

L'ipotesi neuroevolutiva della schizofrenia: il ruolo della via di Wnt

*The Wnt cascade and the neurodevelopmental hypothesis
of schizophrenia*

I. ARDIZZONE, F. NARDECCHIA, T.I. CARRATELLI

U.O.C. A, Dipartimento di Scienze Neurologiche, Psichiatriche e Riabilitative dell'Età
Evolutiva, Sapienza Università di Roma

PAROLE CHIAVE. – Schizofrenia - Ipotesi neuroevolutiva - Glicogeno sintasi chinasi-3 (GSK-3)
- Via di Wnt - Apoptosi

KEY WORDS. – Schizophrenia - Neurodevelopmental hypothesis - Glicogen synthase kinase-3
(GSK-3) - Wnt signaling -Apoptosis

Summary

The Neurodevelopmental Hypothesis of schizophrenia suggests that interaction between genetic and environmental events occurring during critical early periods in neuronal growth may negatively influence the way by which nerve cells are laid down, differentiated and selectively culled by apoptosis. Recent advances offer insights into the regulation of brain development. The Wnt family of genes plays a central role in normal brain development. Activation of the Wnt cascade leads to inactivation of glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β), accumulation and activation of β -catenin and expression of genes involved in neuronal development. Alteration in the Wnt transduction cascade, which may represent an aberrant neurodevelopment in schizophrenia, is discussed. Programmed cell death is also an essential component of normal brain development. Abnormal neuronal distribution found in schizophrenic patients' brains may imply aberrant programmed cell death. GSK-3 participates in the signal transduction cascade of apoptosis. The possible role of aberrant GSK-3 in the etiology of schizophrenia is discussed.

Introduzione

L'ipotesi dopaminergica della schizofrenia, basata sulla scoperta che tutti i farmaci antipsicotici usati nella clinica sono antagonisti del recettore della dopamina^{7 23 62 86}, ha dominato la ricerca in questa area per oltre due decenni. Nonostante l'ipotesi dopaminergica abbia continuato ad essere utilizzata in modo euristico per sviluppare nuovi composti antipsicotici, essa ha fallito nel tentativo di generare scoperte relative all'etiologia e alla storia naturale della schizofrenia.

Un'ipotesi alternativa e sempre più attraente, denominata *ipotesi neuroevolutiva della schizofrenia*, guarda invece all'etiologia e alla storia naturale della patologia come punto di partenza. Questo modello propone che l'interazione tra eventi genetici ed ambientali che avvengono durante i periodi critici precoci della crescita neuronale possa influenzare negativamente il percorso attraverso cui le cellule nervose vengono posizionate, differenziate, selettivamente selezionate per l'apoptosi e rimodellate grazie all'espansione e alla retrazione dei dendriti e delle connessioni sinaptiche^{13 68 80 100}. Queste modificazioni cominciano in utero, possono essere influenzate da eventi perinatali quali possono accadere durante il parto e raggiungono la massima espressione nella prima età adulta^{6 17 36}. Le evidenze scientifiche che sostengono l'ipotesi neuroevolutiva della schizofrenia possono essere ricondotte: 1) alla scoperta di alterazioni morfologiche cerebrali nei pazienti affetti da schizofrenia, come l'allargamento dei ventricoli e la riduzione del volume corticale^{53 101 107}, la riduzione del numero dei neuroni in regioni selezionate del cervello^{11 12} ed anomala organizzazione laminare che sembra precedere la piena espressione della malattia⁵. 2) Anomalie comportamentali, neuromotorie e di altre funzioni cerebrali, presenti già durante l'infanzia e che in qualche modo possono essere considerate come predittive di schizofrenia, come per esempio il basso QI²⁶, le scarse capacità motorie⁴³, lo scarso sviluppo del linguaggio e delle capacità verbali²⁵ ed infine lo scarso sviluppo delle capacità sociali^{12 29}. 3) L'associazione messa in evidenza da numerosi lavori scientifici tra complicanze ostetriche e l'aumento del rischio di sviluppare la schizofrenia, come ad esempio il basso peso alla nascita e l'ipossia^{16 39 51}, infezioni virali e/o inedia, che in particolare si concentrano durante il secondo trimestre di gravidanza; periodo durante il quale avviene la crescita della sostanza neuronale ed un numero considerevole di neuroni migra dalle pareti dei ventricoli della placca corticale per formare le connessioni^{61 96}. 4) Un più alto tasso di anomalie fisiche minori aspecifiche nei pazienti schizofrenici rispetto alla popolazione normale, come per esempio il palato ogivale, l'impianto delle orecchie basso e le dita palmate^{32 57}.

Questi fenomeni, presi tutti insieme, avvalorano l'idea che la schizofrenia sia caratterizzata da una predisposizione genetica e che venga influenzata da avvenimenti che si verificano durante la vita intrauterina e quella neonatale, che a loro volta interagiscono con gli eventi maturativi che occorrono nella tarda infanzia, prima di tutto la "potatura" sinaptica⁹⁰. Si può quindi pensare che in questa patologia i fattori genetici possano influenzare lo sviluppo cerebrale^{31 33}. A livello del

Sistema Nervoso Centrale viene espresso circa il 30% dell'intero genoma e molti geni subiscono l'attivazione o il silenziamento a seconda delle fasi di sviluppo, per cui questi geni, la cui anomala espressione potrebbe contribuire alla patogenesi della schizofrenia, sono numerosi. Tuttavia i dati riguardanti la relazione tra il difetto di un singolo gene coinvolto nello sviluppo cerebrale e la schizofrenia non sono chiari ⁹⁷, mentre sembra piuttosto che una base genetica costituisca il substrato biochimico per l'espressione degli eventi successivi.

