

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Vorstand: Herr Prof. Dr. med. H.-J. Möller

Der Interleukin-1-Genkomplex in der Schizophrenie

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Claudia Gonnermann

aus
Stuttgart

2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H.-J. Möller

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Rupp

Prof. Dr. Th. Brocker

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Dan Rujescu

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Mai 2004

meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	14
2	EINLEITUNG.....	16
2.1	Die Schizophrenie	16
2.1.1	Symptomatik und Verlauf der Schizophrenie	16
2.1.2	Epidemiologie der Schizophrenie	17
2.1.3	Epidemiologische Risikofaktoren der Schizophrenie	17
2.1.4	Multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie	18
2.1.4.1	Genetische Faktoren	18
2.1.4.1.1	Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien	18
2.1.4.1.2	Molekulargenetik der Schizophrenie	20
2.1.4.1.3	Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie	22
2.1.4.1.4	Assoziationsstudien.....	25
2.1.4.2	Hirnstrukturelle Veränderungen als Folge einer Hirnentwicklungsstörung in der Pathogenese der Schizophrenie.....	28
2.1.4.3	Immunologische Faktoren	29
2.1.4.3.1	Aktivierung des Immunsystems.....	29
2.1.4.3.2	Virushypothese der Schizophrenie.....	30
2.1.4.3.3	Autoimmunhypothese der Schizophrenie.....	31
2.1.4.4	Integratives pathophysiologisches Modell der Schizophrenie	32
2.2	Die mögliche Bedeutung der Interleukine in der Pathogenese der Schizophrenie	33
2.2.1	Das Interleukin-1-System	34
2.2.1.1	Interleukin-1: Ein multifunktionelles Zytokin.....	34
2.2.1.2	Die Interleukin-1-Familie.....	34
2.2.1.2.1	Interleukin-1 alpha und Interleukin-1 beta	36
2.2.1.2.2	IL-1-Rezeptorantagonist.....	37
2.2.1.3	Rezeptoren für Interleukin-1	37
2.2.1.4	Vorgänge bei der Signaltransduktion durch den IL-1-Rezeptor.....	39
2.2.2	Mögliche Rolle der Interleukine in der Aktivierung des inflammatorischen Immunsystems bei Schizophrenen.....	41

2.2.3	Funktionen der Interleukine im zentralen Nervensystem	41
2.2.3.1	Wechselwirkung zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem durch Zytokine	42
2.2.3.2	Interleukineffekte auf den Metabolismus von Neurotransmittern.....	44
2.2.3.3	Rolle des Interleukin-1 alpha und -beta in der Hirnentwicklung.....	45
2.2.3.4	Rolle des Interleukin-1-Rezeptorantagonist in der Hirnentwicklung	46
2.3	Chromosomale Lokalisation des Interleukin-1-Genkomplexes.....	46
2.3.1	Genetische Variationen im Interleukin-1 alpha-Gen	47
2.3.2	Genetische Variationen im Interleukin-1 beta-Gen	49
2.3.3	Genetische Variationen im Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gen	50
3	FRAGESTELLUNG.....	53
4	MATERIAL UND METHODEN.....	54
4.1	Material.....	54
4.1.1	Geräte.....	54
4.1.2	Software	55
4.1.3	Chemikalien	55
4.1.4	Oligonukleotide	56
4.1.5	Polymorphismen	56
4.2	Methoden	57
4.2.1	Studienteilnehmer.....	57
4.2.1.1	Kontrollgruppe	57
4.2.1.2	Schizophrene Patienten	57
4.2.2	DNA-Extraktion	58
4.2.3	Bestimmung der DNA-Konzentration: Photometrische Konzentrationsbestimmung	60
4.2.4	Die Polymerase-Kettenreaktion	60
4.2.5	Allgemeine Bedingungen der Polymerasekettenreaktion	63
4.2.5.1	Enzymkonzentration (DNA-Polymerase)	63
4.2.5.2	Desoxynukleotide	63
4.2.5.3	Primerkonstruktion.....	63
4.2.5.4	Primerkonzentration	64

4.2.5.5	pH-Optimum	64
4.2.5.6	Auswahl der Ionenkonzentration	64
4.2.5.7	Variationen der verschiedenen Temperaturphasen.....	65
4.2.6	Optimierung der Polymerasekettenreaktion.....	65
4.2.6.1	Primer-Rehydratisierung.....	65
4.2.6.2	Puffer-Optimierung	66
4.2.6.3	Annealing-Temperatur.....	66
4.2.6.4	Zyklen-Optimierung	67
4.2.6.5	Mix zur Durchführung der Polymerasekettenreaktion.....	67
4.2.7	Allgemeine Auswertung von Restriktions-Fragmentlängen- Polymorphismen und <i>variable number of tandem repeats</i> - Polymorphismen.....	67
4.2.8	Prinzip der Gelelektrophorese	68
4.2.9	Durchführung der Gelelektrophorese.....	69
4.2.10	Gelauswertung.....	71
4.2.11	Die Auswertung der untersuchten Polymorphismen	71
4.2.11.1	Der Interleukin-1 alpha-Polymorphismus.....	71
4.2.11.2	Der Interleukin-1 beta-Polymorphismus	74
4.2.11.3	Der Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus	76
4.3	Statistische Auswertung.....	79
5	ERGEBNISSE	80
5.1	Analyse des Polymorphismus des IL-1 alpha-Gens.....	80
5.1.1	Analyse der IL-1 alpha-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	80
5.1.2	Analyse der IL-1 alpha-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	81
5.2	Analyse des Polymorphismus des IL-1 beta-Gens.....	82
5.2.1	Analyse der IL-1 beta-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	82
5.2.2	Analyse der IL-1 beta-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	83

5.3	Analyse des Polymorphismus des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens	84
5.3.1	Analyse der IL-1-Rezeptorantagonist-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	85
5.3.2	Analyse der IL-1-Rezeptorantagonist-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe	86
5.4	Analyse des Kopplungsungleichgewichts zwischen den untersuchten Polymorphismen des IL-1-Genkomplexes	88
5.5	Analyse der Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes.....	89
6	DISKUSSION	92
6.1	Inhaltliche Interpretation der Ergebnisse	92
6.1.1	Ergebnisse zum Interleukin-1 alpha-Polymorphismus	92
6.1.1.1	Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1 alpha-Gens	92
6.1.1.2	Vergleich des Ergebnisses zum IL-1 alpha-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung	93
6.1.2	Ergebnisse zum Interleukin-1 beta-Polymorphismus.....	94
6.1.2.1	Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1 beta-Gens	94
6.1.2.2	Vergleich des Ergebnisses zum IL-1 beta-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung	95
6.1.3	Ergebnisse zum Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus.....	96
6.1.3.1	Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gens.....	97
6.1.3.2	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf das Gleichgewicht der pro- und antiinflammatorischen Zytokine	97
6.1.3.2.1	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf die Hirnentwicklung im Rahmen schizophrener Psychosen	98
6.1.3.2.2	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf das Immunsystem im Rahmen schizophrener Psychosen	101

Inhalt

6.1.3.2.3	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf den Verlauf infektiöser Erkrankungen im Rahmen schizophrener Psychosen	103
6.1.3.2.4	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf den Verlauf von Autoimmunerkrankungen im Rahmen schizophrener Psychosen	109
6.1.3.2.5	Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf die Interleukin-1-Signaltransduktion ..	113
6.1.3.2.6	Vergleich des Ergebnisses zum IL-1RN-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung	116
6.1.4	Ergebnisse zu Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes	116
6.1.4.1	Vergleich der Ergebnisse zu Haplotypen aus den untersuchten Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung	117
6.1.5	Abschließende Beurteilung der Ergebnisse aus dem Interleukin-1-Genkomplex.....	118
6.2	Allgemeine Betrachtung zu Methodik und Aussagekraft dieser Studie.	119
6.3	Ausblick	120
6.3.1	Zukünftige Untersuchungen.....	120
6.3.2	Therapeutische Konsequenzen	121
7	LITERATURVERZEICHNIS	123
8	PUBLIKATIONEN	162
9	DANKSAGUNG	163
10	LEBENS LAUF	164

Abkürzungen und Fachbegriffe

Abkürzung	Erklärung
A	Adenin
Abb.	Abbildung
AGNP	Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie
AP-1	Activator Protein-1
Aqua bidest.	Aqua bidestillata, doppelt destilliertes Wasser
AS	Aminosäure
B	Blindprobe
BMI	Body mass index
bp	Basenpaare
C	Cytosin
cAMP	Zyklisches Adenosin-Monophosphat
CD3 ⁺	Gesamtzahl der T-Lymphozyten
CD4 ⁺	T-Helferzellen
CD8 ⁺	T-Suppressorzellen
COMT	Catechol-O-methyltransferase
cM	Centimorgan
CRF	Corticotropin releasing factor
C-Terminus	Carboxy-Ende
D'	Maß für das Disequilibrium (Kopplungsungleichgewicht), Wert für die Assoziation der am häufigsten vorkommenden Allele eines Genorts
D	$D = P_{ab} - P_a \cdot P_b$, wobei P_a die Häufigkeit des ersten Markerallels und P_b die Häufigkeit des zweiten Markerallels darstellt
D_{max}	maximaler Wert der Differenz von $P_{ab} - P_a \cdot P_b$
DAAO	D-aminoacid oxidase
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
df	Degrees of freedom (Freiheitsgrade)
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DRD 2	Dopamin 2-Rezeptorgen
DRD 3	Dopamin 3-Rezeptorgen
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition), Diagnostisches Manual der amerikanischen Psychiatrie-Vereinigung (4. Auflage)
DTNBP1	Dysbindin
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
DZ	Dizygoter (zweieiiger) Zwilling

Abkürzungen

E	Embryonaltag
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EM-Algorithmus	Expectation maximisation-Algorithmus
EtBr	Ethidiumbromid
Fa.	Firma
g	Gramm
G	Guanin
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
Gly	Glycin
G-Protein	Guanin-Nukleotid Bindungsprotein
GTP	Guanosintriphosphat
GTPase	Guanosintriphosphat-spaltendes Enzym
h	Stunde
HCL	Salzsäure
HIV	Human immunodeficiency virus
H ₂ O	Wasser
5-HT	5-Hydroxy-Tryptamin (Serotonin)
ICD-10	International Classification of Diseases, Klassifikationssystem für Krankheiten in der Weltgesundheitsorganisation
ICE	Interleukin-1 beta converting enzyme, Interleukin-1 beta konvertierendes Enzym
icIL-1RA	Intrazelluläre Isoform des Interleukin-1-Rezeptorantagonist
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
IL-1	Interleukin-1
IL-1 α	Interleukin-1 alpha
IL-1 β	Interleukin-1 beta
IL-1RA	Interleukin-1-Rezeptorantagonist
IL-1A	Interleukin-1 alpha-Gen
IL-1B	Interleukin-1 beta-Gen
IL-1R	Interleukin-1-Rezeptor
IL-1RI/II	Interleukin-1-Rezeptor Typ I/II
IRAK	IL-1-Rezeptor assoziierte Kinase
IL-1R-AcP	IL-1-Rezeptor Typ I-assozierte Protein
IL-1RN	Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gen
IL-2	Interleukin-2
kb	Kilobasenpaare
kDa	Kilo-Dalton (Molekulargewicht)
L	Längenstandard

Abkürzungen

LPS	Lipopolysaccharid
LSD	Lysergsäurediethylamin
M	Molar
mbp	Mega-Basenpaare
Mg ²⁺	Magnesium
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimolar
mRNA	Boten-RNA
mV	Millivolt
MZ	Monozygote (eineiige) Zwillinge
n	Probandenzahl
Na ₂ EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz
NfκB	Nuclear Factor κB
ng	Nanogramm, 10 ⁻⁹ g
NGF	Nerve Growth Factor
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
NRG 1	Neuregulin 1
N-Terminus	Amino-Ende
OD	Optische Dichte
OH-	Hydroxy-
OR	Odds ratio
p (Chromosom)	petit, kurzer Arm eines Chromosoms
p	Signifikanz, p-Wert, probability
PBS	Phosphat gepufferte Saline
PFC	Präfrontaler Cortex
PCR	Polymerasekettenreaktion
pH	Wasserstoff-Ionenkonzentration
pmol	Picomol
Primer	DNA-Oligonukleotid
q (Chromosom)	queue, langer Arm eines Chromosoms
RGS 4	Regulator of G-Protein signaling 4
RFLP	Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure

Abkürzungen

RNase	Ribonuklease
rpm	Rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	Reverse Transkription mit anschließender PCR
Second messenger	Intrazelluläre Botenstoffe
s	Sekunde
Ser	Serin
sIL-1R	Löslicher Interleukin-1-Rezeptor
sIL-1RA	Löslicher Interleukin-1-Rezeptorantagonist
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV Achse II
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
T	Thymidin
Tab.	Tabelle
TAQ	Thermostabile Polymerase
TBE-Puffer	Tris-Borat-Na ₂ EDTA-Puffer
TH 1-Zellen	T-Helfer 1-Zellen
TH 2-Zellen	T-Helfer 2-Zellen
TM	Schmelztemperatur
TNF	Tumornekrosefaktor
TRAF	Tumornekrosefaktor-Rezeptor-assoziiertes-Faktor
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
U	Unit, Einheit der Enzymaktivität
UV	Ultraviolett
VNTR	Variable number of tandem repeats, Variable Anzahl an Tandemwiederholungen
ZNS	Zentrales Nervensystem
°C	Grad Celsius
λ (lambda)	Wellenlänge
µg	Mikrogramm, 10 ⁻⁶ g
µl	Mikroliter, 10 ⁻⁶ l

1 Zusammenfassung

Es gilt heute als gesichert, dass eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie vorliegt. In der vorliegenden Arbeit wurden in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie drei genetische Polymorphismen in Genen des Interleukin-1-Genkomplexes auf eine mögliche Assoziation mit Schizophrenie untersucht:

die Gene, die für die proinflammatorischen Interleukine Interleukin-1 alpha und Interleukin-1 beta kodieren, sowie das Gen, welches für den antiinflammatorischen Interleukin-1-Rezeptorantagonist kodiert. Dieser ist der natürlich vorkommende, endogene Gegenspieler von Interleukin-1. Seine biologische Funktion scheint in der Kontrolle des Ausmaßes der proinflammatorischen Interleukine zu liegen.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gene liegen innerhalb einer Genregion auf Chromosom 2p12-q22.1, die in einer groß angelegten Meta-Analyse als einziger Genabschnitt eine genomweite signifikante Kopplung erreichte (Lewis et al. 2003). Daher sind die Gene des Interleukin-1-Genkomplexes positionelle Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie. Außerdem sind die Interleukine deswegen sehr interessante Proteine für die Schizophrenie, da sie den Metabolismus von Neurotransmittern und die Hirnentwicklung beeinflussen sowie Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des zentralen Nervensystems vermitteln können. Im Blut, in der Zerebrospinalflüssigkeit sowie im präfrontalen Cortex schizophrener Patienten konnten veränderte Konzentrationen von IL-1 und IL-1RA im Vergleich zu Kontrollen beobachtet werden. Dies weist auf eine Dysregulation der Interleukine in der Schizophrenie hin. Da Anomalien bei der Hirnentwicklung, den Neurotransmittersystemen und dem Immunsystem als mögliche Pathomechanismen der Schizophrenie betrachtet werden, ist es durchaus vorstellbar, dass eine genetisch bedingte Störung in dem sensitiven Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Interleukinen in der Schizophrenie zumindest teilweise krankheitsauslösend oder -beeinflussend sein kann.

Für diese Fragestellung wurden Allel- und Genotypfrequenzen eines C-889T-Basenaustauschpolymorphismus im Promotor des Interleukin-1 alpha-Gens, eines C-511T-Basenaustauschpolymorphismus im Promotor des Interleukin-1 beta-Gens sowie eines *variable number of tandem repeats* (VNTR) -Polymorphismus im zweiten Intron des Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gens untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen der Gene des Interleukin-1 alpha und beta mit der Diagnose Schizophrenie festgestellt werden. Bei dem untersuchten Polymorphismus des IL-1RN konnte ein Trend in Richtung einer selteneren Häufigkeit des Allels 2 bei Schizophrenen nachgewiesen werden. Die Analyse von Haplotypen des IL-1-Genkomplexes auf Assoziation mit Schizophrenie ergab keinen Zusammenhang. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, dass das seltenere Vorkommen des Allels 2 des IL-1RA bei den Schizophrenen einen Einfluss auf das Entstehungsrisiko der Schizophrenie haben könnte, indem es zu einer Verschiebung der sensitiven Balance des Interleukin-1-Genkomplexes zwischen pro- und antiinflammatorischen Interleukinen zugunsten der proinflammatorischen Interleukine führt. Dieser Befund bekräftigt die Hypothese, dass eine überschießende Aktivierung des Immunsystems in der Pathogenese der Schizophrenie eine Rolle spielen könnte. Außerdem weist er darauf hin, dass die Dysregulation der Interleukine bei den Schizophrenen zumindest teilweise genetisch bedingt sein könnte. Die Ergebnisse sprechen somit für eine mögliche schützende Rolle des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten vor der Entstehung der Schizophrenie. Dieser Befund wurde durch neuste Studien von Zanardini et al. (2003) und Bocchio-Chiavetto et al. (2002), in denen die Träger des IL-1RN Allel 2 signifikant seltener bei den Schizophrenen vertreten waren, unterstützt.

2 Einleitung

2.1 Die Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine heterogene psychische Erkrankung, die sowohl symptomatisch als auch neuropathologisch sehr vielfältig ist. Charakteristische Symptome sind Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorische Störungen (Möller und Deister 2000).

2.1.1 Symptomatik und Verlauf der Schizophrenie

Zur Kategorisierung der komplexen Symptomatik der Schizophrenie wurden unterschiedliche Einteilungsversuche entwickelt, die für die Diagnose schizophrener Psychosen von großer Bedeutung sind. Die Einteilung in klinische Subtypen wurde bereits 1896 von Emil Kraepelin in seiner ersten Beschreibung der *Dementia praecox* dargestellt und erfolgt je nach Verlauf und vorherrschender Symptomatik in hebephrene, katatone oder paranoid-halluzinatorische Schizophrenie (Diefendorf 1902; Kraepelin 1896). 1908 entwickelte Eugen Bleuler eine Einteilung der Symptomatik in Grund- und akzessorische Symptome. Zu den Grundsymptomen zählte Bleuler Assoziationsstörungen, Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz, zu den akzessorischen Halluzination, Wahn und katatone Symptomatik (Möller und Deister 2000). Seit den 70er Jahren werden die Symptome der schizophrenen Psychosen auch in positive und negative Symptome differenziert. Zu den positiven Symptomen zählen Halluzination, Wahn, formale Denkstörungen sowie desorganisiertes Verhalten und zu den negativen Alogie, Affektverarmung, sozialer Rückzug und Aufmerksamkeitsstörungen (Andreasen und Olsen 1982; Crow 1980). Das Konzept der Schizophrenie in den heutigen Klassifikationssystemen ICD-10 (International Classification of Diseases, 10. Fassung) und DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition)) basiert im Wesentlichen auf dem Ansatz von Kraepelin. Es wurde allerdings bezüglich internationaler Konsensfindung, Einbeziehung moderner empirischer Untersuchungsergebnisse und Notwendigkeit der Operationalisierung modifiziert (Möller 2001). Die nosologische Einteilung erfolgt in der ICD-10 nach sieben klinischen Syndromen: der paranoiden, hebephrenen, katatonen und undifferenzierten Schizophrenie, der

postschizophrenen Depression, des schizophrenen Residuums und der Schizophrenia Simplex. Das amerikanische Diagnosesystem DSM-IV klassifiziert nach fünf Haupttypen: dem paranoiden, desorganisierten, katatonen, undifferenzierten und residualen Typus (Möller und Deister 2000).

Bezüglich des Verlaufs ist die Schizophrenie eine schwerwiegende psychiatrische Erkrankung. Obwohl sich prognostisch günstige und ungünstige Faktoren herausgestellt haben, ist es nicht möglich, zu Beginn der Erkrankung eine Prognose für den Einzelfall zu erstellen.

2.1.2 Epidemiologie der Schizophrenie

Die Schizophrenie hat eine weltweite Lebenszeitprävalenz von ca. 1%. Das Ersterkrankungsalter liegt in der Regel zwischen dem 18. und 30. Lebensjahr. Drei epidemiologische Charakteristika der Schizophrenie sind sehr gut belegt:

1. Die Prävalenzzahlen sind in unterschiedlichen Ländern der Welt mit unterschiedlichem soziokulturellen Hintergrund etwa gleich (Tsuang et al. 1995).
2. Das mittlere Ersterkrankungsalter von Männern liegt zwar um zwei Jahre früher als das von Frauen, die Lebenszeitprävalenz ist aber nicht geschlechtsabhängig (Jablensky und Cole 1997).
3. Die jahreszeitliche Verteilung des Geburtsdatums Schizophrener weist eine überzufällige Häufung von Geburten im späten Winter und Frühjahr auf, und zwar in allen Ländern der nördlichen und südlichen Halbkugel (Hettema et al. 1996).

2.1.3 Epidemiologische Risikofaktoren der Schizophrenie

Seit über 100 Jahren forscht man nach den Ursachen der Schizophrenie und verfolgt dabei zahlreiche methodische Ansätze. Trotz intensiver Forschungsanstrengungen ist die Ätiologie der schizophrenen Erkrankungen nach wie vor ungeklärt. Es gilt jedoch als gesichert, dass folgende Risikofaktoren relevant sind:

1. Eine deutliche familiäre Häufung schizophrener Störungen deutet auf eine zentrale Rolle genetischer Faktoren bei ihrer Entstehung hin. Dabei ist das relative Risiko bei einem schizophrenen Angehörigen ersten Grades im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung etwa 5 - bis 15 fach erhöht (Kendler und Gardner 1997).

2. Komplikationen bei der Schwangerschaft und Geburt führen zu einer Erhöhung des relativen Risikos um 1,5 bis 2,0 (Verdoux et al. 1997; Verdoux und Sutter 2002).

3. Das Geburtsdatum von Schizophrenen geht in Frühjahrs- und Wintermonaten mit einem geringfügig, aber zumindest in Populationen, die in der Großstadt geboren und aufgewachsen sind, sicher replizierbar erhöhten Erkrankungsrisiko (relatives Risiko 1,2 bis 1,5) einher. Dieser Befund wird aber methodenkritisch diskutiert (Lewis 1989; Torrey und Bowler 1990).

Nach heutiger Vorstellung wird eine multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie favorisiert.

2.1.4 Multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie

Im Folgenden werden die verschiedenen Faktoren dargestellt, die einen Einfluss auf das Entstehungsrisiko der Schizophrenie ausüben könnten.

2.1.4.1 Genetische Faktoren

Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien zeigen, dass es eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie gibt.

2.1.4.1.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien zeigen, dass das Risiko, die Krankheit zu entwickeln, mit zunehmender genetischer Verwandtschaft zu einer schizophrenen Person zunimmt (McGuffin et al. 1995). Im Gegensatz zu einem Risiko von 1% in der allgemeinen Bevölkerung haben Verwandte dritten Grades ein Risiko von ca. 2%, an Schizophrenie zu erkranken. Verwandte zweiten Grades zeigen ein Risiko von 6%, und bei Verwandten 1. Grades steigt das Risiko auf bis zu 9% an (Tsuang et al. 2001). Familienstudien setzen die Ähnlichkeit zwischen Eltern und ihrer genetisch verwandten Nachkommenschaft sowie zwischen zusammenlebenden Geschwistern voraus. Dabei kann die Ähnlichkeit sowohl auf genetische als auch auf Einflüsse der gemeinsamen familiären Umgebung zurückgehen. Daher können Familienstudien keine Trennung von Genetik und Umweltfaktoren darstellen.

Zwillingsstudien zeigen, dass genetische Einflüsse einen bedeutsamen Beitrag zur familiären Häufung der Schizophrenie leisten. Sie vergleichen die Konkordanz für Schizophrenie bei monozygoten Zwillingen (MZ), die genetisch identisch sind, mit der Konkordanz bei zweieiigen Zwillingen, die nur ungefähr 50% ihrer Gene teilen. In verschiedenen Studien konnte wiederholt eine Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen von etwa 40 - 60% festgestellt werden, was signifikant höher ist als die Rate von 4 - 15% bei dizygoten Zwillingen (DZ) (Cannon et al. 1998; Farmer et al. 1987; Franzek und Beckmann 1996; Kringlen 1976; Onstad et al. 1991). Dies ist ein weiteres Indiz für die starke genetische Rolle bei der Entstehung der Schizophrenie. Andererseits zeigt die durchschnittlich nur etwa 50%ige Konkordanz für Schizophrenie bei eineiigen Zwillingen, dass auch nichtgenetische Faktoren eine Rolle spielen.

Eine Erklärung hierfür wäre der Einfluss von Umweltfaktoren wie Geburtskomplikationen, intrauterine Veränderungen und Virusinfektionen, aber auch von sozialen Faktoren und psychologischem Stress, der in der Pathogenese der Schizophrenie zusätzlich zu der genetischen Rolle diskutiert wird (McNeil et al. 2000; Tsuang 2000). In Annahme der multifaktoriellen Ätiopathogenese der Schizophrenie begünstigen diese Umweltfaktoren wahrscheinlich zusammen mit der genetischen Prädisposition die Ausbruchswahrscheinlichkeit der Schizophrenie. Somit kann der Ausbruch einer schizophrenen Psychose als das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels zwischen genetischer Komponente und Umwelt betrachtet werden. Interessant ist auch die Tatsache, dass monozygote Zwillingspaare im Vergleich zu dizygoten in stärkerem Umfang eine gleiche Umgebung teilen. Sie sehen sich besonders ähnlich und haben das gleiche Geschlecht. Daher ist es durchaus vorstellbar, dass auch ihre Umwelt, z.B. die Eltern in ähnlicherer Weise auf sie reagieren und eventuell Unterschiede bezüglich ihrer Persönlichkeit vernachlässigen. Außerdem teilen sich monozygote Zwillinge nur eine Plazenta, d.h. sie haben die gleiche pränatale Umwelt und intrauterine Variablen (Reiss et al. 1991). Dizygoten Zwillinge dagegen haben zwei Plazenten, so dass hier bei monozygoten Zwillingen die Heritabilität überschätzt werden könnte.

Adoptionsstudien stellen die beste Methode dar, um genetische und umweltbedingte Faktoren einer Familie zu trennen. Sie liefern Hinweise dafür, dass die familiäre Häufung nicht das Ergebnis von gemeinsamen Umweltfaktoren, sondern

überwiegend durch genetische Faktoren bedingt ist. Dafür spricht, dass unbelastete Kinder, die früh in eine Familie mit schizophrenem Elternteil adoptiert wurden, nicht unter einem gesteigerten Risiko der Schizophrenieentwicklung litten. Dagegen behielten früh adoptierte Kinder, die von an Schizophrenie erkrankten Eltern stammten, ihr gesteigertes Schizophrenierisiko bei, obwohl es keine schizophrenen Eltern in der Familie gab, in die sie adoptiert wurden (Kendler et al. 1994; Kety et al. 1994).

Bis heute sind die Grenzen der in Familien übertragenen Phänotypen nicht eindeutig definierbar. Die klinischen Subtypen (paranoid, hebephren, kataton) zeigten keine sicher reproduzierbare familiäre Homogenität (Kendler und Diehl 1993). Familienstudien konnten zeigen, dass v.a. Probanden mit ausgeprägter sogenannter Negativsymptomatik familiär mit psychotischen Störungen belastet sind (Kendler et al. 1995; van Os et al. 1997). Außerdem waren in einer Zwillingsstudie, bei der nach Positiv- und Negativsymptomatik differenziert wurde, die konkordanten Zwillinge häufiger mit vermehrten Negativsymptomen, schlechter präorbider Anpassung und weniger paranoider Symptomatik belastet als die diskordanten Paare (Dworkin et al. 1988). Das lässt auf eine stärkere genetische Komponente der Negativsymptomatik schließen.

2.1.4.1.2 Molekulargenetik der Schizophrenie

Der relative Einfluss von genetischen Faktoren in der Ätiologie der Schizophrenie wird auf etwa 40 - 60% geschätzt (Cannon et al. 1998; Farmer et al. 1987; Franzek und Beckmann 1996; Kringlen 1976; Onstad et al. 1991).

Die Schizophrenie gehört zu den genetisch komplexen Erkrankungen wie Alkoholismus, affektive Störungen (Maier und Schwab 1999), Hypertonie, koronare Herzerkrankung oder Diabetes mellitus (Lander und Schork 1994). Das Vererbungsmuster ist komplex und folgt nicht den Mendelschen Vererbungsregeln (McGue und Gottesman 1989). Das zur Zeit plausibelste formalgenetische Modell der Schizophrenie geht von einer polygenen Übertragung aus. Die genetische Komponente besteht wahrscheinlich aus verschiedenen Genen, von denen jedes einzelne nur einen geringen Einfluss auf die Erkrankung hat (Owen 2000). Hier sind also gleichzeitig mehrere Mutationen an verschiedenen Loci für das Auftreten der Schizophrenie verantwortlich. Jedes der beteiligten Gene leistet nur einen kleineren

Teil zum Erkrankungsrisiko. Hinweise auf Hauptgene, die einen größeren Beitrag als andere leisten, sind bisher noch nicht entdeckt worden.

Zusätzlich ist eine genetische Heterogenität anzunehmen, bei der verschiedene Mutationen an verschiedenen Genorten dasselbe Merkmal, also Schizophrenie, hervorrufen können. Jedoch sind die sich daraus ergebenden, ätiologisch unterschiedlichen möglichen Varianten derzeit nicht mit klinischen Mitteln zu differenzieren (Maier et al. 1999).

Aufgrund der überzeugenden Hinweise auf die beträchtliche Rolle, die genetische Mechanismen in der Pathogenese der Schizophrenie spielen, wurde die Entdeckung von Schizophreniegenen seit den 80er Jahren verfolgt. Angespornt wurde sie durch die erfolgreiche Anwendung der bisher vor allem bei monogenen Erkrankungen eingesetzten molekulargenetischen Technik der Polymerasekettenreaktion (PCR) und der Entwicklung von polymorphen DNA-Markern, mittels derer unterschiedliche Genformen (Allele) auf Chromosomen nachgewiesen werden können (Tsuang et al. 1999). Kurz nach Beginn des dritten Jahrtausends wurde das humane Genom fast vollständig entschlüsselt. Ein wichtiges Ziel des Humangenomprojekts stellt die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen humaner DNA-Sequenzvariabilität, Phänotypvariabilität und komplexen Erkrankungen wie der Schizophrenie dar (Collins et al. 1998).

Bisher sind für Schizophrenie die Anzahl an prädisponierenden Genorten, das von jedem Genort übertragene anteilige Risiko und der Grad der Wechselwirkung zwischen den Genorten unbekannt. Daher bietet das Auffinden von Risikogenen für Schizophrenie eine bedeutende Herausforderung, wenn man davon ausgeht, dass die Pathobiologie der Schizophrenie weit davon entfernt ist, verstanden zu werden. Trotz dieser Schwierigkeiten sind zwei Wege möglich, um auf Genomebene nach prädisponierenden Genen für Schizophrenie zu suchen:

Kopplungsstudien, die nicht auf bestimmten biologischen Hypothesen beruhen und innerhalb von Familienstudien darauf angelegt sind, chromosomale Regionen zu identifizieren, die prädisponierende Genorte enthalten, und Assoziationsstudien, die sensitiv genug sind, um geringere Geneffekte herauszufinden, aber auf die Auswahl an plausiblen Kandidatengenen angewiesen sind.

Beide Methoden stellen prinzipiell komplementäre Ansätze zur Identifikation von Suszeptibilitätsgenen für komplexe Erkrankungen dar.

2.1.4.1.3 Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie

In Kopplungsstudien wird getestet, ob ein Markerallel innerhalb einer Familie überzufällig häufig zusammen mit einer Krankheit vererbt wird. Die ersten Kopplungsuntersuchungen zur Schizophrenie wurden in der Annahme durchgeführt, dass Gene mit einer Hauptwirkung identifiziert werden können. Erste positive Ergebnisse für Kopplungen, z.B. mit einer Region auf Chromosom 5, konnten jedoch nicht repliziert werden (Bassett et al. 1988; Sherrington et al. 1988). Vermutlich sind Mutationen mit einer sehr hohen Penetranz äußerst selten oder nicht vorhanden (McGuffin und Owen 1996). Daraufhin wurden große gemeinschaftliche Anstrengungen unternommen, um systematische Kopplungsstudien über das gesamte Genom hinweg durchzuführen. In den letzten Jahren wurden zwar tendenzielle bis signifikante Kopplungen gefunden, allerdings waren die gefundenen Kandidatengenregionen jeweils sehr breit (etwa 30 Centimorgan (cM)) und konnten häufig durch unabhängige Gruppen nicht repliziert werden.

Eine groß angelegte Meta-Analyse von Lewis et al. (2003) wertete die Daten von 20 genomweiten Kopplungsstudien mit insgesamt 1208 Stammbäumen zur Schizophrenie aus und zeigte eine größere Übereinstimmung in den Ergebnissen der bisherigen Kopplungsstudien als bislang vermutet. Interessanterweise konnte diese Meta-Analyse verschiedene Hinweise auf Kopplungen bestätigen, die an einer kleineren Anzahl von Stammbäumen aus homogeneren oder isolierteren Bevölkerungsgruppen beobachtet wurden. Die Ergebnisse werden in Tabelle 1 und Abbildung 1 dargestellt:

Tab. 1: Kopplungsergebnisse der Meta-Analyse zur Schizophrenie (Lewis et al. 2003)

Kopplungsgrad	Chromosom	Zytogenetische Lokalisation	Frühere Studien: gleiche Region	Frühere Studien: Benachbarte Region
signifikant	2	2p12-q22.1	(Mowry et al. 2000)	(DeLisi et al. 2002)
stark	2	2q22.1-q23.3	keine	
	5	5q23.2-q34	(Schwab et al. 1997; Straub et al. 1997)	
	3	3p25.3-p22.1		(Pulver et al. 1995)
	11	11q22.3-q24.1	(Gurling et al. 2001)	
	6	6pter-p22.3	(Lindholm et al. 2001; Straub et al. 2002b)	
		6p22.3-p21.1	(Schwab et al. 2000)	
	1	1p13.3-q23.3	(Brzustowicz et al. 2000)	
	22	22pter-q12.3	(Pulver et al. 1994)	
	8	8p22-p21.1	(Blouin et al. 1998; Brzustowicz et al. 1999; Chiu et al. 2002; Kendler et al. 1996; Schizophrenia Linkage Collaborative Group (SLCG) 1996)	
	20	20p12.3-p11	keine	
	14	14pter-q13.1	(Chiu et al. 2002)	
moderat	1	1q23.3-q31.1	(Gurling et al. 2001)	
	6	6q15-q23.2	(Cao et al. 1997; Levinson et al. 2000; Lindholm et al. 2001; Martinez et al. 1999)	
	16	16p13-q12	keine	
	18	18q22-qter	keine	
	10	10pter-p14	(Faraone et al. 1998; Levinson et al. 2000; Schwab et al. 1998; Straub et al. 1998)	
	15	15q21.3-q26.1	keine	
	17	17q21.33-q24.3	keine	

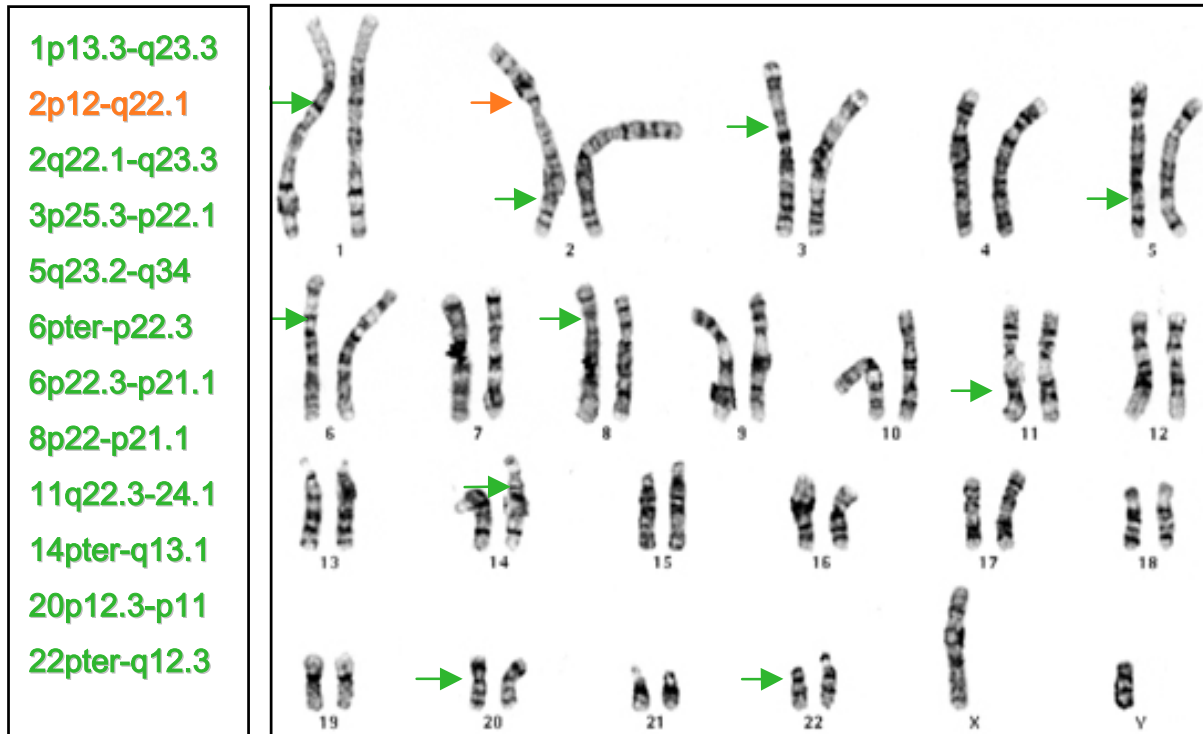


Abb. 1: Kopplungsergebnisse der Meta-Analyse zur Schizophrenie (Lewis et al. 2003)
 Signifikante (rot gedruckt) bis starke (grün gedruckt) Hinweise auf Kopplung mit Schizophrenie.

Der einzige Genabschnitt, der eine genomweite signifikante Kopplung erreichte, war auf Chromosom 2p12-q22.1 lokalisiert. Dies ist insofern ein sehr interessanter Befund, da die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes innerhalb dieser Region auf Chromosom 2q14-q14.2 liegen (Nicklin et al. 2002; Nothwang et al. 1997). Daher könnten sie potentielle Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie sein. Weitere starke Hinweise für Kopplung konnten ebenfalls auf Chromosom 2 (2q22.1-q23.3) sowie auf den Chromosomen 5 (5q23.2-q34), 3 (3p25.3-p22.1), 11 (11q22.3-q24.1), 6 (6pter-p22.3 und 6p22.3-p21.1), 1 (1p13.3-q23.3), 22 (22pter-q12.3), 8 (8p22-p21.1), 20 (20p12.3-p11) und 14 (14pter-q13.1) beobachtet werden. Befunde mit moderaten Hinweisen für eine Kopplung wurden wiederholt auf Chromosom 1 (1q23.3-q31.1) und 6 (6q15-q23.2) gefunden sowie auf den Chromosomen 16 (16p13-q12.2), 18 (18q22.1-qter), 10 (10pter-p14), 15 (15q21.3-q26.1) und 17 (17q21.33-q24.3) nachgewiesen. Innerhalb oder angrenzend an diese ermittelten chromosomalen Regionen wurden mit Ausnahme der Bereiche 2q22.1-q23.3, 20p12.3-p11, 16p13-q12.2, 18q22.1-qter, 15q21.3-q26.1 und 17q21.33-q24.3 bereits in früheren Studien Hinweise auf Kopplung erhalten. Diese Meta-Analyse gibt starke Hinweise darauf, dass mehrere

Genorte zur Suszeptibilität für Schizophrenie beitragen und das Risiko, diese Krankheit zu entwickeln, erhöhen.

Allerdings ist die Relevanz der positiven Kopplungsbefunde erst dann abschließend zu beurteilen, wenn deren Krankheitsbedeutung *in vivo* nachgewiesen werden kann. Leider ist die Methodik der Kopplungsstudien nicht empfindlich genug, die Risikogene mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung nachzuweisen, da die eingrenzenden Genregionen noch zu groß sind.

2.1.4.1.4 Assoziationsstudien

Assoziationsanalysen liefern einen alternativen Ansatz zur Identifizierung solcher Gene. Sie stellen eine empfindliche Methode zum Nachweis von Suszeptibilitätsgenen mit einem geringen Einfluss auf die Krankheit, wie es bei Schizophrenie der Fall ist, dar. Ihr Ziel ist es, auf Populationsebene durch Vergleich einer Fall- mit einer Kontrollgruppe Genvarianten (Allele), denen bei der Entstehung der Schizophrenie eine mögliche Rolle zugeschrieben wird, mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko in Zusammenhang zu bringen.

Die meisten Assoziationsstudien beruhen auf den derzeitigen pathobiologischen Modellen der Schizophrenie. Untersucht werden sogenannte Kandidatengene, von denen man annimmt, dass ihre Produkte an der Entstehung der Krankheit beteiligt sein könnten. Daher haben sie sich zunächst auf Modelle der dopaminergen Dysfunktion konzentriert. Sowohl die Dopaminhypothese der Schizophrenie als auch die Tatsache, dass Dopaminrezeptoren von den meisten Neuroleptika blockiert werden, gaben Anlass zur Erforschung von Genen, die an der dopaminergen Neurotransmission beteiligt sind. In diesen Studien werden Gene untersucht, die sowohl für Dopaminrezeptoren als auch für die Enzyme, die in den Dopaminmetabolismus involviert sind, kodieren. Eine Meta-Analyse von > 5000 Personen deutet auf eine Assoziation zwischen Schizophrenie und Homozygotie für einen Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) hin, welcher eine Aminosäurevariation (Ser9Gly) im Exon 1 des Dopamin 3 (DRD3) -Rezeptorgens verursacht (Williams et al. 1998). Weitere positive Assoziationen wurden im Bereich des Dopamin 2-Rezeptors gefunden (Breen et al. 1999). Ebenfalls ein wichtiger Befund ist die signifikante Assoziation eines SNP im dem für die Catechol-O-methyltransferase (COMT) kodierenden Gen (Shifman et al. 2002). Es liegt auf Chromosom 22q11,

einer Region, die mit Schizophrenie gekoppelt ist (Blouin et al. 1998) und spielt eine besondere Rolle im Dopaminmetabolismus.

Weiterhin wurden serotonerge Systeme untersucht, da Lysergsäurediethylamin (LSD), welches schizophrenieähnliche Symptome erzeugt, an den Serotonin (5-HT)-2A-Rezeptor bindet. Außerdem haben atypische Neuroleptika neben einem Dopamin-D2- v.a. einen 5-HT-2A-antagonistischen Effekt. Eine Meta-Analyse zu einem T102C-Polymorphismus im Serotonin-2A (5-HT-2A) -Rezeptorgen zeigte ebenfalls eine Assoziation mit Schizophrenie (Inayama et al. 1996; Williams et al. 1997).

Ein weiterer interessanter Befund ist die Entdeckung des Gens RGS4 (Regulator of G-Protein signaling-4) auf Chromosom 1q21 – 22, das zuvor nie mit Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wurde. In einer Studie konnte eine Verminderung der Expression in *post mortem*-Hirnen Schizophrener beobachtet werden (Mirnics et al. 2001). Auch Hinweise auf eine Kopplung dieses Gens mit Schizophrenie wurden beobachtet (Brzustowicz et al. 2000). Weiterhin konnte eine Assoziation mit einer genetischen Variante des RGS4-Gens gezeigt werden (Chowdari et al. 2002). RGS4 gehört zu einer Gruppe von Proteinen, die eine wichtige Rolle in der Regulation der Dauer des postsynaptischen Signals verschiedener G (Guanosin) - Proteingekoppelter Neurotransmitter-Rezeptoren, wie dem Dopamin-D2-, 5-HT2- und metabotropem Glutamaterezeptor, spielen.

Schließlich deuten verschiedene Befunde auf Veränderungen im glutamatergen System in der Pathogenese der Schizophrenie hin.

In einem genomweiten Screening replizierten Stefansson et al. (2002) Ergebnisse von Kopplungsstudien mit Schizophrenie auf Chromosom 8p an einer isländischen Bevölkerungsgruppe (Stefansson et al. 2002). Des weiteren fanden sie dort einen Haplotypen auf dem Neuregulin 1 (NRG 1) -Gen, der eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie zeigte. Ein fast identisches Muster konnte an einer schottischen Bevölkerungsgruppe repliziert werden (Stefansson et al. 2003).

Straub und Kollegen untersuchten einen Bereich auf Chromosom 6p, der eine Kopplung mit Schizophrenie in irischen Familienstudien aufwies, und entdeckten mittels familienbasierter Assoziationsstudien von SNPs und Haplotypen das Dysbindin (DTNBP1) -Gen auf Chromosom 6p22.3. Es kann u.a. die NMDA-Rezeptorfunktion über die neuronale Nitrosyl (NO) -Synthese beeinflussen. Sie fanden hochsignifikant assoziierte SNPs in den Introns 4, 5 und 6 (Straub et al.

2002a), was auch in einer weiteren deutschen Studie bestätigt werden konnte (Schwab et al. 2003).

Mit diesen Befunden ist ein großer Schritt in Richtung Qualität und Quantität der Beweislage zum genetischen Beitrag zur Schizophrenie geleistet worden. Für jedes Gen zeigte mehr als ein SNP Assoziation mit Schizophrenie. Es bedarf nun weiterer unabhängiger Replikationen, um diese Ergebnisse endgültig zu bestätigen. Die folgende Tabelle (Tab. 2) fasst die wichtigsten Assoziationsbefunde zur Schizophrenie und deren chromosomale Regionen zusammen:

Tab. 2: Genetische Assoziationsstudien zur Schizophrenie

Pathobiologisches Modell der Schizophrenie	Gen	Zytogenetische Lokalisation	Studie
Dopaminhypothese der Schizophrenie	DRD3	3q13.3	(Williams et al. 1998)
	DRD2	11q23	(Breen et al. 1999)
	COMT	22q11.21-q11.23	(Shifman et al. 2002)
Serotoninhypothese der Schizophrenie	5-HT-2A	13q14-q21	(Inayama et al. 1996; Williams et al. 1997)
Glutamathypothese der Schizophrenie	NRG1	8p12-p21	(Stefansson et al. 2003)
	DTNBP1	6p22	(Schwab et al. 2003; Straub et al. 2002a)
zuvor nicht mit Schizophrenie in Verbindung gebracht	RGS4	1q21-22	(Chowdari et al. 2002)

Auf der Suche nach interessanten Kandidatengenen für die Entstehung der Schizophrenie wurden in der vorliegenden Arbeit Variationen von Genen des Interleukin-1-Genkomplexes untersucht, die neben ihrer Beteiligung an entzündlichen Prozessen eine wichtige Rolle in der Hirnentwicklung, dem Immunsystem, dem Metabolismus von Neurotransmittern und der Vermittlung von Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des zentralen Nervensystems (ZNS) spielen. Da zu den derzeitigen pathobiologischen Modellen der Schizophrenie eine zerebrale Hirnentwicklungsstörung sowie Anomalien im Immunsystem und bei den Neurotransmittern gehören, stellen die Gene des IL-1-Genkomplexes potentielle Kandidatengene für die Entstehung der Schizophrenie dar.

Im Folgenden werden diese pathobiologischen Modelle der Schizophrenieentstehung erläutert.

2.1.4.2 Hirnstrukturelle Veränderungen als Folge einer Hirnentwicklungsstörung in der Pathogenese der Schizophrenie

Sowohl bei ersterkrankten als auch bei chronisch schizophrenen Patienten sind strukturelle Hirnveränderungen wiederholt nachgewiesen worden (Lewis 1996; Wright et al. 2000). In den meisten Studien konnte mittels bildgebender Verfahren eine Erweiterung des Ventrikelsystems, v.a. der Seitenventrikel und des dritten Ventrikels und ein reduziertes Gesamthirnvolumen gezeigt werden (Hendren et al. 2000; Whitworth et al. 1998; Wright et al. 2000). Dies wurde im Rahmen einer Meta-Analyse von *in vivo*-Studien, in der die Daten von 1588 Individuen ausgewertet wurden, bestätigt (Wright et al. 2000). Verglichen mit Kontrollprobanden zeigten sie die deutlichsten regionalen Volumenreduktionen im Bereich der Frontallappen und der medialen Temporallappen unter Beteiligung hippocampaler Strukturen (Becker et al. 1990; Bogerts et al. 1990; Buchanan et al. 1998; Dauphinais et al. 1990; DeLisi et al. 1994; Hajek et al. 1997; McCarley et al. 1993; Nelson et al. 1998; Shenton et al. 1992; Suddath et al. 1990; Volz et al. 2000; Wright et al. 2000). Das Ventrikelvolumen war bei den schizophrenen Patienten um 126 % größer.

Als eine zugrundeliegende Ursache struktureller Hirnveränderungen bei schizophrenen Patienten wird eine zerebrale Hirnentwicklungsstörung im Embryonal- oder Fetalstadium diskutiert (Barondes et al. 1997; Murray et al. 1992). Dafür spricht, dass Veränderungen v.a. in den temporolimbischen Regionen subtil und in der Regel nicht progredient sind, was durch eine fehlende Astroglie in den *post mortem*-Hirnen Schizophrener gestützt wird (Falkai et al. 1999; Roberts et al. 1987). Eine Glieose gilt als Marker für den Nervenzelltod bei neurodegenerativen Erkrankungen. Diese Befunde sprechen also für eine Ätiologie der Schizophrenie, die mit Reifungs- bzw. Hirnentwicklungsprozessen wie Axonbildung, Synapsenentwicklung und Apoptose in Zusammenhang steht (Andreasen et al. 1986; Bloom 1993; Catts und Catts 2000; Feinberg 1982). Das legt die Zeitspanne der Schädigung zwischen den Beginn der Nervenzellbildung und der Migration, die zwischen dem 5. und 7. Schwangerschaftsmonat ablaufen, und dem frühen Erwachsenenalter fest. Dies wäre auch mit der langen Latenz vereinbar, die zwischen dem perinatalen Abschluss der makroskopischen und zytoarchitektonischen Hirnentwicklung und dem Beginn der Schizophrenieerkrankung im frühen Erwachsenenalter liegt.

