

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

Direktor: Herr Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Das CCBL2-Gen und seine Bedeutung für
die Schizophrenie**

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

vorgelegt von

Julia Nawrath, geb. Haas

aus
München

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Moritz Rossner

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 25.07.2019

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
1.1. Schizophrenie.....	6
1.1.1. Klassifikation und Symptomatik der Schizophrenie	7
1.1.2. Subtypen	9
1.1.3. Verlauf und Prognose.....	11
1.1.4. Epidemiologie	13
1.1.5. Ätiopathogenese.....	14
1.1.5.1. Umweltbedingte Risikofaktoren	14
1.1.5.2. Hirnstrukturelle Veränderungen.....	16
1.1.5.3. Genetik	17
1.1.5.4. Biochemische Faktoren.....	21
1.2. CCBL2-Gen	28
2. Fragestellung	33
3. Material und Methoden	34
3.1. Vorbedingungen für die Durchführung der Studie	34
3.2. Studienteilnehmer.....	34
3.2.1. Kontrollprobanden	34
3.2.2. Patienten	36
3.3. Untersuchte Einzelbasenaustauschpolymorphismen	40
3.4. Laborverfahren	41
3.4.1. DNA-Extraktion.....	41
3.4.2. Konzentrationsbestimmung der DNA	43
3.4.3. Genotypisierung	44
3.5. Statistische Auswertung	50

4. Ergebnisse	51
4.1. Fall-Kontroll-Assoziationsstudie.....	51
4.2. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.....	52
4.3. Einzelmarkeranalyse auf eine Assoziation mit Schizophrenie.....	52
4.3.1. Analyse des Polymorphismus rs12729558.....	53
4.3.2. Analyse des Polymorphismus rs17472003.....	56
4.3.3. Analyse des Polymorphismus rs6682686.....	58
4.3.4. Analyse des Polymorphismus rs7556189.....	63
4.3.5. Analyse des Polymorphismus rs3738055.....	66
4.4. Analyse der Haplotypen des CCBL2-Gens.....	70
5. Diskussion	72
5.1. Diskussion der Methoden.....	73
5.2. Diskussion der Ergebnisse.....	78
5.3. Ausblick.....	82
6. Zusammenfassung	85
7. Abkürzungen	86
Literaturverzeichnis	88
Danksagungen	102
Eidesstattliche Versicherung	103

1. Einleitung

Schizophrenie ist eine komplexe und schwerwiegende psychische Erkrankung. Kraepelin beschrieb dieses Krankheitsbild Ende des 19. Jahrhunderts als „Dementia praecox“ (vorzeitige Verblödung), womit er auf den ungünstigen Verlauf dieser Erkrankung hinweisen wollte (Ebert und Loew, 2005; Tandon et al., 2009). Nach mehr als einhundert Jahren stehen heute einige Möglichkeiten zur Behandlung dieser schweren Erkrankung zur Verfügung, mit denen ein etwas günstigerer Verlauf zu erzielen ist. Dennoch zählt die Schizophrenie zu den 7 teuersten Krankheiten in der westlichen Gesellschaft. Die direkten Kosten betragen 1,6 – 2,6% der Gesamtausgaben des Gesundheitswesens (Rujescu, 2012). Zudem zählt Schizophrenie zu den Top 10 der Gründe für Erwerbsunfähigkeit (Levav und Rutz, 2002). Ätiologisch wird heute von einer multifaktoriellen Entstehung ausgegangen. Dabei steht die genetisch bedingte Vulnerabilität im Mittelpunkt.

1.1. Schizophrenie

Die Schizophrenie ist eine Erkrankung aus der Hauptgruppe der endogenen Psychosen. Diese vielgestaltige Erkrankung ist seit vielen Jahren bekannt. Bereits Emil Kraepelin beschrieb vor über 100 Jahren diese Erkrankung, welcher allerdings die Veränderung der Persönlichkeit im Vordergrund sah (Möller et al., 2009).

1911 bezeichnete Eugen Bleuler diese Erkrankung erstmals als „Schizophrenie“, wobei er sich auf die eigenartige Spaltung des psychischen Erlebens der Erkrankten bezog (Ebert und Loew, 2005).

1.1.1. Klassifikation und Symptomatik der Schizophrenie

Die Schizophrenie zeigt ein sehr heterogenes Erscheinungsbild, mit einer Vielzahl von charakteristischen Symptomen. Dazu gehören formale und inhaltliche Denkstörung, Ich-Störung, Wahrnehmungsstörungen sowie Störungen von Affektivität, Antrieb und Psychomotorik.

E. Bleuler teilte die Symptome in akzessorische Symptome (Wahrnehmungsstörungen, Wahn, katatone Symptome, Störungen des Ich-Erlebens) und Grundsymptome ein (Ebert und Loew, 2005; Tandon et al., 2009):

- Assoziation (formale Denkstörungen, Zerfahrenheit)
- Affektstörung (Affektverflachung, Parathymie)
- Ambivalenz (im Fühlen, Handeln, Wollen)
- Autismus (Lösung von der Wirklichkeit)
- Zusätzliche Störungen der Person (Depersonalisation, „Spaltung“)

Kurt Schneider schlug eine Einteilung in sog. Symptome 1. Ranges und Symptome 2. Ranges vor (Tabelle 1.1.1.1.). In heutigen Diagnostikwerken finden sich besonders die Symptome 1. Ranges wieder. Diese gelten als schizophrenietypisch, solange die Ursachen dafür nicht in organisch bedingten psychischen Störungen oder Auswirkungen psychotroper Substanzen liegen (Jäger et al., 2011).

Tabelle 1.1.1.1. Symptome 1. und 2. Ranges nach Schneider (Schneider, 1973):

Symptome 1. Ranges:	Symptome 2. Ranges
Dialogische und kommentierende Stimmen, Gedankenlautwerden	Optische, olfaktorische, gustatorische, taktile Halluzinationen
Gedankenentzug, -eingebung und -ausbreitung, Willensbeeinflussung	Wahneinfall
Wahnwahrnehmungen	Ratlosigkeit
Gefühl des Gemachten, Beeinflussungserlebnisse (z.B. leibliche)	Affektveränderungen (depressive oder frohe Stimmungsabweichung, erlebte Gefühlsverarmung)

Ein weiterer Ansatz zur Unterteilung der Symptome war die Unterscheidung zwischen Positiv- und Negativsymptomatik. Ursprünglich bereits 1931 von Hughlings Jackson vorgeschlagen, wurde diese Einteilung unter anderem 1982 von Nancy Andreasen wieder aufgenommen. Sie definierte positive Symptome dabei als solche, die eine Übertreibung der normalen Funktionen darstellen (das Vorhandensein von etwas, das abwesend sein sollte) wie beispielsweise Halluzinationen, Wahn, Inkohärenz und desorganisiertes Verhalten. Negative Symptome hingegen definierte Andreasen als solche, die einen Verlust von normalen Funktionen darstellen (die Abwesenheit von etwas, das vorhanden sein sollte) wie beispielsweise Anhedonie, Alogie, Antriebslosigkeit und Affektverflachung (Andreasen, 1985). Zur Erfassung dieser Symptome entwickelten Kay und Kollegen die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS, Kay et al., 1987).

Die modernen, operationalisierten Diagnosesysteme DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) der American Psychiatric Association APA und ICD (International Classification of Diseases) der Weltgesundheitsorganisation WHO fordern neben einer vorgegebenen Anzahl bestimmter Symptome auch eine bestimmte Mindestdauer der spezifischen Symptome.

Nach den allgemeinen Diagnosekriterien der Schizophrenie der ICD-10 (Dilling et al., 2011) muss in der meisten Zeit innerhalb von mindestens einem Monat entweder mindestens ein eindeutiges Symptom (oder zwei, wenn weniger eindeutig) der Symptomgruppe 1-4 oder mindestens zwei der Symptomgruppe 5-8, vorhanden sein.

1. Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung oder Gedankenlautwerden
2. Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten; Wahnwahrnehmungen
3. Kommentierende oder dialogische Stimmen
4. Bizarrer Wahn

5. Anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, begleitet von flüchtigen Wahngedanken oder anhaltenden überwertigen Ideen
6. Gedankenabreißen oder Einschreibungen in den Gedankenfluss, was zu Zerfahrenheit oder Danebenreden führt oder Neologismen
7. Katatone Symptome (z.B. Flexibilitas cerea, Stupor, Erregung)
8. „Negative“ Symptome wie verflachte oder inadäquate Affekte (nicht durch eine Depression oder Medikation verursacht)

1.1.2. Subtypen

Die Subtypen der Schizophrenie zeichnen sich dadurch aus, dass einige der eben genannten Symptome stärker im Vordergrund stehen, andere hingegen kaum oder gar nicht vorhanden sind. Nach ICD-10 werden sieben Subtypen unterschieden, nach DSM-IV fünf (Tabelle 1.1.2.1.). Die Unterteilung in Subtypen wurde mit dem DSM-V aufgegeben (DSM-V, Falkai et al., 2015).

Tabelle 1.1.2.1. Subtypen der schizophrenen Erkrankungen (Möller et al., 2011)

ICD-10	DSM-IV
Paranoide Schizophrenie	Paranoider Typ
Hebephrene Schizophrenie	Desorganisierter Typ
Katatone Schizophrenie	Katatoner Typ
Undifferenzierte Schizophrenie	Undifferenzierter Typ
Postschizophrene Depression	
Schizophrenes Residuum	Residualer Typ
Schizophrenia simplex	

Paranoide Schizophrenie

Der paranoide Subtyp stellt in den meisten Teilen der Welt die häufigste Unterform dar. Das klinische Bild wird meist von Wahnphänomenen (häufig Verfolgungswahn, Beziehungswahn, Abstammungswahn, Sendungswahn,

zönästhetischer oder Eifersuchtswahn) beherrscht, die teilweise von halluzinatorischen Erlebnissen (drohende oder befehlende Stimmen, Geruchs- oder Geschmackshalluzinationen, sexuelle oder andere körperliche Sensationen) begleitet sind. Das alleinige Vorkommen halluzinatorischer Erlebnisse ist seltener, aber möglich. Störungen der kognitiven Funktionen, Affektstörungen und katatone Symptome stehen im Hintergrund oder sind nicht vorhanden (Dilling et al., 2011; Möller et al., 2011).

Hebephrene Schizophrenie

Die frühere Bezeichnung "Pubertätsirrsein" weist auf den frühen Beginn (meist zwischen dem 15. und 25. Lebensjahr) diese Subtyps hin. In den Leitlinien der ICD-10 (Dilling et al., 2011) werden die Betroffenen als vor der Krankheit meist schüchtern und einzelgängerisch beschrieben.

Vorherrschend sind eine Verflachung oder Inadäquatheit des Affekts, insbesondere im Sinne von läppischer Grundstimmung, leerer Heiterkeit oder aber eines apathisch-indifferenten Bildes, oft verbunden mit formalen Denkstörungen (unzusammenhängende, weitschweifige oder zerfahrene Sprache) sowie einer Verhaltens- und Antriebsstörung mit desorganisiertem Verhalten, Antriebsminderung, Verlust der Initiative oder auch enthemmtem Sozialverhalten. Die Fähigkeit zu Alltagsverrichtungen kann mitunter stark eingeschränkt sein.

Wahn und Halluzinationen können zwar in leichter Form vorhanden sein, stehen aber im Hintergrund (Dilling et al., 2011; Möller et al., 2011; Saß et al., 1996).

Katatone Schizophrenie

In den Industrieländern ist die katatone Schizophrenie derzeit ein relativ seltener Subtyp, durch das Vorherrschen der psychomotorischen Auffälligkeiten allerdings ein sehr eindrücklicher. Die Symptome reichen vom katatonen Stupor bis hin zur

Erregung. Es können sich Befehlsautomatismen, Negativismus und Haltungsstereotypien zeigen sowie der Zustand der wächsernen Biagsamkeit (Flexibilitas cerea), bei dem die Betroffenen eine neue Position beibehalten, wenn ein Körperteil durch eine andere Person bewegt wird. Diese katatonen Phänomene können mit einem traumähnlichen Zustand mit lebhaften szenischen Halluzinationen einhergehen. Zudem müssen die allgemeinen Kriterien für Schizophrenie erfüllt sein, wenn sie auch bei kommunikationsunfähigen Personen oft erst im Verlauf ausreichend erhoben werden können (Dilling et al., 2011).

Residualtyp

Der Residualtyp tritt häufig nach Ablauf einer oder mehrerer akut-psychotischer Episoden auf und bezeichnet die Symptomkonstellation, die nach Abklingen der akuten psychotischen Symptomatik bestehen bleibt, wenn keine vollständige Remission eintritt (Möller et al., 2011). Kennzeichnend ist eine Persönlichkeitsänderung unterschiedlichen Ausmaßes (Möller et al., 2009). Hierbei bestehen Negativ-Symptome wie psychomotorische Verlangsamung, Antriebs- und Interesselosigkeit, Affektverflachung, sozialer Rückzug und Vernachlässigung der Körperpflege in unterschiedlicher Ausprägung (Dilling et al., 2011).

1.1.3. Verlauf und Prognose

Die Heterogenität der schizophrenen Erkrankung zeichnet sich nicht nur dadurch aus, dass verschiedene Symptomkonstellationen auftreten können, auch der Verlauf schizophrener Erkrankungen ist ausgesprochen variabel.

Schizophrenie kann schleichend, akut oder auch subakut einsetzen. Der produktiven Krankheitsphase kann eine Prodromalphase vorausgehen. Zu den typische Symptomen der Prodromalphase gehören affektive Veränderungen mit Angst, Misstrauen, Wahnstimmung, sozialer Rückzug, Leistungsknick,

Schlafstörungen, Adynamie und Konzentrationsstörungen (Möller et al., 2011; Jäger et al., 2011).

Es existieren verschiedene Modelle zum Krankheitsverlauf. Huber et al. beschrieben 1979 beispielsweise 73 verschiedene Verlaufstypen, die sich zu 12 Gruppen zusammenfassen ließen. Watt und Kollegen hingegen unterteilten 1983 nach ihren Erkenntnissen vier verschiedene Verlaufsgruppen der Schizophrenie. Die Krankheit kann beispielsweise in Episoden mit Erlangen von Symptommfreiheit zwischen den Episoden verlaufen oder auch in Schüben mit einer chronischen Residualsymptomatik, sowie schubförmig progredient mit einer weiteren Verstärkung der Residualsymptomatik nach jedem akuten Schub (an der Heiden und Häfner, 2000). Auch die Verlaufsklassifikation nach ICD-10 lässt die Vielgestaltigkeit des Verlaufs erkennen: kontinuierlicher Verlauf, episodischer Verlauf mit zunehmendem Residuum, episodischer Verlauf mit stabilem Residuum, episodisch remittierender Verlauf, Verlauf mit unvollständiger Remission (Dilling et al., 2011).

Die ehemals geltende „Drittelregel“ (1/3 Heilung, 1/3 mittelschwerer Verlauf und 1/3 schwerer Verlauf) hielt einer genaueren Überprüfung der entsprechenden Literatur auf der Suche nach einer empirischen Grundlage für diese Regel nicht stand und gilt als überholt (an der Heiden und Häfner, 2000). Im Langzeitverlauf zeigt sich bei ca. 60% der Patienten ein ungünstiger Verlauf mit Rezidiven und Residualsymptomatik, ungefähr 15% sind unter Medikation symptomfrei oder haben einen mäßigen Verlauf und ungefähr 25% zeigen einen positiven Langzeitverlauf (an der Heiden und Häfner, 2000).

Zudem ist das Suizidrisiko bei Schizophreniepatienten zehnmal höher als in der Allgemeinbevölkerung (Szkuldecka-Dębek et al., 2015). Etwa 10 - 15% der Erkrankten suizidieren sich im Laufe ihrer Erkrankung. Insgesamt ist die Lebenserwartung eines an Schizophrenie erkrankten Patienten gegenüber der Allgemeinbevölkerung um 15 Jahre erniedrigt (Giusti-Rodríguez und Sullivan,

2013). Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Übergewicht und Rauchen, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Lungenerkrankungen und Infektionen spielen neben Suiziden die Hauptrolle dabei, dass an Schizophrenie Erkrankte gegenüber der Allgemeinbevölkerung mit einer 2 – 2,5-fach höheren Wahrscheinlichkeit früh versterben (Szkulicka-Dębek et al., 2015; WHO, 2016). Bezüglich metabolischer und kardiovaskulärer Erkrankungen spielen neben anlagebedingten Faktoren auch Neuroleptika-Nebenwirkungen eine große Rolle (Hert et al., 2009).

1.1.4. Epidemiologie

Weltweit leiden mehr als 21 Millionen Menschen an Schizophrenie, wobei mehr Männer (12 Millionen) als Frauen (9 Millionen) betroffen sind (WHO, 2016). Männer haben ein 1,4-fach höheres Risiko zu erkranken als Frauen (Aleman et al., 2003; McGrath et al., 2004). Das Lebenszeitrisiko an Schizophrenie zu erkranken liegt weltweit bei durchschnittlich 0,48%, die Anzahl an Neuerkrankungen (Inzidenzrate) ist 15,2/100.000/Jahr (McGrath et al., 2008; Simeone et al., 2015). Weltweit liegt die Prävalenz bei durchschnittlich 1% (Szkulicka-Dębek et al., 2015). Die mittlere Punktprävalenz (Anzahl der Erkrankten zu einem bestimmten Zeitpunkt) liegt bei 0,32% (Simeone et al., 2015).

Eine erhöhte Inzidenz- und Prävalenzrate zeigte sich bei Migranten (Tandon et al., 2008). Weiterhin fand sich bei Personen, die in einer Stadt geboren und bis zum Alter von 15 Jahren aufgewachsen waren, eine erhöhte Inzidenz (Lewis et al., 1992; Mortensen et al., 1999; Kirkbride et al., 2006).

Das Erstmanifestationsalter bei Schizophrenie unterscheidet sich geschlechtsspezifisch. Bei Männern liegt der steil verlaufende Gipfel der Ersterkrankung zwischen dem 15. und 24. Lebensjahr, bei Frauen hingegen gibt es zwei Ersterkrankungsgipfel, einen flacheren zwischen dem 15. und 29.

Lebensjahr und einen zweiten niedrigeren Gipfel im Alter von 45 bis 49 Jahren. Grund für diesen Geschlechtsunterschied scheint Östrogen zu sein, da - wie sich in Tierversuchen zeigen ließ - Östrogen dopaminerges Verhalten durch Verminderung der Sensibilität der D₂-Rezeptoren abschwächt (Häfner et al., 2013). Darüber hinaus ließ sich in Tierversuchen nachweisen, dass durch Östrogengabe bei männlichen Ratten der Spiegel des Enzyms Kynurenin-Aminotransferase III gesenkt werden konnte (Mason und Manning, 1971; Myint, 2012).

1.1.5. Ätiopathogenese

Trotz intensiver Forschung auf dem Gebiet der Schizophrenie während der letzten 100 Jahre bleiben Pathogenese und Ursache nach wie vor unvollständig geklärt. Es wird heute von einer multifaktoriellen Entstehung ausgegangen. Umweltbedingte und genetische Risikofaktoren müssen dabei zusammen betrachtet werden, da sie beide gemeinsam in der Ätiologie der Schizophrenie eine große Rolle zu spielen scheinen (Tsuang et al., 2004).

1.1.5.1. Umweltbedingte Risikofaktoren

Zu umweltbedingten Faktoren, die mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eine Schizophrenie zu entwickeln einhergehen, gehören pränatale Infektionen, Stress oder Mangelernährung der Mutter im 1. und 2. Trimenon der Schwangerschaft (Penner und Brown, 2007; Meyer et al., 2007; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013; Chiappelli et al., 2014). Die wesentliche Rolle spielt dabei die Immunantwort der Mutter, nicht jedoch ein bestimmtes einzelnes Pathogen (Meyer, 2011; Müller et al., 2014). Der genaue neurobiologische Mechanismus ist noch nicht völlig geklärt, doch es scheint als behinderten Zytokine und eine abnorme Immunreaktion auf Infektionen während der frühen Schwangerschaft eine normale Gehirnentwicklung des Fötus (Ashdown et al., 2006; Meyer, 2011).

Auch Infektionen in der Perinatalperiode (Pearce, 2001) und in der frühen Kindheit (Dalman et al., 2008; Koponen et al., 2004; Meyer, 2011; Müller et al., 2014) wurden mit einem erhöhten Risiko für Schizophrenie in Verbindung gebracht.

Mit einem 5 – 10% höheren Risiko an Schizophrenie zu erkranken geht eine Geburt in den Monaten Dezember bis Mai einher, was auch mit einer erhöhten Infektionsrate erklärt werden könnte (Torrey et al., 1997; McGrath und Welham, 1999; Davies et al., 2003; Müller und Schwarz, 2006).

Auch Geburts- und perinatale Komplikationen wurden mit einem höheren Risiko Schizophrenie zu entwickeln in Verbindung gebracht (Geddes und Lawrie, 1995; Cannon et al., 2002; Byrne et al., 2007), wobei hier Sauerstoffmangel der wichtigste Faktor sein dürfte (Geddes et al., 1999; Byrne et al., 2007).

Ein weiterer Risikofaktor ist ein höheres Alter des Vaters (Malaspina et al., 2001; Byrne et al., 2003; Wohl und Gorwood, 2007), was auf die mit höherem Alter steigende Wahrscheinlichkeit von Neumutationen durch fehlerhafte Spermatogenese zurück zu führen sein könnte (Byrne et al., 2003; Perrin et al., 2007).

Obwohl Cannabiskonsum während der Adoleszenz mit einem erhöhten Risiko Schizophrenie zu entwickeln in Verbindung gebracht wird (Semple et al., 2005; Moore et al., 2007), wird die Ursache – Wirkungsbeziehung von Cannabisgebrauch kontrovers diskutiert. So gehen einige Experten davon aus, dass Cannabiskonsum zwar in vulnerablen Personen Schizophrenie auslösen könnte, aber nicht als Risikofaktor für die Entwicklung einer schizophrenen Erkrankung an sich gesehen werden sollte (Degenhardt und Hall, 2006; Barnes et al., 2006).

Wie bereits erwähnt, werden auch das Aufwachsen in einer städtischen Umgebung sowie ein Migrationshintergrund als wichtige Risikofaktoren betrachtet (Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013).

Schon lange wird vermutet, dass sozialer Stress und belastende Lebensereignisse die Anfälligkeit, eine schizophrene Erkrankung zu entwickeln, erhöhen (Norman und Malla, 1993; Harrison, 2004; Allardyce und Boydell, 2006; Müller et al., 2015; Pershing et al., 2015).

Um eine schizophrene Erkrankung auszulösen scheint keiner der umweltbedingten Risikofaktoren alleine ausreichend oder zwingend erforderlich (Hill, 1965; Tsuang, 2004; Tandon et al., 2008; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013). Bei der Entstehung der Erkrankung steht daher heute eine genetisch bedingte Vulnerabilität im Mittelpunkt der Forschung (Möller et al., 2009).

1.1.5.2. Hirnstrukturelle Veränderungen

Auf hirnstruktureller Ebene konnten Veränderungen bei an Schizophrenie erkrankten Patienten im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen werden. In MR-Untersuchungen bei Schizophreniepatienten sowie in postmortem-Untersuchungen konnten strukturelle Veränderungen bei einigen Patienten festgestellt werden. In verschiedenen Metaanalysen konnte eine Erweiterung der Ventrikel und eine Abnahme der grauen Substanz gezeigt werden (Keshavan et al., 2008). Zudem sind Atrophien, verminderte Zellzahl und gestörte Zytoarchitektur in Hippocampus, Amygdalae, Thalamus, Temporallappen, frontoorbital und präfrontal nachweisbar (Ebert und Loew, 2005; Keshavan et al., 2008).

Untersuchungen mit funktioneller Bildgebung wie PET und SPECT wiesen eine verminderte Aktivität vor allem im Bereich des linken dorsolateralen präfrontalen Kortex nach (Hypofrontalität). Dieser Bereich ist an Aufmerksamkeit, abstraktem Denken, Unterscheidung zwischen richtig und falsch, korrektem Sozialverhalten sowie an planvollem und zielgerichtetem Denken beteiligt (Ebert und Loew, 2005; Martins-de-Souza et al., 2009).

Im Thalamus an Schizophrenie erkrankter Patienten konnten strukturelle und metabolische Unterschiede im Vergleich zu Kontrollprobanden dargestellt werden (Hazlett et al., 1999; Brickman et al., 2004).

1.1.5.3. Genetik

Obwohl mehr als zwei Drittel der Krankheitsfälle sporadisch auftreten, haben Verwandte eines Betroffenen ein höheres Risiko selbst an Schizophrenie zu erkranken. Dieses Risiko steigt mit der Nähe der Verwandtschaft (Tabelle 1.1.5.3.1.) (Kendler et al., 1993; Tandon et al., 2008).

Tabelle 1.1.5.3.1. Erkrankungsrisiko für Schizophrenie (nach Gottesman et al., 1987; Lichtenstein et al., 2009; Gottesman et al., 2010; Giegling et al., 2017)

Durchschnittliches Erkrankungsrisiko Angehöriger	
Allgemeinbevölkerung	0,5 - 1%
Angehörige ersten Grades	9%
Angehörige dritten Grades	2%
Kinder zweier schizophrener Elternteile	27%
zweieiige Zwillinge	12%
eineiige Zwillinge	50%

Die Heritabilität der Schizophrenie liegt zwischen 60% und 80%, wie Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien zeigen (Giegling et al., 2008; Wray und Gottesman, 2012; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013; Giegling et al., 2017).

Um zu klären ob die familiäre Häufung an Schizophrenie Erkrankter genetisch oder durch eine bestimmte Familiendynamik und -interaktionsweise verursacht wird, wurden Adoptionsstudien durchgeführt. Dazu wurden zum einen Adoptivkinder untersucht, die von an Schizophrenie erkrankten Eltern stammten und von nicht erkrankten Adoptiveltern großgezogen wurden und zum anderen Adoptivkinder die von nicht erkrankten Eltern abstammten und bei an

Schizophrenie erkrankten Adoptiveltern aufwachsen. Dabei wurde festgestellt, dass das Risiko eine schizophrene Erkrankung zu entwickeln mit dem Vorhandensein von Schizophrenie bei den biologischen Eltern zusammenhing, jedoch nicht mit dem Vorhandensein der Erkrankung bei den Adoptiveltern (Heston, 1966; Kety et al., 1968; Tandon et al., 2008; Lichtenstein et al., 2009; Giegling et al., 2017).

Auch Ergebnisse von Zwillingsstudien sprechen für eine genetische Disposition, denn bei eineiigen Zwillingen ist die Konkordanz für die Erkrankung mit 50% mehr als viermal größer als bei zweieiigen Zwillingen mit ca. 12% (Gottesman et al., 1987; Sullivan et al., 2003; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013).

Der Vererbungsmodus folgt nicht den Mendelschen Regeln und ist komplex (Rujescu, 2012). Es wird heute ein polygener Erbgang angenommen, wobei jedes Gen lediglich mäßige Auswirkung auf die Anfälligkeit birgt, an Schizophrenie zu erkranken. Zudem wird eine genetische Heterogenität vermutet, also das Vorhandensein mehrerer unabhängiger Risikogene (Owen, 2000; Tsuang, 2004; Wonodi et al., 2011; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013). Um die Gene zu identifizieren, die an der Pathogenese der Schizophrenie beteiligt sind, werden Kopplungs- und Assoziationsstudien genutzt.

Kopplungsstudien

In Kopplungsstudien werden in Familien mit zwei oder mehreren Erkrankten nach Markerregionen mit bekannter chromosomaler Lokalisation im Genom gesucht, die mit dem Auftreten einer Krankheit verbunden sind, also Regionen die bei erkrankten Familienmitgliedern vorkommen, bei Gesunden jedoch nicht. Dabei wird davon ausgegangen, dass zwei DNA-Abschnitte eines Chromosoms umso unwahrscheinlicher voneinander getrennt werden, je näher sie auf einem Chromosom zusammen liegen (Tandon et al., 2008).

