

УДК 575:591

РЕПЛИКАТИВНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ КОГНИТИВНЫХ ПРИЗНАКОВ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

© 2014 г. В. А. Степанов^{1,2*}, А. В. Бочарова¹, А. В. Марусин¹, Н. Г. Жукова³,
В. М. Алифинова³, И. А. Жукова³

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Российской академии медицинских наук,
Томск, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050

³Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050

Поступила в редакцию 02.06.2014 г.

Принята к печати 08.07.2014 г.

В работе проведен репликативный анализ ассоциаций с болезнью Альцгеймера (БА) 15 генетических маркеров, связанных по результатам полногеномных исследований с когнитивными нарушениями. В российской популяции выявлена ассоциация БА с rs2616984 гена *CSMD1* ($OR = 1.50$, 95% CI = 1.07–2.09, p -value = 0.018) и возможные взаимосвязи с заболеванием rs3131296 гена *NOTCH4* ($OR = 1.53$, 95% CI = 0.98–2.39, p -value = 0.06) и rs2229741 гена *NR1P1* ($OR = 1.35$, CI = 0.99–1.85, p -value = 0.061). Обнаружены комбинации эпистатически взаимодействующих генов (*CSMD1* и *NR1P1*; *NOTCH4*, *CSMD1* и *NR1P1*; *TLR4*, *CSMD1* и *NR1P1*) и сочетания их генотипов, значимо ассоциированные с БА и характеризующиеся наибольшей прогностической значимостью. Обсуждаются возможные молекулярные механизмы вовлечения изученных генов в патогенез заболевания. Биоинформационный анализ биологических процессов, молекулярных функций и белок-белковых взаимодействий генов БА показывает, что исследованные гены могут играть модулирующую или модифицирующую роль, соучаствуя в различных регуляторных и сигнальных путях, задействованных в процессах развития заболевания.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, ассоциативное исследование, генетические маркеры, геномная онтология, российская популяция.

REPLICATIVE ASSOCIATION ANALYSIS OF GENETIC MARKERS OF COGNITIVE TRAITS WITH ALZHEIMER'S DISEASE IN A RUSSIAN POPULATION, by V. A. Stepanov^{1,2*}, A. V. Bocharova¹, A. V. Marusin¹, N. G. Zhukova³, V. M. Alifirova³, I. A. Zhukova³ (¹Research Institute for Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, 634050 Russia; ²National Research Tomsk State University, Tomsk, 634050, Russia; ³Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia; *e-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru). Replicative association analysis of Alzheimer's disease (AD) with 15 genetic markers associated with cognitive traits in genome-wide association studies was performed. In a Russian population associations of rs2616984 in *CSMD1* gene with AD ($OR = 1.50$, 95% CI = 1.07–2.09, p -value = 0.018) and putative associations with the disease of rs3131296 in *NOTCH4* gene ($OR = 1.53$, 95% CI = 0.98–2.39, p -value = 0.06) and rs2229741 of *NR1P1* gene ($OR = 1.35$, CI = 0.99–1.85, p -value = 0.061) were revealed. Combinations of epistatic interacting genes (*CSMD1* and *NR1P1*; *NOTCH4*, *CSMD1* and *NR1P1*; *TLR4*, *CSMD1* and *NR1P1*) were found, as well as their genotypes combinations significantly associated with AD and characterized by highest predictive values. Probable molecular mechanisms implicated in the relation of genes under study to AD pathogenesis are discussed. Bioinformatic analysis of biological processes, molecular functions and protein-protein interactions of BA genes demonstrated that genes under study may play modulating and modifying role by participation in various regulatory and signal pathways involved in a disease development.

Keywords: Alzheimer's disease, association study, genetic markers, gene ontology, Russian population.

DOI: 10.7868/S0026898414060160

Принятые сокращения: БА – болезнь Альцгеймера; CVC (cross-validation consistency) – кросс-валидационная согласованность; FDR (false discovery rate) – доля ложноположительных результатов; GWAS (genome-wide association study) – полногеномное исследование ассоциаций; MDR (multifactor dimensionality reduction) – снижение многомерной размерности; SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм; PXB – равновесие Харди–Вайнберга.

* Эл. почта: vadim.stepanov@medgenetics.ru

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) – нейродегенеративное заболевание, встречающееся в среднем и пожилом возрасте. Основными проявлениями БА являются когнитивные нарушения различной степени выраженности. Частота БА в мире постепенно возрастает – по мере роста продолжительности жизни населения планеты. Более 10% людей в возрасте старше 65 лет и около половины людей в возрасте старше 85 лет страдают БА [1]. В России точных данных по распространенности БА нет. Экстраполяция данных по частоте БА в московской популяции, где это заболевание встречается у 4.4% лиц старше 60 лет, с учетом половых и возрастных различий в частоте болезни, позволяет получить оценку числа больных в России в 1.4 млн. человек [2].

Ранняя семейная форма БА, характеризующаяся манифестацией до 65 лет, охватывает не более 5% случаев болезни, наследуется по аутосомно-доминантному типу и связана с мутациями в генах белка-предшественника амилоида (*APP*) и пресенилинов (*PSEN1* и *PSEN2*) [3–6]. Форма БА с поздним проявлением (старше 65 лет) имеет, вероятно, многофакторную природу. Главным известным генетическим фактором, ассоциированным с поздней формой БА, считается аллель $\epsilon 4$ гена аполипопротеина E (*APOE*) [7, 8]. Многочисленные ассоциативные исследования БА, в том числе недавние полногеномные исследования ассоциаций (GWAS) выявили еще несколько десятков генов и участков генома, варибельность которых ассоциирована с БА. Среди генов, подтвержденных более чем в одном GWAS, можно назвать локусы *APOJ (CLU)*, *PI-CALM*, *CR1*, *GAB2*, *TOMM40*, *APOC1*, *MS4A*, *BIN1*, *ABCA7* [9–22].

Ассоциация варианта $\epsilon 4$ аполипопротеина E с БА была подтверждена во многих популяциях, в том числе и в российских [23]. Ранее на наших выборах также были реплицированы ассоциации маркеров генов *APOE*, *APOJ (CLU)* и комбинации генотипов генов *APOE* и *GAB2* [24, 25].

Несмотря на значительные успехи в поиске генетических факторов БА, совокупность известных генов и маркеров нельзя считать полной характеристикой наследственной компоненты БА с поздним проявлением. Для БА, как и любого многофакторного заболевания, проблема “недостающей наследуемости” (“missing heritability”) остается очень актуальной. Репликация ранее найденных ассоциаций в новых популяциях и исследование генов, связанных с родственными фенотипами, – один из источников заполнения пробелов в поиске наследственной компоненты многофакторных заболеваний [26].

