

# Genexpressieprofilering bij schizofrenie

## Een overzicht

J. VERVEER<sup>1</sup>, K. HUIZER<sup>1</sup>, D. FEKKES, N.J.M. VAN BEVEREN

**ACHTERGROND** Een recente ontwikkeling in het genetisch onderzoek is het bestuderen van de activiteit van genen. Kenmerkend voor genexpressie is dat deze variabel is en onder meer afhankelijk van de ontwikkelingsfase van een organisme, van het weefsel- en celtype en van omgevingsfactoren. Tegenwoordig is het mogelijk om de activiteit van de meer dan 30.000 genen die het volledige menselijke genoom vormen in één enkele keer te bepalen. Deze techniek staat in de Engelstalige literatuur bekend als ‘microarray screening’, ‘high-throughput-analysis’ – in het Nederlands ‘genexpressieprofilering’.

**DOEL** Het beschrijven van enkele basiselementen van de genexpressietechniek en het geven van een overzicht van de resultaten van genexpressieprofilering van post mortem verkregen hersenweefsel bij patiënten met schizofrenie.

**METHODE** In PubMed is gezocht naar relevante artikelen met behulp van de zoektermen: ‘schizophrenia’, ‘microarray’, ‘gene expression’. Tien onderzoeken zijn gevonden.

**RESULTATEN EN CONCLUSIE** Genexpressieprofilering geeft aanwijzingen dat verschillende functionele gengroepen (zoals synaps-, metabolisme- myelinisatie- en oligodendrocytegerelateerde genen) betrokken zijn bij de pathogenese van schizofrenie. Een aantal van deze gengroepen zijn gelokaliseerd op bekende chromosomale risicolocaties voor schizofrenie. Dit ondersteunt de theorieën dat schizofrenie veroorzaakt wordt door verstoringen in de synaptische stabiliteit en plasticiteit. Er zijn aanwijzingen dat verstoringen in de myelinisatie en in het vetzuurmetabolisme eveneens een rol kunnen spelen.

[TIJDSCHRIFT VOOR PSYCHIATRIE 49(2007)1, 7-16]

**TREFWOORDEN** bio-informatica, genexpressie, micro-array, schizofrenie

Het meeste genetisch onderzoek dat op dit moment bij psychiatrische aandoeningen verricht wordt, bestudeert de aan- of afwezigheid van varianten van genen, zogenaamde polymorfismen. Een recente ontwikkeling is echter om niet zozeer naar het voorkomen van bepaalde genen te kijken, maar om hun activiteit, ook wel de expressie genoemd, te bestuderen. Kenmerkend voor genexpressie is dat deze variabel is en onder meer afhankelijk van de ontwikkelingsfase van een organisme, van het weefsel- en celtype en van omge-

vingsfactoren. Tegenwoordig is het mogelijk om de activiteit van de meer dan 30.000 genen die het volledige menselijke genoom vormen in één enkele keer te bepalen: ‘microarray screening’, ‘high-throughput-analysis’ of, in het Nederlands, ‘genexpressieprofilering’.

Een voordeel van deze techniek is dat de interacties van genen met elkaar kunnen worden bestudeerd. Dit is vooral van belang bij die aandoeningen waarbij verondersteld wordt dat niet één gen, maar een (zeer) groot aantal genen, al dan

niet in interactie met de omgeving, betrokken zijn bij het ontstaan van de onderzochte aandoening. Dit geldt waarschijnlijk in het bijzonder voor veel psychiatrische aandoeningen, waaronder schizofrenie.

Tot nu toe zijn de meest indrukwekkende resultaten met genexpressieprofielering bereikt binnen de oncologie, waar het mogelijk is gebleken hiermee prognostisch betekenisvolle subgroepen te onderscheiden bij leukemie (zie bijvoorbeeld Valk e.a. 2004)).

De laatste jaren wordt ook in toenemende mate genexpressieprofielering gebruikt bij onderzoek naar schizofrenie. Dit artikel beschrijft de techniek en geeft een overzicht van de publicaties op dit gebied. Hierbij wordt eerst een beschrijving van enkele basiselementen van de genexpressietechniek gegeven en daarna worden de resultaten van een literatuuronderzoek gepresenteerd.

