

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

Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller

**Genetische Untersuchungen basierend auf immunologischen Befunden  
bei schizophrenen Patienten**

Dissertation

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

Vorgelegt von  
Holger Krönig

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. Norbert Müller

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Rheinhard Hohlfeld  
Prof. Dr. med. Ortrud. Steinlein

Promovierter Mitbetreuer: Dr. med. Markus J. Schwarz

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.2005

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>6</b>
<b>1.1</b>	<b>Das Krankheitsbild der Schizophrenie</b>	<b>6</b>
<b>1.2</b>	<b>Die Ätiologie der Schizophrenie</b>	<b>7</b>
1.2.1	Allgemeine Konzepte	7
1.2.1.1	Neurotransmitter	7
1.2.1.2	Neuropathologie	7
1.2.2	Genetik bei Schizophrenie	8
1.2.3	Äußere Einflußfaktoren bei Schizophrenie	10
<b>1.3</b>	<b>Schizophrenie und Immunologie</b>	<b>11</b>
1.3.1	Antikörper bei Schizophrenie	11
1.3.2	Aktivierungsmoleküle bei Schizophrenie	14
1.3.2.1	Zytokine bei Schizophrenie	14
1.3.2.2	Oberflächenmoleküle bei Schizophrenie	16
1.3.3	Hypothesen zur Rolle der Immunologie bei Schizophrenie	16
<b>1.4</b>	<b>Das Immunsystem</b>	<b>17</b>
1.4.1	Aufbau und Funktion des Immunsystems	17
1.4.2	Immunologische Parameter	20
1.4.2.1	Adhäsionsmoleküle	20
1.4.2.2	Zytokine	22
1.4.3	Immunsystem und Zentralnervensystem	25
<b>1.5</b>	<b>Fragestellung der vorliegenden Arbeit</b>	<b>26</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methode</b>	<b>27</b>
<b>2.1</b>	<b>Patienten und gesunde Kontrollgruppe</b>	<b>27</b>
2.1.1	Schizophrene Patienten	27
2.1.2	Neuropsychiatrisch gesunde Kontrollgruppe	28
2.1.3	Subgruppe für die Bestimmung von sICAM-1 im Serum	28
<b>2.2</b>	<b>Labor-Untersuchungen</b>	<b>28</b>
2.2.1	Serumproben	28
2.2.2	DNA-Isolierung	29
2.2.3	Polymerase Kettenreaktion	29
2.2.4	SNaPshot-Methode	29
2.2.4.1	ICAM-1	31
2.2.5	Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer Methode	31
2.2.5.1	TNF- $\alpha$	32

2.2.5.2	IL-2	32
2.2.5.3	IL-6	33
2.2.6	Bestimmung von sICAM-1	33
<b>3</b>	<b><i>Ergebnisse</i></b>	<b>34</b>
<b>3.1</b>	<b>Immungenetik</b>	<b>34</b>
3.1.1	Demographische Daten	34
3.1.2	ICAM-1 A241G Polymorphismus	34
3.1.3	ICAM-1 A469G Polymorphismus	35
3.1.4	G308A Polymorphismus bei TNF- $\alpha$	36
3.1.5	T330G Polymorphismus bei IL-2	38
3.1.6	G174A Polymorphismus bei IL-6	39
<b>3.2</b>	<b>sICAM-1 Konzentration im Serum</b>	<b>40</b>
<b>3.3</b>	<b>Zusammenhang zwischen Serumkonzentration von sICAM-1 und Polymorphismen im ICAM-1 Gen</b>	<b>41</b>
<b>4</b>	<b><i>Diskussion</i></b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Zusammenhang zwischen ICAM-1 Genotyp und sICAM-1</b>	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Möglicher Einfluss des IL-2 -330T-Allels auf die Schizophrenie</b>	<b>48</b>
<b>4.3</b>	<b>Keine Assoziation des IL-6-174G<math>\rightarrow</math>A Polymorphismus mit Schizophrenie</b>	<b>53</b>
<b>4.4</b>	<b>Keine Assoziation des G308A Polymorphismus des TNF-<math>\alpha</math> Gens mit der Schizophrenie</b>	<b>54</b>
<b>4.5</b>	<b>Mögliche Auswirkungen der Immungenetik auf die Immunpathophysiologie bei Schizophrenie</b>	<b>57</b>
<b>4.6</b>	<b>Methodische Einflussgrößen bei der Untersuchung von SNPs</b>	<b>59</b>
<b>4.7</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>59</b>
<b>5</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b><i>Literaturverzeichnis</i></b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b><i>Geräte und Materialien</i></b>	<b>84</b>
<b>7.1</b>	<b>Probenverarbeitung</b>	<b>84</b>
<b>7.2</b>	<b>Polymerase Ketten Reaktion</b>	<b>84</b>
<b>7.3</b>	<b>Sequenzierung</b>	<b>84</b>
<b>8</b>	<b><i>Abkürzungen</i></b>	<b>86</b>

<b>9</b>	<b><i>Danksagung</i></b>	<b>88</b>
<b>10</b>	<b><i>Curriculum vitae</i></b>	<b>89</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Das Krankheitsbild der Schizophrenie

Die schizophrenen Psychosen gehören zu der Gruppe der endogenen Psychosen. Wie bei den meisten psychiatrischen Erkrankungen handelt es sich um eine komplexe Erkrankung, da die Ätiologie der Erkrankung nicht durch eine genetische Störung alleine oder einen einzelnen genetischen Einflussfaktor erklärt werden kann. Bei dieser Erkrankung kommt es zum Auftreten charakteristischer, symptomatisch oft sehr vielgestaltiger psychopathologischer Querschnittsbilder, die in Positivsymptomatik mit Wahn, Halluzinationen, formalen Denkstörungen und Ich-Störungen, sowie in Negativsymptomatik mit Affektstörungen, sozialem Rückzug und Antriebsarmut unterteilt werden können. Zudem erfolgt je nach Vorherrschen bestimmter Symptome eine weitere Aufteilung in Subgruppen (Möller und Deister, 2000).

Die Prävalenz der schizophrenen Psychosen liegt bei 0,5 bis 1%, die jährliche Inzidenzrate bei 0,05%. Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens an Schizophrenie zu erkranken liegt bei etwa 1%. Frauen und Männer sind gleich häufig betroffen. Aufgrund des häufig chronischen Verlaufs, werden die direkten und indirekten Kosten, die allein in den USA entstehen, auf etwa 4,3 Milliarden US\$ geschätzt {Knapp, Chisholm, et al. 2002 2971 /id}.

Das durchschnittliche Prädilektionsalter für den Ausbruch der Erkrankung liegt bei Männern im Alter von 21 Jahren, bei Frauen etwa fünf Jahre später. Der Beginn der Erkrankung kann akut oder schleichend einsetzen. Nach der Erstmanifestation folgt ein sehr variabler Krankheitsverlauf, der von Phasen völliger Remission unterbrochen sein kann. In anderen Fällen verläuft die Schizophrenie aber auch chronisch, ohne Phasen deutlicher Remission, es kann aber auch zur vollständigen und bleibenden Remission kommen.

Aus der Vielgestaltigkeit der Symptomatik und des möglichen Verlaufs wird die Heterogenität der Erkrankung deutlich. Die Heterogenität wird vor allem durch die Unterteilung in Subgruppen, zum Beispiel in paranoide, hebephrene, katatone und undifferenzierte Schizophrenie, berücksichtigt.

## 1.2 Die Ätiologie der Schizophrenie

### 1.2.1 Allgemeine Konzepte

#### 1.2.1.1 Neurotransmitter

Die verschiedenen Hypothesen zu Entstehung und Ursache schizophrener Psychosen betreffen hauptsächlich das Neurotransmittersystem. Die 1964 von Carlsson formulierte Dopaminhypothese basiert auf den Beobachtungen, dass die neu entwickelten Neuroleptika die Dopaminrezeptoren vom Typ D2 blockierten. Die antipsychotische Wirkung entfaltet sich durch Blockade der D2-Rezeptoren im präfrontalen Kortex, in Arealen des limbischen Systems sowie im Nucleus accumbens, während die parkinsonähnlichen Nebenwirkungen durch Blockade der D2-Rezeptoren in den Basalganglien verursacht wurden. Die vermehrte Dopaminausschüttung ist mit einer Verstärkung der Positivsymptomatik bei schizophrenen Patienten verbunden (Abi-Dargham et al., 1998), so dass der Dopaminüberschuß zwar die Psychose, nicht aber die bei schizophrenen Patienten auftretende Negativsymptomatik erklärt. Durch die Theorie des mesolimbisch-mesokortikalen Ungleichgewichts wird als Ursache der Positivsymptomatik ein Überschuss dopaminerger Funktionen im mesolimbischen Bereich diskutiert, während die Negativsymptomatik durch ein dopaminerges Defizit im frontalen Kortex verursacht wird (Carlsson und Lindqvist, 1963).