Eine große Metaanalyse von Lewis et al. 2003 in der die Ergebnisse von 20 genomweiten Kopplungsstudien ausgewertet wurden, zeigte für die Regionen 2p12–q22, 5q23–q34, 3p25–p22, 11q22–q24, 6pter–p22, 2q22–q23, 1p13–q23,

22pter-q12, 8p22-p21, 6p22-p21, 20p20-p11, 14pter-q13, 16p13-q12, 18q22-qter, 10pter-p14, 1q23-q31, 15q21-q26, 6q15-q23 und 17q21-q24 in absteigender Reihenfolge die Wahrscheinlichkeit ein Suszeptibilitätsgen zu enthalten auf. Außerdem ergab sich für die Regionen 8p21-22 und 22q11-12 eine in Übereinstimmung mit einer weiteren Metaanalyse (Lewis et al., 2003; Badner und Gershon, 2002).

Ng et al. werteten die Ergebnisse von 32 genomweiten Kopplungsstudien in einer großen Metaanalyse aus. Dabei wurden 3255 Stammbäume mit 7413 von an Schizophrenie Betroffenen eingeschlossen. Ein Hinweis auf eine mögliche Kopplung wurde für zwei einzelne Regionen auf Chromosom 2q (103-134 Mb) und Chromosom 5q (142-168 Mb) beobachtet. Bei einer separaten Analyse, die 22 Studien mit Proben von Familien europäischer Abstammung untersuchte, wurden Hinweis auf eine mögliche Kopplung für eine Region auf Chromosom 8p (16-33 MB) gefunden (Ng et al., 2009).

Eine neuere, große Metaanalyse in der 970 Multiplex-Familien aus 7 verschiedenen Studien eingeschlossen wurden, fand Hinweise auf eine Kopplung bei von Schizophrenie betroffenen Familien in den Regionen 1p32.3, 2q36.1, 3q28, 5p14.1, 6q14.1-q15, 10q22.3, 10q26.12, 12q23.1-q23.2 und 15q23 (Vieland et al., 2014).

Kopplungsstudien identifizieren allerdings nicht einzelne Suszeptibilitätsgene, sondern chromosomale Regionen in der eine ganze Reihe von Genen liegen.

Assoziationsstudien

Durch den Vergleich zwischen Patienten und Kontrollprobanden wird in Assoziationsstudien die Beziehung einer Genvariation zum Auftreten von Schizophrenie untersucht. Assoziationsstudien sind besser geeignet, um Gene mit kleinem Effekt zu erkennen als Kopplungsstudien. Dabei gibt es verschiedene Ansätze bei der Auswahl der Gene, die untersucht werden sollen. Zum einen die

Kandidatengensuche, bei der speziell Gene untersucht werden, bei denen beispielsweise durch biochemische Hypothesen ein Zusammenhang mit Schizophrenie vermutet wird, zum anderen werden genomweite Assoziationsstudien durchgeführt, um mögliche Suszeptibilitätsgene aufzuspüren.

In einer großen genomweiten Assoziationsstudie, geleitet von Stefansson et al. 2009, wurden 2663 an Schizophrenie erkrankte Patienten und 13498 Kontrollprobanden aus 8 europäischen Standorten untersucht. Die Ergebnisse der 1500 besten Marker wurden mit den Ergebnissen des International Schizophrenia Consortium (ISC 2602 Fälle/2885 Kontrollen) und dem europäischen/amerikanischen Teil der Arbeitsgemeinschaft Molecular Genetics of Schizophrenia (MGS 2687 Fälle/2656 Kontrollen) zusammengefasst. Durch diese Herangehensweise konnten drei neue signifikante Allele in den Regionen von HLA (humanes Leukozytenantigen), Neurogranin (NRGN) und TCF4 (Transcription Cell Factor 4) identifiziert werden (Stefansson et al., 2009; Rujesuc, 2012). Die signifikante Assoziation von SNPs in der HLA-Region auf Chromosom 6 mit Schizophrenie wurde in weiteren Untersuchungen bestätigt (Shi et al., 2009). Diese Ergebnisse unterstützen die Theorie einer Beteiligung des Immunsystems an der Entstehung der Schizophrenie (Rujesuc, 2012; Müller et al., 2014). NRGN ist von entscheidender Wichtigkeit für die Langzeitpotenzierung über Beeinflussung des NMDA-Rezeptors (Zhong, 2009). TCF4 ist von wesentlicher Bedeutung für eine normale Gehirnentwicklung (Stefansson et al., 2009).

Die Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (PGC) fasste 2014 die Daten von 52 Fall-Kontroll-Studien in der bis dahin größten genomweiten Meta-Analyse zusammen. Es konnte Untersuchungsmaterial von 36.989 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 113.075 Kontrollprobanden genutzt werden. Dabei wurden 108 Loci identifiziert, die genomweit signifikant mit Schizophrenie assoziiert sind. Die gefundenen Assoziationen betrafen unter anderem DRD2 und eine Vielzahl an Genen die mit der glutamatergen

Neurotransmission in Verbindung stehen. Neben einer großen Anzahl an Genen die im Gehirn exprimiert werden, wurden auch Assoziationen mit Genen, die im Gewebe exprimiert werden und eine wichtige Rolle für das Immunsystem spielen, gefunden (Schizophrenia Working Group of Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen dem Immunsystem, dem Kynurenin-Stoffwechselweg und dem NMDA-Rezeptor, einem ionotropen Glutamat-Rezeptor. Der Kynurenin-Stoffwechselweg steht unter der Kontrolle des Immunsystems, gleichzeitig dienen Stoffwechselprodukte des Kynurenin-Stoffwechselweges als NMDA-Rezeptor-Agonisten oder -Antagonisten (Schwarcz et al., 2012).

1.1.5.4. Biochemische Faktoren

Genetischen Variationen können zu biochemischen Veränderungen führen. Es scheint außer Frage zu stehen, dass bei an Schizophrenie Erkrankten Störungen in den Neurotransmitter-Systemen vorliegen, auch wenn die Pathogenese im Einzelnen noch immer ungeklärt ist (Müller und Schwarz, 2010). Ein besonderer Schwerpunkt der Schizophrenieforschung liegt auf dem dopaminergen sowie dem glutamatergen System.

Dopaminhypothese

Eine der ältesten und meist untersuchtesten neurobiochemischen Erklärungsmodelle der Schizophrenie ist die Dopaminhypothese. Unterstützt wurde diese Hypothese durch die Wirksamkeit antipsychotischer Medikamente, die eine Blockade der postsynaptischen Dopamin-D₂-Rezeptoren bewirken (Carlsson, 1977; Ebert und Loew, 2005; Erhardt et al., 2007). Der psychotomimetische Effekt von Dopaminagonisten wie beispielsweise

Amphetaminen, ist ein weiterer Befund, der für die Dopaminhypothese spricht (Laruelle et al., 1996; Guillin et al., 2007).

Allerdings konnten mit der ursprünglichen Dopaminhypothese, die von einer Überfunktion des dopaminergen Systems ausging, nur die Positivsymptomatik an Schizophrenie Erkrankter erklärt werden, da die klassischen Antipsychotika die Negativsymptomatik kaum beeinflussen. In darauf folgenden Untersuchungen konnte eine Weiterentwicklung der Dopaminhypothese formuliert werden. So wurde postuliert, dass den positiven Symptomen eine Überfunktion im mesolimbischen dopaminergen System und den negativen sowie kognitiven Symptomen eine Unterfunktion im mesokortikalen dopaminergen System zugrunde liegen (Weinberger, 1987; Davis et al., 1991; Erhardt et al., 2007; Möller et al., 2009).

Trotz der großen Forschungsbemühungen ist der Großteil der Anhaltspunkte für die Dopaminhypothese indirekt, beispielsweise über die Wirkung antipsychotischer Medikamente oder das Auslösen akut psychotischer Symptome durch Amphetamine. In postmortem und PET Untersuchungen konnten zwar eine erhöhte D₂-Rezeptordichte in Gehirnen von Schizophreniepatienten dargestellt werden, allerdings war ein möglicher Einfluss der vorausgegangenen medikamentösen antipsychotischen Therapie nicht auszuschließen (Keshavan et al., 2008). Aufgrund der Serotonin-antagonistischen Wirkung der atypischen Antipsychotika wie beispielsweise Clozapin, fand die Interaktion zwischen Serotonin und dem Dopaminsystem zunehmendes Interesse (Kapur and Remington, 1996). Aber auch andere Neurotransmittersysteme stehen mit dem Dopaminsystem in Verbindung. Die Interaktionen verschiedener Neurotransmitter untereinander und ein gestörtes Gleichgewicht der Neurotransmittersysteme scheint wesentlich für das Auftreten der Symptome zu sein (Carlsson et al., 2001; Müller und Schwarz, 2010).

Glutamathypothese/ NMDA-Unterfunktionshypothese

Die Ursache der dopaminergen Dysfunktion bei Schizophrenie kann auch durch eine glutamaterge Unterfunktion begründet sein (Laruelle et al., 2005; Erhardt et al., 2007). Die Beobachtung von sehr niedrigen Glutamatkonzentrationen im Liquor von an Schizophrenie erkrankten Patienten führte zu der Hypothese, eine Unterfunktion des hemmenden Glutamatsystems sei ursächlicher Mechanismus für die Erkrankung (Kim et al., 1980). Eine Unterfunktion des glutamatergen cortico-striatalen-thalamo-cortikalen Schaltkreises ist mit einer verminderten Aktivität des sensorischen Filters Thalamus verbunden, was zu einer Überflutung mit sensorischen Informationen im Cortex und zu psychotischen Symptomen führt (Carlsson et al., 2001; Müller und Schwarz, 2006; Müller und Schwarz, 2010). Klinisch konnte nachgewiesen werden, dass Phencyclidin (PCP), Ketamin, MK-801 und andere N-methyl-D-aspartat-(NMDA-)Antagonisten schizophrenieforme Symptome auslösen. Durch Blockierung der NMDA-Rezeptoren führen diese Substanzen zu einer Unterfunktion der Glutamat-vermittelten exzitatorischen Neurotransmission (Javitt und Zukin, 1991; Krystal et al., 1994; Olney und Farber, 1995; Rujescu et al., 2005; Genius et al., 2013).

NMDA-Rezeptoren spielen eine entscheidende Rolle bei der synaptischen Plastizität (wie beispielsweise Langzeitpotenzierung und Langzeitdepression). Sie bilden also die Grundlage für verschiedene Lernvorgänge und Gedächtnis (Klinke et al., 2004; Balu und Coyle, 2011).

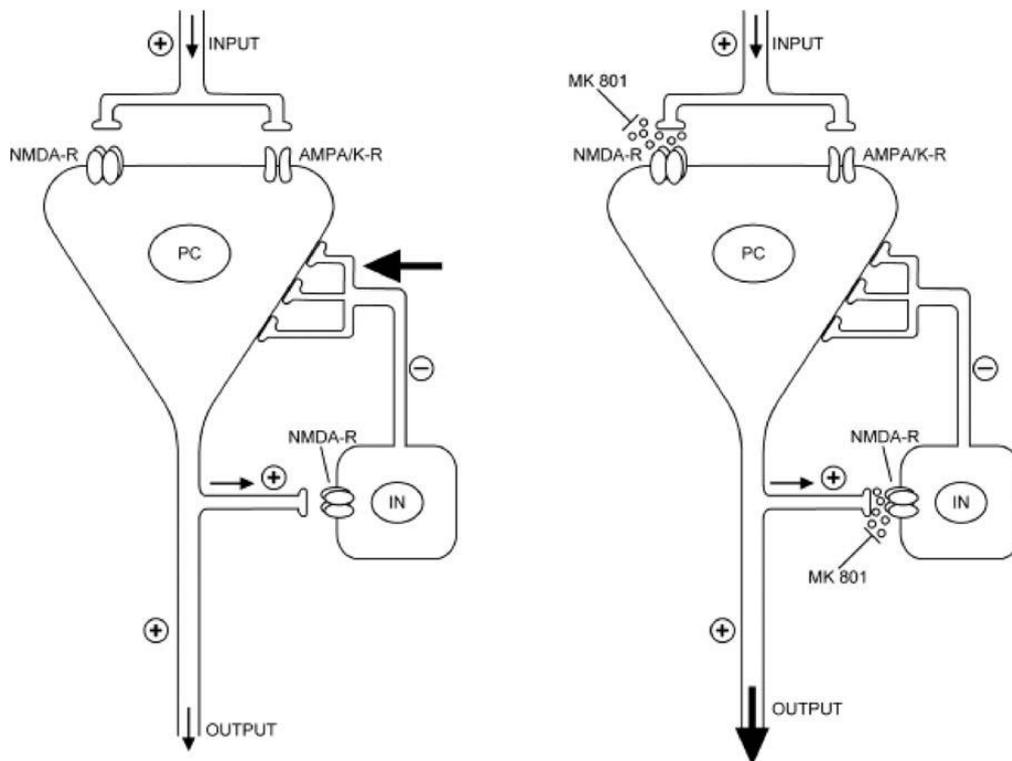


Abbildung 1.1.5.4.1. GABAerge Inhibition glutamaterger Pyramidenzellen (Rujescu et al., 2005) (IN= GABAerge Interneuronen, PC = Pyramidenzelle, NMDA-R = NMDA-Rezeptor, AMPA/K-R= AMPA/Kainat-Rezeptor)

NMDA- Rezeptoren befinden sich auch auf inhibitorischen GABAergen Neuronen, die glutamaterge Pyramidenzellen hemmen. Eine Blockade der NMDA-Rezeptoren führt zu einer verminderten Aktivität der inhibitorischen GABAergen Neurone, da die negative Rückkopplung fehlt (Abbildung 1.1.5.4.1.). Werden die Pyramidenzellen bei blockierten NMDA-Rezeptoren nun über Nicht-NMDA-Rezeptoren (AMPA/Kainat) aktiviert, kommt es zu einer übermäßigen Ausschüttung von Glutamat im zerebralen Cortex. Dies wiederum hat einen schädlichen Effekt auf die blockierten Neuronen, es kommt zur Exzitotoxizität und Neurodegeneration. Zudem wird die exzitatorische Weiterleitung in corticolimbische Gehirnregionen dieser glutamatergen Neuronen gesteigert, was auch hier zu einem schädlichen Effekt führen kann (Moghaddam et al., 1997; Rujescu et al., 2005; Meyer, 2011).

Es konnte außerdem eine Assoziation zwischen erhöhtem Spiegel der endogenen Kynurenin-Säure – dem einzigen natürlichen NMDA-Rezeptor-Antagonisten im

menschlichen Gehirn (Stone, 1993; Han et al., 2009; Müller und Schwarz, 2010; Schwarcz et al., 2012; Müller et al., 2015) - und einem Anstieg der Feuerrate von Dopaminneuronen im mesolimbischen System aufgezeigt werden. Dies weist darauf hin, dass erhöhte Spiegel von Kynurenin-Säure im Gehirn mit psychotomimetischen Effekten assoziiert sind (Erhardt et al., 2007).

Immundysbalance-Hypothese/Kynurenin-Metabolismus

Kynurenin-Säure schafft nicht nur eine Brücke zwischen der Glutamathypothese und der Dopaminhypothese, sondern spielt auch bei der Immundysbalance-Hypothese eine wichtige Rolle. Der Kynurenin-Stoffwechselweg steht unter der Kontrolle des Immunsystems (Schwarcz et al., 2012; Myint, 2012). Einige Befunde bei an Schizophrenie erkrankten Patienten legen nahe, dass bei Schizophreniepatienten ein Ungleichgewicht zwischen Typ-I und Typ-II Immunantwort vorliegt. Dem könnten prä- oder postnatale Infektionen zugrunde liegen (Schwarz et al., 2001; Müller und Schwarz, 2010; Meyer, 2011; Myint, 2012; Müller et al., 2014; Müller et al., 2015). Es konnte bei Schizophrenen eine verringerte in-vitro-Produktion von Interleukin-2 (IL-2) und Interferon-Gamma (INF- γ) nachgewiesen werden, als Hinweis auf eine reduzierte Typ-1-Immunantwort (Wilke et al., 1996; Müller et al., 2000; Müller et al., 2014). Außerdem zeigten sich bei an Schizophrenie Erkrankten erhöhte IL-6 Serum-Spiegel, erhöhte IL-10 Spiegel im Serum und im Liquor sowie erhöhte IL-4 Liquor-Spiegel, woraus auf eine verstärkte Aktivierung der Typ-2-Immunantwort geschlossen wurde (Kunz et al., 2010; Müller und Schwarz, 2010; Müller et al., 2014).

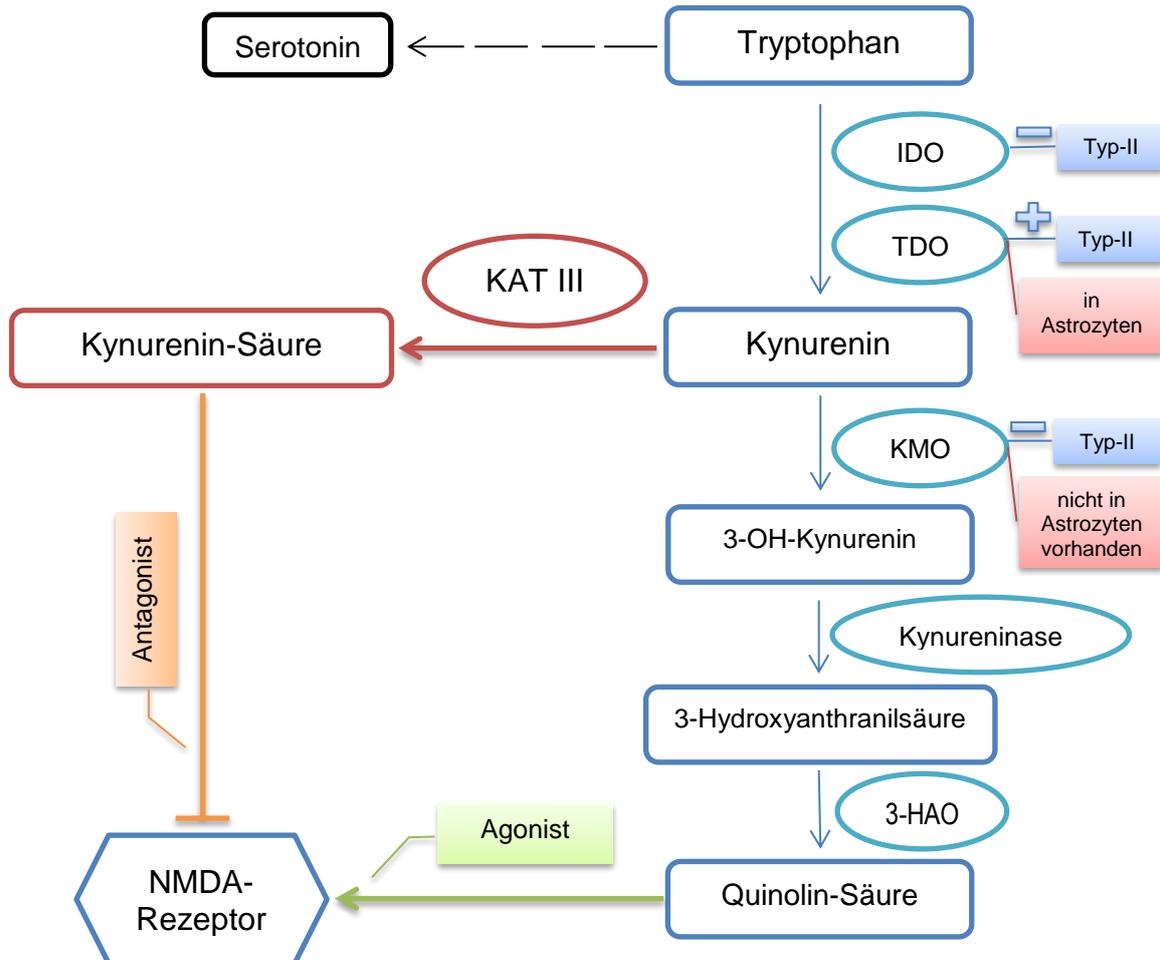


Abbildung 1.1.5.4.2: Metabolisierungsweg von Tryptophan (KAT III = Kynurenin-Aminotransferase III; IDO = Indolamin-Dioxygenase; TDO = Tryptophan-2,3-Dioxygenase; KMO = Kynurenin 3-Monooxygenase; 3-HAO = 3-Hydroxyanthranilsäure-3,4-Dioxygenase; Typ-II = Typ-II-Zytokine)

Zum Überwiegen der Typ-2-Immunantwort im ZNS von an Schizophrenie erkrankten Patienten trägt die differenzielle Aktivierung von Mikrogliazellen und Astrozyten bei (Müller et al., 2014). Die Überaktivität der Astrozyten lässt sich durch einen erhöhten Spiegel des Astrozytenmarkers S100B nachweisen. Dieses funktionelle Übergewicht von Astrozyten führt zur Akkumulation von Kynurenin-Säure. Das Enzym Kynurenin-Monooxygenase ist nur in Mikrogliazellen, nicht jedoch in Astrozyten vorhanden (siehe Abbildung 1.1.5.4.2.). Daher kann hier Kynurenin, welches aus der Degradation von Tryptophan anfällt, nicht zu Quinolininsäure abgebaut werden, sondern wird durch das Enzym Kynurenin-Aminotransferase III zu Kynurenin-Säure abgebaut (Müller und Schwarz, 2010). Astrozyten scheinen zudem einen regulierenden Effekt auf Mikrogliazellen zu

haben, sie können einen hemmenden oder stimulierenden Einfluss auf die Mikroglia-Funktion nehmen, je nachdem in welchem immunologischen Milieu die Interaktion stattfindet (Meyer, 2011).

Darüber hinaus wurden Veränderungen der Mikrogliazellen beobachtet, wobei einerseits eine funktionelle Störung des monozytären Systems mit einer herabgesetzten Stimulierbarkeit von Toll-like-Rezeptoren, andererseits eine ausgeprägtere Aktivierung von Mikrogliazellen im ZNS bei an Schizophrenie Erkrankten im Vergleich zu Kontrollprobanden beschrieben wurden. Mikrogliazellen spielen zwar eine wichtige Rolle im neuronalen Schutz, eine chronische oder überhöhte Aktivität der Mikrogliazellen ist allerdings mit einem neurodegenerativen Prozess verbunden. Aktivierte Mikrogliazellen schütten erhebliche Spiegel an Glutamat aus. Ein Überschuss an Glutamat wiederum wirkt neurotoxisch (Barger et al., 2007; Meyer, 2011; Müller et al., 2014).

Außerdem kommt es durch die Typ-I/Typ-II-Immundysbalance zu einem Ungleichgewicht zwischenIDO (Indolamin-Dioxygenase) und TDO (Tryptophan-2,3-Dioxygenase), da Typ-I-Zytokine die IDO-Aktivität stimulieren, während TDO durch Typ-II-Zytokine hochreguliert wird. Beide Enzyme katalysieren die Degradation von Tryptophan zu Kynurenin und hemmen sich gegenseitig. Allerdings ist TDO nur in Astrozyten vorhanden, wodurch die Akkumulation von Kynurenin-Säure bei Überwiegen der Typ-II-Immunantwort noch weiter verstärkt wird (Müller und Schwarz, 2010; Lavebratt et al., 2013; Müller et al., 2014). In einer Studie konnte eine höhere Expression von TDO im Vergleich zu IDO bei Schizophreniepatienten nachgewiesen werden (Miller et al., 2004).

Kynurenin-Säure ist ein kompetitiver Antagonist der ionotropen Glutamat-Rezeptoren (NMDA-, Kainat und AMPA), darüber hinaus wirkt Kynurenin-Säure bereits in geringer Konzentration als nicht-kompetitiver Inhibitor des nikotinergen Acetylcholin-Rezeptors (Stone, 1993; Hilmas et al., 2001; Yu et al., 2006; Zmarowski et al., 2009; Müller und Schwarz, 2010; Sathyaikumar et al., 2010; Schwarcz et al., 2012; Chiappelli et al., 2014). Dieser Antagonismus ist mit

kognitiven Einbußen verbunden. Somit kann eine erhöhte Kynurenin-Säure-Konzentration sowohl psychotische Symptome als auch kognitive Einschränkungen erklären (Müller und Schwarz, 2010; Wonodi et al., 2011; Myint, 2012; Müller et al., 2014; Pershing et al., 2015). Außerdem könnte durch eine gesteigerte Degradation von Tryptophan zu Kynurenin die Verfügbarkeit von Tryptophan für die Serotoninsynthese reduziert sein (Barry et al., 2009; Claes et al., 2011; Myint, 2012).

1.2. CCBL2-Gen

Das Genprodukt des Cysteine conjugate-beta lyase 2-Gens (CCBL2) ist die Kynurenin-Aminotransferase III. Das CCBL2-Gen liegt auf Chromosom 1p22.2 und umfasst 14 Exons.

Von den für Proteine kodierenden Spließvarianten, sind zwei Isoformen des Enzyms Kynurenin-Aminotransferase III genauer bekannt. Von den beiden Isoformen besteht Isoform 1 aus 454 Aminosäuren, Isoform 2 aus 420 Aminosäuren (siehe Abbildung 1.2.1.), enthält 2 Exons weniger und hat einen kürzeren N-Terminus im Vergleich zu Isoform 1 (Yu et. al., 2006).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Isoform 1		99	59	154	150	87	126	121	77	90	187	74	87	63
Isoform 2			59	154	150	87	126	121	77	90	187	74	87	63

Abbildung 1.2.1.: Schematische Darstellung von der Organisation des CCBL2-Gen in den für Isoform 1 und für Isoform 2 codierend Spließvarianten. Jedes Kästchen stellt ein Exon dar und die Anzahl der Nucleotide in dem jeweiligen Exon. Die grau gekennzeichneten Regionen an den N- und C-Termini sind untranslatierte Bereiche (nach Yu et. al., 2006).

Das Kynurenin-Aminotransferase III Enzym katalysiert Kynurenin zu Kynurenin-Säure, dem Endprodukt eines Seitenarms des Tryptophanmetabolismus (Müller und Schwarz, 2010; Myint, 2012; Schwarcz et al., 2012). Kynurenin-Säure ist in hoher Konzentration ein kompetitiver Antagonist der ionotropen Glutamat-

Rezeptoren (NMDA-, Kainat und AMPA), mit einer großen Affinität zur Glycin-Coagonisten-Seite des NMDA-Rezeptors, darüber hinaus wirkt Kynurenin-Säure bereits in geringer Konzentration als nicht-kompetitiver Inhibitor des nikotinergen Acetylcholin-Rezeptors (Stone, 1993; Hilmas et al., 2001; Yu et al., 2006; Müller und Schwarz, 2010; Sathyasaikumar et al., 2010; Holtze et al., 2012; Schwarcz et al., 2012; Myint, 2012; Chiappelli et al., 2014).