## DE GENEXPRESSIEBEPALING

### Technische achtergrond

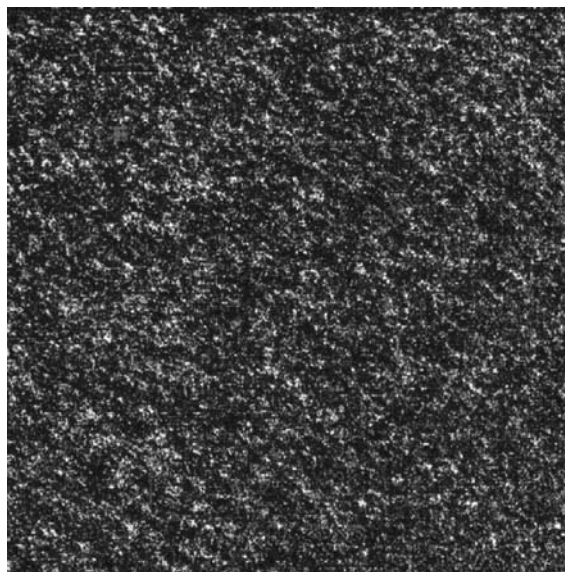
De techniek van de bepaling is gebaseerd op het volgende principe. Een actief gen produceert mRNA. De technische term hiervoor is dat het gen 'afgelezen' wordt, of ook wel dat er 'expressie' of 'transcriptie' plaats vindt. mRNA wordt op zijn beurt weer omgezet in een eiwit. Naarmate een gen actiever is produceert het meer mRNA. Wij wijzen er nogmaals op dat dit een dynamisch proces is: sommige genen zijn altijd actief, sommige alleen gedurende een bepaalde fase tijdens de ontwikkeling van een organisme, en weer andere onder invloed van omgevingsfactoren, zoals stress, het innemen van voedsel of licht.

Voor het bepalen van de activiteit van genen wordt van weefsel waarin men geïnteresseerd is (bij schizofrenie meestal hersenweefsel, maar dat is niet altijd het geval) het mRNA geïsoleerd. Dit is dus een verzameling verschillend mRNA afkomstig van de corresponderende genen. Het mRNA wordt voorzien van een fluorescerende kleurstof. Daarna wordt het mRNA aangebracht ('gehybri-

diseerd') op een plaatje (chip) van circa één vierkantecentimeter. Op dit plaatje is op bekende locaties complementair DNA (cDNA) aangebracht, in feite zijn dit genfragmenten. Een dergelijk plaatje heet een microarray en dit is waar de techniek zijn naam aan ontleent. Elk soort mRNA hecht zich nu aan de zijn bijbehorende gen.

Met een scanner (die qua principe te vergelijken valt met een cd-speler) worden de locatie en de intensiteit van de fluorescerende markers die aan het mRNA gehecht zijn gemeten. De locatie geeft aan om wélk gen het gaat. De intensiteit van de fluorescentie geeft aan hoeveél mRNA er aanwezig is en dit is weer een maat voor de expressie van de betreffende genen (zie figuur 1). Uiteindelijk levert dit een computerbestand op met voor elk gen een getal dat de mate van expressie weerspiegelt. De gehele verzameling van getallen is het genexpressieprofiel.

FIGUUR 1 Microarray: het fluorescentiepatroon\*



Aan de hand van de intensiteit op iedere locatie (die correspondeert met een genfragment) wordt de activiteit van het gen in het monster bepaald.

Het van een fluorescerende kleurstof voorziene mRNA heeft zich op het plaatje (chip) aan complementair DNA gehecht (aan zijn bijbehorende gen). De locatie geeft aan om welk gen het gaat en de intensiteit van de fluorescentie geeft aan hoeveel mRNA er aanwezig is: een maat voor de expressie van de betreffende genen.

\* Afgebeeld met toestemming van Affymetrix

Microarrays zijn commercieel verkrijgbaar. Sommige onderzoeksgroepen geven er de voorkeur aan zelf microarrays te fabriceren. Zie voor een uitgebreid overzicht van de techniek Konradi (2005).

#### Interpretatie van gegevens verkregen uit genexpressieonderzoek

**Statistische aspecten** Het meest op de voorgrond staande kenmerk van onderzoek naar genexpressieprofielering is de zeer grote hoeveelheid gegevens die verzameld wordt, ook reeds bij kleine patiëntenaantallen. Dit maakt dit type onderzoek vanuit statistisch oogpunt complex. Immers, meestal is bij patiëntgebonden onderzoek de hoeveelheid deelnemers groter dan de hoeveelheid uitkomstvariabelen (bv. ‘verbeterd’ of ‘ernst van de bijwerkingen’). Bij genexpressieprofielering is dit anders. Een rekenvoorbeeld: microarray kan per sample ruim 50.000 gegevens opleveren. Wanneer we ieder gegeven als een uitkomstvariabele zien, levert een onderzoek met 20 deelnemers 1.000.000 uitkomstvariabelen. Enerzijds wordt het hierdoor mogelijk niet zozeer naar individuele genen te kijken, maar naar de interactie van genen in complexe biologische ketens waarbij vaak tientallen tot honderden genen betrokken zijn. Anderzijds vormt de grote hoeveelheid gegevens een probleem omdat de kans op het vinden van significant afwijkende genexpressie op basis van toeval groot is.

Dit onderzoek is dan ook niet mogelijk zonder hulp van bijzondere statistische methodes die deel uitmaken van een vakgebied dat bekend is komen te staan als bio-informatica. De essentie van de bio-informatica is dat statistische technieken gecombineerd worden met de biologische kennis die over de genen bestaat, in het bijzonder over de interacties van genen. Hierbij wordt gebruikgemaakt van databases met gegevens over de biologische functies van genen. Zo’n database kan gevuld worden met een aantal (enkele honderden) genen, die bij een onderzoek als afwijkend actief naar voren zijn gekomen. De database genereert dan het biologische netwerk dat het beste past bij

die verzameling genen. Figuur 2 laat een voorbeeld van een aldus gegenereerd netwerk zien.