Zunehmend wird auch eine Unterfunktion des glutamatergen Systems diskutiert. Vieles spricht allerdings dafür, dass die gestörte Neurotransmission die Folge eines anderen Primärdefektes ist (Mahadik und Mukherjee, 1996).

#### 1.2.1.2 Neuropathologie

Frühere histopathologische Untersuchungen von postmortalen Gehirnen von schizophrenen Patienten zeigten eine geringe Reduktion der neokortikalen grauen Hirnsubstanz, eine verminderte Neuronenzahl und Neuronengröße im Hippocampus und im Frontallappen (Benes, 2000) (Bogerts, 1999a) (Sanfilipo et al., 2000). Außerdem konnte eine veränderte Neuronenanordnung in den vertikalen und horizontalen Ordnungsprinzipien des Kortex beobachtet werden (Lamination), was als eine Migrationsstörung im Rahmen der Hirnentwicklung zum Beispiel während des zweiten und dritten Trimenons der Schwangerschaft interpretiert werden kann (Falkai et al., 2000). Zu diesem Befund passt auch der Nachweis einer deutlichen Reduktion Reelin-positiver Zellen im Hippocampus und Kortex, die das sekretorische Protein Reelin produzieren, welches für die normale Lamination des Gehirns verantwortlich ist (Impagnatiello et al., 1998). Die am häufigsten beschriebene

Veränderung ist eine Erweiterung der Seitenventrikel, die besonders bei Patienten mit ungünstigem klinischen Verlauf und schlechtem Ansprechen auf die neuroleptische Behandlung beobachtet wird (Falkai et al., 2000). Der ursächliche Ort für diese Ventrikelerweiterung konnte jedoch bisher noch nicht identifiziert werden (Hyde und Weinberger, 1990). Neuropsychologische Studien konnten eine niedrigere Durchblutung des frontalen Cortex und damit einen Hinweis auf ein funktionelles Defizit feststellen. Während man bei den frühen Studien davon ausgegangen ist, dass es sich um stabile morphologische Veränderungen handelt, zeigen neuere Untersuchungen, zumindest in einer Subgruppe der Schizophrenie, einen fortschreitenden Volumenverlust der grauen Hirnsubstanz (DeLisi et al., 1997). Diese Befunde stützen die Hypothese eines progredienten Entwicklungsdefizits des Gehirns als mögliche Ursache für das spätere Auftreten der Schizophrenie.

### 1.2.2 Genetik bei Schizophrenie

Eine genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie gilt durch genetische epidemiologische Studien als gesichert. Die Hauptansätze zur Identifizierung mutmaßlicher Gene basieren auf Kopplungsanalysen und Assoziationsstudien sowie Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien. Analysen von Studien über das erneute Auftreten der Erkrankung bei verschiedenen Verwandtschaftsgraden erlauben es, eine monogenetische Vererbung, also die Möglichkeit das die Erkrankung durch ein einziges dominant oder rezessiv vererbtes Gen weitergegeben wird, auszuschließen (Murray et al., 1985). Vielmehr erfolgt die Übertragung wie bei anderen Krankheiten, zum Beispiel Diabetes mellitus oder Koronare Herzkrankheit, komplex, indem viele Gene einen additiven Effekt auf die Krankheitsentstehung haben (McGue und Gottesman, 1989). Der häufigste Übertragungsmodus ist möglicherweise oligogen (20-30 Gene) oder polygen (über 100 Gene), bzw. eine Mischung aus beiden (McGuffin et al., 1995). Der Anteil der genetischen Komponente am Gesamtrisiko an Schizophrenie zu erkranken, die sogenannte Heritabilität, wird mit 80-85% angegeben (Jurewicz et al., 2001).

Zur Untersuchung des Einflusses von erblichen und Umweltfaktoren wurden Adoptions- und Zwillingsstudien durchgeführt (Vinogradov et al., 1991). Eine Analyse der Zwillingsstudien der Jahre 1920 bis 1987 zeigte, dass die Konkordanzrate für das Auftreten einer Schizophrenie unter monozygoten Zwillingen gegenüber der Normalbevölkerung lediglich bei 41 bis 65% liegt, bei dizygoten Zwillingen bei 9 bis 26% (Cardno und Gottesman, 2000). Dieses lässt auf einen wichtigen äußeren Einflussfaktor schließen, denn wenn die Schizophrenie vollständig genetisch bedingt wäre, müssten monozygote Zwillinge eine



Konkordanz von 100% aufweisen und dizygote Zwillinge würden eine halb so hohe Konkordanz zeigen.

In Kopplungsanalysen werden Familien mit zwei oder mehr an Schizophrenie erkrankten Mitgliedern untersucht, um die Kosegregation, d.h. die gemeinsame Übertragung von "Gen" und Störung in mehrfach belasteten Familien zu identifizieren. Sowohl das gesamte Genom als auch einzelne Chromosomenabschnitte sind bei Familien mit schizophrenen Erkrankungen untersucht worden. Hierbei werden Kandidatengene oder hochpolymorphe Marker, die in kurzen Abständen über das Genom verteilt sind, untersucht. Zur Zeit werden sieben Chromosomenabschnitte, 5q, 6p, 8p, 10p, 13q, 18p und 22q diskutiert, die möglicherweise Risikogene für schizophrene Erkrankungen enthalten. Eine der ersten genetischen Studien zeigte eine Kopplung eines definierten schizophrenen Phänotyps mit dem Chromosom 5q11-q13 in sieben Familien aus Großbritannien und Island (Bassett und Chow, 1999). Mehrere Studien konnten diesen Befund jedoch nicht replizieren (Tsuang, 2000). Erst Schwab et al. konnten 1997 erneut eine Kopplung bei deutschen und israelischen Familien feststellen, so dass das Chromosom 5 wieder als Kandidatengen für die Schizophrenie diskutiert wird (Schwab et al., 1997).

Bei der Assoziationsanalyse wird durch Vergleich einer Patienten- mit einer Kontrollstichprobe ein mit der Erkrankung assoziiertes genetisches Merkmal nachgewiesen. Aufgrund der oben beschriebenen neurochemischen Hypothesen der Schizophrenie wurden mittels der Assoziationsanalyse Kandidatengene untersucht, die im Zusammenhang mit den Neurotransmittersystemen von Dopamin und Serotonin stehen. Eine deutliche Verbindung zur Schizophrenie zeigten zum einen das gehäufte Auftreten des Ser→Gly-Polymorphismus in Position 9 des ersten Exons des für den Dopaminrezeptor D3 (DRD3) kodierenden Gens (Crocq et al., 1992), und zum anderen der T102C-Polymorphismus des HTR2A-Gens für den Serotoninrezeptor 2a (HTR2A) (Williams et al., 1998).

Assoziationsuntersuchungen sind besonders anfällig für falsch positive Befunde, wenn Patienten- und Kontrollgruppen aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen zusammengesetzt sind. Ein Nachteil der Fall-Kontrollstudien sind ethnische Unterschiede, die zu falsch positiven Befunden führen. Ein klarer Vorteil ist die Möglichkeit des Nachweises von Risikogenen mit geringerem Beitrag zur Krankheitsentstehung, also die deutlich höhere Sensitivität. Dieses begründet die Anwendung der Assoziationsstudien bei komplexen Erkrankungen, bei der die Kombination mehrerer Risikogene vermutet wird. Bei Kopplungsstudien ist hingegen die Wahrscheinlichkeit der Replikation eines falsch positiven

Befundes gering. Replikationen stellen daher ein entscheidendes Argument für die Validität eines Kopplungsbefundes dar.

Der endgültige Beweis für Suszeptibilitätsgene in einer Kandidatenregion erfordert allerdings den direkten Nachweis von pathogenen Mutationen, zum Beispiel von funktionellen Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP), bei denen ein einfacher Nukleotidaustausch auf DNA-Ebene zu einem Aminosäureaustausch auf Proteinebene führt.