Statt dem Abbau von Kynurenin über die Kynurenin-Aminotransferase III zu Kynurenin-Säure, kann Kynurenin auch (hauptsächlich in Mikrogliazellen und Makrophagen) von Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO) zu 3-OH-Kynurenin abgebaut werden. Über mehrere Zwischenschritte ist ein weiteres Produkt dieses Seitenarms des Tryptophanmetabolismus die Quinolin-Säure, ein NMDA-Rezeptor-Agonist. 3-OH-Kynurenin kann neuronale Apoptose und Quinolin-Säure exzitotoxische neurodegenerative Veränderungen verursachen. Kynurenin-Säure, die hauptsächlich in Astrozyten gebildet wird, schützt vor der exzitotoxischen Wirkung von Quinolin-Säure. Sowohl Kynurenin-Säure als auch Quinolin-Säure können die Blut-Hirnschranke nicht übertreten und müssen lokal gebildet werden. Normalerweise sind beide Produkte nur in sehr niedriger Konzentration vorhanden. Da der Kynurenin-Stoffwechselweg unter der Kontrolle des Immunsystems steht, kann das Gleichgewicht zwischen diesen neurotoxischen und neuroprotektiven Metaboliten durch die verstärkte Aktivierung eines Teils des Immunsystems gestört werden. Obwohl Kynurenin-Säure normalerweise Quinolin-Säure als protektiver Metabolit gegenübersteht, kann sie bei Akkumulation von ungewöhnlich hohen Konzentrationen, wie oben beschrieben über Blockierung von NMDA-Rezeptoren einen schädlichen Effekt ausüben (Han et al., 2009; Müller und Schwarz, 2010; Claes et al., 2011; Schwarcz et al., 2012; Myint, 2012).

Bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen wie Chorea Huntington (Beal et al., 1990) und Alzheimer (Widner et al., 2000) sowie auch bei Depression (Claes et al., 2011) und Schizophrenie (Schwarcz et al., 2001; Erhardt et al.,

2001; Nilsson et al., 2005) ist der Kynurenin- und Kynurenin-Säure-Spiegel verändert (Yu et al., 2006; Han et al., 2009; Schwarcz et al., 2012; Nematollahi et al., 2014). So wurden erhöhte Kynurenin-Säure-Spiegel im Liquor von an Schizophrenie erkrankten Patienten gemessen (Erhardt et al., 2001; Nilsson et al., 2005). Des Weiteren konnte in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie zur Beziehung zwischen Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO) und des Kynurenin-Säure-Liquorspiegel bei Schizophreniepatienten und gesunden Kontrollprobanden, eine Assoziation zwischen dem KMO-SNP rs1053230 und einem erhöhten Kynurenin-Säure-Liquorspiegel festgestellt werden (Holtze et al., 2012).

In einer postmortem Untersuchung konnten erhöhte Kynurenin-Säure-Spiegel im präfrontalen Kortex (Brodmann Areal 9) bei Schizophreniepatienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe festgestellt werden (Schwarcz et al., 2001). Der präfrontale Kortex ist in der Schizophrenieforschung von besonderer Bedeutung, da er an Aufmerksamkeit, abstraktem Denken, Unterscheidung zwischen richtig und falsch, korrektem Sozialverhalten sowie an planvollem und zielgerichtetem Denken beteiligt ist, und Untersuchungen mit funktioneller Bildgebung eine verminderte Aktivität in diesem Bereich nachwies (Ebert und Loew, 2005; Martins-de-Souza et al., 2009). Auch in einer weiteren postmortem Untersuchung der Brodmann Areale 9 und 10 bei an Schizophrenie erkrankten Patienten und gesunden Kontrollen konnte eine signifikante Erhöhung des Kynurenin-Säure-Spiegel im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe im Bereich des präfrontalen Kortex gemessen werden. Darüber hinaus wurde in dieser postmortem Untersuchung auch die Aktivität verschiedener Enzyme des Kynurenin-Stoffwechselweges bestimmt. Eine signifikant verringerte Aktivität bei Schizophreniepatienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe stellte sich bei den Enzymen Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO) und 3-Hydroxyanthranilat-3,4-Dioxygenase (3-HAO) dar. Bei den anderen untersuchten Enzymen (Kynurenin-Aminotransferase II, Kynureninase, Chinolinsäure-Phosphoribosyltransferase) ergaben sich keine Aktivitätsunterschiede (Sathyaikumar et al., 2010). Eine verminderte Expression des KMO-Gens im präfrontalen Kortex bei an

Schizophrenie Erkrankten konnte durch postmortem Untersuchungen nachgewiesen werden (Lavebratt et al., 2013).

Assoziationsstudien zur Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO), beziehungsweise zum KMO-Gen ergaben inhomogene Ergebnisse (Aoyama et al., 2006; Wonodi et al., 2011). Schwierigkeiten genetische Forschungsergebnisse zu replizieren sind in der Schizophrenieforschung nicht ungewöhnlich, was vermutlich auf die Polygenetik und die Heterogenität dieser komplexen Erkrankung zurück zu führen sein dürfte (Wonodi et al., 2011).

In einer Assoziationsstudie im Fall-Kontroll-Design zur Assoziation zwischen Kynurenin-Aminotransferase III (KAT III) und Depression, konnte zwar für keinen der sechs CCBL2-SNPs eine Assoziation mit Depression nachgewiesen werden, allerdings ergab die Haplotyp Analyse signifikante Ergebnisse für alle Haplotyp-Blöcke, die den SNP rs12729558 enthielten, insbesondere der Haplotyp CGCTCT. Dieser Haplotyp wurde bei ca. 5,7% der Patienten und 1,9% der Kontrollprobanden gefunden (Claes et al., 2011). Der Kynurenin-Metabolismus scheint auch eine wichtige Rolle für die Dysfunktion des Immunsystems bei depressiven Patienten zu spielen, ein Ungleichgewicht zwischen dem neuroprotektiven und neurotoxischen Arm dieses Abbauweges mit einer erniedrigten Kynurenin-Säure-Konzentration konnte bei depressiven Patienten dargestellt werden (Claes et al., 2011).

Wie bereits beschrieben spielt die Kynurenin-Säure-Konzentration in der Immundysbalance-Hypothese auch in der Schizophrenieforschung eine wichtige Rolle (Müller und Schwarz, 2010), allerdings wurden erhöhte Kynurenin-Säure-Liquorspiegel gefunden (Erhardt et al., 2001; Nilsson et al., 2005), die Veränderungen bei Schizophrenie und Depression gehen also in gegensätzliche Richtung. Hiermit übereinstimmend fanden sich Befunde, die ein überwiegen der Typ-2-Immunantwort im ZNS von Schizophreniepatienten nahelegen, wohingegen bei depressiven Patienten die Typ-1-Immunantwort zu überwiegen scheint

(Schwarz et al., 2001; Müller und Schwarz, 2010; Meyer, 2011; Claes et al., 2011; Myint, 2012; Müller et al., 2014; Müller et al., 2015).

Durch Cyclooxygenase-Inhibition kann Einfluss auf den Kynurenin-Metabolismus genommen werden. Unter der Inhibition von Cyclooxygenase-1, die die Kynurenin-Säure erhöht, konnten psychotische Symptome und kognitive Auffälligkeiten beobachtet werden, während unter der Inhibition von Cyclooxygenase-2, die die Kynurenin-Säure senkt, therapeutische Effekte bei der Behandlung von Schizophrenie beobachtet wurden. Der Effekt der Cyclooxygenase-2-Inhibition hängt allerdings von der Erkrankungsdauer der Betroffenen ab, ein vorteilhafter Effekt konnte bei frühen Stadien der schizophrenen Erkrankung erzielt werden (Müller und Schwarz, 2010; Meyer, 2011; Müller et al., 2014; Müller et al., 2015).

Durch die in verschiedenen Forschungsbereichen erhobenen Befunde eines erhöhten Kynurenin-Säure-Spiegel bei an Schizophrenie erkrankten Patienten, lässt eine Assoziation eines oder mehrerer Gene des Kynurenin-Stoffwechselweges mit Schizophrenie vermuten.

2. Fragestellung

Es gilt heute als unumstritten, dass genetische Faktoren einen großen Anteil an der Entstehung der Schizophrenie haben. Trotz großer Fortschritte in der Forschung konnten jedoch bei weitem noch nicht alle beteiligten Faktoren identifiziert werden. Fall-Kontroll-Assoziationsstudien mit ausreichender Stichprobengröße können auf molekulargenetischer Ebene Suszeptibilitätsgene mit kleinem Effekt aufdecken.

In einigen Studien konnte eine Assoziation zwischen Schizophrenie und dem Immunsystem festgestellt werden. Einige Befunde bei Schizophreniepatienten legen nahe, dass bei an Schizophrenie Erkrankten ein Ungleichgewicht zwischen Typ-I und Typ-II Immunantwort vorliegt. Der Kynurenin-Stoffwechselweg steht unter der Kontrolle des Immunsystems. Auch ergaben zahlreichen Studien Hinweise auf einen Zusammenhang mit dem glutamatergen System und insbesondere dem NMDA-Rezeptor. Es konnte eine Assoziation zwischen erhöhten Spiegel der endogenen Kynurenin-Säure - dem natürlichen NMDA-Rezeptor-Antagonisten im menschlichen Gehirn - und einem Anstieg der Feuerrate von Dopaminneuronen im mesolimbischen System aufgezeigt werden.

Daher erscheint das CCBL2-Gen, dessen Genprodukt (Kynurenine-Aminotransferase III) Kynurenin zu Kynurenin-Säure katalysiert, als interessantes Kandidatengen.

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, festzustellen ob eine Assoziation zwischen den Polymorphismen rs12729558, rs17472003, rs6682686, rs3738055, rs7556189 des CCBL2-Gens und Schizophrenie besteht. Hierfür wurden die Genotypen von 1401 Kontrollen und 511 an Schizophrenie erkrankten Personen mittels iPLEX bestimmt und die Assoziation mit Schizophrenie überprüft.

3. Material und Methoden

3.1. Vorbedingungen für die Durchführung der Studie

Vor der Durchführung der Studie wurde die Zustimmung der lokalen Ethikkommission eingeholt. Alle teilnehmenden Probanden wurden am Beginn ausführlich über Ziele und Inhalt der Studie, sowie die Anonymisierung ihrer Daten und der entnommenen Blutproben aufgeklärt. Anschließend wurde das Einverständnis zur Studienteilnahme durch Unterzeichnung der schriftlichen Einverständniserklärung dokumentiert.

3.2. Studienteilnehmer

3.2.1. Kontrollprobanden

Die Kontrollgruppe bestand aus 1401 Personen, davon 650 (46,4%) Männer und 751 (53,6%) Frauen. Das durchschnittliche Alter betrug 46,58 Jahre mit einer Standardabweichung von 15,63 Jahre.

Die Kontrollprobanden wurden in einem mehrphasigen Verfahren rekrutiert. Zunächst erfolgte die Versendung von Einladungsschreiben an randomisiert ausgewählte, nicht verwandte, deutschstämmige Einwohner Münchens.

Bei positiver Rückmeldung wurden in einem standardisierten Telefonscreening die Teilnahmevoraussetzungen überprüft. Hierbei sollten psychiatrische und neurologische Erkrankungen, Alkohol-, Drogen- und Medikamentenmissbrauch, Suizid-/versuche und Suizidalität des potentiellen Teilnehmers und seiner Verwandten ausgeschlossen werden.

Nach erfolgreichem Abschluss des Telefonscreenings folgte die Zusendung eines ausführlichen Anamnesebogens. Hierin wurde die somatische und psychiatrische Krankheitsanamnese des Probanden und seiner blutsverwandten Angehörigen ersten bis dritten Grades erfasst. Weiterhin erfolgte eine ausführliche biographische Anamneseerhebung mit besonderem Augenmerk auf Ethnizität, Komplikationen während der Schwangerschaft und der eigenen Geburt, schulischer und beruflicher Werdegang sowie Wohnsituation und Familienstand.

Probanden, die die Voraussetzungen zur Studienteilnahme bis zu diesem Schritt erfüllten, wurden in der nächsten Phase zu einem Interviewtermin eingeladen. Hierbei wurde das Strukturierte Klinische Interview nach den Kriterien der Klassifikation des Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) der American Psychiatric Association in seiner 4. Revision, 1994 (Wittchen et al., 1996) eingesetzt. Das SKID I (Wittchen et al., 1997), welches in einer Screeningversion durchgeführt wurde, dient der Erfassung von Achse I Störungen nach DSM-IV (Psychopathologie) wie beispielsweise affektive Störungen, Angst- und Panikstörungen oder Erkrankungen aus dem schizophrenen Spektrum.

Das SKID II (Wittchen et al., 1997), welches zur Diagnostik von Persönlichkeitsstörungen gemäß DSM-IV Achse II Verwendung findet, kam in der Vollversion zur Anwendung. Außerdem wurden psychosoziale Belastungsfaktoren (Achse IV) des Kontrollprobanden exploriert und sein globales Funktionsniveau (Achse V) beurteilt. Mit dem Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (Richter & Guthke 1996), das als strukturiertes Interview geführt wurde, wurden bisher erlebte kritische Lebensereignisse und deren Relevanz in Bezug auf individuelle Lebensziele erfasst. Zur nochmaligen Überprüfung von eventuellen psychiatrischen Krankheiten bei Verwandten wurde das Family History Assessment Modul (Rice et al., 1995) verwendet. Mit Hilfe des Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene in revidierter Form (HAWIE-R; Tewes 1994) sowie des Wortschatztests (Schmidt und Metzler, 1992) wurde die allgemeine kognitive Leistungsfähigkeit des Probanden eingeschätzt. Um kognitive Leistungseinbußen bei Probanden ab 60 Jahren abzuklären, wurde bei diesen der Mini-Mental-Status-Test (MMST; Kessler et al., 1990) durchgeführt.

Der Studieneinschluss konnte nur erfolgen, wenn sich kein Hinweis auf neurologische oder psychiatrische Erkrankungen beim Probanden oder seinen Verwandten ergab und zudem ein IQ-Gesamtwert von ≥ 80 (HAWIE-R) und ein MMST von ≥ 26 Punkten vorlag.

3.2.2. Patienten

Die Gruppe der Patienten bestand aus 511 Personen, 333 (65,2%) Männer und 178 (34,8%) Frauen. Das Durchschnittsalter betrug 37,70 Jahre bei einer Altersverteilung von 18 bis 70 Jahren und einer Standardabweichung von 11,35 Jahre.

Rekrutiert wurden Patienten kaukasischer Abstammung, bei denen die Diagnose Schizophrenie vorlag. Patienten, die nach Erklärung von Ablauf, Hintergrund und Zielsetzung der Studie an der Teilnahme interessiert waren, wurden zu einem Untersuchungstermin eingeladen.

Einführend wurde beim Gesprächstermin mit Hilfe von standardisierten Anamnesebögen eine umfassende Eigenanamnese und zudem eine psychiatrische und somatische Krankheitsanamnese von Angehörigen ersten, zweiten und dritten Grades erhoben. Durch diese Erhebung der Familienanamnese war eine weitere Einteilung der Patientengruppe in Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades, Patienten mit psychisch kranken Angehörigen und Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen möglich. Erfragt wurden neben der Familienanamnese relevante Daten der bisherigen Lebensgeschichte des Patienten, begonnen mit Komplikationen während der Schwangerschaft und eigenen Geburt, auffällige Verhaltensweisen in Kindheit und Jugend, Schul- und Berufslaufbahn, familiäre Situation, somatische Erkrankungen, ambulante und stationäre psychiatrische Behandlungen, Aufenthalte in nichtpsychiatrischen Kliniken, Suizidversuch in der

Vergangenheit sowie belastende Lebensereignisse. Weiterhin wurden die Patienten zu ihrem Rauchverhalten befragt, sowie zu Medikamenteneinnahme, Alkohol- und Drogenkonsum.

Im Anschluss erfolgte die Durchführung des SKID I. Hiermit konnte zum einen die Diagnose überprüft und zum anderen Schweregrad, Verlauf und spezifische Symptome vergangener Episoden erfasst werden. Auch der differenzialdiagnostische Ausschluss beispielsweise schizophrener Störungen und schizoaffektiver Störungen erfolgte mittels SKID I. Ebenso wurde Alkoholabhängigkeit oder Drogenkonsum vor Beginn der schizophrenen Erkrankung mittels SKID I aufgedeckt, was bei Vorliegen als Ausschlusskriterium galt.

In die Studie eingeschlossen werden konnten nur Patienten, die die im Folgenden zusammengefasst beschriebenen Kriterien für die Diagnose Schizophrenie nach DSM-IV (Saß et al., 1996) erfüllten:

A. „Charakteristische Symptome: mindestens zwei der folgenden, jedes bestehend für einen erheblichen Teil einer Zeitspanne von 1 Monat (oder weniger, falls erfolgreich behandelt):

1. Wahn
2. Halluzinationen
3. desorganisierte Sprechweise (z.B. häufiges Entgleisen oder Zerfahrenheit)
4. grob desorganisiertes oder kataton Verhalten
5. negative Symptome“ (z.B. flacher Affekt)

B. „Soziale/berufliche Leistungseinbußen: Für eine bedeutende Zeitspanne seit dem Beginn der Störung sind (...) Funktionsbereiche wie Arbeit, zwischenmenschliche Beziehungen oder Selbstfürsorge deutlich unter dem Niveau, das vor dem Beginn“ der Erkrankung erreicht wurde.

- C. Dauer: mindestens 6 Monate, davon mindestens 1 Monat mit floriden Symptomen (oder weniger, falls erfolgreich behandelt) und kann Perioden mit prodromalen oder residualen Symptomen einschließen
- D. Ausschluss von Schizoaffectiver oder Affectiver Störung.
- E. „Ausschluss von Substanzeeinfluss/medizinischem Krankheitsfaktor: Das Störungsbild geht nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Droge, Medikament) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurück.“

Gemäß Kriterium E konnten so beispielsweise Patienten, die bereits vor Beginn der Prodromalphase an Epilepsie litten, sowie Patienten, bei denen zusätzlich die Diagnose Persönlichkeitsstörung gestellt wurde, nicht in die Studie eingeschlossen werden. Bestanden Hinweise auf das Vorliegen einer solchen Störung wurde das SKID II zur Verifizierung bzw. zum Ausschluss durchgeführt. Außerdem konnten Patienten, bei denen eine Hepatitis B-, C- oder HIV-Infektion vorlag sowie Patienten bei denen jemals intravenöser Drogenkonsum bestanden hatte, nicht in die Untersuchung eingeschlossen werden. Weiterhin wurden Patienten ausgeschlossen, die vor Beginn der schizophrenen Erkrankung an einer potentiell das Gehirn schädigenden Erkrankung wie Neurolyues, Neuroborreliose, Toxoplasmose, Morbus Wilson, Multiple Sklerose, Epilepsie, an einem Gehirntumor, Enzephalitis oder Meningitis erkrankt waren.

Mittels der im SKID I erhobenen Symptome konnte die Bestimmung des phänomenologischen Subtyps (paranoid, kataton, desorganisiert oder undifferenziert) erfolgen. Weiterhin waren Verlaufsmuster und Chronologie der Störung (Alter bei Beginn der Prodromalphase, Alter bei Erstmanifestation, Anzahl der Episoden und Verschlechterungen) zu erheben. Die Einschätzung des Schweregrades erfolgte zum einen für die schlimmste jemals vorgelegene Ausprägung, zum anderen für die aktuelle Ausprägung der Störung.

Auch das Vorhandensein von Komorbiditäten wie beispielsweise Angst-, Panik-, Zwangs- und Essstörungen, wurde mittels SKID I überprüft.

Zusätzlich wurde die Zeitdauer der Symptome anhand der Operational Criteria Checklist of Psychotic Illness (Opcrit; McGuffin et al., 1991) und deren Ausprägung anhand der Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS; Kay et al., 1987) eingeschätzt. Bei letzterem handelt es sich um ein formalisiertes psychiatrisches Interview, mit welchem die in Tabelle 3.2.2.1. aufgeführten 30 Symptome anhand einer 7-stufigen Skala nach ihrem Schweregrad beurteilt werden können.

Tabelle 3.2.2.1: Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS; Kay et al., 1987):

Positiv	Negativ
Wahnideen	Affektverflachung
Formale Denkstörungen	Emotionaler Rückzug
Halluzinationen	Mangelnder affektiver Rapport
Erregung	Soziale Passivität und Apathie
Größenideen	Schwierigkeiten beim abstrakten Denken
Misstrauen/Verfolgungsideen	Mangel an Spontanität und Flüssigkeit der Sprache
Feindseligkeit	Stereotype Gedanken
Allgemeinpsychopathologie	
Sorge um die Gesundheit	Ungewöhnliche Denkinhalte
Angst	Desorientiertheit
Schuldgefühle	Mangelnde Aufmerksamkeit
Anspannung	Mangelnde Urteilsfähigkeit und Einsicht
Manierismen und unnatürliche Körperhaltung	Willensschwäche
Depression	Mangelnde Impulskontrolle
Motorische Verlangsamung	Selbstbezogenheit
Unkooperatives Verhalten	Aktives soziales Vermeidungsverhalten

3.3. Untersuchte Einzelbasenaustauschpolymorphismen

In dieser Studie wurden 5 Einzelbasenaustauschpolymorphismen (*single nucleotid polymorphism*, SNP), die im Bereich des CCBL2-Gens lokalisiert sind, genotypisiert und auf signifikante Unterschiede in der Allel- und Genotyphäufigkeit hin untersucht (Tabelle 3.3.1). Von diesen 5 SNPs befinden sich 4 in Intron-Bereichen und einer in einem Exon-Bereich des Gens. Letzterer, der Polymorphismus rs3738055, steht an der dritten Stelle des Codons, ein Austausch des Allels (von C in T) führt zu einer synonymen Variante, es resultiert also keine Änderung der kodierten Aminosäure, in beiden Fällen wird Serin kodiert (NCBI, 2014;).

Tabelle 3.3.1.: Untersuchte SNPs (NCBI, 2014; Ensembl, 2014):

SNP	[Allele] der SNPs mit Flankierende Sequenzen	Position auf Chromosom 1	Lage im Gen
rs12729558	TGGGTGATAAAGCCCAG GT[C/G]GGGTGAAGATGT AGTGTAGCAGCCT	88937277	Intron
rs17472003	ATTTTAAAGTATTCATCAG TAAGATT[A/G]TATCTCCA CATAGCCACTCATT	88943805	Intron
rs6682686	ACAAATCTGCTCCTCTCC ATATTTAC[C/T]CTGGTTA AAGGTCTCATCACTG	88958237	Intron
rs3738055	ATATGACACACTCTGCAT CAG[C/T]GATGAGGTTTAT GAATGGCTTGTAT	88961219	Exon
rs7556189	ATGAGATACGTGGTTGCT ATGGGTTG[C/G]ACCATG CCCCCCTTAGTTTCATAT G	88972915	Intron

Keiner der untersuchten Polymorphismen liegt in einem der bekannten translationsregulierenden Bereiche (Tabelle 3.3.2.).

Tabelle 3.3.2. Position der Transkriptions-Regulatoren (Ensembl, 2014)

Regulationsart	Position auf Chromosom 1
CTCF Bindestelle	1:88.935.773-88.936.372
CTCF Bindestelle	1:88.973.373-88.974.172
Enhancer	1:88.980.973-88.981.372
Enhancer	1:88.982.173-88.982.572
CTCF Bindestelle	1: 88.982.173-88.982.572
Promoter flankierende Region	1:88.983.773-88.986.372
CTCF Bindestelle	1: 88.983.773-88.984.172
Promoter	1:88.991.173-88.993.772

CTCF=CCCTC-binding factor

3.4. Laborverfahren

Für die Extraktion der DNA, die anschließende Konzentrationsmessung und -einstellung, sowie für die Genotypisierung wurden im Labor etablierte bzw. adaptierte Standardverfahren angewendet (beschrieben in Friedl, 2011).

3.4.1. DNA-Extraktion

Zur Genotypisierung der CCBL2 Polymorphismen aller Studienteilnehmer, wurde hochreine genomische DNA benötigt. Daher wurde von allen in die Studie eingeschlossenen Kontrollprobanden und Patienten etwa 70 ml venöses Blut entnommen, später erfolgte hieraus die DNA-Extraktion nach dem Protokoll des Qiagen DNA Blood Maxi Kits (Qiagen, 2002). Bei dieser Extraktionsmethode erfolgt die Bindung der DNA in Gegenwart chaotroper Salze an eine Silikagelmembran (Grieß et al., 2002).

Das in EDTA-Monovetten entnommene Vollblut wurde bei 3000 rpm zur Trennung von Plasma und Blutkuchen zentrifugiert, das so abgetrennte Plasma wurde bei -80 °C und der Blutkuchen bei -20 °C bis zur weiteren Verwendung gelagert. Zur

DNA-Extraktion wurde letzterer bei Raumtemperatur aufgetaut und auf ein Endvolumen von 10 ml mit 1x PBS-Puffer (Tabelle 3.4.1.1.) aufgefüllt.

Tabelle 3.4.1.1. Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die DNA-Extraktion

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
10x PBS-Puffer: 80 g NaCl 14,4 g Na ₂ HPO ₄ 2 g KCl 2,4 g KH ₂ PO ₄ Ad 1 l mit Aqua dest. Mit NaOH auf pH 7,4	Herstellung des 1xPBS-Puffers	Eigene Herstellung
1x PBS-Puffer: 100 ml 10x PBS-Puffer 900 ml Aqua dest.	Resuspendierung des Blutkuchens	Eigene Herstellung
50 ml Zentrifugenröhre	Auffangen der Eluate	Sarstedt, Nürnberg
EDTA Dinatriumsalz Dihydrat (Titrierkomplex III)	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Eppendorf Research Pipette (100-1000µl)	Pipettierung der DNA	Eppendorf, Hamburg
Ethanol Rotipuran >99,8% p.a.	Entfernung der Hydrathülle der DNA	Carl Roth, Karlsruhe
Kaliumchlorid, KCl	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Kaliumhydrogenphosphat, KH ₂ PO ₄	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Natriumhydroxid, NaOH	Herstellung des 10x PBS-Puffers	Carl Roth, Karlsruhe
Puffer AE	Elution der DNA	Qiagen, Hilden
Puffer AL	Zelllyse	Qiagen, Hilden
Puffer AW1	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
Puffer AW2	Entfernung von Zellrückständen	Qiagen, Hilden
QIAamp Maxi Spin Columns	Bindung der DNA	Qiagen, Hilden
Qiagen Protease	Abbau von Zellproteinen	Qiagen, Hilden
Rotixa RP Standzentrifuge	Alle Zentrifugationsschritte	Hettich, Tuttlingen
Sammelgefäße	Auffangen der DNA	Qiagen, Hilden
Vortex Genie	Durchmischung der Blut-Puffer-Suspensionen	Scientific Industries, New York, USA
WB Wasserbad	Inkubation bei 70 °C der Blut-Puffer-Suspension	Memmert, Schwabhausen

Zur Zelllyse wurde der resuspendierte Blutkuchen mit 500 µg Qiagen Protease versetzt und anschließend 12 ml des Guanidiniumhydrochlorid-haltigem Lysepuffers AL dazu gegeben und für 60 s auf einem Vortexer gründlich

gemischt. Durch die Zugabe des chaotropen Salzes Guanidiniumhydrochlorid kommt es zur Denaturierung von DNA-Bindeproteinen, was die Freisetzung der genomischen DNA erleichtert. Dieses Gemisch wurde für 30 min bei 70 °C im Wasserbad inkubiert (Friedl, 2011).

Zur Entfernung der Hydrathülle der DNA erfolgte anschließend die Zugabe von 10 ml Ethanol, nach erneutem Mischen (2 min auf dem Vortexer) wurde diese Lösung nach und nach auf eine QIAamp Maxi Säule überführt und jeweils bei 3000 rpm 3 min zentrifugiert, um die DNA an die Silikagelmembran zu binden.

Es folgte ein Waschschrift mit 5 ml Puffer AW1 und Zentrifugation für 2 min bei 4000 rpm zur Entfernung der restlichen Protein- und RNA-Kontaminationen. Ein weiterer Waschschrift mit 5 ml ethanolhaltigem, salzarmen Puffer AW2 und Zentrifugation für 15 min bei 4000 rpm diente dazu Guanidiniumhydrochlorid quantitativ auszuwaschen und die DNA für die Elution vorzubereiten.