Des Weiteren ließen sich histologisch eine Reduktion der Zellzahl und –größe sowie eine gestörte Zytoarchitektur des Hippocampus zeigen, was ebenfalls die Hypothese einer Hirnentwicklungsstörung unterstützt. Vor allem die zytoarchitektonischen Veränderungen wie z.B. die veränderte Position von Neuronen im präfrontalen Cortex (Akbarian et al. 1993; Akbarian et al. 1996) werden als Zeichen einer gestörten Migration gewertet, die in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft stattfindet (Falkai et al. 2000; Halliday 2001; Jakob und Beckmann 1986).

2.1.4.3 Immunologische Faktoren

Seit langem werden immunologische Veränderungen bei Schizophrenen diskutiert.

2.1.4.3.1 Aktivierung des Immunsystems

In mehreren Studien wurde die Aktivierung des inflammatorischen Immunsystems mit der Pathobiologie der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht.

Bei schizophrenen Patienten wurden veränderte Plasmaspiegel immunologischer Parameter von Zytokinen wie Interleukin (IL) -1, -6 und TNF- α im peripheren Blut und im Liquor im Vergleich zu Kontrollen gefunden (Ganguli et al. 1994; Katila et al. 1994; Lin et al. 1998; Naudin et al. 1997; Shintani et al. 1991). Dies könnte auf eine Dysregulation der Zytokine bei Schizophrenen hindeuten.

Außerdem wurde bei Patienten mit paranoider und residualer Schizophrenie eine Aktivierung des monozytisch/neutrophilen Teils des Immunsystems berichtet (Wilke et al. 1996).

Befunde zu Untersuchungen des zellulären Immunsystems bei Schizophrenen sind nicht einheitlich. Allerdings weisen einige Studien auf eine Erhöhung der Gesamt-T-Zellzahl (CD3⁺) (Coffey et al. 1983; DeLisi et al. 1982) und der T-Helfer-Zellen (CD4⁺) hin (Ganguli et al. 1987; Henneberg et al. 1990; Müller et al. 1993). Auch wurde im Liquor von Patienten mit akuter Schizophrenie eine veränderte Verteilung von CD4⁺- und T-Suppressor (CD8⁺) -T-Lymphozyten beobachtet (Nikkila et al. 1995). Diese befinden sich normalerweise in einem funktionellen Gleichgewicht.

Allerdings sollten derartige Befunde unter Vorbehalt diskutiert werden, da die verschiedenen Komponenten des Immunsystems durch Variablen beeinflusst werden, die *in vivo* nur schwer kontrollierbar sind und möglicherweise mit zu

divergierenden Befunden beitragen. Dazu gehören Alter, Schlaf, Alkohol- und Drogenkonsum, Pharmaka, Ernährungsgewohnheiten, Tagesrhythmus, Stress, Rauchen und körperliches Training ebenso wie Infektionen, Tumoren etc. (Rupprecht und Müller 2000). So konnte für Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA) ein verändernder Einfluss des Geschlechts und des Body mass index (BMI) auf dessen Plasmaspiegel beobachtet werden (Haack et al. 1999).

Folglich können auch Plasmakonzentrationen der Interleukine anfällig für diese Störfaktoren sein.

2.1.4.3.2 Virushypothese der Schizophrenie

Eine für diese Arbeit relevante Hypothese der Schizophrenie postuliert, dass sie im Zusammenhang mit einer maternalen Infektion, speziell einer Virusinfektion, stehen könnte. Dabei wird die Immunreaktion des Fötus als Ursache für eine pränatale Gehirnschädigung angesehen, die für die Entwicklung einer Schizophrenie prädisponieren soll (Barr et al. 1990; Crow 1994; Izumoto et al. 1999; Kunugi et al. 1995; Limosin et al. 2003; Stober et al. 1997).

Am besten untersucht ist aufgrund der Häufigkeit der Erkrankung der Zusammenhang von Schizophrenie mit Influenza. Mehrere Studien konnten einen Zusammenhang dieser Virusinfektion während einer Schwangerschaft mit einem erhöhten Risiko des Kindes, später an Schizophrenie zu erkranken, herstellen (Limosin et al. 2003; Mednick et al. 1988).

Bemerkenswert dabei ist die Steigerung des Erkrankungsrisikos, wenn die Infektion während des 2. Trimenons der Schwangerschaft stattgefunden hat (Barr et al. 1990; Wright et al. 1993). Hier findet die neuronale Migration sowie ein stark ausgeprägtes Hirnwachstum statt. Daher ist dieser Zeitraum des sich entwickelnden Gehirns besonders vulnerabel für derartige Umweltnoxen. Allerdings führten auch hier verschiedene Studien, die anhand von Grippe-Epidemien den Zusammenhang zwischen Influenza bei Schwangeren und Schizophrenie ihrer Nachkommen untersuchten, zu unterschiedlichen Ergebnissen (Crow 1994).

Auch für andere pränatale Infektionen konnte ein erhöhtes Schizophrenierisiko nachgewiesen werden. Dazu zählen pränatal auftretende Infektionen mit Masern-, Varizella-Zoster- und Polioviren und allgemeine maternale respiratorische Infekte,

wobei auch hier spezifisch das Risiko bei Exposition im zweiten Trimenon erhöht zu sein scheint (Brown et al. 2000; Suvisaari et al. 1999; Torrey et al. 1988).

Brown et al. (2001) untersuchten des weiteren, ob eine Rötelnvirusinfektion ein pränataler Risikofaktor für Schizophrenie ist (Brown et al. 2001). Dieser Virus behindert Mitosevorgänge und beeinträchtigt daher die Hirnentwicklung. Auch hier konnte ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden.

2.1.4.3.3 Autoimmunhypothese der Schizophrenie

Der Vorschlag einer Autoimmunhypothese zur Erklärung des möglichen Zusammenhangs zwischen Schizophrenie und Virusinfektion wird seit langem diskutiert (Kirch 1993; Wright et al. 1993). Dabei stellt die Produktion von Antikörpern durch das maternale Immunsystem, ausgelöst durch ein infektiöses Agens, den Kern der Hypothese dar. Diese Antikörper könnten dann kritische Stadien der Hirnentwicklung beim Fötus beeinträchtigen. Auch DeLisi et al. (1985) unterstreichen die Rolle der Immunreaktion auf eine initiale Infektion, die letztlich in autoreaktives Geschehen gegen ZNS-Gewebe münden kann (DeLisi et al. 1985). Gründe, die dafür sprechen, sind zum einen die oben genannten Veränderungen des Immunsystems bei Schizophrenen sowie der mögliche Zusammenhang der Schizophrenie mit Virusinfektionen.

Außerdem spricht für eine Autoimmunhypothese die Tatsache, dass sich aus klinischer und epidemiologischer Sicht viele Parallelen zwischen der Schizophrenie und Krankheiten aus dem Formenkreis der Autoimmunerkrankungen ergeben. Dazu gehören eine genetische Prädisposition, die Erstmanifestation im jungen Erwachsenenalter, eine Geburt im Winter und auch der chronisch-rezidivierende und phasenhafte Verlauf der Autoimmunerkrankungen (Jongbloet et al. 1988; Knight et al. 1992; Knight 1982).

Das Problem bei allen erhobenen immunologischen Daten stellen die relativ geringgradigen Abweichungen und die zum Teil fehlende Replizierbarkeit der Daten dar. Außerdem legen alle diese erhobenen Befunde eine Beteiligung des Immunsystems in der Pathophysiologie der Schizophrenie nahe, ohne eine definitive Erklärung über den Zusammenhang zwischen Immunsystem und psychiatrischer Erkrankung geben zu können.

2.1.4.4 Integratives pathophysiologisches Modell der Schizophrenie

Die vielfältige symptomatische, neuropathologische und ätiologische Befundlage der Schizophrenie erschwert insbesondere die Frage, inwieweit der Erkrankung eine gemeinsame Pathogenese zugrunde liegt oder ob alternativ unterschiedliche pathogenetische Mechanismen dafür verantwortlich sind, die in Erkrankungen mit einer gemeinsamen klinischen Phänomenologie münden (Andreasen 2000).

In der Pathogenese schizophrener Erkrankungen werden in neueren Konzeptbildungen zwei Stufen angenommen:

1. Eine Hirnanlagestörung, die genetisch oder durch Umweltvariablen beeinflusst sein kann (pränatale Infektionen wie Virusinfektionen etc., perinatale Komplikationen wie Hypoxie etc.) und zu einem veränderten Reifungsprozess des ZNS in der Adoleszenz führt. Dies kann im Sinne einer erhöhten Vulnerabilität zu der Manifestation der Erkrankung prädisponieren.
2. Ein Stressor, der schließlich zum Auftreten der schizophrenen Symptomatik führt.

Die wichtigsten Komponenten der Schizophreniegenese wurden in einer Vulnerabilitäts-Stress-Hypothese zusammengefasst, der „Two hit theory“, die ein mögliches multifaktorielles Denkmodell darstellt (Bayer et al. 1999; Maynard et al. 2001). Es verbindet die erwähnten bekannten genetischen sowie die umweltbedingten Beobachtungen und Studienergebnisse bei schizophrenen Patienten in einem gemeinsamen Zweiphasen-Konzept.

Sie postuliert Suszeptibilitätsgene, die primär an der Hirnentwicklung beteiligt und prädisponierend für die Erkrankung sind („First Hit“, Phase 1). Dieser genetische Defekt führt zu einer Hirnentwicklungsstörung. In einem „Second Hit“ (Phase 2) können die als relevant beobachteten Umweltfaktoren wie Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen durch maternale Virusinfektionen, maternalen Stress oder allgemein soziale Stressoren die Funktion dieser Suszeptibilitätsgene beeinflussen und so die Krankheitsmanifestation auslösen (Abb. 2).

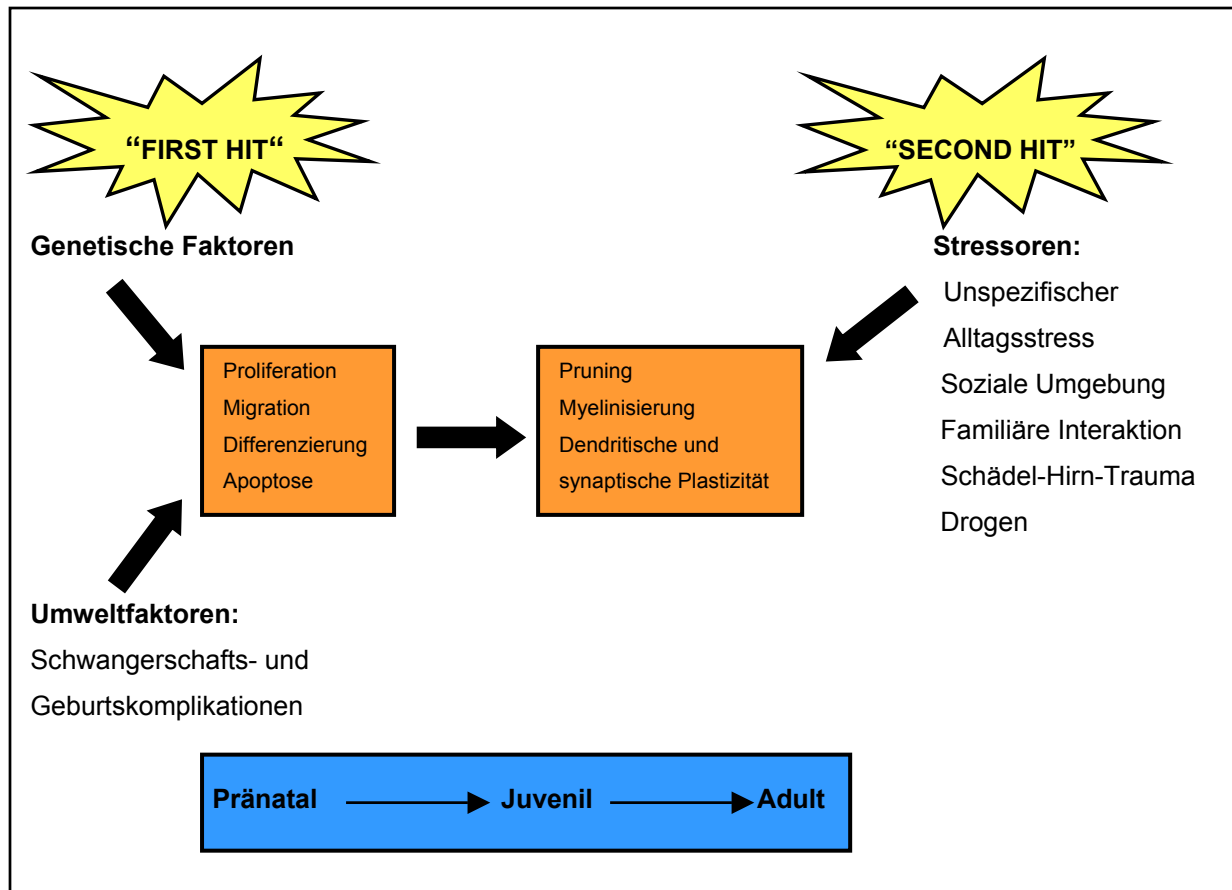


Abb. 2: Die "Two-Hit"-Hypothese

Schematisches Modell der "Two-Hit"-Hypothese nach Bayer zur Entstehung der Schizophrenie (Bayer et al. 1999).

Nachdem die verschiedenen Risikofaktoren, die für die Entwicklung der Schizophrenie eine Rolle spielen könnten, dargestellt wurden, soll die Bedeutung des Interleukin-1-Genkomplexes in der Pathogenese der Schizophrenie erläutert werden.

2.2 Die mögliche Bedeutung der Interleukine in der Pathogenese der Schizophrenie

Die wichtigsten biologischen Funktionen der Proteine des IL-1-Komplexes für die Pathophysiologie der Schizophrenie sind ihre Beteiligung am Immunsystem und an der Hirnentwicklung, ihr Einfluss auf den Metabolismus von Neurotransmittern sowie ihre Fähigkeit, Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des ZNS zu vermitteln. Da Anomalien in der Hirnentwicklung, bei den Neurotransmittern und dem Immunsystem derzeit als mögliche Pathomechanismen der Schizophrenie betrachtet werden, stellen die Gene des IL-1-Genkomplexes interessante Kandidatengene für die Entstehung der Schizophrenie dar.

2.2.1 Das Interleukin-1-System

In diesem Kapitel sollen zunächst die allgemeinen biologischen Funktionen der Interleukine, insbesondere des Interleukin-1-Systems, dargestellt werden.

2.2.1.1 Interleukin-1: Ein multifunktionelles Zytokin

Interleukine gehören neben den Chemokinen, Neurophinen, Tumornekrosefaktoren, Interferonen und Wachstumsfaktoren funktionell zu einer Gruppe von Proteinen, die Zytokine genannt werden (Rothwell 1999).

Zytokine wiederum sind eine große, heterogene Gruppe von Glykoproteinen, die als interzelluläre Botenstoffe agieren. Sie steuern Zell-Zell-Interaktionen unter normalen und pathophysiologischen Bedingungen (Trotta 1991). In den letzten Jahren stellte sich immer mehr heraus, dass Zytokine nicht nur Autoimmunprozesse und klassische Entzündungsreaktionen modulieren, sondern auch Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des ZNS vermitteln (Hopkins und Rothwell 1995). Als Interleukine werden solche Zytokine bezeichnet, die von Monozyten, Makrophagen oder Lymphozyten freigesetzt werden und ursprünglich als Botenstoffe der interleukozytären Kommunikation bekannt wurden (Trotta 1991). Heute sind verschiedene Funktionen der Interleukine im ZNS bekannt, die sie als dem Nervensystem innewohnende Botenstoffe etablieren und ihre Beteiligung an diversen Regulationsvorgängen auch unter physiologischen Bedingungen nahe legen (Rothwell und Hopkins 1995). Die wichtigsten Befunde zur Aktivität der Interleukine werden im Folgenden dargelegt.

2.2.1.2 Die Interleukin-1-Familie

Zur Interleukin-1-Familie gehört neben den agonistisch wirkenden Interleukinen Interleukin-1 alpha (IL-1 α) und Interleukin-1 beta (IL-1 β) auch der IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA) (Roux-Lombard 1998). Die Intron-Exon-Anordnung der 7 Exons und 6 Introns dieser drei Gene lässt vermuten, dass sie von einem gemeinsamen IL-1-Vorläufergen von vor 350 Millionen Jahren abstammen (Dinarello 1994b; Eisenberg et al. 1991).

Obwohl die Sequenzhomologie zwischen den Familienmitgliedern relativ gering ist - 26, 18 und 26% jeweils zwischen IL-1 α und IL-1 β , zwischen IL-1 α und IL-1RA sowie zwischen IL-1 β und IL-1RA - besitzen sie alle Strukturhomologie: sie bestehen aus sechs Paaren antiparalleler β -Faltblätter, die durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden und sich zu einem Tetraeder zusammenfügen lassen (Auron 1998; Boraschi et al. 1995; Gehrke et al. 1990; Priestle et al. 1988).

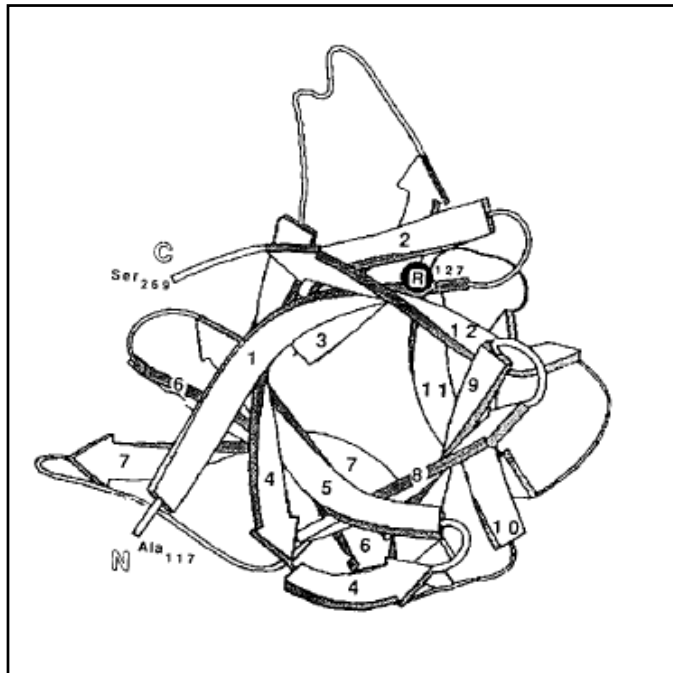


Abb. 3: Räumliche Struktur des IL-1 beta

Schematische Darstellung der globulären Molekülstruktur des IL-1 beta aufgrund von Röntgen-Struktur-Analysen (Rosenwasser 1998).

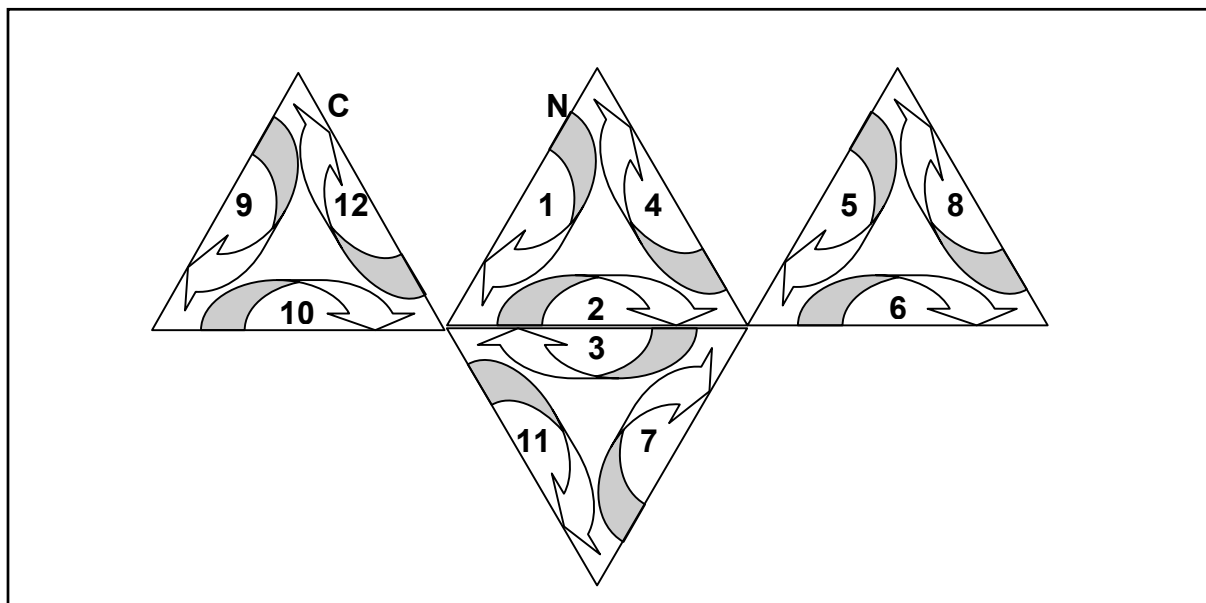


Abb. 4: Planare, zum Tetraeder zusammenfügbare Struktur von IL-1 beta

Die Pfeile entsprechen β -Faltblattstrukturen, die Linien variablen Schleifen (Priestle et al. 1988).

Die beiden Interleukine 1 α und 1 β gelten als Prototypen proinflammatorischer Zytokine, während der IL-1-Rezeptorantagonist antiinflammatorische Wirkung besitzt (Nicklin et al. 2002).

Obwohl IL-1 α und - β unterschiedliche Genprodukte darstellen, binden beide an dieselben IL-1-Rezeptoren und entfalten weitgehendst übereinstimmende biologische Aktivitäten (Dinarello 1991; Kilian et al. 1986).

Während IL-1 α und - β ein intrazelluläres Signal induzieren, bindet der IL-1RA zwar an denselben IL-1-Rezeptor, besitzt dort jedoch keine intrinsische Aktivität (Eisenberg et al. 1990), sondern inhibiert als echter Rezeptorantagonist die Bindung der beiden anderen Proteine an den Rezeptor und wirkt somit hemmend auf das IL-1-Signal (Dinarello und Thompson 1991; Hannum et al. 1990; Stylianou et al. 1992).

2.2.1.2.1 Interleukin-1 alpha und Interleukin-1 beta

IL-1 α und IL-1 β werden als Vorläuferproteine mit einem Molekulargewicht von ca. 31 Kilo-Dalton (kDa) ohne *leader*-Sequenz synthetisiert (Auron et al. 1984; Furutani et al. 1985; Hazuda et al. 1988; March et al. 1985). Dies ist ungewöhnlich für sezernierte Proteine und hat zur Folge, dass sie nicht, wie andere Zytokine, über das endoplasmatische Reticulum und den Golgi-Apparat sezerniert werden können, sondern am Zytoskelett (Microtubuli) im Zytosol gebildet werden (Rubartelli und Sitia 1991). Pro-IL-1 α ist in der Vorform bereits voll aktiv (Mosley et al. 1987) und verbleibt in der Zelle. Es gelangt erst bei Zerstörung der Zelle in den Extrazellulärbereich, wo es durch extrazelluläre Proteasen gespalten werden kann (Kobayashi et al. 1991). Alternativ wird ein Teil des intrazellulären Pro-IL-1 α myristinyliert (Stevenson et al. 1993) und entweder in der Plasmamembran verankert (Brody und Durum 1989), wo es als membranständiges Zytokin wirken kann oder als reifes IL-1 α durch die Membranprotease Calpain abgespalten und anschließend freigesetzt (Kavita und Mizel 1995; Kobayashi et al. 1990).

Pro-IL-1 β dagegen ist erst nach proteolytischer Spaltung durch *Interleukin-1 converting enzyme* (ICE) -Proteasen (Cerretti et al. 1992; Keane et al. 1995; Thornberry et al. 1992) extrazellulär biologisch aktiv (Black et al. 1988) und wird dann in die Zirkulation ausgeschüttet.

2.2.1.2.2 IL-1-Rezeptorantagonist

Bisher sind verschiedene Isoformen des IL-1RA beschrieben worden:

Ein 17 kDa-Peptid, das von Monozyten und anderen Zellen als unterschiedlich glykosyliertes Protein von 22 - 25 kDa sezerniert und als löslicher IL-1RA (sIL-1RA) bezeichnet wird und mindestens drei intrazelluläre Formen hat (Arend 1993; Arend et al. 1998).

Der sIL-1RA verfügt im Gegensatz zu IL-1 α und - β über eine Signalsequenz (Arend 1993), so dass der IL-1RA über den klassischen Weg aus der Zelle transportiert werden kann. Als löslicher IL-1RA ist das Molekül im Blut nachweisbar. Seine physiologische Rolle scheint in der kompetitiven Hemmung der Effekte von IL-1 α und β zu liegen (Arend et al. 1998). Trotz intensiver Studien sind die sonstigen biologischen Funktionen bisher unklar (Dinarello 1991; Dinarello 1996).

Die zuerst beschriebene intrazelluläre Isoform des IL-1RA (icIL-1RA 1), die 18 kDa-Form, ist eine Spleiß-Variante des IL-1RA, in welcher das für das Signalpeptid kodierende Exon modifiziert ist. Sie verhindert die Sekretion des IL-1RA und verbleibt intrazellulär. Sie kommt hauptsächlich in Epithelzellen und Fibroblasten vor (Arend et al. 1998; Haskill et al. 1991). Eine weitere potentielle Variante von 25 kDa, genannt icIL-1RA 2, wurde in menschlichen Zellen nicht gefunden, und seine mRNA wird vermutlich nicht *in vivo* translatiert. Eine 15 kDa-Isoform, als icIL-1RA 3 bezeichnet, wurde in Monozyten, Neutrophilen und Hepatozyten gefunden und entsteht wahrscheinlich durch alternatives Spleißen (Malyak et al. 1998a; Malyak et al. 1998b; Weissbach et al. 1998). Obwohl die intrazellulären IL-1RA-Isoformen vermutlich von sterbenden Zellen freigesetzt werden und vielleicht auch als Rezeptorblocker fungieren, ist es vorstellbar, dass sie noch andere Funktionen innerhalb der Zelle wahrnehmen (Arend et al. 1998).

2.2.1.3 Rezeptoren für Interleukin-1

Die IL-1-Rezeptoren (IL-1R) bilden eine Familie aus drei Molekülen:

Zwei spezifische Rezeptoren (Sims et al. 1994; Sims und Dower 1994), IL-1-Rezeptor Typ I (IL-1RI) (Dower et al. 1985), IL-1-Rezeptor Typ II (IL-1RII) (McMahan

et al. 1991) und das sogenannte IL-1-Rezeptor Typ I-assoziierte Protein (IL-1R-AcP) (Greenfeder et al. 1995).

Im Gegensatz zu IL-1RI ist die zytoplasmatische Domäne des RII sehr kurz, so dass er nicht in der Lage ist, wie RI Signale auszulösen (Colotta et al. 1994; Heguy et al. 1993; Labow et al. 1997). Seine Funktion scheint darauf beschränkt zu sein, ohne Signaltransmission freie Liganden zu binden. Deswegen wird er auch als „decoy receptor“ (Lockvogel-Rezeptor) bezeichnet (Colotta et al. 1993; Sims et al. 1993; Sims et al. 1994; Sims und Dower 1994).

Zusätzlich existiert jeweils eine lösliche Form der IL-1-Rezeptoren (sIL-1RI und sIL-1RII) (Arend et al. 1994; Sims et al. 1994; Symons et al. 1991), die infolge proteolytischer Abspaltung des Extrazellulärteils durch membranständige Metallproteasen entstehen (Greenfeder et al. 1995). Sie können freies IL-1 binden, ohne jedoch Signale auszulösen, da die abgespaltene Domäne essentiell für die Signaltransduktion ist (Kuno et al. 1993). Dabei zeigt sIL-1RI die höchste Affinität zu IL-1RA, eine schwächere zu IL-1 α und die schwächste zu IL-1 β , während sIL-1RII die drei IL-1-Liganden in der umgekehrten Reihenfolge IL-1 β >IL-1 α >IL-1RA bindet (Dinarello 1998; Roux-Lombard 1998). So konnte *in vitro* gezeigt werden, dass in Gegenwart von sIL-1RI der inhibitorische Effekt des endogenen IL-1RA auf IL-1 β aufgehoben und damit der inflammatorische Prozess verstärkt wurde (Burger et al. 1995). Andererseits zeigte sich bei Anwesenheit des sIL-1RII eine verstärkte Hemmung der inflammatorischen Wirkung des IL-1 β (Symons et al. 1995).

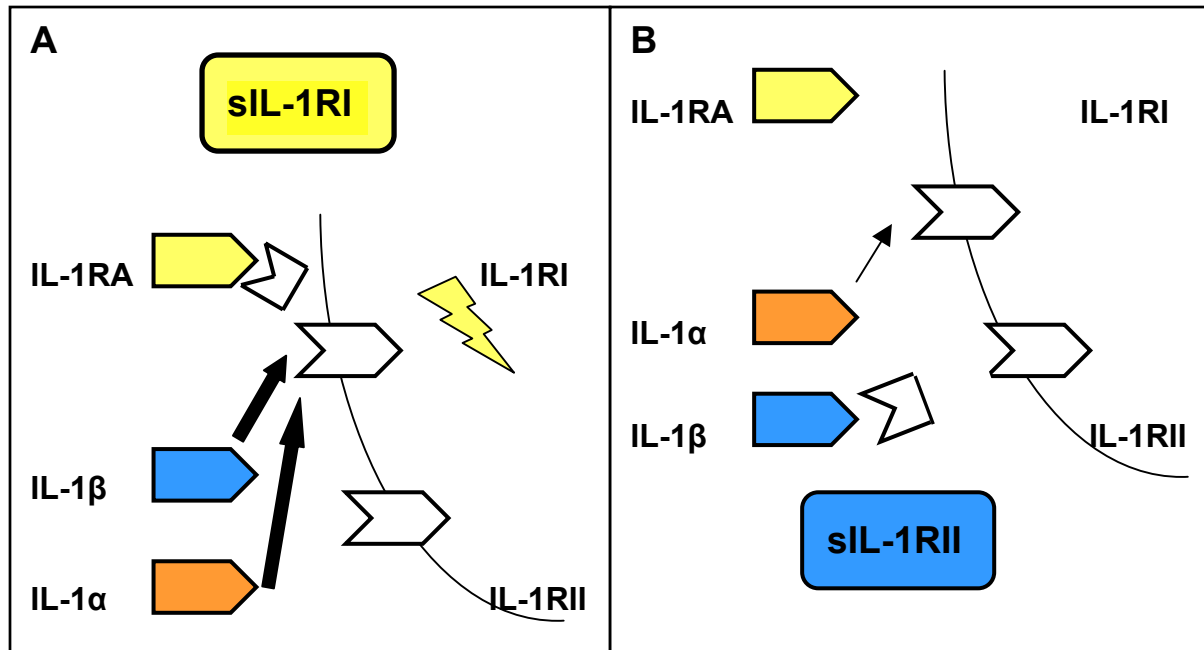


Abb. 5 (modifiziert nach (Roux-Lombard 1998)): Interleukin-1 und die Interleukin-1-Rezeptorfamilie

A: In Anwesenheit des löslichen Interleukin-1-Rezeptors Typ I, der bevorzugt den Antagonisten Interleukin-1-Rezeptorantagonist bindet, ist die Aktivität von IL-1 alpha und -beta verstärkt.

B: In Anwesenheit des löslichen Interleukin-1-Rezeptors Typ II, der bevorzugt den Agonisten Interleukin-1 beta bindet, ist die Aktivität von IL-1 beta abgeschwächt.

Auch die membranständigen Rezeptoren binden IL-1α, -β und -RA mit unterschiedlicher Affinität (Sims und Dower 1994). Während IL-1α und IL-1RA stärker an IL-1RI binden, zeigt IL-1β stärkere Affinität zu IL-1RII (Arend 1993).

Das IL-1R-AcP ist der dritte Teil des IL-1RI-Systems, der an der Signaltransduktion beteiligt ist. Er bildet nur bei Bindung eines IL-1-agonistischen Liganden mit IL-1-Rezeptor I einen Komplex und scheint für die Auslösung von Signalen durch IL-1 essentiell zu sein (Greenfeder et al. 1995; Huang et al. 1997; Korherr et al. 1997; Wesche et al. 1997).

Die wichtigsten durch IL-1 ausgelösten Signaltransduktionswege im Rahmen der Immunantwort auf zellulärer Ebene werden im Folgenden erläutert.

2.2.1.4 Vorgänge bei der Signaltransduktion durch den IL-1-Rezeptor

Interleukin-1α und β führen im Rahmen der Immunreaktion zu einem Anstieg von cAMP in Fibroblasten und natürlichen Killer- (NK) -Zellen (Zhang et al. 1988). Außerdem konnte beobachtet werden, dass sie als Kostimulus für T-Zellen wirken (Farrar et al. 1980; Gery und Waksman 1972; Gillis und Mizel 1981). Sie verstärken

die Proliferation der T-Lymphozyten durch die Produktion und Sekretion von IL-2 sowie die Expression von IL-2-Rezeptoren (Dinarello 1994a).

Da IL-1 im Verlauf einer Immunreaktion verstärkt freigesetzt wird, bedeuten diese Wirkungen eine zusätzliche Potenzierung im inflammatorischen Prozess. Das proinflammatorische Zytokin IL-1 ist bei sehr vielen, insbesondere entzündlichen und immunologischen Erkrankungen ein wesentlicher Mediator zur Induktion und Unterhaltung der Krankheitsaktivität. Ebenso wird eine überschießende Aktivität von IL-1 bzw. eine Dysregulation des Gleichgewichts zwischen IL-1 und seinem natürlichen Rezeptorantagonisten in der Pathogenese der Schizophrenie diskutiert (Katila et al. 1994).

Die Signaltransduktionskaskade, die durch IL-1 aktiviert werden kann, endet in der Aktivierung der Transkriptionsfaktoren *nuclear factor κ B* (Nf κ B) und *AP-1 activator protein-1* (AP-1), die bei der Induktion vieler immun- und entzündungsrelevanter Gene eine große Rolle spielen. Sie soll hier näher vorgestellt werden:

Nach Bindung von IL-1 an IL-1RI erfolgt bereits innerhalb von 30 Sekunden die Aktivierung einer IL-1-Rezeptor assoziierten Kinase (IRAK) (Cao et al. 1996a; Croston et al. 1995; Farrar et al. 1980; Martin et al. 1994). Hierbei handelt es sich um eine Serin/Threonin-Kinase, die mit der zytoplasmatischen Domäne des IL-1RI assoziiert und dabei gleichzeitig phosphoryliert wird. Als Interaktionspartner von IRAK wiederum fungiert das Protein TRAF6 (Cao et al. 1996b; Farrar et al. 1980). Es gehört zur TRAF-Familie (Tumornekrosefaktor-Rezeptor-assoziiierter-Faktor), einer Klasse von Proteinen, die ursprünglich in der Tumornekrosefaktor (TNF) -vermittelten Rezeptor-Signaltransduktion beschrieben wurde (Farrar et al. 1980; Rothe et al. 1994; Rothe et al. 1996). TRAF6 wird allerdings nicht von Mitgliedern der TNF-Rezeptorfamilie selbst benutzt, sondern spezifisch von IL-1. Die Überexpression von TRAF6 führt zu einer konstitutiven Nf κ B-Aktivierung, während sich die Expression einer Deletionsmutante von TRAF6 dominant-negativ auf die Nf κ B-Aktivierung auswirkt. TRAF6 stellt somit ein wichtiges Bindeglied in der IL-1-vermittelten Nf κ B-Aktivierung dar.

Nf κ B ist daher ein bedeutender Transkriptionsfaktor für die Aktivierung T-Zellspezifischer Gene wie IL-2 sowie IL-2-Rezeptoren. Für eine effiziente IL-2-Synthese sowie IL-2-Rezeptor-Expression ist daher eine IL-1-Kostimulation notwendig. Somit stellen sowohl IL-1 als auch IL-2 wichtige Steuergrößen für die Immunantwort dar. Da IL-1 zum einen die Produktion von IL-2 über die beschriebene

Signaltransduktion stimuliert, und IL-2 zur Auslösung von psychotischen Symptomen führen kann (Denicoff et al. 1987), könnte es ein interessantes Kandidatengen für die Entstehung der Schizophrenie sein.

2.2.2 Mögliche Rolle der Interleukine in der Aktivierung des inflammatorischen Immunsystems bei Schizophrenen

In der Ätiologie der Schizophrenie wird u.a. eine Aktivierung des inflammatorischen Immunsystems diskutiert.

So wurden in einer finnischen Studie erhöhte IL-1 β -Plasmaspiegel (Ganguli et al. 1994; Katila et al. 1994) und in einer weiteren Studie erhöhte IL-1RA-Plasmakonzentrationen (Akiyama 1999) bei unbehandelten schizophrenen Patienten im Vergleich zu Kontrollen gefunden. Dies könnte auf eine Dysregulation der Interleukine bei Schizophrenen hindeuten. Daher könnten die Gene des Interleukin-1-Genkomplexes interessante Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie sein.

Ob diese Dysregulation der Interleukine jedoch eine Folge oder eine Ursache der Schizophrenie darstellt, ist noch nicht geklärt. So könnte der Anstieg der proinflammatorischen Zytokine lediglich eine Folge von mentalem Stress sein, der mit der Krankheit einhergeht, ohne eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie zu spielen.

Möglicherweise spielt jedoch die ZNS-Wirkung der Interleukine eine wichtige Rolle in der Pathobiologie der Schizophrenie. Darauf soll im Folgenden näher eingegangen werden.

2.2.3 Funktionen der Interleukine im zentralen Nervensystem

Die Interleukine nehmen verschiedene Funktionen im ZNS wahr, die für psychiatrische Erkrankungen wie der Schizophrenie von Bedeutung sein könnten.

2.2.3.1 Wechselwirkung zwischen Immunsystem und zentralem Nervensystem durch Zytokine

Zytokine vermitteln Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des ZNS (Banks und Kastin 1991; Kronfol und Remick 2000). Der exakte Mechanismus, über den die Zytokine mit den Zellen des ZNS in Kontakt treten, ist noch nicht abschließend geklärt. Es werden verschiedene Mechanismen diskutiert: erstens werden einige Zytokine wie IL-1 entweder über aktive Transportmechanismen mittels *Carrier* aus dem Blut durch die Blut-Hirn-Schranke ins ZNS transportiert (Banks und Kastin 1991; Banks und Kastin 1992; Watkins et al. 1995) oder sie werden mittels passivem Transport über zirkumventrikuläre Organe befördert (Hashimoto et al. 1991; Watkins et al. 1995). Ein weiterer möglicher Weg ist die Bindung von IL-1 an endotheliale IL-1-Rezeptoren des zerebralen Gefäßsystems. Dabei wird die Bildung von *second messengern* stimuliert, die wiederum lokal Neurone beeinflussen können (Blalock 1994; Watkins et al. 1995).

Zweitens können aktivierte Mikroglia (Giulian et al. 1986; Smith 1991b; van Dam et al. 1992; Vitkovic et al. 2000b) und Astrozyten (Nieto-Sampedro und Berman 1987; Norris und Benveniste 1993) Interleukine endogen sezernieren (Campbell et al. 1998; Hopkins und Rothwell 1995; Merrill 1992; Müller und Ackenheil 1998).

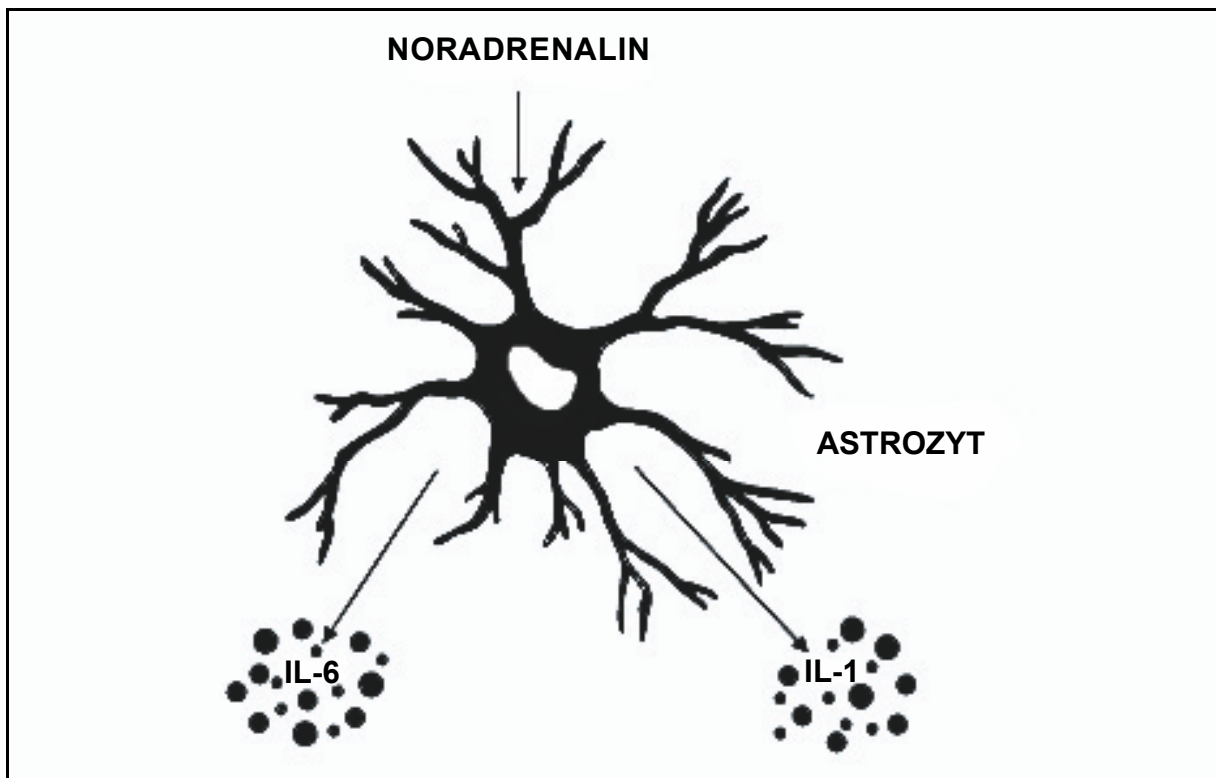


Abb. 6 aus (Müller 1997): Aktivierter Astrozyt

Noradrenalin stimuliert aktivierte Astrozyten zur Ausschüttung von Interleukinen.

Die Lokalisation von IL-1-Rezeptoren auf Gliazellen um Arteriolen und im Plexus choroideus weist auf eine enge Kommunikation zwischen Interleukinen des Immunsystems und ZNS hin (Wong und Licinio 1994).

Schließlich wurde sowohl für periphere sympathische Neurone in Kultur (Freidin et al. 1992) als auch für menschliche Neurone im Gehirn die Synthese und Freisetzung von IL-1 beschrieben (Breder et al. 1988; Sei et al. 1995; Vitkovic et al. 2000a).

IL-1-Rezeptoren werden offenbar nicht nur von Gliazellen (Ban et al. 1991; Ban 1994) und Astrozyten (Ban et al. 1993; Rubio 1994), sondern auch von murinen Neuronen exprimiert (Ban et al. 1991; Ban 1994; Cunningham, Jr. und De Souza 1993; Parnet et al. 1994; Rothwell 1991; Takao et al. 1990). Die Expression von IL-1-Rezeptoren in menschlichen Zellen des ZNS wurde bisher kaum untersucht. IL-1-Rezeptoren wurden in humanen embryonalen Mikrogliazellen und Zelllinien von Glioblastomen gefunden (Sebire et al. 1996).

Dass sich Zytokinrezeptoren auch auf Neuronen befinden, lässt vermuten, dass sie eine direkte Wirkung auf neuronale Funktionen haben.

Die Expression der IL-1-Rezeptoren wurde im ZNS der Maus mittels *in situ*-Hybridisierung v.a. im Hippocampus, Hypothalamus, Plexus choroideus und Hypophysenvorderlappen (Ban et al. 1991; Ban 1994; Cunningham, Jr. et al. 1991; Cunningham, Jr. et al. 1992; Parnet et al. 1994; Takao et al. 1990) sowie im Rattenhirn im Hippocampus, Hypothalamus und Cerebellum (Farrar et al. 1987; Licinio et al. 1991) nachgewiesen. Auch im menschlichen Gehirn wurden IL-1-Rezeptoren im Hypothalamus lokalisiert (Breder et al. 1988).

IL-1- und IL-1RA-enthaltende Neurone wurden in verschiedenen Arealen des ZNS von Mensch (*post mortem*-Hirne), Ratte und Maus, v.a. im Hippocampus und Hypothalamus, gefunden (Bencsik et al. 1996; Breder et al. 1988; Choe et al. 1998; Diana et al. 1999; Lechan et al. 1990; Rettori et al. 1994; Yasuhara et al. 1997).

Die Verteilung von IL-1 und ihren Rezeptoren im ZNS ist regional unterschiedlich und entspricht ihren neuromodulatorischen Funktionen. So unterstreicht die Lokalisation von IL-1 in Neuronen des Hippocampus und Hypothalamus ihren Einfluss auf neuronale Prozesse und psychologische Vorgänge.

In experimentellen und klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass eine systemische oder intrazerebrale Verabreichung von rekombinantem IL-1 zu psychotropen Effekten wie z.B. der Auslösung einer psychomotorischen Retardierung, Antriebsarmut und vermindertem Interesse an der Umwelt führte (Kent

et al. 1992). Außerdem kann das Verteilungsmuster die durch Interleukine ausgelösten weiteren Effekte wie Fieber (Kluger 1991; Kluger et al. 1998; Rothwell 1990; Rothwell 1991) und Verhaltensveränderungen wie Schlafstörungen (Krueger et al. 1998; Krueger und Majde 1994; Opp und Krueger 1994; Vitkovic et al. 2000a) und Anorexie (Plata-Salaman et al. 1996; Plata-Salaman 1998; Plata-Salaman et al. 1998) erklären (Kronfol und Remick 2000; Müller und Ackenheil 1998; Rosenwasser 1998; Rothwell und Hopkins 1995; Rothwell und Luheshi 1994).

2.2.3.2 Interleukineffekte auf den Metabolismus von Neurotransmittern

Der Einfluss von Zytokinen auf die dopaminerge, serotonerge, noradrenerge und cholinerge Neurotransmission führte zu der Annahme, dass sie auch eine Rolle bei psychiatrischen Krankheiten wie der Schizophrenie spielen könnten (Dunn 1988; Müller und Ackenheil 1998). IL-1 regt die Freisetzung von Katecholaminen in der Peripherie (Akiyoshi et al. 1990) und im ZNS an, v.a. im Hypothalamus, Hippocampus, präfrontalen Cortex und Hirnstamm. Nach intravenöser, peripherer und intrazerebraler Applikation von IL-1 wurde ein starker Anstieg von Noradrenalin, Serotonin, Tryptophan und Dopamin in diesen ZNS-Regionen beobachtet (Dunn 1988; Dunn 1992; Shintani et al. 1993; Zalzman et al. 1994). Auf diese Weise zeigt IL-1 wichtige neuromodulatorische Effekte.

Des Weiteren wird die Hypothese diskutiert, dass eine überschießende Interleukin-2 (IL-2) -Produktion eine Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielen könnte (Smith 1991a). Dies wird durch den klinischen Befund gestützt, dass die Gabe von IL-2 bei Krebspatienten dosisabhängig zu schizophrenieähnlichen psychotischen Symptomen wie Wahn und kognitiven Störungen führen kann (Denicoff et al. 1987). Außerdem gibt es Untersuchungen über Veränderungen der Liquorkonzentration von IL-2 bei Schizophrenen als Prädiktor für die Rückfallwahrscheinlichkeit (McAllister et al. 1995).

Da IL-2 eng mit IL-1 verknüpft ist – IL-1 stimuliert IL-2 in der Kaskade der Zytokine (Lowenthal et al. 1986) – und in der Pathogenese der Schizophrenie einer Hypothese zufolge eine Hyperaktivität dopaminerger Strukturen angenommen wird (Carlsson und Lindqvist 1963; Davis et al. 1991), könnten die in dieser Arbeit untersuchten Interleukine interessante Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie sein.

2.2.3.3 Rolle des Interleukin-1 alpha und -beta in der Hirnentwicklung

Es wird eine mögliche Funktion der Interleukine in der normalen und pathogenen Entwicklung des Gehirns diskutiert (Merrill 1992; Merrill und Jonakait 1995). Diese Hypothese wird durch folgende Befunde gestützt:

IL-1 konnte im Stadium der perinatalen Hirnentwicklung im cerebralen Cortex der Ratte während des Astrozytenwachstums nachgewiesen werden (Giulian et al. 1988a).

Im sich entwickelnden Rattenhirn wurde IL-1 bereits ab dem 16. Embryonaltag (E 16) mit einem Maximum zwischen E 18 und der Geburt (E 22 = P 0) nachgewiesen (Giulian et al. 1988b). Diese Befunde deuten auf seine Rolle als Astrozyten-Wachstumsfaktor hin.

Des weiteren konnte gezeigt werden, dass einige Zytokine bereits im 1. Trimester der Schwangerschaft in den Neuronen im menschlichen Vorderhirn konstitutiv exprimiert werden, wobei für IL-1 β die höchste Konzentration gefunden wurde (Mousa et al. 1999). Dies legt seine Beteiligung an Hirnentwicklungsvorgängen nahe.