### 1.2.3 Äußere Einflußfaktoren bei Schizophrenie

Mehrere epidemiologische Studien weisen darauf hin, dass Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt das relative Risiko um 1,5 bis 2,0 erhöhen, wobei aber eine weitere Spezifikation dieser Risikofaktoren nur unzureichend möglich ist (Pedersen und Mortensen, 2001a). Weiterhin wurde ein Zusammenhang mit dem Aufwachsen in der Stadt (Lewis et al., 1992) (Pedersen und Mortensen, 2001b), sowie das Aufwachsen mit älteren Geschwistern und in großen Haushalten auf kleinem Raum diskutiert (Yolken und Torrey, 1995). Interessant erscheint in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Pedersen et al., dass sich das Risiko wieder verringert, wenn die Familie innerhalb der ersten fünf Lebensjahre aus der Großstadt aufs Land zieht und umgekehrt sich bei Geburt in einer ländlichen Gegend das Risiko für Schizophrenie erhöht, wenn innerhalb der ersten Lebensjahre ein Umzug in eine Großstadt erfolgt (Pedersen und Mortensen, 2001a). Ein weiterer mehrfach replizierter Befund ist der von 5-8% höhere Anteil von in Winter-/Frühlingsmonaten Geborenen, der später an Schizophrenie erkrankten, sowohl auf der nördlichen als auch auf der südlichen Hemisphäre (Torrey et al., 1997). Sowohl Urbanizität als auch Saisonalität wurden als indirekte Hinweise auf eine prä- oder perinatale [Virus-]infektion diskutiert, was einen Risikofaktor für das spätere Auftreten einer Schizophrenie darstellt (Pedersen und Mortensen, 2001b). Zusätzlich weisen die Befunde von Pedersen et al. darauf hin, dass eine möglicherweise chronifizierte bzw. latente Virusinfektion bestehen könnte, da auch zu einem späteren Zeitpunkt noch eine Gefährdung für das Kind besteht. Hierzu passt die Beobachtung, dass eine Virusinfektion des ZNS in der Kindheit zu einem fünffach erhöhten Risiko später an Schizophrenie zu erkranken führt (Rantakallio et al., 1997).

Auch die bereits angeführte erniedrigte Konkordanzrate von weniger als 50% bei monozygoten Zwillingen könnte im Zusammenhang mit einer Virusinfektion während der Schwangerschaft stehen. Monozygote Zwillinge können sich eine Plazenta teilen (monochorion), beide können aber auch über eine eigene Plazenta (dichorion), mit eigener

Blutzirkulation, ernährt werden. Die Konkordanzraten für monochorione Zwillinge sind höher als bei dichorionen (Davis und Phelps, 1995). Diese Beobachtung führt zu der Schlussfolgerung, dass die höhere Inzidenz für monozygote Zwillinge die sich eine Plazenta teilen, an Schizophrenie zu erkranken, durch eine [Virus-]infektion der Plazenta hervorgerufen wird, über die das infektiöse Agens, zum Beispiel ein Virus, in den Blutkreislauf beider Zwillinge gelangt, und deren Entwicklung beeinflusst (Squires, 1997). Die beobachtete Diskordanz kann auch durch eine virusgetriggerte Autoimmunreaktion erklärt werden, da monozygote Zwillinge ein unterschiedliches T-Zell Repertoire aufweisen, und so ein Virus zwar beide Zwillinge gleichzeitig infizieren, aber die Immunantwort unterschiedlich ausfallen kann. Diese indirekten Hinweise, zusammen mit der Fähigkeit teratogener Viren eine pränatale Gehirnschädigung zu bewirken, stehen im Einklang mit direkten Hinweisen aus epidemiologischen Studien, die anhand von Grippe-Epidemien nach dem 1. Weltkrieg und aus dem Jahr 1957, den Zusammenhang zwischen Influenza der Schwangeren und Schizophrenie der Nachkommen, untersuchten (Menninger, 1919; Menninger, 1926; Menninger, 1928). Diese Studien führten zu unterschiedlichen Ergebnissen und werden kontrovers diskutiert. Experimentelle Befunde weisen auf einen Zusammenhang zwischen einer Influenza-Infektion und einer gestörten kortikalen Migration der Neurone hin. Dies könnte auf eine infektionsbedingte Verminderung der Reelinexpression zurückzuführen sein (Fatemi et al., 1999), die bereits im Rahmen der Neuropathologie angesprochen wurde.

### 1.3 Schizophrenie und Immunologie

#### 1.3.1 Antikörper bei Schizophrenie

Aufgrund der bereits beschriebenen Virushypothese waren Antikörper gegen neurotrophe Viren jahrelang Inhalt verschiedenster Studien (Kirch, 1993). Die meisten Studien fokussierten auf der Herpes Simplex-Familie, wobei einige Arbeitsgruppen erhöhte Titer in Serum und Liquor fanden (Bartova et al., 1987; Pelonero et al., 1990), andere hingegen diese Befunde nicht replizieren konnten (Rimon et al., 1978); (Torrey et al., 1978) (DeLisi et al., 1986). Die Gruppe von Ramchand et al. beobachtete erhöhte Serumkonzentrationen von Immunglobulin E (IgE), der typischen Antikörperklasse atopisch-allergischer Reaktionen, die insbesondere bei schizophrenen Patienten mit schlechtem Ansprechen auf Neuroleptika gesteigert waren (Ramchand et al., 1994). Deutlich erhöhte IgG-Konzentrationen im Liquor fanden sich vor allem bei Patienten mit ausgeprägter Negativsymptomatik (Müller und Ackenheil, 1995).

1937 erfolgte von Lehmann-Facijs die erste Publikation in der von anti-Hirn-Antikörpern berichtet wurde. Es folgte eine ganze Reihe von Publikationen, die hochaffine Antikörper gegen menschliches Hirngewebe, zum Beispiel im Hippocampus, im Septum, in der Amygdala und im frontalen Cortex beschrieben (Baron et al., 1977; Pandey et al., 1981) (Plioplys et al., 1987) (Sundin und Thelander, 1989). Ebenso wurden Antikörper gegen bestimmte Zellen im ZNS nachgewiesen (Kelly et al., 1987) (Jankovic et al., 2001). Auch hier konnten die meisten Befunde allerdings bisher nicht repliziert werden. Insgesamt sprechen zwar zahlreiche Befunde für eine verstärkte humorale Immunantwort bei schizophrenen Patienten, es stellt sich aber aufgrund der uneinheitlichen Antigenspezifität die Frage, ob die wiederholt als erhöht beschriebene Antikörperproduktion bei schizophrenen Patienten, nicht eher Ausdruck eines unspezifischen Autoimmunvorgangs ist. Zudem befindet sich die Suche nach Antikörpern noch im Stadium eines ersten Screenings, bei dem die möglichen pathophysiologischen Konsequenzen der Antigen-Antikörper Interaktion noch nicht untersucht wurden.

Die Antigen-Antikörper Interaktion könnte aber zum Beispiel für funktionelle Veränderungen im Gehirn einer Subgruppe von schizophrenen Patienten verantwortlich sein (Rothermundt et al., 2001). Diese Hypothese passt zu der Tatsache, dass bei schizophrenen Gehirnen normalerweise keine Glianarben oder andere große Defekte nachweisbar sind, sondern vielmehr eine Verminderung von Dendriten und Synapsen zu beobachten ist (Bogerts, 1999b).

### **Zellen bei Schizophrenie**

Bereits am Anfang des 20. Jahrhunderts beobachteten Bruce und Peebles erhöhte Leukozytenzahlen, vor allem während der akuten Phase der Erkrankung (Bruce und Peebles, 1903). Während Zorrilla et al. die Befunde replizieren konnte (Zorrilla et al., 1996), fanden Rothermundt et al. keine Leukozytose bei schizophrenen Patienten (Rothermundt et al., 1998).

Bei der Untersuchung der Lymphozytenzahl fanden sich widersprüchliche Ergebnisse, die bis heute nicht erklärt werden konnten, auch nicht durch Subtypisierung von Lymphozyten. Einige Studien beobachteten unveränderte, (Coffey et al., 1983; Rothermundt et al., 1998), andere erhöhte Lymphozytenzahlen (Masserini et al., 1990). B-Lymphozyten waren bei einigen Untersuchungen zumindest in einer Subgruppe erhöht (DeLisi et al., 1982) (McAllister et al., 1989b; Masserini et al., 1990; Printz et al., 1999), während andere Gruppen keine Unterschiede zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen feststellen konnten (Villemain et al., 1987; Ganguli et al., 1993) (Rothermundt et al., 1998). T-

Lymphozyten wurden als erniedrigt (DeLisi et al., 1982; Henneberg et al., 1993) (Muller et al., 1991a; Sperner-Unterweger et al., 1999), erhöht (Coffey et al., 1983) oder unverändert beschrieben (Villemain et al., 1987; Sasaki et al., 1994; Schattner et al., 1996) (Wilke et al., 1996; Rothermundt et al., 1998) (Printz et al., 1999).