Numerosi studi rivolti alla ricerca dei correlati molecolari delle alterazioni strutturali e funzionali del Sistema Nervoso Centrale nella schizofrenia si concentrano sulle proteine neuronali e sinaptiche di specifiche regioni cerebrali. Tra queste proteine ci sono quelle della via di Wnt, argomento di questo lavoro.

Fisiologia della via di Wnt

I geni della famiglia Wnt

Studi recenti sui geni della famiglia Wnt propongono una loro possibile funzione regolatoria nei cambiamenti evolutivi cerebrali. Questi geni codificano per una famiglia di glicoproteine ricche di cisteina implicate nei processi evolutivi embrionali come l'adesione cellulare e il riarrangiamento delle sinapsi ^{34 74}. Le proteine Wnt sono capaci di indurre le cellule alla proliferazione, differenziazione e sopravvivenza attraverso signaling autocrini e paracrini. Esse esercitano questi effetti sulle cellule durante lo sviluppo precoce interagendo con recettori cellulari di superficie specifici, dando luogo ad una cascata di segnali che culmina con il cambiamento dell'espressione genetica ^{69 73}.

Nel genere umano sono stati identificati e mappati 19 geni Wnt ⁹³ che codificano per altrettante proteine raggruppate in due classi: canonica (Wnt1, -3a, -8) e non-canonica (Wnt4, -5, -11) in base alla loro attività. Tali proteine una volta secrete sono associate ai glicosamminoglicani della matrice extracellulare e sono strettamente associate alla superficie cellulare ^{15 79}.

Le proteine Wnt, i loro recettori ed i vari componenti della via di trasduzione del segnale si trovano espressi in diverse regioni del sistema nervoso ⁷⁴. La prima evidenza di un ruolo di questi geni nella neurogenesi viene dall'analisi dei difetti causati dall'inattivazione di Wnt1: animali in cui tale gene non viene espresso manifestano uno sviluppo incompleto del mesencefalo ⁶⁷; topi KO (*knock-out*) per Wnt3a mostrano difetti nella formazione del midollo e dell'ippocampo ⁴⁹. La via di Wnt continua poi ad essere importante anche nel sistema nervoso adulto dove modula la sopravvivenza e la plasticità neuronale. È stato infatti dimostrato che vari geni Wnt sono espressi in neuroni post-mitotici durante l'estensione degli assoni e svolgono un ruolo fondamentale nei processi di differenziazione e mantenimento delle strutture sinaptiche ⁸².

Le proteine Wnt presenti nell'ambiente extracellulare agiscono a livello delle cellule bersaglio attraverso recettori presenti sulla superficie cellulare appartenenti a due diverse famiglie recettoriali: Frizzled (Fzd) e LRP (LDL-receptor-related protein)¹⁰.

Il recettore Fzd è il primario: se ne conoscono dieci tipi. Topi cui è stato determinato un deficit di Fzd 3, mostrano la perdita dei tratti talamo-corticali come anche difetti nello sviluppo del corpo calloso⁹⁹, anomalie entrambe messe in evidenza anche nella schizofrenia⁴²⁷. In aggiunta ai recettori Fzd, parimenti necessari per l'attivazione della via di Wnt, sono i recettori LRP-5 ed LRP-6 che legano allo stesso tempo le proteine Wnt formando un complesso recettoriale ternario⁹¹.

La trasduzione del segnale della via di Wnt

I segnali delle proteine Wnt vengono trasmessi attraverso almeno tre distinte vie a livello intracellulare: la via canonica "Wnt/ β -catenina", la via "Wnt/Calcio" e la via "Wnt/polarità"^{2 14 46 64}.

La via Wnt/ β -catenina in primo luogo regola il destino cellulare durante lo sviluppo mentre la più importante funzione della via Wnt/polarità è la regolazione dell'organizzazione del citoscheletro^{2 14}. La funzione biologica della via Wnt/Calcio non è ancora completamente chiarita⁴⁶.

Una caratteristica dell'attivazione della via canonica di Wnt è l'aumento dei livelli intracellulari della β -catenina^{78 102}. In assenza del legame tra Wnt ed i suoi recettori Fdz e LRP, la β -catenina viene fosforilata dalla GSK-3 β (glicogeno-sintasi-chinasi-3) e poi degradata^{1 47 55} grazie anche all'intervento della proteina Dishevelled (Dsh)¹⁰⁴.

Al contrario, l'attivazione della via di Wnt inibisce la fosforilazione della β -catenina e quindi la sua degradazione conducendo perciò al suo aumento a livello cellulare ma anche a livello nucleare^{22 94 96} dove essa può interagire con dei fattori di trascrizione^{9 66 98}. L'aumento della stabilità della β -catenina conduce all'attivazione della trascrizione di geni target nel nucleo.

La via di Wnt possiede numerosi geni target, la maggior parte dei quali è specifica per il tipo cellulare⁵⁶. Le più importanti conseguenze dell'attivazione della via canonica di Wnt includono la cancerogenesi^{38 84 92}, la specificazione dell'asse corporeo^{40 55} e la morfogenesi^{18 52}.

Una cascata addizionale che probabilmente interagisce con la GSK-3 β attraverso Dsh è la via di Notch che è coinvolta nella determinazione del destino cellulare⁵⁸.