Поскольку БА характеризуется нарастающей тяжестью течения с постепенной утратой когнитивных функций, то последние (когнитивные нарушения) рассматриваются как потенциальные

эндофенотипы БА. Проведенные в последние несколько лет полногеномные исследования генетических маркеров с варибельностью когнитивных фенотипов в нормальной популяции также выявили более сотни значимых участков генома [27–31]. В некоторых случаях гены и полиморфные маркеры, ассоциированные с БА и когнитивными нарушениями (например, SNP в локусах *TOMM40* и *APOC1*), пересекаются.

Накапливаются и данные об общности звеньев патогенеза БА и других неврологических и психических расстройств, в частности, шизофрении [32]. БА и шизофрения, будучи сильно различающимися заболеваниями по нейропатологии, этиологии, возрастной структуре больных и симптоматике, имеют пересекающиеся звенья патогенеза и молекулярные механизмы. Вероятно, и когнитивные эндофенотипы этих заболеваний могут иметь общие характеристики. Еще в 90-е годы прошлого века были выявлены сходные черты в региональном поражении головного мозга, биохимической дисфункции и симптоматике [33]. Недавние исследования транскриптома обнаружили очень сходный паттерн экспрессии генов в верхней височной области коры головного мозга при БА и шизофрении [34].

Таким образом, генетические маркеры, надежно ассоциированные с когнитивными эндофенотипами при других нейродегенеративных и психических заболеваниях, и маркеры, связанные с межиндивидуальной варибельностью когнитивных нарушений в нормальной популяции, представляются возможным ресурсом для поиска “недостающей наследуемости” при БА.

В данной работе мы провели репликативный анализ ассоциаций генетических маркеров, выявленных в полногеномных исследованиях когнитивных параметров в норме и при шизофрении, с БА в российской популяции и провели биоинформатический анализ биологических процессов и белковых взаимодействий, связанных с генами БА.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Группу обследуемых составили 110 больных (45% мужчины, 55% женщины) кафедры неврологии и нейрохирургии ГБОУ ВПО “Сибирского государственного медицинского университета” и НИИ психического здоровья СО РАМН (г. Томск) с диагнозом БА (код G30 по Международной классификации болезней МКБ-10). Диагноз устанавливали в соответствии с критериями МКБ-10, DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4-е издание) и NINCDS/ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer’s Disease and Related Disorders Association) [35, 36]. Средний возраст больных составил 72.15 ± 7.87 лет. Все больные

прошли стандартное психоневрологическое обследование, диагноз у части пациентов был подтвержден с помощью нейровизуализационных исследований (компьютерной и ядерно-магнитно-резонансной томографии головного мозга).

В контрольную группу вошли 285 здоровых индивидов (41% мужчины, 59% женщины), не имеющих в анамнезе психоневрологических заболеваний. Средний возраст контрольной группы составил 58.91 ± 8.15 лет. Группа больных и контроля не отличались по половому составу, однако средний возраст в контрольной группе был значимо ниже среднего возраста больных.

С целью оценить возможное влияние возрастных отличий на частоты аллелей, мы проводили сравнение частот аллелей в возрастных когортах контроля (старше и младше 65 лет; до 40 лет, 40–60 лет, старше 60 лет). Поскольку достоверных отличий по частотам аллелей между возрастными когортами контрольной группы не выявлено, мы использовали объединенную контрольную группу, чтобы не потерять в статистической мощности для окончательного анализа ассоциаций.

Для анализа ассоциаций мы выбрали 15 однонуклеотидных генетических маркеров, для которых недавно выявлена высокая степень достоверности ассоциации с когнитивными нарушениями и с шизофренией [27, 28, 37–41].

Характеристики генов и генетических маркеров приведены в табл. 1.

ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции из цельной венозной крови. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью TaqMan-проб фирмы “Applied Biosystems” (США) по протоколу производителя на амплификаторе с детекцией ПЦР в реальном времени фирмы “Bio-Rad” (США).

Тестирование равновесия ХардиВайнберга (РХВ) и расчет ожидаемой гетерозиготности выполняли общепринятыми методами популяционной биометрии. Сравнение частот аллелей и генотипов в группах проводили с помощью критерия максимального правдоподобия χ^2 (МП χ^2). Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов *OR* и его 95%-ного доверительного интервала (95% CI). Анализ межгенных взаимодействий проводили методом снижения многомерной размерности в программе MDR (Multifactor Dimensionality Reduction). Для анализа биологических процессов, связанных с изучаемыми генами, и генных сетей использовали биоинформатические ресурсы DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) и STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [42–44].

Таблица 1. Маркеры и гены для анализа ассоциаций с болезнью Альцгеймера

№	SNP	Минорный аллель	Ген/кодируемый продукт
1	rs1502844	C	<i>SLCO6A1</i> /семейство переносчика растворенного органического аниона, элемент 6A1
2	rs9960767	C	<i>TCF4</i> /транскрипционный фактор 4
3	rs2312147	T	<i>VRK2</i> /киназа вируса коровьей оспы 2
4	rs3131296	T	<i>NOTCH4</i> /нейрогенный локус, гомолог 4 белка Notch
5	rs12807809	C	<i>NRGN</i> /нейрогранин
6	rs1572299	C	Межгенный регион <i>TLR4</i> /Toll-подобный рецептор типа 4/ и <i>DBC1</i> /опухольный белок, который делетирован при раке мочевого пузыря, трансляционно контролируется псевдогеном 1
7	rs17594526	T	<i>TCF4</i> /транскрипционный фактор 4
8	rs1344706	C	<i>ZNF804A</i> /белок цинкового пальца 804A
9	rs16977195	G	<i>AGBL1</i> /АТФ/ГТФ-связывающий белок 1, цитозольная карбоксипептидаза
10	rs7341475	A	<i>RELN</i> /рилин
11	rs8020441	G	<i>ZFP64P1</i> /белок цинкового пальца 64, гомолог псевдогена 1 у мыши
12	rs2247572	T	<i>KCNB2</i> /потенциалзависимый калиевый канал, Shab-связанное подсемейство, элемент 2
13	rs2616984	G	<i>CSMD1 (KIAA1890)</i> /CUB и Sushi множественный домен 1
14	rs2229741	T	<i>NRIP1</i> /белок 1, взаимодействующий с ядерным рецептором
15	rs2252521	T	<i>CPVL</i> /вителлогениноподобная карбоксипептидаза

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частоты аллелей и генотипов и ассоциации генетических маркеров с болезнью Альцгеймера

Численности генотипов, частоты минорных аллелей, ожидаемая гетерозиготность и достигнутый уровень значимости соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при РХВ у больных и в контрольной группе представлены в табл. 2. Из 30 исследованных распределений генотипов наблюдалось два отклонения от РХВ: для однонуклеотидных полиморфных маркеров rs1344706 гена *ZNF804A* и rs16977195 гена *AGBL1* в контрольной выборке. В целом, частоты аллелей у больных и в контроле близки и находятся в пределах вариаций, наблюдаемых в европеоидных популяциях по данным проектов “Нар-Мар” и “1000 геномов” [45, 46].