Weitere Studien untersuchten Lymphozyten-Subpopulationen und fanden unter anderem eine Erhöhung der CD4-positiven T-Zellen (Muller et al., 1993a) und eine veränderte Ratio von Helfer-/Suppressorzellen (Muller et al., 1993a). Allerdings beschrieb Cazzullo gegenteilige Ergebnisse aus einer Studie, in der er schizophrene Patienten mit deren Verwandten und gesunden Kontrollpersonen verglich (Cazzullo et al., 1998). Cazzullo beschrieb zudem eine vermehrte Anzahl naiver T-Zellen ( $CD4^+/CD45RA^+$ ), bei erniedrigter Anzahl der T-Gedächtniszellen ( $CD4^+/CD45RA^-$ ). Während die Aktivität der Suppressor-T-Zellen vermindert ist (Muller et al., 1993b), existieren bezüglich der Anzahl der Suppressor-T-Zellen jedoch widersprüchliche Befunde, die sowohl eine erhöhte, als auch eine erniedrigte Zahl beschreiben (DeLisi et al., 1982; Achiron et al., 1994). Ebenfalls wurde sowohl ein erhöhtes, als auch erniedrigtes  $CD4^+/CD8^+$ -Verhältnis bei schizophrenen Patienten beschrieben (Muller et al., 1993b; Cazzullo et al., 1998). Bei der Untersuchung der Expression von Adhäsionsmolekülen auf T-Lymphozyten mit Bestimmung des ICAM-1-Liganden LFA-1 (CD11a) auf T-Helferzellen ( $CD4^+$  T-Zellen) und zytotoxischen T-Lymphozyten ( $CD8^+$  Zellen) wurde kein Unterschied zwischen Patienten und Kontrollpersonen bezüglich der Anteile LFA-1-positiver CD4- und CD8-Zellen festgestellt, doch zeigten Patienten mit einer Beeinträchtigung der Blut-Hirn-Schranke einen deutlich höheren Anteil an LFA-1-positiven CD4-Zellen, als die Patienten ohne Schrankenstörung (Müller et al., 1999). Besonders die Subgruppe der CD5-positiven B-Lymphozyten wird mit Autoimmunität in Verbindung gebracht, da diese fähig sind Autoantikörper zu bilden. Unabhängig von der Neuroleptika-Medikation wurde eine Vermehrung dieser Zellen beobachtet (McAllister et al., 1989a), die jedoch von Villemain et al. nicht bestätigt werden konnte (Villemain et al., 1989).

Die Auszählung absoluter oder relativer Lymphozytenzahlen im Patientenblut hilft offensichtlich nicht, die Immunpathogenese zu erklären. Zudem können Infektionen die nicht das ZNS betreffen, sowie Stress und Medikamenteneinnahme die Zahl und Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen verändern. Die Fokussierung auf das funktionale Leistungsvermögen, und das Ausmaß der Aktivierung von spezifischen Untersystemen, scheint erfolgsversprechender zu sein.

Veränderungen im Liquor hingegen weisen auf eine anhaltende Pathologie im ZNS hin, und könnten unspezifische Zeichen einer ZNS-Infektion darstellen. Interessant erscheint in diesem Zusammenhang auch die Beobachtung, dass Monozyten sowohl im Blut als auch im Liquor schizophrener Patienten erhöht waren (Nikkila et al., 1999). Die morphologische Analyse ergab ein breites Spektrum aller Entwicklungsstadien. Das gelegentliche Auftreten von Rosetten, Aggregate aus Lymphozyten und Makrophagen lässt auf eine erhöhte Adhäsionsfähigkeit schließen, ein Befund, der gut zum aktivierten Zustand der Zellen passt. Wenn in diesem Zusammenhang die Makrophagen als antigenpräsentierende Zellen fungieren, könnte die interzelluläre Bindung eine funktionelle immunstimulierende Interaktion darstellen (Santambrogio et al., 1993; Carson et al., 1999). Die Monozyten/Makrophagen könnten sowohl aus dem Knochenmark stammen, als auch mobilisierte Mikrogliazellen repräsentieren (Gehrmann et al., 1995). Die Makrophagendominanz im ZNS könnte einen fortschreitenden Neurodegenerativen Prozess andeuten, der insbesondere im Hinblick auf den Verlust an Hirnsubstanz ohne Gliose interessant erscheint.

### 1.3.2 Aktivierungsmoleküle bei Schizophrenie

#### 1.3.2.1 Zytokine bei Schizophrenie

Die Funktion der T-Zellen, als bedeutender Anteil des spezifischen Immunsystems, ist in den letzten Jahren in den Mittelpunkt immunologischer Untersuchungen gerückt. Zytokine repräsentieren eine Klasse von Signalproteinen, die von immunkompetenten Zellen produziert werden, und eine wichtige Funktion bei der Immunregulation einnehmen. Die immunspsychiatrische Forschung konzentriert sich auf die Messung von Zytokinen in vivo, im Liquor und auf die in-vitro-Produktion.

Zytokine spielen eine wichtige Rolle in der Differenzierung und Reifung des Gehirns, sowie in der Modulation neurochemischer Übertragungsmechanismen, wie zum Beispiel im katecholaminergen, dopaminergen, serotonergen und glutamatergen Neurotransmittersystem (Shuto et al., 1997; Kamata et al., 2000).

Die Beobachtung neuropsychiatrischer Symptome mit Beeinträchtigung von Affekt, Kognition, Verhalten und Orientierung nach i.v.-Verabreichung von IFN- oder IL-2 bei Patienten mit malignen Erkrankungen, gab erste Hinweise auf eine Beeinflussung des psychischen Zustandes durch Zytokine (Adams et al., 1984). IL-2 und IFN- $\gamma$  spielen eine entscheidende Rolle in der Aktivierung des zellulären Immunsystems. Interleukin-2 beeinflusst dosisabhängig die Freisetzung von Dopamin. Es wurde eine erhöhte

Dopaminausschüttung bei geringen IL-2-Konzentrationen und eine verminderte Freisetzung bei hohen Konzentrationen des Interleukins gemessen (Petitto et al., 1997). Eine signifikant erniedrigte IL-2 Produktion von peripheren Lymphozyten ist einer der am häufigsten replizierten immunologischen Befunde bei Schizophrenie, der mit dem akuten Krankheitsstadium und später auftretender Erstmanifestation der Krankheit assoziiert wird (Ganguli et al., 1989) (Ganguli et al., 1992) (Nimgaonkar et al., 1995) (Ganguli et al., 1994). Neuere Studien konnten zwar die erniedrigte IL-2 Produktion in vitro bestätigen, fanden aber keinen Zusammenhang zur Psychopathologie (Arolt et al., 2000). Die Messung der Serumkonzentrationen ergab unveränderte Konzentrationen (Becker et al., 1990). Bezüglich der IL-2 Spiegel im Liquor gibt es einige Kontroversen. So wurden erhöhte (Licinio et al., 1993) (McAllister et al., 1995) oder unveränderte IL-2 Liquorspiegel gemessen (Rapaport et al., 1997) (Barak et al., 1995) (Mittleman et al., 1997). Wiederholt wurden erhöhte Serumspiegel des löslichen IL-2-Rezeptors, der das Ausmaß der T-Helferzellen Aktivierung anzeigt, bei schizophrenen Patienten beschrieben (Ganguli und Rabin, 1989; Rapaport und Lohr, 1994; Rapaport et al., 1994). Allerdings führt sowohl Rauchen (Pollmächer et al., 1997), als auch eine antipsychotische Therapie mit atypischen Neuroleptika wie Clozapin oder Risperidon zu einer Erhöhung der sIL-2R-Konzentrationen (Pollmacher et al., 1995; Maes et al., 1996)(Maes et al., 1996; Müller et al., 1997).

Ganguli war einer der Ersten, die signifikant erhöhte Serumkonzentrationen von IL-6 bei schizophrenen Patienten gegenüber gesunden Vergleichspersonen beschrieb (Ganguli et al., 1994). Innerhalb der Patientengruppe korrelierten die IL-6-Konzentrationen mit der Erkrankungsdauer, ein Befund, der repliziert werden konnte (Akiyama, 1999; Kim et al., 2000). Kim beschrieb zudem einen Zusammenhang zwischen Serum-IL-6 und verstärkter Negativsymptomatik (Kim et al., 2000). Erhöhte Serum-IL-6-Konzentrationen bei schizophrenen Patienten wurden außerdem von verschiedenen anderen Gruppen bestätigt (Naudin et al., 1996; Frommberger et al., 1997; Lin et al., 1998; Maes et al., 2000). Einige Gruppen beschrieben darüber hinaus eine deutliche Reduktion der IL-6-Konzentrationen nach Remission der Symptomatik (Maes et al., 1995; Naudin et al., 1996; Frommberger et al., 1997). Nur wenige Studien konnten die erhöhten IL-6-Werte bei schizophrenen Patienten nicht replizieren (Baker et al., 1996; Monteleone et al., 1997). Pollmächer und Kollegen wiesen darauf hin, dass die Konzentration von IL-6 im Serum wichtigen Einflussfaktoren wie Rauchen, Geschlecht, Alter, Körpergewicht (body mass index), Infektionen, sowie der Behandlung mit Clozapin unterliegt (Haack et al., 1999). Die induzierende Wirkung der Therapie mit Clozapin auf IL-6 wurde auch von Maes et al. beschrieben (Maes et al., 1997).

