999; 25 : 639-655.
- Penrose LS. The problem of anticipation in pedigrees of dystrophia myotonica. *Annals of Eugenics.* 1948 ; 14 : 125-132.
- Posada A, Franck N, Georgieff N, Jeannerod M. Anticipating incoming events: an impaired cognitive process in schizophrenia. *Cognition.* 2001; 81 : 209-225.
- Pulver AE, Karayiorgou M, Wolyniec PS, Lasseter VK, Kasch L, Nestadt G, Antonarakis S, Housman D, Kazazian HH, Meyers D, et al. Sequential strategy to identify a susceptibility gene for schizophrenia: report of potential linkage on chromosome 22q12-q13.1: Part 1. *Am J Med Genet.* 1994; 54 : 36-43.
- Riggins GJ, Lokey LK, Chastain JL, Leiner HA, Sherman SL, Wilkinson KD, Warren ST. Human genes containing polymorphic trinucleotide repeats. *Nat Genet.* 1992; 2 : 186-191.
- Risch N. Linkage strategies for genetically complex traits. III. The effect of marker polymorphism on analysis of affected relative pairs. *Am J Hum Genet.* 1990; 46 : 242-253.
- Ritsner M, Modai I, Ziv H, Amir S, Halperin T, Weizman A, Navon R. An association of CAG repeats at the KCNN3 locus with symptom dimensions of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2002; 51 : 788-794.
- Rohrmeier T, Putzhammer A, Schoeler A, Sartor H, Dallinger P, Nothen MM, Propping P, Knapp M, Albus M, Borrmann M, Knothe K, Kreiner R, Franzek E, Lichtermann D, Rietschel M, Maier W, Klein HE, Eichhammer P. hSKCa3: no association of the polymorphic CAG repeat with bipolar affective disorder and schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 1999; 9 : 169-175.
- Ross RG, Olincy A, Harris JG, Radant A, Adler LE, Freedman R. Anticipatory saccades during smooth pursuit eye movements and familial transmission of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1998; 44 : 690-697.
- Saleem Q, Dash D, Gandhi C, Kishore A, Benegal V, Sherrin T, Mukherjee O, Jain S, Brahmachari SK. Association of CAG repeat loci on chromosome 22 with schizophrenia and bipolar disorder. *Mol Psychiatry.* 2000; 6 : 694-700.
- Saleem Q, Sreevidya VS, Sudhir J, Savithri JV, Gowda Y, B-Rao C, Benegal V, Majumder PP, Anand A, Brahmachari SK, Jain S. Association analysis of CAG repeats at the KCNN3 locus in Indian patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Am J Med Genet.* 2000; 96 : 744-748.