De resultaten van genexpressieonderzoek worden meestal gepresenteerd als een lijst met (losse) genen met een significant verhoogde of verlaagde expressie met daarbij voor ieder gen de significantie en een overzicht van biologische processen waarbij die genen betrokken kunnen zijn.

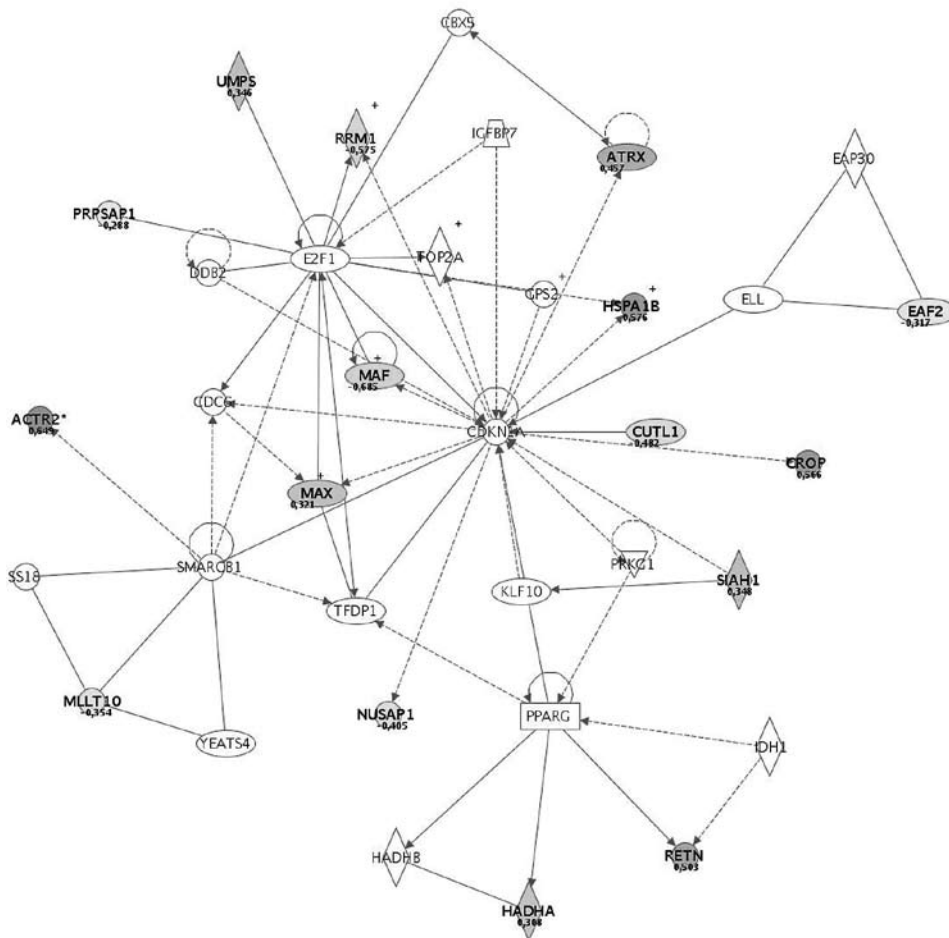
**Technische aspecten** Veel onderzoek gebruikt postmortem materiaal. Postmortem materiaal is moeilijk te verkrijgen en vaak is de pathologie van de patiënten niet goed gekarakteriseerd, met mogelijk verschillende symptomatologie of comorbiditeit. Het materiaal komt meestal van ouderen; de vroege ontwikkelingsstadia zijn minder makkelijk toegankelijk voor onderzoek. De periode voorafgaand aan het overlijden (plotseling of na lang ziektebed, na coma met wellicht cerebrale hypoxie, na suïcide) kan invloed hebben op de genexpressie (Marcotte e.a. 2003).

Voor microarrayonderzoek zijn grote hoeveelheden mRNA nodig. Soms is daar moeilijk aan te komen. Sommige onderzoekers vergroten de hoeveelheid mRNA in vitro (‘amplificatie’) maar dit proces kan de onderlinge verhoudingen tussen de soorten mRNA verstoren. mRNA is in zekere zin een ‘levend’ product dat in tegenstelling tot DNA snel in kwaliteit achteruit kan gaan.

De onderlinge vergelijkbaarheid tussen monsters kan moeilijk zijn. Een stukje weefsel uit de prefrontale cortex bevat in principe zeer veel celsoorten en -fragmenten: stukjes axon en soma, witte en grijze stof, glia en verschillende soorten corticale neuronen wat tot verschillende resultaten kan leiden zonder dat er daadwerkelijk expressieverschillen (Mirnics e.a. 2001) aanwezig zijn.