Сравнение частот генотипов и расчет отношения шансов развития болезни приведены в табл. 3. Для одного из 15 SNP при сравнении исследованных выборок выявлена статистически значимая ассоциация с БА. Минорный аллель rs2616984 гена *CSMD1* достоверно чаще встречался среди больных с БА по сравнению с контрольной группой ($OR = 1.50$, $95\% CI = 1.07-2.09$, $p\text{-value} = 0.018$). Очень близкие к достоверным при $p < 0.05$ различия выявлены также для маркеров генов *NOTCH4* и *NR1P1*. Редкий аллель rs3131296 гена *NOTCH4* дает даже более высокое соотношение шансов по

сравнению с *CSMD1* ($OR = 1.53$, $95\% CI = 0.98-2.39$, $p\text{-value} = 0.06$), однако в силу низкого уровня полиморфизма различия не достигают порога статистической значимости. Мажорный аллель rs2229741 гена *NR1P1* на 9% чаще наблюдался у больных с БА по сравнению с контролем ($OR = 1.35$, $95\% CI = 0.99-1.85$, $p\text{-value} = 0.061$). Ассоциированные с БА SNP *CSMD1* и *NOTCH4* расположены в интронных областях генов, а rs2229741 представлен синонимичной заменой нуклеотида в 75-ом глициновом кодоне гена *NR1P1*.

Анализ межгенных взаимодействий

Анализ межгенных взаимодействий изучаемых локусов при БА проводили методом снижения многомерной размерности (MDR), применяя алгоритм расширенного поиска (exhaustive search algorithm). В результате MDR-анализа выявлена одна комбинация двух локусов и две трехлокусные комбинации, обладающие значимым кумулятивным эффектом в отношении БА с высокой кросс-валидационной согласованностью. Модель сочетания генотипов двух генов (*CSMD1* и *NR1P1*) демонстрирует 8 из 10 непротиворечивых кросс-валидаций с общей балансовой точностью 57% и специфичностью 70%. Сочетание генотипов локусов *NOTCH4*, *CSMD1* и *NR1P1* дает значение CVC 10 из 10. Балансовая точность модели равна 62%, специфичность составляет 77%.

Таблица 2. Распределение генотипов и частоты аллелей у больных и в контрольной группе

№	SNP	MA	Больные					Контроль				
			11	12	22	MAF	p-value	11	12	22	MAF	p-value
1	rs1502844	C	43	47	18	0.384	0.404	120	122	43	0.365	0.197
2	rs9960767	C	99	9	0	0.042	0.651	265	19	0	0.034	0.560
3	rs2312147	T	39	49	20	0.412	0.509	111	126	46	0.385	0.313
4	rs3131296	T	77	27	4	0.162	0.409	224	58	3	0.112	0.725
5	rs12807809	C	75	31	1	0.162	0.554	163	105	17	0.163	0.491
6	rs1572299	C	32	53	22	0.458	0.904	93	125	67	0.454	0.513
7	rs17594526	T	106	2	0	0.009	0.923	276	8	0	0.014	0.810
8	rs1344706	C	43	47	18	0.384	0.404	130	112	42	0.345	0.032
9	rs16977195	G	96	11	1	0.060	0.500	241	39	5	0.086	0.029
10	rs7341475	A	76	31	1	0.153	0.258	207	73	4	0.143	0.389
11	rs8020441	G	63	42	3	0.222	0.194	174	101	10	0.212	0.314
12	rs2247572	T	74	29	5	0.180	0.336	199	74	11	0.169	0.223
13	rs2616984	G	47	43	17	0.360	0.187	154	105	25	0.273	0.249
14	rs2229741	T	37	49	22	0.430	0.437	72	138	75	0.505	0.595
15	rs2252521	T	69	33	6	0.208	0.444	163	105	17	0.244	0.987

Примечание. MA – минорный (редкий) аллель. Численности генотипов: 11 – гомозиготы по частому аллелю, 12 – гетерозиготы, 22 – гомозиготы по редкому аллелю. MAF – частота минорного аллеля; p-value – достигнутый уровень значимости соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга (РХВ). Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые отклонения от РХВ.

Еще одна модель кумулятивного действия полиморфных вариантов разных локусов, обладающая полной CVC-согласованностью (10 из 10), включает гены *TLR4*, *CSMD1* и *NRIP1*. Балансовая точность этой модели (66%) чуть выше, а специфичность (68%) чуть ниже, чем для модели, включающей *NOTCH4*. Примечательно, что в значимые прогностические модели эпистатического взаимодействия входят генетические варианты (SNP генов *NOTCH4*, *CSMD1* и *NRIP1*), для которых показана значимая или близкая к значимой ассоциация с БА на уровне отдельных генов.

Для комбинаций взаимодействующих локусов, обладающих высокой прогностической точностью в отношении БА по данным MDR-анализа, мы рассчитали соотношение шансов развития заболевания у носителей различных сочетаний генотипов, встречающихся в наших выборках более 5 раз для двухлокусных сочетаний и более 3 раз для трехлокусных. Наиболее рискованным сочетанием генотипов локусов *CSMD1* и *NRIP1* оказались двойные гомозиготы по ассоциированным с БА аллелям: *CSMD1* GG/*NRIP1* CC ($OR = 4.05$, 95% CI = 1.63–10.03, p -value = 0.0011). Для модели, включающей *NOTCH4*, *CSMD1* и *NRIP1* сочетание генотипов TT/GG/CC также может рассматриваться как предрасполагающее к БА ($OR = 4.47$, 95% CI = 1.60–12.46, p -value = 0.0045).

Биоинформатический анализ биологических процессов и белковых взаимодействий, связанных с генами болезни Альцгеймера

С целью выявить взаимосвязи между изучаемыми генами, их взаимодействия с другими подтвержденными генами ранней и поздней форм БА, а также оценить потенциальную биологическую значимость выявленных ассоциаций, мы провели функциональную аннотацию и анализ белок-белковых взаимодействий генов БА с помощью веб-ресурсов DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery), KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) и STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) [28–30]. Список анализируемых генов включал 15 генов, ассоциации SNP которых с БА изучались в этой работе (*SLCO6A1*, *TCF4*, *VRK2*, *NOTCH4*, *NRGN*, *TLR4*, *DBC1*, *ZNF804A*, *AGBL1*, *RELN*, *ZFP64*, *KCNB2*, *CSMD1* (*KIAA1890*), *NRIP1*, *CPVL*); известные гены ранней семейной формы БА (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*); кандидатные гены БА, исследованные ранее (*EPHA1*, *CD33*, *CD2AP*, *ATP5H*, *EXOC4*, *CTNNA3*, *RNF219*, *TREM2*) и гены, ассоциированные с поздней формой БА, что подтверждено более чем в одном GWAS-анализе (*APOE*, *APOJ* (*CLU*), *PICALM*, *CR1*, *GAB2*, *TOMM40*, *APOC1*, *MS4A*, *BIN1*, *ABCA7*).