In-vitro Versuche ergaben hauptsächlich erhöhte Konzentrationen von IL-10 und IL-3, während die IFN- $\gamma$  Produktion in den meisten Studien erniedrigt war. Im Liquor war IFN- $\gamma$  erniedrigt, IL-4 erhöht (Schwarz et al., 2001a).

	<b>Th-1</b>	<b>Th-2</b>
<b>in-vitro</b>	IFN- $\gamma$ ↓↓ IL-2 ↓↓	IL-10 ↑ IL-3 ↑
<b>in-vivo</b>	IFN- $\gamma$ ↔ IL-2 ↔ sIL-2R ↑↑ sICAM-1 ↓	IgE ↑↑ Antikörper gegen diverse Antigene ↑↑ IL-6 ↑↑
<b>Liquor</b>	IL-2 ↑↓ IFN- $\gamma$ ↓ sICAM-1 ↓	IgG ↑ IL-4 ↑ TGF- $\beta$ 1 ↔ TGF- $\beta$ 2 ↔

**Tab.2:** Th1/Th2 Parameter bei Schizophrenie

↑↑ oder ↓↓ bedeutet, dass die replizierten Daten für eine Erhöhung bzw. Erniedrigung des jeweiligen Parameters sprechen; ↑ oder ↓ bedeutet Einzelbefunde, oder selten replizierte Befunde; ↔ steht für keine Änderung; ↑↓ bedeutet widersprüchliche Daten

### 1.3.2.2 Oberflächenmoleküle bei Schizophrenie

Untersuchungen ergaben erniedrigte sICAM-1 Konzentrationen bei schizophrenen Patienten. (Schwarz et al., 2000) Dieser Befund könnte auf eine verringerte zelluläre Immunität hinweisen. Bei antipsychotischer Therapie stiegen die sICAM-1 Konzentrationen wieder an, die zelluläre Immunität normalisierte sich wieder (Schwarz et al., 2000).

Bei Patienten mit Negativsymptomatik wurden höhere sICAM-Werte ermittelt und diese mit schlechtem Therapieansprechen assoziiert (McAllister et al., 1989a; Ramchand et al., 1994).

### 1.3.3 Hypothesen zur Rolle der Immunologie bei Schizophrenie

In drei unterschiedlichen Hypothesen zur Rolle des Immunsystems bei Schizophrenie wurde bislang versucht, die immunologischen Befunde zusammenzufassen. Die "Dopamin-Rezeptor-stimulierende Antikörper-Hypothese" von J.G.Knight postuliert Dopamin-Rezeptor-stimulierende Autoantikörper in Verbindung mit dem Auftreten einer medikamentös therapierbaren Positivsymptomatik. Alternativ könnte die Positivsymptomatik möglicherweise auch durch Antikörper bedingt sein, welche präsynaptische Autorezeptoren blockieren und so zu einer unangemessenen Freisetzung von Dopamin führen. Die



therapieresistente Negativsymptomatik könnte eine autoimmunologisch bedingte enzephalitis-ähnliche Erkrankung sein, die, eventuell virusgetriggert, zu einer Destruktion von dopaminergen Regionen führt (Knight, 1982). Diese Hypothese konnte allerdings nicht bestätigt werden. Eine andere Hypothese von R.S. Smith befasst sich mit der Interaktion von T-Lymphozyten und Makrophagen (Smith, 1992). Die Hypothese postuliert eine T-Lymphozyten Aktivierung in Verbindung mit dem Prodromalstadium der Schizophrenie, die jedoch unter der Kontrolle von Makrophagen steht. In der akuten Phase der Schizophrenie entfällt diese Kontrolle durch eine ungeklärte Störung auf Makrophagenebene. Die fehlende Suppression und Kontrolle der T-Lymphozyten führt nun zur exzessiven Ausschüttung von IL-2, IL-2R und IFN- $\gamma$ . Die stark erhöhten Konzentrationen von IL-2 und IL-2R bewirken dann wie bereits oben beschrieben, durch verminderte Dopaminfreisetzung die Positivsymptomatik. Die dritte Hypothese von Markus Schwarz wurde durch Vergleich der wichtigsten immunologischen Daten aus der Schizophrenieforschung abgeleitet. Die "Th2-Hypothese" postuliert einen Shift zur Th-2 dominierten Immunantwort (siehe Tab.1) in einer Subgruppe von schizophrenen Patienten. Diese Subgruppe ist zudem durch eine ausgeprägte Negativsymptomatik und ein schlechtes Therapieansprechen charakterisiert (Schwarz et al., 2001b).

## 1.4 Das Immunsystem

### 1.4.1 Aufbau und Funktion des Immunsystems

Die immunologischen Abwehrreaktionen des menschlichen Körpers werden in spezifische und unspezifische Reaktionen eingeteilt. Die primäre Abwehr erfolgt über das unspezifische Immunsystem, an dem sowohl zelluläre, als auch humorale Komponenten beteiligt sind. Physiko-chemische Eigenschaften der Haut, der Schleimhäute und des Blutes, sowie das Komplementsystem repräsentieren die humorale Immunantwort. Direkt durch Zellen vermittelte Abwehr, zum Beispiel durch phagozytierende Granulozyten und das mononukleäre, phagozytotische System, also Monozyten und Makrophagen, stellt die unspezifische zelluläre Immunantwort dar.

Die spezifische Immunantwort setzt ein genaues Erkennen von körperfremden Substanzen voraus und ist spezifisch gegen sie gerichtet. Die Sekretion von Antikörpern durch B-Lymphozyten ist wesentlichster Bestandteil des spezifischen Teils der humoralen Abwehr, die zelluläre Antwort erfolgt vorwiegend durch T-Lymphozyten mit zytotoxischen Eigenschaften (Tabelle 1). Alle zellulären Elemente des Immunsystems entwickeln sich aus gemeinsamen, hämatopoetischen, pluripotenten, sich selbst erneuernden Stammzellen des Knochenmarks.

<b>Immun- antwort</b>	<b>unspezifisch</b>	<b>spezifisch</b>
<b>humoral</b>	Komplementsystem Interferon	B-Lymphozyten Immunglobuline
<b>zellulär</b>	Granulozyten Makrophagen natürliche Killerzellen	T-Lymphozyten (Zytotoxische, Helfer- und "Supressor"-Zellen)

**Tab.2:** schematischer Aufbau des Immunsystems

Die Differenzierung und Reifung der Lymphozyten erfolgt antigenunabhängig, und zwar reifen die T-Lymphozyten im Thymus und die B-Lymphozyten in der Bursa Fabricii bzw. deren Äquivalent. In den sekundär-lymphatischen Organen - Milz, Lymphknoten und diffuses Lymphgewebe- kommt es zum Kontakt zwischen Antigen und Lymphozyten und damit zur antigenspezifischen Lymphozyten-Stimulation und Differenzierung. Alle Lymphozyten besitzen spezifische Rezeptoren an ihrer Oberfläche, um die Antigene zu erkennen. T-Zellen entwickeln sich im Thymus in mehreren Phasen in denen es zur Modifizierung ihrer T-Zell Rezeptoren kommt und die Selektion erfolgt. Unreife T-Zellen, deren Rezeptoren eigene Antigene erkennen, werden eliminiert. Dieses gewährt die Selbsttoleranz und wird als negative Selektion bezeichnet. Im Rahmen der positiven Selektion werden die T-Zellen entfernt, die nicht auf eigene MHC-Moleküle ansprechen, denn T-Lymphozyten müssen in der Lage sein eigene MHC-Rezeptoren zu erkennen, auf denen Fremd-Antigene präsentiert werden. So kann das Immunsystem zwischen eigen und fremd unterscheiden, und selbstrestringiert spezifisch auf fremde Antigene reagieren. Reife T-Lymphozyten lassen sich sowohl funktionell als auch phänotypisch unterscheiden: zytotoxische oder Suppressor-T-Lymphozyten, die über die Mechanismen der Perforin- und Granzymsekretion und Apoptose zur Abtötung der Zielzelle führen. Sie exprimieren das Oberflächenmolekül bzw. den Differenzierungsmarker CD 8 und erkennen den Komplex aus HLA-Klasse-I-Molekül und Peptid.