Experimentele artefacten kunnen leiden tot problemen. Zo kunnen er variaties tussen monsters ontstaan tijdens het bewerken of het merken. De grote hoeveelheid tussenstappen tijdens de bewerking en de hiermee verbonden noodzaak om met verschillende analisten te werken kan leiden tot methodologische variatie. Ook verschillen in microarrays en apparatuur kunnen de resultaten beïnvloeden (Marcotte e.a. 2003).

FIGUUR 2 Een met gespecialiseerde software geconstrueerd biologisch netwerk\*



Op basis van de aanwezigheid van gedisreguleerde genen (lichtgrijs: downregulatie; donkergrijs: upregulatie) die met de genexpressieanalyse zijn aangetoond, wordt een bionetwerk gezocht (uit een databank) dat hierbij zo goed mogelijk past. Ongekleurde genen waren niet gedisreguleerd of waren niet aanwezig op de chip. Het programma kan weergeven welke metabole processen door dit netwerk verricht worden. Door te klikken op de genen kan aanvullende informatie worden opgevraagd.

\* Met toestemming van Ingenuity gepubliceerd

**Aanwijzingen voor het beoordelen van onderzoeksresultaten** Bij het beoordelen van onderzoek naar genexpressie kan de geïnteresseerde psychiater zich oriënteren op de volgende elementen.

Om wat voor patiënten gaat het? Als het gaat om postmortemonderzoek: kwamen de kenmerken van de patiënten overeen (bv. leeftijd, medicatiegebruik, ziekteduur)? Zijn de controles vergelijkbaar?

Welk weefsel is gebruikt voor de analyse? Welke methode is gebruikt voor het verwerven van weefsel? Is het weefsel homogeen of bevat het meerdere

celtypen? Welke voorbereidende handelingen zijn getroffen om cellen te isoleren? Kunnen deze handelingen de hoeveelheid mRNA beïnvloeden?

Welke statistische methode is gebruikt? en dan vooral: geeft deze methode veel significante resultaten (met de kans op fout-positieve uitslagen) of juist weinig significante resultaten (met de kans dat weinig afwijkende biologische processen worden gevonden)?

Welke resultaten worden gepresenteerd? Alleen losse genen of biologische processen? Worden de resultaten aannemelijk gemaakt door validatie in andere groepen, door andere processen te on-

derzoeken, of door diermodellen?

Zijn de resultaten biologisch en heuristisch zinvol, met andere woorden, sluiten de resultaten aan bij reeds bekende bevindingen of theoretische concepten?

## GENEXPRESSIEPROFILERING BIJ SCHIZOFRENIE

### Methode

In juli 2005 is in PubMed gezocht naar relevante artikelen met behulp van de zoektermen: 'schizophrenia', 'microarray', 'gene expression'. De gevonden artikelen werden tevens onderzocht op relevante referenties. Tien artikelen zijn gevonden.

### Resultaten

In totaal vonden wij 10 onderzoeken (zie tabel 1). Alle onderzoeken gebruiken postmortemweefsel en hebben een patiënt-controleopzet. Zo mogelijk zijn de bevindingen samengevoegd naar onderzoeksgroep.

Mirnics e.a. (2000) beschreven een verlaagde expressie van genen die betrokken zijn bij het coderen van eiwitten die de presynaptische activiteit reguleren (PSYN-genen) bij alle patiënten met schizofrenie in vergelijking met controlepersonen. Bij de diverse patiënten waren er wisselende combinaties van verlaagde expressie van PSYN-genen, maar twee genen, namelijk *N-ethylmaleimide sensitive factor* (NSF) en *synapsin II* waren bij bijna alle patiënten verlaagd (bij respectievelijk 10 van de tien 10, en 9 van de 10). NSF is een eiwit dat betrokken is bij neuronale presynaptische secretore processen. Er lijkt bij schizofrenie een gemeenschappelijke abnormaliteit in het presynaptische functioneren te bestaan.

In een vervolgonderzoek beschreef dezelfde groep (Mirnics e.a. 2001) dat het gen dat codeert voor de regulator van G-protein signalling 4 (RGS4) het meest consistent en significant verlaagd was in de dorsolaterale prefrontale cortex (DLPFC) van

alle onderzochte patiënten. De gegevens lijken erop te wijzen dat een verlaging van RGS4-expressie een gemeenschappelijke en specifieke eigenschap is van schizofrenie. Dit zou kunnen komen door genetische factoren maar het zou ook een adaptatie aan de ziekte kunnen zijn. Verlaging van RGS4 beïnvloedt de neuronale signaaloverdracht.

In een derde onderzoek (Middleton e.a. 2002) vond de groep van Mirnics in de DLPFC verlaging van de expressie bij genen die betrokken zijn bij de regulatie van het ornithine- en polyaminemetabolisme, het mitochondriale maleïne-asparagine-shuttlesysteem, de transcarboxylische zuurcyclus, het asparagine- en alaninemetabolisme en het ubiquitinemetabolisme. Deze disfuncties kunnen samenhangen met veranderingen in de regulatie van het metabolisme in de hersenen.