В таблице 4 представлены наиболее значимые биологические пути, процессы и молекулярные функции, обогащенные изучаемыми генами БА. В

Таблица 3. Анализ ассоциаций генетических маркеров с болезнью Альцгеймера

№ SNP	Ген	SNP	MA	MAF (БА)	MAF (Конт.)	OR	95% CI	p-value
1	<i>SLCO6A1</i>	rs1502844	C	0.38	0.36	1.09	0.79–1.50	0.616
2	<i>TCF4</i>	rs9960767	C	0.04	0.03	1.26	0.56–2.82	0.580
3	<i>VRK2</i>	rs2312147	T	0.41	0.39	1.14	0.83–1.57	0.415
4	<i>NOTCH4</i>	rs3131296	T	0.16	0.11	1.53	0.98–2.39	0.060
5	<i>NRGN</i>	rs12807809	C	0.16	0.16	0.99	0.65–1.52	0.970
6	<i>TLR4/DBC1</i>	rs1572299	C	0.46	0.45	1.02	0.72–1.35	0.920
7	<i>TCF4</i>	rs17594526	T	0.01	0.01	0.65	0.14–3.11	0.856
8	<i>ZNF804A</i>	rs1344706	C	0.38	0.35	1.18	0.86–1.64	0.310
9	<i>AGBL1</i>	rs16977195	G	0.06	0.09	0.68	0.36–1.28	0.230
10	<i>RELN</i>	rs7341475	A	0.15	0.14	1.08	0.70–1.68	0.762
11	<i>ZFP64P1</i>	rs8020441	G	0.22	0.21	1.06	0.73–1.55	0.762
12	<i>KCNB2</i>	rs2247572	T	0.18	0.17	1.08	0.72–1.63	0.702
13	<i>CSMD1</i>	rs2616984	G	0.36	0.27	1.50	1.07–2.09	0.018
14	<i>NRIP1</i>	rs2229741	T	0.43	0.51	0.74	0.54–1.01	0.061
15	<i>CPVL</i>	rs2252521	T	0.21	0.24	0.87	0.60–1.28	0.486

Примечание. OR – отношение шансов для минорного аллеля; 95% CI – его 95% доверительный интервал; p-value – уровень значимости OR.

Таблица 4. Наиболее значимые генные онтологии для генов болезни Альцгеймера

Код	Онтология	Число генов	Вовлеченные гены	p-value	FDR
KEGG-пути					
hsa05010	Болезнь Альцгеймера	5	<i>APP, PSEN1, APOE, PSEN2, ATP5H</i>	0.0010	0.86
hsa04330	Сигнальный путь Notch	3	<i>PSEN1, PSEN2, NOTCH4</i>	0.0081	6.47
Биологические процессы					
GO:0002253	Активация иммунного ответа	5	<i>CRI, PSEN1, PSEN2, CLU, TLR4</i>	0.00003	0.06
GO:0050818	Регуляция коагуляции	4	<i>PSEN1, APOE, PSEN2, TLR4</i>	0.00008	0.12
GO:0007219	Сигнальный путь Notch	4	<i>APP, PSEN1, PSEN2, NOTCH4</i>	0.00016	0.25
GO:0007176	Регуляция активности эпидермального фактора роста	3	<i>APP, PSEN1, PSEN2</i>	0.00042	0.65
GO:0010469	Регуляция активности рецепторов	3	<i>APP, PSEN1, PSEN2</i>	0.00062	0.95
GO:0051605	Созревание белков за счет разрушения пептидных связей	4	<i>CRI, PSEN1, PSEN2, CLU</i>	0.00072	1.11
GO:0016192	Везикулярный транспорт	7	<i>ABCA7, APP, PICALM, PSEN1, APOE, EXOC4, BIN1</i>	0.00098	1.50
GO:0006897	Эндоцитоз	5	<i>ABCA7, APP, PICALM, APOE, BIN1</i>	0.00102	1.57
GO:0042325	Регуляция фосфорилирования	6	<i>APP, PSEN1, APOE, PSEN2, RELN, TLR4</i>	0.00242	3.68
GO:0002366	Активация лейкоцитов при иммунном ответе	4	<i>PSEN1, PSEN2, TLR4</i>	0.00249	3.78
GO:0030900	Развитие передних долей мозга	4	<i>APP, PSEN1, PSEN2, RELN</i>	0.00370	5.58
GO:0010876	Локализация липидов	4	<i>ABCA7, APOE, CLU, NRIP1</i>	0.00406	6.10
GO:0006979	Ответ на окислительный стресс	4	<i>PSEN1, APOE, CLU, TLR4</i>	0.00458	6.87
GO:0045859	Регуляция протеинкиназной активности	5	<i>APP, PSEN1, APOE, PSEN2, RELN</i>	0.00524	7.82
GO:0051338	Регуляция трансферазной активности	5	<i>APP, PSEN1, APOE, PSEN2, RELN</i>	0.00683	10.07
GO:0010604	Положительная регуляция процессов метаболизма макромолекул	7	<i>APP, PSEN1, APOE, NOTCH4, TLR4, TCF4, NRIP1</i>	0.00718	10.56
GO:0016044	Организация мембраны	5	<i>ABCA7, APP, PICALM, APOE, BIN1</i>	0.00742	10.90
GO:0048167	Регуляция синаптической пластичности	3	<i>PSEN1, APOE, PSEN2</i>	0.00769	11.2
Молекулярные функции					
GO:0045296	Связывание кадгерина	3	<i>PSEN1, CD2AP, CTNNA3</i>	0.00055	0.64
GO:0050839	Связывание молекул клеточной адгезии	3	<i>PSEN1, CD2AP, CTNNA3</i>	0.00174	2.03
GO:0008233	Пептидазная активность	6	<i>APP, AGBL1, PSEN1, PSEN2, RELN, CPVL</i>	0.00569	6.77
GO:0046982	Активность по гетеродимеризации белков	4	<i>APOE, NOTCH4, TCF4, BIN1</i>	0.00893	9.98

Примечание. В таблицу включены пути и генные онтологии с p -value < 0.01 или FDR < 10 (по DAVID). Идентификаторы (коды) биологических путей даны по базе данных KEGG, идентификаторы генных онтологий (биологических процессов и молекулярных функций) – по базе Gene Ontology. Исследованные в данной работе локусы выделены полужирным шрифтом.