Nach diesen Waschschriften wurde die aufgereinigte DNA durch zweifache Inkubation der Silikagelmembran mit insgesamt 1,5 ml TRIS-haltigem AE-Puffer und anschließender Zentrifugation für 2 min bei 5000 rpm eluiert.

3.4.2. Konzentrationsbestimmung der DNA

Die aus der Extraktion gewonnenen DNA-Lösungen wurden für die weitere Prozessierung auf einen einheitlichen Konzentrationswert von 50 ng/µl eingestellt. Hierzu wurde zunächst die Konzentration der DNA-Lösungen mittels eines auf dem fluoreszierenden Farbstoff PicoGreen (Invitrogen, Karlsruhe) basierenden Assays bestimmt. Dabei existiert eine lineare Beziehung zwischen der Fluoreszenzintensität und der in der Probe enthaltenen DNA-Menge (Invitrogen, 2009).

Zunächst wurde durch eine 1:2 Verdünnungsreihe eines 100 ng/µl DNA-Standards (Clontech, Mountain View, USA) eine Eichkurve bestimmt (Friedl, 2011).

Die aus den Blutproben gewonnenen DNA-Lösungen wurden in einer 96 Well Mikrotiterplatte (ABgene, Hamburg) mit destilliertem, autoklaviertem Wasser verdünnt (1:10 -> 5 µl DNA und 45 µl H₂O). Anschließend wurden jeweils 5 µl dieser verdünnten DNA-Lösung bzw. der Standardverdünnungsreihe zu 50 µl destilliertem, autoklaviertem Wasser in eine schwarze 96 Well Mikrotiterplatte mit flachem Boden (Greiner, Frickenhausen) gegeben. Vor der Messung wurde das PicoGreen mit destilliertem, autoklaviertem Wasser 1:156 verdünnt und direkt anschließend 145 µl dieser Verdünnung zu der vorverdünnten Proben- bzw. der Standard-DNA gegeben. Nun konnten durch einen Greifarm der Janus Workstation die befüllten Platten in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 (Perkin Elmer, Massachusetts) überführt werden. Die Proben wurden jeweils in Duplikaten gemessen. Mit einem auf Virtual Basic basierenden Makro wurde die Konzentration der DNA-Lösungen anhand der Fluoreszenzwerte berechnet. Außerdem wurde das nötige Mischverhältnis von destilliertem, autoklaviertem Wasser und DNA-Lösung berechnet, um die DNA-Lösungen auf eine Konzentration von 50 ng/µl einzustellen. Diese Konzentrationseinstellung wurde mit dem Janus Pipettierroboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer, Massachusetts) vollautomatisch ausgeführt. Im Anschluss wurde die DNA bei -80 °C gelagert (Friedl, 2011).

3.4.3. Genotypisierung

Die für die nach dem iPLEX-Verfahren durchgeführte Genotypisierung nötigen Arbeitsschritte lassen sich unterteilen in:

- 1) Multiplex-PCR (Polymerase Kettenreaktion)
- 2) Shrimp Alkaline Phosphatase –Dephosphorylierung
- 3) Primerextensionsreaktion – iPLEX-Reaktion
- 4) MALDI-TOF Massenspektrometrie

Multiplex PCR (Polymerase Kettenreaktion)

Bei dem iPLEX-Verfahren werden in einem Reaktionsgefäß mehrere PCR-Reaktionen (bis zu 36) gleichzeitig durchgeführt.

Zunächst wurde die genomische Sequenz, die den SNP enthielt, amplifiziert, um eine genügend hohe Konzentration für die Primerextensionsreaktion zu erhalten. Bei der sogenannten SNP Capture Reaktion wurden in einer modifizierten PCR jeweils die SNPs eines Plexes gleichzeitig prozessiert. Die Primer für die SNP Capture Reaktion wurden mit zur Zielsequenz nicht-komplementären Basen am 5'-Ende entworfen (Tabelle 3.4.3.1.). Diese *tag*-Sequenzen erleichtern in den weiteren Zyklen die Anlagerung der nächsten PCR-Primer und dienen dazu, die Massen der Primer soweit zu vergrößern, dass sie das Massenfenster des Spektrometers überschreiten (Sequenom, 2005).

Tabelle 3.4.3.1. PCR-Primer für die untersuchten SNPs:

SNP	1. PCR - Primer	2. PCR - Primer
rs12729558	XCAGGCTTTGACATTTTGTGC	XGGTCGGCATGGGTGATAAAG
rs17472003	XAGGGATGCCTTTCCATTGAG	XGTCGAATGAGTGGCTATGTG
rs3738055	XGTGACTCTGTGTTATAGTTGG	XGCATCAAATATGACACACTC
rs6682686	XTACTCAGCAGTGATGAGACC	XCAGGAATTCCCTTTGCTCAG
rs7556189	XGAACTGGGAGTTAGGACTTC	XGTGGAAATGAAGTCTGGAGG

X= ACGTTGGATG (*tag*-Sequenz)

Tabelle 3.4.3.2. Reagenzien des Mastermix für die Multiplex SNP Capture Reaktion:

Reagenz	Volumen pro Reaktion in µl	Hersteller
destilliertes Wasser	1,850	ELGA, Celle
10x PCR – Puffer	0,625	Qiagen, Hilden
MgCl ₂ (25 mM)	0,325	Qiagen, Hilden
dNTP Mix (25 mM)	0,100	ABgene, Hamburg
Primer Mix (500 nM)	1,000	Metabion, Martinsried
HotStar Taq-Polymerase (5 U/µl)	0,100	Qiagen, Hilden

Mittels Mehrkanalpipette (Eppendorf, Hamburg) wurde der Mastermix (siehe Tabelle 3.4.3.2.) auf eine 96 Well Mikrotiterplatte (Sarstedt, Nürnberg) aufgeteilt. Anschließend wurden jeweils 3 µl Mastermix aus der 96 Well Platte entnommen

und mit dem Pipettierroboter (Microlab, Hamilton) in die Vertiefungen einer 384 Well Mikrotiterplatte (ABgene, Hamburg) pipettiert. Dazu wurden pro Vertiefung 2,5 µl der DNA je eines Probanden gegeben, die bei der DNA-Extraktion gewonnen wurde. Vor der weiteren Prozessierung in Thermocyclern (Applied Biosystems, Foster City) wurden die Reaktionsplatten abzentrifugiert und mit Heat Sealing Foil (ABgene, Hamburg) verschweißt. Nun konnte das SNP-Capture-Programm gestartet werden:

Zunächst erfolgte die initiale Denaturierung für 5 min bei 95 °C (Tabelle 3.4.3.3). Für weitere 20 s wurde die Temperatur bei 95 °C gehalten zur Denaturierung. Danach wurden die Proben für 30 s auf 56 °C abgekühlt, wodurch die Anlagerung der Primer an den Einzelstrang der DNA ermöglicht wurde (Annealing). Nun wurde die Temperatur für 1 min auf 72 °C erhöht, um die Elongation der Primer durch die Taq-Polymerase zu ermöglichen. Diese 3 Schritte (Denaturierung, Annealing, Elongation) wurden in 45 Zyklen wiederholt. Anschließend wurde die Temperatur zur abschließenden Extension für 3 min bei 72 °C gehalten. Zuletzt wurden die Proben auf 12 °C abgekühlt (Klotz-Rödig, 2015).

Tabelle 3.4.3.3. Ablauf der SNP Capture Reaktion:

	95 °C	5 min	initiale Denaturierung
45 Zyklen	95 °C	20 s	Denaturierung
	56 °C	30 s	Annealing
	72 °C	1 min	Elongation
	72 °C	3 min	abschließende Extension
	12 °C	∞	

Shrimp Alkaline Phosphatase-Dephosphorylierung

Tabelle 3.4.3.4. SAP-Mastermix

Reagenz	Volumen pro Reaktion in µl	Hersteller
destilliertes Wasser	1,530	ELGA, Celle
Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) Enzym	0,300	Sequenom, San Diego, USA
10x SAP Buffer	0,170	Sequenom, San Diego, USA

Da überschüssige dNTPs (Desoxynukleotidtriphosphate) die spätere iPLEX-Reaktion stören könnten, wurden diese mittels Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP, Sequenom, San Diego) bei 37 °C dephosphoryliert. Dafür wurden je 2 µl SAP-Mastermix (Tabelle 3.4.3.4) zu 5 µl Reaktionsprodukt aus der SNP-Capture Reaktion gegeben. Anschließend wurde die Phosphatase durch Erhitzung auf 85 °C denaturiert und endgültig inaktiviert. Vor dem nächsten Arbeitsschritt wurde das so gereinigte PCR-Produkt wieder auf 4 °C abgekühlt (Friedl, 2011).

iPLEX-Reaktion

Im Anschluss folgte die Einzelbasenextension. Hierfür wurden Didesoxynukleotide (ddNTPs) als Terminatoren benutzt. So konnten die Extensionsprimer (Tabelle 3.4.3.5.) in der iPLEX-Extensionsreaktion, um eine zu den SNP-Allelen komplementäre Base verlängert werden.

Tabelle 3.4.3.5. Extensionsprimer für die untersuchten SNPs:

SNP	mögliches Allel	Extendprimer
rs12729558	G/C	ccTGGGTGATAAAGCCCAGGT
rs17472003	G/A	AGTGGCTATGTGGAGATA
rs3738055	T/C	CAAATATGACACACTCTGCATCAG
rs6682686	T/C	cTCTGCTCCTCTCCATATTTAC
rs7556189	C/G	ggagACGTGGTTGCTATGGGTTG

Zur besseren Unterscheidung wurden massenmodifizierte ddNTPs eingesetzt.

Tabelle 3.4.3.6. iPLEX Reaktionsmix:

Reagenz	Volumen pro Reaktion in µl	Hersteller
destilliertes Wasser	0,755	ELGA, Celle
iPLEX Buffer Plus	0,200	Sequenom, San Diego
iPLEX Enzyme	0,041	Sequenom, San Diego
iPLEX Termination Mix	0,200	Sequenom, San Diego
Primer Mix (7 µM – 14 µM)	0,804	Metabion, Martinsried

Nach Aliquotierung des iPLEX Reaktionsmix (Tabelle 3.4.3.6.) in eine 96 Well Mikrotiterplatte wurden jeweils 2 µl dieses Reaktionsmixes zu den SNP Capture Reaktionsprodukten pipettiert. Danach wurden die Platten abzentrifugiert und im Thermocycler (Applied Biosystems, Foster City) prozessiert:

Zunächst erfolgte die initiale Denaturierung für 30 s bei 94 °C. Für weitere 5 s wurde die Temperatur zur Denaturierung bei 94 °C gehalten. Danach wurden die Proben für 5 s auf 52 °C abgekühlt, wodurch die Anlagerung der Primer an den Einzelstrang der DNA ermöglicht wurde (Annealing). Nun wurde die Temperatur für 5 s auf 80 °C erhöht, um die Elongation durch die Taq-Polymerase zu ermöglichen. Diese 3 Schritte (Denaturierung, Annealing, Elongation) wurden in 40 Zyklen wiederholt, wobei Annealing und Elongation jeweils 5 Mal innerhalb eines Zyklus wiederholt wurden. Anschließend wurde die Temperatur zur abschließenden Extension für 3 min bei 72 °C gehalten. Zuletzt wurden die Proben auf 4 °C abgekühlt (Tabelle 3.4.3.7).

Tabelle 3.4.3.7. iPLEX-Programm:

		94 °C	30 s	initiale Denaturierung
40 Zyklen	5 Zyklen	94 °C	5 s	Denaturierung
		52 °C	5 s	Annealing
		80 °C	5 s	Elongation
		72 °C	3 min	abschließende Extension
		4 °C	∞	

Die anschließende Massenspektrometrie würde durch Ionen beeinträchtigt werden. Daher mussten die iPLEX-Reaktionsprodukte mit Hilfe von Clean Resin (Sequenom, San Diego) entsalzt werden. Dieser Ionenaustauscher ersetzt z.B. Alkalimetallionen durch Ammoniumionen. Dadurch werden während der Desorption auftretende Addukte mit den Nukleinsäuren vermieden, da Ammoniumionen als flüchtige Kationen in der Gasphase als Ammoniak freigesetzt werden (Jurinke et al., 2004).

MALDI-TOF Massenspektrometrie

Mittels *dried droplet* Methode wurden die Extensionsprodukte für die massenspektrometrische Messung auf einen Siliziumchip mit aufgetragenen Matrixpunkten übertragen. Auf diesem Probenträger (Spectro CHIPS, Sequenom, San Diego) sind neben 384 Matrixspots für Analytlösung auch 8 Kalibrationsspots für einen Dreipunkt-Kalibranten (3 Point Calibrant, Sequenom, San Diego) aufpräpariert. Dieser enthielt drei definierte Substanzen bekannter Masse, so dass mit Hilfe des Kalibrationspektrums die Analytenspektren kalibriert werden konnten. Die Übertragung von ca. 30 – 40 nl Analytlösung pro Matrixpunkt auf den Spectro CHIP (Sequenom, San Diego) wurde mit einem MassARRAY POINT Nanodispenser (Sequenom, San Diego) durchgeführt. Nach der Übertragung wurden die Chips auf ein Spectro TARGET (Sequenom, San Diego) gelegt und in das Autoflex MALDI-TOF Massenspektrometer (Bruker Daltonics, Bremen) eingeschleust. Dafür wurden alle nötigen Informationen für jeden Chip in eine Datenbank eingegeben, mit Hilfe des Assay Editors (Sequenom, San Diego) die zu erwartenden Massen der Extensionsprodukte festgelegt und mittels Plate Editor (Sequenom, San Diego) alle Angaben zu den gemessenen SNPs und der Position der einzelnen DNAs zusammengebracht. So konnten die Chips in der Datenbank kreiert werden, die Zuordnung zwischen Datenbank und MALDI-TOF Massenspektrometer erfolgte mittels Chip Linker (Sequenom, San Diego). Die Messung selbst wurde mit der Flex Control Software (Bruker Daltonics, Bremen) gesteuert. Hierbei wurde das Analyt-Matrix-Gemisch auf dem Spectro CHIP mit einem kurzen intensiven Laserimpuls beschossen, was die Desorption einleitete. Die so im MALDI erzeugten einfach geladenen Ionen wurden anschließend zur Massenanalyse im Flugzeitspektrometer (Time of Flight – TOF) nach ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung aufgetrennt. Dazu wurden die Ionen zunächst in einem elektrischen Feld beschleunigt und traten dann in eine freie Driftstrecke ein, wobei die Flugzeit gemessen wurde. Von der gemessenen Flugdauer konnte auf die molekulare Masse zurück geschlossen werden. So konnte jedem Extensionsprodukt mittels TYPER Analyzer 3.3.0 Software (Sequenom, San Diego) ein spezifischer Genotyp zugeordnet werden. Mit der Spektro ACQUIRE

Software (Sequenom, San Diego) konnte das Ergebnis der in der iPLEX-Reaktion durchgeführten Genotypisierung verfolgt werden.

3.5. Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde die Programme IBM SPSS Statistics 19 Software (Statistical Package for Social Sciences, Inc., Chicago, USA), Haploview (Haploview 4.2, Barrett et al., 2005), PLINK (PLINK v1.07, Purcell et. al, 2007), und R v 2.13.0 (R Development Core Team, 2011) verwendet.

Die Unterschiede zwischen Kontroll- und Patientengruppe in Bezug auf die Allel- und Genotyphäufigkeit wurden mittels exakten Tests nach Fischer überprüft.

Zusätzlich wurden die Träger des selteneren Allels A1 (homozygot (A1A1) + heterozygot (A1A2)) mit Personen ohne Allel 1 (A2A2) verglichen (dominantes Modell). Weiterhin wurden Träger des Allels 1 in der homozygoten Form (A1A1) mit Personen mit Allel 2 (A2A2 + A1A2) verglichen (rezessives Modell).

Auch die Abweichung der Genotypverteilung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) wurden mit dem exaktem Test nach Fischer bestimmt. Da bei einer signifikanten Abweichung ein Genotypisierungsfehler nicht auszuschließen wäre, führte eine solche zum Ausschluss des SNPs aus weiteren Analysen.

Mit Hilfe der Haploview Software (Haploview 4.2; Barrett et al., 2005) wurde eine Haplotyp-Analyse durchgeführt. Nach der Methode von Gabriel (Gabriel et al., 2002) wurden die Haplotyp Blöcke bestimmt und die Haplotyp Frequenz zwischen Patienten und Kontrollen wurden mit Hilfe des Chi Quadrat Tests verglichen. Um auch für multiples Testen zu korrigieren, wurde der p-Wert mit einem Permutationstest mit 50000 Permutationen bestimmt. Nur Haplotypen mit einer Frequenz über 1% wurden in die Analyse einbezogen.

Als statistische Berechnungsgrundlage wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt, $p < 0,1$ wurde als Trend gewertet.

4. Ergebnisse

4.1. Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde untersucht, ob es eine Assoziation zwischen 5 SNPs des CCBL2-Gens und Schizophrenie gibt. Hierfür wurden 511 an Schizophrenie erkrankte Patienten und 1401 Kontrollprobanden hinsichtlich der Genotypverteilung der 5 SNPs verglichen. Zusätzlich wurde der Vergleich mit Kontrollen auch für Patienten (1) mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades, (2) sonstigen Angehörigen mit Schizophrenie und (3) Angehörigen mit psychischen Erkrankungen durchgeführt. Außerdem wurde die Häufigkeit der aus den 5 Markern ermittelten Haplotypen analysiert und die Frequenz zwischen den Gruppen verglichen.

Anhand der erhobenen Anamnesen wurden die Gruppen der Patienten und Kontrollprobanden hinsichtlich ihrer Schulbildung, ihres Alters und der Geschlechtsverteilung verglichen. Wie aus Tabelle 4.1.1. hervorgeht, waren das Alter, die Anzahl weiblicher Teilnehmer und der Bildungsstand in der Kontrollgruppe durchschnittlich höher als in der Patientengruppe. Entsprechend wurden der Bildungsgrad (hoch, mittel, niedrig), das Alter und das Geschlecht als Covariablen in die Auswertung miteinbezogen.

Tabelle 4.1.1. Alter, Geschlecht und Schulbildung Patienten vs. Kontrollprobanden:

Stichprobe	Alter MW (SD) Jahre	Geschlecht n (%)		Schulabschluss n (%)		
		männlich	weiblich	niedrig (Hauptschule)	mittel (Realschule)	hoch (Abitur)
Kontrollen	46,58 (15,63)	650 (46,4)	751 (53,6)	307 (21,9%)	462 (33,0%)	632 (45,1%)
Patienten	37,70 (11,35)	333 (65,2)	178 (34,8)	219 (42,9%)	132 (25,8%)	160 (31,3%)
Gesamt		983 (51,4)	929 (48,6)	526 (27,5%)	594 (31,1%)	792 (41,4%)

MW = Mittelwert, SD= Standardabweichung, n= Anzahl

4.2. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Alle Verteilungen der Genotypen, die in dieser Arbeit ermittelt wurden, wurden bezüglich des Hardy-Weinberg-Equilibriums getestet. Es zeigten sich hierbei keine signifikanten Abweichungen von der erwarteten Verteilung. Die Genomverteilung für Kontrollgruppe, Patientengruppe und Gesamtstichprobe waren im Hardy-Weinberg-Equilibrium (Tabelle 4.2.1.):

Tabelle 4.2.1. Überprüfung der Genotypverteilung hinsichtlich des Hardy-Weinberg-Equilibriums:

SNP	Gruppe	Allel 1	Allel 2	Genotyp A1A1	Genotyp A1A2	Genotyp A2A2	p-Wert	F
rs12729558	Gesamt	G	C	427	961	502	0,4337	-0,0185
	Patienten	G	C	104	241	148	0,7853	0,0145
	Kontrollen	G	C	323	720	354	0,2609	-0,0313
rs17472003	Gesamt	G	A	29	365	1383	0,3664	0,0205
	Patienten	G	A	5	98	391	0,8197	-0,0188
	Kontrollen	G	A	24	267	992	0,2418	0,0338
rs6682686	Gesamt	T	C	421	939	505	0,7106	-0,0090
	Patienten	T	C	100	221	150	0,2648	0,0509
	Kontrollen	T	C	321	718	355	0,2607	-0,0307
rs3738055	Gesamt	T	C	422	959	507	0,4605	-0,0180
	Patienten	T	C	103	242	151	0,7856	0,0150
	Kontrollen	T	C	319	717	356	0,2602	-0,0309
rs7556189	Gesamt	C	G	395	904	474	0,3663	-0,0218
	Patienten	C	G	103	245	150	0,8570	0,0072
	Kontrollen	C	G	292	659	324	0,2392	-0,0344

4.3. Einzelmarkeranalyse auf eine Assoziation mit Schizophrenie

Zur Analyse einer möglichen Assoziation des CCBL2-Gens mit Schizophrenie wurden 5 SNPs, die innerhalb des CCBL2-Gens lokalisiert sind, genotypisiert und auf signifikante Unterschiede in der Allel- und Genotyphäufigkeit hin untersucht. Dabei wurde die Genotypverteilung sowohl einzeln betrachtet (A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2), als auch im dominanten Modell Träger des selteneren Allels (A1A1 +

A1A2) mit Personen, die homozygot für das häufigere Allel waren (A2A2), sowie im rezessiven Modell homozygote Träger des selteneren Allels (A1A1) mit Personen, die Träger des häufigeren Allels waren (A2A2 + A1A2) verglichen.

4.3.1. Analyse des Polymorphismus rs12729558

Die Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Gruppe der Schizophreniepatienten (mit den Untergruppen Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades, Patienten mit psychisch kranken Angehörigen und Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs12729558 sind in Tabelle 4.3.1.1. dargestellt. In der Allelverteilung ergab sich ein tendenzieller Unterschied zwischen der Kontroll- und der Gesamt-Patientengruppe: OR = 0,8741 (CI = 0,7556 – 1,0111); $p = 0,0751$. Wie in Abbildung 4.3.1.1. dargestellt kam bei Patienten im Vergleich zu den Kontrollprobanden das Allel C gehäuft vor. Kein signifikanter Unterschied ergab sich im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.1.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs12729558:

Phänotyp	Allel G n (%)	Allel C n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	449 (45,5)	537 (54,5)	986 (100)	0,0751
Pat. (1st)	86 (47,3)	96 (52,7)	182 (100)	0,7023
Pat. (psy)	326 (45,5)	390 (54,5)	716 (100)	0,1113
Pat. (scz)	133 (47,5)	147 (52,5)	280 (100)	0,6613
Kontrolle	1366 (48,9)	1428 (51,1)	2794 (100)	
Gesamt	1815 (48,0)	1965 (52,0)	3780 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

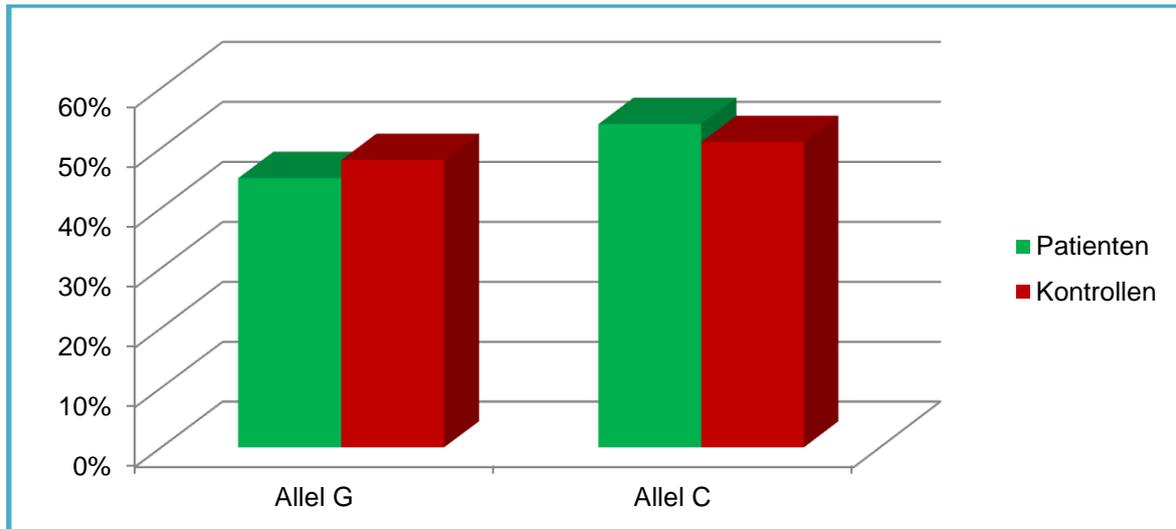


Abbildung 4.3.1.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs12729558 (Das Allel C ließ sich in der Patientengruppe tendenziell häufiger beobachten)

Die Genotypverteilung des SNPs zwischen den Patientengruppierungen und gesunden Kontrollen im Vergleich sind in Tabelle 4.3.1.2. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen.

Tabelle 4.3.1.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs12729558:

Phänotyp	Genotyp GG n (%)	Genotyp GC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	104 (21,1)	241 (48,9)	148 (30,0)	493 (100)	0,1272
Pat. (1st)	22 (24,2)	42 (46,1)	27 (29,7)	91 (100)	0,5399
Pat. (psy)	78 (21,8)	170 (47,5)	110 (30,7)	358 (100)	0,1214
Pat. (scz)	34 (24,3)	65 (46,4)	41 (29,3)	140 (100)	0,4492
Kontrolle	323 (23,1)	720 (51,6)	354 (25,3)	1397 (100)	
Gesamt	427 (22,6)	961 (50,8)	502 (26,6)	1890 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel G sei dominant zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs12729558 sind in Tabelle 4.3.1.3. dargestellt. Hier war ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe feststellbar: OR = 0,7912 (CI = 0,6304 – 0,9930); p = 0,0440.