La via di Wnt e lo sviluppo del Sistema Nervoso Centrale

La via di Wnt è un importante mediatore dell'instaurazione dell'asse di sviluppo⁸⁷. Studi di ibridazione *in situ* hanno suggerito che la cascata di Wnt giochi un ruolo importante durante il modellamento precoce del tubo neurale⁴⁹.

I prodotti dei geni Wnt e le proteine che trasducono il segnale stesso sono implicati nello sviluppo cerebrale e possono avere un ruolo nello sviluppo dei disordini evolutivi mentali nell'uomo. La schizofrenia comporta delle modificazioni nello sviluppo cerebrale ed una alterata organizzazione neuronale e sinaptica per cui si può ipotizzare che anomalie nella trasduzione della cascata di Wnt rappresentino un meccanismo causale. È stato dimostrato che topi completamente deficitari di Dishevelled-1 mostrano anomalie nel comportamento sociale e nelle funzioni sensoriali e motorie, caratteristiche comuni a numerosi disordini psichiatrici, compresa la schizofrenia ⁵⁴.

GSK-3 β mediatore della via di Wnt e di altre cascate del segnale

La GSK-3, uno dei componenti a valle della cascata della via di Wnt, è una serin/treonin chinasi ubiquitaria inizialmente identificata come un enzima che regola negativamente l'attività della glicogeno sintasi ²⁰. Essa è notevolmente espressa nel tessuto cerebrale ^{75 103} ed è una proteina altamente conservata durante l'evoluzione ¹⁰⁶. Sono state identificate nei mammiferi due isoforme di GSK-3 con l'85% di omologia di sequenza e con il 98% di identità nel dominio catalitico ¹⁰³, chiamate GSK-3 α e β , codificate su due geni separati e mappati rispettivamente sul cromosoma 19 e 3 ⁸³.

Tuttavia il ruolo della GSK-3 β non è limitato alla sola via di Wnt; essa è il punto di giunzione di diverse cascate del segnale tra cui la via di Wnt, la via della MAPK (mitogen-activated protein kinase) e la via della fostatidil inositolo-3-chinasi (PI-3K) ⁸⁹. I suoi multipli bersagli sono distribuiti a livello extracellulare ed in vari organelli subcellulari – membrana, citoscheletro, nucleo e citoplasma – ed includono fattori di trascrizione ⁷⁷, enzimi regolatori ⁸¹ e proteine strutturali ^{35 61}. Dunque, la GSK-3 media processi metabolici, evolutivi, differenziativi e proliferativi ^{38 85}.

Espressione di GSK-3 durante lo sviluppo cerebrale

Il ruolo centrale della GSK-3 nella regolazione dei processi di neurosviluppo è ulteriormente sostenuto dal ritrovamento di Leroy e Brion ⁵⁰ che hanno studiato l'espressione e la distribuzione neuroanatomica della immunoreattività della GSK-3 β nel cervello di ratto dalla forma embrionale fino alla forma adulta. La GSK-3 β è espressa nella maggior parte delle regioni cerebrali, sebbene siano state osservate significative variazioni locali. Per esempio, l'immunoreattività della GSK-3 β era presente nelle strutture corticali e sotto-corticali, nel cervelletto e nel tronco encefalico. La sua espressione quindi diminuisce ed è più bassa nell'adulto. La GSK-3 β è fortemente espressa nei neuroni in fase di sviluppo, debolmente negli strati che contengono neuroblasti ed è presente nel pericario, nei dendriti prossimali e nei tratti assonali. Nel cervello adulto essa è abbondante in tutte le regioni cerebrali ma non negli astrociti. Poiché l'aumentata espressione della

GSK-3 β potrebbe essere associata con l'aumentata attività enzimatica i risultati indicano che l'aumentata fosforilazione di selezionati substrati cerebrali da parte della GSK-3 β è cruciale nell'intenso periodo del neurosviluppo. L'espressione aberrante della GSK-3 β durante questo periodo può interessare significativamente la posizione e la funzione dei neuroni.

Il ruolo della GSK-3 nell'apoptosi

La regolazione della sopravvivenza cellulare è di cruciale importanza nello sviluppo cerebrale normale. Alterazioni del meccanismo di sopravvivenza cellulare possono condurre sia all'eccessiva che alla insufficiente morte cellulare, come risulta nelle condizioni patologiche. L'apoptosi, o morte cellulare programmata, è una forma evolutivamente conservata di morte cellulare ed è fondamentale per l'omeostasi dei tessuti¹⁹.

La GSK-3 β è stata recentemente associata con l'apoptosi attraverso la cascata della fosfatidil inositolo-3-chinasi (PI-3K)/AKT⁷². L'AKT è una multi serin/treonin che fosforila la Ser 9 della GSK-3 β , inibendo la sua attività²⁴. L'attivazione della GSK-3 β contribuisce al segnale proapoptotico⁷².

Neurosviluppo e schizofrenia

Differenze nei marcatori della via di Wnt nella schizofrenia

I geni della famiglia di Wnt giocano un ruolo fondamentale nello sviluppo neuronale attraverso il controllo della migrazione e della differenziazione cellulare. Ci sono prove le quali indicano che una mutazione di uno o più di questi geni possa condurre ad un anomalo sviluppo cerebrale nei topi⁶⁰. Il ruolo di questa via nella regolazione della migrazione neuronale durante lo sviluppo indica che l'alterazione di questa via possa essere coinvolta nella produzione dei difetti della citoarchitettura osservati nella schizofrenia²¹.