Hemby e.a. (2002) onderzochten meer dan 18.000 mRNA-transcripten uit de entorhinale cortex uit postmortemweefsel van patiënten met schizofrenie en controlepersonen. Er werd een verschil gevonden in expressie van G-protein subunit i(alfa)1, glutamaatreceptor 3, N-methyl-D-aspartaatreceptor 1 en synaptofysine.

Vawter e.a. (2001) vonden afwijkende expressies van 21 genen bij patiënten met medicatie en van 5 genen bij medicatievrije patiënten. Veel van de genen waren betrokken bij synaptische signalering en proteolytische functies.

In een vervolgonderzoek hebben Vawter e.a. (2002) de genexpressie in de DLPFC onderzocht. Drie genen lieten een consistente verlaging in expressie zien bij patiënten met schizofrenie in vergelijking met controlepersonen. Dit waren *histidine triad nucleotide-binding protein* (HINT), *ubiquitin conjugating enzyme E2N* (UBE2N) en de ionotrope AMPA-glutamaatreceptor.

Hakak e.a. (2001) onderzochten eveneens de genexpressie in de DLPFC van patiënten met schizofrenie en controlepersonen. Veranderingen van expressie werden gevonden bij genen die te maken hadden met synaptische plasticiteit, neuronale ontwikkeling, neurotransmissie en signaalgeleiding. Opmerkelijk is de veranderde expressie van genen betrokken bij myelinisatie wat erop lijkt te

TABEL 1 Onderzoeken naar genexpressieprofiel					
Onderzoek	Gebruikt weefsel	Patiënten/Controlepersonen	Patiëntkenmerken	Significante veranderingen in expressie*	Belangrijkste conclusie
Mirnic e.a. 2000	DLPFC	11/11 gematchte paren	gem. leeftijd 45 (SD 10,7) diagnose: 8 x schizofrenie; 3 x schizoaffectieve stoornis M+/M- = 9/2 intoxicatie: 5 x alcoholabusus bijzonderheden: -	Verlaagd: PSYN-genen groeireceptoren GABA-overdracht glutamaatoverdracht energiemetabolisme	De presynaptische activiteit is verlaagd bij schizofrenie.
Mirnic e.a. 2001	DLPFC	6/6 gematchte paren	gem. leeftijd 46,5 (SD 10,7) diagnose: niet bekend M+/M- = 9/2 intoxicatie: 5 x alcoholabusus bijzonderheden: 1x suicide	Verlaagd: RGS4	De neuronale signalering is verlaagd bij schizofrenie.
Middleton e.a. 2002	DLPFC	10/10 gematchte paren	gem. leeftijd 46 (SD 12,6) diagnose: niet bekend M+/M- = 8/2 intoxicatie: 3 x alcoholabusus bijzonderheden: 2 x suicide	Verlaagd: maleïnezuurshuttle transcarboxylische cyclus asparagine-alaninemetabolisme ornithinemetabolisme ubiquitinemetabolisme	Er is een verlaagde genexpressie voor de regulering van 5 metabole processen.
Hemby e.a. 2002	entorhinale cortex	8/8 gematchte paren	gem. leeftijd 83,9 (SD 3,5) diagnose: voornamelijk negatieve symptomen en langdurige hospitalisatie M+/M-: 0/8 intoxicatie: niet bekend bijzonderheden: -	Verlaagd: NMDA-receptor 1 synaptofysine SNAP23 SNAP25 SVAT synaptotagmine 1 en 4 Verhoogd: GABA-A1-subunit 7-subunit syntaxine	Er werd niet gezocht naar een biologisch pad, maar er werd gepoogd een aanzet te geven voor een profiel.
Vawter e.a. 2001	cerebellum DLPFC gyrus temporalis medius	15/15	gem. leeftijd 49 diagnose: niet bekend M+/M-: niet bekend intoxicatie: niet bekend bijzonderheden: 3 x suicide	Verlaagd: HINT UBE2N GRIA2	De auteurs vermeldden slechts gedisreguleerde genen, maar gaven geen algemene conclusie.
Vawter e.a. 2002	DLPFC	5/5	gem. leeftijd 46,5 (SD 5,9) diagnose: niet bekend M+/M-: 5/0 intoxicatie: niet bekend bijzonderheden: -	Verlaagd: CALM3 UCHL1 NF2 GNL1 PI12 PSMA1 SLC10A1 POR MINK USP9X Verhoogd: RFXANK	Een verandering van de synaptische signalering en de proteolytische functies.