Wie in Abbildung 4.3.1.2. dargestellt, kam bei Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe der Genotyp CC überzufällig häufiger vor als die Genotypen GG + GC. Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe mit Überwiegen des Genotyp CC: OR = 0,7652 (CI = 0,5931 – 0,9873); p = 0,0438. Kein signifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich zwischen den anderen beiden Untergruppen (Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades und Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen) und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.1.3. Dominantes Modell - Polymorphismus rs12729558

Phänotyp	Genotyp GG + GC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	345 (70,0)	148 (30,0)	493 (100)	0,0440
Pat. (1st)	64 (70,3)	27 (29,7)	91 (100)	0,3855
Pat. (psy)	248 (69,3)	110 (30,7)	358 (100)	0,0438
Pat. (scz)	99 (70,7)	41 (29,3)	140 (100)	0,3113
Kontrolle	1043 (74,7)	354 (25,3)	1397 (100)	
Gesamt	1388 (73,4)	502 (26,6)	1890 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

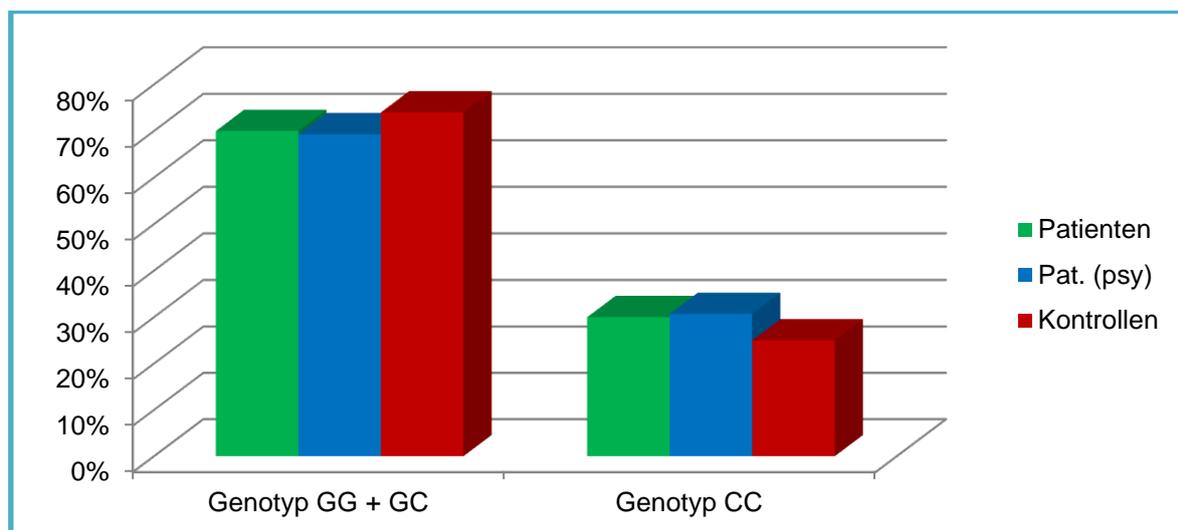


Abbildung 4.3.1.2. Dominantes Modell - Polymorphismus rs12729558 (Der Genotyp CC ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel G sei rezessiv zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs12729558 sind in Tabelle 4.3.1.4. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.1.4. Rezessives Modell - Polymorphismus rs12729558

Phänotyp	Genotyp GG n (%)	Genotyp GC + CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	104 (21,1)	389 (78,9)	493 (100)	0,3807
Pat. (1st)	22 (24,2)	69 (75,8)	91 (100)	0,7985
Pat. (psy)	78 (21,8)	280 (78,2)	358 (100)	0,6219
Pat. (scz)	34 (24,3)	106 (75,7)	140 (100)	0,7533
Kontrolle	323 (23,1)	1074 (76,9)	1397 (100)	
Gesamt	427 (22,6)	1463 (77,4)	1890 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

4.3.2. Analyse des Polymorphismus rs17472003

Die Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Gruppe der Schizophreniepatienten (einschließlich der Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs17472003 sind in Tabelle 4.3.2.1. dargestellt. In der Allelverteilung war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.2.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs17472003:

Phänotyp	Allel G n (%)	Allel A n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	108 (10,9)	880 (89,1)	988 (100)	0,2980
Pat. (1st)	23 (13,1)	153 (86,9)	176 (100)	0,7228
Pat. (psy)	83 (11,6)	633 (88,4)	716 (100)	0,6508
Pat. (scz)	36 (13,2)	236 (86,8)	272 (100)	0,6287
Kontrolle	315 (12,3)	2251 (87,7)	2566 (100)	
Gesamt	423 (11,9)	3131 (88,1)	3554 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Genotypverteilung des SNPs bei den Patientengruppierungen und gesunden Kontrollen im Vergleich sind in Tabelle 4.3.2.2. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied festzustellen.

Tabelle 4.3.2.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs17472003:

Phänotyp	Genotyp GG n (%)	Genotyp GA n (%)	Genotyp AA n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	5 (1,0)	98 (19,8)	391 (79,2)	494 (100)	0,4016
Pat. (1st)	1 (1,1)	21 (23,9)	66 (75,0)	88 (100)	0,7506
Pat. (psy)	5 (1,4)	73 (20,4)	280 (78,2)	358 (100)	0,8719
Pat. (scz)	1 (0,7)	34 (25,0)	101 (74,3)	136 (100)	0,4255
Kontrolle	24 (1,9)	267 (20,8)	992 (77,3)	1283 (100)	
Gesamt	29 (1,6)	365 (20,5)	1383 (77,8)	1777 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel G sei dominant zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (einschließlich der Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs17472003 sind in Tabelle 4.3.2.3. dargestellt. Hier war ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.2.3. Dominantes Modell – Polymorphismus rs17472003:

Phänotyp	Genotyp GG + GA n (%)	Genotyp AA n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	103 (20,8)	391 (79,2)	494 (100)	0,4444
Pat. (1st)	22 (25,0)	66 (75,0)	88 (100)	0,6010
Pat. (psy)	78 (21,8)	280 (78,2)	358 (100)	0,7747
Pat. (scz)	35 (25,7)	101 (74,3)	136 (100)	0,4529
Kontrolle	291 (22,7)	992 (77,3)	1283 (100)	
Gesamt	394 (22,2)	1393 (77,8)	1777 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel G sei rezessiv zwischen den Phänotypem Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs17472003 sind in Tabelle 4.3.2.4. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied der beiden Gruppen festzustellen, weder zwischen Patienten und Kontrollen, noch den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.2.4. Rezessives Modell - Polymorphismus rs17472003:

Phänotyp	Genotyp GG n (%)	Genotyp GA + AA n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	5 (1,0)	489 (99,0)	494 (100)	0,2948
Pat. (1st)	1 (1,1)	87 (98,9)	88 (100)	1,0000
Pat. (psy)	5 (1,4)	353 (98,6)	358 (100)	0,6553
Pat. (scz)	1 (0,7)	135 (99,3)	136 (100)	0,5038
Kontrolle	24 (1,9)	1259 (98,1)	1283 (100)	
Gesamt	29 (1,6)	1748 (98,4)	1777 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

4.3.3. Analyse des Polymorphismus rs6682686

Die Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Gruppe der an Schizophrenie erkrankten Patienten (mit den Untergruppen Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades, Patienten mit psychisch kranken Angehörigen und Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen) und

den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs6682686 sind in Tabelle 4.3.3.1. dargestellt. In der Allelverteilung ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Gesamt-Patientengruppe: OR = 0,8485 (CI = 0,7315 – 0,9842); $p = 0,0315$. Wie in Abbildung 4.3.3.1. dargestellt kam das Allel C in der Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe häufiger vor. Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe in der Allelverteilung mit Überwiegen des Allels C: OR = 0,8439 (CI = 0,7131 – 0,9987); $p = 0,0490$. Kein signifikanter Unterschied war hingegen darstellbar im Vergleich zwischen anderen beiden Untergruppe der Patienten und jeweils den Kontrollen.

Tabelle 4.3.3.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs6682686:

Phänotyp	Allel T n (%)	Allel C n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	421 (44,7)	521 (55,3)	942 (100)	0,0315
Pat. (1st)	78 (46,4)	90 (53,6)	168 (100)	0,5785
Pat. (psy)	303 (44,6)	377 (55,4)	680 (100)	0,0490
Pat. (scz)	121 (46,5)	139 (53,5)	260 (100)	0,5167
Kontrolle	1360 (48,8)	1428 (51,2)	2788 (100)	
Gesamt	1781 (47,8)	1949 (52,2)	3730 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

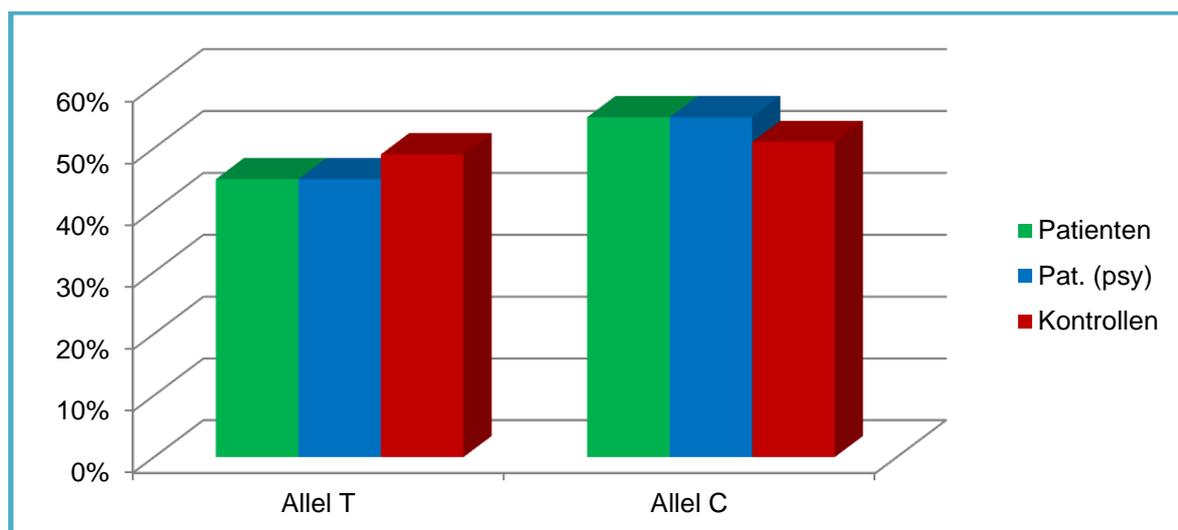


Abbildung 4.3.3.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs6682686 (Das Allel C ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Genotypverteilung des SNPs bei Patienten (einschließlich Untergruppen) und gesunden Kontrollen im Vergleich sind in Tabelle 4.3.3.2. dargestellt. Bei der Genotypverteilung war ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Gesamt-Patientengruppe feststellbar: $p = 0,0284$. Wie in Abbildung 4.3.3.2 dargestellt kam bei Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe der Genotyp CC vermehrt vor. Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung mit Überwiegen des Genotyps CC: $p = 0,0190$, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Kein signifikanter Unterschied war im Vergleich zwischen den anderen beiden Untergruppen und der Kontrollgruppe festzustellen.

Tabelle 4.3.3.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs6682686:

Phänotyp	Genotyp TT n (%)	Genotyp TC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	100 (21,2)	221 (46,9)	150 (31,9)	471 (100)	0,0284
Pat. (1st)	21 (25,0)	36 (42,9)	27 (32,1)	84 (100)	0,2515
Pat. (psy)	75 (22,1)	153 (45,0)	112 (32,9)	340 (100)	0,0190
Pat. (scz)	32 (24,6)	57 (43,8)	41 (31,5)	130 (100)	0,1976
Kontrolle	321 (23,0)	718 (51,5)	355 (25,5)	1394 (100)	
Gesamt	421 (22,6)	939 (50,3)	505 (27,1)	1865 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

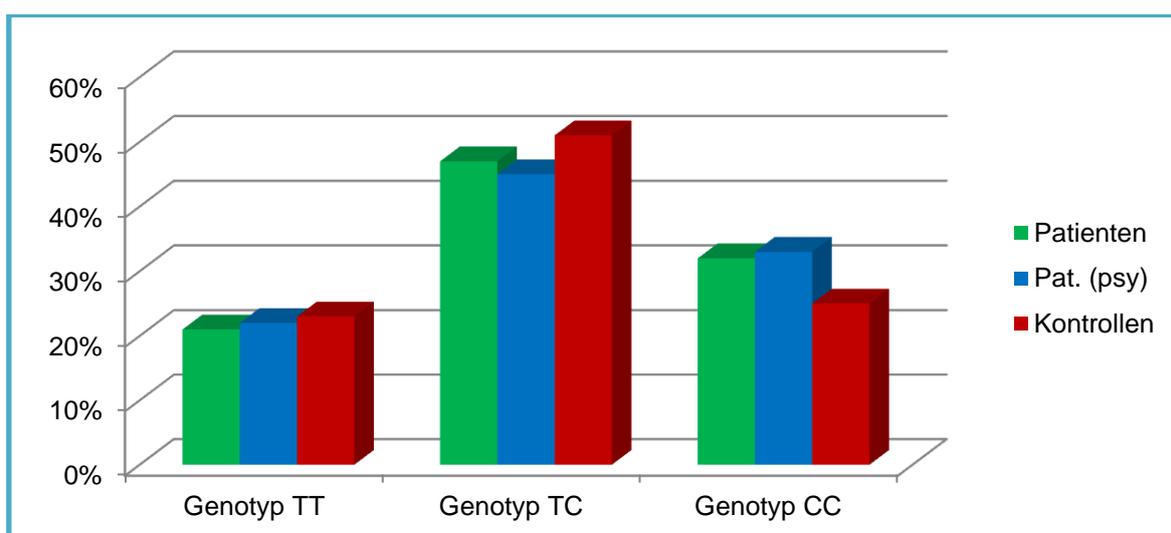


Abbildung 4.3.3.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs6682686 (Der Genotyp CC ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel T sei dominant zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs6682686 sind in Tabelle 4.3.3.3. dargestellt. Hier war ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Gesamt-Patientengruppe feststellbar: OR = 0,7312 (CI = 0,5820 – 0,9187); p = 0,0083. Bei Patienten kam im Vergleich zur Kontrollgruppe der Genotyp CC überzufällig häufiger vor als die Genotypen TT + TC (siehe auch Abbildung 4.3.3.3.). Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied mit Überwiegen des Genotyps CC: OR = 0,6956 (CI= 0,5383 – 0,8987); p = 0,0063. Kein signifikanter Unterschied ergab sich im Vergleich zwischen den anderen beiden Untergruppen und jeweils der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.3.3. Dominantes Modell – Polymorphismus rs6682686:

Phänotyp	Genotyp TT + TC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	321 (68,1)	150 (31,9)	471 (100)	0,0083
Pat. (1st)	57 (67,9)	27 (32,1)	84 (100)	0,1988
Pat. (psy)	228 (67,1)	112 (32,9)	340 (100)	0,0063
Pat. (scz)	89 (68,5)	41 (31,5)	130 (100)	0,1431
Kontrolle	1039 (74,5)	355 (25,5)	1394 (100)	
Gesamt	1360 (72,9)	505 (27,1)	1865 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

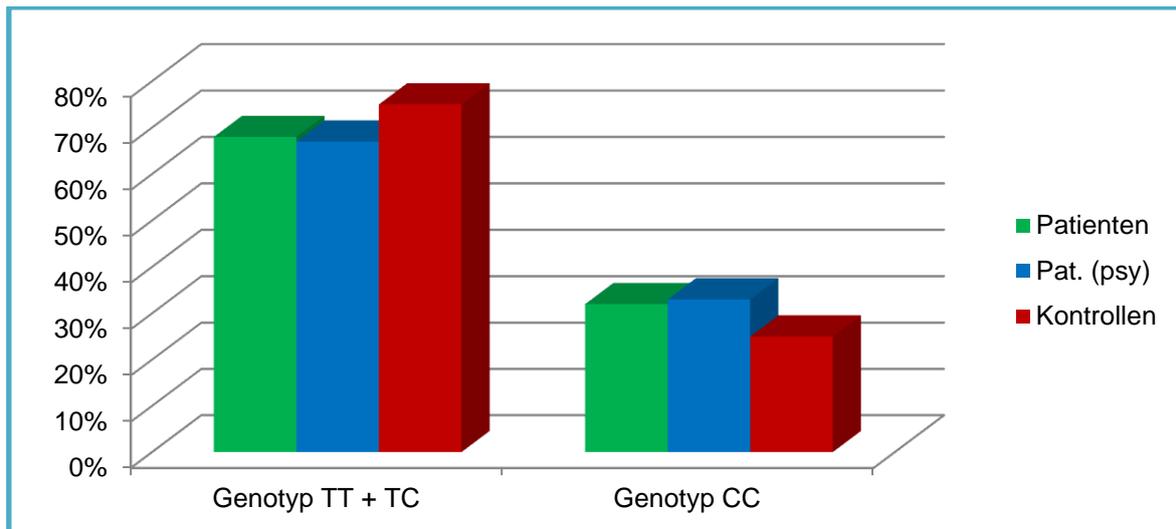


Abbildung 4.3.3.3. Dominantes Modell – Polymorphismus rs6682686 (Der Genotyp CC ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel T sei rezessiv zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs6682686 sind in Tabelle 4.3.3.4. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.3.4. Rezessives Modell – Polymorphismus rs6682686:

Phänotyp	Genotyp TT n (%)	Genotyp TC + CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	100 (21,2)	371 (78,8)	471 (100)	0,4446
Pat. (1st)	21 (25,0)	63 (75,0)	84 (100)	0,6897
Pat. (psy)	75 (22,1)	265 (77,9)	340 (100)	0,7732
Pat. (scz)	32 (24,6)	98 (75,4)	130 (100)	0,6649
Kontrolle	321 (23,0)	1073 (77,0)	1394 (100)	
Gesamt	421 (22,6)	1444 (77,4)	1865 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

4.3.4. Analyse des Polymorphismus rs7556189

Die Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Gruppe der Schizophreniepatienten (einschließlich der Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs7556189 sind in Tabelle 4.3.4.1. dargestellt. In der Allelverteilung ergab sich ein tendenzieller Unterschied zwischen der Kontroll- und der Gesamt-Patientengruppe: OR = 0,8701 (CI = 0,7512 – 1,0079); $p = 0,0668$. Das Allel G kam im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den Patienten häufiger vor, wie in Abbildung 4.3.4.1. dargestellt. Kein signifikanter Unterschied war im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und jeweils der Kontrollgruppe feststellbar.

Tabelle 4.3.4.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs7556189:

Phänotyp	Allel C n (%)	Allel G n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	451 (45,3)	545 (54,7)	996 (100)	0,0668
Pat. (1st)	89 (47,3)	99 (52,7)	188 (100)	0,7624
Pat. (psy)	330 (45,5)	396 (54,5)	726 (100)	0,1195
Pat. (scz)	135 (47,9)	147 (52,1)	282 (100)	0,8019
Kontrolle	1243 (48,7)	1307 (51,3)	2550 (100)	
Gesamt	1694 (47,8)	1852 (52,2)	3546 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

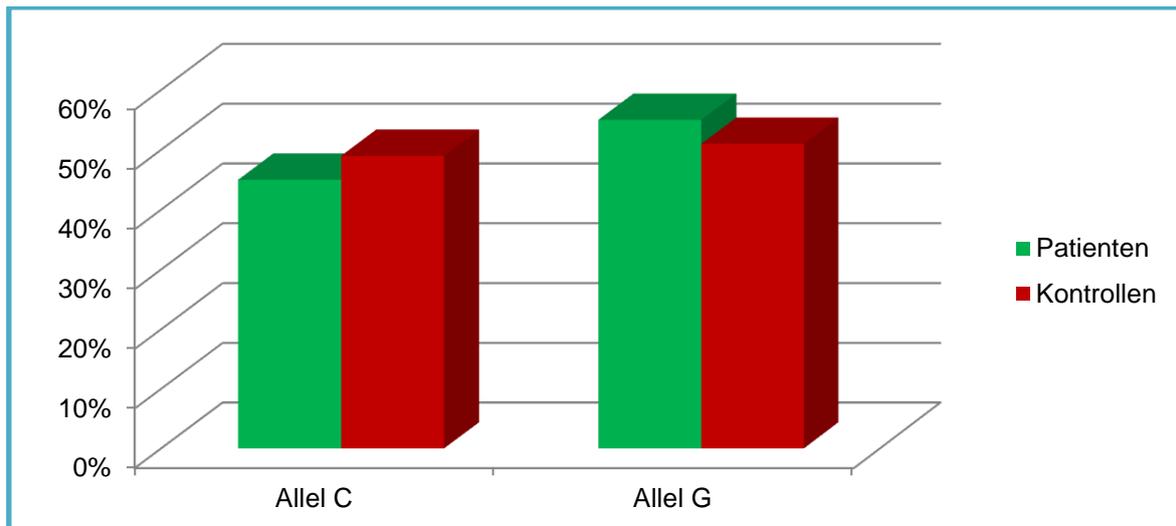


Abbildung 4.3.4.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs7556189 (Das Allel G ließ sich in der Patientengruppe tendenziell häufiger beobachten)

Die Genotypverteilung des SNPs bei Patienten (einschließlich der Untergruppen) und gesunden Kontrollen im Vergleich sind in Tabelle 4.3.4.2. dargestellt. Hier war kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen.

Tabelle 4.3.4.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs7556189:

Phänotyp	Genotyp CC n (%)	Genotyp CG n (%)	Genotyp GG n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	103 (20,7)	245 (49,2)	150 (30,1)	498 (100)	0,1262
Pat. (1st)	23 (24,5)	43 (45,7)	28 (29,8)	94 (100)	0,4835
Pat. (psy)	79 (21,8)	172 (47,4)	112 (30,8)	363 (100)	0,1187
Pat. (scz)	34 (24,1)	67 (47,5)	40 (28,4)	141 (100)	0,6012
Kontrolle	292 (22,9)	659 (51,7)	324 (25,4)	1275 (100)	
Gesamt	395 (22,3)	904 (51,0)	474 (26,7)	1773 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel C sei dominant zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs7556189 sind in Tabelle 4.3.4.3. dargestellt. Hier war ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe feststellbar: OR = 0,7904 (CI = 0,6285 – 0,9940); p = 0,0488. Im

Vergleich zur Kontrollgruppe kam der Genotyp GG bei den Patienten überzufällig häufiger vor als die Genotypen CC + CG (siehe auch Abbildung 4.3.3.3.). Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied mit Überwiegen des Genotyp GG: OR = 0,7635 (CI = 0,5911 – 0,9862); $p = 0,0434$. Kein signifikanter Unterschied ergab sich im Vergleich zwischen den anderen beiden Untergruppen und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.4.3. Dominantes Modell – Polymorphismus rs7556189:

Phänotyp	Genotyp CC + CG n (%)	Genotyp GG n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	348 (69,9)	150 (30,1)	498 (100)	0,0488
Pat. (1st)	66 (70,2)	28 (29,8)	94 (100)	0,3917
Pat. (psy)	251 (69,15)	112 (30,85)	363 (100)	0,0434
Pat. (scz)	101 (71,6)	40 (28,4)	141 (100)	0,4772
Kontrolle	951 (74,6)	324 (25,4)	1275 (100)	
Gesamt	1299 (73,3)	474 (26,7)	1773 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

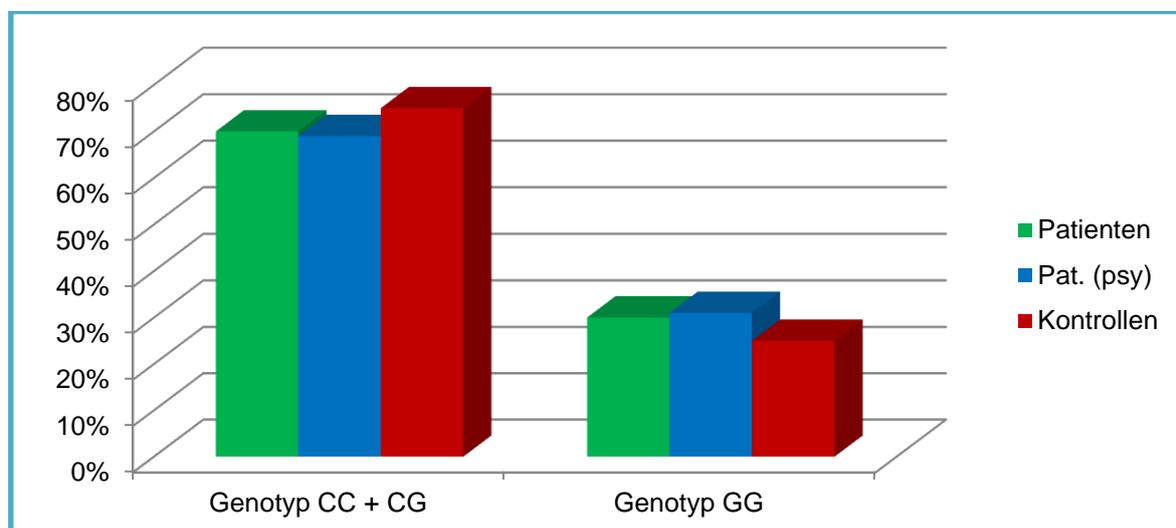


Abbildung 4.3.4.2. Dominantes Modell – Polymorphismus rs7556189 (Der Genotyp GG ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel C sei rezessiv zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs7556189 sind in Tabelle 4.3.4.4.

dargestellt. Hier war ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.4.4. Rezessives Modell – Polymorphismus rs7556189:

Phänotyp	Genotyp CC n (%)	Genotyp CG + GG n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	103 (20,7)	395 (79,3)	498 (100)	0,3409
Pat. (1st)	23 (24,5)	71 (75,5)	94 (100)	0,7047
Pat. (psy)	79 (21,8)	284 (78,2)	363 (100)	0,6704
Pat. (scz)	34 (24,1)	107 (75,9)	141 (100)	0,7521
Kontrolle	292 (22,9)	983 (77,1)	1275 (100)	
Gesamt	395 (22,3)	1378 (77,7)	1773 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

4.3.5. Analyse des Polymorphismus rs3738055

Die Unterschiede in der Allelverteilung zwischen der Gruppe der an schizophrenie erkrankten Patienten (mit den Untergruppen Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades, Patienten mit psychisch kranken Angehörigen und Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs3738055 sind in Tabelle 4.3.5.1. dargestellt. In der Allelverteilung ergab sich ein tendenzieller Unterschied zwischen der Kontroll- und der Gesamt-Patientengruppe: OR = 0,8685 (CI = 0,7509 – 1,0045); p = 0,0591. Wie in Abbildung 4.3.5.1. dargestellt, kam das Allel C im Vergleich zur Kontrollgruppe bei den Patienten gehäuft vor. Kein signifikanter Unterschied ergab sich im Vergleich zwischen den Untergruppen und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.5.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs3738055:

Phänotyp	Allel T n (%)	Allel C n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	448 (45,2)	544 (54,8)	992 (100)	0,0591
Pat. (1st)	88 (47,3)	98 (52,7)	186 (100)	0,7620
Pat. (psy)	330 (45,5)	396 (54,5)	726 (100)	0,1231
Pat. (scz)	133 (47,2)	149 (52,8)	282 (100)	0,6618
Kontrolle	1355 (48,7)	1429 (51,3)	2784 (100)	
Gesamt	1803 (47,7)	1973 (52,3)	3776 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

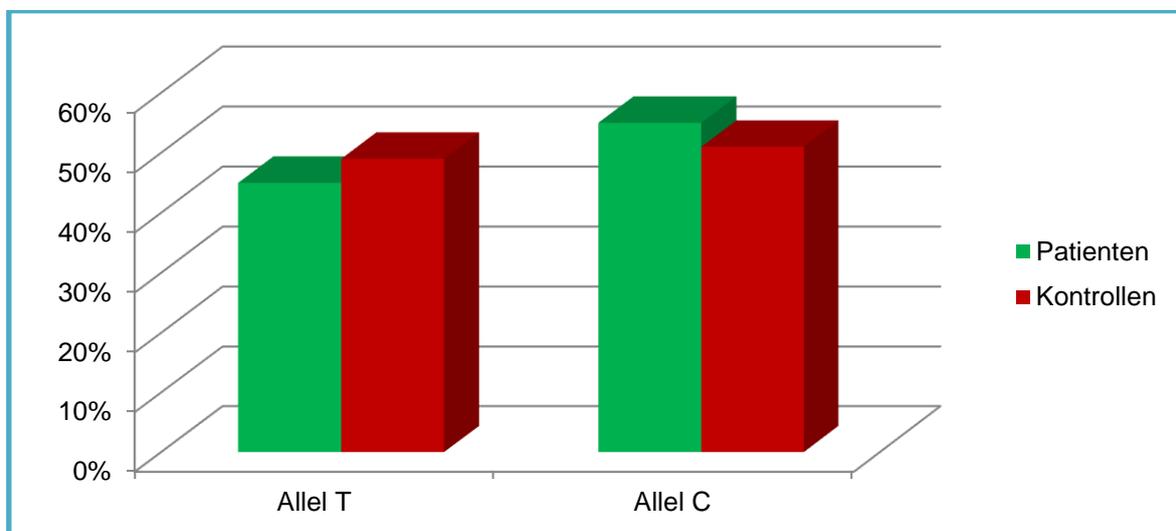


Abbildung 4.3.5.1. Allelverteilung des Polymorphismus rs3738055 (Das Allel C ließ sich in der Patientengruppe tendenziell häufiger beobachten)

Die Genotypverteilung des SNPs zwischen den Patientengruppierungen und gesunden Kontrollen im Vergleich sind in Tabelle 4.3.5.2. dargestellt. Hier war ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen.