таблицу включены категории, имеющие $p < 0.05$ или $FDR < 10$ по результатам кластеризации в ресурсе DAVID. Уровень значимости (p -value) в данном случае оценивает неслучайность попадания группы генов в категорию. FDR (false discovery rate) оценивает пропорцию ложноположительных результатов (ожидаемый процент случаев, в которых нулевая гипотеза отклонена неправомочно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Функции и роль генов, ассоциированных с болезнью Альцгеймера

В данной работе мы выявили ассоциацию БА в российской популяции с маркерами или сочетаниями генотипов трех генов: *CSMD1*, *NOTCH4*, и *NRIP1*, для которых ранее с высокой достоверностью выявлена связь с когнитивными эндотипами в GWAS-анализах.

Продукт гена *CSMD1* — мембранный белок, содержащий множественные домены SUB и Sushi и предположительно вовлеченный в контроль каскада комплемента [47]. Ген *CSMD1* экспрессируется во всех тканях, однако наиболее высокий уровень продукта обнаружен в тканях головного мозга. Его роль в нейродегенеративных и неврологических заболеваниях может быть связана с тем, что белки, вовлеченные в регуляцию комплемента, могут также контролировать синаптические функции [48, 49]. Ранее для rs2616984 этого гена по данным GWAS выявлена связь с когнитивными способностями [28]. Недавно обнаружена ассоциация rs73660619 *CSMD1* со скоростью снижения когнитивных функций при БА [50]. Другие маркеры гена, по данным GWAS и репликативных исследований, ассоциированы с шизофренией [51–53], связаны с подверженностью к семейной миоклональной эпилепсии [54] и биполярному расстройству [55]. Нами также подтверждена ассоциация *CSMD1* с шизофренией в российской популяции (неопубликованные данные).

Ген *NOTCH4* кодирует один из белков семейства трансмембранных протеинов Notch. Белок NOTCH4 — рецептор для мембраносвязываемых лигандов и после активации лигандами Jagged1, Jagged2 и Delta1 в комплексе с белками RBPJ/RBP-SUH участвует в активации транскрипции, регулируя гены, вовлеченные в дифференцировку и пролиферацию клеток, а также в апоптоз. Ген *NOTCH4* был описан в одном из первых полногеномных исследований шизофрении [37]. Возможное участие *NOTCH4* в молекулярных основах патогенеза БА может быть связано с двумя патогенетическими механизмами. Во-первых, белки Notch 1–4 взаимодействуют с пресенилинами, и нарушение этого взаимодействия может играть роль в манифестации БА [56, 57]. Во-вторых, мутации в сходном с Notch4 белке Notch3 считаются

причиной редкого наследственного заболевания — церебральной аутосомно-доминантной артериопатии с субкортикальным инфарктом и лейкоэнцефалопатией (CADASIL), — патогенез которого имеет сходство с БА [58, 59]. В ранее проведенных исследованиях ассоциации SNP гена *NOTCH4* с БА не выявлено [60, 61].

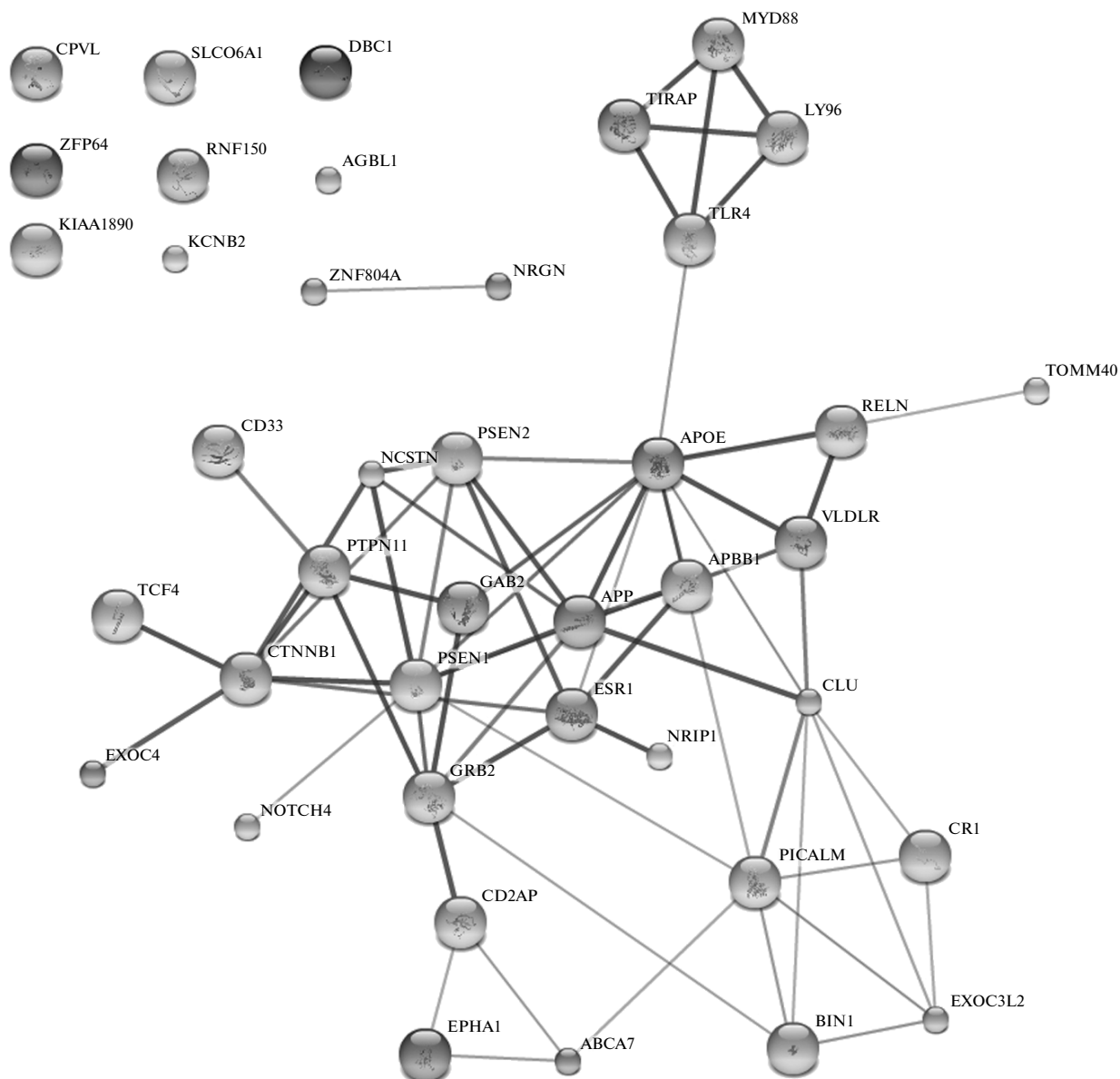
Продукт гена *NRIP1* — ядерный белок RIP140, взаимодействующий с рецептором эстрогена ESR1 и рецепторами глюкокортикоидов NR3C1 и NR3C2. По данным GWAS, полиморфный вариант rs2229741 этого гена ассоциирован с когнитивными параметрами [27]. Вовлеченность RIP140 в молекулярные механизмы патогенеза БА может быть связана с глюкокортикоид-опосредованной регуляцией транскрипции в нервной ткани. В частности, показано, что прогрессирование потери памяти при БА опосредуется “down”-регуляцией глюкокортикоидных рецепторов, с которыми взаимодействуют RIP-белки в гиппокампе [62]. Выявлены также механизмы таргетной репрессии генной активности через взаимодействие RIP140 с лигандами [63, 64].