Onderzoek	Gebruikt weefsel	Patiënten/Controlepersonen	Patiëntkenmerken	Significante veranderingen in expressie*	Belangrijkste conclusie
Hakak e.a. 2001	DLPFC	12/12 gematchte paren	gem. leeftijd 44,2 (SD 11,7) diagnose: opgenomen, chronische symptomen M+/M-: 12/0 intoxicatie: niet bekend	Verlaagd: myelinisatie Verhoogd: ontwikkeling/plasticiteit signaaltransductie GABA-transmissie neurotransmissie receptoren/ionkanalen/ transporters	Veranderingen van synaptische plasticiteit, neuronale ontwikkeling, neurotransmissie en signaalgeleiding.
Mimmack e.a. 2002	DLPFC	20/20 gematchte paren	gem. leeftijd 65,3 diagnose: langdurige opname M+/M-: niet bekend intox: niet bekend bijzonderheden: -	Verhoogd: apo-L1 apo-L2 apo-L4	Een verhoging van apolipoproteïne-expressie, dicht bij elkaar gelokaliseerd op chromosoom 22q12.
Tkachev e.a. 2003	DLPFC	15/15 gematchte paren	gem. leeftijd 44,2 diagnose: niet bekend M+/M-: niet bekend intoxicatie: niet bekend bijzonderheden: -	Verlaagd: oligodendrocytencellijn groei en differentiatie volwassen myelinerende oligodendrocyten	Een verminderde expressie van belangrijke oligodendrocyt- en myelinereleerde genen en van transcriptiefactoren betrokken bij de regulatie van deze genen.
Prabakaran e.a. 2004	DLPFC	54/50 gematchte paren	gem. leeftijd 42,4 diagnose: niet gespecificeerd M+/M-: allen medicatie intoxicatie: niet gespecificeerd bijzonderheden:-	Verlaagd: glycolyse elektrontransport lipidensynthese cholesterolsynthese oxidatieve fosforylatie ATP-synthese Verhoogd: glycogeengebruik insulineafhankelijke signaalwegen carnitintransportsysteem	Aanwijzingen voor een chronisch hypoxische toestand in de perfrontale cortex wellicht ten gevolge van fundamentele mitochondriale stoornissen. Als gevolg is de glycogenolyse verhoogd en is er een verstoord vetzuurmetabolisme.

\* Indien mogelijk zijn metabole processen in plaats van losse genen vermeld; waar de auteurs geen metabole paden beschreven zijn de losse genen vermeld.

Gensymbolen: apo-L1 = apolipoproteïne-L1; apo-L2 = apolipoproteïne-L2; apo-L4 = apolipoproteïne-L4; CALM3 = calmoduline 3; GNL1 = guanine nucleotide binding protein-like 1; GRIA2 = glutamate receptor, ionotropic ampa 2; HINT = histidine triad nucleotide binding protein; MINK = misshapen-like kinase 1; NF2 = neurofibromin 2; PI12 = protease inhibitor 12; POR = P450 (cytochrome) oxidoreductase; PSYN = regulator presynaptische activiteit; PSMA1 = proteasome subunit alphas type 1; RFXANK = regulatory factor X-associated ankyrin containing protein; RGS4 = regulator G-protein signalling 4; SLC10A1 = solute carrier family 10, member 1; SNAP23 = synaptosomal associated protein, 23 kDa; SNAP25 = synaptosomal associated protein, 25 kDa; SVAT = solute carrier family 18; UBE2N = ubiquitin conjugating enzyme E2N; UCHL1 = ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1; USP9X = ubiquitin specific protease 9, X chromosome  
Overig: ATP = adenosinetriposfaat; fenot = fenotypische gegevens; GABA = gamma-aminoboterzuur; gem. = gemiddelde; M+/M- = gebruikt medicatie/medicatievrij; NMDA = N-methyl-D-aspartaanzuur; SD = standaarddeviatie

wijzen dat er een verstoring is in de functie van oligodendrocyten bij schizofrenie.

Drie onderzoeken zijn afkomstig van de groep van Bahn uit Cambridge. Mimmack e.a. (2002) onderzochten genen die al eerder in verband zijn gebracht met schizofrenie, die conceptueel logisch zijn in het licht van onze huidige kennis van schizofrenie of die gelegen zijn op bekende chromosomale risicolocaties. Er werd gebruikgemaakt van postmortemweefsel van de DLPFC. Er werd een sterke verhoging gevonden van apolipoproteïne-L1 (apo-L1), apo-L2 en apo-L4. Zes apo-L-genen zijn dicht bij elkaar gelokaliseerd op chromosoom 22q12, gelegen bij de regio 22q11 die geassocieerd is met het velocardiofaciale syndroom dat bij 30% van de gevallen gepaard gaat met schizofreniforme symptomen.

Tkachev e.a. (2003) onderzochten 15 patiënten met schizofrenie, 15 met een bipolaire stoornis en 15 controlepersonen. Er werd een verminderde expressie gevonden van belangrijke oligodendrocyt- en myelinereleerde genen en van transcriptiefactoren betrokken bij de regulatie van deze genen, zowel bij de patiënten met de bipolaire stoornis als bij die met schizofrenie. Tkachev e.a. (2003) concludeerden dat de veranderingen in expressie bij beide aandoeningen een hoge mate van overeenkomst vertonen, wat erop kan duiden dat ze een gemeenschappelijke oorzakelijke en pathofysiologische achtergrond hebben.