Auch eine möglichen Funktion von IL-1 β bei Proliferation, Differenzierung, Migration und Apoptose wird diskutiert (Merrill 1992; Patterson und Nawa 1993). Außerdem ist seine Beteiligung an der Hirnentwicklung über die Fähigkeit zur Induktion von Insulin (Besedovsky und Del Rey 1989; Cornell und Schwartz 1989) und *Insulin-like growth factor* (IGF) I und -II (Dinarello 1996; Frisbie et al. 2000; Glazebrook et al. 1998; Mason et al. 2001) ein vorstellbarer Mechanismus (Merrill 1992). Insulin und IGF-I und -II wiederum regulieren die Proliferation und Differenzierung von Neuronen auf der Ebene der Transkription und Translation (Recio-Pinto und Ishii 1984; Recio-Pinto und Ishii 1988). Des weiteren könnte IL-1 über seine neuroprotektive Wirkung an der Hirnentwicklung beteiligt sein (Strijbos und Rothwell 1995d). Ein solcher Effekt von IL-1 konnte über seine Fähigkeit zur Induktion von *Nerve growth factor* (NGF), welcher wie IL-1 die synaptische Übertragung und Plastizität beeinflussen kann (Nawa et al. 2000), gezeigt werden (Friedman et al. 1996; Lindholm et al. 1987; Spranger et al. 1990). Mittels dieses Mechanismus konnte ein überlebensfördernder Einfluss von IL-1 auf Neurone unter exzitatorischen Bedingungen nachgewiesen werden (Strijbos und Rothwell 1995c). Ein weiterer neuroprotektiver Mechanismus des IL-1 erfolgt über die Hemmung von exzitotoxischen Calciumkonzentrationen und Calciumeintritt in Neurone durch IL-1 (Plata-Salaman und French-Mullen 1992). Des

weiteren konnte bewiesen werden, dass IL-1 die synaptische Gamma-Aminobuttersäure (GABA) erge Aktivität verstärkt (Coogan und O'Connor 1997). Als Antagonist von NMDA schützt GABA auf diese Weise Neurone vor exzessiver Aktivierung durch den NMDA-Rezeptor und damit verbundenen exzitotoxischen intrazellulären Calciumkonzentrationen und neuronalem Zelltod (Beal 1992; Whetsell, Jr. 1996). Exzitotoxizität spielt eine Schlüsselrolle z.B. bei Ischämie und Traumen (Choi 1994). Es ist vorstellbar, dass Interleukin-1 auch über diese verschiedenen neuroprotektiven Mechanismen an der Hirnentwicklung beteiligt ist.

IL-1 α wirkt in Maus-T-Helfer 2 (TH2) -Zellen als ein wichtiger autokriner Wachstumsfaktor (Zubiaga et al. 1991).

Über welche genauen Mechanismen Interleukin-1 seine Wirkung entfaltet, konnte bislang noch nicht vollständig geklärt werden. Die Befunde sprechen allerdings für eine Rolle bei der Entwicklung des Gehirns und Vorgängen zellulärer Differenzierung.

2.2.3.4 Rolle des Interleukin-1-Rezeptorantagonist in der Hirnentwicklung

Obwohl noch keine genaueren Studien existieren, ist es durchaus vorstellbar, dass auch der IL-1RA als Bestandteil der Interleukin-1-Familie und Antagonist von Interleukin-1 an der Hirnentwicklung beteiligt ist. Auf eine allgemeine Rolle des Gens im normalen Entwicklungsprozess weisen Studien mit *knockout*-Mäusen für das IL-1RN-Gen hin: Bei den *knockout*-Mäusen konnte ein erniedrigtes Körpergewicht im Vergleich zu den Wildtypen beobachtet werden (Hirsch et al. 1996). Außerdem inhibiert er *in vivo* die IL-1-Aktivität und hat einen positiven Einfluss auf die Expression von IL-1 (Hirsch et al. 1996). Daher könnte er über diesen Weg in die Hirnentwicklung involviert sein. Diese Befunde könnten mit der Hypothese der Hirnentwicklungsstörung der Schizophrenie vereinbar sein (Barondes et al. 1997; Murray et al. 1992).

2.3 Chromosomale Lokalisation des Interleukin-1-Genkomplexes

Die Gene der Interleukin-1-Genfamilie sind beim Menschen auf dem langen Arm von Chromosom 2 (2q14-q14.2) innerhalb einer ca. 430 Kilobasenpaar (kb) langen Region lokalisiert (Busfield et al. 2000; Nicklin et al. 1994; Nicklin et al. 2002;

Nothwang et al. 1997; Steinkasserer et al. 1992). Diese Genregion stellt eine sehr interessante Lokalisation für das Entstehungsrisiko der Schizophrenie dar, da sie sich innerhalb einer Region auf Chromosom 2p12-q22.1 befindet, die in einer groß angelegten Meta-Analyse als einziger Genabschnitt eine genomweite signifikante Kopplung erreichte (Lewis et al. 2003). Daher sind die Gene des Interleukin-1-Genkomplexes positionelle Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie. Außerdem konnten in derselben Meta-Analyse starke Hinweise für eine Kopplung in einer benachbarten Region ebenfalls auf Chromosom 2 (2q22.1-q23.3) beobachtet werden (Lewis et al. 2003). Dieser Befund unterstützt die Bedeutung dieser chromosomalen Lokalisation in der Pathogenese der Schizophrenie.

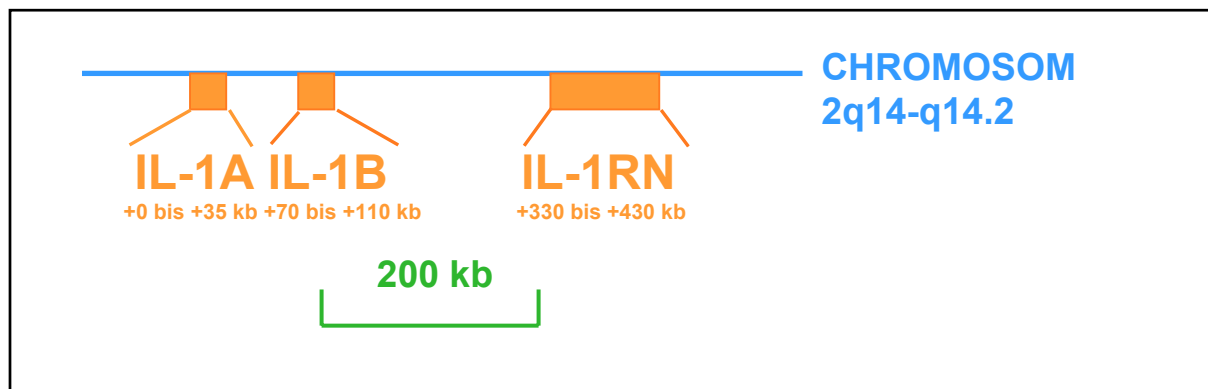


Abb. 7: Chromosomale Lage des Interleukin-1-Genkomplexes

Schematische Darstellung der relativen Lage der Interleukingene Interleukin-1 alpha, Interleukin-1 beta und Interleukin-1-Rezeptorantagonist auf dem Chromosom 2 innerhalb einer ca. 430 kb langen Region.

Variationen in den Genen des Interleukin-1-Genkomplexes stehen im mäßigen Kopplungsungleichgewicht (Cox et al. 1998), d.h. sie werden überproportional häufig gemeinsam vererbt.

2.3.1 Genetische Variationen im Interleukin-1 alpha-Gen

Im IL-1 alpha (IL-1A) -Gen wurde in der vorliegenden Arbeit ein Basenaustauschpolymorphismus (C–889T) von Cytosin nach Thymin an der Stelle – 889 bezüglich des Startpunktes für die Transkription, also des Beginns des ersten Exons, untersucht.

Das Allel mit der häufigeren Frequenz in der Bevölkerung ist das C-Allel (Allel 1). Dies trifft für unterschiedliche ethnische Gruppen zu (Kawaguchi et al. 2003). In einer

kaukasischen Stichprobe (Grimaldi et al. 2000) von 653 Probanden wurde es mit 67 % benannt, und das T-Allel mit 33 %.

Dieser Basenaustauschpolymorphismus befindet sich in der Promotorregion (McDowell et al. 1995). Promotoren sind genexpressionsregulierende DNA-Abschnitte. Sie enthalten die Startsignale für die RNA-Synthese. Ein einziger Basenaustausch in der 5' regulierenden Region eines Gens kann zur Veränderung seiner Transkriptionsrate führen, sei es über die Beeinflussung der Bindung *trans*-aktivierender Faktoren (Hayashi et al. 1991; Matsuda et al. 1992) oder über eine Veränderung der Sekundärstruktur der DNA und folgender Interaktion mit Transkriptionsfaktoren (Smith et al. 1992). So konnte in einer *in vitro*-Transfektionsstudie von Dominici et al. (2001), in der mittels eines Luciferase-Reporter-Assays die Aktivität des Promotors des IL-1A-Gens untersucht wurde, ein signifikanter Anstieg der transkriptionellen Aktivität des T/T-Genotyps des IL-1A-Gens an Position –889 im Vergleich zum C/C-Genotyp festgestellt werden. Außerdem wurde ein leichter Anstieg der IL-1 α -mRNA und der Proteinspiegel im Plasma beobachtet. Dieser Befund liefert einen möglichen Beweis, dass Träger des IL-1A-T/T-Genotyps mehr IL-1 α -mRNA als Träger des IL-1A-C/C-Genotyps produzieren (Dominici et al. 2002).

Des Weiteren wurde im Bereich des IL-1A-Gens ein weiterer Basenaustauschpolymorphismus in Exon 5 von Guanin (G) nach T an der Position +4845 untersucht (van den Velden und Reitsma 1993). Dieser SNP steht mit dem in dieser Arbeit untersuchten im nahezu kompletten Kopplungsungleichgewicht (LD > 0.99) (Cox et al. 1998; Kawaguchi et al. 2003; Walker et al. 2000): er wandelt die Aminosäure (AS) Alanin an Position 114 in Serin um, ist also ein funktioneller Polymorphismus. Pro-IL-1 α wird zwischen AS 112 und 113 in seine reife Form gespalten. Da Alanin unpolar und hydrophob, Serin dagegen polar und hydrophil ist, zeigen sie unterschiedliche chemische Eigenschaften. Möglicherweise beeinflusst die AS-Substitution durch die Veränderung des chemischen Milieus das proteolytische Geschehen von Pro-IL-1 α aufgrund der Nähe des SNPs zu einer Schnittstelle der Protease (Kawaguchi et al. 2003) (Abb. 8).

Außerdem konnte eine Studie nachweisen, dass Träger, die homozygot für das T-Allel des IL-1A (-889) – Gens und gleichzeitig T-Allel-Träger des IL-1 beta (-511) – Gens (IL-1B) waren, signifikant höhere Plasmaspiegel an IL-1 β -Protein hatten.

Dementsprechend gibt es auch Hinweise, dass diese Genotypen häufiger gemeinsam vererbt werden ($p < 0.0001$) (Hulkkonen et al. 2000).

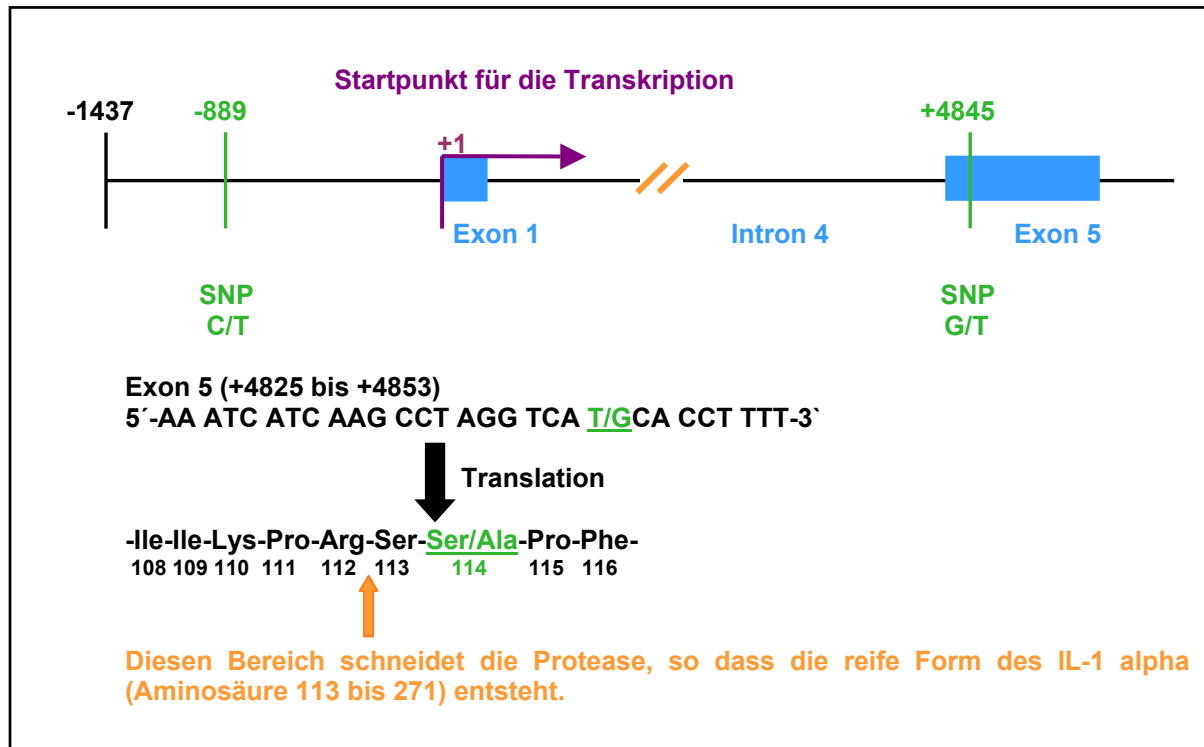


Abb. 8 aus (Kawaguchi et al. 2003): Schematische Darstellung des IL-1 alpha-Gens vom Bereich der 5'-untranslatierten Region bis zum Exon 5
 Die Nummerierung bezieht sich auf den Transkriptionsstartpunkt des IL-1 alpha-Gens.

2.3.2 Genetische Variationen im Interleukin-1 beta-Gen

Im Interleukin-1B-Gen wurden bisher drei Basenaustauschpolymorphismen von Cytosin nach Thymin an den Stellen -511 (di Giovine et al. 1992) und -31 in der Promotorregion (El Omar et al. 2000) und an der Stelle +3953 (Pociot et al. 1992) bezüglich des Startpunktes für die Transkription untersucht (Abb. 9).

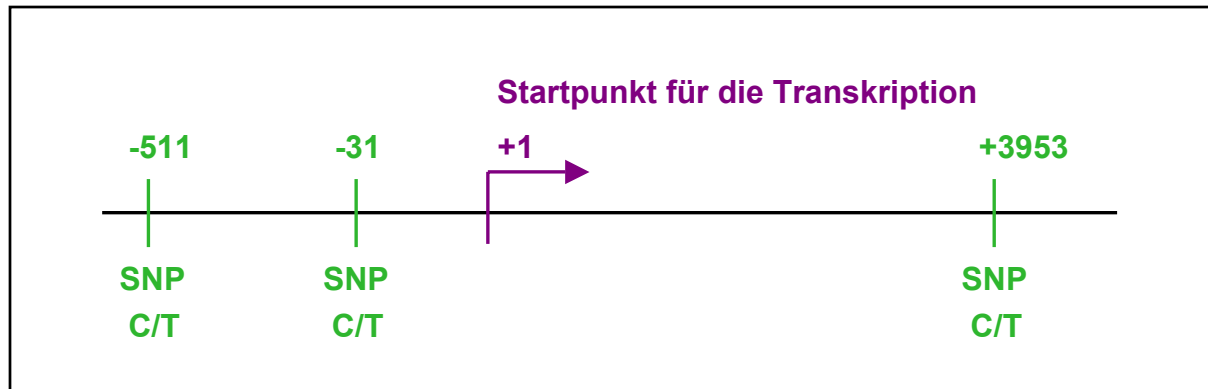


Abb. 9: Schematische Darstellung der Polymorphismen des IL-1 beta-Gens

Die Nummerierung bezieht sich auf den Transkriptionsstartpunkt des Gens.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Basenaustauschpolymorphismus an der Stelle -511 bestimmt. Das in der Allgemeinbevölkerung häufiger vorkommende Allel ist das C-Allel (Allel 1). In einer kaukasischen Studie mit 653 Probanden wurde für das C-Allel eine Frequenz von 78% und für das T-Allel eine von 22% gefunden (Grimaldi et al. 2000).

Das T-Allel des in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus befindet sich mit dem T-Allel an Stelle -31 im beinahe kompletten Kopplungsungleichgewicht ($D' = \text{ca. } 0.98$) (El Omar et al. 2000; Hamajima et al. 2001; Loughlin et al. 2002). Der T-31C-Polymorphismus erzeugt ein TATA-Box-Motiv. In der Studie von El Omar et al. (2000) konnte nachgewiesen werden, dass er die Proteinbindung über DNA-Protein-Wechselwirkungen *in vitro* beeinflusst, so dass dadurch die Transkription von IL-1 β gesteigert werden könnte. Zwar konnte für IL-1B (-511) kein Effekt auf die Proteinbindung nachgewiesen werden (El Omar et al. 2000), doch ist es wahrscheinlich, dass das T-Allel des IL-1B an -511 über das Kopplungsungleichgewicht mit dem TATA-Box-Polymorphismus an -31 die Proteinbindung beeinflusst und so zu einer erhöhten Transkriptionsrate des IL-1 β -Proteins führt (El Omar et al. 2000).

2.3.3 Genetische Variationen im Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gen

Im zweiten Intron des IL-1RN-Gens befindet sich ein Polymorphismus aus einer variablen Anzahl an 86 bp *Tandem Repeats* (VNTR) (Tarlow et al. 1993). Dieser wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht (Abb. 10).

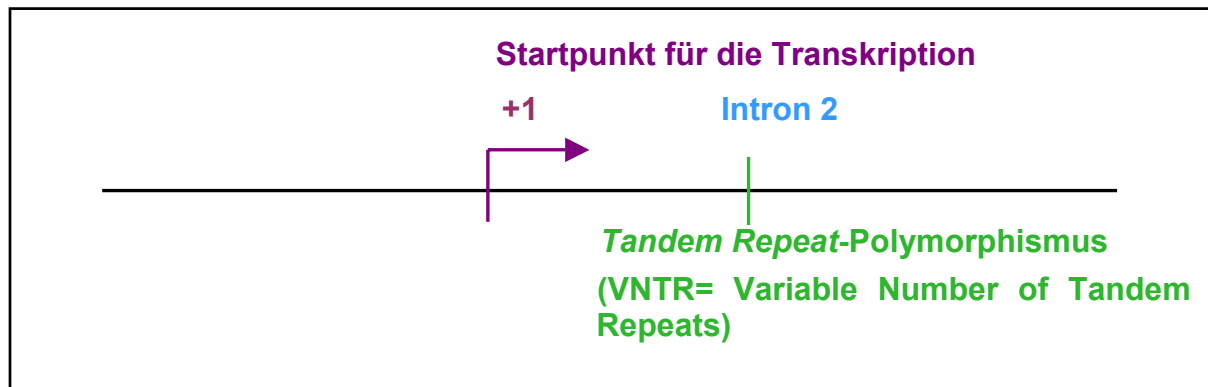


Abb. 10: Schematische Darstellung des 86 bp *Tandem Repeat*-Polymorphismus in Intron 2 des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens

Die Nummerierung bezieht sich auf den Transkriptionsstartpunkt des Gens.

Das häufigste Allel war in einer kaukasischen Bevölkerung das Allel mit 4 Wiederholungen (Allel 1) (ca. 70%) und das zweithäufigste das Allel mit 2 Wiederholungen (Allel 2) (ca. 30 %). Die Frequenz der übrigen Allele mit 3, 5 und 6 Wiederholungen treten in den meisten Bevölkerungen mit weniger als 1% auf (Hulkkonen et al. 2000; Katila et al. 1999). Die unterschiedliche Länge von Intronsequenzen kann einen Einfluss auf die Transkriptionsrate eines Gens haben. Die variable Wiederholungssequenz im IL-1RN-Gen enthält mindestens drei potentielle Bindungsstellen für Proteine (Tarlow et al. 1993), die vermutlich als *Enhancer* regulatorische Funktionen haben. Der VNTR im IL-1RN in Intron 2 könnte diese *Enhancer*-Sequenzen beeinflussen. Dadurch würde die Bindung der *Enhancer*-Proteine verändert, was wiederum die Transkription des IL-1RN-Gens beeinflussen könnte.

Homozygotie für das Allel 2 des IL-1RN war mit verschiedenen entzündlichen und Autoimmunerkrankungen assoziiert, wie Colitis Ulcerosa (Andus et al. 1997; Tountas et al. 1999), Alopezia areata (Tarlow et al. 1994), Psoriasis (Clay et al. 1994; Cork et al. 1993), Lupus Erythematodes (Tjernstrom et al. 1999) und Multiple Sklerose (Crusius et al. 1995; Luomala et al. 2001).

Bemerkenswert ist auch, dass menschliche Föten, die dieses Allel besaßen, ein erhöhtes Risiko für Frühgeburten aufwiesen (Genc et al. 2002). Außerdem konnte wiederholt beobachtet werden, dass Träger des Allels 2 des IL-1RN auch häufiger Träger des T-Allels des IL-1B sind ($p < 0.01$) (Hurme und Santtila 1998; Santtila et al. 1998). Sowohl durch *in vivo*- (Hurme und Santtila 1998) als auch *in vitro*-Studien (Santtila et al. 1998; Wilkinson et al. 1999) konnte nachgewiesen werden, dass Allel

2-Homozygotie nicht nur mit einer erhöhten IL-1RA-, sondern auch mit einer erhöhten IL-1 β -Produktion einherging, was ein erniedrigtes Verhältnis von IL-1RA- zu IL-1 β -Protein zur Folge hatte (Danis et al. 1995; Hurme und Santtila 1998; Witkin et al. 2002). Außerdem gibt es Hinweise, dass dieses Allel mit einer erniedrigten Konzentration von IL-1 α -Protein assoziiert ist (Danis et al. 1995).

3 Fragestellung

Es gilt heute als gesichert, dass eine starke genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie vorliegt. Die Entstehung schizophrener Erkrankungen ist jedoch noch nicht geklärt. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien sind eine empfindliche Methode, um auf molekulargenetischer Ebene nach Suszeptibilitätsgenen mit kleinen Effekten bei komplexen Krankheiten wie Schizophrenie zu suchen.

Zahlreiche Untersuchungen schizophrener Patienten zeigten Veränderungen immunologischer Parameter im Blut und Liquor. Des weiteren liegen die in dieser Arbeit untersuchten Gene des Interleukin-1-Genkomplexes in einer Region auf Chromosom 2q (2q14-q14.2), die eine signifikante Kopplung mit der Schizophrenie zeigte.

Ziel dieser Arbeit war es, mögliche Assoziationen zwischen Polymorphismen und Haplotypen von Genen des IL-1-Genkomplexes, deren Produkte v.a. an der Hirnentwicklung, dem Metabolismus von Neurotransmittern, der Neuroprotektion und -degeneration und dem Immunsystem beteiligt sind, mit der Schizophrenie zu untersuchen.

Dazu wurden Allel-, Genotyp- und Haplotypfrequenzen bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu einer Kontrollpopulation bestimmt.

4 Material und Methoden

4.1 Material

4.1.1 Geräte

Tab. 3: Geräte

Gerät	Typ	Hersteller
Inkubator	IR-1500	Flow Laboratories, Virginia, USA
Waagen	Explorer	Ohaus Corporation, USA
	PRECISA 1620 C	PRECISA Instruments AG, Dietikon
Zentrifuge	Centrifuge 5804	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Zentrifugenröhrchen	PP-Röhrchen steril	Greiner Labortechnik
Mikrozentrifuge	Centrifuge 5415 C	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Thermocycler	Mastercycler gradient	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
	Mastercycler	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Tiefkühlschrank	Economic (-20 °C)	Bosch, München
Ultra-Tiefkühlschrank	ULT 1386 VOE (-80 °C)	REVCO Scientific Inc., Asheville, USA
Pipetten		Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Hamburg
Pipettenspitzen		Sarstedt, Nümbrecht
Gelkammer	Wide Mini Sub Cell GT, Agarose Gel Electrophoresis Systems	Bio Rad Laboratories GmbH, München
Spannungsquelle	Power Pac 300	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Eagle Eye	Eagle Eye II Photosystem	Stratagene, La Jolla, USA
Photometer	Genequant	Pharmacia Biotech
Wasserbad	WB 14	Memmert GmbH u. CoKG, Schwabhausen
Mikrowelle	Privileg 9024 E	Privileg
Vortexer	Reax	Heidolph

4.1.2 Software

Tab. 4: Software

Software	Typ	Hersteller
Statistiksoftware	SPSS 11.0	Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, 2001
Bildverarbeitungssoftware	Photoshop 6.0	Adobe, USA

4.1.3 Chemikalien

Tab. 5: Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Ethanol absolut	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
QIAamp DNA Blood Maxi Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
Streptokinase	QIAGEN GmbH, Hilden, Germany
H ₂ O	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen
dNTP 10 mM	Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg
Primer	Fa. Life Technologies, Karlsruhe
AvaI-Restriktionsenzym (10.000 U/ml) (IL-1B)	New England Biolabs, Frankfurt
NcoI-Restriktionsenzym (10.000 U/ml) (IL-1A)	New England Biolabs, Frankfurt
5 x PCR-Puffer:	Fa. Invitrogen, San Diego, USA
Puffer D (IL-1RN)	
Puffer B (IL-1B)	
Puffer H (IL-1A)	
Taq-DNA-Polymerase (rekombinant) 1 U / μ l	MBI Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
Agarose NEE0 Ultra-Qualität	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
10 x NEB-Puffer 4	New England Biolabs, Frankfurt
5 x TBE-Puffer:	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Tris-hydroxymethyl-aminomethan	
Borsäure	
EDTA-Dinatriumsalzdihydrat	
H ₂ O	
Ethidiumbromid Solution 10 mg /ml	Bio Rad Laboratories GmbH, München

Chemikalie	Hersteller
DNA-Ladder 100 bp, 0,5 mg DNA /ml	MBI Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
6 x Loading Dye:	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Bromphenolblau	
30% Glycerol	
EDTA-Lösung (0,5 M)	
H ₂ O	

4.1.4 Oligonukleotide

Tab. 6: Oligonukleotide

Name	Orientierung	Sequenz (5' - 3')	Verwendung
IL-1A-f	sense	cat gcc atc aca cct agt tca	SNP ID: rs1800587
IL-1A-r	antisense	gga ttt tta cat atg agc ctt cca	SNP ID: rs1800587
IL-1B-f	sense	tgg cat tga tct ggt tca tc	SNP ID: rs3087258
IL-1B-r	antisense	gaa tct tcc cac tta cag atg gat	SNP ID: rs3087258
IL-1RN-f	sense	ctc agc aac act cct at	VNTR: ID nicht bekannt
IL-1RN-r	antisense	tcc tgg tct gca ggt aa	VNTR: ID nicht bekannt

4.1.5 Polymorphismen

Tab. 7: Polymorphismen

Gen	Accession Nr.	SNP/VNTR ID	Position	Allel	Funktion
IL-1A	NT_022135.13	rs1800587	2250703	C/T	Promotor
IL-1B	NT_022135.13	rs3087258	2302614	T/C	Promotor
IL-1RN	NT_022135.13	nicht bekannt	2595849 - 2596201	1 - 3 Kopien: (atcctgggaaagtgaggaaatatggacatcacatg gaacaacatccaggagactcaggcctctaggagtaac tggtagtgtgc)	Intron 2

4.2 Methoden

4.2.1 Studienteilnehmer

4.2.1.1 Kontrollgruppe

Als Studienteilnehmer haben wir eine Gruppe von 506 nicht verwandten, gesunden, per Zufallsauswahl aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens ausgewählten Freiwilligen untersucht. Ihr Alter lag zwischen 19 und 79 Jahren. Sie wurden per Post kontaktiert. Um eigene neuropsychiatrische Störungen oder solche bei Verwandten ersten Grades auszuschließen, wurden vor Studieneinschluss mehrere Untersuchungen durchgeführt wie ein Telefonscreening sowie die Erfassung einer schriftlichen medizinischen und psychiatrischen Anamnese und jene ihrer Verwandten ersten Grades. Als nächstes wurden sie zu einem umfassenden Interview eingeladen, das das Strukturierte Klinische Interview (SKID) für DSM-IV (SKID I und SKID II) einschloss (First et al. 1997; Wittchen et al. 1997). Psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ersten Grades wurden mit Hilfe des Family History Assessment Modules (Rice et al. 1995) beurteilt. Testpersonen mit relevanten somatischen Krankheiten oder Achse I/II-Störungen (lifetime) wurden ausgeschlossen. Ebenso erfolgte ein Ausschluss bei positiver psychiatrischer Familienanamnese.

4.2.1.2 Schizophrene Patienten

Wir untersuchten eine Gruppe von schizophrenen Patienten (n = 355) bestehend aus männlichen und weiblichen kaukasischen Patienten mit Schizophrenie des undifferenzierten, desorganisierten oder paranoiden Typs entsprechend der DSM-IV-Kriterien. Die Patienten waren zwischen 18 und 65 Jahre alt. Besondere Sorgfalt wurde darauf verwendet, Patienten mit somatischen Krankheiten auszuschließen, welche psychotische Symptome verursachen könnten, wie zum Beispiel kürzlicher Drogenmissbrauch oder Therapie der Parkinsonschen Krankheit.

4.2.2 DNA-Extraktion

Von allen Probanden wurde Blut venös abgenommen und bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Durch Zugabe von EDTA wurde die Gerinnung des gewonnenen Blutes verhindert. Aus 10 ml EDTA-Blut erfolgte mittels eines Kits der Firma Qiagen gemäß der gegebenen Anleitung die Extraktion der genomischen DNA (Abb. 11):

1. Vorbereitung der Blutproben

Das bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefrorene Blut wurde bei Raumtemperatur (RT) aufgetaut, und jeweils 10 ml Blut in ein 50 ml großes Zentrifugenröhrchen pipettiert.

2. Zellyse

Um die Leukozyten zu lysieren und Nukleinsäuren freizusetzen, wurde Vollblut mit 500 μl Proteinase K versetzt und mittels eines Vortexers kurz vermischt. Die Proteinase K kann dann die Proteine, besonders Hämoglobin, Nukleasen, Histone u.a. Proteine, die später die PCR stören könnten, verdauen. Sie degradiert die denaturierten Proteine zu kleineren Fragmenten, die leichter von der DNA abgetrennt werden können.

Zu dieser Lösung erfolgte nun eine Zugabe von 12 ml AL-Puffer (Guanidin-HCL). Der AL-Puffer schafft optimale Reaktionsbedingungen (pH-Wert, etc.) für die Lyseeigenschaften der Proteinkinase K. Außerdem entzieht der AL-Puffer der DNA die Hydrathülle, damit sie später an die Silikagel-Säule binden kann. Daraufhin wurde die Lösung 2 Minuten lang auf dem Vortexer durchgemischt, damit die Zellyse vollständig ist.

Für einen maximalen DNA-Ertrag erfolgte dann eine mindestens 30 minütige Inkubation der Lösung im Wasserbad bei $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter gleichzeitigem Schütteln.

3. Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran

10 ml Ethanol (96 - 100%) wurden in die Probe gegeben, um die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen. Anschließend erfolgte eine 2 Minuten lange Vermischung auf dem Vortexer. Ca. ein Drittel der DNA-Lösung wurde dann auf die Silikagel-Säule überführt und für 3 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt 3 mal durchgeführt, da eine Säule nicht ausreichend ist, um die gesamte DNA-Lösung auf einmal aufzunehmen. Die DNA

bindet so an die Silikamembran, während Salz- und pH-Bedingungen dafür sorgen, dass RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine, die die PCR später stören könnten, nicht gebunden werden. Das Filtrat wurde jeweils verworfen.

4. Reinigung der DNA durch Waschen von Verunreinigungen von der Säule

Es wurden 5 ml Waschpuffer AW 1, der Guanidin-HCL enthält, auf den DNA-haltigen Filter gegeben und für 1 Minute bei 5000 rpm zentrifugiert. Dieser Vorgang entfernt nochmals Proteine.

Dann erfolgte die Zugabe von 5 ml ethanolhaltigem Waschpuffer AW 2 auf den Filter und eine 15 Minuten lange Zentrifugation bei 5000 rpm. Dadurch wurden Guanidiniumsalze entfernt. Diesmal musste so lange zentrifugiert werden, um das Ethanol vollständig zu entfernen, damit die DNA im nächsten Schritt von der Säule eluiert werden konnte.

5. Elution der DNA von der Silikamembran

Anschließend erfolgte die Überführung der Filter in sterile Falcon-Röhrchen. Die Elution wurde unter Zugabe von 1 ml AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9,0) durchgeführt. Die DNA wurde für 5 Minuten bei RT mit dem AE-Puffer inkubiert und anschließend für 5 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt zweimal durchgeführt. Da die DNA nur unter sauren Bedingungen an die Silikamembran bindet, löst sie sich nun mittels des basischen Tris-Puffers von der Membran ab und verbleibt im AE-Puffer. Die so gewonnene DNA kann dann für die PCR verwendet werden.

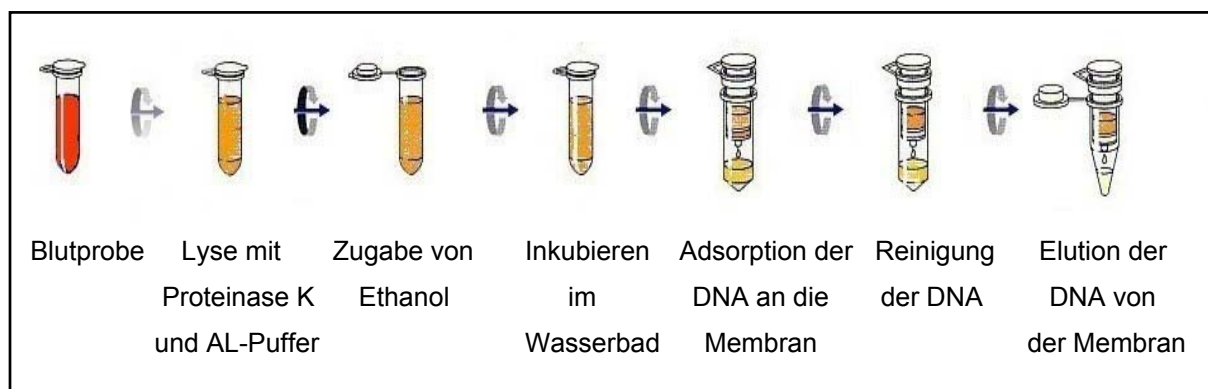


Abb. 11: DNA-Extraktion gemäß der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbook

4.2.3 Bestimmung der DNA-Konzentration: Photometrische Konzentrationsbestimmung

Mit Hilfe der UltraviolettabSORptionsspektrometrie wurden Konzentration und Reinheitsgrad der isolierten DNA bestimmt. Die Menge der ultravioletten (UV) Strahlung, die von einer DNA-Lösung absorbiert wird, ist ihrem DNA-Gehalt direkt proportional.

Bei einer Wellenlänge von 260 nm (A_{260}) entspricht ein Absorptionswert einer Konzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ doppelsträngiger DNA.

Hierfür wurde das Photometer zuerst mit einer Lösung aus 95 μl Aqua bidest. und 5 μl AE-Puffer geeicht.

Die DNA wurde dann im Verhältnis 1:20 verdünnt (5 μl DNA-Lösung (DNA in AE-Puffer) auf 95 μl Aqua bidest.). Die Messungen wurden in einer Quarzglasküvette mit dem Photometer Genequant® der Firma Pharmacia Biotech durchgeführt.

Das Absorptionsmaximum für Nukleinsäuren liegt bei einer Wellenlänge von 260 nm ($=\lambda_1$), das für Proteine bei einer Wellenlänge von 280 nm ($=\lambda_2$). Als Reinheitskriterium wurde der Quotient λ_1/λ_2 herangezogen. Dieser Quotient aus DNA/Protein sollte bei reiner DNA zwischen 1,7 und 1,9 liegen. Lag der Quotient λ_1/λ_2 im zulässigen Bereich, ließ sich die DNA-Konzentration nach folgender Formel berechnen:

$$\lambda_1 \times \text{Verdünnungsfaktor} \times 50 \mu\text{g/ml}$$

Eine DNA-Lösung von 50 $\mu\text{g/ml}$ ergibt bei $\lambda_1 = 260$ nm eine Absorption von 1,0 (Sambook J 1989).

Die DNA-Konzentration lag in der Regel bei ca. 200 $\mu\text{g/ml}$. Anschließend wurden die DNA-Lösungen mit PCR geeignetem Wasser einheitlich auf eine Konzentration von 50 $\text{ng}/\mu\text{l}$ standardisiert und in 96iger Mikrotiterplatten pipettiert.

4.2.4 Die Polymerase-Kettenreaktion

Die Mitte der 80er Jahre von Kary B. Mullis (Mullis 1990; Saiki et al. 1985) und seinen Mitarbeitern entwickelte „polymerase chain reaction“ hat sich zu einer unentbehrlichen Methode in der Molekularbiologie entwickelt, mit der sich geringste Mengen spezifischer DNA nachweisen lassen.

Mit ihr ist es seither möglich, eine definierte DNA-Sequenz aus dem Genom *in vitro* millionenfach zu vervielfältigen (Strachan und Read 1996).

Dazu werden zunächst zwei kurze synthetische Oligonukleotide, die Primer, die komplementär an jeweils ein Ende der Zielsequenz binden, konstruiert. Am jeweiligen 3'-OH-Ende dieser Primer kann im folgenden eine DNA-Polymerase den Kettenaufbau durch den Einbau von Desoxynukleotidtriphosphaten (dNTPs) beginnen.

Des Weiteren werden ein geeignetes Puffersystem, dNTPs im Überschuss und eine DNA-Polymerase benötigt.

Die gesamte Reaktion basiert auf drei Teilschritten bei jeweils unterschiedlichen Temperaturen, die in Zyklen wiederholt werden:

1. Denaturierung

Im ersten Schritt, der Denaturierung (ca. 94°C), wird die DNA in Einzelstränge aufgetrennt (Volkenandt et al. 1990).

2. Annealing der Primer

Die Temperatur wird auf einen Bereich abgesenkt (50 - 70°C), der es den zuvor ausgewählten Primern erlaubt, spezifisch an den komplementären DNA-Strang zu binden.

3. Elongation

Die Primer dienen im dritten Schritt der DNA-Synthese (ca. 70°C) als Startmoleküle für die DNA-*Taq*-Polymerase, welche die Matrizenstränge kopiert.

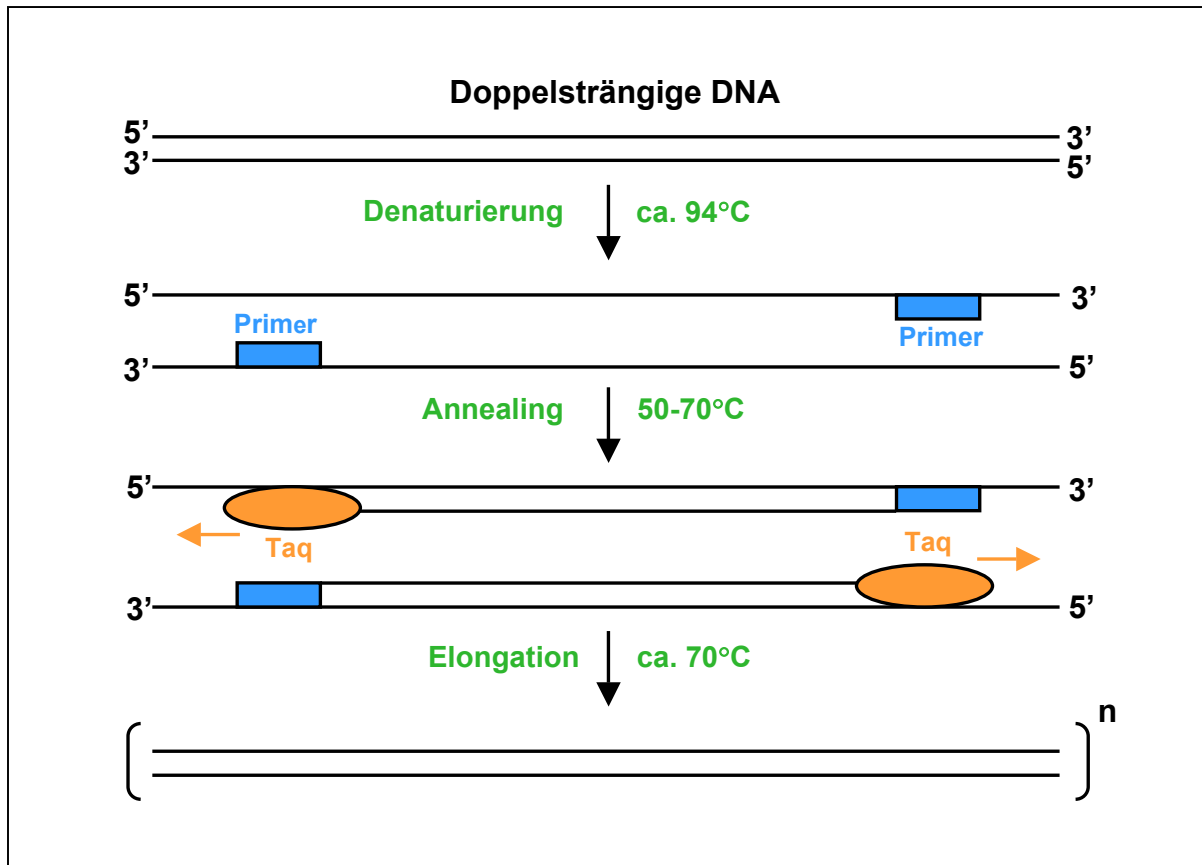


Abb.12: Grundprinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR)

Schematische Darstellung der drei Grundschrirte der PCR: Denaturierung, Annealing und Elongation.

Dieser Zyklus wird je nach Reaktion 25 – 40 mal wiederholt. Während dieser Kettenreaktion wird das gewünschte DNA-Fragment milliardenfach amplifiziert. In jedem Zyklus verdoppelt sich die Menge des von den Startermolekülen eingerahmten Matrizenfragments und wird im darauffolgenden Zyklus zum Ausgangsmaterial.

Das bedeutet, dass im ersten Reaktionszyklus die Anzahl der neugewonnenen DNA-Moleküle linear zunimmt. Nach einem Zyklus liegt die vollständige Kopie der Zielsequenz vor, wogegen in den darauffolgenden Zyklen, in denen die Produkte des ersten Zyklus auch als Matrize dienen, die Reaktionsprodukte exponentiell mit der Zykluszahl wachsen und somit das ursprüngliche DNA-Stück um ein milliardenfaches vervielfältigt wird (Abb. 12). Es können z.B. nach 30 Zyklen theoretisch n^{30} DNA-Segmente amplifiziert werden.

Die Taq-DNA-Polymerase (Saiki et al. 1988) stammt aus einem *E. coli*-Stamm, der ein Plasmid mit dem klonierten Gen der *Thermus aquaticus*-DNA-Polymerase trägt. Diese hitzestabile DNA-Polymerase hat die PCR sehr vereinfacht und verbessert. Das Bakterium *Thermus aquaticus* lebt im Wasser bei einer Temperatur von 75°C. Seine DNA-Polymerase (Taq-Polymerase) hat ein Temperaturoptimum von 72°C.

Daher sollte die Synthesephase bei dieser Temperatur ablaufen. Die *Taq*-Polymerase ist selbst bei der Denaturierungstemperatur von ca. 94 °C noch stabil.

4.2.5 Allgemeine Bedingungen der Polymerasekettenreaktion

Um möglichst spezifische Produkte zu erhalten, müssen die optimalen Bedingungen für die vorliegende DNA-Sequenz und die ausgewählten Primer ausgetestet werden. Dazu sollten verschiedene Gesichtspunkte bedacht werden:

4.2.5.1 Enzymkonzentration (DNA-Polymerase)

Das Enzym ermöglicht es, die PCR automatisiert ablaufen zu lassen. Die ideale Enzymkonzentration für einen 50 µl-Ansatz sollte bei 0,5 - 1,5 Units (U) *Taq*-Polymerase liegen; eine zu hohe Enzymkonzentration kann die Nebenproduktbildung verstärken, da die Substratspezifität des Enzyms sinkt.

4.2.5.2 Desoxynukleotide

Die 10 mM Stammlösung sollte einen pH-Wert von 7 aufweisen. Die Nukleotide dGTP, dATP, dCTP und dTTP müssen exakt in der gleichen Konzentration (à 2,5 mM) vorliegen, da ansonsten ein Fehleinbau in den neu synthetisierten DNA-Strang gefördert wird. Günstig ist dabei ein gering konzentriertes Gemisch, da dieses einen positiven Einfluss auf die Genauigkeit der *Taq*-Polymerase hat.

4.2.5.3 Primerkonstruktion

Die Primer sollten ca. 20 Nukleotide lang sein, wobei tandemförmige Wiederholungen von einem oder mehreren Nukleotiden zu vermeiden sind. Außerdem sollten die Primer am 3'-OH-Ende nicht komplementär zueinander sein, da sonst die Gefahr der Primer-Dimerbildung besteht. Ein weiterer Punkt ist der Gesamtprozentatz an GC-Nukleotiden, der so gewählt werden muss, dass die Schmelztemperatur jedes Oligonukleotids nahezu gleich ist (Strachan und Read 1996).

Falls nicht dieselben Primer wie in der Literatur verwendet wurden, haben wir die Primer mittels des Computerprogramms „Primer 3“ (<http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3www.cgi>) entworfen, welches optimale Primerkombinationen ermittelt. Im Anschluss daran wurden mittels „BLAST“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/80/BLAST/>) die Primer und die zu amplifizierenden Sequenzen auf ihre Spezifität überprüft.

4.2.5.4 Primerkonzentration

Die Primerkonzentration muss hoch genug sein, damit genügend Oligonukleotide für das Annealing in den aufeinanderfolgenden Zyklen zur Verfügung stehen. Sonst erhält man ein zu schwaches PCR-Produkt. Andererseits sind zu hohe Primerkonzentrationen kritisch, da sie oft zu einer Selbsthybridisierung der Primer führen und damit die Spezifität der Reaktion verringern.

4.2.5.5 pH-Optimum

Der ideale Reaktionsansatz sollte ein pH-Optimum von ca. pH 8,8 aufweisen. Ein zu saurer Puffer kann zu einem vorzeitigen Aktivitätsverlust des Enzyms führen.

4.2.5.6 Auswahl der Ionenkonzentration

Die Magnesiumchlorid (MgCl_2)-Konzentration kann die Spezifität und Ausbeute der PCR wesentlich beeinflussen. Magnesium (Mg^{2+})-Ionen bilden mit den dNTPs einen löslichen Komplex, der für den dNTP-Einbau ausschlaggebend ist. Zusätzlich stimulieren sie die Polymeraseaktivität und erhöhen die spezifische Schmelztemperatur sowohl des DNA-Doppelstranges als auch der Bindung zwischen Primer und Matrize.

Ein Mangel an Mg^{2+} -Ionen setzt den Ertrag der Reaktion herab, wohingegen bei einem Überschuss vermehrt unspezifische Produkte gebildet werden.

4.2.5.7 Variationen der verschiedenen Temperaturphasen

1. Denaturierung: Bei hohem GC-Gehalt der Zielsequenz sollte die Temperatur höher gewählt werden als unter Standardbedingungen.

2. Annealing:

Die Temperatur muss je nach Primersequenz empirisch ermittelt werden. Ist die Temperatur zu hoch, können sich die Primer nicht anlagern, was bedeutet, dass die Produktausbeute am Ende der Reaktion zu gering ist. Wählt man allerdings eine zu niedrige Temperatur, lagern sich die Primer auch an unspezifischen Sequenzstellen an, wobei unspezifische Nebenprodukte entstehen.

Je länger der Primer ist, desto höher wird die Temperatur gewählt. Für jeden Primer kann die spezifische Schmelztemperatur folgendermaßen berechnet werden:

$$\text{Ausgezählte GC-Basen} \times 4 + \text{ausgezählte AT-Basen} \times 2$$

Die Annealingtemperatur sollte unter diesem Wert liegen.

3. Elongation:

Die Dauer dieser Phase richtet sich nach der Länge der Zielsequenz, die *Taq*-Polymerase synthetisiert ~1 kb/min.

4.2.6 Optimierung der Polymerasekettenreaktion

4.2.6.1 Primer-Rehydratisierung

Die Sammelröhrchen mit den lyophilisierten Primern wurden zunächst einige Sekunden zentrifugiert, danach vorsichtig geöffnet und in DNase-freiem Wasser so rehydratisiert, dass eine Endkonzentration von 100 pmol/µl erzielt wurde. Nach 2 min wurden die Primerlösungen für 15 s gevortext, nochmals zentrifugiert und anschließend bei – 20°C aufbewahrt.

4.2.6.2 Puffer-Optimierung

Die Ermittlung des besten Puffers erfolgte über eine Testreihe mit Puffern aus dem Optimized Buffer Kit der Fa. Invitrogen. Sie hatten unterschiedliche $MgCl_2$ -Konzentration und pH-Werte. Die $MgCl_2$ -Konzentrationen variierten von 7,5 mM bis 17,5 mM, der pH- Wert von pH 8,5 bis pH 10. Alle Puffer enthielten 300 mM Tris-HCL und 75 mM Ammoniumsulfat (Tab. 8).

Tab. 8:
Die für die Optimierung der Polymerasekettenreaktion verwendeten Puffer der Firma Invitrogen.