Tabelle 4.3.5.2. Genotypverteilung des Polymorphismus rs3738055:

Phänotyp	Genotyp TT n (%)	Genotyp TC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	103 (20,8)	242 (48,8)	151 (30,4)	496 (100)	0,1080
Pat. (1st)	23 (24,7)	42 (45,2)	28 (30,1)	93 (100)	0,4388
Pat. (psy)	80 (22,0)	170 (46,8)	113 (31,1)	363 (100)	0,1003
Pat. (scz)	34 (24,1)	65 (46,1)	42 (29,8)	141 (100)	0,4204
Kontrolle	319 (22,9)	717 (51,5)	356 (25,6)	1392 (100)	
Gesamt	422 (22,35)	959 (50,8)	507 (26,85)	1888 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel T sei dominant zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs3738055 sind in Tabelle 4.3.5.3. dargestellt. Hier war ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Patientengruppe feststellbar: OR = 0,7851 (CI= 0,6263 – 0,9842); $p = 0,0389$. Im Vergleich zur Kontrollgruppe kam der Genotyp CC bei den Patienten überzufällig häufiger vor als die Genotypen TT + TC (siehe Abbildung 4.3.5.2.). Auch in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen ergab sich ein signifikanter Unterschied mit Überwiegen des Genotyp CC: OR = 0,7602 (CI = 0,5905 – 0,9788); $p = 0,0388$. Kein signifikanter Unterschied zeigte sich im Vergleich zwischen den anderen beiden Untergruppen und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.5.3. Dominantes Modell – Polymorphismus rs3738055:

Phänotyp	Genotyp TT + TC n (%)	Genotyp CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	345 (69,6)	151 (30,4)	496 (100)	0,0389
Pat. (1st)	65 (69,9)	28 (30,1)	93 (100)	0,3297
Pat. (psy)	250 (68,9)	113 (31,1)	363 (100)	0,0388
Pat. (scz)	99 (70,2)	42 (29,8)	141 (100)	0,2695
Kontrolle	1036 (74,4)	356 (25,6)	1392 (100)	
Gesamt	1381 (73,1)	507 (26,9)	1888 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

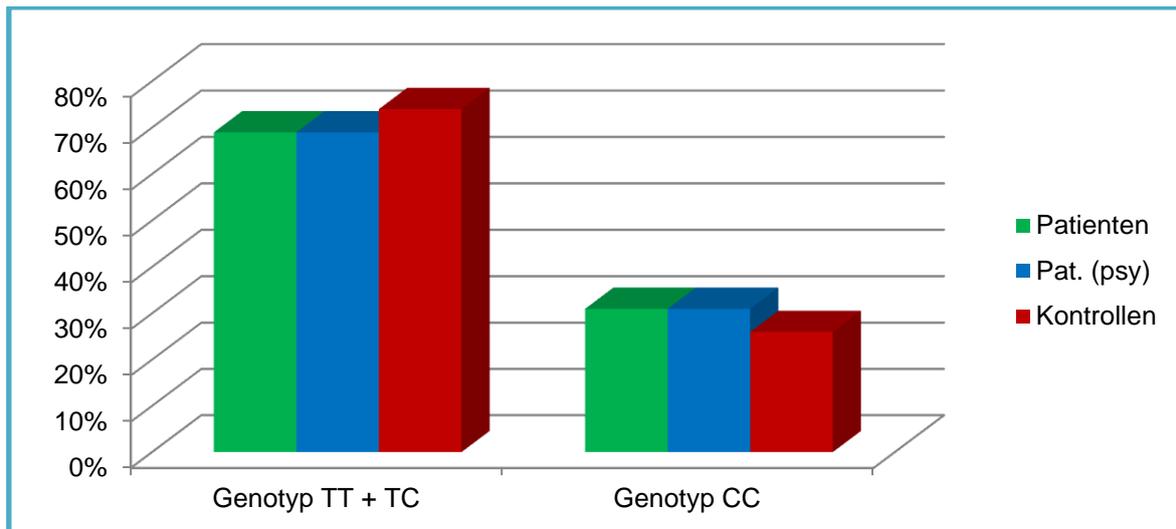


Abbildung 4.3.5.2. Dominantes Modell – Polymorphismus rs3738055 (Der Genotyp CC ließ sich in der Patientengruppe sowie in der Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen signifikante häufiger beobachten)

Die Unterschiede in der Genotypverteilung unter der Annahme Allel C sei rezessiv zwischen dem Phänotypen Schizophrenie (inkl. Untergruppen) und den Kontrollen bei der Untersuchung des Polymorphismus rs3738055 sind in Tabelle 4.3.5.4. dargestellt. Hier war ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe festzustellen. Ebenso ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zwischen den Untergruppen der Patienten und der Kontrollgruppe.

Tabelle 4.3.5.4. Rezessives Modell – Polymorphismus rs3738055:

Phänotyp	Genotyp TT n (%)	Genotyp TC + CC n (%)	Gesamt n (%)	p-Wert
Patient	103 (20,8)	393 (79,2)	496 (100)	0,3467
Pat. (1st)	23 (24,7)	70 (75,3)	93 (100)	0,7030
Pat. (psy)	80 (22,0)	283 (78,0)	363 (100)	0,7786
Pat. (scz)	34 (24,1)	107 (75,9)	141 (100)	0,7531
Kontrolle	319 (22,9)	1073 (77,1)	1392 (100)	
Gesamt	422 (22,4)	1466 (77,6)	1888 (100)	

Pat. (1st) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, Pat. (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, Pat. (scz) = Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen; der p-Wert bezieht sich auf den Vergleich mit Kontrollen.

4.4. Analyse der Haplotypen des CCBL2-Gens

Die genaue Position der untersuchten SNPs auf Chromosom 1 zeigt Tabelle 4.4.1.

Tabelle 4.4.1. Position der untersuchten Marker (Ensembl, 2014):

SNP	Position auf Chromosom 1 :
rs12729558	88937277
rs17472003	88943805
rs6682686	88958237
rs3738055	88961219
rs7556189	88972915

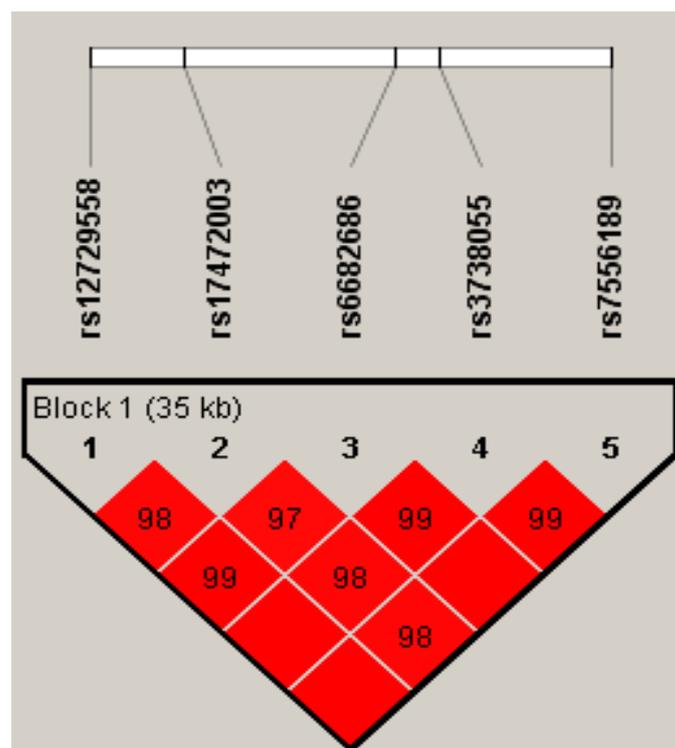


Abbildung 4.4.1. LD-Block der untersuchten Marker mit den haploscores für das Kopplungsungleichgewicht (rote Kästchen ohne Zahl stehen für den Wert 100)

In dieser Arbeit wurde mittels Haploview (Barrett et al., 2005) für die Stichprobe ein LD-Block identifiziert. Wie in Abbildung 4.4.1. zu sehen, lagen alle 5

untersuchten Polymorphismen (rs12729558, rs17472003, rs6682686, rs3738055, rs7556189) in diesem Block.

Tabelle 4.4.2. Haplotypen des CCBL2-Gens:

Block	Haplotyp	geschätzte Haplotyp Frequenz Gesamtstichprobe	geschätzte Haplotyp Frequenz Patienten	geschätzte Haplotyp Frequenz Kontrollen	χ^2	p-Wert (50000 Permutationen)
Block 1	CACCG	0,52	0,544	0,512	3,003	0,2107
Block 1	GATTC	0,362	0,348	0,366	1,032	0,6093
Block 1	GGTTC	0,118	0,108	0,122	1,37	0,5080

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der Haplotypfrequenzen im Vergleich von Patienten und Kontrollprobanden für die Haplotypen in diesem Block (siehe Tabelle 4.4.2.).

5. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 5 SNPs des CCBL2-Gens auf eine Assoziation mit Schizophrenie bei 1401 Kontrollprobanden und 511 an Schizophrenie erkrankten Patienten untersucht. Hierbei fanden sich für den Polymorphismus rs3738055, der in einem Exon-Bereich liegt, sowie für die Polymorphismen rs12729558, rs6682686 und rs7556189, die in Intron-Regionen des CCBL2-Gens liegen, signifikante, bzw. tendenziell signifikante Unterschiede (Tabelle 5.1.). Dabei konnte beobachtet werden, dass jeweils das seltener vorkommende Allel bei Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe seltener vorkam. Unter den Patienten fanden sich somit weniger Träger des selteneren Allels, im dominanten Modell konnte entsprechend dargestellt werden, dass weniger Patienten - sowohl in homozygoter als auch in heterozygoter Ausprägung - Träger des selteneren Allels waren. Aus dieser Beobachtung lässt sich ableiten, dass die jeweils selteneren Allele möglicherweise einen protektiven Effekt aufweisen könnten.

Tabelle 5.1. Ergebnisübersicht

SNP	A1	Allel A1 vs. A2		Dominant A1A1 + A1A2 vs. A2A2		Genotyp A1A1 vs. A1A2 vs. A2A2	
		Richtung	P	Richtung	P	Richtung	P
Patienten vs. Kontrollen							
rs12729558	G	G (-)	0,070	GG + GC (-)	0,044		
rs6682686	T	T (-)	0,032	TT + TC (-)	0,008	TT (-) < TC (-) < CC (+)	0,028
rs3738055	T	T (-)	0,059	TT + TC (-)	0,039		
rs7556189	C	C (-)	0,067	CC + CG (-)	0,049		
Patienten (psy) vs. Kontrollen							
rs12729558	G			GG+GC (-)	0,044		
rs6682686	T	T (-)	0,049	TT+TC (-)	0,006	TT (-) < TC (-) < CC (+)	0,019
rs3738055	T			TT+TC (-)	0,039		
rs7556189	C			CC+CG (-)	0,043		

A1 = selteneres Allel, P = p- Wert, Gelb unterlegt: Trend zur Signifikanz, grün unterlegt: Signifikanz, Richtung: (-) seltener in Patienten, (+) häufiger in Patienten; Patienten (psy) = Patienten mit psychisch kranken Angehörigen

Keine signifikanten Unterschiede ließen sich für den Polymorphismus rs17472003 feststellen, der ebenfalls in einer Intron-Region des CCBL2-Gens liegt. Auch ergab sich für keinen der untersuchten Polymorphismen ein signifikanter Unterschied zwischen den Untergruppen der Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen ersten Grades oder für Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen jeweils im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Die Haplotypen CACCG, GATTC und GGTTTC im untersuchten LD-Block, der die 5 untersuchten SNPs beinhaltet, zeigten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der Haplotypfrequenzen im Vergleich von Patienten und Kontrollprobanden.

5.1. Diskussion der Methoden

Bei der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie handelt es sich um eine Assoziationsstudie im Fall-Kontroll-Design. Assoziationsstudien haben im Vergleich zu Kopplungsanalysen eine höhere Sensitivität für weniger einflussreiche Genorte. Diese sind relevant, da bei Schizophrenie von einem polygenen Erbgang ausgegangen wird, wobei jedes Gen nur mäßige Auswirkung auf die Anfälligkeit, an Schizophrenie zu erkranken, birgt. Zudem wird eine genetische Heterogenität vermutet, also das Vorhandensein mehrerer unabhängiger Risikogene (Owen, 2000; Tsuang, 2004; Tandon et al., 2008; Wonodi et al., 2011; Giusti-Rodríguez und Sullivan, 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Zur Vermeidung von falsch-positiven oder falsch-negativen Befunden sind große Fallzahlen bei diesem Studien-Design wichtig. Die Kontrollgruppe dieser Arbeit bestand aus 1401 Personen, die Gruppe der Patienten aus 511 Personen, womit für eine Monocenterstudie eine vergleichsweise hohe Fallzahl realisiert werden konnte. Im Vergleich zu großen genomweiten Assoziationsstudien unter Beteiligung vieler Zentren, die bis zu 36.989 Patienten und 113.075 Kontrollen eingeschlossen haben (Schizophrenia Working Group of the Psychiatric

Genomics Consortium, 2014), sind diese Fallzahlen äußerst gering. Dennoch ist die Durchführung dieser Studie berechtigt, da sie als Kandidatengenstudie konzipiert und entsprechend auch mit geringeren Fallzahlen zu verlässlichen Ergebnissen führen kann. So konnte beispielsweise in genomweiten Assoziationsstudien erstmals ein bekanntes Kandidatengen für die Schizophrenie, der Dopamin-D2 Rezeptor, bestätigt werden, als die Stichprobenzahl die oben angegebene Größe erreicht hatte.

Bei der Auswahl der Kontrollprobanden ist auf die Vergleichbarkeit hinsichtlich ethnischer Abstammung, Alter und Geschlecht zu achten, um falsch-positiven bzw. falsch-negativen Assoziationen vorzubeugen.

Von großer Wichtigkeit für die Aussagekraft der Studie ist eine vergleichbare Ethnizität, da die Allel- und Genotyp-Frequenzen in unterschiedlichen Populationen stark voneinander abweichen können (International HapMap Project, 2013). Bei der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Patienten und Kontrollprobanden kaukasischer Abstammung eingeschlossen. Abbildung 5.1.1. zeigt für den Polymorphismus rs6682686 die Allelverteilung verschiedener Populationen und der in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten. Hier werden die zum Teil erheblichen Unterschiede der Häufigkeit eines Allels in verschiedenen Ethnizitäten sichtbar.

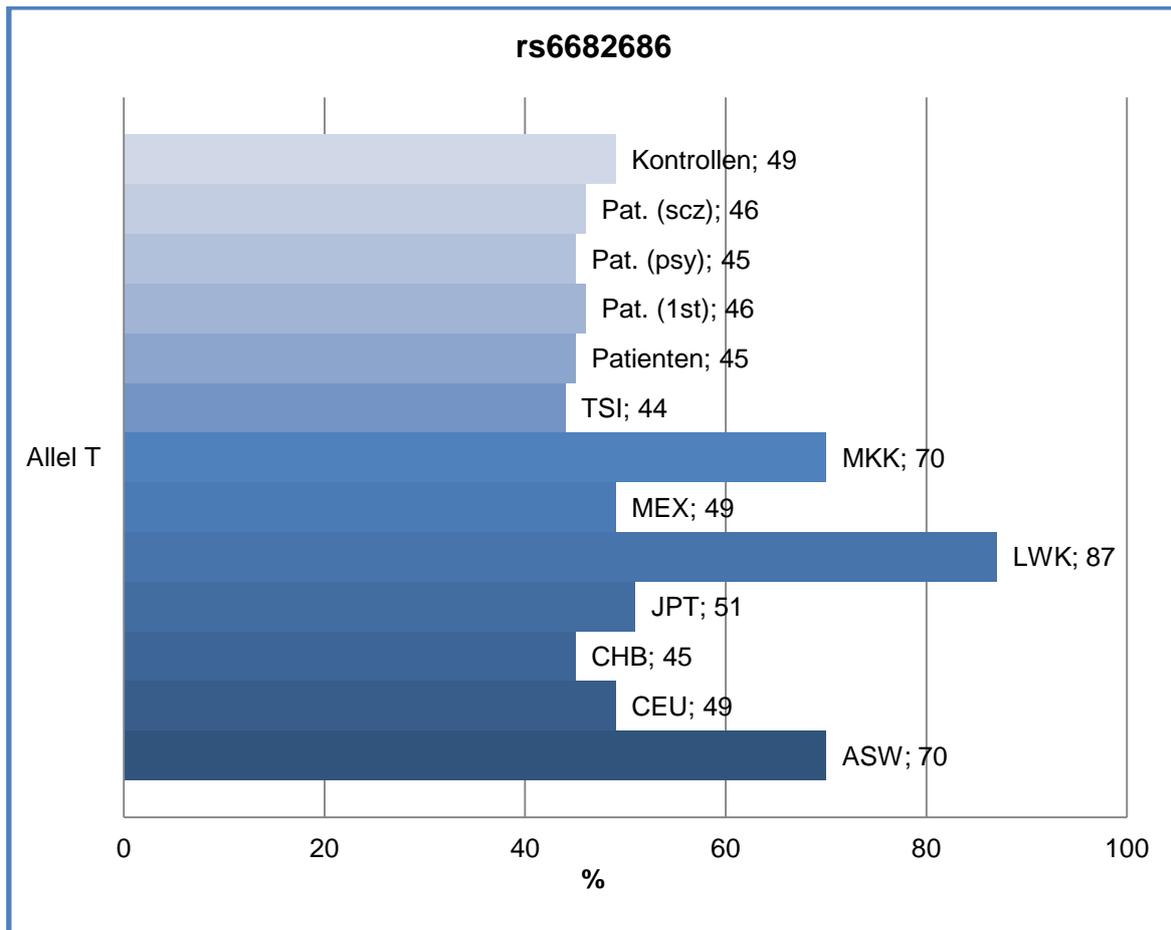


Abbildung 5.1.1. Allelverteilung verschiedener Populationen für den Polymorphismus rs6682686 (**ASW**: Einwohner afrikanischer Abstammung in Südwest USA, **CEU**: Einwohner Utahs mit Nord und West europäischer Abstammung, **CHB**: Han Chinesen in Peking, China, **JPT**: Japaner in Tokyo, Japan, **LWK**: Luhya in Webuye, Kenia, **MEX**: Einwohner mexikanischer Abstammung in Los Angeles, California, **MKK**: Maasai in Kinyawa, Kenia, **TSI**: Toskaner in Italien (International HapMap Project, 2013), **Pat. (1st)**: Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades, **Pat. (psy)**: Patienten mit psychisch kranken Angehörigen, **Pat. (scz)**: Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen)

Die von HapMap für die europäisch stämmige Population veranschlagten Allelfrequenzen stimmen mit den in dieser Arbeit erhobenen Untersuchungsergebnissen der Kontrollgruppe überein. Auch für die SNPs rs12729558 (Allel G 45,5 %, Allel C 54,5 %), rs7556189 (Allel C 45,3 %, Allel G 54,7 %), rs17472003 (Allel G 10,9 %, Allel A 89,1 %) und rs3738055 (Allel T 45,2 %, Allel C 54,8 %) stimmen die Allelfrequenzen in etwa mit denen der europäisch stämmige Population (rs12729558: Allel G 50,0 %, Allel C 50,0 %; rs7556189: Allel C 50,0 %, Allel G 50,0 %; rs17472003: Allel G 9,6 %, Allel A 90,4 %; rs3738055: Allel A 49,5 %, Allel G 50,5 %) überein, was für eine Vergleichbarkeit

dieser Arbeit spricht. Auch hier waren im Vergleich zu anderen Ethnien große Schwankungen der Genotyp- und Allelfrequenzen zu beobachten.

Außerdem sollte das Alter der Kontrollprobanden nicht unterhalb des typischen Erkrankungsbeginns der Schizophrenie liegen, also nicht unterhalb des 32. Lebensjahres (Häfner und an der Heiden, 1999). So soll die Zahl der Kontrollprobanden, bei denen nach Studienteilnahme eine schizophrene Erkrankung ausbricht, möglichst gering gehalten werden und somit falsch-negative Befunde vermieden werden. In der vorliegenden Arbeit unterschied sich das Durchschnittsalter der beiden Gruppen, lag aber mit 46,58 Jahren bei den Kontrollprobanden und 37,70 Jahren bei den Patienten oberhalb des 32. Lebensjahres.

Auch ein Ungleichgewicht in der Geschlechtsverteilung könnte zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen. Grund hierfür scheint, wie Häfner et al. (2013) nach 25 Jahren Studienlaufzeit ihrer ABC-Schizophrenie-Studie postulieren, Östrogen zu sein, da Östrogen dopaminerges Verhalten durch Verminderung der Sensibilität der D₂-Rezeptoren abschwächt (Häfner et al., 2013). Des Weiteren hat Östrogen einen negativen Einfluss auf den Spiegel des Enzyms Kynurenin-Aminotransferase III (Mason und Manning, 1971; Myint, 2012). Die Geschlechtsverteilung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Stichprobe ist nicht gleichmäßig verteilt: der Männeranteil der Probanden liegt mit 46,4% unter dem der an Schizophrenie erkrankten Patienten (65,2%). Um einen möglichen Einfluss dieses Ungleichgewichts in der Geschlechtsverteilung auf die Ergebnisse auszugleichen, wurde das Geschlecht bei der vorliegenden Arbeit als Covariable in die Auswertung miteinbezogen.

Das in dieser Arbeit vorliegende Geschlechterverhältnis der an Schizophrenie erkrankten Patienten stimmt tendenziell mit den von der WHO 2015 ermittelten Zahlen überein, wonach 12 Millionen Männer und 9 Millionen Frauen an Schizophrenie leiden (WHO, 2015).

Eine präzise Charakterisierung des Krankheitsphänotyps bei der Rekrutierung der Patientengruppe ist von großer Bedeutung für die Suche nach der Ursache einer psychischen Erkrankung (Möller et al., 2011). Das in der vorliegenden Arbeit angewandte Klassifikationssystem DSM-IV ist aufgrund seiner streng und präzise formulierten Kriterien in der psychiatrischen Forschung weit verbreitet (Giegling et al., 2008). Mit Hilfe des Strukturierten Klinischen Interviews nach DSM-IV (Wittchen et al., 1997) konnte mit hoher Reliabilität die Diagnosestellung erfolgen. Hier flossen neben den Schilderungen des Patienten und der Verhaltensbeobachtung durch den Untersucher auch Informationen aus vorliegenden Arztbriefen mit ein. Die subjektive Einschätzung des jeweiligen Untersuchers kann zu abweichenden Diagnosen je nach Untersucher führen, weshalb bei Einbeziehung der Arztbriefe immer der subjektive Charakter beachtet werden muss.

Zur Erhärtung der Diagnose fanden außerdem die Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS; Kay et al., 1987) und die Operational Criteria Checklist of Psychotic Illness (Opcrit; McGuffin et al., 1991) Anwendung.

Im Gegensatz zu anderen Assoziationsstudien zur Schizophrenie (wie beispielsweise Barry et al., 2009 oder Lavebratt et al., 2013), die auch Patienten mit anderen Erkrankungen des schizophrenen Spektrums mit einschlossen, wurden in unserer Studie nur an Schizophrenie erkrankte Patienten eingeschlossen, um möglichst differenzierte Ergebnisse zu erzielen.

Auch bei der Rekrutierung der Kontrollprobanden fand das Strukturierte Klinische Interview nach DSM-IV (Wittchen et al., 1997) Anwendung, um nur Probanden einzuschließen, die an keiner psychiatrischen Erkrankung litten.

Darüber hinaus wurden sowohl Patienten, als auch Kontrollprobanden stufenweise rekrutiert und durchliefen bis zum Einschluss in die Studie mehrere standardisierte Frage- und Anamnesebögen zu bestimmten Themen wie Krankheitsgeschichte, Suchtanamnese, Herkunft und Familienanamnese. So wurde zum einen sichergestellt, dass keine Ausschlusskriterien vorlagen, zum

anderen konnte so eine höhere Strukturgleichheit der beiden Gruppen angestrebt werden.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

Das Genprodukt des in dieser Arbeit untersuchten Gens CCBL2 ist die Kynurenin-Aminotransferase III, welche Kynurenin zu Kynurenin-Säure katalysiert. Kynurenin-Säure schafft eine Brücke zwischen der Glutamathypothese und der Dopaminhypothese, außerdem spielt es auch bei der Immundysbalance-Hypothese eine wichtige Rolle. Die Beobachtung von sehr niedrigen Glutamatkonzentrationen im Liquor von Schizophreniepatienten führte zu der Hypothese eine Unterfunktion des hemmenden Glutamatsystems sei ursächlicher Mechanismus für die Erkrankung (Kim et al., 1980). In weiteren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass NMDA-Antagonisten wie PCP und Ketamin schizophrenieforme Symptome auslösen können (Javitt und Zukin, 1991; Krystal et al., 1994; Olney und Farber 1995; Rujescu et al., 2005; Genius et al., 2013). Weitere Studien beschäftigten sich schließlich mit Kynurenin-Säure, dem einzigen natürlichen NMDA-Rezeptor-Antagonisten im menschlichen Gehirn (Stone, 1993; Han et al., 2009; Müller und Schwarz, 2010; Schwarcz et al., 2012; Müller et al., 2015). Es konnte darüber hinaus eine Assoziation zwischen erhöhten Spiegel der endogenen Kynurenin-Säure und einem Anstieg der Feuerrate von Dopaminneuronen im mesolimbischen System aufgezeigt werden, was darauf hinweist, dass erhöhte Spiegel von Kynurenin-Säure im Gehirn mit psychotomimetischen Effekten assoziiert sind (Erhardt et al., 2007). Der Kynurenin-Stoffwechselweg (Abbildung 5.2.1.) steht unter der Kontrolle des Immunsystems (Schwarcz et al., 2012; Myint, 2012). Einige Befunde bei an Schizophrenie erkrankten Patienten legen nahe, dass bei Schizophreniepatienten ein Ungleichgewicht zwischen Typ-I und Typ-II Immunantwort vorliegt (Schwarz et al., 2001; Müller und Schwarz, 2010; Myint, 2012; Müller et al., 2014; Müller et al., 2015).

Schwarcz et al. untersuchten in einer 2001 veröffentlichten Studie bei 30 Schizophreniepatienten und 31 gesunden Kontrollprobanden postmortem Kynurenin-Säure-Spiegel in Brodmann Areal 9, 10 und 19, wobei sich im präfrontalen Kortex (Brodmann Areal 9) eine signifikante Erhöhung des Kynurenin-Säure-Spiegels im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe darstellen ließ (Schwarcz et al., 2001). Untersuchungen des Kynurenin-Säure-Spiegel im Liquor zeigten in einer 2001 veröffentlichten Studie von Erhardt et al. bei 28 männlichen Schizophreniepatienten und 17 männlichen Kontrollprobanden erhöhte Kynurenin-Säure-Spiegel bei den an Schizophrenie erkrankten Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollprobanden (Erhardt et al., 2001). Nilsson et al. konnten diese Ergebnisse in einer 2005 veröffentlichten Studie bei 90 männlichen an Schizophrenie erkrankten Patienten und 49 männlichen Kontrollprobanden bestätigen (Nilsson et al., 2005).

Durch diese Erkenntnisse rückte der Kynurenin-Stoffwechselweg ins Zentrum der aktuellen Forschung. Sathyaikumar et al. erhoben 2010 in einer postmortem Untersuchung in den Brodmann Arealen 9 und 10 bei an Schizophrenie erkrankten Patienten und (hinsichtlich ethnischer Abstammung, Alter und Geschlecht vergleichbaren) gesunden Kontrollen nicht nur den Gehalt von Kynurenin-Säure, sondern bestimmten auch die Aktivität verschiedener Enzyme des Kynurenin-Stoffwechselweges. Wie bereits bei Schwarcz et al. 2001 ergab sich eine signifikante Erhöhung des Kynurenin-Säure-Spiegels im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe im Bereich des präfrontalen Kortex. Eine signifikant verringerte Aktivität bei Schizophreniepatienten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe stellte sich bei den Enzymen Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO) und 3-Hydroxyanthranilat-3,4-Dioxygenase (3-HAO) dar (Sathyaikumar et al., 2010).