Prabakaran e.a. (2004) voerden een groot onderzoek uit met postmortemweefsel van 52 patiënten. Zij vonden sterke aanwijzingen voor een verlaagde glycolyse, een verhoogde glycogeenpleetie en een verstoord vetzuurmetabolisme. Gezien de combinatie met verstoringen in individuele genen concludeerden zij dat er sprake is van gestoord glucosemetabolisme, wellicht ten gevolge van verstoord mitochondriaal functioneren.

## DISCUSSIE

Onderzoek naar genexpressieprofilering bij schizofrenie is nog van recente datum. Tot nu toe heeft er nog geen standaardisatie van het onderzoek plaatsgevonden. Er worden verschillende microarrays gebruikt, zijn er verschillende opwer-

kingstechnieken voor de monsters, verschillende scanners en verschillende statistische methoden. Deze situatie, die niet ongebruikelijk is voor een zich ontwikkelend vakgebied maakt het soms moeilijk de resultaten van de diverse onderzoeken onderling te vergelijken. Ondanks deze beperkingen is het ons inziens mogelijk voorlopige aanwijzingen te vinden in de beschreven onderzoeken. Genen die betrokken zijn bij presynaptische activiteit bleken sterker verlaagd te zijn dan andere (Mirnics e.a. 2000). Dit ondersteunt de hypothese dat schizofrenie gedeeltelijk of primair een synaptische aandoening is. Ook zijn diverse veranderingen in de expressie van aan de synaptische functie gerelateerde genen gevonden, naast veranderingen in het aan het G-eiwit gekoppelde signaleringsmechanisme (Hemby e.a. 2002).

Hemby e.a. (2002) en Vawter e.a. (2002) vonden veranderingen in bij het glutaminesysteem betrokken genen. Een relatie tussen glutaminerge disfuncties en schizofrenie is frequent beschreven.

Er is ook een verhoogde expressie gevonden voor apo-L1, -L2 en -L4, die gelegen zijn op chromosoom 22q12.3, vlakbij de locatie 22q11 die geassocieerd is met het velocardiofaciale syndroom (Mimmack e.a. 2002). Een derde van de patiënten met dit syndroom heeft schizofreniforme symptomen. Genen in de buurt van dit chromosoom zijn daarom uitermate geschikt als kandidaat-gen. De functie van deze apolipoproteïnen in het centraal zenuwstelsel is nog onduidelijk, maar ze zijn waarschijnlijk betrokken bij het cholesteroltransport. Wellicht bestaat er een relatie tussen deze bevinding en die van Hakak e.a. (2001) en Tkachev e.a. (2003). Dezen vonden afwijkingen in myelinisatie en in oligodendrocytaire functie. Oligodendrocyten zorgen voor de myelinisatie in het centraal zenuwstelsel en zijn waarschijnlijk betrokken bij de overleving van axonen.

Een opvallende bevinding is dat in geen van de onderzoeken veranderingen zijn gevonden in de expressie van genen die aan dopaminerge functie en dopaminemetabolisme gerelateerd zijn.

De meest coherente hypothese op basis van



genexpressieonderzoek is naar onze mening geformuleerd door de groep van Bahn (Prabakaran e.a. 2004). Deze onderzoekers concluderen dat er aanwijzingen zijn voor een chronische hypoxische toestand in de prefrontale cortex, wellicht ten gevolge van fundamentele mitochondriale stoornissen. Als gevolg hiervan is de glycogenolyse verhoogd en bestaat er een verstoord vetzuurmetabolisme. Door vrije radicalen zouden beschadigingen in myelinisatie ontstaan.

## CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN

Genexpressieprofielering heeft vooralsnog interessante, maar zeer voorlopige resultaten opgeleverd. Deze onderzoeksmethode heeft geleid tot het signaleren van verschillende functionele groepen (synaps-, glutamaat-, myelinisatie- en oligodendrocyt-, en metabolisme gerelateerde genen) die een rol kunnen spelen in de pathogenese van schizofrenie. Diverse van deze groepen zijn gelokaliseerd op bekende chromosomale schizofrenierisicolocaties. Tezamen vormen zij ondersteuning voor die theorieën die postuleren dat schizofrenie veroorzaakt wordt door verstoringen in de synaptische stabiliteit en plasticiteit.

Er zijn aanwijzingen dat verstoringen in de myelinisatie en in vetmetabolisme eveneens een rol kunnen spelen.

Een aantal beperkingen zijn op dit moment aanwezig. De techniek is kwetsbaar voor variatie in afname en bewerking van lichaamsmateriaal en voor technische verschillen tussen laboratoria. De statistische methodes voor dit soort onderzoek zijn nog niet goed ontwikkeld. Voor toekomstig onderzoek is aan te bevelen dat standaardisatie van de methodes voor gegevensanalyse plaatsvindt. Van belang is vooral replicatie van bevindingen, in het bijzonder vanwege het grote aantal genen dat onderzocht wordt en de daarmee geassocieerde kans op fout-positieve uitslagen. Er zou ook meer uitwisseling van materiaal moeten komen, zodat de onderzoekspopulaties aanzienlijk groter en statistisch meer relevant worden. Uiteindelijk zou de combinatie van dergelijke onder-

zoeken met de reeds bestaande kennis over chromosomale risicolocaties en bestaande hypothesen kunnen leiden tot de formulering van nieuwe inzichten over schizofrenie.