Puffer	PH-Wert	MgCl ₂ -Konzentration
A	8.5	7.5 mM
B	8.5	10 mM
C	8.5	12.5 mM
D	8.5	17.5 mM
E	9.0	7.5 mM
F	9.0	10 mM
G	9.0	12.5 mM
H	9.0	17.5 mM
I	9.5	7.5 mM
J	9.5	10 mM
K	9.5	12.5 mM
L	9.5	17.5 mM
M	10.0	7.5 mM
N	10.0	10 mM
O	10.0	12.5 mM
P	10.0	17.5 mM

4.2.6.3 Annealing-Temperatur

Hohe Annealing-Temperaturen führen zu einer sehr spezifischen Amplifikation, während niedrigere Temperaturen die Ausbeute steigern. Die günstigste Annealing-Temperatur wurde im Thermocycler „Mastercycler Gradient“ ermittelt. Bei diesem Gerät ist es möglich, über den Heizblock einen Temperaturgradienten zu programmieren. In einem PCR-Durchlauf lässt sich so diejenige Temperatur ermitteln, bei der die beste Ausbeute in der PCR zu erhalten ist.

4.2.6.4 Zyklen-Optimierung

Die Anzahl der Amplifikate wächst exponentiell mit der Zyklenzahl. Werden zu wenig Zyklen eingestellt, ist die Ausbeute zu gering.

4.2.6.5 Mix zur Durchführung der Polymerasekettenreaktion

Die Reagenzien wurden in folgender Reihenfolge in die Vertiefungen pipettiert:

1. DNA
2. PCR-Wasser
3. Puffer
4. Primer
5. dNTP
6. *Taq*-Polymerase

Eine zu frühe Gabe von dNTP und *Taq*-Polymerase kann zu unspezifischen Amplifikationen führen. Die Reaktionen wurden in 0,2 ml Gefäßen steril auf Eis angesetzt. Zusätzlich wurde eine Negativprobe mit PCR-Wasser angesetzt, damit eine Kontamination durch Fremd-DNA ausgeschlossen werden konnte. Die PCR-Reaktion wurde im Thermocycler „Mastercycler“ der Firma Eppendorf durchgeführt.

4.2.7 Allgemeine Auswertung von Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismen und *variable number of tandem repeats*-Polymorphismen

Die amplifizierte DNA wurde nun bei den Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismen (*restriction fragment length polymorphisms*, RFLPs), wie den Polymorphismen des IL-1A und -B, mit der geeigneten Restriktionsendonuklease inkubiert. Falls das Amplifikat die Erkennungssequenz für das Restriktionsenzym enthält, wurde es geschnitten, ansonsten blieb es unverdaut. Es entstanden somit je nach Sequenz DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge.

Bei der Analyse von VNTR-Polymorphismen handelte es sich, anders als bei den RFLPs, die das Ergebnis des Vorliegens oder Nichtvorliegens einer restriktionsspezifischen Schnittstelle waren, um Polymorphismen, die aus einer unterschiedlichen Anzahl von Wiederholungen mittellanger DNA-Sequenzen von 12

– 500 bp hervorgehen. Nach PCR-Amplifikation und Gelelektrophorese konnte die Anzahl der Wiederholungen direkt mit Hilfe eines Gels ermittelt werden, das die als Banden sichtbare Fragmente unterschiedlicher Größe voneinander getrennt hat.

4.2.8 Prinzip der Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese ist eine einfache Methode, um festzustellen, ob ein PCR-Produkt entstanden ist und welche Länge (Basenpaare) dieses Produkt hat. Das Prinzip der Elektrophorese beruht auf der Migration geladener Partikel in einem elektrischen Feld. Die Gelelektrophorese ist für DNA-Moleküle besonders einfach, da jedes Nukleotid in einem Nukleinsäuremolekül bereits eine negative Ladung trägt, und in einem elektrischen Feld in Richtung des positiven Pols, also von der Kathode zur Anode wandert (Abb. 13).

Die Geschwindigkeit, mit der die DNA-Moleküle durch die Agarose-Matrix wandern, ist aufgrund des Molekularsiebeffekts umgekehrt proportional zum Logarithmus der Größe der DNA-Fragmente, d.h. je kleiner ein Fragment ist, desto schneller kann es sich durch das Gel bewegen.

Des weiteren hängt die Migration von der Stromstärke, den Pufferbedingungen und der Agarosekonzentration ab. Mit Agarosegelen lassen sich DNA-Fragmente über einen Größenbereich von etwa 100 bp bis zu 50 kb auftrennen.

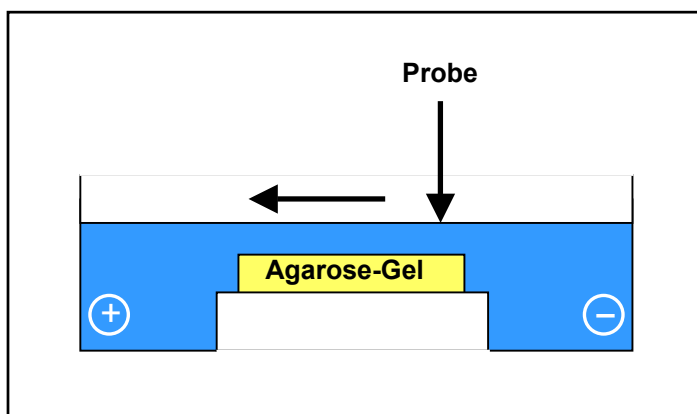


Abb. 13: Apparatur einer Agarosegelelektrophorese

Die auf das Gel aufgetragene negativ geladene DNA wandert, wie es der horizontale Pfeil andeutet, von der negativen auf die positive Elektrode zu. Sie wird dabei von dem vernetzten Agarosegel ihrer Größe nach aufgetrennt.

Agarose ist ein Polysaccharid, das aus roten Meeresalgen gewonnen wird. Es wird in Elektrophoresepuffer aufgenommen und durch Erhitzen in Lösung gebracht. Die

Vielzahl an Hydroxy-Gruppen ermöglicht die Ausbildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen, durch die bei der Abkühlung die großporige Gelmatrix entsteht.

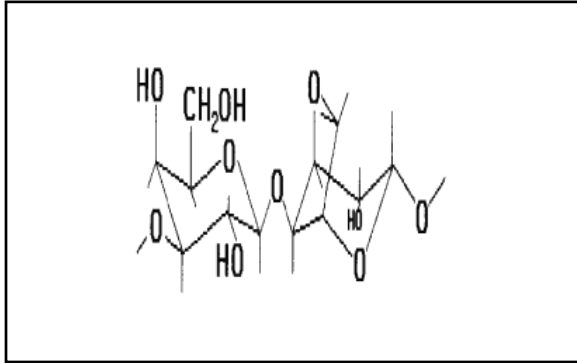


Abb. 14: Agarose-Struktur

Disaccharid aus D-Galactopyranose und 3,6-Anhydro-L-galactopyranose.

4.2.9 Durchführung der Gelelektrophorese

Für die Gelelektrophorese wurde eine 2%ige (IL-1B, IL-1RN) bzw. 2,5%ige (IL-1A) Agarose-Lösung mit 0,5 x TBE-Puffer hergestellt und in der Mikrowelle auf Schmelztemperatur gebracht, bis eine klare, transparente Lösung entstand. Nach Abkühlung, Zugabe von 2 µl/100 ml Ethidiumbromid-Lösung und Mischen wurde das Gel in die Gelkammer gegossen. Dabei wurde darauf geachtet, dass keine Luftblasen entstehen. Die Gelkammer wurde zuvor mit Kämmen und Seitenabdichtungen präpariert. Ethidiumbromid ist eine Verbindung, die in die DNA-Helix interkaliert und bei Beleuchtung mit UV-Licht fluoresziert. Das nun festgewordene Agarosegel ist eine Matrix, deren Dichte durch die Agarosekonzentration bestimmt wird. Nach Erkalten des Gels wurden die Kämmen und Seitenabdichtungen entfernt. Die Gelkammer wurde mit 0,5 x TBE-Puffer gefüllt, und jeweils 20 µl der DNA-Proben wurden mit 5 µl Ladepuffer versetzt. Diese Mischung konnte dann mit Mikropipetten in die Geltaschen eingefüllt werden. Der Ladepuffer enthält Glycerin, das die Dichte der PCR-Probe erhöht und dadurch die DNA in die Geltaschen sinken lässt. Zur Identifizierung der Produktlängen wurde auf das Gel zusätzlich eine DNA-Leiter mit Plasmid-Fragmenten definierter Länge aufgetragen. Nun wurde eine Gleichspannung von ca. 100 mV angelegt. Aufgrund der negativen Ladung der DNA wandern die einzelnen, bei neutralem pH negativ geladenen Fragmente zur Anode, das Ethidiumbromid interkaliert in ihre DNA-Helix, und sie

trennen sich je nach Größe auf. Nach abgeschlossener Auftrennung (Dauer 1 h – 1,5 h) wurde das Gel unter UV-Licht ausgewertet.

Die Reagenzien, die zur Durchführung der Gelelektrophorese verwendet wurden, waren folgende:

Tab. 9: Die für die Durchführung der Gelelektrophorese verwendeten Reagenzien und deren Zusammensetzung.

Der 5 x TBE-Puffer wurde zur Verwendung bei der Elektrophorese 1:10 verdünnt, so dass ein 0,5 x TBE-Puffer entstand. Vor dem Auftragen des PCR-Produktes auf das Gel wurden 5 µl Ladepuffer mit 20 µl DNA-Produkt gemischt.

Reagenzien	Zusammensetzung
Agarose	gebrauchsfertiges Pulver
Ethidiumbromid	gebrauchsfertige Lösung
5 x TBE-Puffer	5,4 % Trisbase 2,75 % Borsäure 0,375 % Na ₂ EDTA
6 x Loading Dye	1,5 ml Bromphenolblau 3,0 ml 30 % ige Glycerol- Lösung 100 µl 0,5 M EDTA- Lösung 5,4 ml H ₂ O
DNA-Leiter	100 µl Gene-Ruler Stammlösung (0,5 mg DNA/ml) 166 µl 6 x Loading Dye 734 µl H ₂ O

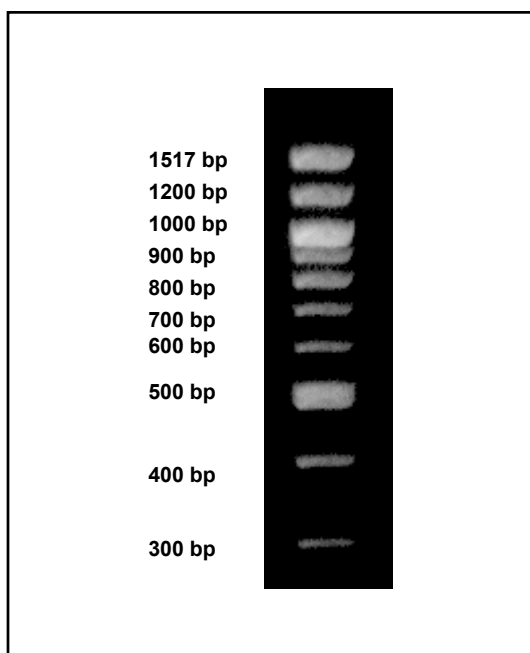


Abb. 15: Die DNA-Leiter (Gene-Ruler, Fa. MBI Fermentas GmbH)
Längenstandard zur Identifizierung der Produkte mittels Bandenlänge.

4.2.10 Gelauswertung

Die Ablichtung der Gele wurde mit dem so genannten „Eagle Eye“-Gerät der Firma Stratagene durchgeführt. Mit diesem Gerät ist es möglich, das Gel mit UV-Licht zu bestrahlen und zu fotografieren. Zusätzlich lassen sich die Bilder für die Auswertung auf Datenträger speichern.

Bei den RFLPs kann anhand des nun direkt ablesbaren Bandenmusters rückgeschlossen werden, ob die untersuchte Person die Restriktionserkennungssequenz aufweist oder nicht. Bei den VNTRs kann durch die Länge und Anordnung der Banden auf die jeweiligen Genotypen geschlossen werden.

4.2.11 Die Auswertung der untersuchten Polymorphismen

4.2.11.1 Der Interleukin-1 alpha-Polymorphismus

Die Region des Interleukin-1A-Gens, die den T-889C-Polymorphismus (Abb. 16) enthält, wurde mittels PCR amplifiziert. Die PCR wurde in einem Endvolumen von 50 µl durchgeführt, es wurden 50 ng genomische DNA, 20 pmol von jedem Primer, 1 U *Taq*-Polymerase, 0.1 mM dNTP, 3,5 mM MgCl₂, 60 mM Tris-HCl und 15 mM Ammoniumsulfat bei einem pH von 9,0 verwendet. Auf eine anfängliche 5 minütige Denaturierungszeit bei 94°C folgten 40 Zyklen mit je 30 s bei 94°C, 1 min bei 51°C und 1 min bei 72°C. Danach schloss sich eine Extension von 10 min bei 72°C an. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden mit dem Enzym NcoI 10 h lang bei 37°C verdaut. Danach folgte die Analyse durch eine Elektrophorese auf einem 2,5%igen ethidiumbromidhaltigem Agarosegel (Tab. 10). Unter UV-Licht wurde nach erfolgtem NcoI-Verdau eine Bande der Länge 173 Basenpaare sichtbar. Die Bande mit der Länge von 26 Basenpaaren war aufgrund zu geringer Größe nicht mehr auf dem Gel erkennbar. Diese beiden Banden wurden als Allel 1 (C-Allel) bezeichnet. Das unverdaute PCR-Produkt hatte die Länge 199 Basenpaare und wurde als Allel 2 (T-Allel) gewertet. Abbildung 16 zeigt beispielhaft ein so erhaltenes Bild.

Tab. 10: Darstellung der Genotypisierung des IL-1 alpha-Polymorphismus an Stelle –889

Primersequenzen	<i>Sense Primer</i> 5'cat gcc atc aca cct agt tca3' <i>Antisense Primer</i> 5'gga ttt tta cat atg agc ctt cca 3'
Ausgangslösungen für die PCR	DNA-Lösung (50 ng/µl) PCR geeignetes Wasser (Fa. Sigma) <i>Taq</i> -DNA-Polymerase (Fa. Fermentas) 5 x PCR-Puffer H (PH 9.0/Magnesiumchlorid 17.5 mM/Ammoniumsulfat 75mM/Tris-HCL 300mM) (Fa. Invitrogen) Sense Primer-Arbeitslösung (10pmol) (Fa. Life Technologies) Antisense Primer-Arbeitslösung (10pmol) (Fa. Life Technologies) Desoxynukleotidtriphosphate (dATP, dTTP, dCTP, dGTP je 2,5mM →10mM) (Fa. Amersham Biosciences)
50 µl PCR-Ansatz	20 pmol Antisense Primer, 20 pmol Sense Primer (2 µl der Ausgangslösung), 50 ng DNA (1 µl) , 0.1 mM Desoxynukleotidtriphosphate (2 µl), 1 U <i>Taq</i> (1 µl), 3.5 mM Magnesiumchlorid, 15 mM Ammoniumsulfat, 60 mM Tris-HCL, PCR-Wasser ad 50 µl
PCR-Programm	1. Denaturierung von 5 Minuten bei 94°C 2. 40 Zyklen aus Denaturierung von 30 Sekunden bei 94°C, Annealing von 1 Minute bei 51°C, Extension von 1 Minute bei 72°C 3. Abschließende Extension von 10 Minuten bei 72°C
Ausgangslösungen für den Restriktionsverdau	PCR-Produkt NcoI-Restriktionsenzym (10.000 U/ml) (Fa. New England Biolabs) 10 x NEB-Puffer 4 (500 mM Kaliumacetat, 200 mM Tris-Acetate, 100 mM Magnesiumacetat, 10 mM DTT, pH 7.9 bei 25°C) (Fa. New England Biolabs) PCR geeignetes Wasser
Verdaubedingungen	Dauer 10 h bei 37°C
Reaktionsansatz für Verdau	20 µl PCR-Produkt, 5 U NcoI (0,5 µl), 5 µl 10 x Puffer, PCR-Wasser ad 50 µl
Bedingungen für die Gelelektrophorese	2,5% Agarosegel (2,5 g auf 100 ml 0,5 x TBE-Puffer) Laufzeit ca.1,5 h bei 100 mV

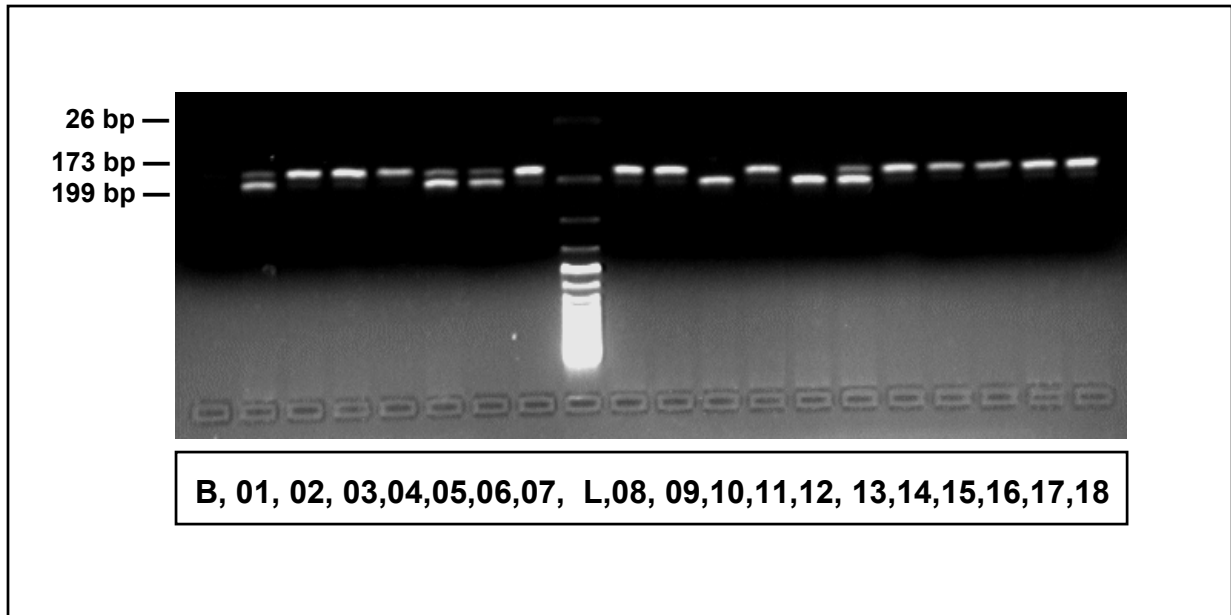


Abb. 16: Auf Agarosegel dargestellter T-889C-Polymorphismus des Interleukin-1A-Gens nach NcoI-Verdau

Die Abbildung zeigt 18 der für den IL-1A NcoI-RFLP untersuchten Proben, eine Blindprobe (B) sowie den Längenstandard (L). Sichtbar ist die Bande des Allels 1 nach Verdau durch das Enzym bei 173 bp, die Bande bei 26 bp ist nicht erkennbar. Die Bande bei 199 bp stellt das Allel 2 dar.

NcoI-Verdau

NcoI schneidet spezifisch an der Schnittstelle der Basenfolge 3'-GGTAC/C-5' und 5'-C/CATGG-3'. Findet sich an Position –889 ein C, erkennt das Enzym die Schnittstelle und das DNA-Fragment wird gespalten. Es resultieren zwei Fragmente. Sollte sich an Position –889 ein T befinden, gibt es keine adäquate Schnittstelle für NcoI. Das DNA-Fragment bleibt in seiner gesamten Länge erhalten. Ein Allel, das an Position –889 als Base Cytosin aufweist, erhält die Nomenklatur IL-1A Allel 1. Findet sich an dieser Position Thymin, wird das Allel als IL-1A Allel 2 bezeichnet. Damit ergeben sich die folgenden möglichen Genotypen: Homozygotie für Allel 1 oder Allel 2 oder Heterozygotie für Allel 1/Allel 2.

Die folgende Abbildung zeigt die amplifizierte Zielsequenz des IL-1 alpha-Gens:

```

2250875 catgccatcacacctagttcatttcctctattttaaataacatcatggcttaaactccaact
2250935 gggaaacccaaaacattcatttgctaagagctctgggtgttctaccacctgaactaggctggc
2250995 cacaggaattataaaaagctgagaaattctttaataatagtaaccaggcaaca [c/t] cat
2251013 gaaggctcatatgtaaaaatcc
    
```

Abb. 17: Amplifizierte Zielsequenz des IL-1 alpha-Gens (accession number NT_022135.13)

Die Produktgröße der amplifizierten Zielsequenz des IL-1 alpha-Gens beträgt 199 bp. Der untersuchte Basenaustauschpolymorphismus ist grau unterlegt. Die fett gedruckten, unterstrichenen Sequenzen veranschaulichen die verwendeten Primer, wobei die Sequenz des *Sense* Primers die Basenfolge catgccatcacacctagttca und die des *Antisense* Primers ggattttacatagagcctcca hat. Ein *Mismatch* wurde mittels des *Antisense* Primers 5'gga ttt tta cat atg agc ctt cca'3 (unterstrichenes Nukleotid) eingeführt, um eine allelspezifische Schnittstelle für das Restriktionsenzym NcoI zu erzeugen (Ploski et al. 1995).

4.2.11.2 Der Interleukin-1 beta-Polymorphismus

Die Region des Interleukin-1B-Gens, die den C–511T-Polymorphismus (Abb. 18) enthält, wurde mittels PCR amplifiziert. Die PCR wurde in einem Endvolumen von 50 µl durchgeführt, es wurden 50 ng genomische DNA, 20 pmol von jedem Primer, 1 U *Taq*-Polymerase, 0.1 mM dNTP, 1,5 mM MgCl₂, 60 mM Tris-HCl und 15 mM Ammoniumsulfat bei einem pH von 8,5 verwendet. Auf eine anfängliche zweiminütige Denaturierungszeit bei 95°C folgten 38 Zyklen mit je 1 min bei 95°C, 1 min bei 55°C und 1 min bei 74°C. Danach schloss sich eine Extension von 4 min bei 74°C an. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden mit dem Enzym Aval 10 Stunden lang bei 37°C verdaut. Danach folgte die Analyse durch eine Elektrophorese auf einem 2,0%igen ethidiumbromidhaltigem Agarosegel (Tab. 11). Unter UV-Licht wurden bei erfolgtem Aval-Verdau zwei Banden der Länge 190 Basenpaare und 109 Basenpaare sichtbar, was als Allel 1 (C-Allel) bezeichnet wurde. Das unverdaute PCR-Produkt hatte die Länge 299 Basenpaare und wurde als Allel 2 (T-Allel) gewertet. Abbildung 18 zeigt beispielhaft ein so erhaltenes Bild.

Tab. 11: Darstellung der Genotypisierung des IL-1 beta-Polymorphismus an Stelle -511

Primersequenzen	<i>Sense</i> Primer 5'tgg cat tga tct ggt tca tc3' <i>Antisense</i> Primer 5' gaa tct tcc cac tta cag atg gat 3'
Ausgangslösungen für die PCR	DNA-Lösung (50 ng/µl) PCR geeignetes Wasser (Fa. Sigma) <i>Taq</i> -DNA-Polymerase (Fa. Fermentas) 5 x PCR-Puffer B (PH 8.5/Magnesiumchlorid 10 mM/Ammoniumsulfat 75 mM/Tris-HCL 300 mM) (Fa. Invitrogen) <i>Sense</i> Primer-Arbeitslösung (10 pmol) (Fa. Life Technologies) <i>Antisense</i> Primer-Arbeitslösung (10 pmol) (Fa. Life Technologies) Desoxynukleotidtriphosphate (dATP, dTTP, dCTP, dGTP je 2,5 mM →10 mM) (Fa. Amersham Biosciences)
50 µl PCR-Ansatz	20 pmol <i>Sense</i> Primer, 20 pmol <i>Antisense</i> Primer (2 µl der Ausgangslösung), 50 ng DNA (1 µl), 0.1 mM Desoxynukleotidtriphosphate (2 µl), 1U <i>Taq</i> (1 µl), 1.5 mM Magnesiumchlorid, 15 mM Ammoniumsulfat, 60 mM Tris-HCL, PCR-Wasser ad 50 µl
PCR-Programm	1. Denaturierung von 2 Minuten bei 95°C 2. 38 Zyklen aus Denaturierung von 1 Minute bei 95°C, Annealing von 1 Minute bei 55°C, Extension von 1 Minute bei 74°C 3. Abschließende Extension von 4 Minuten bei 74°C
Ausgangslösungen für den Restriktionsverdau	PCR-Produkt Aval-Restriktionsenzym (10.000 U/ml) (Fa. New England Biolabs) 10 x NEB-Puffer 4 (500 mM Kaliumacetat, 200 mM Tris-Acetate, 100 mM Magnesiumacetat, 10 mM DTT, pH 7.9 bei 25°C) (Fa. New England Biolabs) PCR geeignetes Wasser
Verdaubedingungen	Dauer 10 h bei 37 °C
50 µl Reaktionsansatz für Verdau	35 µl PCR-Produkt, 5 U Aval (0,5 µl), 5 µl 10 x Puffer, PCR-Wasser ad 50 µl
Bedingungen für die Gelelektrophorese	2% Agarosegel (2 g auf 100 ml 0,5 x TBE-Puffer) Laufzeit ca.1 h bei 90 mV

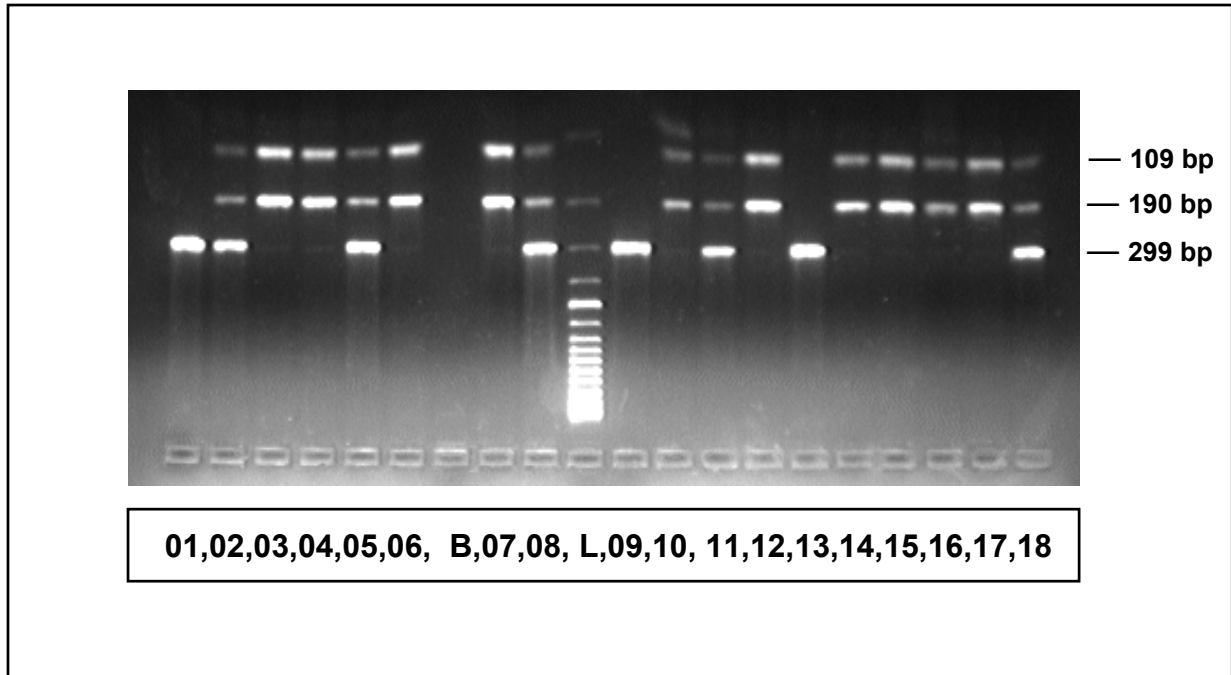


Abb. 18: Auf Agarosegel dargestellter C-511T-Polymorphismus des Interleukin-1 beta-Gens nach Aval-Verdau

Die Abbildung zeigt 18 der für den IL-1B Aval-RFLP untersuchten Proben, eine Blindprobe (B) sowie den Längenstandard (L). Sichtbar sind die Banden des Allels 1 nach Verdau durch das Enzym Aval bei 190 bp und 109 bp. Die Bande bei 299 bp stellt das Allel 2 dar.

Die folgende Abbildung zeigt die amplifizierte Zielsequenz des IL-1 beta-Gens:

```

2302801 tggcattgatctggttcacccatgagattggctagggtaacagcacctgggtcttgcaggg
2302861 ttgtgtgagcttatctccagggttgccccaactccgtcaggagcctgaaccctgcatacc
2302921 gtatgttctctgccccagccaagaaaggtaaatctctcctcagaggetcctgcaattga
2302981 cagagagct[c/t]ccgaggcagagaacagcacccaaggtagagacccacacctcaata
2303037 cagacagggagggctattggcccttcattgtaccatttatccatctgtaagtgggaaga
2303097 ttc
    
```

Abb. 19: Amplifizierte Zielsequenz des IL-1 beta-Gens (accession number NT_022135.13)

Die Produktgröße der amplifizierten Zielsequenz beträgt 299 bp. Der untersuchte Basenaustauschpolymorphismus ist grau unterlegt. Die fett gedruckten, unterstrichenen Sequenzen veranschaulichen die verwendeten Primer, wobei die Sequenz des Sense Primers die Basenfolge tggcattgatctggttcac und die des Antisense Primers aatctctcctcagaggetcctgcaattga hat.

4.2.11.3 Der Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

Die polymorphe Region des Intron 2 des IL-1RN-Gens, welche eine unterschiedliche Anzahl an Tandem-Wiederholungen eines 86 Basenpaare langen Motivs beinhaltet, wurde mit einer PCR-Reaktion amplifiziert. Die Oligonukleotide 5'CTC AGC AAC ACT CCT AT3' und 5'TCC TGG TCT GCA GGT AA3' dienten als Primer. Die PCR

wurde in einem Endvolumen von 50 µl durchgeführt, es wurden 50 ng genomische DNS, 20 pmol von jedem Primer, 1 U *Taq*-Polymerase, 0.1 mM dNTP, 3.5 mM MgCl₂, 60 mM Tris-HCL und 15 mM Ammoniumsulfat bei einem pH von 8,5 verwendet. Auf eine anfängliche einminütige Denaturierungszeit bei 96°C folgten 35 Zyklen mit je 1 min bei 94°C, 1 min bei 58°C und 1 min bei 70°C. Danach schloss sich eine Extension von 5 min bei 72°C an. Die PCR-Produkte wurden zur Analyse auf ein 2%iges ethidiumbromidhaltiges Agarosegel aufgetragen und die unter UV-Licht sichtbaren Banden ausgewertet (Tab. 12). Abbildung 20 zeigt ein Beispiel eines so erhaltenen Bildes. Allel 1 mit 4 *Repeats* war 412 Basenpaare lang, Allel 2 mit 2 *Repeats* 240 Basenpaare, Allel 3 mit 3 *Repeats* 326 Basenpaare, Allel 4 mit 5 *Repeats* 498 Basenpaare und Allel 5 mit 6 *Repeats* 584 Basenpaare.

Tab. 12: Darstellung der Genotypisierung des IL-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus im Intron 2 des Gens

Primersequenzen	Sense Primer 5'ctc agc aac act cct at3' Antisense Primer 5'tcc tgg tct gca ggt aa3'
Ausgangslösungen für die PCR	DNA-Lösung (50 ng/µl) PCR geeignetes Wasser (Fa. Sigma) <i>Taq</i> -DNA-Polymerase (Fa. Fermentas) 5 x PCR-Puffer D (pH 8.5/Magnesiumchlorid 17.5 mM/Ammoniumsulfat 75 mM/Tris-HCL 300 mM) (Fa. Invitrogen) Sense Primer-Arbeitslösung (10 pmol) (Fa. Life Technologies) Antisense Primer-Arbeitslösung (10 pmol) (Fa. Life Technologies) Desoxynukleotidtriphosphate (dATP, dTTP, dCTP, dGTP je 2,5 mM →10 mM) (Fa. Amersham Biosciences)
50 µl PCR-Ansatz	20 pmol Antisense Primer, 20 pmol Sense Primer (2 µl der Ausgangslösung), 50 ng DNA (1 µl), 0.1 mM Desoxynukleotidtriphosphate (2 µl), 1 U <i>Taq</i> (1 µl), 3.5 mM Magnesiumchlorid, Ammoniumsulfat 15 mM, Tris-HCL 60 mM, PCR-Wasser ad 50 µl
PCR-Programm	1. Denaturierung von 1 Minute bei 96°C 2. 35 Zyklen aus Denaturierung von 1 Minute bei 94°C, Annealing von 1 Minute bei 58°C, Extension von 1 Minute bei 70°C 3. Abschließende Extension von 5 Minuten bei 72°C
Bedingungen für die Gelelektrophorese	2% Agarosegel (2 g auf 100ml 0,5 x TBE-Puffer) Laufzeit ca. 1 h bei 90 mV

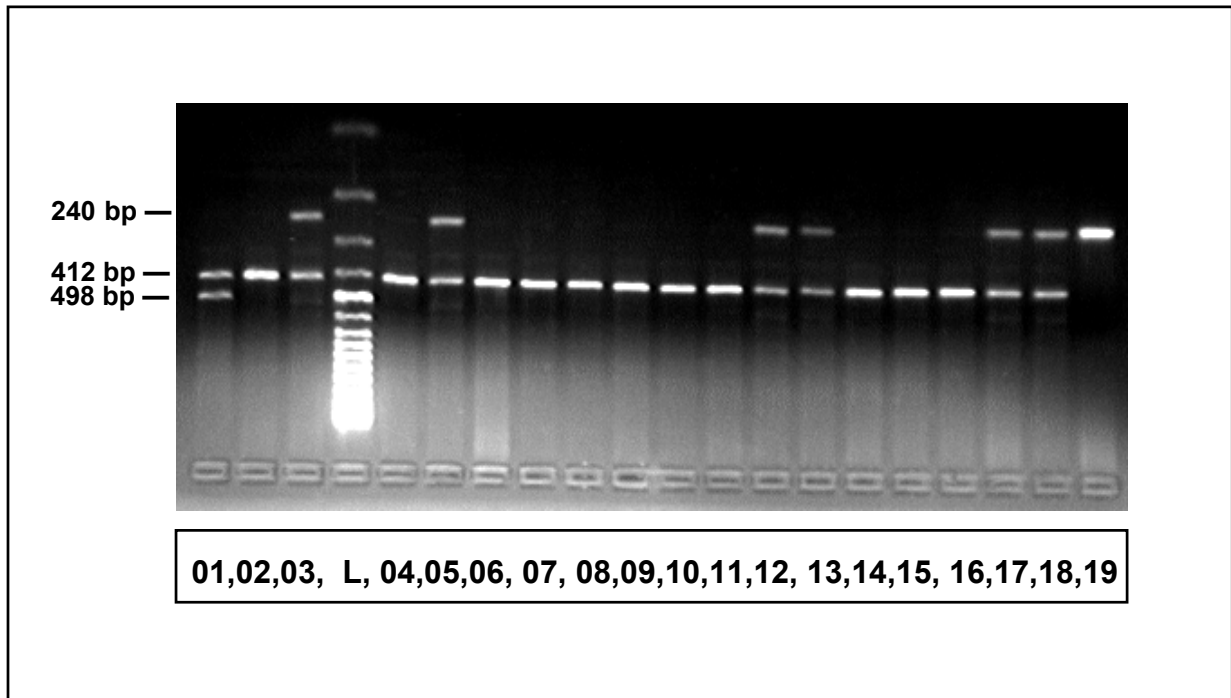


Abb. 20: Auf Agarosegel dargestellter Tandem Repeat-Polymorphismus im Intron 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gens

Die Abbildung zeigt 19 der für den IL-1RN-VNTR untersuchten Proben sowie den Längenstandard (L). Sichtbar sind die Banden des Allels 1 mit 412 bp, des Allels 2 mit 240 bp und des Allels 4 mit 498 bp.

Die folgende Abbildung zeigt die amplifizierte Zielsequenz des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens:

```

2595815 ctcagcaacactcctattgacctggagcacaggt[atcctggggaaagtgagggaaatat
2595874 gacatcacatggaacaacatccaggagactcaggcctctaggagtaactgggtagtgtgc
2595934 /tcctggggaaagtgagggaaatatggacatcacatggaacaacatccaggagactcagg
2595993 ctctaggagtaactgggtagtgtgc/atcctggggaaagtgagggaaatatggacatcac
2596052 aggaacaacatccaggagactcaggcctctaggagtaactgggtagtgtgc/atcctggg
2596111 gaagtgagggaaatatggacatcacatggaacaacatccaggagactcaggcctctagga
2596171 gtaactgggtagtgtgc]ttggtttaatcttctatttacctgcagaccagga
    
```

Abb. 21: Amplifizierte Zielsequenz des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens (accession number NT_022135.13)

Die Produktgröße der amplifizierten Zielsequenz des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens beträgt 412 bp für Allel 1 (4 Wiederholungen), 240 bp für Allel 2 (2 Wiederholungen) und 326 bp für Allel 3 (3 Wiederholungen). Die 86 bp langen Tandemwiederholungen sind grau unterlegt. Die fett gedruckten, unterstrichenen Sequenzen veranschaulichen die verwendeten Primer, wobei die Sequenz des Sense Primers die Basenfolge ctcagcaacactcctat und die des Antisense Primers ttacctgcagaccagga hat.

4.3 Statistische Auswertung

Die Statistik wurde mit Hilfe der SPSS 11,0 Software (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, 2001) durchgeführt. Die Verteilung der Genotypen wurde bezüglich des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet. Unterschiede in den Häufigkeiten der Allele, Genotypen und Haplotypen bei Patienten und Kontrollen wurden mittels des zweiseitigen χ^2 -Tests verglichen. Dabei wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ festgelegt, während $p < 0.1$ als Trend gewertet wurde. Kalkulationen von statistisch zu erwartenden Haplotypfrequenzen und das Kopplungsungleichgewicht wurden mittels des *expectation maximisation* (EM) - Algorithmus unter Verwendung der Arlequin® Software Version 2.000 (<http://anthropologie.unige.ch/arlequin>) durchgeführt. Bei der Untersuchung des Kopplungsungleichgewichts wurde ebenfalls ein Signifikanzniveau von $p < 0.05$ festgelegt.

5 Ergebnisse

5.1 Analyse des Polymorphismus des IL-1 alpha-Gens

Der Basenaustauschpolymorphismus von Cytosin nach Thymin an Stelle –889 des IL-1A-Gens wurde erstmals 1995 von McDowell et al. beschrieben und führt zu einer zusätzlichen Erkennungssequenz für die Restriktionsendonuklease NcoI (McDowell et al. 1995).

In der Patienten- und Kontrollgruppe waren die Genotypen des IL-1A-Gens innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt (Patienten: $\chi^2=1.88$, $df=2$, $p=0.392$; Kontrollen: $\chi^2=0.218$, $df=2$, $p=0.897$).

5.1.1 Analyse der IL-1 alpha-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

Bei der Analyse der Daten zum IL-1A-Polymorphismus an Stelle –889 wurde zunächst die Verteilung der Allele innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe untersucht. Dabei stellt das C-Allel (Allel 1) die geschnittene Form des IL-1A-Gens mit den Fragmenten von 173 und 26 bp Länge und das T-Allel (Allel 2) die ungeschnittene Form des IL-1A-Gens mit einem 199 bp langen Fragment nach NcoI-Verdau dar. Die Allelverteilung wird in Tabelle 13 veranschaulicht.

Tab. 13: Darstellung der Allelverteilung des IL-1 alpha-Polymorphismus

		IL-1 alpha		Gesamt N
		C-Allel N (%)	T-Allel N (%)	
Gruppe	Kontrollen	731 (72.2)	281 (27.8)	1012
	Patienten	506 (71.3)	204 (28.7)	710
Gesamt		1237	485	1722

Es konnte kein Unterschied in den Häufigkeiten der Allele zwischen Patienten- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($\chi^2=0.192$, $OR=0.966$ (0.830-1.126), $df=1$, $p=0.661$).

5.1.2 Analyse der IL-1 alpha-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

Die möglichen Genotypen für den in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus an Stelle –889 des IL-1A-Gens wurden folgendermaßen beziffert:

Genotyp 1 = homozygot geschnitten = C/C (Allel 1/Allel 1)

Genotyp 2 = Heterozygotie für C/T (Allel 1/Allel 2)

Genotyp 3 = homozygot ungeschnitten = T/T (Allel 2/Allel 2)

Tabelle 14 zeigt die Genotypfrequenzen in den beiden Gruppen.

Tab. 14: Darstellung der Genotypverteilung des IL-1 alpha-Polymorphismus

	IL-1 alpha			Gesamt N
	Genotyp C/C N (%)	Genotyp C/T N (%)	Genotyp T/T N (%)	
Gruppe Kontrollen	267 (52.8)	197 (38.9)	42 (8.3)	506
Patienten	172 (48.5)	161 (45.4)	22 (6.2)	355
Gesamt	439	358	64	861

Auch hier war kein Unterschied in den Genotypfrequenzen zwischen den beiden untersuchten Gruppen erkennbar ($\chi^2=4.071$, $df=2$, $p=0.131$).

In der nächsten Tabelle (Tab. 15) wurden die T-Träger (C/T, T/T) in einer Gruppe zusammengefasst und mit den Homozygoten für das C-Allel verglichen.

Tab. 15: Darstellung der Häufigkeit der T-Träger (Genotyp 2 und 3) im Vergleich zu den homozygoten Trägern für das C-Allel (Genotyp 1) des IL-1 alpha-Gens

	IL-1 alpha		Gesamt N
	Genotyp C/C N (%)	Genotypen C/T und T/T N (%)	
Gruppe Kontrollen	267 (52.7)	239 (47.2)	506
Patienten	172 (48.5)	183 (51.5)	355
Gesamt	439	422	861

Es konnte keine Assoziation mit der Schizophrenie festgestellt werden ($\chi^2=1.555$, $OR=0.916$ (0.799-1.050), $df=1$, $p=0.212$).

Tabelle 16 zeigt nun entsprechend die Analyse der Genotypen, indem die Träger des C-Allels (C/C, C/T) in einer Gruppe zusammengefasst und somit gegen die Homozygoten für das T-Allel verglichen wurden.

Tab. 16: Darstellung der Häufigkeit der C-Träger (Genotyp 1 und 2) gegen die homozygoten Träger für das T-Allel (Genotyp 3) des IL-1 alpha-Gens

		IL-1 alpha		Gesamt N
		Genotypen C/C und C/T N (%)	Genotyp T/T N (%)	
Gruppe	Kontrollen	464 (91.7)	42 (8.3)	506
	Patienten	333 (93.8)	22 (6.2)	355
Gesamt		797	64	861

Auch hier zeigte sich kein Unterschied ($\chi^2=1.341$, OR=1.339 (0.814-2.203), df=1, p=0.247).

5.2 Analyse des Polymorphismus des IL-1 beta-Gens

Der Basenaustauschpolymorphismus von Cytosin nach Thymin an Stelle -511 des IL-1B-Gens wurde 1992 erstmals von der Arbeitsgruppe um di Giovine beschrieben und führt zu einer zusätzlichen Erkennungssequenz für die Restriktionsendonuklease Aval (di Giovine et al. 1992).

In beiden Gruppen waren die Genotypen dieses Polymorphismus innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts verteilt (Patienten: $\chi^2=0.0284$, df=2, p=0.986; Kontrollen: $\chi^2=0.0624$, df=2, p=0.969).

5.2.1 Analyse der IL-1 beta-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

Die folgende Tabelle 17 zeigt die Verteilung der Allele innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe. Dabei stellt das C-Allel (Allel 1) die geschnittene Form des IL-1B-Gens mit den Fragmenten von 190 und 109 bp Länge und das T-Allel (Allel 2) die ungeschnittene Form des IL-1B-Gens mit einem 299 bp langen Fragment nach Aval-Verdau dar.

Tab. 17: Darstellung der Allelverteilung des IL-1 beta-Polymorphismus

		IL-1 beta		Gesamt N
		C-Allel N (%)	T-Allel N (%)	
Gruppe	Kontrollen	690 (68.2)	322 (31.8)	1012
	Patienten	472 (66.5)	238 (33.5)	710
Gesamt		1162	560	1722

Es zeigten sich keine Unterschiede der allelischen Verteilung zwischen Kontrollen und schizophrenen Patienten ($\chi^2=0.551$, OR=0.949 (0.827-1.089), df=1, p=0.458).

5.2.2 Analyse der IL-1 beta-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

Die möglichen Genotypen für den in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus an Stelle -511 des IL-1B-Gens wurden folgendermaßen beziffert:

Genotyp 1 = homozygot geschnitten = C/C (Allel 1/Allel 1)

Genotyp 2 = Heterozygotie für C/T (Allel 1/Allel 2)

Genotyp 3 = homozygot ungeschnitten = T/T (Allel 2/Allel 2)

Tabelle 18 gibt die Analyse der Verteilung der Genotypen innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe wieder.

Tab. 18: Darstellung der Genotypverteilung des IL-1 beta-Polymorphismus

		IL-1 beta			Gesamt N
		Genotyp C/C N (%)	Genotyp C/T N (%)	Genotyp T/T N (%)	
Gruppe	Kontrollen	233 (46.0)	224 (44.3)	49 (9.7)	506
	Patienten	156 (43.9)	160 (45.1)	39 (11.0)	355
Gesamt		389	384	88	861

Auch hier konnte keine Assoziation zwischen den jeweiligen Genotypen und Schizophrenie festgestellt werden ($\chi^2=0.581$, df=2, p=0.748).

In Tabelle 19 wurden T-Träger (C/T, T/T) in einer Gruppe zusammengefasst und mit den Homozygoten für das C-Allel verglichen.

Tab. 19: Darstellung der Häufigkeit der T-Träger (Genotyp 2 und 3) gegen die homozygoten Träger für das C-Allel (Genotyp 1) des IL-1 beta-Gens

		IL-1 beta		Gesamt N
		Genotyp C/C N (%)	Genotypen C/T und T/T N (%)	
Gruppe	Kontrollen	233 (46.0)	273 (54.0)	506
	Patienten	156 (44.0)	199 (56.1)	355
Gesamt		389	472	861

Auch hier zeigte sich kein Unterschied ($\chi^2=0.373$, OR=0.962 (0.852-1.088), df=1, p=0.541).

In Tabelle 20 wurden dann umgekehrt die Träger des C-Allels (C/C, C/T) in einer Gruppe zusammengefasst und mit den Homozygoten für das T-Allel verglichen.

Tab. 20: Darstellung der Häufigkeit der C-Träger (Genotyp 1 und 2) gegen die homozygoten Träger für das T-Allel (Genotyp 3) des IL-1 beta-Gens

		IL-1 beta		Gesamt N
		Genotypen C/C und C/T N (%)	Genotyp T/T N (%)	
Gruppe	Kontrollen	457 (90.3)	49 (9.7)	506
	Patienten	316 (89.0)	39 (11.0)	355
Gesamt		773	88	861

Bei dieser Analyse zeigte sich ebenfalls kein Unterschied ($\chi^2=0.385$, OR=0.881 (0.592-1.313), df=1, p=0.535).

5.3 Analyse des Polymorphismus des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens

Der *variable number of tandem repeats*-Polymorphismus im Intron 2 des IL-1RN-Gens wurde erstmals 1993 von der Arbeitsgruppe um Duff beschrieben (Tarlow et al. 1993).

Die Verteilung der Genotypfrequenzen der Patienten- und Kontrollgruppe lag innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Patienten: $\chi^2=0.393$, df=2, p=0.822; Kontrollen: $\chi^2=0.134$, df=2, p=0.935).

5.3.1 Analyse der IL-1-Rezeptorantagonist-Allelverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

Tabelle 21 gibt die Verteilung der Allele innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe wieder. Die Allele des IL-1RN-VNTR wurden folgendermaßen beziffert:

Allel 1 = 4 *Repeats* (412 bp)

Allel 2 = 2 *Repeats* (240 bp)

Allel 3 = 3 *Repeats* (326 bp)

Allel 4 = 5 *Repeats* (498 bp)

Tab. 21: Darstellung der Allelverteilung des IL-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

	IL-1-Rezeptorantagonist				Gesamt N
	Allel 1 N (%)	Allel 2 N (%)	Allel 3 N (%)	Allel 4 N (%)	
Gruppe Kontrollen	721 (71.2)	273 (27)	2 (0.2)	16 (1.6)	1012
Patienten	524 (73.8)	166 (23.4)	1 (0.1)	19 (2.7)	710
Gesamt	1245	439	3	35	1722

Es zeigte sich kein Unterschied in der allelischen Verteilung zwischen Kontrollen und schizophrenen Patienten ($\chi^2=5.033$, $df=3$, $p=0.169$).

Zunächst wurden nur die häufiger vorkommenden Allele 1 und 2 in die Berechnung miteinbezogen, während die Allele 3 und 4 nicht berücksichtigt wurden (Tab. 22).

Tab. 22: Darstellung der Verteilung der Allele 1 und 2 des IL-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

	IL-1-Rezeptorantagonist		Gesamt N
	Allel 1 N (%)	Allel 2 N (%)	
Gruppe Kontrollen	708 (72.5)	268 (27.5)	976
Patienten	509 (76.0)	161 (24.0)	670
Gesamt	1217	429	1646

Es zeigte sich kein Unterschied in den Häufigkeiten der Allele 1 und 2 zwischen Kontrollpersonen und schizophrenen Patienten ($\chi^2=2.424$, $OR=1.143$ (0.965-1.353), $df=1$, $p=0.119$).

Um alle Allele zu berücksichtigen, wurde nun die Häufigkeit des Allels 1 im Vergleich zu den restlichen Allelen 2, 3 und 4 berechnet (Tab. 23).

Tab. 23: Darstellung der Häufigkeit des Allels 1 des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens gegen die Frequenz der restlichen Allele 2, 3 und 4

		IL-1-Rezeptorantagonist:		Gesamt N
		Allele 1, 3 und 4 N (%)	Allel 2 N (%)	
Gruppe	Kontrollen	721 (71.2)	291 (28.8)	1012
	Patienten	524 (73.8)	186 (26.2)	710
Gesamt		1245	477	1722

Es zeigten sich keine Unterschiede in den Häufigkeiten des Allels 1 gegen die Allele 2, 3 und 4 zwischen Kontrollpersonen und schizophrenen Patienten ($\chi^2=1.363$, OR=1.098 (0.938-1.284), df=1, p=0.243).