T-Helferzellen sind charakterisiert durch das Oberflächenmolekül CD 4 und erkennen ihr spezifisches, antigenes Peptid in Assoziation mit HLA-Klasse-II-Molekülen. Ihre Aufgabe besteht in der Produktion bestimmter Zytokine und Hilfe für die B-Lymphozyten (Förderung

von Wachstum und Differenzierung, sowie Induzierung der Antikörpersekretion). Je nach Muster der sezernierten Zytokine unterscheidet man TH1-artige (Produktion von IL-2 und IFN- $\gamma$ ), TH2-artige (IL-4, IL-5 und IL-10) und TH0-artige (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 und IFN- $\gamma$ ) T-Helferzellen.

B-Lymphozyten internalisieren die an ihre Oberflächenrezeptoren gebundenen Antigene und produzieren dann spezifisch gegen diese gerichtete Antikörper. Die meisten B-Zellen des Menschen exprimieren im peripheren Blut zwei Immunglobulinisotypen auf ihrer Oberfläche, das IgM und IgD. Primär werden die IgM-Antikörper gebildet, die Antigen-Antikörper-Komplexe bilden und die Elimination des so gebundenen Antigens erleichtern. Die in der Sekundärantwort gebildeten Antikörper weisen eine höhere durchschnittliche Affinität als die primär gebildeten IgM-Antikörper auf. Dies geht mit einer Umschaltung von IgM auf IgG einher, da bei der IgM-Antwort keine Reifung der Affinität stattfindet. Die Infektionsabwehr erfolgt über drei Wege: Indem Antikörper an Pathogene binden, können sie eine Adhäsion und Infektion oder toxische Effekte verhindern. Dies wird als Neutralisierung bezeichnet. Opsonierung bedeutet das Einhüllen des Pathogens mit Antikörpern und die Induktion von Phagozytose über deren Fc-Fragmente. Der dritte Weg ist die Aktivierung des Komplementsystems, das die Opsonierung verstärkt und zur Bakteriolyse führt. Ist die akute Auseinandersetzung mit dem Pathogen vorüber, werden einige B-Lymphozyten zu Gedächtniszellen, die bei erneutem Kontakt mit demselben Antigen innerhalb kürzester Zeit die entsprechenden IgG-Antikörper ausschütten können. Weitere Ig-Isotypen sind IgA für die Abwehr auf Schleimhäuten, IgE zur Sensibilisierung von Mastzellen und IgD, das auf reifen naiven B-Zellen mit IgM koexprimiert wird.

Die B-Zell Differenzierung, der Switch von einem Ig-Isotyp zum anderen und das Entstehen von B-Gedächtniszellen erfolgt über selektive Aktivierung und Zytokinabgabe von T-Zellen.

Die Stammzellen aus dem Knochenmark sind auch Vorläuferzellen des mononukleär phagozytierenden Systems. Monozyten/Makrophagen lagern sich an den Mikroorganismus an und verdauen ihn, wenn er an spezielle Rezeptoren der Zelle gebunden ist. Diese verschiedenen Rezeptoren haben wahrscheinlich verschiedene Funktionen, wie die extrazelluläre Abtötung, Opsonierung und Phagozytose. Andere Moleküle wie CR3 (CD11b, MAC-1), die für die Adhäsion verantwortlich sind, erscheinen vor allem auf aktivierten Makrophagen. Dort treten sie zusammen mit den "leucocyte function antigens" LFA-1 (CD11c) auf. Sowohl MAC-1 als auch LFA-1 finden sich in intrazytoplasmatischen Vesikeln der Makrophagen und werden nach Aktivierung rasch exprimiert. Zusätzlich tragen Makrophagen und Monozyten auch Rezeptoren für Zytokine wie IL-2, IFN- $\gamma$  und den

Migrationshemmfaktor (MIF). Makrophagen benötigen für ihre Aktivierung mindestens zwei Signale. Eines dieser Signale stellt  $\text{INF-}\gamma$  dar, das andere Signal, ein CD40-Ligand auf der Th-1-Zelle, der mit der CD40-Bindungsstelle auf dem Makrophagen kontaktiert, wird benötigt, um die Makrophagen gegenüber  $\text{INF-}\gamma$  zu sensibilisieren. Th-2 Zellen hingegen können Makrophagen nicht aktivieren, da diese IL-10 produzieren, ein Zytokin welches Makrophagen inaktiviert.

Die Funktion der Mikroglia, die die residente Makrophagenpopulation des Gehirns darstellt, wird im Kapitel 1.4.3 beschrieben.

## 1.4.2 Immunologische Parameter

### 1.4.2.1 Adhäsionsmoleküle

Das Gehirn wird durch die Blut-Hirn-Schranke (BHS), eine funktionelle und physikalische Barriere, vom peripheren Immunsystem getrennt. Die BHS besteht aus einem Netzwerk von Endothelzellen, das außen von einer mit Perizyten assoziierten Basalmembran umgeben ist. Die dem Gefäßlumen zugewandte Oberfläche ist von einem Netzwerk bedeckt, das aus den Füßchenfortsätzen von Typ-I-Astrozyten besteht. Diese spezialisierten Gliazellen induzieren in den Epithelzellen die Ausbildung von Tight Junctions. Diese komplexen Strukturen gewährleisten den Durchtritt von Wasser und Lipiden und schließen gleichzeitig den Übertritt großer Moleküle aus dem Blut aus. Die Passage der BHS durch aktivierte Lymphozyten ist entscheidend für die Etablierung inflammatorischer Prozesse im ZNS. Wesentlich für die Adhäsion an und Passage von Lymphozyten durch die BHS ist die Interaktion zwischen lymphozytären Oberflächenproteinen und Adhäsionsmolekülen, die auf Endothelzellen der Hirnzellkapillaren exprimiert werden. In einem ersten Schritt adhären Lymphozyten an Proteine der Selektinfamilie (z.B. E-, L- oder P-Selektin), um anschließend eine höher affine integrinvermittelte Bindung mit Adhäsionsmolekülen der Immunglobulin(Ig)-Superfamilie wie ICAM-1 (CD54) oder VCAM (vascular cell adhesion molecule, CD106) einzugehen (Springer, 1994). Die Expression dieser Adhäsionsmoleküle auf den Endothelien wird durch proinflammatorische Zytokine wie  $\text{TNF-}\alpha$  oder  $\text{INF-}\gamma$  stark erhöht (McCarron et al., 1993), wohingegen antiinflammatorische Zytokine wie IL-4 die Expression von endothelialen Adhäsionsmolekülen reduzieren (Kotowicz et al., 2000). Im ZNS befindet sich ICAM-1 auf Neuronen, Astrozyten und Mikrogliazellen (Hery et al., 1995). Um aus der Blutbahn ins Hirngewebe einzuwandern, müssen T-Lymphozyten aktiviert werden (Hickey, 1991). Beim Vorliegen von Schrankenstörungen hingegen ist der Aktivierungszustand der eingewanderten Lymphozyten jedoch nicht maßgebend (Trotter et al., 1985). Die Aktivierung von T-

Lymphozyten setzt mindestens zwei unterschiedliche Signale voraus. Neben der Antigenpräsentation durch die MHC-Moleküle auf Makrophagen oder B-Lymphozyten benötigt die T-Zelle ein zweites Aktivierungssignal von der Zelloberfläche, zum Beispiel ICAM-1 (Lamphear et al., 1998). Die Lymphozytenaktivierung erhöht deren Mobilität und induziert eine vermehrte Expression von verschiedenen Oberflächenrezeptoren, einschließlich Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1, die bei der transendothelialen Migration mitwirken (Greenwood et al., 1995; Lidington et al., 1998).

Das Adhäsionsmolekül ICAM-1 ist ein Mitglied der Immunglobulin-Superfamilie und ein transmembranales Glykoprotein mit fünf immunglobulin-ähnlichen extrazellulären Domänen. ICAM-1 hat zwei verschiedene Liganden, das auf Lymphozyten exprimierte Integrin LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1, CD11a/CD18) und das auf Monozyten und Makrophagen exprimierte Integrin MAC-1 (Macrophage-1 antigene, CD11b/CD18) (Hogg und Leitinger, 2001).