- Schultz SK, Andreasen NC. Schizophrenia. *Lancet*. 1999; 353 : 1425-1430.
- Schurhoff F, Stevanin G, Trottier Y, Bellivier F, Mouren-Simeoni MC, Brice A, Leboyer M. A preliminary study on early onset schizophrenia and bipolar disorder: large polyglutamine expansions are not involved. *Psychiatry Res*. 1997; 72 : 141-144.
- Shaw SH, Kelly M, Smith AB, Shields G, Hopkins PJ, Loftus J, Laval SH, Vita A, De Hert M, Cardon LR, Crow TJ, Sherrington R, DeLisi LE. A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *Am J Med Genet*. 1998; 81 : 364-376.
- Schwab SG, Albus M, Hallmayer J, Honig S, Borrmann M, Lichtermann D, Ebstein RP, Ackenheil M, Lerer B, Risch N, et al. Evaluation of a susceptibility gene for schizophrenia on chromosome 6p by multipoint affected sib-pair linkage analysis. *Nat Genet*. 1995; 11 : 325-327.
- Schwab SG, Eckstein GN, Hallmayer J, Lerer B, Albus M, Borrmann M, Lichtermann D, Ertl MA, Maier W, Wildenauer DB. Evidence suggestive of a locus on chromosome 5q31 contributing to susceptibility for schizophrenia in German and Israeli families by multipoint affected sib-pair linkage analysis. *Mol Psychiatry*. 1997; 2 : 156-160.
- Schwab SG, Hallmayer J, Albus M, Lerer B, Eckstein GN, Borrmann M, Segman RH, Hanses C, Freymann J, Yakir A, Trixler M, Falkai P, Rietschel M, Maier W, Wildenauer DB. A genome-wide autosomal screen for schizophrenia susceptibility loci in 71 families with affected siblings: support for loci on chromosome 10p and 6. *Mol Psychiatry*. 2000; 5 : 638-649.
- Shields J, Gottesman II. Obstetric complications and twin studies of schizophrenia: clarifications and affirmations. *Schizophr Bull*. 1977; 3 : 351-354.
- Schalling M, Hudson TJ, Buetow KH, Housman DE. Direct detection of novel expanded trinucleotide repeats in the human genome. *Nat Genet*. 1993; 4 : 135-139.
- Sidransky E, Burgess C, Ikeuchi T, Lindblad K, Long RT, Philibert RA, Rapoport J, Schalling M, Tsuji S, Ginns EI. A triplet repeat on 17q accounts for most expansions detected by the repeat-expansion-detection technique. *Am J Hum Genet*. 1998; 62 : 1548-1551.
- Sirugo G, Pakstis AJ, Kidd KK, Matthysse S, Levy DL, Holzman PS, Parnas J, McInnis M, Breschel T, Ross CA. Detection of a large CTG/CAG trinucleotide repeat expansion in a Danish schizophrenia kindred. *Am J Med Genet*. 1997; 74 : 546-548.
- Spielman RS, Ewens WJ. TDT clarification. *Am J Hum Genet*. 1999; 64 : 668.
- Spurlock G, Williams J, McGuffin P, Aschauer HN, Lenzinger E, Fuchs K, Sieghart WC, Meszaros K, Fathi N, Laurent C, Mallet J, Macciardi F, Pedrini S, Gill M, Hawi Z, Gibson S, Jazin EE, Yang HT, Adolfsson R, Pato CN, Dourado AM, Owen MJ. European Multicentre Association Study of Schizophrenia: a study of the DRD2 Ser311Cys and DRD3 Ser9Gly polymorphisms. *Am J Med Genet*. 1998; 81 : 24-28.
- Sun J. Nonparametric test for doubly interval-censored failure time data Lifetime Data. *Anal*. 2001; 7 : 363-375.
- Stober G, Jatzke S, Meyer J, Okladnova O, Knapp M, Beckmann H, Lesch KP. Short CAG repeats within the hSKCa3 gene associated with schizophrenia: results of a family-based study. *Neuroreport*. 1998; 9 : 3595-3599.

- Stompe T, Ortwein-Swoboda G, Strobl R, Friedmann A. The age of onset of schizophrenia and the theory of anticipation. *Psychiatry Res.* 2000; 93 : 125-134.
- Straub RE, MacLean CJ, O'Neill FA, Burke J, Murphy B, Duke F, Shinkwin R, Webb BT, Zhang J, Walsh D, et al. A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6p24-22: evidence for genetic heterogeneity. *Nat Genet.* 1995; 11 : 287-293.
- Straub RE, MacLean CJ, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS. Support for a possible schizophrenia vulnerability locus in region 5q22-31 in Irish families. *Mol Psychiatry.* 1997; 2 : 148-155.
- Sturtevant AH. The linear arrangement of six sex-linked factors in drosophila, as shown by their mode of association. *Journal of experimental Zoology.* 1913; 14 : 43-59.
- Thibaut F, Martinez M, Petit M, Jay M, Campion D. Further evidence for anticipation in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 1995; 59 : 25-33.
- Trottier Y, Lutz Y, Stevanin G, Imbert G, Devys D, Cancel G, Saudou F, Weber C, David G, Tora L, et al. Polyglutamine expansion as a pathological epitope in Huntington's disease and four dominant cerebellar ataxias. *Nature.* 1995; 378 : 403-406.
- Tsai MT, Shaw CK, Hsiao KJ, Chen CH. Genetic association study of a polymorphic CAG repeats array of calcium-activated potassium channel (KCNN3) gene and schizophrenia among the Chinese population from Taiwan. *Mol Psychiatry.* 1999; 4 : 271-273.
- Ujike H, Yamamoto A, Tanaka Y, Takehisa Y, Takaki M, Taked T, Kodama M, Kuroda S. Association study of CAG repeats in the KCNN3 gene in Japanese patients with schizophrenia, schizoaffective disorder and bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 2001; 101 : 203-207.
- Vandenbergh DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X, Jabs EW, Uhl GR. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics.* 1992; 14 : 1104-1106.
- Vaswani M, Kapur S. Genetic basis of schizophrenia: trinucleotide repeats. An update. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2001; 25 : 1187-1201.
- Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Reiner O, Richards S, Victoria MF, Zhang FP, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell.* 1991; 65 : 905-914.
- Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Reiner O, Richards S, Victoria MF, Zhang FP, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell.* 1991; 65 : 905-914.
- Vincent JB, Kalsi G, Klempan T, Tatuch Y, Sherrington RP, Breschel T, McInnis MG, Brynjolfsson J, Petursson H, Gurling HM, Gottesman II, Torrey EF, Petronis A, Kennedy JL. No evidence of expansion of CAG or GAA repeats in schizophrenia families and monozygotic twins. *Hum Genet.* 1998; 103 : 41-47.
- Vincent JB, Kovacs M, Krol R, Barr CL, Kennedy JL. Intergenerational CAG repeat expansion at ERDA1 in a family with childhood-onset depression, schizoaffective disorder, and recurrent major depression. *Am J Med Genet.* 1999; 88 : 79-82.
- Vincent JB, Paterson AD, Strong E, Petronis A, Kennedy JL. The unstable trinucleotide repeat story