Tabelle 24 zeigt entsprechend die Häufigkeit des Allels 2 im Vergleich zu den restlichen Allelen 1, 3 und 4.

Tab. 24: Darstellung der Häufigkeit des Allels 2 des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens gegen die Frequenz der restlichen Allele 1, 3 und 4

		IL-1-Rezeptorantagonist		Gesamt N
		Allele 1, 3 und 4 N (%)	Allel 2 N (%)	
Gruppe	Kontrollen	739 (73.0)	273 (27.0)	1012
	Patienten	544 (76.6)	166 (23.4)	710
Gesamt		1283	439	1722

Es zeigte sich ein Trend bezüglich eines selteneren Vorkommens des Allels 2 in der Schizophrenen- im Vergleich zur Kontrollgruppe ($\chi^2=2.841$, OR=1.154 (0.976-1.364), df=1, p=0.08).

5.3.2 Analyse der IL-1-Rezeptorantagonist-Genotypverteilung zwischen Patienten- und Kontrollgruppe

In Tabelle 25 ist die Verteilung der Genotypen innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe dargestellt. Die möglichen Genotypen des IL-1RN-VNTR wurden folgendermaßen beziffert:

Genotyp 1 = homozygot für Allel 1 = 1/1 (412 bp/ 412 bp)

Genotyp 2 = heterozygot = 1/2 (412 bp/240 bp)

Genotyp 3 = homozygot für Allel 2 = 2/2 (240 bp/ 240 bp)

Genotyp 4 = heterozygot = 1/3 (412 bp/326 bp)

Genotyp 5 = heterozygot = 1/4 (412 bp/498 bp)

Genotyp 6 = heterozygot = 2/4 (240 bp/498 bp)

Genotyp 7 = heterozygot = 2/3 (240 bp/326 bp)

Tab. 25: Darstellung der Genotypverteilung des IL-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

	IL-1-Rezeptorantagonist							Gesamt N
	Genotyp 1/1 N (%)	Genotyp 1/2 N (%)	Genotyp 2/2 N (%)	Genotyp 1/3 N (%)	Genotyp 1/4 N (%)	Genotyp 2/4 N (%)	Genotyp 2/3 N (%)	
Gruppe Kontrollen	260 (51.4)	188 (37.2)	40 (7.9)	1 (0.2)	12 (2.4)	4 (0.8)	1 (0.2)	506
Patienten	196 (55.2)	117 (33.0)	22 (6.2)	1 (0.3)	14 (3.9)	5 (1.4)	0 (0.0)	355
Gesamt	456	305	62	2	26	9	1	861

Es konnte keine Assoziation zwischen den jeweiligen Genotypen und Schizophrenie festgestellt werden ($\chi^2=5.694$, $df=6$, $p=0.458$).

Für die Untersuchung der Häufigkeitsverteilung wurden zunächst die selteneren Genotypen 4=1/3, 5=1/4, 6=2/4, 7=2/3 ausgeschlossen (Tab. 26). Die verbleibenden 488 Kontrollen und 335 Patienten wurden miteinander verglichen.

Tab. 26: Darstellung der Verteilung der Genotypen 1 – 3 des IL-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

	IL-1-Rezeptorantagonist			Gesamt N
	Genotyp 1/1 N (%)	Genotyp 1/2 N (%)	Genotyp 2/2 N (%)	
Gruppe Kontrollen	260 (53.3)	188 (38.5)	40 (8.2)	488
Patienten	196 (55.2)	117 (33.0)	22 (6.6)	335
Gesamt	456	305	62	823

Eine Assoziation zwischen den für Allel 1 homozygoten Individuen gegenüber den Trägern mindestens eines Allels 2 mit der Diagnose Schizophrenie war nicht nachweisbar ($\chi^2=2.375$, $df=2$, $p=0.305$).

Tabelle 27 stellt die Häufigkeiten des Genotyps 1=1/1 im Vergleich zu den Genotypen 2=1/2; 3=2/2; 4=1/3; 5=1/4 in der Kontroll- und Patientengruppe dar.

Tab. 27: Darstellung der Häufigkeit der Homozygoten für Allel 1 (Genotyp 1) gegen die Träger der Genotypen 2 - 5 des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens

		IL-1-Rezeptorantagonist		Gesamt N
		Genotyp 1 N (%)	Genotypen 2- 5 N (%)	
Gruppe	Kontrollen	260 (53.3)	228 (46.7)	488
	Patienten	196 (58.5)	139 (41.5)	335
Gesamt		456	367	823

Die Genotypfrequenzen unterschieden sich nicht zwischen Patienten- und Kontrollgruppe ($\chi^2=2.198$, OR=1.126 (0.961-1.320), df=1, p=0.138).

In Tabelle 28 wird nun die Analyse der Frequenzen des Genotyps 3=2/2 gegen die Genotypen 1=1/1; 2=1/2; 4=1/3; 5=1/4 in den beiden untersuchten Gruppen gezeigt.

Tab. 28: Darstellung der Häufigkeit der Homozygoten für Allel 2 (Genotyp 3) gegen die Träger für die Genotypen 1 – 2 und 4 - 5 des IL-1-Rezeptorantagonist-Gens

		IL-1-Rezeptorantagonist		Gesamt N
		Genotypen 1 – 2 und 4 – 5 N (%)	Genotyp 3 N (%)	
Gruppe	Kontrollen	448 (53.3)	40 (46.7)	488
	Patienten	313 (58.5)	22 (41.5)	335
Gesamt		761	62	823

Auch hier zeigte sich keine Assoziation zwischen den für Allel 2 homozygoten Individuen gegenüber den Trägern der Genotypen 1 - 2 und 4 - 5 und der Diagnose Schizophrenie ($\chi^2=0.757$, OR=1.248 (0.756-2.061), df=1, p=0.384).

5.4 Analyse des Kopplungsungleichgewichts zwischen den untersuchten Polymorphismen des IL-1-Genkomplexes

Zunächst wurde das Kopplungsungleichgewicht für die möglichen Paare an untersuchten Polymorphismen der 3 Genloci des IL-1-Genkomplexes in der Patienten- und Kontrollgruppe untersucht. Dies wird in Tabelle 29 für die Kontrollgruppe und in Tabelle 30 für die Patientengruppe dargestellt.

Tab. 29: Paarweise Untersuchung des Kopplungsungleichgewichts zwischen dem IL-1A (-889) –Polymorphismus, dem IL-1B (-511) –Polymorphismus und dem VNTR-Polymorphismus des IL-1RN in der Kontrollgruppe.

Polymorphismus	IL-1B	IL-1RN	IL-1A
IL-1B	–	$\chi^2=58.086$; p=0.000	$\chi^2=7.454$; p=0.006
IL-1RN	$\chi^2=58.086$; p=0.000	–	$\chi^2=9.093$; p=0.028
IL-1A	$\chi^2=7.454$; p=0.006	$\chi^2=9.093$; p=0.028	–

Die untersuchten Polymorphismen befinden sich in der Kontrollgruppe alle im Kopplungsungleichgewicht, wobei die Polymorphismen des IL-1RN- und des IL-1B-Gens im ausgeprägtesten Kopplungsungleichgewicht stehen (p=0.000).

Tab. 30: Paarweise Untersuchung des Kopplungsungleichgewichts zwischen dem IL-1A (-889) –Polymorphismus, dem IL-1B (-511) –Polymorphismus und dem VNTR-Polymorphismus des IL-1RN in der Patientengruppe.

Polymorphismus	IL-1B	IL-1RN	IL-1A
IL-1B	–	$\chi^2=16.925$; p=0.001	$\chi^2=1.949$; p=0.163
IL-1RN	$\chi^2=16.925$; p=0.001	–	$\chi^2=7.416$; p=0.06
IL-1A	$\chi^2=1.949$; p=0.163	$\chi^2=7.416$; p=0.06	–

In der Patientengruppe stehen die Polymorphismen des IL-1RN- und des IL-1B-Gens im ausgeprägtesten Kopplungsungleichgewicht (p=0.001), während die Polymorphismen des IL-1A- und des IL-1B-Gens keine signifikante Kopplung zeigen. Auch das Paar IL-1A-IL-1RN zeigt nur einen Trend zur Kopplung.

5.5 Analyse der Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes

Um eine Aussage über die Häufigkeit der Kombinationen der Allele des C-889T-Basenaustauschpolymorphismus des IL-1A-Gens, des C-511T-Basenaustauschpolymorphismus des IL-1B-Gens und des 86 bp-VNTR-Polymorphismus des IL-1RN-Gens zu erhalten, erfolgte eine Haplotypenanalyse dieser Kombinationen.

Die geschätzten Haplotypen für die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes wurden folgendermaßen beziffert (Tab. 31):

Tab. 31: Bezifferung der geschätzten Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes

Haplotyp	Kombination der Allele IL-1B/IL-1RN/IL-1A
1	111 (C/4 Repeats (412 bp)/C)
2	112 (C/4 Repeats (412 bp)/T)
3	121 (C/2 Repeats (240 bp)/C)
4	122 (C/2 Repeats (240 bp)/T)
5	131 (C/3 Repeats (326 bp)/C)
6	141 (C/5 Repeats (498 bp)/C)
7	142 (C/5 Repeats (498 bp)/T)
8	211 (T/4 Repeats (412 bp)/C)
9	212 (T/4 Repeats (412 bp)/T)
10	221 (T/2 Repeats (240 bp)/C)
11	222 (T/2 Repeats (240 bp)/T)
12	241 (T/5 Repeats (498 bp)/C) (nur bei den Schizophrenen)

In dem untersuchten Kollektiv wurden insgesamt 12 Haplotypen geschätzt, wobei der Haplotyp 12 lediglich in der Gruppe der schizophrenen Patienten vorkam.

Des weiteren haben wir untersucht, ob Haplotypen des IL-1-Genkomplexes mit Schizophrenie assoziiert sein könnten. Dazu wurde die Verteilung der Haplotypen innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe analysiert (Tab.32).

Tab. 32: Darstellung der Haplotypverteilung der untersuchten Polymorphismen des IL-1-Genkomplexes

Haplotyp (Allelkombination IL-1B/IL-1RN/IL-1A)	N (%)	Gruppe		Gesamt N (%)
		Kontrollen	Patienten	
1 (111)	N (%)	184 (36.4)	125 (35.2)	309 (35.9)
2 (112)	N (%)	92 (18.2)	65 (18.3)	157 (18.2)
3 (121)	N (%)	44 (8.7)	34 (9.6)	78 (9.1)
4 (122)	N (%)	16 (3.2)	6 (1.7)	22 (2.6)
5 (131)	N (%)	1 (0.2)	1 (0.3)	2 (0.2)
6 (141)	N (%)	6 (1.2)	3 (0.8)	9 (1.0)
7 (142)	N (%)	2 (0.4)	2 (0.6)	4 (0.5)
8 (211)	N (%)	62 (12.3)	52 (14.6)	114 (13.2)
9 (212)	N (%)	23 (4.5)	20 (5.6)	43 (5.0)
10 (221)	N (%)	68 (13.4)	35 (9.9)	103 (12.0)
11 (222)	N (%)	8 (1.6)	8 (2.3)	16 (1.9)
12 (241)	N (%)	0 (0.0)	4 (1.1)	4 (0.5)
Gesamt	N	506	355	861

Es konnte keine Assoziation zwischen den jeweiligen Haplotypen und Schizophrenie festgestellt werden ($\chi^2=12.292$, $df=11$, $p=0.342$). Allerdings konnte in der Gruppe der Schizophrenen der Haplotyp 12 (241) nachgewiesen werden, der in dem Kontrollkollektiv nicht vorkam. Dieser war jedoch so selten ($N = 4$), dass sich statistisch kein Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe zeigte.

6 Diskussion

6.1 Inhaltliche Interpretation der Ergebnisse

Für die vorangestellte Hypothese dieser Arbeit, dass Polymorphismen und Haplotypen von Genen des Interleukin-1-Genkomplexes mit Schizophrenie assoziiert sein könnten, lassen sich aufgrund der Untersuchungsergebnisse folgende Aussagen treffen:

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Assoziation zwischen den untersuchten Polymorphismen der Gene des Interleukin-1 alpha und -beta mit der Diagnose Schizophrenie festgestellt werden. Bei dem untersuchten Polymorphismus des IL-1RN konnte ein Trend zur Schizophrenie gezeigt werden. Des Weiteren zeigten sich keine Unterschiede in den Häufigkeiten von Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes zwischen Patienten- und Kontrollgruppe.

6.1.1 Ergebnisse zum Interleukin-1 alpha-Polymorphismus

Zunächst wird auf die funktionelle Relevanz des Interleukin-1 alpha-Polymorphismus eingegangen.

6.1.1.1 Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1 alpha-Gens

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, liegt der untersuchte Polymorphismus im Promotorbereich. Daher ist grundsätzlich ein regulatorischer Einfluss auf die Proteinexpression denkbar. So konnte bei der Analyse verschiedener Mutationen im Promotorbereich gezeigt werden, dass sie zu erheblichen Veränderungen bei der Genproduktsynthese führen können (Passarge 1994). Eine *in vitro*-Transfektionsstudie von Dominici et al. (2001), in der mittels eines Luciferase-Reporter-Assays die Aktivität des Promotors des IL-1A-Gens untersucht wurde, konnte einen signifikanten (5fachen) Anstieg der transkriptionellen Aktivität des T/T-Genotyps an Position –889 im Vergleich zum C/C-Genotyp feststellen. Außerdem wurde ein leichter Anstieg der IL-1 α -mRNA und der Proteinspiegel im Plasma beobachtet. Aufgrund dieser Studie wurden zwei mögliche Mechanismen postuliert,

die zu den unterschiedlichen Aktivitäten der Promotor-Allele führen könnten: entweder könnten die unterschiedlichen Allele eine veränderte Affinität zu *trans*-aktiven Faktoren in dieser Promotorregion bewirken oder der Basenaustausch führt zu einer veränderten Sekundärstruktur der DNA und beeinflusst somit die Bindung der Transkriptionsfaktoren. Des Weiteren gab eine computergestützte Analyse (MatInspector-Programm Version 2.2 über die TRANSFAC-Datenbank) Hinweise darauf, dass bei Anwesenheit des T-Allels an Position –889 eine potentielle Bindungsstelle für den Transkriptionsfaktor Skn-1 erzeugt wird. Es handelt sich hierbei um einen Transkriptionsfaktor, der die Transkription über den Koaktivator des p300/CBP-*responsive element*-bindenden (CBP) Proteins aktiviert (Blackwell et al. 1994). Diese Datenlage deutet darauf hin, dass Träger des IL-1A-T/T-Genotyps mehr IL-1 α -mRNA als Träger des IL-1A-C/C-Genotyps produzieren (Dominici et al. 2002). Ein weiterer interessanter Befund ist ein verstärkender Effekt auf höhere Plasmaspiegel des IL-1 β -Proteins bei Individuen, die homozygot für das T-Allel des IL-1A und gleichzeitig Träger des T-Allels des IL-1B-Gens sind (Hulkkonen et al. 2000). Somit deuten die bisherigen Befunde insgesamt darauf hin, dass das T-Allel des IL-1A dasjenige mit der höheren Produktionsrate ist.

6.1.1.2 Vergleich des Ergebnisses zum IL-1 alpha-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung

Es konnte keine Assoziation zwischen dem untersuchten Basenaustauschpolymorphismus (C–889T) des IL-1A-Gens und Schizophrenie nachgewiesen werden.

Bisher gibt es nur wenige Studien, die eine Assoziation zwischen Polymorphismen des IL-1A (-889) –Gens und Schizophrenie untersucht haben. Eine finnische (Katila et al. 1999) sowie eine chinesische (Chowdari et al. 2001) Studie konnten keine Assoziation zwischen dem Basenaustauschpolymorphismus des IL-1A-Gens an Position –889 und Schizophrenie nachweisen und stehen somit im Einklang mit dem Ergebnis der vorliegenden Arbeit. Insgesamt deutet die fehlende Assoziation des untersuchten IL-1A (-889)-Polymorphismus darauf hin, dass er keine relevante Rolle in der Pathogenese der Schizophrenie spielt. Es wäre allerdings möglich, dass dieser Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht mit einem Polymorphismus eines nahe benachbarten Gens steht, welches einen direkten Effekt auf das

Entstehungsrisiko der Schizophrenie hat. Darüber könnte eine Haplotypenanalyse des Interleukin-1-Genkomplexes Aufschluss geben. Auf diese wird nach der Diskussion der Einzelpolymorphismen eingegangen.

6.1.2 Ergebnisse zum Interleukin-1 beta-Polymorphismus

Es konnte auch keine Assoziation zwischen dem untersuchten Basenaustauschpolymorphismus (C-511T) des IL-1B-Gens und Schizophrenie nachgewiesen werden.

6.1.2.1 Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1 beta-Gens

Der untersuchte Polymorphismus liegt ebenfalls im Promotorbereich. Daher ist grundsätzlich ein regulatorischer Einfluss auf die Proteinexpression denkbar. Es konnte zwar für den IL-1B (-511) -Polymorphismus *in vitro* kein Effekt auf die Proteinexpression nachgewiesen werden (El Omar et al. 2000), doch steht das T-Allel dieses Polymorphismus mit dem C-Allel eines weiteren Polymorphismus an Position -31 dieses Gens im nahezu kompletten Kopplungsungleichgewicht ($D' = \text{ca. } 0.98$). Für das C-Allel des Basenaustauschpolymorphismus an Position -31 konnte ein verstärkender Effekt auf die Transkriptionsrate nachgewiesen werden, so dass es sehr wahrscheinlich ist, dass der in dieser Arbeit untersuchte Polymorphismus über das Kopplungsungleichgewicht mit dem C-Allel an Position -31 die Transkriptionsrate beeinflusst und so zu einer erhöhten Expression des IL-1 β -Proteins führt (El Omar et al. 2000).

Außerdem konnte eine Studie nachweisen, dass Träger, die homozygot für das T-Allel des IL-1A (-889) -Gens und gleichzeitig T-Allel-Träger des IL-1B (-511) -Gens waren, signifikant höhere Plasmaspiegel an IL-1 β -Protein hatten. Dementsprechend gibt es auch Hinweise, dass diese Genotypen häufiger gemeinsam vererbt werden ($p < 0.0001$) (Hulkkonen et al. 2000).

6.1.2.2 Vergleich des Ergebnisses zum IL-1 beta-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung

Wegen der beschriebenen immunologischen Veränderungen bei schizophrenen Patienten und dem möglicherweise bedeutsamen Einfluss des IL-1 beta auf die Hirnentwicklung, das Immunsystem, den Metabolismus von Neurotransmittern sowie die Vermittlung von Informationen zwischen Zellen des peripheren Immunsystems und des zentralen Nervensystems stellt das IL-1 β -Gen ein interessantes Kandidatengen für die Schizophrenie dar. Daher wurden Polymorphismen des Interleukin-1 beta-Gens auf eventuelle Assoziation mit Schizophrenie untersucht (Bocchio Chiavetto et al. 2002; Chowdari et al. 2001; Katila et al. 1999; Laurent et al. 1997; Meisenzahl et al. 2001; Papiol et al. 2002; Rosa et al. 2002; Rosa et al. 2003; Tatsumi et al. 1997; Yang et al. 2003; Zanardini et al. 2003). Diese werden in folgender Tabelle (Tab. 33) zusammengefasst.

Tab. 33: Assoziationsstudien zum Polymorphismus des IL-1 beta-Gens an Position -511 mit Schizophrenie

IL-1 beta (-511)-Polymorphismus	Literatur	Population
Assoziation mit C-Allel	(Zanardini et al. 2003)	Italiener
	(Papiol et al. 2002)	Spanier
	(Katila et al. 1999) (Trend)	Finnen
Assoziation mit T-Allel	(Rosa et al. 2002; Rosa et al. 2003)	Spanier
Keine Assoziation	vorliegende Arbeit	Deutsche
	(Bocchio Chiavetto et al. 2002)	Italiener
	(Meisenzahl et al. 2001)	Deutsche
	(Chowdari et al. 2001)	Chinesen
	(Tatsumi et al. 1997)	Japaner

Die Mehrzahl der Assoziationsstudien zeigte keinen Zusammenhang des Polymorphismus an Position -511 des IL-1B-Gens mit Schizophrenie, so dass diese Befunde das Ergebnis der vorliegenden Arbeit bestätigen (Bocchio Chiavetto et al. 2002; Chowdari et al. 2001; Meisenzahl et al. 2001; Tatsumi et al. 1997). Eine in einer finnischen Studie von Katila et al. (1999) gefundene trendmäßige Assoziation des C-Allels des Interleukin-1 beta (IL-1B) (-511), die allerdings an einer statistisch nicht aussagekräftigen Fallzahl durchgeführt wurde (n = 50 Schizophrene), konnte in

einer spanischen Studie von Papiol et al. (2002) sowie einer italienischen Studie von Zanardini et al. (2003) repliziert werden, die sogar eine signifikante Assoziation nachwies. Außerdem konnte die spanische Untersuchung von Papiol et al. (2002) eine Assoziation des Haplotyps IL-1B (-511) C-Allel/IL-1RN Allel 2 bei den Schizophrenen feststellen, obwohl bei der Untersuchung des Einzelpolymorphismus des IL-1RN-Gens kein Zusammenhang festzustellen war. Dieser Befund deutet auf den Einfluss des Zusammenspiels benachbarter Gene auf das Entstehungsrisiko dieser polygenen Erkrankung hin.

Die einzige Untersuchung, die eine Assoziation des T-Allels, also des *high activity*-Allels des IL-1B, beobachten konnte, war eine spanische Studie von Rosa et al. (2002, 2003). Bei Vergleich der Schizophrenen mit den Kontrollen konnte zunächst nur ein Trend festgestellt werden. Interessanterweise wurde nach Unterteilung der Schizophrenen in verschiedene Subtypen eine signifikante Assoziation mit einem Subtyp für depressive Symptome nachgewiesen (Rosa et al. 2002; Rosa et al. 2003). Dieser Befund spiegelt die Heterogenität der schizophrenen Psychosen wider. Das Ergebnis ist jedoch mit Vorbehalt zu betrachten, da die Stichproben der Subtypen zahlenmäßig geringer und so die statistische Aussagekraft vermindert war.

Die Diskrepanz der Ergebnisse der Assoziationsstudien zum IL-1B-Polymorphismus mit Schizophrenie könnte sich wiederum aufgrund der unterschiedlichen ethnischen Gruppen ergeben. Auch der heterogene Charakter der Schizophrenie könnte für die unterschiedlichen Ergebnisse ein Einflussfaktor sein. Daher wäre es sinnvoll, Subtypen der Schizophrenie mit einer statistisch aussagekräftigen Stichprobengröße zu bilden und auf Assoziation mit Schizophrenie zu untersuchen. Dies wäre Gegenstand weiterer Forschung. Zusammenfassend deutet die Mehrzahl der Befunde auf keine Beteiligung des Polymorphismus des IL-1B (-511) -Gens in der Pathogenese der Schizophrenie hin. Allerdings sollten die Genpolymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes keinesfalls einzeln bewertet werden, da sie in komplexer Wechselwirkung untereinander stehen könnten. Dies wird im folgenden Kapitel näher erläutert.

6.1.3 Ergebnisse zum Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Polymorphismus

Es wurde also ein trendmäßig selteneres Vorkommen des IL-1RN Allel 2 (2 Wiederholungen = 240 bp) im Vergleich zu den restlichen Allelen 1 (4

Wiederholungen = 412 bp), 3 (3 Wiederholungen = 326 bp) und 4 (5 Wiederholungen = 498 bp) bei den schizophrenen Patienten im Vergleich zu den Kontrollen beobachtet. Bei der Untersuchung der Genotypverteilung des IL-1RN zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe war keine Assoziation mit der Diagnose Schizophrenie nachweisbar.

6.1.3.1 Funktionelle Relevanz des untersuchten Polymorphismus des Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Gens

Der in dieser Arbeit untersuchte *Tandem Repeat*-Polymorphismus im 2. Intron des IL-1RN-Gens ist von besonderem Interesse, da der wiederholte Sequenzabschnitt 3 potentielle Bindungsstellen, z.B. für Transkriptionsfaktoren, enthält. Die Anzahl der Wiederholungen könnte somit einen regulativen Einfluss auf die Transkriptionsrate des Gens und letztlich auf die Produktion des IL-1RA-Proteins haben (Tarlow et al. 1993). Somit ist es durchaus vorstellbar, dass auch das Allel 2 des IL-1RN, welches in der vorliegenden Arbeit trendmäßig seltener bei den Schizophrenen repräsentiert war, eine unterschiedliche Transkription des IL-1RA-Proteins und anderer Zytokine zur Folge haben könnte.

6.1.3.2 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf das Gleichgewicht der pro- und antiinflammatorischen Zytokine

Verschiedene Studien haben den Einfluss des IL-1RN-Genotyps auf die Produktion von IL-1RA-Protein untersucht:

Sowohl *in vivo*- (Barton et al. 2003; Hurme und Santtila 1998; Mandrup-Poulsen et al. 1994; Santtila et al. 1998; Sciacca et al. 1999) als auch *in vitro*- (Danis et al. 1995; Wilkinson et al. 1999) Studien haben gezeigt, dass das IL-1RN Allel 2 mit einer erhöhten Produktion von Interleukin-1RA-Protein einhergeht.

Es wird vermutet, dass eine Dysregulation zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen bei der Entstehung der Schizophrenie eine Rolle spielen könnte.

In der vorliegenden Arbeit war die Häufigkeit des Allels 2 des IL-1RN-Gens bei den Schizophrenen geringer im Vergleich zu den Kontrollen. In dieser Untersuchung wurde also ein Trend in Richtung eines selteneren Vorkommens des IL-1RN Allel 2 in

der Schizophreniegruppe, welches mit einer erhöhten IL-1RA-Produktion einhergeht, festgestellt. Es ist daher vorstellbar, dass eine dadurch entstandene Dysregulation zwischen den pro (IL-1 alpha und -beta) - und antiinflammatorischen (IL-1RA) Interleukinen zugunsten des IL-1 alpha und -beta die Suszeptibilität gegenüber Schizophrenie erhöht und das seltener vorkommende Allel 2 des IL-1RN-Gens bei den Schizophrenen dabei eine Rolle spielt. Dem Allel 2 des IL-1RN würde dann eine protektive Rolle gegenüber der Entstehung der Schizophrenie zukommen. Die exakten Mechanismen, über die der IL-1RA seine Wirkung entfaltet, sind jedoch noch nicht vollständig geklärt.

Möglicherweise hat jedoch das verschobene Gleichgewicht der Zytokine zugunsten der proinflammatorischen Interleukine einen pathologischen Einfluss auf die Hirnentwicklung, auf das Immunsystem, auf den Verlauf infektiöser Erkrankungen, auf den Verlauf von Autoimmunerkrankungen sowie die IL-1-Signaltransduktion auf molekularer Ebene im Rahmen der Entstehung schizophrener Psychosen. Dies soll im Folgenden näher erläutert werden.

6.1.3.2.1 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf die Hirnentwicklung im Rahmen schizophrener Psychosen

Der IL-1RA ist als natürlich vorkommender endogener Antagonist von IL-1 in der Lage, sämtliche Wirkungen von IL-1 zu blockieren.

Als Bestandteil des Interleukin-1-Komplexes ist es durchaus denkbar, dass der IL-1RA möglicherweise auch an der Hirnentwicklung beteiligt ist. Allerdings sind diesbezüglich noch keine genaueren Untersuchungen bekannt. Experimente mit *knockout*-Mäusen für das Interleukin-1RN-Gen geben jedoch Hinweise auf eine essentielle Rolle des Gens in der allgemeinen physiologischen Entwicklung: die *knockout*-Mäuse zeichneten sich im Vergleich zu den Wildtypen durch ein vermindertes Körpergewicht aus (Hirsch et al. 1996; Horai et al. 1998).

Außerdem konnte beobachtet werden, dass das IL-1RA-Protein bereits im menschlichen Fruchtwasser in einer höheren Konzentration als in den anderen maternalen Körperflüssigkeiten vorlag (Romero et al. 1992), wobei die höchste Konzentration während des 3. Trimesters der Schwangerschaft gefunden wurde. Es

wird vermutet, dass der IL-1RA hauptsächlich aus dem Urin des Fötus stammt (Romero et al. 1994). Dieser Befund weist ebenfalls auf die Rolle des IL-1RA in der allgemeinen fötalen Entwicklung hin. Des Weiteren gibt es Hinweise auf seine Anwesenheit im Gehirn: IL-1RA-mRNA wurde mittels *in situ*-Hybridisierung bzw. RT-PCR im Hypothalamus, Hippocampus und Cerebellum nachgewiesen (Hosoi et al. 2002; Licinio et al. 1991).

Die Rolle des IL-1RA in der prä-, peri- und postnatalen Entwicklung des ZNS scheint darin zu liegen, IL-1 alpha und -beta an der Überstimulation ihrer Rezeptoren im Gehirn zu hindern (Ericsson et al. 1995; Wong und Licinio 1994; Yabuuchi et al. 1994a) und damit eine überschießende proinflammatorische Reaktion zu vermeiden. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist IL-1 zwar an der neuronalen Regeneration und Plastizität beteiligt (Merrill 1992) und zeigt insofern auch eine neuroprotektive Rolle in der Hirnentwicklung. Diese ist allerdings nur bis zu einer gewissen (picomolaren) Konzentration zu beobachten (Strijbos und Rothwell 1995b). In weitaus höheren Konzentrationen im nanomolaren Bereich kann IL-1 auch schädigende Einflüsse auf die Entwicklung des ZNS haben (Strijbos und Rothwell 1995a). Dies erfolgt über verschiedene Mechanismen wie erhöhte zelluläre Calciumkonzentration, Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) (Lee et al. 1993) und anderen freien Radikalen (Sullivan et al. 1989) sowie Aktivierung des *Corticotropin Releasing Factors* (CRF). So konnte im Rattenmodell eine erhöhte Expression der IL-1 β -mRNA infolge ischämischer Insulte (Buttini et al. 1994; Liu et al. 1993; Minami et al. 1992; Yabuuchi et al. 1994b), die z.B. durch ein Geburtstrauma oder Schäden in der frühen Kindheit verursacht wurden, infolge lokaler Hirnverletzung (Woodrooffe et al. 1991) und Infusion von Exzitotoxinen (Minami et al. 1990) nachgewiesen werden, was den neuronalen Zelltod zur Folge hatte. Unter solchen Bedingungen wurde auch ein Anstieg der Expression der IL-1 α -mRNA beobachtet, allerdings in geringerem Ausmaß. In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass die zentrale oder systemische Gabe von IL-1RA, dem natürlichen Antagonisten des IL-1, das Ausmaß von ischämischen, exzitotoxischen und traumatischen Hirnverletzungen an der Ratte um 50 - 70% reduzieren konnte (Loddick und Rothwell 1996; Stroemer und Rothwell 1997). Dies ging mit einer erhöhten Anzahl an überlebenden Neuronen und verbesserter neurologischer Funktion einher (Garcia et al. 1995; Relton et al. 1996). Eine beeinträchtigte Hirnentwicklung wird auch in der Pathogenese der Schizophrenie diskutiert. Dabei wird der Verschiebung des Gleichgewichts zwischen

pro- und antiinflammatorischen Interleukinen eine besondere Bedeutung beigemessen (Katila et al. 1999).

Dasselbe Allel, das also zu einer erhöhten Expression des IL-1RA führt, lag in den vorliegenden Ergebnissen seltener bei den Schizophrenen vor. Die daraus abgeleitete Verschiebung des Gleichgewichts zugunsten der proinflammatorischen Interleukine 1 alpha und beta könnte ebenfalls zu schädigenden Einflüssen auf die Hirnentwicklung der untersuchten Schizophrenen führen, und das Allel 2 des IL-1RN-Gens über diesen Mechanismus eine Rolle spielen.

Diese Vermutung wird durch den Befund unterstützt, dass sowohl Protein- als auch mRNA-Konzentrationen von IL-1RA an *post mortem*-Hirnen Schizophrener im Bereich des präfrontalen Cortex (PFC) signifikant (40%) vermindert waren, während die IL-1 β -Konzentrationen unverändert blieben (Toyooka et al. 2003). Dabei zeigte sich keine Korrelation zwischen präfrontalen IL-1RA-Konzentrationen und der antipsychotischen Medikation. Da eine chronische Behandlung mit Antipsychotika eher mit einer positiven Regulation der IL-1RA-Produktion einhergeht (Song et al. 2000; Suzuki et al. 1996), ist es unwahrscheinlich, dass die beobachtete IL-1RA-Reduktion in Zusammenhang mit der Medikation stand. Der PFC ist ein Bereich, der v.a. mit kognitiven Dysfunktionen der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht wird (Fletcher et al. 1998; Seidman et al. 1994; Stone et al. 1998). In mehreren bildgebenden und *post mortem*-Arbeiten konnte gezeigt werden, dass dessen Volumen bei den Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollen verkleinert zu sein scheint (Andreasen et al. 1986; Schlaepfer et al. 1994; Shelton et al. 1988). Des Weiteren gibt es Hinweise auf abnorme inflammatorische Reaktionen im PFC schizophrener Patienten, die sich im Vergleich zu Kontrollen in einer verstärkten Aktivierung von Mikroglia, durch proinflammatorisches IL-1 ausgelöst, äußern (Radewicz et al. 2000). Mikroglia spielen eine wichtige Rolle in der neuronalen Migration sowie der Synapsenbildung und damit in der Hirnentwicklung. Eine durch zu viel proinflammatorisches IL-1 ausgelöste Überaktivierung könnte zu glialen Veränderungen und folglich zu Hirnentwicklungsstörungen bei Schizophrenen führen. In einer weiteren Studie von Müller et al. (2002) konnte eine stärkere Reduktion von psychotischen Symptomen bei Schizophrenen durch die Gabe des antiinflammatorisch wirkenden Arzneistoffes Celecoxib, eines selektiven Cyclooxygenase (COX) -2-Hemmers, der in Kombination mit Risperidon verabreicht wurde, im Vergleich zu einer Monotherapie mit Risperidon beobachtet werden (Müller

et al. 2002). Der exakte Mechanismus, über den Celecoxib die antipsychotische Wirkung entfaltet, ist allerdings noch nicht eindeutig geklärt.

Insgesamt weist der Befund der *Downregulation* des IL-1RA an den *post mortem*-Hirnen Schizophrener auf eine immunologische Pathogenese in den Hirnen dieser Patienten hin, die zu einer beeinträchtigten Hirnentwicklung führen könnte. Der in dieser Arbeit untersuchte Polymorphismus des IL-1RN, der vermutlich zu einer Verschiebung des Gleichgewichts in Richtung des proinflammatorischen IL-1 bei den untersuchten Schizophrenen führt, könnte dabei eine Rolle spielen.

Veränderungen immunologischer Parameter bei Schizophrenen sind nicht nur im Gehirn, sondern auch in der Peripherie zu finden. Dies wird im nächsten Kapitel dargestellt.

6.1.3.2.2 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf das Immunsystem im Rahmen schizophrener Psychosen

In verschiedenen Studien wurden wiederholt veränderte immunologische Parameter wie Zytokinkonzentrationen oder Lymphozytenpopulationen bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu Kontrollen nachgewiesen (Ganguli et al. 1987; Katila et al. 1994; Kirch 1993; Sasaki et al. 1994; Wright und Murray 1993; Yolken und Torrey 1995).

Bezüglich der IL-1RA-Konzentration allerdings scheint der Effekt im Gehirn und in der Peripherie Schizophrener nicht gleichsinnig zu sein. Während die IL-1RA-Konzentration im Gehirn Schizophrener erniedrigt ist (Toyooka et al. 2003), weisen Untersuchungen des Plasma- und Serumspiegels behandelter (Maes et al. 2000) und unbehandelter (Akiyama 1999; Maes et al. 1996; Maes et al. 1997) Schizophrener wiederholt auf eine höhere Konzentration des Proteins im Vergleich zu Kontrollen hin. Dabei zeigte sich in der Studie von Katila et al. (1994) eine signifikante Korrelation zwischen dem Serumspiegel des IL-1RA und der Ausprägung der Positivsymptomatik. Da jedoch die Serum- und Plasmaspiegel des IL-1 beta bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollen auch erhöht zu sein scheinen (Katila et al. 1994; Sirota et al. 1995), ist bei diesen Patienten ebenfalls von einer Aktivierung des Immunsystems auszugehen, und die Befunde im Gehirn und in der Peripherie stellen somit nicht unbedingt einen Widerspruch dar. Außerdem sollten gerade Befunde von

Serum- und Plasmakonzentrationen der Interleukine mit besonderer Zurückhaltung betrachtet werden, da diese besonders anfällig für Störfaktoren wie Alter, Medikation, Ernährung, Infektionen etc. sind (Haack et al. 1999). Auch unterschiedliche Vorgehensweisen in der Aufbereitung des Blutes (Serum oder Plasma), unterschiedliche Krankheitsstadien der Patienten (akute, chronische oder remittierende Phase) sowie die Vielfalt an Immunoassays für Zytokine könnten mögliche Einflussfaktoren auf die gemessene Zytokinkonzentration sein (Lin et al. 1998; Naudin et al. 1996). So kann beispielsweise eine Koagulation beim Entnehmen einer Blutprobe zu einer Aktivierung der Monozyten führen, während die Zytokinspiegel in Plasmaproben, die mit Antikoagulantien versetzt sind, die tatsächliche Konzentration im Blut genauer widerspiegeln (Riches et al. 1992; Thavasu et al. 1992). Weitere mögliche Variablen, die die Zytokinkonzentration beeinflussen könnten, sind die Art der Blutentnahme. So kann beispielsweise ein Katheter im Vergleich zu einem einfachen Nadelstich eine lokale Entzündung und damit den Anstieg mancher Zytokine induzieren. Zu weiteren potentiellen Variablen wird die Anzahl des Auftauens des Blutes, welches zu einem Zytokinanstieg (z.B. bei IL-6) führen kann, sowie das Material der Blutröhrchen gezählt (De Jongh et al. 1997).

Bemerkenswert ist andererseits der Effekt, den Behandlungen mit Antipsychotika auf die Produktion des IL-1RA haben. Wenn eine erniedrigte Konzentration des antiinflammatorischen IL-1RA und damit eine Aktivierung des Immunsystems, wie es in dieser Arbeit - ausgelöst durch den Polymorphismus und ein daraus resultierendes erniedrigtes Verhältnis aus IL-1RA/IL-1 bei den untersuchten schizophrenen Patienten - postuliert wird, würde man einen stimulierenden Effekt von Antipsychotika auf die IL-1RA-Konzentration und letztendlich einen immunsuppressiven Effekt unter Neuroleptikabehandlung erwarten. Diese Vermutung konnte in verschiedenen Untersuchungen bestätigt werden: so zeigte eine *in vitro*-Studie stimulierende Effekte von Haloperidol und Clozapin auf die IL-1RA-Produktion (Song et al. 2000). Dieser Befund steht im Einklang mit *in vivo*-Untersuchungen, die eine gesteigerte Produktion des IL-1RA im Serum Schizophrener nach mehrwöchiger Behandlung mit Neuroleptika nachweisen konnten (Akiyama 1999; Maes et al. 1997). Auch im Tiermodell wurde ein verstärkender Effekt von Haloperidol auf die IL-1RA-mRNA-Produktion in Schizophrenie-assoziierten Bereichen des Rattenhirns (Hippocampus, Hypothalamus, frontaler Cortex) beobachtet (Maes et al. 1997).

Diese Erkenntnisse sprechen offensichtlich für die Hypothese, dass die IL-1RA-Produktion bei der Schizophrenie vermindert und eine daraus resultierende Aktivierung des Immunsystems bei dieser Erkrankung involviert sein könnte. Das hier präsentierte Ergebnis der verminderten Häufigkeit des Allels 2 (des *high activity*-Allels) des IL-1RA-Polymorphismus bei den Schizophrenen könnte vor diesem Hintergrund ein Einflussfaktor sein und bestätigt diese Hypothese.

Insgesamt ist jedoch noch nicht geklärt, ob die Veränderungen immunologischer Parameter bei Schizophrenen - für diese Arbeit konkret das erniedrigte Verhältnis aus IL-1RA/IL-1 - lediglich ein Epiphenomen Schizophrenie-assoziiierter Pathomechanismen darstellen oder tatsächlich an der Pathophysiologie der Krankheit beteiligt sind. So konnte in einem tierexperimentellen Befund beobachtet werden, dass eine veränderte IL-1RA-Expression im Rattenhirn nur die Folge von unspezifischem Stress war (Suzuki et al. 1997). Daher wäre es vorstellbar, dass die reduzierte Expression des IL-1RA im menschlichen präfrontalen Cortex nur zu einer verstärkten Induktion der Glucocorticoid-Produktion geführt hat (Berkenbosch et al. 1987; Sapolsky et al. 1987) und somit lediglich die Folge einer erhöhten Stressvulnerabilität war, die regelmäßig mit der Schizophrenie einhergeht. Ob die verminderte IL-1RA-Konzentration bei den Schizophrenen nun kausal oder nur ein Begleitphänomen in der Pathogenese der Schizophrenie ist, bleibt noch zu klären.

Eine weitere Erklärung für diese Anzeichen eines aktivierten Immunsystems in der Pathobiologie der Schizophrenie könnte in der damit verbundenen Aktivierung des inflammatorischen Immunsystems liegen. So wird diskutiert, dass der Ausbruch einer Schizophrenie die Langzeitfolge einer früher stattgefundenen Infektion (speziell eines Virus) (DeLisi und Crow 1986) oder eines Autoimmunprozesses (DeLisi et al. 1985; Kirch 1993) sein könnte. Dies wird in den nächsten Kapiteln näher erläutert.

6.1.3.2.3 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf den Verlauf infektiöser Erkrankungen im Rahmen schizophrener Psychosen

Typischerweise erhöht sich bei einer Infektion zunächst die Konzentration des IL-1, um eine Immunabwehr in Gang zu setzen. Die Produktion des IL-1RA setzt im Verlauf des immunologischen Prozesses etwas später als die des IL-1 ein (die

maximale Konzentration wird ca. 2 Stunden nach der des IL-1 erreicht), so dass eine akute Entzündung beendet werden kann. Damit wird eine überschießende Immunreaktion und eine sich daraus ergebende Beschädigung von gesunden Zellen verhindert (Arend et al. 1998; Granowitz et al. 1991; McIntyre et al. 1991). Dementsprechend konnte in Experimenten mit *knockin*-Mäusen gezeigt werden, dass das Überleben der Tiere nach Verabreichung von Endotoxinen direkt proportional der produzierten IL-1RA-Menge war (Hirsch et al. 1996). Auch die Mortalitätsrate von Hasen bzw. Mäusen, ausgelöst durch Injektion von LPS oder Infektion mit *E. coli*, konnte durch Verabreichung von IL-1RA reduziert werden (Alexander et al. 1991; Ohlsson et al. 1990; Wakabayashi et al. 1991).

Hinsichtlich der Interpretation des genetischen Einflusses des IL-1RN-Gens bei infektiösen Krankheiten im Zusammenhang mit schizophrenen Psychosen muss zunächst eine prä- von einer postnatalen Infektion unterschieden werden.

Zunächst wird der mögliche Zusammenhang mit einer pränatalen Infektion erläutert. Eine Hypothese zur Ätiologie der Schizophrenie postuliert eine Assoziation zwischen der Exposition des sich entwickelnden Embryos *in utero* gegenüber verschiedenen maternalen Infektionen, welche die Hirnentwicklung beeinträchtigen können, mit einem erhöhten Risiko der Schizophrenieentstehung, v.a. bei genetisch prädisponierten Individuen (Jones und Cannon 1998; Weinberger 1995; Wright et al. 1993). Neben einer Influenza werden als weitere virale Infektionen der Masern-, Röteln-, Polio-, Diphtherie-, Pneumonie-, Varizella-Zostervirus sowie allgemeine maternale respiratorische Infekte in Betracht gezogen (Brown et al. 2000; Brown et al. 2001; Limosin et al. 2003; Mednick et al. 1988; O'Callaghan et al. 1994; Suvisaari et al. 1999; Torrey et al. 1988; Watson et al. 1984). Dabei wird die Immunreaktion des Fötus als Ursache für eine pränatale Gehirnschädigung angesehen, die für die Entwicklung einer Schizophrenie prädisponieren soll (Barr et al. 1990; Crow 1994; Izumoto et al. 1999; Kunugi et al. 1995; Limosin et al. 2003; Stober et al. 1997). Des weiteren konnte eine pränatale Exposition gegenüber Infektionen mit diversen Beeinträchtigungen der Hirnentwicklung im späteren Lebenslauf in Zusammenhang gebracht werden wie mentale Retardation (Rantakallio und von Wendt 1985), Autismus (Ciaranello und Ciaranello 1995), Lissenzephalie (Dobyns et al. 1992) und weitere neurologische Störungen (zentrale Lähmung, Epilepsie, ausgeprägte Seh- und Hörbehinderungen) (Holst et al. 1989). Dies deutet darauf hin, dass Infektionen

verschiedene beeinträchtigende Effekte auf die Hirnentwicklung haben können, die wahrscheinlich zusätzlich von einer genetischen Vulnerabilität sowie dem Zeitpunkt und Ausprägungsgrad der Infektion abhängen.

In diesem Zusammenhang stellt sich nun die Frage, welche Rolle Interleukine, speziell IL-1RA, dabei spielen könnten.

Verschiedene Studien konnten veränderte Zytokinspiegel bei Schwangerschaften mit maternalen Infektionen beobachten. So gingen Schwangerschaften, bei denen eine Chorioamnionitis oder eine intraamniotische Infektion auftrat, mit einer erhöhten IL-1 α - und IL-1 β -Konzentration im Fruchtwasser und fötalen Plasma einher im Vergleich zu Schwangerschaften ohne Infektionen (Carroll et al. 1995; Gomez et al. 1995; Mitchell et al. 1993; Romero et al. 1989a; Saji et al. 2000; Shobokshi und Shaarawy 2002). Es konnte nachgewiesen werden, dass IL-1 β und andere Zytokine in der fetalen und neonatalen Zirkulation produziert werden (Miller et al. 1990). Auch für IL-1RA konnte eine höhere Konzentration im menschlichen Fruchtwasser als in den anderen Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden (Romero et al. 1992), und seine Produktion war nach intrauteriner Infektion oder einer intraamniotischen IL-1 β -Infusion ebenfalls stark erhöht (Romero et al. 1994; Witkin et al. 1994). Dabei schien IL-1RA fötalen Ursprungs zu sein, da der IL-1RA-Spiegel zuerst im Plasma des Fötus und danach im Fruchtwasser anstieg (Witkin et al. 1994). Auch die Anwesenheit des IL-1RA im Urin Neugeborener spricht für seinen fötalen Ursprung (Bry et al. 1994). Außerdem konnte beobachtet werden, dass Zytokine von Mikroglia oder Astrozyten des fötalen Gehirns über eine Stimulation mit maternalen Zytokinen, die in der Gebärmutter oder der Plazenta während einer Infektion produziert werden, sezerniert wurden (Dammann und Leviton 1997). Des Weiteren sind IL-1 α , IL-1 β und IL-1RA in der Lage, die intakte adulte Blut-Hirn-Schranke zu durchdringen (Banks et al. 1991; Banks et al. 1993; Gutierrez et al. 1994). Da diese beim Fötus viel durchlässiger ist als bei Kindern und Erwachsenen (Adinolfi 1985), könnte eine genetisch bedingte Dysregulation der Zytokine während einer maternalen Infektion zu Hirnentwicklungsstörungen des Fötus führen.

Aus diesen Gründen ist es vorstellbar, dass ein genetisch bedingtes Ungleichgewicht zwischen IL-1 und IL-1RA, welche vom fötalen Immunsystem als Reaktion auf eine maternale Infektion produziert werden, zumindest teilweise für die Interaktion zwischen einer maternalen Infektion während der Schwangerschaft, veränderter Hirnentwicklung und Schizophrenie verantwortlich sein könnte.

Man vermutet, dass die Funktion des IL-1RA im Fruchtwasser, ähnlich wie im Serum, in der Abwehr einer überschießenden Aktivierung des Immunsystems liegt (Fukuda et al. 2002), welche bei seiner Abwesenheit zu Frühgeburt oder frühzeitiger Ruptur der Plazentamembran führen könnte (Fukuda et al. 2002; Saji et al. 2000). Dementsprechend wären Föten mit niedrigen IL-1RA-Spiegeln, bei denen *in utero* eine Infektion auftritt, einem höheren Risiko von Plazentaruptionen und Frühgeburten (durch zu viel IL-1) ausgesetzt. So konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass die Injektion von IL-1RA eine IL-1 β -induzierte Frühgeburt verhindern konnte (Romero und Tartakovsky 1992), während IL-1 β dagegen als ein bedeutender Auslöser infektionsvermittelter Plazentaruptionen und Frühgeburten gilt (Gravett et al. 1994; Shobokshi und Shaarawy 2002; Yoon et al. 1999). Der exakte Mechanismus, über den IL-1 β diese Komplikationen während der letzten zwei Trimester der Schwangerschaft auslöst, ist noch nicht geklärt. Man vermutet, dass eine abnorm hohe IL-1-Produktion in den Zellen der Gebärmutter Schleimhaut, ausgelöst durch eine überschießende Immunreaktion (Romero et al. 1989b), dafür verantwortlich sein könnte (Saji et al. 2000).