## NOOT

1. De eerste twee auteurs hebben gelijkelijk bijgedragen.

## LITERATUUR

- Hakak, Y., Walker, J.R., Li, C., e.a. (2001). Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 4746-4751.
- Hemby, S.E., Ginsberg, S.D., Brunk, B., e.a. (2002). Gene expression profile for schizophrenia: discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. *Archives of General Psychiatry*, 59, 631-640.
- Konradi, C. (2005). Gene expression microarray studies in polygenic psychiatric disorders: applications and data analysis. *Brain Research Brain Research Reviews*, 50, 142-155.
- Marcotte, E.R., Srivastava, L.K., & Quirion, R. (2003). cDNA microarray and proteomic approaches in the study of brain diseases: focus on schizophrenia and Alzheimer's disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 100, 63-74.
- Middleton, F.A., Mirnics, K., Pierri, J.N., e.a. (2002). Gene expression profiling reveals alterations of specific metabolic pathways in schizophrenia. *The Journal of Neuroscience*, 22, 2718-2729.
- Mimmack, M.L., Ryan, M., Baba, H., e.a. (2002). Gene expression analysis in schizophrenia: Reproducible up-regulation of several members of the apolipoprotein L family located in a high-susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 22. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 4680-4685.
- Mirnics, K., Middleton, F.A., Marquez, A., e.a. (2000). Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. *Neuron*, 28, 53-67.
- Mirnics, K., Middleton, F.A., Stanwood, G.D., e.a. (2001). Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 6, 293-301.
- Prabakaran, S., Swatton, J.E., Ryan, M.M., e.a. (2004). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Molecular Psychiatry*, 9, 684-97, 643.

- Tkachev, D., Mimmack, M.L., Ryan, M.M., e.a. (2003). Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet*, 362, 798-805.
- Valk, P.J., Verhaak, R.G., Beijen, M.A., e.a. (2004). Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *The New England journal of medicine*, 350, 1617-1628.
- Vawter, M.P., Barrett, T., Cheadle, C., e.a. (2001). Application of cDNA microarrays to examine gene expression differences in schizophrenia. *Brain Research Bulletin*, 55, 641-650.
- Vawter, M.P., Crook, J.M., Hyde, T.M., e.a. (2002). Microarray analysis of gene expression in the prefrontal cortex in schizophrenia: a preliminary study. *Schizophrenia Research*, 58, 11-20.

## AUTEURS

J. VERVEER is arts in opleiding tot psychiater en werkzaam bij GGZ Delfland.

K. HUIZER is student geneeskunde, Erasmus MC Rotterdam en student opleiding master of neuroscience, Erasmus MC Rotterdam.

D. FEKKES is biochemicus en hoofd Neurobiologisch laboratorium, afdeling Neurowetenschappen, Erasmus MC Rotterdam.

N.J.M. VAN BEVEREN is psychiater en medisch hoofd Zorglijn psychotische stoornissen, Erasmus MC Rotterdam.

Correspondentieadres: N.J.M. van Beveren, Dr. Molewaterplein 40, 3000 CA Rotterdam.

E-mail: j.m.vanbeveren@erasmusmc.nl.

## SUMMARY

Gene-expression profiling in schizophrenia: an overview – J. Verveer, K. Huizer, D. Fekkes, N.J.M. van Beveren –

**BACKGROUND** In recent molecular-biological research it has become possible to study the activity of genes. Gene expression is characterized, among other things, by its variability and its dependence on the developmental phase of the organism, on the cell- and tissue-type, and on environmental factors. Now we have a technique by which the activity of the 30,000 or more genes that make up the human genome can be measured in one go. This technique is known as ‘microarray screening’, ‘high-throughput-analysis, or gene-expression profiling’.

**AIM** To describe some of the fundamentals of the gene-expression technique and to present an overview of the results of gene-expression studies of brain tissue taken from deceased patients.

**METHOD** We searched PubMed for relevant articles using the search terms ‘schizophrenia’, ‘micro-array’ and ‘gene expression’. We located 10 articles/studies.

**RESULTS AND CONCLUSION** We conclude that gene-expression profiling has produced some evidence that several functional groups of genes are involved in schizophrenia (e.g. gene groups relating to synapses, metabolism, myelination and oligodendrocytes). Several of these genes are located on known chromosomal risk loci for schizophrenia. Together these findings support the theories that postulate that schizophrenia is caused by disturbances in synaptic stability and plasticity. There is some evidence that disturbances in myelination and fatty-acid metabolism may also play a role.

[TIJDSCHRIFT VOOR PSYCHIATRIE 49(2007)1, 7-16]

**KEY WORDS** bio-informatics, gene expression, microarray, schizophrenia