In Assoziationsstudie an einer japanischen Population analysierten Aoyama et al. (2006) die Beziehung zwischen dem Kynurenin 3-Monooxygenase (KMO) Gen und Schizophrenie. Hierbei wurden zunächst 6 SNPs und zugehörige Haplotyp-Blöcke bei 465 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 440 gesunden Kontrollen untersucht. Dabei ergab sich eine signifikante Assoziation mit Schizophrenie für den KMO-SNP rs2275163 und den Haplotyp-Block der diesen SNP beinhaltet.

Diese Assoziation konnte allerdings in einer zweiten unabhängigen Untersuchungsgruppe mit 480 an Schizophrenie erkrankten Patienten und 448 gesunden Kontrollen nicht wiederholt werden.

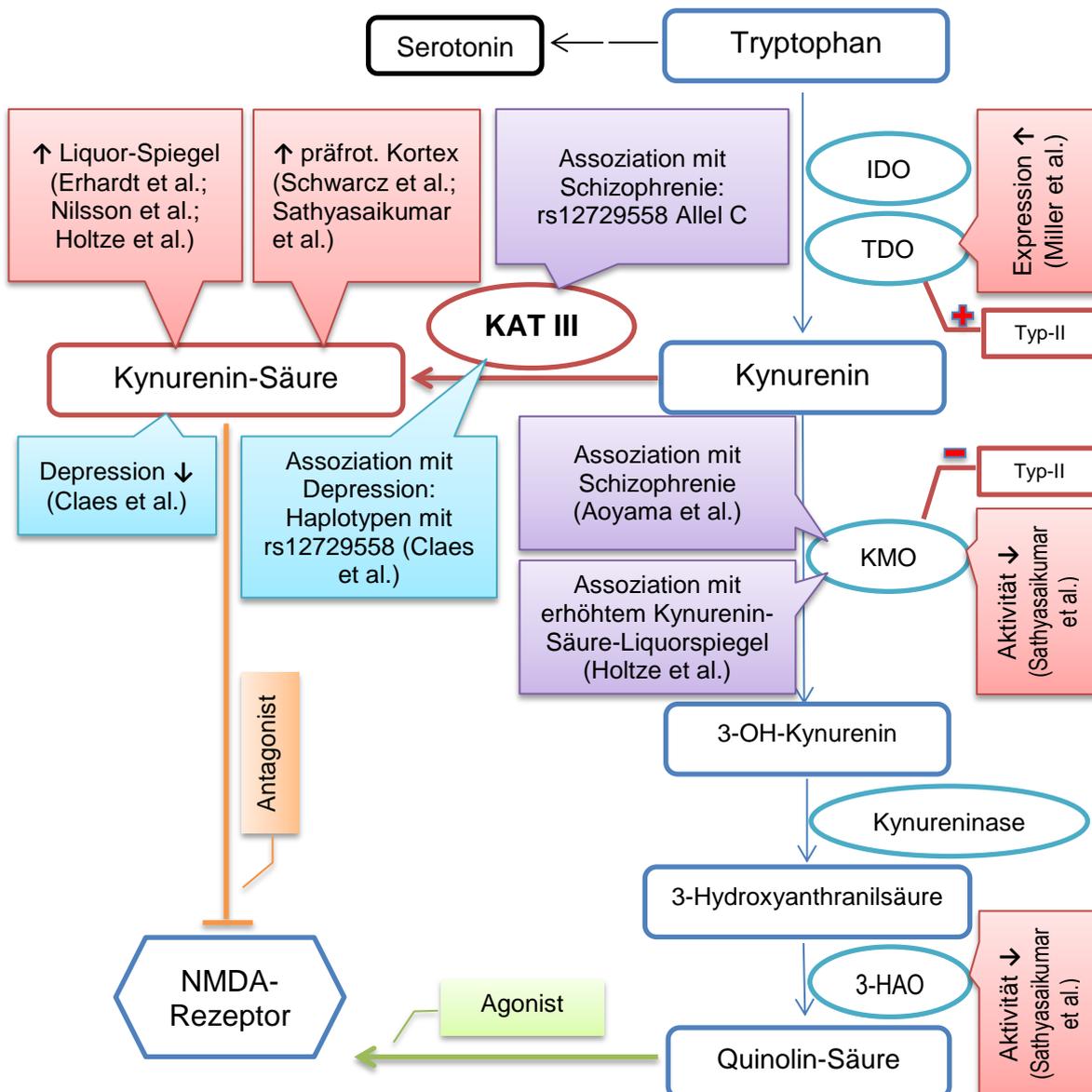


Abbildung 5.2.1.: Kynurenin-Stoffwechselweg und zu den verschiedenen Enzymen durchgeführte Studien

(KAT III = Kynurenin-Aminotransferase III; IDO = Indolamin-Dioxygenase; TDO = Tryptophan-2,3-Dioxygenase; KMO = Kynurenin 3-Monooxygenase); 3-HAO = 3-Hydroxyanthranilsäure-3,4-Dioxygenase; Typ-II = Typ-II-Zytokine;

Auch Wonodi et al. (2011) fanden bei einer Studie mit 248 Patienten und 228 Kontrollprobanden keine Assoziation zwischen dem KMO-SNP rs2275163 und

Schizophrenie. Schwierigkeiten genetische Forschungsergebnisse zu replizieren sind in der Schizophrenieforschung nicht ungewöhnlich, was vermutlich auf die Polygenetik und die Heterogenität dieser komplexen Erkrankung zurück zu führen sein dürfte (Wonodi et al., 2011).

Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte CCBL2-Gen, dessen Produkt Kynurenin-Aminotransferase III (KAT III) den Abbau von Kynurenin zu Kynurenin-Säure katalysiert (Müller und Schwarz, 2010), wurde bisher noch nicht im Zusammenhang mit Schizophrenie untersucht. Allerdings analysierten Claes et al. (2011) in einer Assoziationsstudie im Fall-Kontroll-Design die Assoziation zwischen CCBL2 und Depression bei 338 nicht verwandten, kaukasischen Patienten und 310 bezüglich Geschlecht, Alter und Ethnizität vergleichbaren gesunden Kontrollprobanden. Zur Sicherung der Diagnose wurde SKID I angewandt, wie auch in der vorliegenden Arbeit. Ausschlaggebend für die Auswahl des CCBL2-Gen waren die einheitlichen Erkenntnisse in der Depressionsforschung, dass eine Dysfunktion des Immunsystems eine Rolle spielt. Ein wichtiger Metabolisierungsweg in diesem Zusammenhang ist der Kynurenin-Metabolismus. Bei Patienten mit Depression konnte ein Ungleichgewicht zwischen dem neuroprotektiven und neurotoxischen Arm dieses Abbauweges mit einer erniedrigten Kynurenin-Säure-Konzentration dargestellt werden (Claes et al., 2011). Auch in der Schizophrenie-Forschung spielt die Kynurenin-Säure-Konzentration in der Immundysbalance-Hypothese eine wichtige Rolle (Müller und Schwarz, 2010), allerdings wurden erhöhte Kynurenin-Säure-Liquorspiegel gefunden (Erhardt et al., 2001; Nilsson et al., 2005), die Veränderungen bei Schizophrenie und Depression scheinen also in gegensätzliche Richtung zu gehen. Hiermit übereinstimmend fanden sich Befunde, die ein Überwiegen der Typ-2-Immunantwort im ZNS an Schizophrenie erkrankter Patienten nahelegen, wohingegen bei depressiven Patienten die Typ-1-Immunantwort zu überwiegen scheint (Schwarz et al., 2001; Müller und Schwarz, 2010; Meyer, 2011; Claes et al., 2011; Myint, 2012; Müller et al., 2014; Müller et al., 2015). Da die Höhe der Kynurenin-Säure-Konzentration von Kynurenin-Aminotransferase III abzuhängen scheint, untersuchten Claes et al. (2011) sechs SNPs des CCBL2-Gens. Dabei konnte zwar für keinen der sechs

CCBL2-SNPs eine Assoziation mit Depression nachgewiesen werden, allerdings ergab die Haplotyp Analyse signifikante Ergebnisse für alle Haplotyp-Blöcke die den SNP rs12729558, der auch in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, enthielten, insbesondere der Haplotyp CGCTCT. Dieser Haplotyp wurde bei ca. 5,7% Patienten und 1,9% der Kontrollprobanden gefunden. Es konnte dabei aber keine eindeutige Assoziation für das C-Allel des SNP rs12729558 mit Depression nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde ebenfalls der CCBL2 - Polymorphismus rs12729558 untersucht, jedoch hinsichtlich einer Assoziation mit Schizophrenie. Hier ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Kontrollprobanden und an Schizophrenie erkrankten Patienten. Es besteht somit ein deutlicher Hinweis darauf, dass der Polymorphismus rs12729558 tatsächlich im Zusammenhang mit einer Veränderung der Kynurenin-Aminotransferase III-Funktion steht.

Auch für die Polymorphismen rs3738055, rs6682686 und rs7556189 ergaben sich signifikante Unterschiede. Allerdings konnten bei der Haplotyp-Analyse keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der Haplotypenfrequenzen im Vergleich von Patienten und Kontrollprobanden gefunden werden.

5.3. Ausblick

In mehreren Untersuchungen konnte ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Kynurenin-Säure-Spiegel und Schizophrenie aufgezeigt werden. Es scheint daher naheliegend, einen Zusammenhang zwischen Kynurenin-Aminotransferase III, welches Kynurenin zu Kynurenin-Säure abbaut, und Schizophrenie zu vermuten. Die Ergebnisse dieser Studie deuten auf eine Assoziation zwischen dem CCBL2-Gen und Schizophrenie hin. Es konnte eine statistisch signifikante Assoziation zwischen 4 der 5 untersuchten Single Nucleotid Polymorphismen des CCBL2-Gens und Schizophrenie aufgezeigt werden, es wurde jedoch keine Signifikanz in Bezug auf die Haplotypfrequenzen gefunden. In weiteren Studien gilt es zu überprüfen, ob diese Ergebnisse replizierbar sind.

Auch ist die funktionelle Relevanz der assoziierten Allele zu klären. Von besonderem Interesse ist nach dem heutigen Forschungsstand, ob sie Veränderungen im Genprodukt herbeiführen können, die wiederum zu einer Erhöhung des Kynurenin-Säure-Spiegels führen. Die Folge des Allelaustausches in den untersuchten Polymorphismen der Intron-Bereiche ist nicht geklärt. Denkbar wären ein verändertes Spleißen, welches zu einer Änderung des Genprodukts führen könnte, sowie, dass durch den Allelaustausch eine bisher unbekannte Bindestelle für regulatorische Proteine entsteht, beispielweise Transkriptionsfaktoren. Dies könnte zu einer vermehrten oder verminderten Transkription und somit auch zu einer Veränderung der Kynurenin-Säure-Konzentration führen.

Der im Exon-Bereich liegende Polymorphismus rs3738055, steht an der dritten Stelle des Codons, ein Austausch des Allels (von C in T) führt zu einer synonymen Variante, es resultiert also keine Änderung der kodierten Aminosäure, in beiden Fällen wird Serin kodiert, dieser Polymorphismus hat demnach keinen Einfluss auf Proteinebene, es gelten jedoch ähnlich funktionelle Aspekte wie bei intronischen SNPs.

Viele Faktoren deuten auf eine entscheidende Rolle der Kynurenin-Säure bei der Entstehung der Schizophrenie hin, wie beispielsweise die erhöhten Kynurenin-Säure-Liquorspiegel, die bei Schizophreniepatienten gefunden wurden. In der Vergangenheit wurden verschiedenen Enzyme des Kynurenin-Stoffwechselweges hinsichtlich einer Assoziation mit Schizophrenie untersucht, mit uneinheitlichen, aber zum Teil doch vielversprechenden Ergebnissen.

Die zum Teil uneinheitlichen Ergebnisse in der Schizophrenieforschung könnten auf die Polygenetik und die Heterogenität dieser komplexen Erkrankung zurückzuführen sein, da heute von einem polygenen Erbgang ausgegangen wird, wobei jedes Gen nur mäßige Auswirkung auf die Anfälligkeit an Schizophrenie zu erkranken hat und zudem eine genetische Heterogenität vermutet wird. Auch die Stichprobengröße der Studien spielt dabei eine wichtige Rolle.

Eine weitere Entschlüsselung dieser komplexen und gravierenden Krankheit könnte in der Zukunft dazu beitragen, Medikamente mit gezielterem Wirkspektrum und geringerem Nebenwirkungsprofil zu entwickeln. Für eine Großzahl von Patienten würde dies eine erhebliche Verbesserung der Lebensqualität darstellen. Zudem ist die niedrigere Lebenserwartung eines an Schizophrenie erkrankten Patienten gegenüber der Allgemeinbevölkerung zu beachten, bei der metabolische und kardiovaskuläre Erkrankungen neben Suiziden als Hauptursache gelten. Bezüglich metabolischer und kardiovaskulärer Erkrankungen spielen neben anlagebedingten Faktoren auch Neuroleptika-Nebenwirkungen eine große Rolle. So könnte eine Medikation mit gezielterem Wirkspektrum und geringerem Nebenwirkungsprofil auch eine Abnahme der erhöhten Sterblichkeit an Schizophrenie erkrankter Patienten bewirken.

Aber nicht nur auf humanitärer Ebene könnte eine wirkungsvollere und nebenwirkungsärmere Medikation eine Erleichterung bedeuten, sondern auch auf volkswirtschaftlicher Ebene, da eine Vielzahl von Schizophreniepatienten nicht mehr oder nur noch eingeschränkt arbeitsfähig sind.

Möglicherweise könnte durch Prophylaxe oder durch symptomatische Behandlung von mütterlichen Infektionen in der Schwangerschaft das Risiko der Entwicklung einer schizophrenen Erkrankung reduziert werden. Auch könnte neben der Behandlung oder Verhinderung von mütterlichen Infektionen, Kynurenin-Säure als Marker zur Früherkennung genutzt und antiinflammatorische Behandlungsansätze in den frühen Erkrankungsphasen eingesetzt werden.

Allerdings sollten die Interaktionen zwischen den verschiedenen potenziell neuroprotektiven und potenziell neurotoxischen Metaboliten des Kynurenin-Stoffwechselweges noch genauer untersucht werden.

6. Zusammenfassung

Bei Schizophrenie handelt es sich um eine sehr komplexe und schwerwiegende psychische Erkrankung. Zwar ist die Ätiopathogenese der Schizophrenie noch weitgehend ungeklärt, doch wird nach heutigem Forschungsstand eine ausgeprägte genetische Komponente bei einem insgesamt multifaktoriellen Entstehungsmodell angenommen. Die Suche nach möglichen Suszeptibilitäts-genen für Schizophrenie stellt daher einen Schwerpunkt der heutigen Forschung dar und es konnten in Assoziationsstudien bereits einige Kandidatengene identifiziert werden. In der Vergangenheit wurden verschiedenen Enzyme des Kynurenin-Stoffwechselweges hinsichtlich einer Assoziation mit Schizophrenie untersucht, mit uneinheitlichen, aber zum Teil vielversprechenden Ergebnissen.

Bei der vorliegenden Arbeit wurde an einem Kollektiv aus 511 an Schizophrenie erkrankter Patienten und 1401 gesunden Kontrollprobanden kaukasischer Abstammung eine Fall-Kontroll-Studie zur Assoziation zwischen 5 Einzelnukleotid-Polymorphismen des CCBL2-Gens und der Schizophrenie durchgeführt.

Hierbei fanden sich für die intronischen Polymorphismen rs12729558, rs6682686 und rs7556189 sowie den exonischen Polymorphismus rs3738055 eine Assoziation zu Schizophrenie. Auch für die Untergruppe der Patienten mit psychisch kranken Angehörigen im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten sich bei diesen Polymorphismen signifikante Unterschiede. Es fiel auf, dass sich unter den Patienten weniger Träger des jeweils selteneren Allels fanden. Diese Allele könnten möglicherweise einen protektiven Effekt aufweisen.

Keine Signifikanz wurde in Bezug auf die Haplotypfrequenzen im Vergleich von Patienten und Kontrollprobanden für die Haplotypen des untersuchten Blocks gefunden. Es bedarf daher weiterer Untersuchungen, um die Beteiligung des CCBL2-Gens an der Entstehung der Schizophrenie zu klären.

7. Abkürzungen

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
bp	Basenpaare
CCBL2	cysteine conjugate-beta lyase 2
CI	95% - Konfidenzintervall
CTCF	CCCTC-binding factor (Zinkfinger Protein)
ddNTP	Didesoxynukleotid
dNTP	Desoxyribonukleotide
DSM IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) der American Psychiatric Association (APA)
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure (gamma-aminobutyric acid)
HPLC	high performance liquid chromatography
htSNP	haplotype tagSNP
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
HLA	Human Leukocyte Antigen
ICD-10	International Classification of Diseases, Version 10, Klassifikationssystem für Krankheiten der Weltgesundheitsorganisation (WHO)
IDO	Indolamin-Dioxygenase
IL	Interleukin
INF- γ	Interferon-Gamma
KAT III	Kynurenine-Aminotransferase III
KMO	Kynurenin 3-Monooxygenase
LD	Linkage Disequilibrium; Kopplungsungleichgewicht
MALDI	Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization
mRNA	messenger- RNA
NMDA	N-methyl-D-aspartat
NRGN	Neurogranin
OR	Odds Ratio
PANSS	Positive And Negative Syndrome Scale

Pat. (1st)	Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen 1. Grades
Pat. (psy)	Patienten mit psychisch kranken Angehörigen
Pat. (scz)	Patienten mit an Schizophrenie erkrankten Angehörigen
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
SAP	Shrimp alkaline phosphatase
SKID	Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV
SNP	Single nucleotide polymorphism, Einzelbasenpolymorphismus
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
TDO	Tryptophan-2,3-Dioxygenase
TOF	Time of flight
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TCF4	Transcription cell factor 4
UpM	Umdrehungen pro Minute
WHO	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organisation)

Literaturverzeichnis

Aleman, A., Kahn, R.S., Selten, J.-P.: Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 565–571. (2003)

Allardyce, J., Boydell, J.: Review: the wider social environment and schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 32, 592–598. (2006)

Andreasen, N.C., Olsen, S.: Negative v positive schizophrenia. Definition and validation:

Arch. Gen. Psychiatry, v. 39, p. 789-794. (1982)

Andreasen, N.C.: Positive vs. negative schizophrenia: a critical evaluation. *Schizophrenia bulletin* 11(3):380-9. (1985)

Aoyama, N., Takahashi, N., Saito, S., Maeno, N., Ishihara, R., Ji, X., Miura, H., Ikeda, M., Suzuki, T., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Yoshida, K., Iwata, N., Inada, T., Ozaki, N.: Association study between kynurenine 3-monooxygenase gene and schizophrenia in the Japanese population. *Genes Brain Behav.* 5:364–368. (2006)

Ashdown, H., Dumont, Y., Ng, M., et al.: The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection in the fetus: implications for schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 11, 47–55. (2006)

Badner, J.A., Gershon, E.S.: Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 7, 405–411. (2002)

Barger, S.W., Goodwin, M.E., Porter, M.M., Beggs, M.L.: Glutamate release from activated microglia requires the oxidative burst and lipid peroxidation. *J Neurochem*; 101:1205–13. (2007)

Barnes, T.R.E., Mutsatsa, S.H., Hutton, S.B., et al.: Comorbid substance abuse and age of onset of schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* 188, 237–242. (2006)

Barrett J.C., Fry B., Maller J., Daly M.J.: Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. (2005)

Barry, S., Clarke, G., Scully, P., Dinan, T.G.: Kynurenine pathway in psychosis: evidence of increased tryptophan degradation. *Journal of Psychopharmacology* 23(3): 287-294. (2009)

Balu, D.T., Coyle, J.T.: Neuroplasticity Signaling Pathways Linked to the Pathophysiology of Schizophrenia. *Neurosci Biobehav Rev.* 35(3): 848–870. (2011)

- Beal, M.F., Matson, W.R., Swartz, K.J., Gamache, P.H., Bird, E.D.: Kynurenine pathway measurements in Huntington's disease striatum: evidence for reduced formation of kynurenic acid. *J. Neurochem.* 55, 1327–1339. (1990)
- Brickman, A. M., Buchsbaum, M. S., Shihabuddin, L., Byne, W., Newmark, R. E., Brand, J., Ahmed, S., Mitelman, S. A. und Hazlett, E. A.: Thalamus size and outcome in schizophrenia. *Schizophr Res* 71(2-3): 473-84. (2004)
- Byrne, M., Agerbo, E., Ewald, H., et al.: Parental age and risk of schizophrenia: a case–control study. *Arch. Gen. Psychiatry* 60,673–678. (2003)
- Byrne, M., Agerbo, E., Bennedsen, B., et al.: Obstetric conditions and risk of first admission with schizophrenia: a Danish national register based study. *Schizophr. Res.* 97, 51–59. (2007)
- Cannon, M., Jones, P.B., Murray, R.M.: Obstetrical complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am. J. Psychiatry* 159, 1080–1092. (2002)
- Carlsson, A.: Does dopamine play a role in schizophrenia? *Psychological Medicine* 7, 583–597. (1977)
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M. und Carlsson, M. L.: Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41: 237-60. (2001)
- Chiappelli, J., Pocivavsek, A., Nugent, K. L., Notarangelo, F. M., Kochunov, P., Rowland, L. M., Schwarcz, R., Hong, L. E.: Stress-Induced Increase in Kynurenic Acid as a Potential Biomarker for Patients With Schizophrenia and Distress Intolerance. *JAMA Psychiatry.* 2014 July 1; 71(7): 761–768. (2014)
- Claes, S., Myint, A.M., Domschke, K., Del-Favero, J., Entrich, K., Engelborghs, S., De Deyn, P., Müller, N., Baune, B., Rothermundt, M.: The kynurenine pathway in major depression: Haplotype analysis of three related functional candidate genes. *Psychiatry Research* 188, 355–360 (2011)
- Dalman, C., Allebeck, P., Gunnell, D., et al.: Infection in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. *Am. J. Psychiatry* 165, 59–65. (2008)
- Davies, G., Welham, J., Chant, D., et al.: A systematic review and meta-analysis of northern hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 29, 587–593. (2003)
- Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M.: Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *The American Journal of Psychiatry* 148, 1474–1486. (1991)

- Degenhardt, L., Hall, W.: *Is cannabis use a contributory cause of psychosis?* *Can. J. Psychiatry* 51, 566–574. (2006)
- Dilling, H., Mombour, W., & Schmidt, M.H.: *Internationale Klassifikation psychischer Störungen. ICD-10 Kapitel V (F) Klinisch-diagnostische Leitlinien, 8.Auflage*, Verlag Hans Huber, Bern (2011)
- Ebert D., Loew T.: *Psychiatrie systematisch. 6. Auflage*, Bremen: Uni-Med. (2005)
- Ensembl, release 77 - Oktober 2014: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?q=ENSG00000137944;r=1:88935773-88992953 (2014)
- Erhardt, S., Blennow, K., Nordin, C., Skogh, E., Lindstrom, L.H., Engberg, G.: *Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia.* *Neurosci Lett*; 313: 96–98. (2001)
- Erhardt, S., Schwieler, L., Nilsson, L., Linderholm, K., Engberg, G.: *The kynurenic acid hypothesis of schizophrenia.* *Physiol Behav.* 92(1-2):203-209. (2007)
- Falkai, P., Wittchen, H.-U.: *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychiatrischer Störungen DSM-V. Deutsche Ausgabe.* Hogrefe Verlag, Göttingen (2015)
- Friedl, M.: *Die Bedeutung des Serotonin-2A-Rezeptorgens in der Schizophrenie.* Dissertation, LMU München: Medizinische Fakultät (2011)
- Gabriel, S.B., Schaffner, S.F., Nguyen, H., Moore, J.M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu-Cordero, S.N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E.S., Daly, M.J., Altshuler, D.: *The structure or haplotype blocks in the human genome.* *Science.* 2002 Jun 21; 296(5576):2225-9. Epub 2002 May 23. (2002)
- Geddes, J.R., Lawrie, S.M.: *Obstetric complications and schizophrenia: a meta-analysis.* *Br. J. Psychiatry* 167, 786–793. (1995)
- Geddes, J.R., Verdoux, H., Takei, N., et al.: *Schizophrenia and complications of pregnancy and labor: an individual patient data meta-analysis.* *Schizophr. Bull.* 25, 413–423. (1999)
- Genius, J., Geiger, J., Dölzer, A.-L., Benninghoff, J., Giegling, I., Hartmann, A. M., Möller, H.-J., Rujescu, D.: *Glutamatergic Dysbalance and Oxidative Stress in In Vivo and In Vitro Models of Psychosis Based on Chronic NMDA Receptor Antagonis.* *PLoS ONE* 8(7): e59395. doi:10.1371/journal.pone.0059395 (2013)
- Giegling, I., Hartmann, A.-M., Genius, J., Benninghoff, J., Möller, H. J. und Rujescu, D.: *Systems biology and complex neurobehavioral traits.* *Pharmacopsychiatry.* 41 Suppl 1: S32-6. (2008)

Giegling, I., Hosak, L., Mössner, R., Serretti, A., Bellivier, F., Claes, S., Collier, D. A., Corrales, A., DeLisi, L. E., Gallo, C., Gill, M., Kennedy, J. L., Leboyer, M., Maier, W., Marquez, M., Massat, I., Mors, O., Muglia, P., Nöthen, M. M., Ospina-Duque, J., Owen, M. J., Propping, P., Shi, Y.Y., St Clair, D., Thibaut, F., Cichon, S., Mendlewicz, J., O'Donovan, M. C., Rujescu, D.: Genetics of schizophrenia: A consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics, *The World Journal of Biological Psychiatry*, DOI: 10.1080/15622975.2016.1268715 (2017)

Giusti-Rodríguez, P. und Sullivan, P. F.: The genomics of schizophrenia: update and implications. *J Clin Invest.* 2013; 123(11):4557–4563. doi:10.1172/JCI66031. (2013)

Gottesman, I.I., McGuffin, P., Farmer, A.E.: Clinical genetics as clues to the “real” genetics of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 13, 23–47. (1987)

Gottesman, I.I., Laursen, T.M., Bertelsen, A., Mortensen, P.B.: Severe mental disorders in offspring with 2 psychiatrically ill parents. *Arch. Gen. Psychiatry.* 67:252–257. (2010)

Grieß, E., Meckelein, B., Schulz, K., Seransi, P., Setzke, E.: Isolierung von DNA, in G Schrimpf (ed), *Gentechnische Methoden: Spektrum Akademischer Verlag.* (2002)

Guillin, O., Abi-Dargham, A., Laruelle, M.: Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *International Review of Neurobiology* 78, 1–39. (2007)

Häfner, H., an der Heiden, W.: The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl 4:14-26. (1999)

Häfner, H.: Gender differences in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 28 (2003) 17-54, Elsevier Science (2003)

Häfner, H., Maurer, K., Heiden, W. an der: Schizophrenie – eine einheitliche Krankheit? *Nervenarzt* 2013. 84:1093-1103, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg (2013)

Han, Q., Robinson, H., Cai, T., Tagle, D.A., Li, J.: Biochemical and Structural Properties of Mouse Kynurenine Aminotransferase III. *Molecular and Cellular Biology*, 29 (3): 784–793. (2009)

Haploview 4.2, <http://www.broadinstitute.org/scientific-community/science/programs/medical-and-population-genetics/haploview/haploview>

Harrison, G.: Trajectories of psychosis: towards a new social biology of schizophrenia. *Epidemiol. Psychiatr. Soc.* 13, 152–157. (2004)

Hazlett, E. A., Buchsbaum, M. S., Byne, W., Wei, T. C., Spiegel-Cohen, J., Geneve, C., Kinderlehrer, R., Haznedar, M. M., Shihabuddin, L. und Siever, L. J.:

Three-dimensional analysis with MRI and PET of the size, shape, and function of the thalamus in the schizophrenia spectrum. Am J Psychiatry 156(8): 1190-9. (1999)

Heiden, W. an der, Häfner, H.: The epidemiology of onset and course of schizophrenia. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 250: 292–303, Steinkopff Verlag (2000)

Hert, de M., Dekker, J.M., Wood, D., Kahl, K.G., Holt, R.I.G., Möller, H.-J.: Cardiovascular disease and diabetes in people with severe mental illness position statement from the European Psychiatric Association (EPA), supported by the European Association for the Study of Diabetes (EASD), and the European Society of Cardiology (ESC). European Psychiatry 24 (2009) 412–424, doi:10.1016/j.eurpsy.2009.01.005, Elsevier Masson SAS (2009)

Heston, L.L.: Psychiatric disorders in the foster home reared children of schizophrenic mothers. Br. J. Psychiatry 112, 819–825. (1966)

Hill, A.B.: The environment and disease: association or causation. Proc. R. Soc. Med. 58, 295–300. (1965)

Hilmas, C., Pereira, E.F., Alkondon, M., Rassoulpour, A., Schwarcz, R., Albuquerque, E.X.: The brain metabolite kynurenic acid inhibits alpha7 nicotinic receptor activity and increases non-alpha7 nicotinic receptor expression: physiopathological implications. J Neurosci 21: 7463–7473 (2001)

Holtze, M., Saetre, P., Engberg, G., Schwieler, L., Werge, T., Andreassen, O.A., Hall, H., Terenius, L., Agartz, I., Jönsson, E.G., Schalling, M., Erhardt, S.: Kynurenine 3-monooxygenase polymorphisms: relevance for kynurenic acid synthesis in patients with schizophrenia and healthy controls. J Psychiatry Neurosci; 37: 53–57 (2012).