Neben der in der Einleitung erwähnten erblichen Komponente wurde die mögliche Rolle von Komplikationen während der Schwangerschaft und der Geburt bei Beeinträchtigungen der Hirnentwicklung als ein bedeutender Vulnerabilitätsfaktor in der Pathogenese der Schizophrenie diskutiert (Möller und Deister 2000). So konnten in verschiedenen Studien eine frühzeitige Ruptur der Plazentamembran, Blutungen und Infektionen während der Schwangerschaft sowie Frühgeburt als Risikofaktoren für die spätere Entwicklung einer schizophrenen Psychose identifiziert werden (Buka et al. 2001; Cannon et al. 2002; Dammann und Leviton 1997; Hultman et al. 1999; Jones et al. 1998; Kunugi et al. 2003; Suvisaari et al. 1999). Solche Risikofaktoren wie z.B. frühzeitige Ruptur der Plazentamembran, Blutungen und niedriges Geburtsgewicht sind oftmals Indikatoren für eine Insuffizienz der Plazenta, welche das intrauterine Wachstum beeinträchtigen kann (Kramer et al. 1997) und mit einer Sauerstoffmangelversorgung und sich daraus ergebenden Beeinträchtigung des sich entwickelnden Gehirns einhergeht. Dies könnte als mögliche Ursache für die beobachtete Beeinträchtigung der Hirnentwicklung in der Patientengruppe angesehen werden. Ein weiterer vorstellbarer Mechanismus, wie eine pränatale Infektion zu einer beeinträchtigten Hirnentwicklung und damit letztendlich zur Schizophrenie führen könnte, wird durch die Untersuchung im Rattenmodell von Cai

et al. (2000) vorgeschlagen: eine maternale Verabreichung des Endotoxins Lipopolysaccharid (LPS), welches aus der Zellwand gramnegativer Bakterien stammt und die Plazenta passieren kann, hatte während einer Schwangerschaft eine erhöhte IL-1 β -Expression im Gehirn des Fötus zur Folge (Cai et al. 2000). Die bereits erwähnte Fähigkeit des IL-1 β , ischämiebedingte exzitotoxische Vorgänge zu verstärken und somit zu vermehrtem neuronalen Zelluntergang zu führen (Lawrence et al. 1998; Relton et al. 1996; Relton und Rothwell 1992), könnte somit ebenfalls zu einer veränderten Hirnentwicklung führen, die dann für den Ausbruch einer Schizophrenie in frühen Erwachsenenalter prädisponieren kann.

Dasselbe Allel 2 des IL-1RN-Gens, das also zur vermehrten IL-1RA-Produktion führt, kommt in den vorliegenden Ergebnissen trendmäßig seltener bei den Schizophrenen als bei den Kontrollen vor. Demnach ist es vorstellbar, dass die von uns untersuchten Schizophrenen bereits *in utero* einen genetisch bedingten Mangel an IL-1RA-Protein und damit eine überschießende Immunreaktion durch proinflammatorisches IL-1 hatten, was dann zu den verschiedenen Formen von Geburtskomplikationen und konsekutiver Beeinträchtigung der Hirnentwicklung bei ihnen führen und im späteren Lebensalter zum Ausbruch der Schizophrenie prädisponieren könnte.

Das vorliegende Ergebnis spricht dafür, dass auch der untersuchte Polymorphismus des Interleukin-1RN-Gens ein Einflussfaktor auf den Verlauf pränataler Infektionen und eventuell darauffolgender Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen bei Beeinträchtigung der Hirnentwicklung und damit in der Pathogenese der Schizophrenie sein könnte. Die Befunde aus der Literatur und das vorliegende Ergebnis sprechen dafür, dass das Allel 2 auch hier einen schützenden Effekt gegenüber der Entwicklung einer Schizophrenie haben könnte.

Auch postnatale Infektionen werden in der Ätiologie der Schizophrenie diskutiert. Dabei konzentriert sich der Schwerpunkt der Hypothese auf virale Infektionen, da Untersuchungen bezüglich des Zusammenhangs zwischen bakteriellen Infektionen und Schizophrenie nicht bekannt sind. Das Konzept dieser Hypothese ist insbesondere wegen des neurotrophen Effekts einiger Viren sowie des Auftretens von psychotischen Symptomen bei viralen Enzephalitiden interessant. Weiterhin ist von Bedeutung, dass sich diese viralen Infektionen des ZNS mit den Symptomen einer Schizophrenie präsentieren können. Diese konnten insbesondere bei Patienten mit akuten Herpesvirusinfektionen des ZNS beobachtet werden (Howard, III 1996; Schlitt

et al. 1985; Wise et al. 1977). Auch bei Infektionen mit dem *human immunodeficiency virus* (HIV) und dem *human T cell leukaemia virus* wurde über initiale ZNS-Störungen berichtet, die einer Psychose ähneln (Jones et al. 1987; Perry 1990; Wiley 1994). Bereits Karl Menninger (1919, 1926) vermutete einen Zusammenhang zwischen viralen infektiösen Prozessen und Schizophrenie, was durch das Auftreten schizophrenieähnlicher Psychosen bei den Opfern der Influenza-Pandemien nach dem ersten Weltkrieg bestätigt wurde (Menninger 1919). So erhielten während einer Influenza-Pandemie in Boston (Massachusetts) ein Drittel der Erkrankten die Diagnose Schizophrenie, wobei alle im Alter von 18 bis 30 Jahren waren (Menninger 1926). Nach Abklingen des Fiebers manifestierte sich die Psychose. Des weiteren gibt es Hinweise auf die DNA von Herpesviren in *post mortem*-Hirnen Schizophrener (Kudelova et al. 1988; Moises et al. 1988). Somit könnten Virusinfektionen als direkte Auslöser einer Schizophrenie eine Rolle spielen.

Eine Variante dieser Hypothese postuliert eine Aktivierung latenter Virusinfektionen in der ZNS-Pathologie der Schizophrenie im Anschluss an eine akute Infektion (Waltrip et al. 1990). So sind Herpes- und HIV-Viren in der Lage, im ZNS zu persistieren und latente Virusinfektionen nach zellulärer Replikation und kovalenter Integration der viralen DNA in das humane Wirtsgenom aufrecht zu erhalten (Atwood et al. 1993; Daheshia et al. 1998; Drummond et al. 1994). Durch verschiedene Stimuli kann die integrierte Virus-DNA dann aktiviert werden, was die Produktion von neuen Viruspartikeln zur Folge hat, die wiederum zusätzliche Zellen infiziert (Quinn et al. 2000). Durch diesen Prozess können die Viren lebenslang immer wiederkehrende Infektionen auslösen (Arbusow et al. 1999; Steiner et al. 1994). Die Aktivierung einer latenten Infektion mit dem Herpes-Simplex-Virus führt beispielsweise zu einer Enzephalitis, die sich im Anfangsstadium mit den akuten psychotischen Symptomen einer Schizophrenie präsentiert (Raskin und Frank 1974).

Von Interesse für diese Arbeit ist in diesem Zusammenhang der Einfluss des untersuchten Polymorphismus des IL-1RN-Gens bei Infektionen.

In der Mehrzahl der Studien konnte interessanterweise eine erhöhte Resistenz der homozygoten Allel 2-Träger gegenüber verschiedenen Infekten gezeigt werden. So zeigte sich bei Trägern mit Homozygotie für Allel 2 eine erhöhte Immunität gegenüber dem Epstein-Barr- (Hurme und Helminen 1998a) und dem Zytomegalie-Virus (Hurme und Helminen 1998b). Auch konnte eine verstärkte Immunabwehr gegenüber der Vermehrung des HIV-Virus bei Frauen, die homozygot für dieses Allel

waren, nachgewiesen werden (Witkin et al. 2001): unter infizierten brasilianischen Frauen mit ähnlichem Krankheitsstatus hatten die homozygoten Trägerinnen für das IL-1RN Allel 2 signifikant niedrigere Konzentrationen an *human immunodeficiency virus 1*-RNA im Blutkreislauf als Frauen mit anderen Genotypen.

Diese Studien deuten darauf hin, dass das Allel 2 des IL-1RN (das *high activity*-Allel), welches mit einer erhöhten Produktion des IL-1RA-Proteins einhergeht, einen erhöhten immunologischen Schutz vor viralen Infektionen bietet, die dann über die verschiedenen besprochenen Mechanismen letztendlich zur Schizophrenie führen könnten. Damit würde sich das Allel 2 wieder als schützendes Allel gegenüber der Schizophrenie präsentieren. Dieser Befund steht auch im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit, bei der sich ein Trend in Richtung einer selteneren Häufigkeit des Allels 2 des IL-1RN bei den Schizophrenen im Vergleich zu den Kontrollen zeigte. Folglich könnten diese dadurch einer erhöhten Vulnerabilität gegenüber postnatalen Infektionen ausgesetzt sein, was dann letztendlich zum Ausbruch der Schizophrenie geführt haben könnte.

Das Ergebnis dieser Untersuchung spricht insgesamt eher für eine überschießende Immunreaktion, so dass der Mechanismus des schützenden Effekts des Allels 2 vor postnatalen Infektionen und darüber letztendlich vor Schizophrenie noch zu klären bleibt.

6.1.3.2.4 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf den Verlauf von Autoimmunerkrankungen im Rahmen schizophrener Psychosen

Auch eine mögliche Rolle von Autoimmunvorgängen wird in der Entstehung der Schizophrenie diskutiert. Da das Allel 2 (das *high activity*-Allel) des IL-1RN-Gens in der vorliegenden Untersuchung trendmäßig seltener bei den Schizophrenen als bei den Kontrollen vertreten war und somit wahrscheinlich zu einer verminderten IL-1RA-Produktion und einer daraus resultierenden überschießenden Immunreaktion bei diesen Erkrankten geführt haben könnte, wäre es vorstellbar, dass dieses überschießende Ausmaß der Immunreaktion in autoimmunologischen Vorgängen bei diesen Schizophrenen resultiert.

Diese Vermutung wird durch eine Hypothese zur Entstehung von Autoimmunität unterstützt, nach der Autoimmunität dann auftritt, wenn die Fähigkeit, eine normale

Immunantwort zu beenden, beeinträchtigt ist (Sandborg 2002): dies sei der Fall, wenn die antiinflammatorischen Zytokine wie IL-1RA nicht vorhanden oder erniedrigt sind, woraufhin eine inflammatorische Immunantwort unkontrolliert andauert. Dementsprechend können bei Autoimmunerkrankungen die Mechanismen, die normalerweise vor einer Infektion schützen und für die Eliminierung von fremden Stoffen und Organismen aus dem Körper sorgen, selbst zur Gewebsschädigung und zu Krankheiten führen. Dabei richtet sich die Reaktion des Immunsystems gegen körpereigene Strukturen. Dies ist der Fall, wenn der Organismus nicht mehr zwischen körpereigen (anhand der HLA-Antigene) und körperfremd (über Antikörper und T-Zell-Rezeptoren) unterscheiden kann.

Um die Integrität des Organismus zu erhalten, hat das Immunsystem Schutzmechanismen entwickelt (Ring und Lakkis 1999). So müssen B- und T-Zellen, die gegen körpereigene Zellen reagieren, ausgeschaltet werden (Autotoleranz). Bei den T-Zellen, die in der Signalkaskade u. a. von IL-1 stimuliert werden, geschieht das über eine klonale Deletion autoreaktiver Zellen, die bereits während ihrer Reifung im Thymus stattfindet. Weitere Mechanismen sind das Fehlen entsprechender T-Helferzellen (funktionelle Deletion) sowie eine Suppression der autoreaktiven Funktion dieser T-Zellen durch T-Suppressor ($CD8^+$)-Lymphozyten (Baenkler 2000). Als Auslöser von Autoimmunreaktionen wird u.a. eine polyklonale T-Zellaktivierung mit der möglichen Stimulation autoreaktiver, normalerweise supprimierter Immunzellen diskutiert (Theofilopoulos 1995). Dementsprechend gilt eine Vermehrung der T-Lymphozyten als Indikator für eine überschießende Immunreaktion, die in autoimmunologisches Geschehen münden kann (Baenkler 2000).

Man nimmt an, dass das Ausmaß der Autoreaktivität während einer normalen Immunantwort durch die antiinflammatorischen Faktoren wie IL-1RA unter Kontrolle gehalten wird, während die fremden Antigene von den proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 eliminiert werden (Abb. 22).

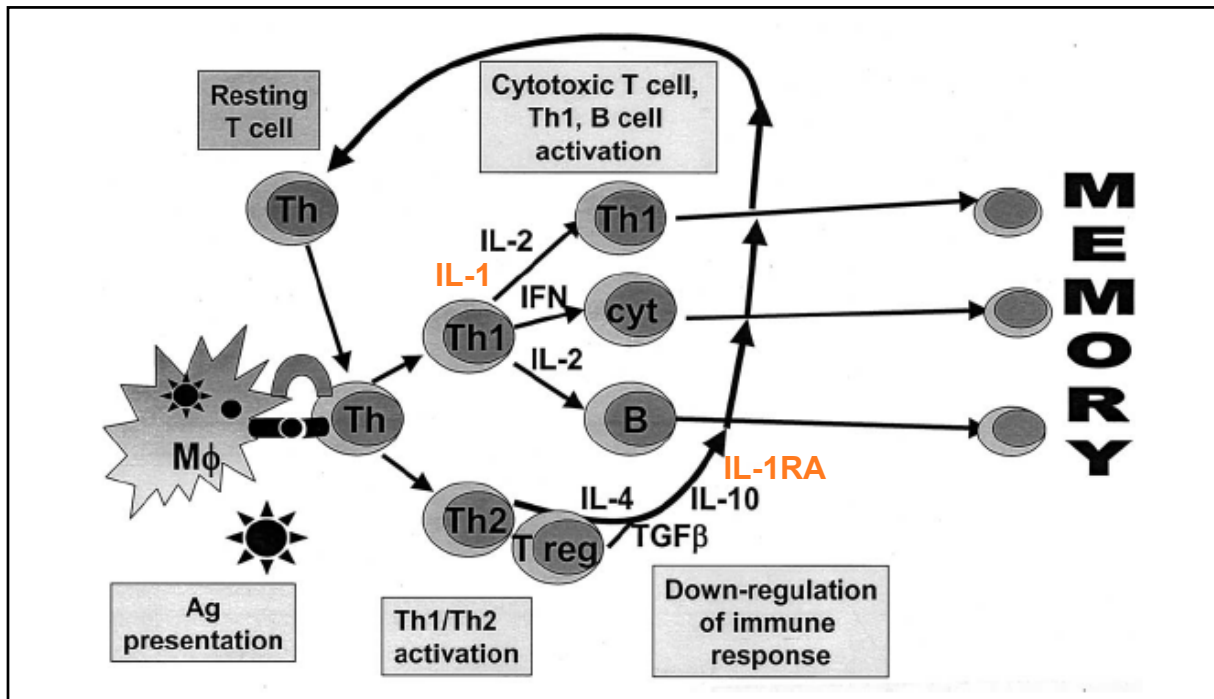


Abb. 22: Wechselwirkung zwischen einer Antigen-präsentierenden Zelle (MΦ), T-Zellen, B-Zellen und Zytokinen während einer normalen Immunantwort (Sandborg 2002).

Das Antigen (AG) wird von MΦ phagozytiert, prozessiert und auf der Zelloberfläche des Antigen-präsentierenden Moleküls MHC II eingebaut. Daraufhin wird eine T-Helfer-Zelle (CD4+) mit einem T-Zellrezeptor, der das Antigen in dem MHC-Molekül erkennt, partiell stimuliert, so dass ein zweites Signal zwischen MΦ und der T-Zelle zur Proliferation und Differenzierung der T-Zelle in T-Helfer 1 (TH 1)- und T-Helfer 2 (TH 2)-Zellen und zur Freisetzung von Zytokinen führt. Die proinflammatorischen Zytokine wie IL-1 stimulieren die Proliferation weiterer T-Helfer-Zellen, zytotoxischer T-Zellen (CD8+) und B-Zellen, während die antiinflammatorischen Zytokine wie IL-1RA die Immunantwort unter Kontrolle halten, damit das System wieder in seinen Gleichgewichtszustand mit neu dazugewonnenen Gedächtniszellen zurückkehren kann.

Unter den verschiedenen Hypothesen, wie Autoraktivität persistiert und zu Autoimmunkrankheiten führen könnte, wird als eine bedeutende und für diese Arbeit relevante Theorie eine Dysregulation zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen diskutiert, bei der die antiinflammatorischen Zytokine wie IL-1RA erniedrigt sein sollen (Sandborg 2002).

Daher wäre es vorstellbar, dass das durch den in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismus des IL-1RN-Gens verschobene Verhältnis aus IL-1RA/IL-1 zugunsten des IL-1 zu einer Überstimulation von T-Lymphozyten führen könnte. Diese könnten sich dann gegen körpereigenes Gewebe gerichtet und zu autoimmunologischen Reaktionen und über diesen Mechanismus zur Schizophrenie geführt haben.

Die Vermutung, dass autoimmunologische Faktoren, als Folge einer früheren Virusinfektion, letztlich für Schizophrenie mitverantwortlich sein könnten, wird schon lange diskutiert (Kirch 1993). Sie basiert ursprünglich auf Befunden von Serumbestandteilen Schizophrener mit autoaggressiven Eigenschaften gegen

Hirngewebe (Henneberg et al. 1993; Kelly et al. 1987; Pandey et al. 1981; Yang et al. 1994). Dabei wurden erhöhte Antikörpertiter gegen hippocampale Strukturen (Ganguli et al. 1987; Ganguli et al. 1993; Yang et al. 1994), die Septumregion (Heath et al. 1989; Henneberg et al. 1993) sowie den frontalen Cortex gefunden (Henneberg et al. 1993). In der Studie von Ganguli et al. (1987), die verschiedene Hirnregionen einschließlich frontaler Cortex, parietaler Cortex, Gyrus cinguli, Gyrus parahippocampalis und Hippocampus untersuchte, zeigte sich die ausgeprägteste Immunreaktivität gegen Gewebe des Hippocampus. Da gerade im Hippocampus eine besonders hohe Dichte an IL-1-Rezeptoren sowie IL-1- und IL-1RA-enthaltenden Neuronen nachgewiesen wurde (Ban et al. 1991; Ban 1994; Bencsik et al. 1996; Cunningham, Jr. et al. 1991; Farrar et al. 1987; Takao et al. 1990; Yasuhara et al. 1997), ist es durchaus denkbar, dass die in dieser Arbeit postulierte genetisch bedingte Veränderung des Gleichgewichts zugunsten von IL-1 bei den Schizophrenen hippocampale Funktionen direkt beeinträchtigt und so letztendlich zum Ausbruch der Schizophrenie führen könnte. Des weiteren spricht für eine Beteiligung von Autoimmunvorgängen in der Pathogenese der Schizophrenie die Beobachtung, dass Autoimmunerkrankungen selbst zu psychotischen Symptomen führen können. Damit ist gleichzeitig gezeigt, dass Immunprozesse einen Einfluss auf Funktionen des ZNS ausüben können. Dementsprechend traten bei Autoimmunerkrankungen wie Lupus erythematoses (Kruger 1984), Sklerodermie (Müller et al. 1992), Sjögren-Syndrom (Raps et al. 1986) und Antiphospholipidsyndrom (Kurtz und Müller 1994) psychotische Symptome auf. Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist auch, dass in einigen Studien bei schizophrenen Patienten eine erhöhte Prävalenz für Autoimmunerkrankheiten gefunden wurde. So konnte unter schizophrenen Patienten bzw. deren Verwandten ein gehäuftes Auftreten von systemischem Lupus erythematoses (Funauchi et al. 2002), Schilddrüsenerkrankungen (DeLisi et al. 1991; MacSweeney et al. 1978) und Diabetes mellitus Typ 1 (Gilvarry et al. 1996) und Typ 2 (Mukherjee et al. 1989) beobachtet werden.

In diesem Zusammenhang werden nun Befunde diskutiert, die auf die Rolle des IL-1RA in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen und damit bei der Entstehung der Schizophrenie hinweisen könnten. So konnte in Experimenten mit *knockout*-Mäusen für das IL-1RN-Gen gezeigt werden, dass diese spontan Autoimmunprozesse wie Arthritis entwickelten (Horai et al. 2000; Nicklin et al. 2000).

Auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Colitis ulcerosa und Morbus Crohn konnten in Mucosabiopsien niedrigere Verhältnisse von IL-1RA/IL-1 im Vergleich zu Kontrollen sowie Patienten mit akuter Colitis gezeigt werden (Andus et al. 1997; Casini-Raggi et al. 1995). Dementsprechend führte im Tiermodell eine Verabreichung von Antikörpern gegen IL-1RA zu länger andauernden intestinalen Entzündungen sowie einer erhöhten Mortalitätsrate dieser Tiere (Cominelli et al. 1990; Ferretti et al. 1994). Diese Befunde bestätigen die Hypothese, dass dem IL-1RA bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen eine spezifische antagonisierende Rolle gegenüber dem IL-1 zukommt, um das Ausmaß einer Immunreaktion unter Kontrolle zu halten. Somit ist er für eine Aufrechterhaltung der Homöostase des Immunsystems unerlässlich.

Es wäre vorstellbar, dass durch den untersuchten VNTR-Polymorphismus des IL-1RN-Gens, welcher wahrscheinlich zu einer unterschiedlichen Expression seines Proteins führt, diese sensitive Balance zwischen IL-1RA und seinem Agonisten zugunsten des IL-1 verschoben wird und über daraus resultierende autoimmune Mechanismen letztendlich Schizophrenie entsteht.

Zusammenfassend befindet sich das in dieser Arbeit gefundene Ergebnis, also das seltenere Vorkommen des Allels 2 (des *high activity*-Allels) bei den Schizophrenen, im Einklang mit der Hypothese der Dysregulation zwischen IL-1 und IL-1RA zugunsten des IL-1 bei Autoimmunerkrankungen und damit ebenfalls mit der Autoimmunhypothese der Schizophrenie.

6.1.3.2.5 Möglicher Einfluss des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten auf die Interleukin-1-Signaltransduktion

Das vorliegende Ergebnis spricht dafür, dass das Allel 2 des IL-1RN eine protektive Rolle bei der Entstehung der Schizophrenie haben könnte. Die exakten Mechanismen, über die der IL-1RA seine Wirkung entfaltet, sind jedoch noch nicht vollständig geklärt. Vorstellbar wäre ein Einfluss des IL-1RN-Polymorphismus auf molekularer Ebene in der IL-1-Signaltransduktion. Dieser soll im Folgenden erläutert werden.

Durch das in dieser Arbeit festgestellte seltenere Vorkommen des IL-1RN-Allel 2 und der damit vermutlich korrelierenden erniedrigten Produktion des IL-1RA ist

wahrscheinlich von einer Dysregulation zwischen IL-1 und seinem Antagonisten zugunsten des IL-1 auszugehen.

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, führt die Signaltransduktion des IL-1 nach Bindung an den Interleukin-1-Rezeptor zunächst zur Aktivierung der Serin-Threonin-Kinase IRAK. Diese interagiert mit dem Protein TRAF6, dessen Überexpression dann wiederum den Transkriptionsfaktor NfκB aktiviert, der daraufhin in den Zellkern eindringt und an verschiedene Promotoren bindet. Dabei werden Gene aktiviert, die an der Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 und IL-2 beteiligt sind. Über diesen Mechanismus kann eine effektive Immunreaktion stattfinden (Janeway et al. 2002). Für eine effiziente IL-2-Synthese ist daher eine IL-1-Kostimulation notwendig. Somit stellen sowohl IL-1 als auch IL-2 wichtige Steuergrößen für die Immunantwort dar. Da IL-1 zum einen die Produktion von IL-2 über die beschriebene Signaltransduktion stimuliert, und IL-2 zur Auslösung von psychotischen Symptomen führen kann (Denicoff et al. 1987), könnte das seltenere Vorkommen des Allels 2 des untersuchten IL-1RN-Gens, welches wahrscheinlich zu einer überschießenden Reaktion durch IL-1 und über den beschriebenen Mechanismus dann zu einer Überaktivierung von IL-2 führt, für die Entstehung von psychotischen Symptomen bei den untersuchten Schizophrenen zumindest mitursächlich sein.

Dieser vorgeschlagene molekulare Mechanismus wäre anhand des vorliegenden Ergebnisses somit eine weitere Möglichkeit, wie der untersuchte Polymorphismus des IL-1RN-Gens zur Entstehung der Schizophrenie beitragen könnte.

In der folgenden Abbildung 23 werden die vorgestellten möglichen Mechanismen zusammengefasst, die durch das seltenere Vorkommen des untersuchten IL-1RN-Polymorphismus Allel 2 bei der Entstehung der Schizophrenie beteiligt sein könnten.

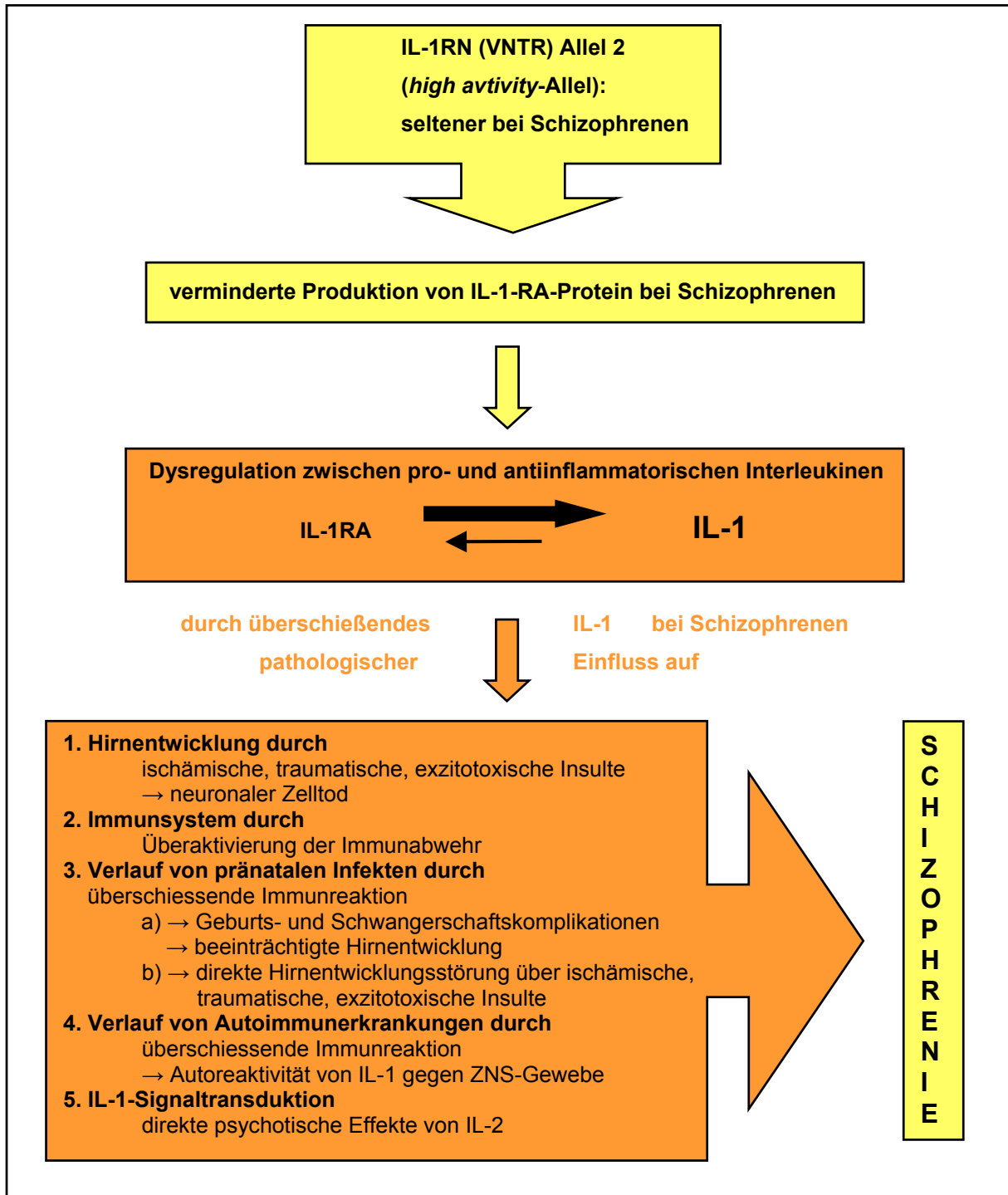


Abb. 23: Zusammenfassung von beispielhaften Mechanismen, die bei der Entstehung der Schizophrenie assoziiert mit einer selteneren Häufigkeit des IL-1RN-Gens Allel 2 beteiligt sein könnten.

6.1.3.2.6 Vergleich des Ergebnisses zum IL-1RN-Polymorphismus mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung

Das in dieser Arbeit festgestellte seltenere Vorkommen des IL-1RN Allel 2 bei Schizophrenen steht im Einklang mit den Ergebnissen zweier italienischer Studien, bei denen die Träger des IL-1RN Allel 2 signifikant seltener bei den Schizophrenen repräsentiert waren (Bocchio Chiavetto et al. 2002; Zanardini et al. 2003). Eine numerisch erniedrigte Häufigkeit des Allels 2 bei Schizophrenen zeigte sich in einer finnischen und einer chinesischen Studie (Chowdari et al. 2001; Katila et al. 1999), jedoch nicht in einer spanischen Bevölkerungsgruppe (Papiol et al. 2002).

Insgesamt konnte das seltenere Vorkommen des Allels 2 bei den Schizophrenen in der Mehrzahl der Studien repliziert werden. Diskrepanzen könnten sich einerseits aufgrund der ethnischen Unterschiede der untersuchten Probandenkollektive ergeben. Außerdem wurden in den Studien durchgehend wesentlich kleinere Probenzahlen (maximal $n = 450$) als in der vorliegenden Arbeit ($n = 861$) untersucht, so dass die statistische Aussagekraft dieser Studien geringer war.

Interessant in diesem Zusammenhang wäre der Effekt verschiedener Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes auf das Entstehungsrisiko der Schizophrenie, insbesondere die Wirkung der Kombination des T-Allels des IL-1A- und IL-1B-Gens (hohe IL-1 α - und IL-1 β -Produktion) mit dem Allel 1 des IL-1RN-Gens (niedrige IL-1RN-Produktion), da hier eine besonders starke Verschiebung des Gleichgewichts zwischen pro- und antiinflammatorischen Interleukinen zugunsten des IL-1 und damit ein stärker erhöhtes Schizophrenierisiko zu erwarten wäre. Daher haben wir eine Haplotypenanalyse des Interleukin-1-Genkomplexes durchgeführt, deren Ergebnisse im nächsten Kapitel diskutiert werden.

6.1.4 Ergebnisse zu Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes

Es konnte keine Assoziation zwischen den in dem untersuchten Kollektiv vorkommenden Haplotypen aus den Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes mit Schizophrenie nachgewiesen werden. Der Haplotyp mit der häufigsten Frequenz sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe war der Haplotyp 1 (IL-1B C-Allel/IL-1RN Allel 1/IL-1A C-Allel = 111). Außerdem konnte in der Gruppe der Schizophrenen der Haplotyp 12 (IL-1B T-Allel/IL-1RN Allel 4/IL-1A C-Allel

= 241) nachgewiesen werden, der in dem Kontrollkollektiv nicht vorkam. Dieser war jedoch so selten ($n = 4$), dass sich statistisch kein Unterschied zwischen Patienten- und Kontrollgruppe zeigte und die Frequenz des Auftretens bei den Schizophrenen daher bei weitem nicht ausreichend ist, um signifikante von zufallsbedingten Variationen eindeutig zu differenzieren.

6.1.4.1 Vergleich der Ergebnisse zu Haplotypen aus den untersuchten Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes mit bestehender Literatur und abschließende Beurteilung

In einer Haplotypenanalyse der finnischen Studie von Katila et al. (1999) konnte eine signifikante Assoziation eines Haplotyps des IL-1-Genkomplexes (Träger des Haplotyps 1/1/2 (Tab. 31)) sowie ein verstärkender Effekt bei Homozygotie für diesen Haplotyp mit Schizophrenie beobachtet werden (Katila et al. 1999). Allerdings wurde diese Studie an einer aus statistischer Sicht sehr geringen Fallzahl von nur 50 schizophrenen Patienten durchgeführt. Außerdem konnte dieser Befund von einer unabhängigen Studie an zwei chinesischen Bevölkerungsgruppen nicht repliziert werden (Chowdari et al. 2001). Die chinesische Untersuchung stellt somit eine Bestätigung des in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisses durch eine unabhängige Studie dar.

Weitere Studien an Kaukasiern, die einen 2-Loci-Haplotypen aus Polymorphismen des IL-1B und IL-1RN bildeten, konnten ein erhöhtes Risiko für Schizophrenie bei Trägern des Haplotyps 1/1 (IL-1B/IL-1RN) nachweisen (Zanardini et al. 2003) sowie zeigen, dass die Träger des Haplotyps 2/2 (IL-1B/IL-1RN) signifikant seltener bei den Schizophrenen als bei den Kontrollen vertreten waren (Bocchio Chiavetto et al. 2002; Zanardini et al. 2003). Diese Befunde weisen auf eine zusätzliche Verstärkung des Schutzeffektes des Allels 2 des IL-1RN bei Individuen hin, die zusätzlich IL-1B-T-Allel-Träger sind. Allerdings konnten in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten 2-Loci-Haplotypen in der untersuchten Stichprobe nachgewiesen werden.

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit spricht für einen fehlenden Zusammenhang zwischen den geschätzten Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes und Schizophrenie.

Die Diskrepanz der Ergebnisse der oben genannten Studien zu Haplotypen des IL-1-Genkomplexes könnte sich aufgrund der unterschiedlichen ethnischen Populationen

ergeben. Des weiteren spielen wahrscheinlich die unterschiedlichen Fallzahlen der Probenkollektive, die regionalen Unterschiede, die Heterogenität der Schizophrenie sowie eine eventuelle Varianz in der Diagnosestellung der schizophrenen Psychosen eine Rolle.

6.1.5 Abschließende Beurteilung der Ergebnisse aus dem Interleukin-1-Genkomplex

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen also dafür, dass das seltenere Vorkommen des Allels 2 des IL-1RN bei den Schizophrenen einen Einfluss auf das Entstehungsrisiko der Schizophrenie haben könnte, indem es zu einer Verschiebung der sensitiven Balance des Interleukin-1-Genkomplexes zwischen pro- und antiinflammatorischen Interleukinen zugunsten der proinflammatorischen Interleukine führt. Dieser Befund bekräftigt die Hypothese, dass eine überschießende Aktivierung des Immunsystems in der Pathogenese der Schizophrenie eine Rolle spielen könnte. Außerdem deutet er darauf hin, dass die Dysregulation der Interleukine bei den Schizophrenen zumindest teilweise genetisch bedingt sein könnte. Die Ergebnisse weisen somit auf eine schützende Rolle des Allels 2 des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten vor der Entstehung der Schizophrenie hin. Für die untersuchten Polymorphismen des IL-1 alpha- und -beta-Gens konnte keine Assoziation zur Schizophrenie gefunden werden. Aus diesem Ergebnis sowie aus der fehlenden Assoziation von Haplotypen des Interleukin-1-Genkomplexes mit Schizophrenie lässt sich kein Hinweis auf ein mögliches Zusammenspiel der Polymorphismen des Interleukin-1-Genkomplexes in der Pathogenese der Schizophrenie ableiten.

6.2 Allgemeine Betrachtung zu Methodik und Aussagekraft dieser Studie

Ziel der molekulargenetischen Forschung in der Medizin ist es, die genetischen Ursachen für die Pathomechanismen von Krankheiten auf Ebene der DNA-Sequenz zu identifizieren. Bei den multifaktoriellen Erkrankungen, zu denen auch die Schizophrenie gehört, wird das Erreichen dieses Ziels dadurch erschwert, dass sowohl Umwelt- als auch genetische Faktoren an der Krankheit beteiligt sind. Darüber hinaus ist die Schizophrenie eine polygene Erkrankung, deren genetischer Beitrag wahrscheinlich durch Varianten in verschiedenen Genen entsteht, wie beispielsweise Gene, die zwar für die Krankheitsentstehung nicht unmittelbar notwendig sind, aber die Suszeptibilität dafür erhöhen. Ein tieferes Verständnis der Krankheitsentstehung kann daher erst nach der Identifizierung dieser Gene und der Kenntnis ihrer Wirkungen und Wechselwirkungen entstehen. Man erhofft sich damit eine bessere Eingrenzung, welche Vulnerabilitätsgene zur Schizophrenie prädisponieren.

Eine häufig benutzte Methode zur Identifizierung von Krankheitsgenen in der Schizophrenie ist die Kopplungsanalyse. Ein Vorteil dieser Methode ist, dass sie nicht auf pathobiologischen Modellen der Schizophrenie beruht. Vielmehr wird erst bei Identifizierung eines Gens im gekoppelten Sequenzabschnitt dieses im Zusammenhang mit der Krankheitsentstehung untersucht. Bezüglich der Identifizierung von Genen bei komplexen Erkrankungen wie der Schizophrenie mit kleineren Genbeiträgen ist diese Methodik jedoch nicht so geeignet, da die eingrenzenden Genregionen noch zu groß sind. Außerdem gibt es bereits viele Kandidatengenregionen zur Schizophrenie, so dass man mittels der Kopplungsstudien nicht mehr viel weiter kommt, wenn man kleine Geneffekte entdecken möchte.

Daher stellen Assoziationsuntersuchungen eine geeignete Methode dar, um kleine Geneffekte aufdecken zu können. Da in der Ätiopathogenese der Schizophrenie eine Beteiligung mehrerer Gene mit teilweise kleinen Effekten vermutet wird, haben Assoziationsuntersuchungen für diese Untersuchung große Vorteile und sind daher geeignet für die Analyse des Interleukin-1-Genkomplexes. Ein Nachteil von Assoziationsuntersuchungen ist die Gefahr, falsch positive Ergebnisse zu erhalten. So kann eine positive Assoziation durch eine populationsbedingte genetische

Differenz zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv entstehen (Populationsstratifikation oder –schichtung), die nicht mit dem Krankheitsbeitrag des untersuchten Gens zusammenhängt.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gene liegen innerhalb einer Genregion auf Chromosom 2p12-q22.1, die in einer groß angelegten Meta-Analyse als einziger Genabschnitt eine genomweite signifikante Kopplung erreichte (Lewis et al. 2003). Daher sind die Gene des Interleukin-1-Genkomplexes sehr interessante positionelle Kandidatengene in der Pathogenese der Schizophrenie. Die Ergebnisse dieser Untersuchung tragen zur Festigung der Hypothese einer Aktivierung des Immunsystems in der Pathogenese der Schizophrenie bei.

Das heterogene klinische Bild der Schizophrenie sowie die zahlreichen Befunde von Risikogenen aus Kopplungs- und Assoziationsstudien lassen eine pathogenetische Beteiligung von nur einem Gen sehr unwahrscheinlich erscheinen. Insofern sind die verschiedenen Risikogene zur Schizophrenie nicht als konkurrierende, sondern vielmehr als komplementäre pathophysiologische Modelle anzusehen, die zusammen mit gewissen Umweltfaktoren an der Ätiopathogenese der Schizophrenie beteiligt sind.

6.3 Ausblick

6.3.1 Zukünftige Untersuchungen

Gene auf Assoziation mit dem Phänotyp Schizophrenie zu untersuchen, ist nur die erste Stufe bei dem Verstehen, wie Gene psychiatrische Erkrankungen beeinflussen können. Die Produkte dieser Gene, in Verbindung mit Umweltfaktoren, sind für individuelle menschliche Kennzeichen verantwortlich. Da die Funktion von Genprodukten in Gehirnprozessen immer besser verstanden wird, kann begonnen werden, in die Prozesse einzugreifen, die psychiatrische Erkrankungen verursachen. Letztlich die Pathophysiologie zu verstehen, die der Schizophrenie zugrunde liegt, wird zu völlig neuartigen, spezifischen Therapien und schließlich zu Prävention führen.

Ist aus Studien ersichtlich, dass eine genetische Variation mit einer bestimmten Krankheit in Zusammenhang steht, so besteht die Möglichkeit, im nächsten Schritt zu untersuchen, ob diese Variation funktionelle Relevanz hat, d.h. ob sie entweder zu

einem Aminosäureaustausch und damit zu einem veränderten Protein oder zu einer veränderten Expression des Proteins führt. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob die jeweiligen Polymorphismen des Interleukin-1 alpha, -beta und – Rezeptorantagonist-Gens mit einer Genvariation im Kopplungsungleichgewicht stehen, die funktionell ist.

Interessant wäre es außerdem, Expressionsstudien von Hirnregionen wie Hippocampus, Striatum und frontaler Cortex an *post mortem*-Hirnen Schizophrener im Vergleich zu Kontrollen durchzuführen, um die IL-1- und IL-1RA-mRNA-Konzentrationen in schizophrenierelevanten Hirnregionen zu bestimmen. Diesbezüglich existiert erst eine Untersuchung, die eine Reduktion der IL-1RA-mRNA im frontalen Cortex nachweisen konnte (Toyooka et al. 2003), was im Einklang mit der Hypothese dieser Arbeit steht.

Außerdem stellt die Heterogenität des klinischen Bildes der Schizophrenie ein großes Hindernis in der Aufklärung ätiologischer Faktoren bei den schizophrenen Psychosen dar. Da eine alleinige klinische Charakterisierung des Phänotyps durch psychopathologische Merkmale unbefriedigend ist, würde die Erfassung sogenannter Endophänotypen zur weiteren Differenzierung einen wesentlichen Fortschritt leisten. Es wäre somit durchaus möglich, dass eine bestimmte Allelkombination nur als Risikofaktor für einen Schizophreniesubtyp verantwortlich ist. Daher erscheint es sinnvoll, in zukünftigen Studien einen Allel-, Genotyp- und Haplotypfrequenzvergleich von Schizophrenen und Kontrollen zusätzlich in einer Subgruppenanalyse durchzuführen.

6.3.2 Therapeutische Konsequenzen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit tragen zur Festigung der Hypothese einer Aktivierung des Immunsystems in der Pathogenese der Schizophrenie bei, die durch ein zumindest teilweise genetisch bedingtes verschobenes Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Interleukinen in Richtung des proinflammatorischen IL-1 verursacht sein könnte. Insofern sollten die therapeutischen Implikationen dieser Modellvorstellung auf die Behandlung von Schizophreniepatienten weiter untersucht werden. Eine mögliche Strategie könnte langfristig in der Verabreichung von

rekombinantem IL-1RA bei denjenigen Patienten liegen, die Träger von Risikoallelen des Interleukin-1-Genkomplexes sind, welche zu einer überschießenden Immunreaktion führen könnten. Dazu sollte zunächst im Tiermodell untersucht werden, ob die Verabreichung von IL-1RA zu einer Verminderung schizophrenieähnlicher Symptome führt.

Ein weiterer möglicher therapeutischer Weg, eine eventuell überschießende proinflammatorische Wirkung des IL-1 bei Schizophrenen zu vermindern, könnte in der Hemmung von dem IL-1 nachgeschalteten Systemen liegen. In einer klinischen Studie von Müller et al. (2002) konnte so eine Reduktion von psychotischen Symptomen bei Schizophrenen durch die Gabe des antiinflammatorisch wirkenden Arzneistoffes Celecoxib, eines selektiven Cyclooxygenase (COX) -2-Hemmers, der in Kombination mit Risperidon verabreicht wurde, im Vergleich zu einer Monotherapie mit Risperidon beobachtet werden. Der exakte Mechanismus, über den Celecoxib die antipsychotische Wirkung entfaltet, ist allerdings noch nicht eindeutig geklärt.

7 Literaturverzeichnis

1. Adinolfi M (1985) The development of the human blood-CSF-brain barrier. *Dev.Med.Child Neurol.* 27 (4):532-537.
2. Akbarian S, Bunney WE, Jr., Potkin SG, Wigal SB, Hagman JO, Sandman CA, and Jones EG (1993) Altered distribution of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-diaphorase cells in frontal lobe of schizophrenics implies disturbances of cortical development. *Arch Gen Psychiatry* 50 (3):169-177.
3. Akbarian S, Kim JJ, Potkin SG, Hetrick WP, Bunney WE, Jr., and Jones EG (1996) Maldistribution of interstitial neurons in prefrontal white matter of the brains of schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 53 (5):425-436.
4. Akiyama K (1999) Serum levels of soluble IL-2 receptor alpha, IL-6 and IL-1 receptor antagonist in schizophrenia before and during neuroleptic administration. *Schizophr.Res.* 37 (1):97-106.
5. Akiyoshi M, Shimizu Y, and Saito M (1990) Interleukin-1 increases norepinephrine turnover in the spleen and lung in rats. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 173 (3):1266-1270.
6. Alexander HR, Doherty GM, Buresh CM, Venzon DJ, and Norton JA (1991) A recombinant human receptor antagonist to interleukin 1 improves survival after lethal endotoxemia in mice. *J.Exp.Med.* 173 (4):1029-1032.
7. Andreasen N, Nasrallah HA, Dunn V, Olson SC, Grove WM, Ehrhardt JC, Coffman JA, and Crossett JH (1986) Structural abnormalities in the frontal system in schizophrenia. A magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 43 (2):136-144.
8. Andreasen NC (2000) Schizophrenia: the fundamental questions. *Brain Res.Brain Res.Rev.* 31 (2-3):106-112.
9. Andreasen NC and Olsen S (1982) Negative versus positive schizophrenia. Definition and validation. *Arch Gen Psychiatry* 39 (7):789-794.
10. Andus T, Daig R, Vogl D, Aschenbrenner E, Lock G, Hollerbach S, Kollinger M, Scholmerich J, and Gross V (1997) Imbalance of the interleukin 1 system in colonic mucosa--association with intestinal inflammation and interleukin 1 receptor antagonist [corrected] genotype 2. *Gut* 41 (5):651-657.
11. Arbusow V, Schulz P, Strupp M, Dieterich M, von Reinhardtstoettner A, Rauch E, and Brandt T (1999) Distribution of herpes simplex virus type 1 in human geniculate and vestibular ganglia: implications for vestibular neuritis. *Ann.Neurol.* 46 (3):416-419.
12. Arend WP (1993) Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv.Immunol.* 54:167-227.
13. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, and Gabay C (1998) Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu.Rev.Immunol.* 16:27-55.

14. Arend WP, Malyak M, Smith MF, Jr., Whisenand TD, Slack JL, Sims JE, Giri JG, and Dower SK (1994) Binding of IL-1 alpha, IL-1 beta, and IL-1 receptor antagonist by soluble IL-1 receptors and levels of soluble IL-1 receptors in synovial fluids. *J.Immunol.* 153 (10):4766-4774.
15. Atwood WJ, Berger JR, Kaderman R, Tornatore CS, and Major EO (1993) Human immunodeficiency virus type 1 infection of the brain. *Clin Microbiol.Rev.* 6 (4):339-366.
16. Auron PE (1998) The interleukin 1 receptor: ligand interactions and signal transduction. *Cytokine Growth Factor Rev.* 9 (3-4):221-237.
17. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, and Dinarello CA (1984) Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 81 (24):7907-7911.
18. Baenkler HW (2000) *Diagnostik-Sicherung und Ausschluss*. In Baenkler HW (ed) *Medizinische Immunologie*. Landsberg/Lech: ecomed Verlagsgesellschaft.
19. Ban E, Milon G, Prudhomme N, Fillion G, and Haour F (1991) Receptors for interleukin-1 (alpha and beta) in mouse brain: mapping and neuronal localization in hippocampus. *Neuroscience* 43 (1):21-30.
20. Ban EM (1994) Interleukin-1 receptors in the brain: characterization by quantitative in situ autoradiography. *Immunomethods.* 5 (1):31-40.
21. Ban EM, Sarlieve LL, and Haour FG (1993) Interleukin-1 binding sites on astrocytes. *Neuroscience* 52 (3):725-733.
22. Banks WA and Kastin AJ (1991) Blood to brain transport of interleukin links the immune and central nervous systems. *Life Sci.* 48 (25):L117-L121.
23. Banks WA and Kastin AJ (1992) The interleukins-1 alpha, -1 beta, and -2 do not acutely disrupt the murine blood-brain barrier. *Int.J.Immunopharmacol.* 14 (4):629-636.
24. Banks WA, Kastin AJ, and Gutierrez EG (1993) Interleukin-1 alpha in blood has direct access to cortical brain cells. *Neurosci Lett.* 163 (1):41-44.
25. Banks WA, Ortiz L, Plotkin SR, and Kastin AJ (1991) Human interleukin (IL) 1 alpha, murine IL-1 alpha and murine IL-1 beta are transported from blood to brain in the mouse by a shared saturable mechanism. *J.Pharmacol Exp. Ther.* 259 (3):988-996.
26. Barondes SH, Alberts BM, Andreasen NC, Bargmann C, Benes F, Goldman-Rakic P, Gottesman I, Heinemann SF, Jones EG, Kirschner M, Lewis D, Raff M, Roses A, Rubenstein J, Snyder S, Watson SJ, Weinberger DR, and Yolken RH (1997) Workshop on schizophrenia. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 94 (5):1612-1614.