Sia la GSK-3 α che β sono fattori determinanti nello sviluppo del sistema nervoso che si ipotizza essere alterato nei pazienti schizofrenici. Poiché la GSK-3 β è una componente della via di Wnt, i suoi ridotti livelli corroborano i recenti risultati riguardanti l'anormalità dei marcatori della via di Wnt nella schizofrenia. Miyaoka e collaboratori⁶⁵ riferiscono un incremento di Wnt-1 nei neuroni piramidali dell'ippocampo negli strati cellulari CA3 e CA4 di pazienti schizofrenici. Nello studio di Beasley e collaboratori¹⁰ che ha dimostrato la riduzione della GSK-3 β nella corteccia frontale dei pazienti schizofrenici non c'è però una significativa alterazione dei livelli di β -catenina o di Dishevelled. Alcune anormalità nell'interazione sociale e nelle capacità sensoriali e motorie sono state riconosciute nei topi in cui mancava il gene Dishevelled-1⁵⁴. Negli umani una delezione di questo gene caratterizza la sindrome di Di George. Circa il 25% degli adulti affetti da questa sindrome, caratterizzata da disturbi nell'apprendimento, anormalità cranio-facciali e difetti cardiaci congeniti sviluppano la schizofrenia⁷⁶.

GSK-3 α e β sono alterate nei pazienti schizofrenici

Si è precedentemente detto che la GSK-3 è alterata nel cervello dei pazienti schizofrenici. Lo studio è stato effettuato post-mortem in campioni ottenuti dalla Banca dei Cervelli della Fondazione Stanley⁹⁵. I campioni di corteccia frontale derivati da pazienti schizofrenici mostravano il 41% di riduzione dei livelli della proteina GSK-3 β rispetto ai controlli sani⁴⁴. I livelli della GSK-3 β misurati negli stessi campioni ma a livello della corteccia occipitale non erano invece differenti indicando che la riduzione rilevata nella corteccia frontale non rappresenta una generica alterazione dei livelli della GSK-3 β cerebrali⁴⁵. Questa osservazione è coerente con quelle riguardanti altre molecole neurone-specifiche, come la sinaptotofina³⁰ e la GAP-43⁸⁸, anche loro alterate nelle aree prefrontali e frontali ma invariate nella corteccia occipitale di pazienti schizofrenici.

Beasley et al.⁸ hanno condiviso questi risultati nel proprio lavoro che ha utilizzato i campioni di corteccia frontale ottenuti dalla Banca dei Cervelli MRC. Essi hanno trovato una riduzione significativa del 19% dei livelli della GSK-3 β nei pazienti schizofrenici rispetto ai soggetti di controllo. Yang et al.¹⁰⁵ hanno misurato i livelli della GSK-3 α nei tessuti periferici di 48 pazienti schizofrenici: sia l'attività enzimatica che i livelli della proteina GSK-3 α erano considerevolmente ridotti nei linfociti di pazienti schizofrenici rispetto ai controlli. L'attività della GSK-3 α era inferiore del 20% rispetto ai controlli normali indicando che i pazienti affetti da schizofrenia possono avere una disfunzione comune sia della GSK-3 α che β . Rimane da scoprire se questa drammatica riduzione dell'attività della GSK-3 α nelle cellule periferiche si rifletta anche nel sistema nervoso. Se la riduzione della GSK-3 β nella corteccia dei pazienti schizofrenici si troverà riflessa a livello dei tessuti periferici dei pazienti stessi, essa potrà servire come marker diagnostico.

Morte cellulare programmata – implicazioni nella schizofrenia

Un'anomala riduzione nel numero di neuroni è considerata sempre più come una caratteristica patologica in una varietà di disturbi neuropsichiatrici, incluso l'autismo, la sindrome dell'X fragile, varie anomalie cromosomiche e la schizofrenia. In molte aree della corteccia cerebrale^{12,28}, in numerose regioni dell'ippocampo⁴³ e nei nuclei talamici medio-dorsali di pazienti schizofrenici⁷³ sono stati osservati deficit neuronali. Un'abnorme distribuzione neuronale nella corteccia prefrontale dorso-laterale e nei lobi laterali e temporali possono anche essere determinati da un'alterata morte neuronale³. Non sorprende dunque che deviazioni nella morte neuronale possano essere associate con la schizofrenia, proprio perché questa gioca un ruolo centrale nei normali processi di sviluppo del sistema nervoso. I due eventi più importanti nella genesi della corteccia cerebrale sono la migrazione dei giovani neuroni dalle pareti ventricolari alla placca corticale, fenomeno che ha luogo soprattutto durante il secondo trimestre di gravidanza, e la seguente eliminazione di neuroni e connessioni in eccesso attraverso la morte cellulare programmata, che avviene alla fine del periodo prenatale, nelle prime

fasi del periodo post-natale e soprattutto durante l'adolescenza⁴². Non meno del 50% dei neuroni che costituiscono il sistema nervoso durante lo sviluppo muoiono prima di raggiungere la piena maturità⁷⁰. La morte cellulare programmata, la morte cellulare conseguente all'attivazione di vie di trasduzione del segnale proprie delle cellule, rende conto della maggior parte di questa *potatura* neuronale. La ricerca ribadisce con sempre più forza che l'apoptosi rappresenta un normale ed essenziale processo nella vita di un organismo e che la sua alterazione, sia per quando riguarda l'andamento temporale che la localizzazione della sua attivazione, sia se risulta essere aumentata o diminuita, rappresenta un fattore etiologico potenziale o comunque un evento secondario che contribuisce alla manifestazione della patologia del sistema nervoso centrale.