Ingason, A., Giegling, I., Hartmann, A. M., Genius, J., Konte, B., Friedl, M., Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium (PGC), Ripke, S., Sullivan, P. F., St. Clair, D., Collier, D.A., O'Donovan, M.C., Mirnics, K., Rujescu, D.: Expression analysis in a rat psychosis model identifies novel candidate genes validated in a large case–control sample of schizophrenia. Transl Psychiatry (2015) 5, e656; doi:10.1038/tp.2015.151 (2015)

International HapMap Project, http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-perl/qbrowse/hapmap28_B36/#search, (2013)

Invitrogen, www.invitrogen.com, (2009)

Jäger, M. Frasch, K., Lang, F.U., Becker, T.: Auflösung des Schizophreniebegriffes, Nervenarzt 2011, DOI 10.1007/s00115-011-3255-1. Springer-Verlag (2011)

- Javitt, D.C., Spencer, K.M., Thaker, G.K., Winterer, G., Hajos, M.: *Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. Nature Reviews Drug Discovery* 7, 68–83. (2008)
- Jurinke, C., Oeth, P., Boom, D. van den: *MALDI-TOF mass spectrometry: a versatile tool for high-performance DNA analysis: Mol.Biotechnol.*, v. 26, p.147-164. (2004)
- Kapur, S., Remington, G.: *Serotonin–dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. The American Journal of Psychiatry* 153, 466–476. (1996)
- Kay S.R., Fiszbein A., Opler L.A.: *The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. Schizophr Bull* 13(2): 261-276. (1987)
- Kendler, K.S., McGuire, M., Gruenberg, A.M., et al.: *The Roscommon family study. 1. Methods, diagnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives. Arch. Gen. Psychiatry* 50,527–540. (1993)
- Keshavan, M.S., Tandon, R., Boutros, N. N., Nasrallah, H. A.: *Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology: Schizophr.Res*, v.106, p. 89-107. (2008)
- Kessler J., Folstein, S.E., Denzler P.: *MMST. Mini-Mental-Status-Test. Deutschsprachige Fassung. Weinheim: Beltz* (1990)
- Kety, S.S., Rosenthal, D., Wender, P., Schulsinger, F.: *The types and prevalence of mental illness in the biological and adoptive families of adopted schizophrenics. J. Psychiatr. Res.* 1, 345–362. (1968)
- Klinke, R., Pape, H.-C., Silbernagel, S.: *Physiologie. 5. Auflage. Thieme, Stuttgart* (2004)
- Kim, J.S., Kornhuber, H.H., Schmid-Burgk, W., Holzmüller, B.: *Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. Neuroscience Letters* 20, 379–382. (1980)
- Kirkbride, J.B., Fearon, P., Morgan, C., et al.: *Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center Aetiology and Ethnicity in Schizophrenia and Related Psychosis (AeSOP) study. Arch. Gen. Psychiatry* 63,250–258. (2006)
- Klotz-Rödig, E. R.: *Eine Assoziationsstudie zum DKK3-Gen und der Schizophrenie. Dissertation, LMU München: Medizinische Fakultät* (2015)
- Koponen H., Rantakallio P., Veijola J., Jones P., Jokelainen J., Isohanni M.: *Childhood central nervous system infections and risk for schizophrenia. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 254: 9–13. (2004)

Krystal, J.H., Karper, L.P., Seibyl, J.P., Freeman, G.K., Delaney, R., Bremner, J.D., Heninger, G.R., Bowers, M.B. Jr., Charney, D.S.: Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51: 199–214 (1994)

Kunz, M., Ceresér, K. M., Goi, P. D., Fries, G. R., Teixeira, A. L., Fernandes, B. S., Belmonte-de-Abreu, P. S., Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Gama, C. S.: Serum levels of IL-6, IL-10 and TNF- α in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro- and anti-inflammatory balance. *Revista Brasileira de Psiquiatria* • vol 33 • n° 3 • set (2011)

Laruelle, M., Abi-Dargham, A., van Dyck, C.H., Gil, R., D'Souza, C.D., Erdos, J., McCance, E., Rosenblatt, W., Fingado, C., Zoghbi, S.S., Baldwin, R.M., Seibyl, J.P., Krystal, J.H., Charney, D.S., Innis, R.B.: Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 9235–9240. (1996)

Laruelle, M., Frankle, W.G., Narendran, R., Kegeles, L.S., bi-Dargham, A.: Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. *Clin Ther* 27 [Suppl A]: S16–S24. (2005)

Lavebratt, C., Olsson, S., Backlund, L., Frisé, L., Sellgren, C., Priebe, L., Nikamo, P., Träskman-Bendz, L., Cichon, S., Vawter, M. P., Ösby, U., Engberg, G., Landén, M., Erhardt, S., Schalling, M.: The KMO allele encoding Arg452 is associated with psychotic features in bipolar disorder type 1, and with increased CSF KYNA level and reduced KMO expression. *Molecular Psychiatry* (2013), 1–8. doi: 10.1038/mp.2013.11 (2013)

Levav, Itzhak; Rutz, Wolfgang: The WHO World Health Report 2001 new understanding--new hope. In: *Isr J Psychiatry Relat Sci* 39 (1), S. 50–56. (2002)

Lewis, G., David, A., Andreasson, S., Allebeck, P.: Schizophrenia and city life. *Lancet* 340, 137–140. (1992)

Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I., Williams, N. M., Schwab, S. G., Pulver, A. E., Faraone, S. V., Brzustowicz, L. M., Kaufmann, C. A., Garver, D. L., Gurling, H. M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H. W., Byerley, W., Shaw, S. H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F. A., Walsh, D., Kendler, K. S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M. C., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J. L., Antonarakis, S. E., Mowry, B. J., Silverman, J. M., Crowe, R. R., Cloninger, C. R., Tsuang, M. T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J. M., Svrakic, D. M., Bassett, A. S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T. und Helgason, T.: Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: schizophrenia. *Am. J. Hum. Genet.* 73, 34–48. (2003)

- Lichtenstein, P., Yip, B. H., Björk, C., Pawitan, Y., Cannon, T. D., Sullivan, P. F., Hultman, C. M.: Common genetic influences for schizophrenia and bipolar disorder: A population-based study of 2 million nuclear families. *Lancet*. 2009 January 17; 373(9659): doi: 10.1016/S0140-6736(09)60072-6. (2009)
- Malaspina, D., Harlap, S., Fennig, S., et al.: Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 361–367. (2001)
- Mason, M., Manning, B.: Effects of steroid conjugates on availability of pyridoxal phosphate for kynureninase and kynurenine aminotransferase activity. *Am J Clin Nutr* 24, 786–791. (1971)
- Martins-de-Souza, D., Gattaz, W.F., Schmitt, A., Rewerts, C., Maccarrone, G., Dias-Neto, E., Turck, C.W.: Prefrontal cortex shotgun proteome analysis reveals altered calcium homeostasis and immune system imbalance in schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259:151–163. (2009)
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., Welham, J.: Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev*. 2008; 30:67–76. doi:10.1093/epirev/mxn001 (2008)
- McGrath, J., Saha, S., Welham, J., et al.: A systematic review of the incidence of schizophrenia. *B.M.C. Med.* 2, 13. (2004)
- McGrath, J.J., Welham, J.L.: Season of birth and schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of data from the Southern Hemisphere. *Schizophr. Res.* 35, 237–242. (1999)
- McGuffin, P., Farmer, A., Harvey, I.: A polydiagnostic application of operational criteria in studies of psychotic illness. Development and reliability of the OPCRIT system. *Arch. Gen. Psychiatry* Aug; 48(8):764-70. (1991)
- Meyer, U., Yee, B.K., Feldon, J.: The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times in pregnancy: the earlier the worse. *Neuroscientist* 13, 241–266. (2007)
- Meyer, U.: Developmental neuroinflammation and schizophrenia, *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*, doi:10.1016/j.pnpbp.2011.11.003 (2011)
- Miller, C.L., Llenos, I.C., Dulay, J.R., Barillo, M.M., Yolken, R.H., Weis, S.: Expression of the kynurenine pathway enzyme tryptophan 2,3-dioxygenase is increased in the frontal cortex of individuals with schizophrenia. *Neurobiol Dis* 15: 618–629 (2004)
- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., Daly, D.: Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci* 17:2921–2927. (1997)

Möller, H.J., Laux, G. & Deister, A.: *Psychiatrie und Psychotherapie*, 4. Auflage, Thieme, Stuttgart (2009)

Möller, H.J., Laux, G. & Deister, A.: *Psychiatrie und Psychotherapie*, 4. Auflage Thieme, Stuttgart (2009)

Möller, H.J., Laux, G., Kapfhammer, H.P. (Hrsg.): *Psychiatrie & Psychotherapie*, Band 1 & 2, 4. Auflage, Springer, Berlin Heidelberg (2011)

Moore, T.H.M., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., et al.: *Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. Lancet* 370, 319–328. (2007)

Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Westergaard, T., et al.: *Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. N. Engl. J. Med.* 340, 603–608. (1999)

Müller, N., Riedel, M., Ackenheil, M., Schwarz, M.J.: *Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. World J Biol Psychiatry* 1: 173–179 (2000)

Müller, N., Schwarz, M. J.: *Schizophrenie, Entzündung und glutamaterge Neurotransmission: ein pathophysiologisches Modell. In Möller, H.J., Müller, N. (Hrsg.): Aktuelle Aspekte der Pathogenese und Therapie der Schizophrenie, Springer-Verlag Wien (2006)*

Müller, N., Schwarz, M. J.: *Entzündliche Veränderungen als gemeinsame Pathogenese affektiver und schizophrener Erkrankungen. In Möller, H.J., Müller, N. (Hrsg.): Schizophrenie – Zukunftsperspektiven in Klinik und Forschung, Springer-Verlag Wien (2010)*

Müller, N., Schwarz, M. J., Leitner, B., Weidinger, E.: *Mikroglia und immunologische Mechanismen in der neuropsychiatrischen Forschung: Implikationen für neue therapeutische Ansätze. Nervenheilkunde; 33: 761–770, Schattauer (2014)*

Müller, N., Weidinger, E., Leitner, B., Schwarz, M. J.: *The role of inflammation in schizophrenia. Front. Neurosci.* 9:372. doi: 10.3389/fnins.2015.00372 (2015)

Myint, A. M.: *Kynurenines: from the perspective of major psychiatric disorders. FEBS Journal* 279 (2012) 1375–1385. doi:10.1111/j.1742-4658.2012.08551.x (2012)

NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/56267>, Stand 29-Nov-2014 (2014)

Nematollahi, A., Church, W. B., Nadvi, N. A., Gorrell, M.D., Sun, G.: *Homology Modeling of Human Kynurenine Aminotransferase III and Observations on*

Inhibitor Binding Using Molecular Docking. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry, 14, 2-9 (2014)

Nematollahi, A., Sun, G., Jayawickrama, G. S., Church, W. B.: Kynurenine Aminotransferase Isozyme Inhibitors: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 946; doi:10.3390/ijms17060946 (2016)

Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T., Riley, B., Paunio, T., Pulver, A. E., Irmansyah, Holmans, P. A., Escamilla, M., Wildenauer, D. B., Williams, N. M., Laurent, C., Mowry, B. J., Brzustowicz, L. M., Maziade, M., Sklar, P., Garver, D. L., Abecasis, G. R., Lerer, B., Fallin, M. D., Gurling, H. M., Gejman, P. V., Lindholm, E., Moises, H. W., Byerley, W., Wijsman, E. M., Forabosco, P., Tsuang, M. T., Hwu, H. G., Okazaki, Y., Kendler, K. S., Wormley, B., Fanous, A., Walsh, D., O'Neill, F. A., Peltonen, L., Nestadt, G., Lasseter, V. K., Liang, K. Y., Papadimitriou, G. M., Dikeos, D. G., Schwab, S. G., Owen, M. J., O'Donovan, M. C., Norton, N., Hare, E., Raventos, H., Nicolini, H., Albus, M., Maier, W., Nimgaonkar, V. L., Terenius, L., Mallet, J., Jay, M., Godard, S., Nertney, D., Alexander, M., Crowe, R. R., Silverman, J. M., Bassett, A. S., Roy, M. A., Merette, C., Pato, C. N., Pato, M. T., Roos, J. L., Kohn, Y., Amann-Zalcenstein, D., Kalsi, G., McQuillin, A., Curtis, D., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Sanders, A. R., Duan, J., Jazin, E., Myles-Worsley, M., Karayiorgou, M., Lewis, C. M.: Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 14(8), 774-785. (2009)

Nilsson, L.K., Linderholm, K.R., Engberg, G., Paulson, L., Blennow, K., Lindström, L.H., Nordin, C., Karanti, A., Persson, P., Erhardt S.: Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. *Schizophr Res*; 80: 315–322. (2005)

Norman, R.M.G., Malla, A.K.: Stressful life events and schizophrenia I: a review of the research. *Br. J. Psychiatry* 162, 161–166. (1993)

Olney, J.W., Farber, N.B.: Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* 52, 998–1007. (1995)

Owen, M. J.: Molecular genetic studies of schizophrenia. *Brain Res Rev* 31(2-3): 179-186. (2000)

Pearce, B.D.: Schizophrenia and viral infection during neurodevelopment: a focus on mechanisms. *Mol Psychiatry* 6: 634–646. (2001)

Penner, J.D., Brown, A.S.: Prenatal infectious and nutritional factors and risk of schizophrenia. *Expert Rev. Neurotherapeutics* 7, 797–805. (2007)

Perrin, M.C., Brown, A.S., Malaspina, D.: Aberrant epigenetic regulation could explain the relationship of paternal age to schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 33, 1270–1273. (2007)

Pershing, M. L., Bortz, D. M., Pocivavsek, A., Fredericks, P. J., Jørgensen, C. V., Vunck, S. A., Leuner, B., Schwarcz, R., Bruno, J. P.: Elevated levels of kynurenic

acid during gestation produce neurochemical, morphological, and cognitive deficits in adulthood: implications for schizophrenia. *Neuropharmacology*. 2015 March; 90: 33–41. doi:10.1016/j.neuropharm.2014.10.017. (2015)

PLINK v1.07, <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., Bakker, P.I.W. de, Daly, M.J. & Sham, P.C.: PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics* 81. (2007)

Qiagen: *Handbuch für QIAamp® DNA Mini Kits und QIAamp DNA Blood Mini Kits* (2002)

R Development Core Team, *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.(2011)

Rice, J.P., Reich, T., Bucholz, K.K., Neuman, R.J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V.M., Nurnberger, J.I. Jr, Schuckit, M.A., Begleiter, H.: Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19(4): 1018-1023. (1995)

Richter, V., Guthke, J.: *Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)*. Göttingen: Hogrefe. (1996)

Rujescu, D., Bender, A., Keck, M., Hartmann, A. M., Ohl, F., Raeder, H., Giegling, I., Genius, J., McCarley, R. W., Moller, H. J. und Grunze, H.: A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities. *Biol Psychiatry* 59(8): 721-9. (2005)

Rujescu, D.: *Schizophrenia Genes: On the Matter of Their Convergence*. *Curr Topics Behav Neurosci*. 10.1007/7854, (2012)

Saß, H., Wittchen, H.-U., Zaudig, M.: *Diagnostisches und Statistisches Manual Psychiatrischer Störungen DSM-IV. Deutsche Bearbeitung*. Hogrefe Verlag, Göttingen (1996)

Sathyasaikumar, K.V., Stachowski, E.K., Wonodi, I., Roberts, R.C., Rassoulpour, A., McMahon, R.P., Schwarcz, R.: Impaired kynurenine pathway metabolism in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. *Schizophr Bull*. doi:10-1093/schbul/sbq112. (2010)

Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium: *Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci*. *Nature* 2014; 511:421–427. (2014)

Schmidt, K.-H., Metzler, P.: *Wortschatztest. WST*. Weinheim: Beltz (1992)

- Schneider, K.: *Klinische Psychopathologie*. 10. Auflage, Thieme, Stuttgart (1973)
- Schwarcz, R., Rassoulpour, A., Wu, H.Q., Medoff, D., Tamminga, C.A., Roberts, R.C.: *Increased cortical kynurenate content in schizophrenia*. *Biol. Psychiatry* 50:521–530. (2001)
- Schwarcz, R., Bruno, J. P., Muchowski, P. J., Wu, H.-Q.: *Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology*. *Nat Rev Neurosci*. 2012 July ; 13(7): 465–477. doi:10.1038/nrn3257. (2012)
- Schwarz, M.J., Müller, N., Riedel, M., Ackenheil, M.: *The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms*. *Med Hypotheses* 56, 483–486. (2001)
- Semple, D.M., McIntosh, A.M., Lawrie, S.M.: *Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review*. *J. Psychopharmacol.* 19,187–194. (2005)
- Sequenom, *MassARRAY® Assay Design 3.1 Software User's Guide*, San Diego (2005)
- Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whitemore, A.S., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C.R., Silverman, J.M., Buccola, N.G., Byerley, W.F., Black, D.W., Crowe, R.R., Oksenberg, J.R., Mirel, D.B., Kendler, K.S., Freedman, R., Gejman, P.V.: *Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia*. *Nature* 460(7256):753–757 (2009)
- Simeone, J. C., Ward, A. J., Rotella, P., Collins, J., Windisch, R.: *An evaluation of variation in published estimates of schizophrenia prevalence from 1990–2013: a systematic literature review*. *BMC Psychiatry* 15:193. DOI 10.1186/s12888-015-0578-7 (2015)
- Stefansson, H., Ophoff, R.A., Steinberg, S., Andreassen, O.A., Cichon, S., Rujescu, D., Werge, T., Pietiläinen, O.P., Mors, O., Mortensen, P.B., Sigurdsson, E., Gustafsson, O., Nyegaard, M., Tuulio-Henriksson, A., Ingason, A., Hansen, T., Suvisaari, J., Lonnqvist, J., Paunio, T., Børglum, A.D., Hartmann, A., Fink-Jensen, A., Nordentoft, M., Hougaard, D., Norgaard-Pedersen, B., Böttcher, Y., Olesen, J., Breuer, R., Möller, H.J., Giegling, I., Rasmussen, H.B., Timm, S., Mattheisen, M., Bitter, I., Réthelyi, J.M., Magnusdottir, B.B., Sigmundsson, T., Olason, P., Masson, G., Gulcher, J.R., Haraldsson, M., Fossdal, R., Thorgeirsson, T.E., Thorsteinsdottir, U., Ruggeri, M., Tosato, S., Franke, B., Strengman, E., Kremeney, L.A., *Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP)*, Melle, I., Djurovic, S., Abramova, L., Kaleda, V., Sanjuan, J., de Frutos, R., Bramon, E., Vassos, E., Fraser, G., Ettinger, U., Picchioni, M., Walker, N., Touloupoulou, T., Need, A.C., Ge, D., Yoon, J.L., Shianna, K.V., Freimer, N.B., Cantor, R.M., Murray, R., Kong, A., Golimbet, V., Carracedo, A., Arango, C., Costas, J., Jönsson, E.G., Terenius, L., Agartz, I., Petursson, H., Nöthen, M.M., Rietschel, M., Matthews, P.M., Muglia, P., Peltonen, L., St Clair, D., Goldstein, D.B.,

Stefansson, K., Collier, D.A.: *Common variants conferring risk of schizophrenia. Nature* 460(7256): 744–747 (2009)

Stone, T.W.: *Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. Pharmacol Rev* 45: 309–379 (1993)

Sullivan, P.F., Kendler, K.S., Neale, M.C.: *Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. Arch.Gen. Psychiatry* 60, 1187–1192. (2003)

Szkultecka-Dębek, M., Walczak, J., Augustyńska, J., Miernik, K., Stelmachowski, J., Pieniżek, I., Obrzut, G., Pogroszewska, A., Paulić, G., Damir, M., Antolić, S., Tavčar, R., Indrikson, A., Adamsoo, K., Jankovic, S., Pulay, A. J., Rimay, J., Varga, M., Sulkova, I., Veržun, P.: *Epidemiology and Treatment Guidelines of Negative Symptoms in Schizophrenia in Central and Eastern Europe: A Literature Review. Clinical Practice & Epidemiology in Mental Health*, 2015, 11, 158-165 (2015)

Tandon, R., Keshavan, M.S., Nasrallah, H.A.: *Schizophrenia, "just the facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. Schizophrenia Research* 102(1-3): 1-18. (2008)

Tandon, R., Nasrallah, H.A., Keshavan, M.S.: *Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. Schizophrenia Research* 110: 1–23(2009)

Tewes, U.: *HAWIE-R: Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, Revision 1991. Bern, Göttingen, Toronto, Seattle: Huber* (1994)

Torrey, E.F., Miller, J., Rawlings, R., Yolken, R.H.: *Seasonality of birth in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. Schizophr. Res.* 28, 1–38. (1997)

Tsuang, M.T., Bar, J.L., Stone, W.S., Faraone, S.V.: *Gene-environment interactions in mental disorders. World Psychiatry* 3,73–83. (2004)

Vieland, V.J., Walters, K.A., Lehner, T., Azaro, M., Kathleen Tobin, Ph.D.2, Huang, Y., Brzustowicz, L.M.: *Revisiting Schizophrenia Linkage Data in the NIMH Repository: Reanalysis of Regularized Data Across Multiple Studies. Am J Psychiatry*, 171(3): 350–359. doi:10.1176/appi.ajp.2013.11121766 (2014)

Weinberger, D.R.: *Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. Archives of General Psychiatry* 44, 660–669. (1987)

WHO <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs397/en/> Fact sheet N°397, Updated September - 2015 (2015)

WHO <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs397/en/> Fact sheet, Reviewed April 2016 (2016)

Widner, B., Leblhuber, F., Walli, J., Tilz, G.P., Demel, U., Fuchs, D.: Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. *J. Neural Transm.* 107, 343–353. (2000)

Wilke, I., Arolt, V., Rothermundt, M., Weitzsch, C., Hornberg, M., Kirchner, H.: Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 246: 279–284 (1996)

Wittchen, H.-U., Zaudig, M., Fydrich, T.: *SKID-I und SKID-II, Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*, Hogrefe Verlag (1997)

Wohl, M., Gorwood, P.: Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. *Eur. Psychiatry* 22, 22–26. (2007)

Wonodi, I., Stine, O.C., Sathyaikumar, K.V., Roberts, R.C., Mitchell, B.D., Hong, L.E., Kajii, Y., Thaker, G.K., Schwarcz, R.: Downregulated kynurenine 3-monooxygenase gene expression and enzyme activity in schizophrenia and genetic association with schizophrenia endophenotypes. *Arch Gen Psychiatry*; 68: 665–674. (2011)

Wray, N.R., Gottesman, I.I.: Using summary data from the danish national registers to estimate heritabilities for schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Front Genet.* 2012;3:118. (2012)

Yu, P., Li, Z., Zhang, L., Tagle, D.A., Cai, T.: Characterization of kynurenine aminotransferase III, a novel member of a phylogenetically conserved KAT family. *Gene* 365:111–118. (2006)

Zhong, L., Cherry, T., Bies, C.E., Florence, M.A., Gerges, N.Z.: Neurogranin enhances synaptic strength through its interaction with calmodulin. *EMBO J* 28(19):3027–3039 (2009)

Zmarowski, A., Wu, H.-Q., Brooks, J. M., Potter, M. C., Pellicciari, R., Schwarcz, R., Bruno, J. P.: Astrocyte-derived kynurenic acid modulates basal and evoked cortical acetylcholine release. *European Journal of Neuroscience*, 29, 529–538. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06594.x (2009)

Danksagungen

Der praktische Abschnitt der vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 2011 bis August 2011 in der Abteilung Molekulare und Klinische Neurobiologie der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität durchgeführt.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit zur Durchführung der vorliegenden Arbeit in seiner Abteilung danken.

Herrn Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller, dem ehemaligen Direktor, sowie Herrn Prof. Dr. med. Peter Falkai, dem jetzigen Direktor, danke ich, dass ich die vorliegende Arbeit an der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität durchführen durfte.

Des Weiteren geht mein spezieller Dank an Frau Privat Dozentin Dr. rer. humbiol. Ina Giegling und an Frau Dr. rer. humbiol. Annette Hartmann für ihre Betreuung während der gesamten Zeit, die Unterstützung und Hilfestellung bei Fragen sowie die Korrektur und die wertvollen Veränderungs- und Verbesserungsvorschläge zur Umsetzung dieser Arbeit.

Ganz herzlich möchte ich außerdem meiner Arbeitsgruppe danken, allen voran Frau Dr. rer. humbiol. Heike Konnerth, für die gute Betreuung während des praktischen Abschnitts dieser Arbeit und für die sehr freundliche und kollegiale Arbeitsatmosphäre, außerdem Frau Dr. rer. humbiol. Marion Friedl für die Hilfsbereitschaft bei Fragen bezüglich des Laborteils und Frau Dipl.-Bioinf. Bettina Konte für Hilfestellung bei Fragen zur statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Mein großer Dank geht auch an meinen Neffen, Daniel Xanthakos für das Korrekturlesen und natürlich vor allem an meinen Ehemann, Timon Nawrath für das Korrekturlesen, die geduldigen Erklärungen und seine fachliche und seelische Unterstützung.

Bedanken möchte ich mich auch von ganzem Herzen bei meinen Eltern, die mir durch ihre uneingeschränkte Unterstützung meine Ausbildung ermöglichten.

Eidesstattliche Versicherung

Nawrath, Julia

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Das CCBL2-Gen und seine Bedeutung für die Schizophrenie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Gröbenzell, 27.08.2019

Ort, Datum

Julia Nawrath

Unterschrift Doktorandin/Doktorand