27. Barr CE, Mednick SA, and Munk-Jorgensen P (1990) Exposure to influenza epidemics during gestation and adult schizophrenia. A 40-year study. *Arch Gen Psychiatry* 47 (9):869-874.
28. Barton PT, Gerber S, Skupski DW, and Witkin SS (2003) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism, vaginal interleukin-1 receptor antagonist concentrations, and vaginal ureaplasma urealyticum colonization in pregnant women. *Infect.Immun.* 71 (1):271-274.
29. Bassett AS, McGillivray BC, Jones BD, and Pantzar JT (1988) Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *Lancet* 1 (8589):799-801.
30. Bayer TA, Falkai P, and Maier W (1999) Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". *J.Psychiatr.Res.* 33 (6):543-548.
31. Beal MF (1992) Mechanisms of excitotoxicity in neurologic diseases. *FASEB J.* 6 (15):3338-3344.
32. Becker T, Elmer K, Mechela B, Schneider F, Taubert S, Schroth G, Grodd W, Bartels M, and Beckmann H (1990) MRI findings in medial temporal lobe structures in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1 (1):83-86.
33. Bencsik A, Malcus C, Akaoka H, Giraudon P, Belin MF, and Bernard A (1996) Selective induction of cytokines in mouse brain infected with canine distemper virus: structural, cellular and temporal expression. *J.Neuroimmunol.* 65 (1):1-9.
34. Berkenbosch F, van Oers J, Del Rey A, Tilders F, and Besedovsky H (1987) Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science* 238 (4826):524-526.
35. Besedovsky HO and Del Rey A (1989) Interleukin-1 and glucose homeostasis: an example of the biological relevance of immune-neuroendocrine interactions. *Horm.Res.* 31 (1-2):94-99.
36. Black RA, Kronheim SR, Cantrell M, Deeley MC, March CJ, Prickett KS, Wignall J, Conlon PJ, Cosman D, Hopp TP, and . (1988) Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. *J.Biol.Chem.* 263 (19):9437-9442.
37. Blackwell TK, Bowerman B, Priess JR, and Weintraub H (1994) Formation of a monomeric DNA binding domain by Skn-1 bZIP and homeodomain elements. *Science* 266 (5185):621-628.
38. Blalock JE (1994) The syntax of immune-neuroendocrine communication. *Immunol.Today* 15 (11):504-511.
39. Bloom FE (1993) Advancing a neurodevelopmental origin for schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 50 (3):224-227.
40. Blouin JL, Dombroski BA, Nath SK, Lasseter VK, Wolyniec PS, Nestadt G, Thornquist M, Ullrich G, McGrath J, Kasch L, Lamacz M, Thomas MG, Gehrig C, Radhakrishna U, Snyder SE, Balk KG, Neufeld K, Swartz KL, DeMarchi N,

- Papadimitriou GN, Dikeos DG, Stefanis CN, Chakravarti A, Childs B, Pulver AE, and . (1998) Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21. *Nat.Genet.* 20 (1):70-73.
41. Bocchio Chiavetto L, Zanardini R, Scassellati C, Tura GB, Bignotti S, Rossi G, Michelato A, Popoli M, and Gennarelli M (2002) Association between IL-1 cluster and IL-10 gene polymorphisms and schizophrenia. *Am.J.Med.Genet.* 114 (7):843.
 42. Bogerts B, Ashtari M, Degreef G, Alvir JM, Bilder RM, and Lieberman JA (1990) Reduced temporal limbic structure volumes on magnetic resonance images in first episode schizophrenia. *Psychiatry Res.* 35 (1):1-13.
 43. Boraschi D, Bossu P, Ruggiero P, Tagliabue A, Bertini R, Macchia G, Gasbarro C, Pellegrini L, Melillo G, Ulisse E, and . (1995) Mapping of receptor binding sites on IL-1 beta by reconstruction of IL-1ra-like domains. *J.Immunol.* 155 (10):4719-4725.
 44. Breder CD, Dinarello CA, and Saper CB (1988) Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science* 240 (4850):321-324.
 45. Breen G, Brown J, Maude S, Fox H, Collier D, Li T, Arranz M, Shaw D, and StClair D (1999) -141 C del/ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *Am.J.Med.Genet.* 88 (4):407-410.
 46. Brody DT and Durum SK (1989) Membrane IL-1: IL-1 alpha precursor binds to the plasma membrane via a lectin-like interaction. *J.Immunol.* 143 (4):1183-1187.
 47. Brown AS, Cohen P, Harkavy-Friedman J, Babulas V, Malaspina D, Gorman JM, and Susser ES (2001) A.E. Bennett Research Award. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 49 (6):473-486.
 48. Brown AS, Schaefer CA, Wyatt RJ, Goetz R, Begg MD, Gorman JM, and Susser ES (2000) Maternal exposure to respiratory infections and adult schizophrenia spectrum disorders: a prospective birth cohort study. *Schizophr.Bull.* 26 (2):287-295.
 49. Bry K, Lappalainen U, Waffarn F, Teramo K, and Hallman M (1994) Influence of fetal gender on the concentration of interleukin-1 receptor antagonist in amniotic fluid and in newborn urine. *Pediatr.Res.* 35 (1):130-134.
 50. Brzustowicz LM, Hodgkinson KA, Chow EW, Honer WG, and Bassett AS (2000) Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science* 288 (5466):678-682.
 51. Brzustowicz LM, Honer WG, Chow EW, Little D, Hogan J, Hodgkinson K, and Bassett AS (1999) Linkage of familial schizophrenia to chromosome 13q32. *Am.J.Hum.Genet.* 65 (4):1096-1103.

52. Buchanan RW, Vladar K, Barta PE, and Pearlson GD (1998) Structural evaluation of the prefrontal cortex in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 155 (8):1049-1055.
53. Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Wagner RL, and Yolken RH (2001) Maternal cytokine levels during pregnancy and adult psychosis. *Brain Behav.Immun.* 15 (4):411-420.
54. Burger D, Chicheportiche R, Giri JG, and Dayer JM (1995) The inhibitory activity of human interleukin-1 receptor antagonist is enhanced by type II interleukin-1 soluble receptor and hindered by type I interleukin-1 soluble receptor. *J.Clin Invest* 96 (1):38-41.
55. Busfield SJ, Comrack CA, Yu G, Chickering TW, Smutko JS, Zhou H, Leiby KR, Holmgren LM, Gearing DP, and Pan Y (2000) Identification and gene organization of three novel members of the IL-1 family on human chromosome 2. *Genomics* 66 (2):213-216.
56. Buttini M, Sauter A, and Boddeke HW (1994) Induction of interleukin-1 beta mRNA after focal cerebral ischaemia in the rat. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 23 (1-2):126-134.
57. Cai Z, Pan ZL, Pang Y, Evans OB, and Rhodes PG (2000) Cytokine induction in fetal rat brains and brain injury in neonatal rats after maternal lipopolysaccharide administration. *Pediatr.Res.* 47 (1):64-72.
58. Campbell IL, Stalder AK, Akwa Y, Pagenstecher A, and Asensio VC (1998) Transgenic models to study the actions of cytokines in the central nervous system. *Neuroimmunomodulation.* 5 (3-4):126-135.
59. Cannon M, Jones PB, and Murray RM (2002) Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am.J.Psychiatry* 159 (7):1080-1092.
60. Cannon TD, Kaprio J, Lonnqvist J, Huttunen M, and Koskenvuo M (1998) The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry* 55 (1):67-74.
61. Cao Q, Martinez M, Zhang J, Sanders AR, Badner JA, Cravchik A, Markey CJ, Beshah E, Guroff JJ, Maxwell ME, Kazuba DM, Whiten R, Goldin LR, Gershon ES, and Gejman PV (1997) Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics* 43 (1):1-8.
62. Cao Z, Henzel WJ, and Gao X (1996a) IRAK: a kinase associated with the interleukin-1 receptor. *Science* 271 (5252):1128-1131.
63. Cao Z, Xiong J, Takeuchi M, Kurama T, and Goeddel DV (1996b) TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature* 383 (6599):443-446.
64. Carlsson A and Lindqvist M (1963) Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol* 20:140-144.

65. Carroll SG, Abbas A, Ville Y, Meher-Homji N, and Nicolaides KH (1995) Concentration of fetal plasma and amniotic fluid interleukin-1 in pregnancies complicated by preterm prelabour amniorrhexis. *J.Clin Pathol.* 48 (4):368-371.
66. Casini-Raggi V, Kam L, Chong YJ, Fiocchi C, Pizarro TT, and Cominelli F (1995) Mucosal imbalance of IL-1 and IL-1 receptor antagonist in inflammatory bowel disease. A novel mechanism of chronic intestinal inflammation. *J.Immunol.* 154 (5):2434-2440.
67. Catts VS and Catts SV (2000) Apoptosis and schizophrenia: is the tumour suppressor gene, p53, a candidate susceptibility gene? *Schizophr.Res.* 41 (3):405-415.
68. Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, March CJ, Kronheim SR, Druck T, Cannizzaro LA, and . (1992) Molecular cloning of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Science* 256 (5053):97-100.
69. Chiu YF, McGrath JA, Thornquist MH, Wolyniec PS, Nestadt G, Swartz KL, Lasseter VK, Liang KY, and Pulver AE (2002) Genetic heterogeneity in schizophrenia II: conditional analyses of affected schizophrenia sibling pairs provide evidence for an interaction between markers on chromosome 8p and 14q. *Mol.Psychiatry* 7 (6):658-664.
70. Choe W, Stoica G, Lynn W, and Wong PK (1998) Neurodegeneration induced by MoMuLV-ts1 and increased expression of Fas and TNF-alpha in the central nervous system. *Brain Res.* 779 (1-2):1-8.
71. Choi DW (1994) Calcium and excitotoxic neuronal injury. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 747:162-171.
72. Chowdari KV, Mirnics K, Semwal P, Wood J, Lawrence E, Bhatia T, Deshpande SN, B K T, Ferrell RE, Middleton FA, Devlin B, Levitt P, Lewis DA, and Nimgaonkar VL (2002) Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum.Mol.Genet.* 11 (12):1373-1380.
73. Chowdari KV, Xu K, Zhang F, Ma C, Li T, Xie BY, Wood J, Trucco M, Tsoi WF, Saha N, Rudert WA, and Nimgaonkar VL (2001) Immune related genetic polymorphisms and schizophrenia among the Chinese. *Hum.Immunol.* 62 (7):714-724.
74. Ciaranello AL and Ciaranello RD (1995) The neurobiology of infantile autism. *Annu.Rev.Neurosci* 18:101-128.
75. Clay FE, Cork MJ, Tarlow JK, Blakemore AI, Harrington CI, Lewis F, and Duff GW (1994) Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism association with lichen sclerosus. *Hum.Genet.* 94 (4):407-410.
76. Coffey CE, Sullivan JL, and Rice JR (1983) T lymphocytes in schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 18 (1):113-119.

77. Collins FS, Patrinos A, Jordan E, Chakravarti A, Gesteland R, and Walters L (1998) New goals for the U.S. Human Genome Project: 1998-2003. *Science* 282 (5389):682-689.
78. Colotta F, Dower SK, Sims JE, and Mantovani A (1994) The type II 'decoy' receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol.Today* 15 (12):562-566.
79. Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R, Polentarutti N, Sironi M, Giri JG, Dower SK, Sims JE, and Mantovani A (1993) Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 261 (5120):472-475.
80. Cominelli F, Nast CC, Clark BD, Schindler R, Lierena R, Eysselein VE, Thompson RC, and Dinarello CA (1990) Interleukin 1 (IL-1) gene expression, synthesis, and effect of specific IL-1 receptor blockade in rabbit immune complex colitis. *J.Clin Invest* 86 (3):972-980.
81. Coogan A and O'Connor JJ (1997) Inhibition of NMDA receptor-mediated synaptic transmission in the rat dentate gyrus in vitro by IL-1 beta. *Neuroreport* 8 (9-10):2107-2110.
82. Cork MJ, Tarlow JK, Blakemore AI, Mee JB, Crane AM, Stierle C, Bleehen SS, and Duff GW (1993) Psoriasis and interleukin-1. A translation. *J.R.Coll.Physicians Lond* 27 (4):366.
83. Cornell RP and Schwartz DB (1989) Central administration of interleukin 1 elicits hyperinsulinemia in rats. *Am.J.Physiol* 256 (3 Pt 2):R772-R777.
84. Cox A, Camp NJ, Nicklin MJ, di Giovine FS, and Duff GW (1998) An analysis of linkage disequilibrium in the interleukin-1 gene cluster, using a novel grouping method for multiallelic markers. *Am.J.Hum.Genet.* 62 (5):1180-1188.
85. Croston GE, Cao Z, and Goeddel DV (1995) NF-kappa B activation by interleukin-1 (IL-1) requires an IL-1 receptor-associated protein kinase activity. *J.Biol.Chem.* 270 (28):16514-16517.
86. Crow TJ (1980) Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *Br.J.Psychiatry* 137:383-386.
87. Crow TJ (1994) Prenatal exposure to influenza as a cause of schizophrenia. There are inconsistencies and contradictions in the evidence. *Br.J.Psychiatry* 164 (5):588-592.
88. Crusius JB, Pena AS, Van Oosten BW, Bioque G, Garcia A, Dijkstra CD, and Polman CH (1995) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and multiple sclerosis. *Lancet* 346 (8980):979.
89. Cunningham ET, Jr. and De Souza EB (1993) Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tissues. *Immunol.Today* 14 (4):171-176.
90. Cunningham ET, Jr., Wada E, Carter DB, Tracey DE, Battey JF, and De Souza EB (1991) Localization of interleukin-1 receptor messenger RNA in murine hippocampus. *Endocrinology* 128 (5):2666-2668.

91. Cunningham ET, Jr., Wada E, Carter DB, Tracey DE, Battey JF, and De Souza EB (1992) In situ histochemical localization of type I interleukin-1 receptor messenger RNA in the central nervous system, pituitary, and adrenal gland of the mouse. *J.Neurosci* 12 (3):1101-1114.
92. Daheshia M, Feldman LT, and Rouse BT (1998) Herpes simplex virus latency and the immune response. *Curr.Opin.Microbiol.* 1 (4):430-435.
93. Dammann O and Leviton A (1997) Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr.Res.* 42 (1):1-8.
94. Danis VA, Millington M, Hyland VJ, and Grennan D (1995) Cytokine production by normal human monocytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp.Immunol.* 99 (2):303-310.
95. Dauphinais ID, DeLisi LE, Crow TJ, Alexandropoulos K, Colter N, Tuma I, and Gershon ES (1990) Reduction in temporal lobe size in siblings with schizophrenia: a magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Res.* 35 (2):137-147.
96. Davis KL, Kahn RS, Ko G, and Davidson M (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am.J.Psychiatry* 148 (11):1474-1486.
97. De Jongh R, Vranken J, Vundelinckx G, Bosmans E, Maes M, and Heylen R (1997) The effects of anticoagulation and processing on assays of IL-6, sIL-6R, sIL-2R and soluble transferrin receptor. *Cytokine* 9 (9):696-701.
98. DeLisi LE, Boccio AM, Riordan H, Hoff AL, Dorfman A, McClelland J, Kushner M, Van Eyl O, and Oden N (1991) Familial thyroid disease and delayed language development in first admission patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 38 (1):39-50.
99. DeLisi LE and Crow TJ (1986) Is schizophrenia a viral or immunologic disorder? *Psychiatr.Clin North Am.* 9 (1):115-132.
100. DeLisi LE, Goodman S, Neckers LM, and Wyatt RJ (1982) An analysis of lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Biol.Psychiatry* 17 (9):1003-1009.
101. DeLisi LE, Hoff AL, Neale C, and Kushner M (1994) Asymmetries in the superior temporal lobe in male and female first-episode schizophrenic patients: measures of the planum temporale and superior temporal gyrus by MRI. *Schizophr.Res.* 12 (1):19-28.
102. DeLisi LE, Shaw SH, Crow TJ, Shields G, Smith AB, Larach VW, Wellman N, Loftus J, Nanthakumar B, Razi K, Stewart J, Comazzi M, Vita A, Heffner T, and Sherrington R (2002) A genome-wide scan for linkage to chromosomal regions in 382 sibling pairs with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am.J.Psychiatry* 159 (5):803-812.

103. DeLisi LE, Weber RJ, and Pert CB (1985) Are there antibodies against brain in sera from schizophrenic patients? Review and prospectus. *Biol.Psychiatry* 20 (1):110-115.
104. Denicoff KD, Rubinow DR, Papa MZ, Simpson C, Seipp CA, Lotze MT, Chang AE, Rosenstein D, and Rosenberg SA (1987) The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann.Intern.Med.* 107 (3):293-300.
105. di Giovine FS, Takhsh E, Blakemore AI, and Duff GW (1992) Single base polymorphism at -511 in the human interleukin-1 beta gene (IL1 beta). *Hum.Mol.Genet.* 1 (6):450.
106. Diana A, van Dam AM, Winblad B, and Schultzberg M (1999) Co-localization of interleukin-1 receptor type I and interleukin-1 receptor antagonist with vasopressin in magnocellular neurons of the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *Neuroscience* 89 (1):137-147.
107. Diefendorf AR (1902) *Clinical Psychiatry, a Text-Book for Students and Physicians Abstracted and Adapted from the Sixth German Edition of Kraepelin`s `Lehrbuch der Psychiatrie`*. New York: Macmillan.
108. Dinarello CA (1991) Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 77 (8):1627-1652.
109. Dinarello CA (1994a) The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw.* 5 (6):517-531.
110. Dinarello CA (1994b) The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J.* 8 (15):1314-1325.
111. Dinarello CA (1996) Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87 (6):2095-2147.
112. Dinarello CA (1998) Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev.Immunol.* 16 (5-6):457-499.
113. Dinarello CA and Thompson RC (1991) Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol.Today* 12 (11):404-410.
114. Dobyns WB, Elias ER, Newlin AC, Pagon RA, and Ledbetter DH (1992) Causal heterogeneity in isolated lissencephaly. *Neurology* 42 (7):1375-1388.
115. Dominici R, Cattaneo M, Malferrari G, Archi D, Mariani C, Grimaldi LM, and Biunno I (2002) Cloning and functional analysis of the allelic polymorphism in the transcription regulatory region of interleukin-1 alpha. *Immunogenetics* 54 (2):82-86.
116. Dower SK, Kronheim SR, March CJ, Conlon PJ, Hopp TP, Gillis S, and Urdal DL (1985) Detection and characterization of high affinity plasma membrane receptors for human interleukin 1. *J.Exp.Med.* 162 (2):501-515.

117. Drummond CW, Eglin RP, and Esiri MM (1994) Herpes simplex virus encephalitis in a mouse model: PCR evidence for CNS latency following acute infection. *J.Neurol.Sci.* 127 (2):159-163.
118. Dunn AJ (1988) Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. *Life Sci.* 43 (5):429-435.
119. Dunn AJ (1992) Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 261 (3):964-969.
120. Dworkin RH, Lenzenweger MF, Moldin SO, Skillings GF, and Levick SE (1988) A multidimensional approach to the genetics of schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 145 (9):1077-1083.
121. Eisenberg SP, Brewer MT, Verderber E, Heimdal P, Brandhuber BJ, and Thompson RC (1991) Interleukin 1 receptor antagonist is a member of the interleukin 1 gene family: evolution of a cytokine control mechanism. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 88 (12):5232-5236.
122. Eisenberg SP, Evans RJ, Arend WP, Verderber E, Brewer MT, Hannum CH, and Thompson RC (1990) Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature* 343 (6256):341-346.
123. El Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF, Jr., and Rabkin CS (2000) Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 404 (6776):398-402.
124. Ericsson A, Liu C, Hart RP, and Sawchenko PE (1995) Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation. *J.Comp Neurol.* 361 (4):681-698.
125. Falkai P, Honer WG, David S, Bogerts B, Majtenyi C, and Bayer TA (1999) No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study. *Neuropathol.Appl.Neurobiol.* 25 (1):48-53.
126. Falkai P, Schneider-Axmann T, and Honer WG (2000) Entorhinal cortex pre-alpha cell clusters in schizophrenia: quantitative evidence of a developmental abnormality. *Biol.Psychiatry* 47 (11):937-943.
127. Faraone SV, Matise T, Svrakic D, Pepple J, Malaspina D, Suarez B, Hampe C, Zambuto CT, Schmitt K, Meyer J, Markel P, Lee H, Harkavy FJ, Kaufmann C, Cloninger CR, and Tsuang MT (1998) Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium. *Am.J.Med.Genet.* 81 (4):290-295.
128. Farmer AE, McGuffin P, and Gottesman II (1987) Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition. *Arch Gen Psychiatry* 44 (7):634-641.

129. Farrar JJ, Mizel SB, Fuller-Farrar J, Farrar WL, and Hilfiker ML (1980) Macrophage-independent activation of helper T cells. I. Production of Interleukin 2. *J.Immunol.* 125 (2):793-798.
130. Farrar WL, Kilian PL, Ruff MR, Hill JM, and Pert CB (1987) Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain. *J.Immunol.* 139 (2):459-463.
131. Feinberg I (1982) Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence? *J.Psychiatr.Res.* 17 (4):319-334.
132. Ferretti M, Casini-Raggi V, Pizarro TT, Eisenberg SP, Nast CC, and Cominelli F (1994) Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis. *J.Clin Invest* 94 (1):449-453.
133. First MB, Spitzer RL, Gibbon M und Williams JBW. 1997. *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I and II Disorders*. Washington, DC: American Psychiatric Press.
134. Fletcher PC, McKenna PJ, Frith CD, Grasby PM, Friston KJ, and Dolan RJ (1998) Brain activations in schizophrenia during a graded memory task studied with functional neuroimaging. *Arch Gen Psychiatry* 55 (11):1001-1008.
135. Franzek E and Beckmann H (1996) [Genetic heterogeneity of schizophrenia. Results of a systematic twin study]. *Nervenarzt* 67 (7):583-594.
136. Freidin M, Bennett MV, and Kessler JA (1992) Cultured sympathetic neurons synthesize and release the cytokine interleukin 1 beta. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 89 (21):10440-10443.
137. Friedman WJ, Thakur S, Seidman L, and Rabson AB (1996) Regulation of nerve growth factor mRNA by interleukin-1 in rat hippocampal astrocytes is mediated by NFkappaB. *J.Biol.Chem.* 271 (49):31115-31120.
138. Frisbie DD, Sandler EA, Trotter GW, and McIlwraith CW (2000) Metabolic and mitogenic activities of insulin-like growth factor-1 in interleukin-1-conditioned equine cartilage. *Am.J.Vet.Res.* 61 (4):436-441.
139. Fukuda H, Masuzaki H, and Ishimaru T (2002) Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in amniotic fluid and cord blood in patients with pre-term, premature rupture of the membranes. *Int J.Gynaecol.Obstet.* 77 (2):123-129.
140. Funauchi M, Yamagata T, Nozaki Y, Sugiyama M, Ikoma SY, Kinoshita K, and Kanamaru A (2002) A case of systemic lupus erythematosus that manifested in the course of schizophrenia. *Scand.J.Rheumatol.* 31 (6):374-376.
141. Furutani Y, Notake M, Yamayoshi M, Yamagishi J, Nomura H, Ohue M, Furuta R, Fukui T, Yamada M, and Nakamura S (1985) Cloning and characterization of the cDNAs for human and rabbit interleukin-1 precursor. *Nucleic Acids Res.* 13 (16):5869-5882.

142. Ganguli R, Brar JS, Chengappa KN, Yang ZW, Nimgaonkar VL, and Rabin BS (1993) Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings. *Ann.Med.* 25 (5):489-496.
143. Ganguli R, Rabin BS, Kelly RH, Lyte M, and Ragu U (1987) Clinical and laboratory evidence of autoimmunity in acute schizophrenia. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 496:676-685.
144. Ganguli R, Yang Z, Shurin G, Chengappa KN, Brar JS, Gubbi AV, and Rabin BS (1994) Serum interleukin-6 concentration in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res.* 51 (1):1-10.
145. Garcia JH, Liu KF, and Relton JK (1995) Interleukin-1 receptor antagonist decreases the number of necrotic neurons in rats with middle cerebral artery occlusion. *Am.J.Pathol.* 147 (5):1477-1486.
146. Gehrke L, Jobling SA, Paik LS, McDonald B, Rosenwasser LJ, and Auron PE (1990) A point mutation uncouples human interleukin-1 beta biological activity and receptor binding. *J.Biol.Chem.* 265 (11):5922-5925.
147. Genc MR, Gerber S, Nesin M, and Witkin SS (2002) Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 187 (1):157-163.
148. Gery I and Waksman BH (1972) Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). *J.Exp.Med.* 136 (1):143-155.
149. Gillis S and Mizel SB (1981) T-Cell lymphoma model for the analysis of interleukin 1-mediated T-cell activation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 78 (2):1133-1137.
150. Gilvarry CM, Sham PC, Jones PB, Cannon M, Wright P, Lewis SW, Bebbington P, Toone BK, and Murray RM (1996) Family history of autoimmune diseases in psychosis. *Schizophr.Res.* 19 (1):33-40.
151. Giulian D, Baker TJ, Shih LC, and Lachman LB (1986) Interleukin 1 of the central nervous system is produced by ameboid microglia. *J.Exp.Med.* 164 (2):594-604.
152. Giulian D, Vaca K, and Johnson B (1988a) Secreted peptides as regulators of neuron-glia and glia-glia interactions in the developing nervous system. *J.Neurosci Res.* 21 (2-4):487-500.
153. Giulian D, Young DG, Woodward J, Brown DC, and Lachman LB (1988b) Interleukin-1 is an astroglial growth factor in the developing brain. *J.Neurosci* 8 (2):709-714.
154. Glazebrook H, Hatch T, and Brindle NP (1998) Regulation of insulin-like growth factor-1 expression in vascular endothelial cells by the inflammatory cytokine interleukin-1. *J.Vasc.Res.* 35 (3):143-149.

155. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H, Tolosa JE, and Rojas I (1995) Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol.* 22 (2):281-342.
156. Granowitz EV, Santos AA, Poutsika DD, Cannon JG, Wilmore DW, Wolff SM, and Dinarello CA (1991) Production of interleukin-1-receptor antagonist during experimental endotoxaemia. *Lancet* 338 (8780):1423-1424.
157. Gravett MG, Witkin SS, Haluska GJ, Edwards JL, Cook MJ, and Novy MJ (1994) An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkeys. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 171 (6):1660-1667.
158. Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, and Ju G (1995) Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J.Biol.Chem.* 270 (23):13757-13765.
159. Grimaldi LM, Casadei VM, Ferri C, Veglia F, Licastro F, Annoni G, Biunno I, De Bellis G, Sorbi S, Mariani C, Canal N, Griffin WS, and Franceschi M (2000) Association of early-onset Alzheimer's disease with an interleukin-1alpha gene polymorphism. *Ann.Neurol.* 47 (3):361-365.
160. Gurling HM, Kalsi G, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Sherrington R, Mankoo BS, Read T, Murphy P, Blaveri E, McQuillin A, Petursson H, and Curtis D (2001) Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *Am.J.Hum.Genet.* 68 (3):661-673.
161. Gutierrez EG, Banks WA, and Kastin AJ (1994) Blood-borne interleukin-1 receptor antagonist crosses the blood-brain barrier. *J.Neuroimmunol.* 55 (2):153-160.
162. Haack M, Hinze-Selch D, Fenzel T, Kraus T, Kuhn M, Schuld A, and Pollmacher T (1999) Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J.Psychiatr.Res.* 33 (5):407-418.
163. Hajek M, Huonker R, Boehle C, Volz HP, Nowak H, and Sauer H (1997) Abnormalities of auditory evoked magnetic fields and structural changes in the left hemisphere of male schizophrenics--a magnetoencephalographic-magnetic resonance imaging study. *Biol.Psychiatry* 42 (7):609-616.
164. Halliday GM (2001) A review of the neuropathology of schizophrenia. *Clin Exp.Pharmacol.Physiol* 28 (1-2):64-65.
165. Hamajima N, Matsuo K, Saito T, Tajima K, Okuma K, Yamao K, and Tominaga S (2001) Interleukin 1 polymorphisms, lifestyle factors, and Helicobacter pylori infection. *Jpn.J.Cancer Res.* 92 (4):383-389.
166. Hannum CH, Wilcox CJ, Arend WP, Joslin FG, Dripps DJ, Heimdal PL, Armes LG, Sommer A, Eisenberg SP, and Thompson RC (1990) Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor. *Nature* 343 (6256):336-340.

167. Hashimoto M, Ishikawa Y, Yokota S, Goto F, Bando T, Sakakibara Y, and Iriki M (1991) Action site of circulating interleukin-1 on the rabbit brain. *Brain Res.* 540 (1-2):217-223.
168. Haskill S, Martin G, Van Le L, Morris J, Peace A, Bigler CF, Jaffe GJ, Hammerberg C, Sporn SA, Fong S, and . (1991) cDNA cloning of an intracellular form of the human interleukin 1 receptor antagonist associated with epithelium. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 88 (9):3681-3685.
169. Hayashi S, Watanabe J, and Kawajiri K (1991) Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J.Biochem.(Tokyo)* 110 (4):559-565.
170. Hazuda DJ, Lee JC, and Young PR (1988) The kinetics of interleukin 1 secretion from activated monocytes. Differences between interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta. *J.Biol.Chem.* 263 (17):8473-8479.
171. Heath RG, McCarron KL, and O'Neil CE (1989) Antiseptal brain antibody in IgG of schizophrenic patients. *Biol.Psychiatry* 25 (6):725-733.
172. Heguy A, Baldari CT, Censini S, Ghiara P, and Telford JL (1993) A chimeric type II/type I interleukin-1 receptor can mediate interleukin-1 induction of gene expression in T cells. *J.Biol.Chem.* 268 (14):10490-10494.
173. Hendren RL, DeBacker I, and Pandina GJ (2000) Review of neuroimaging studies of child and adolescent psychiatric disorders from the past 10 years. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 39 (7):815-828.
174. Henneberg A, Riedl B, Dumke HO, and Kornhuber HH (1990) T-lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Neurol.Sci.* 239 (5):283-284.
175. Henneberg AE, Ruffert S, Henneberg HJ, and Kornhuber HH (1993) Antibodies to brain tissue in sera of schizophrenic patients--preliminary findings. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 242 (5):314-317.
176. Hetteema JM, Walsh D, and Kendler KS (1996) Testing the effect of season of birth on familial risk for schizophrenia and related disorders. *Br.J.Psychiatry* 168 (2):205-209.
177. Hirsch E, Irikura VM, Paul SM, and Hirsh D (1996) Functions of interleukin 1 receptor antagonist in gene knockout and overproducing mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93 (20):11008-11013.
178. Holst K, Andersen E, Philip J, and Henningsen I (1989) Antenatal and perinatal conditions correlated to handicap among 4-year-old children. *Am.J.Perinatol.* 6 (2):258-267.
179. Hopkins SJ and Rothwell NJ (1995) Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci* 18 (2):83-88.
180. Horai R, Asano M, Sudo K, Kanuka H, Suzuki M, Nishihara M, Takahashi M, and Iwakura Y (1998) Production of mice deficient in genes for interleukin (IL)-

- 1alpha, IL-1beta, IL-1alpha/beta, and IL-1 receptor antagonist shows that IL-1beta is crucial in turpentine-induced fever development and glucocorticoid secretion. *J.Exp.Med.* 187 (9):1463-1475.
181. Horai R, Saijo S, Tanioka H, Nakae S, Sudo K, Okahara A, Ikuse T, Asano M, and Iwakura Y (2000) Development of chronic inflammatory arthropathy resembling rheumatoid arthritis in interleukin 1 receptor antagonist-deficient mice. *J.Exp.Med.* 191 (2):313-320.
182. Hosoi T, Okuma Y, and Nomura Y (2002) Leptin induces IL-1 receptor antagonist expression in the brain. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 294 (2):215-219.
183. Howard JS, III (1996) Herpes encephalitis, schizophrenia and the crossroads of psychiatry. *Integr.Physiol Behav.Sci.* 31 (3):219-223.
184. Huang J, Gao X, Li S, and Cao Z (1997) Recruitment of IRAK to the interleukin 1 receptor complex requires interleukin 1 receptor accessory protein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 94 (24):12829-12832.
185. Hulkkonen J, Laippala P, and Hurme M (2000) A rare allele combination of the interleukin-1 gene complex is associated with high interleukin-1 beta plasma levels in healthy individuals. *Eur Cytokine Netw.* 11 (2):251-255.
186. Hultman CM, Sparen P, Takei N, Murray RM, and Cnattingius S (1999) Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia, affective psychosis, and reactive psychosis of early onset: case-control study. *BMJ* 318 (7181):421-426.
187. Hurme M and Helminen M (1998a) Polymorphism of the IL-1 gene complex in Epstein-Barr virus seronegative and seropositive adult blood donors. *Scand.J.Immunol.* 48 (3):219-222.
188. Hurme M and Helminen M (1998b) Resistance to human cytomegalovirus infection may be influenced by genetic polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Scand.J.Infect.Dis.* 30 (5):447-449.
189. Hurme M and Santtila S (1998) IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) plasma levels are co-ordinately regulated by both IL-1Ra and IL-1beta genes. *Eur J.Immunol.* 28 (8):2598-2602.
190. Inayama Y, Yoneda H, Sakai T, Ishida T, Nonomura Y, Kono Y, Takahata R, Koh J, Sakai J, Takai A, Inada Y, and Asaba H (1996) Positive association between a DNA sequence variant in the serotonin 2A receptor gene and schizophrenia. *Am.J.Med.Genet.* 67 (1):103-105.
191. Izumoto Y, Inoue S, and Yasuda N (1999) Schizophrenia and the influenza epidemics of 1957 in Japan. *Biol.Psychiatry* 46 (1):119-124.
192. Jablensky A and Cole SW (1997) Is the earlier age at onset of schizophrenia in males a confounded finding? Results from a cross-cultural investigation. *Br.J.Psychiatry* 170:234-240.

193. Jakob H and Beckmann H (1986) Prenatal developmental disturbances in the limbic allocortex in schizophrenics. *J.Neural Transm.* 65 (3-4):303-326.
194. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ (2002) *Signalgebung durch Rezeptoren des Immunsystems*. In Janeway CA et al (eds) *Immunologie*, 5. Auflage ed. Heidelberg-Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH.
195. Jones GH, Kelly CL, and Davies JA (1987) HIV and onset of schizophrenia. *Lancet* 1 (8539):982.
196. Jones P and Cannon M (1998) The new epidemiology of schizophrenia. *Psychiatr.Clin North Am.* 21 (1):1-25.
197. Jones PB, Rantakallio P, Hartikainen AL, Isohanni M, and Sipila P (1998) Schizophrenia as a long-term outcome of pregnancy, delivery, and perinatal complications: a 28-year follow-up of the 1966 north Finland general population birth cohort. *Am.J.Psychiatry* 155 (3):355-364.
198. Jongbloet PH, van Soestbergen M, and van der Veen EA (1988) Month-of-birth distribution of diabetics and ovopathy: a new aetiological view. *Diabetes Res.* 9 (2):51-58.
199. Katila H, Appelberg B, Hurme M, and Rimon R (1994) Plasma levels of interleukin-1 beta and interleukin-6 in schizophrenia, other psychoses, and affective disorders. *Schizophr.Res.* 12 (1):29-34.
200. Katila H, Hanninen K, and Hurme M (1999) Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol.Psychiatry* 4 (2):179-181.
201. Kavita U and Mizel SB (1995) Differential sensitivity of interleukin-1 alpha and -beta precursor proteins to cleavage by calpain, a calcium-dependent protease. *J.Biol.Chem.* 270 (46):27758-27765.
202. Kawaguchi Y, Tochimoto A, Ichikawa N, Harigai M, Hara M, Kotake S, Kitamura Y, and Kamatani N (2003) Association of IL1A gene polymorphisms with susceptibility to and severity of systemic sclerosis in the Japanese population. *Arthritis Rheum.* 48 (1):186-192.
203. Keane KM, Giegel DA, Lipinski WJ, Callahan MJ, and Shivers BD (1995) Cloning, tissue expression and regulation of rat interleukin 1 beta converting enzyme. *Cytokine* 7 (2):105-110.
204. Kelly RH, Ganguli R, and Rabin BS (1987) Antibody to discrete areas of the brain in normal individuals and patients with schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 22 (12):1488-1491.
205. Kendler KS and Diehl SR (1993) The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr.Bull.* 19 (2):261-285.
206. Kendler KS and Gardner CO (1997) The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. *Psychol.Med.* 27 (2):411-419.

207. Kendler KS, Gruenberg AM, and Kinney DK (1994) Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 51 (6):456-468.
208. Kendler KS, MacLean CJ, O'Neill FA, Burke J, Murphy B, Duke F, Shinkwin R, Easter SM, Webb BT, Zhang J, Walsh D, and Straub RE (1996) Evidence for a schizophrenia vulnerability locus on chromosome 8p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families. *Am.J.Psychiatry* 153 (12):1534-1540.
209. Kendler KS, McGuire M, Gruenberg AM, and Walsh D (1995) Schizotypal symptoms and signs in the Roscommon Family Study. Their factor structure and familial relationship with psychotic and affective disorders. *Arch Gen Psychiatry* 52 (4):296-303.
210. Kent S, Bluth RM, Kelley KW, and Dantzer R (1992) Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci.* 13 (1):24-28.
211. Kety SS, Wender PH, Jacobsen B, Ingraham LJ, Jansson L, Faber B, and Kinney DK (1994) Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry* 51 (6):442-455.
212. Kilian PL, Kaffka KL, Stern AS, Woehle D, Benjamin WR, DeChiara TM, Gubler U, Farrar JJ, Mizel SB, and Lomedico PT (1986) Interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta bind to the same receptor on T cells. *J.Immunol.* 136 (12):4509-4514.
213. Kirch DG (1993) Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. *Schizophr.Bull.* 19 (2):355-370.
214. Kluger MJ (1991) Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev.* 71 (1):93-127.
215. Kluger MJ, Kozak W, Leon LR, Soszynski D, and Conn CA (1998) Fever and antipyresis. *Prog.Brain Res.* 115:465-475.
216. Knight J, Knight A, and Ungvari G (1992) Can autoimmune mechanisms account for the genetic predisposition to schizophrenia? *Br.J.Psychiatry* 160:533-540.
217. Knight JG (1982) Dopamine-receptor-stimulating autoantibodies: a possible cause of schizophrenia. *Lancet* 2 (8307):1073-1076.
218. Kobayashi Y, Oppenheim JJ, and Matsushima K (1991) Human pre-interleukin 1 alpha and beta: structural features revealed by limited proteolysis. *Chem.Pharm.Bull.(Tokyo)* 39 (6):1513-1517.
219. Kobayashi Y, Yamamoto K, Saido T, Kawasaki H, Oppenheim JJ, and Matsushima K (1990) Identification of calcium-activated neutral protease as a processing enzyme of human interleukin 1 alpha. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 87 (14):5548-5552.

220. Korherr C, Hofmeister R, Wesche H, and Falk W (1997) A critical role for interleukin-1 receptor accessory protein in interleukin-1 signaling. *Eur J.Immunol.* 27 (1):262-267.
221. Kraepelin E (1896) *Dementia praecox*. Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte, 5. Auflage ed. Leipzig: Barth.
222. Kramer MS, Usher RH, Pollack R, Boyd M, and Usher S (1997) Etiologic determinants of abruptio placentae. *Obstet.Gynecol.* 89 (2):221-226.
223. Kringlen E (1976) Twins--still our best method. *Schizophr.Bull.* 2 (3):429-433.
224. Kronfol Z and Remick DG (2000) Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am.J.Psychiatry* 157 (5):683-694.
225. Krueger JM, Fang J, Taishi P, Chen Z, Kushikata T, and Gardi J (1998) Sleep. A physiologic role for IL-1 beta and TNF-alpha. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 856:148-159.
226. Krueger JM and Majde JA (1994) Microbial products and cytokines in sleep and fever regulation. *Crit Rev.Immunol.* 14 (3-4):355-379.
227. Kruger KW (1984) [Lupus erythematosus and the central nervous system]. *Nervenarzt* 55 (4):165-172.
228. Kudelova M, Rajcani J, Pogady J, and Sramka M (1988) Herpes simplex virus DNA in the brain of psychotic patients. *Acta Virol.* 32 (5):455-460.
229. Kuno K, Okamoto S, Hirose K, Murakami S, and Matsushima K (1993) Structure and function of the intracellular portion of the mouse interleukin 1 receptor (type I). Determining the essential region for transducing signals to activate the interleukin 8 gene. *J.Biol.Chem.* 268 (18):13510-13518.
230. Kunugi H, Nanko S, Takei N, Saito K, Hayashi N, and Kazamatsuri H (1995) Schizophrenia following in utero exposure to the 1957 influenza epidemics in Japan. *Am.J.Psychiatry* 152 (3):450-452.
231. Kunugi H, Urushibara T, Murray RM, Nanko S, and Hirose T (2003) Prenatal underdevelopment and schizophrenia: a case report of monozygotic twins. *Psychiatry Clin Neurosci* 57 (3):271-274.
232. Kurtz G and Müller N (1994) The antiphospholipid syndrome and psychosis. *Am.J.Psychiatry* 151 (12):1841-1842.
233. Labow M, Shuster D, Zetterstrom M, Nunes P, Terry R, Cullinan EB, Bartfai T, Solorzano C, Moldawer LL, Chizzonite R, and McIntyre KW (1997) Absence of IL-1 signaling and reduced inflammatory response in IL-1 type I receptor-deficient mice. *J.Immunol.* 159 (5):2452-2461.
234. Lander ES and Schork NJ (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* 265 (5181):2037-2048.

235. Laurent C, Thibaut F, Ravassard P, Campion D, Samolyk D, Lafargue C, Petit M, Martinez M, and Mallet J (1997) Detection of two new polymorphic sites in the human interleukin-1 beta gene: lack of association with schizophrenia in a French population. *Psychiatr.Genet.* 7 (3):103-105.
236. Lawrence CB, Allan SM, and Rothwell NJ (1998) Interleukin-1beta and the interleukin-1 receptor antagonist act in the striatum to modify excitotoxic brain damage in the rat. *Eur J.Neurosci* 10 (3):1188-1195.
237. Lechan RM, Toni R, Clark BD, Cannon JG, Shaw AR, Dinarello CA, and Reichlin S (1990) Immunoreactive interleukin-1 beta localization in the rat forebrain. *Brain Res.* 514 (1):135-140.
238. Lee SC, Dickson DW, Liu W, and Brosnan CF (1993) Induction of nitric oxide synthase activity in human astrocytes by interleukin-1 beta and interferon-gamma. *J.Neuroimmunol.* 46 (1-2):19-24.
239. Levinson DF, Holmans P, Straub RE, Owen MJ, Wildenauer DB, Gejman PV, Pulver AE, Laurent C, Kendler KS, Walsh D, Norton N, Williams NM, Schwab SG, Lerer B, Mowry BJ, Sanders AR, Antonarakis SE, Blouin JL, Deleuze JF, and Mallet J (2000) Multicenter linkage study of schizophrenia candidate regions on chromosomes 5q, 6q, 10p, and 13q: schizophrenia linkage collaborative group III. *Am.J.Hum.Genet.* 67 (3):652-663.
240. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, Williams NM, Schwab SG, Pulver AE, Faraone SV, Brzustowicz LM, Kaufmann CA, Garver DL, Gurling HM, Lindholm E, Coon H, Moises HW, Byerley W, Shaw SH, Mesen A, Sherrington R, O'Neill FA, Walsh D, Kendler KS, Ekelund J, Paunio T, Lonnqvist J, Peltonen L, O'Donovan MC, Owen MJ, Wildenauer DB, Maier W, Nestadt G, Blouin JL, Antonarakis SE, Mowry BJ, Silverman JM, Crowe RR, Cloninger CR, Tsuang MT, Malaspina D, Harkavy-Friedman JM, Svrakic DM, Bassett AS, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoega T, and Helgason T (2003) Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *Am.J.Hum.Genet.* 73 (1):34-48.
241. Lewis MS (1989) Age incidence and schizophrenia: Part I. The season of birth controversy. *Schizophr.Bull.* 15 (1):59-73.
242. Lewis S (1996) Structural brain imaging in biological psychiatry. *Br.Med.Bull.* 52 (3):465-473.
243. Licinio J, Wong ML, and Gold PW (1991) Localization of interleukin-1 receptor antagonist mRNA in rat brain. *Endocrinology* 129 (1):562-564.
244. Limosin F, Rouillon F, Payan C, Cohen JM, and Strub N (2003) Prenatal exposure to influenza as a risk factor for adult schizophrenia. *Acta Psychiatr.Scand.* 107 (5):331-335.
245. Lin A, Kenis G, Bignotti S, Tura GJ, De Jong R, Bosmans E, Pioli R, Altamura C, Scharpe S, and Maes M (1998) The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr.Res.* 32 (1):9-15.

246. Lindholm D, Heumann R, Meyer M, and Thoenen H (1987) Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature* 330 (6149):658-659.
247. Lindholm E, Ekholm B, Shaw S, Jalonen P, Johansson G, Pettersson U, Sherrington R, Adolfsson R, and Jazin E (2001) A schizophrenia-susceptibility locus at 6q25, in one of the world's largest reported pedigrees. *Am.J.Hum.Genet.* 69 (1):96-105.
248. Liu T, McDonnell PC, Young PR, White RF, Siren AL, Hallenbeck JM, Barone FC, and Feurestein GZ (1993) Interleukin-1 beta mRNA expression in ischemic rat cortex. *Stroke* 24 (11):1746-1750.
249. Loddick SA and Rothwell NJ (1996) Neuroprotective effects of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in focal cerebral ischaemia in the rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 16 (5):932-940.
250. Loughlin J, Dowling B, Mustafa Z, and Chapman K (2002) Association of the interleukin-1 gene cluster on chromosome 2q13 with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 46 (6):1519-1527.
251. Lowenthal JW, Cerottini JC, and MacDonald HR (1986) Interleukin 1-dependent induction of both interleukin 2 secretion and interleukin 2 receptor expression by thymoma cells. *J.Immunol.* 137 (4):1226-1231.
252. Luomala M, Lehtimäki T, Elovaara I, Wang X, Ukkonen M, Mattila K, Laippala P, Koivula T, and Hurme M (2001) A study of interleukin-1 cluster genes in susceptibility to and severity of multiple sclerosis. *J.Neurol.Sci.* 185 (2):123-127.
253. MacSweeney D, Timms P, and Johnson A (1978) Thyro-endocrine pathology, obstetric morbidity and schizophrenia: survey of a hundred families with a schizophrenic proband. *Psychol.Med.* 8 (1):151-155.
254. Maes M, Bocchio CL, Bignotti S, Battista TG, Pioli R, Boin F, Kenis G, Bosmans E, De Jongh R, Lin A, Racagni G, and Altamura CA (2000) Effects of atypical antipsychotics on the inflammatory response system in schizophrenic patients resistant to treatment with typical neuroleptics. *Eur Neuropsychopharmacol.* 10 (2):119-124.
255. Maes M, Bosmans E, Kenis G, De Jong R, Smith RS, and Meltzer HY (1997) In vivo immunomodulatory effects of clozapine in schizophrenia. *Schizophr.Res.* 26 (2-3):221-225.
256. Maes M, Bosmans E, Ranjan R, Vandoolaeghe E, Meltzer HY, De Ley M, Berghmans R, Stans G, and Desnyder R (1996) Lower plasma CC16, a natural anti-inflammatory protein, and increased plasma interleukin-1 receptor antagonist in schizophrenia: effects of antipsychotic drugs. *Schizophr.Res.* 21 (1):39-50.
257. Maier W, Lichtermann D, Rietschel M, Held T, Falkai P, Wagner M, and Schwab S (1999) [Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings]. *Nervenarzt* 70 (11):955-969.

258. Maier W und Schwab S (1999) *Genetische Determination häufiger psychischer Störungen*. In Ganten D, Ruckpaul K. (eds) Handbuch der molekularen Medizin. Berlin Heidelberg: Springer.
259. Malyak M, Guthridge JM, Hance KR, Dower SK, Freed JH, and Arend WP (1998a) Characterization of a low molecular weight isoform of IL-1 receptor antagonist. *J.Immunol.* 161 (4):1997-2003.
260. Malyak M, Smith MF, Jr., Abel AA, Hance KR, and Arend WP (1998b) The differential production of three forms of IL-1 receptor antagonist by human neutrophils and monocytes. *J.Immunol.* 161 (4):2004-2010.
261. Mandrup-Poulsen T, Pociot F, Molvig J, Shapiro L, Nilsson P, Emdal T, Roder M, Kjems LL, Dinarello CA, and Nerup J (1994) Monokine antagonism is reduced in patients with IDDM. *Diabetes* 43 (10):1242-1247.
262. March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K, and . (1985) Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 315 (6021):641-647.
263. Martin M, Bol GF, Eriksson A, Resch K, and Brigelius-Flohe R (1994) Interleukin-1-induced activation of a protein kinase co-precipitating with the type I interleukin-1 receptor in T cells. *Eur J.Immunol.* 24 (7):1566-1571.
264. Martinez M, Goldin LR, Cao Q, Zhang J, Sanders AR, Nancarrow DJ, Taylor JM, Levinson DF, Kirby A, Crowe RR, Andreasen NC, Black DW, Silverman JM, Lennon DP, Nertney DA, Brown DM, Mowry BJ, Gershon ES, and Gejman PV (1999) Follow-up study on a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 6q. *Am.J.Med.Genet.* 88 (4):337-343.
265. Mason JL, Suzuki K, Chaplin DD, and Matsushima GK (2001) Interleukin-1beta promotes repair of the CNS. *J.Neurosci* 21 (18):7046-7052.
266. Matsuda M, Sakamoto N, and Fukumaki Y (1992) Delta-thalassemia caused by disruption of the site for an erythroid-specific transcription factor, GATA-1, in the delta-globin gene promoter. *Blood* 80 (5):1347-1351.
267. Maynard TM, Sikich L, Lieberman JA, and LaMantia AS (2001) Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophr.Bull.* 27 (3):457-476.
268. McAllister CG, van Kammen DP, Rehn TJ, Miller AL, Gurklis J, Kelley ME, Yao J, and Peters JL (1995) Increases in CSF levels of interleukin-2 in schizophrenia: effects of recurrence of psychosis and medication status. *Am.J.Psychiatry* 152 (9):1291-1297.
269. McCarley RW, Shenton ME, O'Donnell BF, Faux SF, Kikinis R, Nestor PG, and Jolesz FA (1993) Auditory P300 abnormalities and left posterior superior temporal gyrus volume reduction in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 50 (3):190-197.