Riassunto

L'ipotesi neuroevolutiva della schizofrenia propone che l'interazione tra eventi genetici ed ambientali che avvengono durante i periodi critici precoci della crescita neuronale possa influenzare negativamente il percorso attraverso cui le cellule nervose vengono posizionate, differenziate e selettivamente selezionate per l'apoptosi. I risultati delle nuove ricerche offrono profonde intuizioni sulla regolazione dello sviluppo cerebrale ed i geni della famiglia Wnt giocano un ruolo centrale nel normale sviluppo cerebrale. L'attivazione della via di Wnt porta all'inattivazione della glicogeno sintasi chinasi-3 β (GSK-3 β), l'aumento dei livelli e quindi dell'attività della β -catenina e l'espressione di geni coinvolti nello sviluppo neuronale. Questo lavoro tratta delle alterazioni della trasduzione del segnale della via di Wnt che potrebbero rappresentare la causa del neurosviluppo aberrante nella schizofrenia. Anche la morte cellulare programmata rappresenta una componente essenziale del normale sviluppo cerebrale. L'anomala distribuzione neuronale che si ritrova nei pazienti schizofrenici potrebbe implicare un'alterazione nei processi di apoptosi; processo a cui partecipa la GSK-3. Dunque in questo lavoro è preso in considerazione un possibile ruolo della GSK-3 nell'etiologia della schizofrenia.

Bibliografia

- ¹ Aberle H, Bauer A, Stappert J, Kispert A, Kemler R. *Beta-catenin is a target for the ubiquitin-proteasome pathway*. EMBO J 1997;16:3797-804.
- ² Adler PN, Lee H. *Frizzled signaling and cell-cell interactions in planar polarity*. Curr Opin Cell Biol 2001;13:635-40.
- ³ Akbarian S, Bunney Jr WE, Potkin SG, Wigal SB, Hagman JO, Sandman CA, et al. *Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbances of cortical development*. Arch Gen Psychiatry 1993;50:169-77.
- ⁴ Ananth H, Popescu I, Critchley HD, Good CD, Frackowiak RS, Dolan RJ. *Cortical and subcortical gray matter abnormalities in schizophrenia determined through structural magnetic resonance imaging with optimized volumetric voxel-based morphometry*. Am J Psychiatry 2002;159:1497-505.

- 5 Arnold SE, Franz BR, Gur RC, Gur RE, Shapiro RM, Moberg PJ, et al. *Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions*. Am J Psychiatry 1995;152:738-48.
- 6 Arnold SE, Trojanowski JQ. *Recent advances in defining the neuropathology of schizophrenia*. Acta Neuropathol (Berl.) 1996;92:217-31.
- 7 Arnt J, Skarsfeldt T. *Do novel antipsychotics have similar pharmacological characteristics? A review of the evidence*. Neuropsychopharmacology 1998;18:63-101.
- 8 Beasley C, Cotter D, Khan N, Pollard C, Sheppard P, Varndell I, et al. *Glycogen synthase kinase-3beta immunoreactivity is reduced in the prefrontal cortex in schizophrenia*. Neurosci Lett 2001;20:117-20.
- 9 Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, et al. *Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1*. Nature 1996;382:638-42.
- 10 Bejsovec A. *Wnt signaling: an embarrassment of receptors*. Curr Biol 2000;10:R919-R922.
- 11 Benes FM, Davidson J, Bird ED. *Quantitative cytoarchitectural studies of the cerebral cortex of schizophrenics*. Arch Gen Psychiatry 1986;43:31-5.
- 12 Benes FM, McSparren J, Bird ED, SanGiovanni JP, Vincent SL. *Deficits in small interneurons in prefrontal and cingulate cortices of schizophrenic and schizoaffective patients*. Arch Gen Psychiatry 1991;48:996-1001.
- 13 Bloom FE. *Advancing a neurodevelopmental origin for schizophrenia*. Arch Gen Psychiatry 1993;50:224-7.
- 14 Boutros M, Mlodzik M. *Dishevelled: at the crossroads of divergent intracellular signaling pathways*. Mech Dev 1999;83:27-37.
- 15 Bradley RS, Brown AM. *The proto-oncogene int-1 encodes a secreted protein associated with the extracellular matrix*. EMBO J 1990;9:1569-75.
- 16 Brixey SN, Gallagher BJD, McFalls Jr JA, Parmelee LF. *Gestational and neonatal factors in the etiology of schizophrenia*. J Clin Psychol 1993;49:447-56.
- 17 Bunney BG, Potkin SG, Bunney Jr WE. *New morphological and neuropathological findings in schizophrenia: a neurodevelopmental perspective*. Clin Neurosci 1995;3:81-8.
- 18 Cadigan KM, Nusse R. *Wnt signaling: a common theme in animal development*. Genes Dev 1997;11:3286-305.
- 19 Chalecka-Franaszek E, Chuang DM. *Lithium activates the serine / threonine kinase Akt-1 and suppresses glutamate-induced inhibition of Akt-1 activity in neurons*. Proc Natl Acad. Sci USA 1999;96:8745-50.
- 20 Cohen P. *The role of protein phosphorylation in the hormonal control of enzyme activity*. Eur J Biochem 1985;151:439-48.
- 21 Cotter D, Kerwin R, al-Sarraj S, Brion JP, Chadwich A, Lovestone S, et al. *Abnormalities of Wnt signalling in schizophrenia – evidence for neurodevelopmental abnormality*. NeuroReport 1998;9:1379-83.
- 22 Cox RT, Pai LM, Miller JR, Orsulic S, Stein J, et al. *Membrane-tethered Drosophila Armadillo cannot transduce Wingless signal on its own*. Development 1999;126:1327-35.
- 23 Creese I, Burt DR, Snyder SH. *Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs*. Science 1976;192:481-3.
- 24 Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. *Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B*. Nature 1995;378:785-9.
- 25 Crow TJ. *A Darwinian approach to the origins of psychosis* [published erratum appears in Br J Psychiatry 1995 Sep;167(3):414]. Br J Psychiatry 1995;167:12-25.
- 26 David AS, Malmberg A, Brandt L, Allebeck P, Lewis G. *IQ and risk for schizophrenia: a population-based cohort study*. Psychol Med 1997;27:1311-23.
- 27 Diwadkar VA, Prasad KM, Keshavan MS. *Approaches for adolescents with an affected family member with schizophrenia*. Curr Psychiatry Rep 2004;6:296-302.
- 28 Falkai P, Bogerts B, Rozumek M. *Limbic pathology in schizophrenia: the entorhinal region – a morphometric study*. Biol Psychiatry 1988;24:515-21.
- 29 Fish B. *Infant predictors of the longitudinal course of schizophrenic development*. Schizophr Bull 1987;13:395-409.