Таким образом, основой эпистатических взаимодействий генов, выявленных нами как ассоциированных с БА (по отдельности или в сочетании), может быть их участие в разных молекулярных механизмах угнетения когнитивных функций при болезни.

Из анализа биологических процессов и функций очевидно, что изучаемые гены играют вспомогательную (модулирующую, модифицирующую) роль в процессах, лежащих в основе патогенеза БА, поскольку они не попадают в основные известные биологические категории, где представлены гены наследственной формы БА и *APOE*. Из сигнальных путей, выявленных в базе данных KEGG, можно отметить путь Notch. Как отмечено выше, в этом сигнальном пути, наряду с пресенилинами, участвует ген *NOTCH4*, ассоциация которого с БА показана нами в этом исследовании.

Ген *TLR4*, для которого не выявлено ассоциации с БА на уровне отдельного маркера, все-таки входит в значимую комбинацию эпистатически взаимодействующих локусов. Этот ген широко представлен в списке биологических процессов в группе вместе с пресенилинами, предшественником амилоида и *APOE*. *TLR4* задействован в различных регуляторных процессах, вовлеченных, вероятно, в патогенез БА.

Ген *NRIP1*, по данным биоинформатического анализа, участвует в локализации липидов и в процессах регуляции метаболизма макромолекул, что согласуется с его функцией модулятора транскрипции глюкокортикоид-регулируемых генов. В регуляции процессов метаболизма макромолекул участвуют и другие гены, исследованные в



Сеть белок-белковых взаимодействий продуктов генов болезни Альцгеймера и их генов-партнеров. Размер круга соответствует размеру белка. Толщина линии между белками отражает доверительный уровень (confidence) связи.

работе: *NOTCH4*, *TLR4*, *TCF4*. Среди остальных генных онтологий, в которые включены изученные гены, можно назвать регуляцию процессов фосфорилирования, развитие передних долей мозга, пептидазную активность и гетеродимеризацию белков.

Представленная на рисунке сеть белок-белковых взаимодействий, полученная с помощью ресурса STRING, подтверждает взаимосвязи между генами, выявленные при анализе биологических путей и процессов. Центральное место в сети генов БА с наибольшим числом взаимодействий занимают гены *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* и *APOE*. Исследованные в данной работе гены либо расположены на периферии сети, либо не входят в нее.

NRIP1 связан с остальными участниками сети через взаимодействие с рецептором эстрогена *ESR1*, *NOTCH4* – через взаимодействие с *PSEN1*. Ген *CSMD1* (*KIAA1890*), показавший в нашем исследовании наиболее четкую ассоциацию с БА, не входит в общую сеть. Вероятно, его вовлеченность в патогенез болезни может быть связана с другими механизмами. Возможная роль *CSMD1* в регуляции синаптических функций не имеет пока экспериментальных доказательств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного нами репликативного анализа ассоциаций с БА генетических мар-