270. McDowell TL, Symons JA, Ploski R, Forre O, and Duff GW (1995) A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum.* 38 (2):221-228.
271. McGue M and Gottesman II (1989) Genetic linkage in schizophrenia: perspectives from genetic epidemiology. *Schizophr.Bull.* 15 (3):453-464.
272. McGuffin P and Owen MJ (1996) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Cold Spring Harb.Symp.Quant.Biol.* 61:815-822.
273. McGuffin P, Owen MJ, and Farmer AE (1995) Genetic basis of schizophrenia. *Lancet* 346 (8976):678-682.
274. McIntyre KW, Stepan GJ, Kolinsky KD, Benjamin WR, Plocinski JM, Kaffka KL, Campen CA, Chizzonite RA, and Kilian PL (1991) Inhibition of interleukin 1 (IL-1) binding and bioactivity in vitro and modulation of acute inflammation in vivo by IL-1 receptor antagonist and anti-IL-1 receptor monoclonal antibody. *J.Exp.Med.* 173 (4):931-939.
275. McMahan CJ, Slack JL, Mosley B, Cosman D, Lupton SD, Brunton LL, Grubin CE, Wignall JM, Jenkins NA, Brannan CI, and . (1991) A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J.* 10 (10):2821-2832.
276. McNeil TF, Cantor-Graae E, and Weinberger DR (2000) Relationship of obstetric complications and differences in size of brain structures in monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 157 (2):203-212.
277. Mednick SA, Machon RA, Huttunen MO, and Bonett D (1988) Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. *Arch Gen Psychiatry* 45 (2):189-192.
278. Meisenzahl EM, Rujescu D, Kirner A, Giegling I, Kathmann N, Leinsinger G, Maag K, Hegerl U, Hahn K, and Moller HJ (2001) Association of an interleukin-1beta genetic polymorphism with altered brain structure in patients with schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 158 (8):1316-1319.
279. Menninger K (1919) Psychoses associated with influenza. *Journal of the American Medical Association* 72:235-241.
280. Menninger K (1926) Influenza and schizophrenia: An analysis of post-influenza "dementia praecox" as of 1918 and five years later. *American Journal of Psychiatry* 5:469-529.
281. Merrill JE (1992) Tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 and related cytokines in brain development: normal and pathological. *Dev.Neurosci* 14 (1):1-10.
282. Merrill JE and Jonakait GM (1995) Interactions of the nervous and immune systems in development, normal brain homeostasis, and disease. *FASEB J.* 9 (8):611-618.

283. Miller LC, Isa S, LoPreste G, Schaller JG, and Dinarello CA (1990) Neonatal interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor: cord blood levels and cellular production. *J.Pediatr.* 117 (6):961-965.
284. Minami M, Kuraishi Y, Yabuuchi K, Yamazaki A, and Satoh M (1992) Induction of interleukin-1 beta mRNA in rat brain after transient forebrain ischemia. *J.Neurochem.* 58 (1):390-392.
285. Minami M, Kuraishi Y, Yamaguchi T, Nakai S, Hirai Y, and Satoh M (1990) Convulsants induce interleukin-1 beta messenger RNA in rat brain. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 171 (2):832-837.
286. Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD, Lewis DA, and Levitt P (2001) Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol.Psychiatry* 6 (3):293-301.
287. Mitchell MD, Trautman MS, and Dudley DJ (1993) Cytokine networking in the placenta. *Placenta* 14 (3):249-275.
288. Moises HW, Ruger R, Reynolds GP, and Fleckenstein B (1988) Human cytomegalovirus DNA in the temporal cortex of a schizophrenic patient. *Eur Arch Psychiatry Neurol.Sci.* 238 (2):110-113.
289. Möller HJ (2001) *Schizophrenie*. In Möller HJ, Laux G, Deister A (eds) *Psychiatrie und Psychotherapie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
290. Möller HJ und Deister A (2000) *Schizophrenie*. In Möller HJ, Laux G, Kapfhammer HP (eds) *Psychiatrie und Psychotherapie*. Berlin-Heidelberg: Springer.
291. Mosley B, Urdal DL, Prickett KS, Larsen A, Cosman D, Conlon PJ, Gillis S, and Dower SK (1987) The interleukin-1 receptor binds the human interleukin-1 alpha precursor but not the interleukin-1 beta precursor. *J.Biol.Chem.* 262 (7):2941-2944.
292. Mousa A, Seiger A, Kjaeldgaard A, and Bakhiet M (1999) Human first trimester forebrain cells express genes for inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *Cytokine* 11 (1):55-60.
293. Mowry BJ, Ewen KR, Nancarrow DJ, Lennon DP, Nertney DA, Jones HL, O'Brien MS, Thornley CE, Walters MK, Crowe RR, Silverman JM, Endicott J, Sharpe L, Hayward NK, Gladis MM, Foote SJ, and Levinson DF (2000) Second stage of a genome scan of schizophrenia: study of five positive regions in an expanded sample. *Am.J.Med.Genet.* 96 (6):864-869.
294. Mukherjee S, Schnur DB, and Reddy R (1989) Family history of type 2 diabetes in schizophrenic patients. *Lancet* 1 (8636):495.
295. Müller N (1997) [Role of the cytokine network in the CNS and psychiatric disorders]. *Nervenarzt* 68 (1):11-20.

296. Müller N and Ackenheil M (1998) Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 22 (1):1-33.
297. Müller N, Ackenheil M, Hofschuster E, Mempel W, and Eckstein R (1993) Cellular immunity, HLA-class I antigens, and family history of psychiatric disorder in endogenous psychoses. *Psychiatry Res.* 48 (3):201-217.
298. Müller N, Gizycki-Nienhaus B, Gunther W, and Meurer M (1992) Depression as a cerebral manifestation of scleroderma: immunological findings in serum and cerebrospinal fluid. *Biol.Psychiatry* 31 (11):1151-1156.
299. Müller N, Riedel M, Scheppach C, Brandstatter B, Sokullu S, Krampe K, Ulmschneider M, Engel RR, Moller HJ, and Schwarz MJ (2002) Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 159 (6):1029-1034.
300. Mullis KB (1990) The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci.Am.* 262 (4):56-5.
301. Murray RM, O'Callaghan E, Castle DJ, and Lewis SW (1992) A neurodevelopmental approach to the classification of schizophrenia. *Schizophr.Bull.* 18 (2):319-332.
302. Naudin J, Capo C, Giusano B, Mege JL, and Azorin JM (1997) A differential role for interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in schizophrenia? *Schizophr.Res.* 26 (2-3):227-233.
303. Naudin J, Mege JL, Azorin JM, and Dassa D (1996) Elevated circulating levels of IL-6 in schizophrenia. *Schizophr.Res.* 20 (3):269-273.
304. Nawa H, Takahashi M, and Patterson PH (2000) Cytokine and growth factor involvement in schizophrenia--support for the developmental model. *Mol.Psychiatry* 5 (6):594-603.
305. Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, and Riordan HJ (1998) Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging: a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry* 55 (5):433-440.
306. Nicklin MJ, Barton JL, Nguyen M, FitzGerald MG, Duff GW, and Kornman K (2002) A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics* 79 (5):718-725.
307. Nicklin MJ, Hughes DE, Barton JL, Ure JM, and Duff GW (2000) Arterial inflammation in mice lacking the interleukin 1 receptor antagonist gene. *J.Exp.Med.* 191 (2):303-312.
308. Nicklin MJ, Weith A, and Duff GW (1994) A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Genomics* 19 (2):382-384.
309. Nieto-Sampedro M and Berman MA (1987) Interleukin-1-like activity in rat brain: sources, targets, and effect of injury. *J.Neurosci Res.* 17 (3):214-219.

310. Nikkila H, Muller K, Ahokas A, Miettinen K, Andersson LC, and Rimon R (1995) Abnormal distributions of T-lymphocyte subsets in the cerebrospinal fluid of patients with acute schizophrenia. *Schizophr.Res.* 14 (3):215-221.
311. Norris JG and Benveniste EN (1993) Interleukin-6 production by astrocytes: induction by the neurotransmitter norepinephrine. *J.Neuroimmunol.* 45 (1-2):137-145.
312. Nothwang HG, Strahm B, Denich D, Kubler M, Schwabe J, Gingrich JC, Jauch A, Cox A, Nicklin MJ, Kurnit DM, and Hildebrandt F (1997) Molecular cloning of the interleukin-1 gene cluster: construction of an integrated YAC/PAC contig and a partial transcriptional map in the region of chromosome 2q13. *Genomics* 41 (3):370-378.
313. O'Callaghan E, Sham PC, Takei N, Murray G, Glover G, Hare EH, and Murray RM (1994) The relationship of schizophrenic births to 16 infectious diseases. *Br.J.Psychiatry* 165 (3):353-356.
314. Ohlsson K, Bjork P, Bergenfeldt M, Hageman R, and Thompson RC (1990) Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature* 348 (6301):550-552.
315. Onstad S, Skre I, Torgersen S, and Kringlen E (1991) Twin concordance for DSM-III-R schizophrenia. *Acta Psychiatr.Scand.* 83 (5):395-401.
316. Opp MR and Krueger JM (1994) Interleukin-1 is involved in responses to sleep deprivation in the rabbit. *Brain Res.* 639 (1):57-65.
317. Owen MJ (2000) Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res.Brain Res.Rev.* 31 (2-3):179-186.
318. Pandey RS, Gupta AK, and Chaturvedi UC (1981) Autoimmune model of schizophrenia with special reference to antibrain antibodies. *Biol.Psychiatry* 16 (12):1123-1136.
319. Papiol S, Martin B, Rosa A, Gutierrez B, Arias B, Salgado P, Catalan R, Gasto C, and Fananas L (2002) The haplotype combination allele 1 (IL-1B)/allele 2 (IL-1RN) at the interleukin-1 locus is associated with risk to schizophrenia and bipolar disorder. *Am.J.Med.Genet.* 114 (7):734.
320. Parnet P, Amindari S, Wu C, Brunke-Reese D, Goujon E, Weyhenmeyer JA, Dantzer R, and Kelley KW (1994) Expression of type I and type II interleukin-1 receptors in mouse brain. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 27 (1):63-70.
321. Passarge E. 1994. *Taschenatlas der Genetik.* Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
322. Patterson PH and Nawa H (1993) Neuronal differentiation factors/cytokines and synaptic plasticity. *Cell* 72 Suppl:123-137.
323. Perry SW (1990) Organic mental disorders caused by HIV: update on early diagnosis and treatment. *Am.J.Psychiatry* 147 (6):696-710.

324. Plata-Salaman CR (1998) Cytokine-induced anorexia. Behavioral, cellular, and molecular mechanisms. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 856:160-170.
325. Plata-Salaman CR and French-Mullen JM (1992) Interleukin-1 beta depresses calcium currents in CA1 hippocampal neurons at pathophysiological concentrations. *Brain Res.Bull.* 29 (2):221-223.
326. Plata-Salaman CR, Sonti G, Borkoski JP, Wilson CD, and French-Mullen JM (1996) Anorexia induced by chronic central administration of cytokines at estimated pathophysiological concentrations. *Physiol Behav.* 60 (3):867-875.
327. Plata-Salaman CR, Wilson CD, and French-Mullen JM (1998) In vivo IL-1beta-induced modulation of G-protein alphaO subunit subclass in the hypothalamic ventromedial nucleus: implications to IL-1beta-associated anorexia. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 58 (1-2):188-194.
328. Ploski R, McDowell TL, Symons JA, Flato B, Duff GW, Thorsby E, and Forre O (1995) Interaction between HLA-DR and HLA-DP, and between HLA and interleukin 1 alpha in juvenile rheumatoid arthritis indicates heterogeneity of pathogenic mechanisms of the disease. *Hum.Immunol.* 42 (4):343-347.
329. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, and Nerup J (1992) A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J.Clin Invest* 22 (6):396-402.
330. Priestle JP, Schar HP, and Grutter MG (1988) Crystal structure of the cytokine interleukin-1 beta. *EMBO J.* 7 (2):339-343.
331. Pulver AE, Karayiorgou M, Wolyniec PS, Lasseter VK, Kasch L, Nestadt G, Antonarakis S, Housman D, Kazazian HH, Meyers D, and . (1994) Sequential strategy to identify a susceptibility gene for schizophrenia: report of potential linkage on chromosome 22q12-q13.1: Part 1. *Am.J.Med.Genet.* 54 (1):36-43.
332. Pulver AE, Lasseter VK, Kasch L, Wolyniec P, Nestadt G, Blouin JL, Kimberland M, Babb R, Vourlis S, Chen H, and . (1995) Schizophrenia: a genome scan targets chromosomes 3p and 8p as potential sites of susceptibility genes. *Am.J.Med.Genet.* 60 (3):252-260.
333. Quinn JP, Dalziel RG, and Nash AA (2000) Herpes virus latency in sensory ganglia--a comparison with endogenous neuronal gene expression. *Prog.Neurobiol.* 60 (2):167-179.
334. Radewicz K, Garey LJ, Gentleman SM, and Reynolds R (2000) Increase in HLA-DR immunoreactive microglia in frontal and temporal cortex of chronic schizophrenics. *J.Neuropathol.Exp.Neurol.* 59 (2):137-150.
335. Rantakallio P and von Wendt L (1985) Risk factors for mental retardation. *Arch Dis.Child* 60 (10):946-952.
336. Raps A, Abramovich Y, Assael M, and Green L (1986) Relation between schizophrenic-like psychosis and Sjogren syndrome (SS). *Isr.J.Psychiatry Relat Sci.* 23 (4):321-324.

337. Raskin DE and Frank SW (1974) Herpes encephalitis with catatonic stupor. *Arch Gen Psychiatry* 31 (4):544-546.
338. Recio-Pinto E and Ishii DN (1984) Effects of insulin, insulin-like growth factor-II and nerve growth factor on neurite outgrowth in cultured human neuroblastoma cells. *Brain Res.* 302 (2):323-334.
339. Recio-Pinto E and Ishii DN (1988) Insulin and related growth factors: effects on the nervous system and mechanism for neurite growth and regeneration. *Neurochem Int* 12 (4):397-414.
340. Reiss D, Plomin R, and Hetherington EM (1991) Genetics and psychiatry: an unheralded window on the environment. *Am.J.Psychiatry* 148 (3):283-291.
341. Relton JK, Martin D, Thompson RC, and Russell DA (1996) Peripheral administration of Interleukin-1 Receptor antagonist inhibits brain damage after focal cerebral ischemia in the rat. *Exp.Neurol.* 138 (2):206-213.
342. Relton JK and Rothwell NJ (1992) Interleukin-1 receptor antagonist inhibits ischaemic and excitotoxic neuronal damage in the rat. *Brain Res.Bull.* 29 (2):243-246.
343. Rettori V, Dees WL, Hiney JK, Lyson K, and McCann SM (1994) An interleukin-1-alpha-like neuronal system in the preoptic-hypothalamic region and its induction by bacterial lipopolysaccharide in concentrations which alter pituitary hormone release. *Neuroimmunomodulation.* 1 (4):251-258.
344. Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI, Jr., Schuckit MA, and Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp.Res.* 19 (4):1018-1023.
345. Riches P, Gooding R, Millar BC, and Rowbottom AW (1992) Influence of collection and separation of blood samples on plasma IL-1, IL-6 and TNF-alpha concentrations. *J.Immunol.Methods* 153 (1-2):125-131.
346. Ring GH and Lakkis FG (1999) Breakdown of self-tolerance and the pathogenesis of autoimmunity. *Semin.Nephrol.* 19 (1):25-33.
347. Roberts GW, Colter N, Lofthouse R, Johnstone EC, and Crow TJ (1987) Is there gliosis in schizophrenia? Investigation of the temporal lobe. *Biol.Psychiatry* 22 (12):1459-1468.
348. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M, Wu YK, Hobbins JC, and Durum SK (1989a) Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 160 (5 Pt 1):1117-1123.
349. Romero R, Gomez R, Galasso M, Mazor M, Berry SM, Quintero RA, and Cotton DB (1994) The natural interleukin-1 receptor antagonist in the fetal, maternal, and amniotic fluid compartments: the effect of gestational age, fetal gender, and intrauterine infection. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 171 (4):912-921.

350. Romero R, Sepulveda W, Mazor M, Brandt F, Cotton DB, Dinarello CA, and Mitchell MD (1992) The natural interleukin-1 receptor antagonist in term and preterm parturition. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 167 (4 Pt 1):863-872.
351. Romero R and Tartakovsky B (1992) The natural interleukin-1 receptor antagonist prevents interleukin-1-induced preterm delivery in mice. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 167 (4 Pt 1):1041-1045.
352. Romero R, Wu YK, Brody DT, Oyarzun E, Duff GW, and Durum SK (1989b) Human decidua: a source of interleukin-1. *Obstet.Gynecol.* 73 (1):31-34.
353. Rosa A, Peralta V, Papiol S, Cuesta MJ, Serrano F, Martinez-Larrea A, and Fananas L (2002) The effect of the IL-1beta gene in the complex phenotype of psychosis. *American Journal of Medical Genetics* 114 (7):867-868.
354. Rosa A, Peralta V, Papiol S, Cuesta MJ, Serrano F, Martinez-Larrea A, and Fananas L (2003) Interleukin-1beta (IL-1beta) gene and increased risk for the depressive symptom-dimension in schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* (bisher nur digital veröffentlicht von Wiley Interscience unter der Identifizierungskennung DOI (Digital Object Identifier): 10.1002/ajmg.b.20074).
355. Rosenwasser LJ (1998) Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J.Allergy Clin Immunol.* 102 (3):344-350.
356. Rothe M, Wong SC, Henzel WJ, and Goeddel DV (1994) A novel family of putative signal transducers associated with the cytoplasmic domain of the 75 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 78 (4):681-692.
357. Rothe M, Xiong J, Shu HB, Williamson K, Goddard A, and Goeddel DV (1996) I-TRAF is a novel TRAF-interacting protein that regulates TRAF-mediated signal transduction. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 93 (16):8241-8246.
358. Rothwell NJ (1990) Mechanisms of the pyrogenic actions of cytokines. *Eur Cytokine Netw.* 1 (4):211-213.
359. Rothwell NJ (1991) Functions and mechanisms of interleukin 1 in the brain. *Trends Pharmacol.Sci.* 12 (11):430-436.
360. Rothwell NJ (1999) Annual review prize lecture cytokines - killers in the brain? *J.Physiol* 514 (Pt 1):3-17.
361. Rothwell NJ and Hopkins SJ (1995) Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci* 18 (3):130-136.
362. Rothwell NJ and Luheshi G (1994) Pharmacology of interleukin-1 actions in the brain. *Adv.Pharmacol.* 25:1-20.
363. Roux-Lombard P (1998) The interleukin-1 family. *Eur Cytokine Netw.* 9 (4):565-576.
364. Rubartelli A and Sitia R (1991) Interleukin 1 beta and thioredoxin are secreted through a novel pathway of secretion. *Biochem.Soc.Trans.* 19 (2):255-259.

365. Rubio N (1994) Demonstration of the presence of an interleukin-1 receptor on the surface of murine astrocytes and its regulation by cytokines and Theiler's virus. *Immunology* 82 (2):178-183.
366. Rupprecht R und Müller N (2000) *Neuroendokrinologische und psychoneuroimmunologische Grundlagen psychiatrischer Erkrankungen*. In Möller HJ, Laux P, Kapfhammer HP (eds) *Psychiatrie und Psychotherapie*. Berlin - Heidelberg: Springer.
367. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, and Erlich HA (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239 (4839):487-491.
368. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, and Arnheim N (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230 (4732):1350-1354.
369. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, and Kimura T (2000) Cytokine production in chorioamnionitis. *J.Reprod.Immunol.* 47 (2):185-196.
370. Sambrook J FEMT. 1989. *Analysis and cloning of eukaryotic genomic DNA*. In: *Molecular cloning. A laboratory manual*. Vol. 2. 2. ed.Cold Spring Harbor Laboratory Press.
371. Sandborg C (2002) Expression of autoimmunity in the transition from childhood to adulthood: role of cytokines and gender. *J.Adolesc.Health* 30 (4 Suppl 1):76-80.
372. Santtila S, Savinainen K, and Hurme M (1998) Presence of the IL-1RA allele 2 (IL1RN*2) is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand.J.Immunol.* 47 (3):195-198.
373. Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, Plotsky P, and Vale W (1987) Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science* 238 (4826):522-524.
374. Sasaki T, Nanko S, Fukuda R, Kawate T, Kunugi H, and Kazamatsuri H (1994) Changes of immunological functions after acute exacerbation in schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 35 (3):173-178.
375. Schizophrenia Linkage Collaborative Group (SLCG) (1996) Additional support for schizophrenia linkage on chromosomes 6 and 8: a multicenter study. *Am.J.Med.Genet.* 67 (6):580-594.
376. Schlaepfer TE, Harris GJ, Tien AY, Peng LW, Lee S, Federman EB, Chase GA, Barta PE, and Pearlson GD (1994) Decreased regional cortical gray matter volume in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 151 (6):842-848.
377. Schlitt M, Lakeman FD, and Whitley RJ (1985) Psychosis and herpes simplex encephalitis. *South.Med.J.* 78 (11):1347-1350.

378. Schwab SG, Eckstein GN, Hallmayer J, Lerer B, Albus M, Borrmann M, Lichtermann D, Ertl MA, Maier W, and Wildenauer DB (1997) Evidence suggestive of a locus on chromosome 5q31 contributing to susceptibility for schizophrenia in German and Israeli families by multipoint affected sib-pair linkage analysis. *Mol.Psychiatry* 2 (2):156-160.
379. Schwab SG, Hallmayer J, Albus M, Lerer B, Eckstein GN, Borrmann M, Segman RH, Hanses C, Freymann J, Yakir A, Trixler M, Falkai P, Rietschel M, Maier W, and Wildenauer DB (2000) A genome-wide autosomal screen for schizophrenia susceptibility loci in 71 families with affected siblings: support for loci on chromosome 10p and 6. *Mol.Psychiatry* 5 (6):638-649.
380. Schwab SG, Hallmayer J, Albus M, Lerer B, Hanses C, Kanyas K, Segman R, Borrmann M, Dreikorn B, Lichtermann D, Rietschel M, Trixler M, Maier W, and Wildenauer DB (1998) Further evidence for a susceptibility locus on chromosome 10p14-p11 in 72 families with schizophrenia by nonparametric linkage analysis. *Am.J.Med.Genet.* 81 (4):302-307.
381. Schwab SG, Knapp M, Mondabon S, Hallmayer J, Borrmann-Hassenbach M, Albus M, Lerer B, Rietschel M, Trixler M, Maier W, and Wildenauer DB (2003) Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *Am.J.Hum.Genet.* 72 (1):185-190.
382. Sciacca FL, Ferri C, Vandebroek K, Veglia F, Gobbi C, Martinelli F, Franciotta D, Zaffaroni M, Marrosu M, Martino G, Martinelli V, Comi G, Canal N, and Grimaldi LM (1999) Relevance of interleukin 1 receptor antagonist intron 2 polymorphism in Italian MS patients. *Neurology* 52 (9):1896-1898.
383. Sebire G, Delfraissy JF, Demotes-Mainard J, Oteifeh A, Emilie D, and Tardieu M (1996) Interleukin-13 and interleukin-4 act as interleukin-6 inducers in human microglial cells. *Cytokine* 8 (8):636-641.
384. Sei Y, Vitkovic L, and Yokoyama MM (1995) Cytokines in the central nervous system: regulatory roles in neuronal function, cell death and repair. *Neuroimmunomodulation.* 2 (3):121-133.
385. Seidman LJ, Yurgelun-Todd D, Kremen WS, Woods BT, Goldstein JM, Faraone SV, and Tsuang MT (1994) Relationship of prefrontal and temporal lobe MRI measures to neuropsychological performance in chronic schizophrenia. *Biol.Psychiatry* 35 (4):235-246.
386. Shelton RC, Karson CN, Doran AR, Pickar D, Bigelow LB, and Weinberger DR (1988) Cerebral structural pathology in schizophrenia: evidence for a selective prefrontal cortical defect. *Am.J.Psychiatry* 145 (2):154-163.
387. Shenton ME, Kikinis R, Jolesz FA, Pollak SD, LeMay M, Wible CG, Hokama H, Martin J, Metcalf D, Coleman M, and . (1992) Abnormalities of the left temporal lobe and thought disorder in schizophrenia. A quantitative magnetic resonance imaging study. *N.Engl.J.Med.* 327 (9):604-612.
388. Sherrington R, Brynjolfsson J, Petursson H, Potter M, Dudleston K, Barraclough B, Wasmuth J, Dobbs M, and Gurling H (1988) Localization of a

- susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature* 336 (6195):164-167.
389. Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisante-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, Reznik I, Spivak B, Grisaru N, Karp L, Schiffer R, Kotler M, Strous RD, Swartz-Vanetik M, Knobler HY, Shinar E, Beckmann JS, Yakir B, Risch N, Zak NB, and Darvasi A (2002) A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am.J.Hum.Genet.* 71 (6):1296-1302.
390. Shintani F, Kanba S, Maruo N, Nakaki T, Nibuya M, Suzuki E, Kinoshita N, and Yagi G (1991) Serum interleukin-6 in schizophrenic patients. *Life Sci.* 49 (9):661-664.
391. Shintani F, Kanba S, Nakaki T, Nibuya M, Kinoshita N, Suzuki E, Yagi G, Kato R, and Asai M (1993) Interleukin-1 beta augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J.Neurosci* 13 (8):3574-3581.
392. Shobokshi A and Shaarawy M (2002) Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Int J.Gynaecol.Obstet.* 79 (3):209-215.
393. Sims JE and Dower SK (1994) Interleukin-1 receptors. *Eur Cytokine Netw.* 5 (6):539-546.
394. Sims JE, Gayle MA, Slack JL, Alderson MR, Bird TA, Giri JG, Colotta F, Re F, Mantovani A, Shanebeck K, and . (1993) Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 90 (13):6155-6159.
395. Sims JE, Giri JG, and Dower SK (1994) The two interleukin-1 receptors play different roles in IL-1 actions. *Clin Immunol.Immunopathol.* 72 (1):9-14.
396. Sirota P, Schild K, Elizur A, Djaldetti M, and Fishman P (1995) Increased interleukin-1 and interleukin-3 like activity in schizophrenic patients. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 19 (1):75-83.
397. Smith JD, Brinton EA, and Breslow JL (1992) Polymorphism in the human apolipoprotein A-I gene promoter region. Association of the minor allele with decreased production rate in vivo and promoter activity in vitro. *J.Clin Invest* 89 (6):1796-1800.
398. Smith RS (1991a) Is schizophrenia caused by excessive production of interleukin-2 and interleukin-2 receptors by gastrointestinal lymphocytes? *Med.Hypotheses* 34 (3):225-229.
399. Smith RS (1991b) The immune system is a key factor in the etiology of psychosocial disease. *Med.Hypotheses* 34 (1):49-57.
400. Song C, Lin A, Kenis G, Bosmans E, and Maes M (2000) Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. *Schizophr.Res.* 42 (2):157-164.

401. Spranger M, Lindholm D, Bandtlow C, Heumann R, Gnahn H, Naher-Noe M, and Thoenen H (1990) Regulation of Nerve Growth Factor (NGF) Synthesis in the Rat Central Nervous System: Comparison between the Effects of Interleukin-1 and Various Growth Factors in Astrocyte Cultures and in vivo. *Eur J. Neurosci* 2 (1):69-76.
402. Stefansson H, Sarginson J, Kong A, Yates P, Steinthorsdottir V, Gudfinnsson E, Gunnarsdottir S, Walker N, Petursson H, Crombie C, Ingason A, Gulcher JR, Stefansson K, and Clair DS (2003) Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *Am.J.Hum.Genet.* 72 (1):83-87.
403. Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, Brynjolfsson J, Gunnarsdottir S, Ivarsson O, Chou TT, Hjaltason O, Birgisdottir B, Jonsson H, Gudnadottir VG, Gudmundsdottir E, Bjornsson A, Ingvarsson B, Ingason A, Sigfusson S, Hardardottir H, Harvey RP, Lai D, Zhou M, Brunner D, Mutel V, Gonzalo A, Lemke G, Sainz J, Johannesson G, Andresson T, Gudbjartsson D, Manolescu A, Frigge ML, Gurney ME, Kong A, Gulcher JR, Petursson H, and Stefansson K (2002) Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am.J.Hum.Genet.* 71 (4):877-892.
404. Steiner I, Mador N, Reibstein I, Spivack JG, and Fraser NW (1994) Herpes simplex virus type 1 gene expression and reactivation of latent infection in the central nervous system. *Neuropathol.Appl.Neurobiol.* 20 (3):253-260.
405. Steinkasserer A, Spurr NK, Cox S, Jeggo P, and Sim RB (1992) The human IL-1 receptor antagonist gene (IL1RN) maps to chromosome 2q14-q21, in the region of the IL-1 alpha and IL-1 beta loci. *Genomics* 13 (3):654-657.
406. Stevenson FT, Bursten SL, Fanton C, Locksley RM, and Lovett DH (1993) The 31-kDa precursor of interleukin 1 alpha is myristoylated on specific lysines within the 16-kDa N-terminal propeptide. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 90 (15):7245-7249.
407. Stober G, Franzek E, and Beckmann H (1997) Maternal infectious illness and schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 154 (2):292-293.
408. Stone M, Gabrieli JD, Stebbins GT, and Sullivan EV (1998) Working and strategic memory deficits in schizophrenia. *Neuropsychology.* 12 (2):278-288.
409. Strachan T und Read AP. 1996. *Molekulare Humangenetik*. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akad. Verlag.
410. Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, Cesare AJ, Gibberman A, Wang X, O'Neill FA, Walsh D, and Kendler KS (2002a) Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am.J.Hum.Genet.* 71 (2):337-348.
411. Straub RE, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Wormley B, Sadek H, Kadambi B, O'Neill FA, Walsh D, and Kendler KS (2002b) Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex

- schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes. *Mol.Psychiatry* 7 (6):542-559.
412. Straub RE, MacLean CJ, Martin RB, Ma Y, Myakishev MV, Harris-Kerr C, Webb BT, O'Neill FA, Walsh D, and Kendler KS (1998) A schizophrenia locus may be located in region 10p15-p11. *Am.J.Med.Genet.* 81 (4):296-301.
413. Straub RE, MacLean CJ, O'Neill FA, Walsh D, and Kendler KS (1997) Support for a possible schizophrenia vulnerability locus in region 5q22-31 in Irish families. *Mol.Psychiatry* 2 (2):148-155.
414. Srijbos PJ and Rothwell NJ (1995a) Interleukin-1 beta attenuates excitatory amino acid-induced neurodegeneration in vitro: involvement of nerve growth factor. *J.Neurosci* 15 (5 Pt 1):3468-3474.
415. Srijbos PJ and Rothwell NJ (1995b) Interleukin-1 beta attenuates excitatory amino acid-induced neurodegeneration in vitro: involvement of nerve growth factor. *J.Neurosci* 15 (5 Pt 1):3468-3474.
416. Srijbos PJ and Rothwell NJ (1995c) Interleukin-1 beta attenuates excitatory amino acid-induced neurodegeneration in vitro: involvement of nerve growth factor. *J.Neurosci* 15 (5 Pt 1):3468-3474.
417. Srijbos PJ and Rothwell NJ (1995d) Interleukin-1 beta attenuates excitatory amino acid-induced neurodegeneration in vitro: involvement of nerve growth factor. *J.Neurosci* 15 (5 Pt 1):3468-3474.
418. Stroemer RP and Rothwell NJ (1997) Cortical protection by localized striatal injection of IL-1ra following cerebral ischemia in the rat. *J.Cereb.Blood Flow Metab* 17 (6):597-604.
419. Stylianou E, O'Neill LA, Rawlinson L, Edbrooke MR, Woo P, and Saklatvala J (1992) Interleukin 1 induces NF-kappa B through its type I but not its type II receptor in lymphocytes. *J.Biol.Chem.* 267 (22):15836-15841.
420. Suddath RL, Christison GW, Torrey EF, Casanova MF, and Weinberger DR (1990) Anatomical abnormalities in the brains of monozygotic twins discordant for schizophrenia. *N.Engl.J.Med.* 322 (12):789-794.
421. Sullivan GW, Carper HT, Sullivan JA, Murata T, and Mandell GL (1989) Both recombinant interleukin-1 (beta) and purified human monocyte interleukin-1 prime human neutrophils for increased oxidative activity and promote neutrophil spreading. *J.Leukoc.Biol.* 45 (5):389-395.
422. Suvisaari J, Haukka J, Tanskanen A, Hovi T, and Lonnqvist J (1999) Association between prenatal exposure to poliovirus infection and adult schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 156 (7):1100-1102.
423. Suzuki E, Shintani F, Kanba S, Asai M, and Nakaki T (1996) Induction of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist mRNA by chronic treatment with various psychotropics in widespread area of rat brain. *Neurosci Lett.* 215 (3):201-204.

424. Suzuki E, Shintani F, Kanba S, Asai M, and Nakaki T (1997) Immobilization stress increases mRNA levels of interleukin-1 receptor antagonist in various rat brain regions. *Cell Mol.Neurobiol.* 17 (5):557-562.
425. Symons JA, Eastgate JA, and Duff GW (1991) Purification and characterization of a novel soluble receptor for interleukin 1. *J.Exp.Med.* 174 (5):1251-1254.
426. Symons JA, Young PR, and Duff GW (1995) Soluble type II interleukin 1 (IL-1) receptor binds and blocks processing of IL-1 beta precursor and loses affinity for IL-1 receptor antagonist. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 92 (5):1714-1718.
427. Takao T, Tracey DE, Mitchell WM, and De Souza EB (1990) Interleukin-1 receptors in mouse brain: characterization and neuronal localization. *Endocrinology* 127 (6):3070-3078.
428. Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, and Duff GW (1993) Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum.Genet.* 91 (4):403-404.
429. Tarlow JK, Clay FE, Cork MJ, Blakemore AI, McDonagh AJ, Messenger AG, and Duff GW (1994) Severity of alopecia areata is associated with a polymorphism in the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J.Invest Dermatol.* 103 (3):387-390.
430. Tatsumi M, Sasaki T, Sakai T, Kamijima K, Fukuda R, Kunugi H, Hattori M, and Nanko S (1997) Genes for interleukin-2 receptor beta chain, interleukin-1 beta, and schizophrenia: no evidence for the association or linkage. *Am.J.Med.Genet.* 74 (3):338-341.
431. Thavasu PW, Longhurst S, Joel SP, Slevin ML, and Balkwill FR (1992) Measuring cytokine levels in blood. Importance of anticoagulants, processing, and storage conditions. *J.Immunol.Methods* 153 (1-2):115-124.
432. Theofilopoulos AN (1995) The basis of autoimmunity: Part I. Mechanisms of aberrant self-recognition. *Immunol.Today* 16 (2):90-98.
433. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, Miller DK, Molineaux SM, Weidner JR, Aunins J, and . (1992) A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 356 (6372):768-774.
434. Tjernstrom F, Hellmer G, Nived O, Truedsson L, and Sturfelt G (1999) Synergetic effect between interleukin-1 receptor antagonist allele (IL1RN*2) and MHC class II (DR17,DQ2) in determining susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Lupus* 8 (2):103-108.
435. Torrey EF and Bowler AE (1990) The seasonality of schizophrenic births: a reply to Marc S. Lewis. *Schizophr.Bull.* 16 (1):1-3.
436. Torrey EF, Rawlings R, and Waldman IN (1988) Schizophrenic births and viral diseases in two states. *Schizophr.Res.* 1 (1):73-77.

437. Tountas NA, Casini-Raggi V, Yang H, di Giovine FS, Vecchi M, Kam L, Melani L, Pizarro TT, Rotter JI, and Cominelli F (1999) Functional and ethnic association of allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 117 (4):806-813.
438. Toyooka K, Watanabe Y, Iritani S, Shimizu E, Iyo M, Nakamura R, Asama K, Makifuchi T, Kakita A, Takahashi H, Someya T, and Nawa H (2003) A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients. *Neurosci Res.* 46 (3):299-307.
439. Trotta PP (1991) Cytokines: an overview. *Am.J.Reprod.Immunol.* 25 (3):137-141.
440. Tsuang M (2000) Schizophrenia: genes and environment. *Biol.Psychiatry* 47 (3):210-220.
441. Tsuang MT, Stone WS, and Faraone SV (1999) Schizophrenia: a review of genetic studies. *Harv.Rev.Psychiatry* 7 (4):185-207.
442. Tsuang MT, Stone WS, and Faraone SV (2001) Genes, environment and schizophrenia. *Br.J.Psychiatry Suppl* 40:s18-s24.
443. Tsuang MT, Tohen M und Zahner GEP. 1995. *Textbook in Psychiatry epidemiology*. New York: Wiley-Liss.
444. van Dam AM, Brouns M, Lousse S, and Berkenbosch F (1992) Appearance of interleukin-1 in macrophages and in ramified microglia in the brain of endotoxin-treated rats: a pathway for the induction of non-specific symptoms of sickness? *Brain Res.* 588 (2):291-296.
445. van den Velden PA and Reitsma PH (1993) Amino acid dimorphism in IL1A is detectable by PCR amplification. *Hum.Mol.Genet.* 2 (10):1753.
446. van Os J, Marcelis M, Sham P, Jones P, Gilvarry K, and Murray R (1997) Psychopathological syndromes and familial morbid risk of psychosis. *Br.J.Psychiatry* 170:241-246.
447. Verdoux H, Geddes JR, Takei N, Lawrie SM, Bovet P, Eagles JM, Heun R, McCreadie RG, McNeil TF, O'Callaghan E, Stober G, Willinger MU, Wright P, and Murray RM (1997) Obstetric complications and age at onset in schizophrenia: an international collaborative meta-analysis of individual patient data. *Am.J.Psychiatry* 154 (9):1220-1227.
448. Verdoux H and Sutter AL (2002) Perinatal risk factors for schizophrenia: Diagnostic specificity and relationships with maternal psychopathology. *Am.J.Med.Genet.* 114 (8):898-905.
449. Vitkovic L, Bockaert J, and Jacque C (2000a) "Inflammatory" cytokines: neuromodulators in normal brain? *J.Neurochem.* 74 (2):457-471.
450. Vitkovic L, Konsman JP, Bockaert J, Dantzer R, Homburger V, and Jacque C (2000b) Cytokine signals propagate through the brain. *Mol.Psychiatry* 5 (6):604-615.

451. Volkenandt M, Lohr M, and Dicker AP (1990) [Gene amplification by the polymerase chain reaction]. *Dtsch.Med.Wochenschr.* 115 (17):670-676.
452. Volz H, Gaser C, and Sauer H (2000) Supporting evidence for the model of cognitive dysmetria in schizophrenia--a structural magnetic resonance imaging study using deformation-based morphometry. *Schizophr.Res.* 46 (1):45-56.
453. Wakabayashi G, Gelfand JA, Burke JF, Thompson RC, and Dinarello CA (1991) A specific receptor antagonist for interleukin 1 prevents Escherichia coli-induced shock in rabbits. *FASEB J.* 5 (3):338-343.
454. Walker SJ, Van Dyke TE, Rich S, Kornman KS, di Giovine FS, and Hart TC (2000) Genetic polymorphisms of the IL-1alpha and IL-1beta genes in African-American LJP patients and an African-American control population. *J.Periodontol.* 71 (5):723-728.
455. Waltrip RW, Carrigan DR, and Carpenter WT, Jr. (1990) Immunopathology and viral reactivation. A general theory of schizophrenia. *J.Nerv.Ment.Dis.* 178 (12):729-738.
456. Watkins LR, Maier SF, and Goehler LE (1995) Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci.* 57 (11):1011-1026.
457. Watson CG, Kucala T, Tilleskjoer C, and Jacobs L (1984) Schizophrenic birth seasonality in relation to the incidence of infectious diseases and temperature extremes. *Arch Gen Psychiatry* 41 (1):85-90.
458. Weinberger DR (1995) From neuropathology to neurodevelopment. *Lancet* 346 (8974):552-557.
459. Weissbach L, Tran K, Colquhoun SA, Champlaud MF, and Towle CA (1998) Detection of an interleukin-1 intracellular receptor antagonist mRNA variant. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 244 (1):91-95.
460. Wesche H, Korherr C, Kracht M, Falk W, Resch K, and Martin MU (1997) The interleukin-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP) is essential for IL-1-induced activation of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) and stress-activated protein kinases (SAP kinases). *J.Biol.Chem.* 272 (12):7727-7731.
461. Whetsell WO, Jr. (1996) Current concepts of excitotoxicity. *J.Neuropathol.Exp.Neurol.* 55 (1):1-13.
462. Whitworth AB, Honeder M, Kremser C, Kemmler G, Felber S, Hausmann A, Wanko C, Wechdorn H, Aichner F, Stuppaeck CH, and Fleischhacker WW (1998) Hippocampal volume reduction in male schizophrenic patients. *Schizophr.Res.* 31 (2-3):73-81.
463. Wiley CA (1994) Pathology of neurologic disease in AIDS. *Psychiatr.Clin North Am.* 17 (1):1-15.

464. Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, and Kirchner H (1996) Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 246 (5):279-284.
465. Wilkinson RJ, Patel P, Llewelyn M, Hirsch CS, Pasvol G, Snounou G, Davidson RN, and Toossi Z (1999) Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J.Exp.Med.* 189 (12):1863-1874.
466. Williams J, McGuffin P, Nothen M, and Owen MJ (1997) Meta-analysis of association between the 5-HT2a receptor T102C polymorphism and schizophrenia. EMASS Collaborative Group. European Multicentre Association Study of Schizophrenia. *Lancet* 349 (9060):1221.
467. Williams J, Spurlock G, Holmans P, Mant R, Murphy K, Jones L, Cardno A, Asherson P, Blackwood D, Muir W, Meszaros K, Aschauer H, Mallet J, Laurent C, Pekkarinen P, Seppala J, Stefanis CN, Papadimitriou GN, Macciardi F, Verga M, Pato C, Azevedo H, Crocq MA, Gurling H, Owen MJ, and . (1998) A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Mol.Psychiatry* 3 (2):141-149.
468. Wise TN, Le Buffe FP, and Granger SI (1977) Meningo-encephalitis presenting as an acute paranoid psychosis. *Int J.Psychiatry Med.* 8 (4):405-414.
469. Witkin SS, Gerber S, and Ledger WJ (2002) Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clin Infect.Dis.* 34 (2):204-209.
470. Witkin SS, Gravett MG, Haluska GJ, and Novy MJ (1994) Induction of interleukin-1 receptor antagonist in rhesus monkeys after intraamniotic infection with group B streptococci or interleukin-1 infusion. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 171 (6):1668-1672.
471. Witkin SS, Linhares IM, Gerber S, Caetano ME, and Segurado AC (2001) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and circulating levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in Brazilian women. *J.Virol.* 75 (13):6242-6244.
472. Wittchen HU, Zaudig M und Fydrich T. 1997. *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, Achse I und II.* Goettingen: Hogrefe.
473. Wong ML and Licinio J (1994) Localization of interleukin 1 type I receptor mRNA in rat brain. *Neuroimmunomodulation.* 1 (2):110-115.
474. Woodroffe MN, Sarna GS, Wadhwa M, Hayes GM, Loughlin AJ, Tinker A, and Cuzner ML (1991) Detection of interleukin-1 and interleukin-6 in adult rat brain, following mechanical injury, by in vivo microdialysis: evidence of a role for microglia in cytokine production. *J.Neuroimmunol.* 33 (3):227-236.

475. Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, and Bullmore ET (2000) Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *Am.J.Psychiatry* 157 (1):16-25.
476. Wright P, Gill M, and Murray RM (1993) Schizophrenia: genetics and the maternal immune response to viral infection. *Am.J.Med.Genet.* 48 (1):40-46.
477. Wright P and Murray RM (1993) Schizophrenia: prenatal influenza and autoimmunity. *Ann.Med.* 25 (5):497-502.
478. Yabuuchi K, Minami M, Katsumata S, and Satoh M (1994a) Localization of type I interleukin-1 receptor mRNA in the rat brain. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 27 (1):27-36.
479. Yabuuchi K, Minami M, Katsumata S, Yamazaki A, and Satoh M (1994b) An in situ hybridization study on interleukin-1 beta mRNA induced by transient forebrain ischemia in the rat brain. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 26 (1-2):135-142.
480. Yang J, Si T, Ling Y, Ruan Y, Han Y, Wang X, Zhou M, Zhang D, Zhang H, Kong Q, Liu C, Li X, Yu Y, Liu S, Shu L, Ma D, Wei J, and Zhang D (2003) Association study between interleukin-1beta gene (IL-1beta) and schizophrenia. *Life Sci.* 72 (26):3017-3021.
481. Yang ZW, Chengappa KN, Shurin G, Brar JS, Rabin BS, Gubbi AV, and Ganguli R (1994) An association between anti-hippocampal antibody concentration and lymphocyte production of IL-2 in patients with schizophrenia. *Psychol.Med.* 24 (2):449-455.
482. Yasuhara O, Matsuo A, Terai K, Walker DG, Berger AE, Akiguchi I, Kimura J, and McGeer PL (1997) Expression of interleukin-1 receptor antagonist protein in post-mortem human brain tissues of Alzheimer's disease and control cases. *Acta Neuropathol.(Berl)* 93 (4):414-420.
483. Yolken RH and Torrey EF (1995) Viruses, schizophrenia, and bipolar disorder. *Clin Microbiol.Rev.* 8 (1):131-145.
484. Yoon BH, Kim YA, Romero R, Kim JC, Park KH, Kim MH, and Park JS (1999) Association of oligohydramnios in women with preterm premature rupture of membranes with an inflammatory response in fetal, amniotic, and maternal compartments. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 181 (4):784-788.
485. Zalcman S, Green-Johnson JM, Murray L, Nance DM, Dyck D, Anisman H, and Greenberg AH (1994) Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2 and -6. *Brain Res.* 643 (1-2):40-49.
486. Zanardini R, Bocchio-Chiavetto L, Scassellati C, Bonvicini C, Tura GB, Rossi G, Perez J, and Gennarelli M (2003) Association between IL-1beta -511C/T and IL-1RA (86bp)(n) repeats polymorphisms and schizophrenia. *J.Psychiatr.Res.* 37 (6):457-462.
487. Zhang YH, Lin JX, Yip YK, and Vilcek J (1988) Enhancement of cAMP levels and of protein kinase activity by tumor necrosis factor and interleukin 1 in

human fibroblasts: role in the induction of interleukin 6.
Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A 85 (18):6802-6805.

488. Zubiaga AM, Munoz E, and Huber BT (1991) Production of IL-1 alpha by activated Th type 2 cells. Its role as an autocrine growth factor. *J.Immunol.* 146 (11):3849-3856.

8 Publikationen

1. Gonnermann C, Rujescu D, Möller H-J, Giegling I. An Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism may be associated with schizophrenia (submitted)
2. Rujescu D, Hartmann AM, Gonnermann C, Möller H-J, Giegling I (2003) A M129V variation in the prion protein which influences white matter volume also influences cognitive performance. *Molecular Psychiatry*, 8 (11): 937-41
3. Rujescu D, Giegling I, Gietl A, Gonnermann C, Kirner A, Möller H-J, Dahmen D (2003) Association study of a SNP coding for a M129V substitution in the prion protein in schizophrenia, *Schizophr. Res.*, 62 (3): 289-91

Poster Abstracts:

1. Gonnermann C, Giegling I, Dahmen N, Müller J, Möller H-J, Rujescu D (2003). An interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and a haplotype of the Interleukin-1 gene complex may be associated with schizophrenia. 23. Symposium der AGNP (Arbeitsgemeinschaft für Neuropsychopharmakologie und Pharmakopsychiatrie), Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München/Deutschland
2. Gonnermann C, Giegling I, Dahmen N, Möller H-J, Rujescu D (2003). An interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism may be associated with schizophrenia. Research Festival, University of Munich/Germany
3. Gonnermann C, Giegling I, Dahmen N, Kirner A, Möller H-J, Rujescu D (2002) Association study of a SNP coding for a M129V substitution in the prion protein in schizophrenia. Research Festival, University of Munich/Germany

9 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Psychiatrischen Klinik des Klinikums der Universität München durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Rujescu und Frau Dipl. Psych. Giegling für die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in ihrer Forschungsgruppe und vor allem für die freundschaftliche Unterstützung und Förderung auch über die wissenschaftliche Tätigkeit hinaus. Sie waren zu jeder Zeit hilfsbereite und kompetente Ansprechpartner, die mein Interesse an dem faszinierenden Gebiet der molekularen Neurogenetik durch die umsichtige Auswahl des Themas dieser Arbeit und deren konstruktive Betreuung geweckt und vertieft haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Möller dafür, dass ich diese Arbeit in der von Ihm geleiteten Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München durchführen durfte.

Ausdrücklich möchte ich mich bei Frau Hartmann für die vielen konstruktiven Gespräche und Anregungen bedanken.

Ein herzlicher Dank geht an alle Mitarbeiter des Labors, die mit ihrer guten Laune und tatkräftigen Unterstützung für Spaß an der Arbeit sorgten: Daniela Glatz, Hanna Räder, Frank Berendt, Anton Gietl, Andre Kirner und Chris Murgatroyd.

Zusätzlich geht mein Dank an Frau Dipl. Psych. Giegling, deren Vorschläge und Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse unerlässlich waren.

Meinem Freund Frank Forster danke ich für seine Unterstützung.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Claudia Gonnermann
Geburtsdatum: 14.07.1972
Geburtsort: Stuttgart
Anschrift: Schleissheimerstrasse 41
80797 München

Schulbildung

1979-1983 Grundschule in Remseck am Neckar
1983-1989 Luise-Meitner-Gymnasium in Remseck am Neckar
1989-1992 Gymnasium Merzschule in Stuttgart
mit Abschluss der allgemeinen Hochschulreife

Studium

1992-1994 Studium der Rechtswissenschaft an der Universität
Passau
mit Leistungsnachweis Grundkurs Strafrecht,
Leistungsnachweis Öffentliches Recht für Anfänger und
Leistungsnachweis der fachspezifischen
Fremdsprachenausbildung in der englischen und
chinesischen Sprache
1994-1996 Pharmaziestudium an der Eberhardt-Karls-Universität,
Tübingen
1996-1999 Pharmaziestudium an der Ludwig-Maximilians-
Universität, München
1999-2000 Praktisches Jahr in der AZ-Apotheke, München
2000 Pharmazeutische Prüfung, Gesamtnote gut

Praktika

1994 Famulatur in der Apotheke Hochberg, Remseck am Neckar
1995 Famulatur in der Europa-Apotheke, Ludwigsburg

Berufstätigkeit

2000-2001 Apothekerin in der AZ-Apotheke, München
2001 Apothekerin in der Spitzweg-Apotheke, München
2002-2003 Apothekerin in der Lori-Apotheke, München

Promotion

2000-2003 an der Ludwig-Maximilians-Universität, München,
Arbeitsgruppe Molekulare und Klinische Neurobiologie,
Leiter: Dr. Dan Rujescu
Thema: Der Interleukin-1-Genkomplex in der
Schizophrenie