- ³⁰ Glantz LA, Lewis DA. *Reduction of synaptophysin immunoreactivity in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Regional and diagnostic specificity* [corrected and republished article originally appeared in Arch Gen Psychiatry 1997 Jul;54(7):660-9]. Arch Gen Psychiatry 1997;54:943-52.
- ³¹ Gottesman II, Bertelsen A. *Confirming unexpressed genotypes for schizophrenia. Risks in the offspring of Fischer's Danish identical and fraternal discordant twins* [see comments]. Arch Gen Psychiatry 1989;46:867-72.
- ³² Green MF, Satz P, Gaier DJ, Ganzell S, Kharabi F. *Minor physical anomalies in schizophrenia*. Schizophr Bull 1989;15:91-9.
- ³³ Guidry J, Kent TA. *New genetic hypothesis of schizophrenia*. Med Hypotheses 1999;52:69-75.
- ³⁴ Hall AC, Lucas FR, Salinas PC. *Axonal remodeling and synaptic differentiation in the cerebellum is regulated by WNT-7a signaling* [see comments]. Cell 2000;100:525-35.
- ³⁵ Hanger DP, Hughes K, Woodgett JR, Brion JP, Anderton BH. *Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localisation of the kinase*. Neurosci Lett 1992;147:58-62.
- ³⁶ Harrison PJ. *The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation*. Brain 1999;122:593-624.
- ³⁷ He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, et al. *Identification of c-MYC as a target of the APC pathway*. Science 1998;281:1509-12.
- ³⁸ He X, Saint-Jeannet JP, Woodgett JR, Varmus HE, Dawid IB. *Glycogen synthase kinase-3 and dorsoventral patterning in Xenopus embryos* [published erratum appears in Nature 1995 May 18;375(6528):253]. Nature 1995;374:617-22.
- ³⁹ Heun R, Maier W. *The role of obstetric complications in schizophrenia*. J Nerv Ment Dis 1993;181:220-6.
- ⁴⁰ Hoppler S, Brown JD, Moon RT. *Expression of a dominant-negative Wnt blocks induction of MyoD in Xenopus embryos*. Genes Dev 1996;10:2805-17.
- ⁴¹ Jeste DV, Lohr JB. *Hippocampal pathologic findings in schizophrenia. A morphometric study*. Arch Gen Psychiatry 1989;46:1019-24.
- ⁴² Jones EG. *Cortical development and neuropathology in schizophrenia*. Ciba Found Symp 1995;193:277-95.
- ⁴³ Jones P, Rodgers B, Murray R, Marmot M. *Child development risk factors for adult schizophrenia in the British 1946 birth cohort*. Lancet 1994;344:1398-402.
- ⁴⁴ Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. *Low GSK-3beta immunoreactivity in postmortem frontal cortex of schizophrenic patients*. Am J Psychiatry 2000;157:831-3.
- ⁴⁵ Kozlovsky N, Belmaker RH, Agam G. *Low GSK-3 activity in frontal cortex of schizophrenic patients*. Schizo Res 2001;52:101-10.
- ⁴⁶ Kuhl M, Sheldahl LC, Park M, Miller JR, Moon RT. *The Wnt/Ca2+ pathway: a new vertebrate Wnt signaling pathway takes shape*. Trends Genet 2000;16:279-83.
- ⁴⁷ Latres E, Chiaur DS, Pagano M. *The human F box protein beta-Trcp associates with the Cull1/Skp1 complex and regulates the stability of beta-catenin*. Oncogene 1999;18:849-54.
- ⁴⁸ Lee SM, Tole S, Grove E, McMahon AP. *A local Wnt-3a signal is required for development of the mammalian hippocampus*. Development 2000;127:457-67.
- ⁴⁹ Lee KJ, Jessell TM. *The specification of dorsal cell fates in the vertebrate central nervous system*. Annu Rev Neurosci 1999;22:261-94.
- ⁵⁰ Leroy K, Brion JP. *Developmental expression and localization of glycogen synthase kinase-3beta in rat brain*. J Chem Neuroanat 1999;16:279-93.
- ⁵¹ Lewis SW, Murray RM. *Obstetric complications, neurodevelopmental deviance, and risk of schizophrenia*. J Psychiatr Res 1987;21:413-21.
- ⁵² Li C, Xiao J, Hormi K, Borok Z, Minoo P. *Wnt5a participates in distal lung morphogenesis*. Dev Biol 2002;248:68-81.
- ⁵³ Lieberman J, Bogerts B, Degreef G, Ashtari M, Lantos G, Alvir J. *Qualitative assessment of brain morphology in acute and chronic schizophrenia*. Am J Psychiatry 1992;149:784-94.