Neben der zellgebundenen existiert auch eine lösliche Form des ICAM-1, die durch proteolytische Lösung von der Zellmembran entsteht (van de Stolpe und van der Saag, 1996). Lösliches ICAM-1 (sICAM-1) wird als Marker für die entzündliche Beeinträchtigung der Bluthirnschranke (BHS) diskutiert, da es offensichtlich eine Differenzierung zwischen immunologisch bedingter Schädigung und anderen Gründen für eine BHS-Beeinträchtigung ermöglicht. (Rieckmann et al., 1993; Ben-Shachar D. et al., 1994).

Die kodierende Region für ICAM-1 befindet sich auf Chromosom 19p13.1-13.2. Das menschliche ICAM-1 Gen besteht aus sieben Exons, welche durch sechs Introns getrennt werden. Jede der fünf immunglobulin-ähnlichen Domänen des ICAM-1 wird durch ein unterschiedliches Exon kodiert (Voraberger et al., 1991). Das ICAM-1-Protein besteht aus 505 Aminosäuren. Die immunglobulin-ähnlichen Domänen werden von 453 vorwiegend hydrophoben Aminosäuren gebildet, gefolgt von einem ebenfalls hydrophoben transmembranalen und einem geladenen zytoplasmatischen Teil (Staunton et al., 1988). Wie oben beschrieben existieren auf diversen Zellen zwei Liganden für ICAM-1: das LFA-1 und MAC-1. Die Bindungsstelle für LFA-1 liegt in der fünften IG-Domäne, während die dritte IG-Domäne die MAC-1-Bindungsstelle darstellt (Vora et al., 1994). Die beiden am häufigsten untersuchten Single-Nukleotid-Polymorphismen (SNP) des ICAM-1-Gens liegen in diesen beiden Domänen: Der G→A Polymorphismus auf Position 241 im vierten Exon, das für die MAC-1-Bindungsstelle kodiert (Vora et al., 1994) und der A→G Polymorphismus auf Position 469 in Exon 6, das für die LFA-1-Bindungsstelle kodiert (Joling et al., 1994). Beide Polymorphismen führen zu einem Aminosäureaustausch in der Proteinsequenz des ICAM-1

(Glycin [GGG] zu Arginin [AGG] auf Position 241 und Lysin [AAG] zu Glutamat [GAG] auf Position 469) (Vora et al., 1994).

Deutliche Unterschiede bezüglich der Genotypverteilung und Allelfrequenz der beiden Polymorphismen wurden in diversen immunvermittelten Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis (RA) (Macchioni et al., 2000), Morbus Behcet (Boiardi et al., 2001), Multiple Sklerose (Mycko et al., 1998), oder Insulin-abhängiger Diabetes mellitus (Nishimura et al., 2000) beschrieben.

#### 1.4.2.2 Zytokine

Zu den Zytokinen werden die vorwiegend von Leukozyten produzierten Interleukine und die hämatopoetischen Wachstumsfaktoren gerechnet, sowie als Subgruppe der Zytokine die vorwiegend von Lymphozyten sezernierten Lymphokine, die Interferone und die von Makrophagen produzierten Monokine. Zytokine stellen chemische Botenstoffe zwischen Immunzellen dar.

Veränderte Konzentrationen von Interleukinen und Interferonen weisen auf ein infektiologisches oder immunologisches Geschehen hin. Der Schwerpunkt der immunologisch-psychiatrischen Forschung beruht auf der Messung von Zytokinen im Blut und Liquor schizophrener Patienten, sowie im Zellkulturüberstand nach in-vitro-Stimulation von Lymphozyten, da die Messung der Zytokine oder ihrer weitaus stabileren löslichen Rezeptorkomponenten Aufschluss über die aktuelle Immunsituation des Organismus gibt (Bienvenu et al., 2000). Im folgenden sind einige wichtige Zytokine beschrieben, die in der psychiatrischen Forschung große Beachtung finden.

#### **Typ-1 Zytokine und ihre genetische Lokalisation**

##### **IL-2:**

Interleukin-2 wird hauptsächlich von Th-1 Zellen produziert und ist auch als T-Zell-Wachstumsfaktor bekannt. Der IL-2-Rezeptor besteht aus drei Untereinheiten,  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -, wobei die  $\alpha$ -Untereinheit spezifisch für IL-2 ist. Die Bindung von IL-2 an seinen IL-2R auf T-Zellen führt zu einer Zellproliferation und zur verstärkten MHC-II Expression (Feghali und Wright, 1997). IL-2 agiert als Wachstumsfaktor für T-Zellen, NK-Zellen und B-Zellen, und unterstützt die Entwicklung von Lymphokin-aktivierten Killerzellen (Arai et al., 1990; Cohen und Cohen, 1996). Es ist ein wichtiger Regulator sowohl der zellulären, als auch der humoralen chronisch entzündlichen Immunantwort (Feghali und Wright, 1997). Alle drei Rezeptoruntereinheiten wurden auf Hirngewebe des Menschen und von Nagern nachgewiesen (Petitto und Huang, 1994; Petitto und Huang, 1995; Petitto et al., 1998). Das für IL-2

kodierende Gen liegt auf Chromosom 4, in der Region 4q26. Ein häufig beschriebener Polymorphismus ist der T330G SNP in der IL-2 Promotorregion.

**IL-12:**

Interleukin-12 spielt eine wichtige Rolle während der frühen Phase der Immunreaktion und spielt eine entscheidende Rolle bei der Ausdifferenzierung der T-Helfer-Lymphozyten (Hsieh et al., 1993). Es wird hauptsächlich von Makrophagen, Monozyten und dendritischen Zellen produziert (D'Andrea et al., 1992; Macatonia et al., 1995). IL-12 besteht aus zwei Ketten, p35 und p40. Die gleichzeitige Expression beider Ketten von der selben Zelle bewirkt die Produktion von biologisch aktivem IL-12. (Tahara et al., 1996). Die wichtigste Funktion von Interleukin-12 in vivo ist die Induktion von IFN- von NK- und T-Zellen (Golab, 2000).

**TNF-:**

Tumornekrosefaktor- $\alpha$  wird vor allem von aktivierten Makrophagen freigesetzt. Es existieren zwei Rezeptoren, der TNF-R p55 und der TNF-R p75. Diese befinden sich sowohl membrangebunden als Signaltransduktoren, als auch in löslicher Form in der extrazellulären Flüssigkeit (Opal und DePalo, 2000). Während der TNF-R p55 den wichtigsten Rezeptor für das zirkulierende TNF- $\alpha$  darstellt, fungiert der TNF-R p75 als Rezeptor für das membrangebundene TNF- $\alpha$  (Grell, 1995). Der lösliche TNF-R p55 blockiert die TNF-Aktivität (Steinshamn et al., 1995). TNF- $\alpha$  spielt eine wichtige Rolle bei der Entzündung des ZNS, indem es die Expression von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen durch Unterstützung der Mikroglia-Aktivierung und Demyelinisierung induziert (Aloisi et al., 2000).

Die kodierende Region für TNF- $\alpha$  liegt bei 6p21.-21.3.. Für den G308A Polymorphismus wird ein direkter Effekt auf den TNF- $\alpha$  Plasmaspiegel beschrieben. Einige Autoren fanden eine erhöhte Transkription, verbunden mit einer erhöhten TNF- $\alpha$  Produktion, bei Vorliegen des TNF2-Allels, andere allerdings unveränderte Plasmaspiegel (Tarkowski et al., 2000).

**Th-2 Zytokine und ihre genetische Lokalisation****IL-4:**

Interleukin-4 wird größtenteils von Th-2 Zellen und Mastzellen produziert (Seder et al., 1991). Der klassische IL-4R wird hauptsächlich auf hämatopoetischen Zellen exprimiert, und besteht aus der gemeinsamen IL-4R- und --Kette. Die alternative Form von IL-4R wird hauptsächlich auf nicht hämatopoetischen Zellen exprimiert und schließt die IL-4R- und IL-

13R-Kette ein. Die Signalübertragung von IL-4 erfolgt durch die alternative Form (McKenzie et al., 1998). IL-4 stimuliert Wachstum und Differenzierung von B-Zellen, induziert v.a. die Antikörper IgG1 und IgE, fördert die Bildung von TH-2-Zellen und supprimiert die Bildung der TH-1-Zellen. Dabei erfolgt die Aktivierung der TH-2-Zellen durch Kostimulation von MHC-II-Antigen und IL-4 aus Mastzellen, Basophilen und Eosinophilen.

**IL-6:**

Interleukin-6 wird vor allem von Monozyten und Makrophagen produziert (Schibler et al., 1992). IL-6 unterstützt die Differenzierung von proliferierenden B-Zellen zu Plasmazellen und stimuliert deren Antikörpersekretion (Barton, 1997); (Cerutti et al., 1998). Im ZNS wirkt IL-6 auf Gliazellen, unterstützt die Differenzierung von Neuronen und reguliert das Fieber (Gadient und Otten, 1997a).