of major psychosis. *Am J Med Genet.* 2000; 97 : 77-97.

Vincent JB, Neves-Pereira ML, Paterson AD, Yamamoto E, Parikh SV, Macciardi F, Gurling HM, Potkin SG, Pato CN, Macedo A, Kovacs M, Davies M, Lieberman JA, Meltzer HY, Petronis A, Kennedy JL. An unstable trinucleotide-repeat region on chromosome 13 implicated in spinocerebellar ataxia: a common expansion locus. *Am J Hum Genet.* 2000; 66 : 819-829.

Vuillaume I, Meynieu P, Schraen-Maschke S, Destee A, Sablonniere B. Absence of unidentified CAG repeat expansion in patients with Huntington's disease-like phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2000; 68 : 672-675.

Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, Vignal A, Morissette J, Millasseau P, Vaysseix G, Lathrop M. A second-generation linkage map of the human genome. *Nature.* 1992; 359 : 794-801.

Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, Williams KL. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 1996; 13 : 19-50.

Williams J, Spurlock G, McGuffin P, Mallet J, Nothen MM, Gill M, Aschauer H, Nylander PO, Macciardi F, Owen MJ. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet.* 1996; 347 : 1294-1296.

Williams J, Spurlock G, Holmans P, Mant R, Murphy K, Jones L, Cardno A, Asherson P, Blackwood D, Muir W, Meszaros K, Aschauer H, Mallet J, Laurent C, Pekkarinen P, Seppala J, Stefanis CN, Papadimitriou GN, Macciardi F, Verga M, Pato C, Azevedo H, Crocq MA, Gurling H, Owen MJ, et al. A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 1998; 3 : 141-149.

Williams NM, Rees MI, Holmans P, Norton N, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, Sanders RD, McCarthy G, Gray MY, Fenton I, McGuffin P, Owen MJ. A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet.* 1999; 8 : 1729-1739.

Wittekindt O, Schwab SG, Burgert E, Knapp M, Albus M, Lerer B, Hallmayer J, Rietschel M, Segman R, Borrmann M, Lichtermann D, Crocq MA, Maier W, Morris-Rosendahl DJ, Wildenauer DB. Association between hSKCa3 and schizophrenia not confirmed by transmission disequilibrium test in 193 offspring/parents trios. *Mol Psychiatry.* 1999; 4 : 267-270.

Yagishita S, Inoue M. Clinicopathology of spinocerebellar degeneration: its correlation to the unstable CAG repeat of the affected gene. *Pathol Int.* 1997; 47 : 1-15.

Zander C, Schurhoff F, Laurent C, Chavand O, Bellivier F, Samolyk D, Leboyer M, Allilaire JF, Cann H, Neri C, Mallet J. CAG repeat sequences in bipolar affective disorder: no evidence for association in a French population. *Am J Med Genet.* 1998; 81 : 338-341.