- ⁵⁴ Lijam N, Paylor R, McDonald MP, Crawley JN, Deng CX, Lijam N, Paylor R, McDonald MP, Crawley JN, Deng CX, DJ, Wynshaw-Boris A. *Social interaction and sensorimotor gating abnormalities in mice lacking Dvl1*. Cell 1997;90:895-905.
- ⁵⁵ Liu C, Kato Y, Zhang Z, Do VM, Yankner BA, He X. *Beta-Trcp couples beta-catenin phosphorylation-degradation and regulates Xenopus axis formation*. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:6273-78.
- ⁵⁶ Logan CY, Nusse R. *The Wnt signaling pathway in development and disease*. Annu Rev Cell Dev Biol 2004;20:781-810.
- ⁵⁷ Lohr JB, Flynn K. *Minor physical anomalies in schizophrenia and mood disorders*. Schizophr Bull 1993;19:551-6.
- ⁵⁸ Lovestone S, Killick R, Di Forti M, Murray R. *Schizophrenia as a GSK-3 dysregulation disorder*. Trends Neurosci 2007;30:142-9. Epub 2007 Feb 26.
- ⁵⁹ Mandelkow EM, Drewes G, Biernat J, Gustke N, Van Lint J, Vandenhede JR et al. *Glycogen synthase kinase-3 and the Alzheimer-like state of microtubule-associated protein tau*. FEBS Lett 1992;314:315-21.
- ⁶⁰ McMahon AP, Bradley A. *The Wnt-1 (int-1) proto-oncogene is required for development of a large region of the mouse brain*. Cell 1990;62:1073-85.
- ⁶¹ Mednick SA, Machon RA, Huttunen MO, Bonett D. *Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic*. Arch Gen Psychiatry 1988;45:189-92.
- ⁶² Meltzer HY. *An overview of the mechanism of action of clozapine*. J Clin Psychiatry 1994;55(Suppl B):47-52.
- ⁶³ Miller JR, Moon RT. *Analysis of the signaling activities of localization mutants of beta-catenin during axis specification in Xenopus*. J Cell Biol 1997;139:229-43.
- ⁶⁴ Miller JR, Hocking AM, Brown JD, Moon RT. *Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/beta-catenin and Wnt/Ca2+ pathways*. Oncogene 1999;18:7860-72.
- ⁶⁵ Miyaoka T, Seno H, Ishino H. *Increased expression of Wnt-1 in schizophrenic brains*. Schizophr Res 1999;38:1-6.
- ⁶⁶ Molenaar M, van de Wetering M, Oosterwegel M, Peterson-Maduro J, Godsave S, et al. *XTcf-3 transcription factor mediates beta-catenin-induced axis formation in Xenopus embryos*. Cell 1996;86:391-9.
- ⁶⁷ Moon RT, Brown JD, Torres M. *WNTs modulate cell fate and behavior during vertebrate development*. Trends Genet 1997;13:157-62.
- ⁶⁸ Murray RM. *Neurodevelopmental schizophrenia: the rediscovery of dementia praecox*. Br J Psychiatry 1994;165(Suppl.):6-12.
- ⁶⁹ Nusse R, Varmus HE. *Wnt genes: many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome*. Cell 1992;69:1073-87.
- ⁷⁰ Oppenheim RW. *Cell death during development of the nervous system*. Annu Rev Neurosci 1991;14:453-501.
- ⁷¹ Pakkenberg B. *Pronounced reduction of total neuron number in mediodorsal thalamic nucleus and nucleus accumbens in schizophrenics*. Arch Gen Psychiatry 1990;47:1023-8.
- ⁷² Pap M, Cooper GM. *Role of glycogen synthase kinase-3 in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt cell survival pathway*. J Biol Chem 1998;273:19929-32.
- ⁷³ Parr BA, McMahon AP. *Wnt genes and vertebrate development*. Curr Opin Genet Dev 1994;4:523-8.
- ⁷⁴ Patapoutian A, Reichardt LF. *Roles of wnt proteins in neural development and maintenance* [in process citation]. Curr Opin Neurobiol 2000;10:392-9.
- ⁷⁵ Pei JJ, Braak E, Braak H, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Winblad B, et al. *Distribution of active glycogen synthase kinase 3beta (GSK-3beta) in brains staged for Alzheimer disease neurofibrillary changes*. J Neuropathol Exp Neurol 1999;58:1010-9.
- ⁷⁶ Pizzuti A, Novelli G, Mari A, Ratti A, Colosimo A, Amati F, et al. *Human homologue sequences to the Drosophila dishevelled segment-polarity gene are deleted in the DiGeorge syndrome*. Am J Hum Genet 1996;58:722-9.
- ⁷⁷ Plyte SE, Hughes K, Nikolakaki E, Pulverer BJ, Woodgett JR. *Glycogen synthase kinase-3: functions in oncogenesis and development*. Biochim Biophys Acta 1992;1114:147-62.