кером, ранее выявленных в GWAS как маркеров когнитивных функций, получен ряд новых ассоциаций. На российской популяции реплицирована ассоциация маркеров гена *CSMD1* с заболеванием, показана вероятная вовлеченность в подверженность к БА с поздним проявлением генов *NOTCH4* и *NRIP1*, а также выявлены комбинации взаимодействующих генов, ассоциированные с БА. Исследованные гены не входят в основные известные процессы, вовлеченные в патогенез БА. При биоинформатическом анализе биологических функций выявленных нами генов обнаружено, что эти гены могут играть модулирующую или модифицирующую роль, соучаствуя в различных регуляторных и сигнальных путях, задействованных в патогенезе БА. Дальнейшее исследование этих путей и процессов может быть источником постепенного заполнения пробелов в “недостающей наследуемости” БА и ее когнитивных эндотипов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (12-04-00595) и 7-й рамочной программы Евросоюза (проект 242257 ADAMS).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rocca W.A., Hofman A., Brayne C., Breteler M.M., Clarke M., Copeland J.R., Dartigues J.F., Engedal K., Hagnell O., Heeren T.J., et al. 1991. Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: a collaborative study of 1980–1990 prevalence findings. The EURODEM-Prevalence Research Group. *Ann. Neurol.* **30**, 381–390.
- Гаврилова С.И. 1999. Психические расстройства при первичных дегенеративных (атрофических) процессах головного мозга. *Руководство по психиатрии*, т. 2. Ред. Тиганова А.С. М.: Медицина, С. 57–117.
- Sherrington R., Rogaev E.I., Liang Y., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Chi H., Lin C., Li G., Holman K., Tsuda T., Mar L., Foncin J.F., Bruni A.C., Montesi M.P., Sorbi S., Rainero I., Pinessi L., Nee L., Chumakov I., Pollen D., Brookes A., Sanseau P., Polinsky R.J., Wasco W., Da Silva H.A., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Tanzi R.E., Roses A.D., Fraser P.E., Rommens J.M., St George-Hyslop P.H. 1995. Cloning of a gene bearing missense mutation in early onset familial Alzheimer's disease. *Nature.* **375**, 754–760.
- Rogaev E.I., Sherrington R., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Liang Y., Chi H., Lin C., Holman K., Tsuda T., et al. 1995. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature.* **376**, 775–778.
- Raux G., Guyant-Marechal L., Martin C., Bou J., Penet C., Brice A., Hannequin D., Frebourg T., Campion D. 2005. Molecular diagnosis of autosomal dominant early onset Alzheimer's disease: an update. *J. Med. Genet.* **42**, 793–795.
- Janssen J.C., Beck J.A., Campbell T.A., Dickinson A., Fox N.C., Harvey R.J., Houlden H., Rossor M.N., Collinge J. 2003. Early onset familial Alzheimer's disease: mutation frequency in 31 families. *Neurology.* **60**, 235–239.
- Bird T.D. 1995. Apolipoprotein E genotyping in the diagnosis of Alzheimer's disease: a cautionary view. *Ann. Neurol.* **38**, 2–4.
- Bertrand P., Poirier J., Oda T., Finch C.E., Pasinetti G.M. 1995. Association of apolipoprotein E genotype with brain levels of apolipoprotein E and apolipoprotein J (clusterin) in Alzheimer disease. *Mol. Brain Res.* **33**, 174–178.
- Coon K.D., Myers A.J., Craig D.W., Webster J.A., Pearson J.V., Lince D.H., Zismann V.L., Beach T.G., Leung D., Bryden L., Halperin R.F., Marlowe L., Kaleem M., Walker D.G., Ravid R., Heward C.B., Rogers J., Papassotiropoulos A., Reiman E.M., Hardy J., Stephan D.A. 2007. A high-density whole-genome association study reveals that APOE is the major susceptibility gene for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *J. Clin. Psychiatry.* **68**, 613–618.
- Reiman E.M., Webster J.A., Myers A.J., Hardy J., Dunckley T., Zismann V.L., Joshupura K.D., Pearson J.V., Hu-Lince D., Huentelman M.J., Craig D.W., Coon K.D., Liang W.S., Herbert R.H., Beach T., Rohrer K.C., Zhao A.S., Leung D., Bryden L., Marlowe L., Kaleem M., Mastroeni D., Grover A., Heward C.B., Ravid R., Rogers J., Hutton M.L., Melquist S., Petersen R.C., Alexander G.E., Caselli R.J., Kukull W., Papassotiropoulos A., Stephan D.A. 2007. GAB2 alleles modify Alzheimer's risk in APOE epsilon4 carriers. *Neuron.* **54**, 713–720.
- Feulner T.M., Laws S.M., Friedrich P., Wagenpfeil S., Wurst S.H., Riehle C., Kuhn K.A., Krawczak M., Schreiber S., Nikolaus S., Förstl H., Kurz A., Riemschneider M. 2010. Examination of the current top candidate genes for AD in a genome-wide association study. *Mol. Psychiatry.* **15**, 756–766.
- Lambert J.C., Heath S., Even G., Campion D., Sleegers K., Hiltunen M., Combarros O., Zelenika D., Bullido M.J., Tavernier B., Letenneur L., Bettens K., Berr C., Pasquier F., Fiévet N., Barberger-Gateau P., Engelborghs S., De Deyn P., Mateo I., Franck A., Helisalmi S., Porcellini E., Hanon O.; European Alzheimer's Disease Initiative Investigators. 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **41**, 1094–1099.
- Harold D., Abraham R., Hollingworth P., et al. 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **41**, 1088–93.
- Kim S., Swaminathan S., Shen L., Risacher S.L., Nho K., Foroud T., Shaw L.M., Trojanowski J.Q., Potkin S.G., Huentelman M.J., Craig D.W., DeChairo B.M., Aisen P.S., Petersen R.C., Weiner M.W., Saykin A.J.; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2011. Genome-wide association study of CSF biomarkers Abeta1-42, t-tau, and p-tau181p in the ADNI cohort. *Neurology.* **76**, 69–79.
- Hu X., Pickering E., Liu Y.C., Hall S., Fournier H., Katz E., DeChairo B., John S., Van Eerdewegh P., Soares H.; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initia-

- tive. 2011. Meta-analysis for genome-wide association study identifies multiple variants at the BIN1 locus associated with late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One*. **6**, e16616
16. Naj A.C., Jun G., Beecham G.W., et al. 2011. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **43**, 436–441.
 17. Hollingworth P., Harold D., Sims R., et al. 2011. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **43**, 429–435. doi: 10.1038/ng.803.
 18. Antúnez C., Boada M., González-Pérez A., et al. 2011. The membrane-spanning 4-domains, subfamily A (MS4A) gene cluster contains a common variant associated with Alzheimer's disease. *Genome Med.* **3**, 33. doi: 10.1186/gm249
 19. Kamboh M.I., Barmada M.M., Demirci F.Y., et al. 2012. Genome-wide association analysis of age-at-onset in Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry.* **17**, 1340–1346
 20. Kamboh M.I., Demirci F.Y., Wang X., et al. 2012. Genome-wide association study of Alzheimer's disease. *Transl. Psychiatry.* **15**, e117. doi: 10.1038/tp.2012.45.
 21. Cruchaga C., Kauwe J.S., Harari O., et al. 2013. GWAS of cerebrospinal fluid tau levels identifies risk variants for Alzheimer's disease. *Neuron.* **78**, 256–268.
 22. European Alzheimer's Disease Initiative (EADI). 2013. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **45**, 1452–1458.
 23. Коровайцева Г.И., Щербатых Т.В., Селезнева Н.В., Гаврилова С.И., Голимбет В.Е., Воскресенская Н.И., Рогаев Е.И. 2001. Генетическая ассоциация между аллелями гена аполипротеина Е (APOE) и различными формами болезни Альцгеймера. *Генетика.* **37**, 529–535
 24. Голеникина С.А. Гольцов А.Ю., Кузнецова И.Л., Григоренко А.П., Андреева Т.В., Решетов Д.А., Кунничева С.С., Шагам Л.И., Морозова И.Ю., Голденкова-Павлова И.В., Шимшилашвили Х., Вячеслава А.О., Фасхутдинова Г., Гареева А.Э., Зайнуллина А.Г., Хуснутдинова Э.К., Пузырев В.П., Степанов В.А., Колотвин А.В., Самоходская Л.М., Селезнева Н.Д., Гаврилова С.И., Рогаев Е.И. 2010. Анализ общего полиморфизма в гене кластерина (CLU/APOJ) при болезни Альцгеймера в Российских популяциях. *Молекуляр. биология.* **44**, 620–626.
 25. Низамутдинов И.И., Андреева Т.В., Степанов В.А., Марусин А.В., Рогаев Е.И., Заседателев А.С., Наседкина Т.В. 2013. Биочип для выявления генетических маркеров риска развития спорадической формы болезни Альцгеймера у славянского населения России. *Молекуляр. биология.* **47**, 949–958.
 26. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. 2010. *Acta Naturae.* **2**, 18–34.
 27. Need A.C., Attix D.K., McEvoy J.M., et al. 2009. A genome-wide study of common SNPs and CNVs in cognitive performance in the CANTAB. *Hum. Mol. Genet.* **18**, 4650–4661
 28. Cirulli E.T., Kasperaviciute D., Attix D.K., Need A.C., Ge D., Gibson G., Goldstein D.B. 2010. Common genetic variation and performance on standardized cognitive tests. *Eur. J. Hum. Genet.* **18**, 815–820.
 29. De Jager P.L., Shulman J.M., Chibnik L.B., et al. 2012. A genome-wide scan for common variants affecting the rate of age-related cognitive decline. *Neurobiol. Aging.* **33**, 1017.e1–15. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.09.033.
 30. LeBlanc M., Kulle B., Sundet K., Agartz I., Melle I., Djurovic S., Frigessi A., Andreassen O.A. 2012. Genome-wide study identifies PTPRO and WDR72 and FOXQ1-SUMO1P1 interaction associated with neurocognitive function. *J. Psychiatr. Res.* **46**, 271–278.
 31. Davies G., Harris S.E., Reynolds C.A., et al. 2014. A genome-wide association study implicates the APOE locus in nonpathological cognitive ageing. *Mol. Psychiatry.* **19**, 76–87.
 32. Prestia A. 2011. Alzheimer's disease and schizophrenia: evidence of a specific, shared molecular background. *Future Neurology.* **6**, 17–21.
 33. White K.E., Cummings J.L. 1996. Schizophrenia and Alzheimer's disease: clinical and pathophysiologic analogies. *Compr. Psychiatry.* **37**, 188–195.
 34. Horesh Y., Katsel P., Haroutunian V., Domany E. 2011. Gene expression signature is shared by patients with Alzheimers disease and schizophrenia at the superior temporal gyrus. *Eur. J. Neurol.* **18**, 410–424.
 35. American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed. Washington, DC.
 36. McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M. 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDSADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* **34**, 939–944.
 37. Stefansson H., Ophof R.A., Steinberg S., et al. 2009. Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature.* **460**, 744–747.
 38. International Schizophrenia Consortium, Purcell S.M., Wray N.R., Stone J.L., Visscher P.M., O'Donovan M.C., Sullivan P.F., Sklar P. 2009. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature.* **460**, 748–752
 39. O'Donovan M.C., Craddock N., Norton N., et al. 2008. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat. Genet.* **40**, 1053–1055.
 40. Sullivan P.F., Lin D., Tzeng J.Y., et al. 2008. Genome-wide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1. *Mol. Psychiatry.* **13**, 570–584.
 41. Shifman S., Johannesson M., Bronstein M., et al. 2008. Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. *PLoS Genet.* **4**, e28
 42. Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. 2009. *Nat. Protoc.* **4**, 44–57.
 43. Kanehisa, M., Goto, S., Sato Y., Furumichi M., Tanabe M. 2012. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular datasets. *Nucl. Acids Res.* **40**, D109–D114.