- ⁷⁸ Polakis P. *Wnt signaling and cancer*. *Genes Dev* 2000;14:1837-51.
- ⁷⁹ Reichsman F, Smith L, Cumberledge S. *Glycosaminoglycans can modulate extracellular localization of the wingless protein and promote signal transduction*. *J Cell Biol* 1996;135:819-27.
- ⁸⁰ Roberts GW. *Schizophrenia: the cellular biology of a functional psychosis*. *Trends Neurosci* 1990;13:207-11.
- ⁸¹ Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P. *Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly* [see comments]. *Science* 1996;272:1023-6.
- ⁸² Salinas PC, Fletcher C, Copeland NG, Jenkins NA, Nusse R. *Maintenance of Wnt-3 expression in Purkinje cells of the mouse cerebellum depends on interactions with granule cells*. *Development* 1994;120:1277-86.
- ⁸³ Shaw PC, Davies AF, Lau KF, Garcia-Barcelo M, Waye MM, Lovestone S et al. *Isolation and chromosomal mapping of human glycogen synthase kinase-3 alpha and -3 beta encoding genes*. *Genome* 1998;41:720-7.
- ⁸⁴ Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, Albanese C, D'Amico M, et al. *The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5522-7.
- ⁸⁵ Siegfried E, Chou TB, Perrimon N. *Wingless signaling acts through zeste-white 3, the Drosophila homolog of glycogen synthase kinase-3, to regulate engrailed and establish cell fate*. *Cell* 1992;71:1167-79.
- ⁸⁶ Snyder SH. *The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor*. *Am J Psychiatry* 1976;133:197-202.
- ⁸⁷ Sokol SY. *Wnt signaling and dorso-ventral axis specification invertebrates*. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9:405-10.
- ⁸⁸ Sower AC, Bird ED, Perrone-Bizzozero NI. *Increased levels of GAP-43 protein in schizophrenic brain tissues demonstrated by a novel immunodetection method*. *Mol Chem Neuropathol* 1995;24:1-11.
- ⁸⁹ Srivastava AK, Pandey SK. *Potential mechanism(s) involved in the regulation of glycogen synthesis by insulin*. *Mol Cell Biochem* 1998;182:135-41.
- ⁹⁰ Stevens JR. *Abnormal reinnervation as a basis for schizophrenia: a hypothesis* [published erratum appears in *Arch Gen Psychiatry* 1992 Sep.;49(9):708]. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:238-43.
- ⁹¹ Tamai K, Semenov M, Kato Y, Spokony R, Liu C, Katsuyama Y, et al. *LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction*. *Nature* 2000;407:530-35.
- ⁹² Tetsu O, McCormick F. *Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells*. *Nature* 1999;398:422-6.
- ⁹³ The Genome Database [<http://gdbwww.gdb.org/gdb/>]
- ⁹⁴ Tolwinski NS, Wieschaus E. *A nuclear function for Armadillo/beta-Catenin*. *PLoS Biol* 2004;2:486-93.
- ⁹⁵ Torrey EF, Webster M, Knable M, Johnston N, Yolken RH. *The stanley foundation brain collection and neuropathology consortium*. *Schizophr Res* 2000;44:151-5.
- ⁹⁶ Torrey EF, Bowler AE, Rawlings R, Terrazas A. *Seasonality of schizophrenia and stillbirths*. *Schizophr Bull* 1993;19:557-62.
- ⁹⁷ Tsuang, M. *Schizophrenia: genes and environment*. *Biol Psychiatry* 2000;47:210-20.
- ⁹⁸ van de Wetering M, Cavallo R, Dooijes D, van Beest M, van Es J, Loureiro J, et al. *Armadillo coactivates transcription driven by the product of the Drosophila segment polarity gene dTCF*. *Cell* 1997;88:789-99.
- ⁹⁹ Wang Y, Thekdi N, Smallwood PM, Macke JP, Nathans J. *Frizzled-3 is required for the development of major fiber tracts in the rostral CNS*. *J Neurosci* 2002;22:8563-73.
- ¹⁰⁰ Weinberger DR. *Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia*. *Arch Gen Psychiatry* 1987;44:660-9.
- ¹⁰¹ Weinberger DR, DeLisi LE, Perman GP, Targum S, Wyatt RJ. *Computed tomography in schizophreniform disorder and other acute psychiatric disorders*. *Arch Gen Psychiatry* 1982;39:778-83.
- ¹⁰² Wodarz A, Nusse R. *Mechanisms of Wnt signaling in development*. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998;14:59-88.

- ¹⁰³ Woodgett JR. *Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3 / factor A*. EMBO J 1990;9:2431-8.
- ¹⁰⁴ Yanagawa S, van Leeuwen F, Wodarz A, Klingensmith J, Nusse R. *The dishevelled protein is modified by wingless signaling in Drosophila*. Genes Dev 1995;1:1087-97.
- ¹⁰⁵ Yang SD, Huang JJ, Huang TJ. *Protein kinase FA/glycogen synthase kinase 3 alpha predominantly phosphorylate of Ser502, Ser506, Ser603, and Ser666 in neurofilament*. J Neurochem 1995;64:1848-54.
- ¹⁰⁶ Yu JS, Yang SD. *Immunological and biochemical study on tissue and subcellular distributions of protein kinase FA (an activating factor of ATP-Mg-dependent protein phosphatase): a simplified and efficient procedure for high quantity purification from brain*. J Protein Chem 1993;12:667-76.
- ¹⁰⁷ Zigun JR, Daniel DG, Kleinman JE, Weinberger DR. *Ventricular enlargement in schizophrenia: is there really a gender effect?* [letter; comment]. Arch Gen Psychiatry 1992;49:995-7.