44. Franceschini A., Szklarczyk D., Frankild S., et al. 2013. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucl. Acids Res.* **41**, D808–815.
45. The 1000 Genomes Project Consortium. 2012. An integrated map of genetic variation from 1092 human genomes. *Nature.* **491**, 56–63.
46. The International HapMap 3 Consortium. 2010. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature.* **467**, 52–58.
47. Kraus D.M., Elliott G.S., Chute H., et al. 2006. CSMD1 is a novel multiple domain complement-regulatory protein highly expressed in the central nervous system and epithelial tissues. *J. Immunol.* **176**, 4419–4430.
48. Gunnarsen J.M., Kim M.H., Fuller S.J., et al. 2001. Sez-6 proteins affect dendritic arborization patterns and excitability of cortical pyramidal neurons. *Neuron.* **56**, 621–639.
49. Gendrel M., Rapti G., Richmond J.E., Bessereau J.L. 2009. A secreted complement control-related protein ensures acetylcholine receptor clustering. *Nature.* **461**, 992–996.
50. Sherva R., Tripodis Y., Bennett D.A., et al. 2014. Genome-wide association study of the rate of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **10**, 45–52.
51. Bergen S.E., O'Dushlaine C.T., Ripke S., et al. 2012. Genome-wide association study in a Swedish population yields support for greater CNV and MHC involvement in schizophrenia compared with bipolar disorder. *Mol. Psychiatry.* **17**, 880–886.
52. Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. 2011. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci. *Nat. Genet.* **43**, 969–976. doi: 10.1038/ng.940.
53. Havik B., Le Hellard S., Rietschel M., et al. 2011. The complement control-related genes CSMD1 and CSMD2 associate to schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* **70**, 35–42.
54. Shimizu A., Asakawa S., Sasaki T., et al. 2003. A novel giant gene CSMD3 encoding a protein with CUB and sushi multiple domains: a candidate gene for benign adult familial myoclonic epilepsy on human chromosome 8q23.3–q24.1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **309**, 143–54.
55. Xu W., Cohen-Woods S., Chen Q., et al. 2014. Genome-wide association study of bipolar disorder in Canadian and UK populations corroborates disease loci including SYNE1 and CSMD1. *BMC Med. Genet.* **15**, 2.
56. Hitoshi S., Alexson T., Tropepe V., et al. 2003. Notch pathway molecules are essential for the maintenance, but not the generation, of mammalian neural stem cells. *Genes Dev.* **16**, 846–858.
57. Selkoe D., Kopan R. 2003. Notch and Presenilin: regulated intramembrane proteolysis links development and degeneration. *Annu. Rev. Neurosci.* **26**, 565–597.
58. Kalaria R.N., Low W.C., Oakley A.E., Slade J.Y., Ince P.G., Morris C.M., Mizuno T. 2003. CADASIL and genetics of cerebral ischaemia. *J. Neural Transm. Suppl.* **63**, 75–90.
59. Thijs V., Robberecht W., De Vos R., Sciot R. 2003. Coexistence of CADASIL and Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **74**, 790–792.
60. Lambert J.C., Mann D., Harris J., et al. 2004. Association study of *Notch 4* polymorphisms with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **75**, 377–381.
61. Shibata N., Ohnuma T., Higashi S. 2007. Genetic association between *Notch4* polymorphisms and Alzheimer's disease in the Japanese population. *J. Gerontol. Biol. Sci.* **62A**, 350–351.
62. Escribano L., Simon A.M., Perez-Mediavilla A., Salazar-Colocho P., Del Rio J., Frechilla, D. 2009. Rosiglitazone reverses memory decline and hippocampal glucocorticoid receptor down-regulation in an Alzheimer's disease mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **379**, 406–410.
63. Christian M., Kiskinis E., Debevec D., Leonardsson G., White R., Parker M.G. 2005. RIP140-targeted repression of gene expression in adipocytes. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 9383–9391.
64. Izzo A., Manco R., Bonglio F. 2014. NRIP1/RIP140 siRNA-mediated attenuation counteracts mitochondrial dysfunction in Down syndrome. *Hum. Mol. Genet.* **1–14**. doi: 10.1093/hmg/ddu157.