Das C-Allel des G174C-SNP in der Promoterregion des Chromosoms 7 (7p21) ist mit erniedrigten IL-6-Plasmaspiegeln assoziiert (Fishman et al., 1998).

**IL-10:**

IL-10 wurde ursprünglich bei tierexperimentellen Studien als ein Produkt von Th-2 Zellen entdeckt (Fiorentino et al., 1991) und als „Zytokin-Synthese inhibierender Faktor“ bezeichnet. Beim Menschen wird IL-10 zudem von CD4<sup>+</sup> Th-0 und Th-1 Zellen gebildet (Yssel et al., 1992). IL-10 und IL-6 benutzen im Zytoplasma den gleichen Signaltransduktionsweg (Lai et al., 1996). IL-10 bewirkt eine vermehrte IL-1RA Freisetzung aus Monozyten und Leukozyten, fördert Wachstum, Aktivierung und Chemotaxis von CD8<sup>+</sup> T-Zellen (Chen und Zlotnik, 1991) und B-Zellen (Banchereau et al., 1993), sowie eine verstärkte Antikörperproduktion (Banchereau et al., 1993). IL-10 inhibiert die Produktion von IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$  durch Th-1 Zellen (Fiorentino et al., 1991), vermindert deren kostimulatorische Aktivität auf Makrophagen (Bogdan und Nathan, 1993) (Mertz et al., 1994), und wirkt hemmend auf die Sekretion von TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  (Cassatella et al., 1993) (Takanaski et al., 1994).

**IL-13:**

Interleukin-4 und Interleukin-13 teilen sich kaum 25% ihrer primären Aminosäure-Homologie, dennoch entsprechen sich die wichtigsten helikalen Regionen, die essentiell für ihre Aktivität sind (Aversa et al., 1993). Wie IL-4 wird auch IL-13 hauptsächlich von Th-2 Zellen und Mastzellen gebildet. Ebenso teilen sie sich die IL-4R-Kette. Während IL-4 direkt mit dem IL-4R einen aktiven Rezeptorkomplex bildet, bindet IL-13 IL-4R indirekt, um die



Signaltransduktion zu initialisieren (Zurawski und de Vries, 1994). Ihre gemeinsamen Funktionen bestehen in der Aktivierung von B-Zellen zur Produktion von IgE (Punnonen und de Vries, 1994) und in der Supprimierung der TNF- und IL-1 Produktion von Makrophagen und Monozyten (Hart et al., 1995). Der Hauptunterschied zwischen IL-4 und IL-13 beruht auf ihrem Effekt auf T-Zellen. IL-4 führt zur Th-2 Differenzierung, während IL-13 nur sehr geringe Auswirkungen auf die T-Zell Funktion hat (Zurawski und de Vries, 1994).

#### 1.4.3 Immunsystem und Zentralnervensystem

Die Funktion der Bluthirnschranke und die Rolle von Adhäsionsmolekülen bezüglich der Unterscheidung von peripherem und zentralem Immunsystem wurden bereits oben beschrieben. An dieser Stelle soll die Funktion der Mikroglia, der residenten Makrophagenpopulation des Gehirns, näher beschrieben werden. Mikroglia stammt von Knochenmarkszellen ab und ist damit - im Gegensatz zu anderen Gliazellen - hämatopoetischer, mesodermaler Abstammung. In Silberkarbonatimprägnationsstudien hat erstmals 1932 del Rio-Hortega bei Nagetieren gezeigt, dass Mikroglia gegen Ende der Ontogenese bzw. in sehr frühen postnatalen Stadien in das Gehirn einwandert. Nach ihrer frühen Einwanderung stellt die Mikroglia einen sehr stabilen Zellpool dar, und wird praktisch nicht mehr durch hämatopoetische Zellen ersetzt (Hickey et al., 1992). Im normalen Gehirn befindet sich die Mikroglia in einem ruhenden Zustand (Perry und Silveira, 1988). Aufgrund ihrer hohen Sensitivität gegenüber Schädigungen des Gehirns unterschiedlichster Ätiologie und ihrer raschen Aktivierbarkeit liegt die Annahme nahe, dass Mikroglia der immunologische Wächter des Gehirns darstellt. Infolge ihrer Aktivierung durch verschiedenste Noxen verändert sich nicht nur die Morphologie, die Mikroglia wandelt sich in amöboide Zellen um, sondern auch zu phänotypischen Veränderungen. Zum einen wird auf der Oberfläche LCA (CD45) mit Signaltransduktionsfunktion exprimiert, zum anderen werden die Integrine MAC-1 und LFA-1 gebildet, deren Ligand wie oben beschrieben ICAM-1 darstellt. Außerdem werden MHC-Klasse-I- und II-Moleküle und das Zelladhäsionsmolekül ICAM-1 selber de novo induziert (Vass und Lassmann, 1990; Schluter et al., 1991; Deckert-Schluter et al., 1994). Durch die MHC-I- und II-Expression kann die Mikroglia Antigene an CD4<sup>+</sup>-T-Zellen präsentieren, was in in-vitro-Studien nachgewiesen werden konnte, in denen sie eine starke Proliferation von T-Zellen induzierte (Suzumura et al., 1987; Cash et al., 1993). Es gibt allerdings Hinweise dafür, dass Mikroglia eher eine inkomplette Form der T-Zell-Aktivierung unterstützt, indem basisches Myelinprotein (MBP)-reaktive CD4<sup>+</sup>-T-Zellen zur Produktion von Zytokinen wie IFN- und TNF-, nicht jedoch von IL-2 oder zur

Proliferation anregt. Stattdessen kam es nach der Interaktion zwischen T-Zellen und Mikrogliazellen zur Apoptose der CD4<sup>+</sup>-Zellen (Ford et al., 1996). Insgesamt bleibt festzuhalten, dass diese Beobachtungen zurzeit noch kontrovers diskutiert werden.

### 1.5 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Aufgrund der in der Einleitung zusammengefassten immunologischen Befunde bei schizophrenen Patienten, und der möglichen Beteiligung immunologisch relevanter Gene am Erkrankungsrisiko für Schizophrenie, formulierten wir folgende Ausgangshypothesen:

- 1) Funktionelle Polymorphismen in Genen die für Immunfaktoren kodieren, sind mit Schizophrenie assoziiert
- 2) Die in Vorbefunden beschriebenen erniedrigten sICAM-1 Serumkonzentrationen bei schizophrenen Patienten beruhen auf einer genetischen Disposition im ICAM-1 Gen, d.h., es besteht ein Zusammenhang zwischen sICAM-1 Serumkonzentrationen und dem ICAM-1 Genotyp.

Auf den Ausgangshypothesen basierend führten wir die folgenden Untersuchungen durch:

- 1) Untersuchung der möglichen Assoziation der bei schizophrenen Patienten veränderten Immunantwort mit den oben für die Schizophrenie vorgestellten funktionell immunologisch relevanten Gene mittels einer Kandidatengenstudie im Fall-Kontroll-Design. Neben der Gegenüberstellung der Gesamtgruppen wurde auch ein möglicher geschlechtsspezifischer Unterschied zwischen den Gruppen untersucht.
- 2) Bestimmung des sICAM-1 im Zusammenhang mit den immungenetischen Parametern in einer Subgruppe der Patienten und Kontrollen.

## 2 Material und Methode

### 2.1 Patienten und gesunde Kontrollgruppe

#### 2.1.1 Schizophrene Patienten

Die Untersuchung von Serum- und EDTA-Blutproben hinsichtlich genetischer und immunologischer Veränderungen wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät genehmigt. Vor der Gewinnung des Blutserums wurden die Probanden über die Freiwilligkeit ihrer Blutabgabe und die rein wissenschaftliche Verwendung des Serums, sowie über den Inhalt und die Fragestellung der Untersuchung aufgeklärt. Die Einhaltung des Datenschutzes wurde zugesichert und die schriftliche Zustimmung des Patienten wurde eingeholt. Die schizophrenen Patienten waren zur stationären Behandlung in die psychiatrische Klinik der Universität München aufgenommen. Die klinischen Diagnosen mussten die Kriterien der Schizophrenie nach ICD-10 und DSM IV erfüllen. Ausschlusskriterien für die schizophrenen Patienten waren akute Infektionen, sowie akute inflammatorische oder immunologische Prozesse und Alkoholabusus. Nikotingebrauch wurden vermerkt, führte jedoch nicht zum Ausschluss.

Der psychopathologische Befund wurde anhand der PANSS-Skala (Positive and Negative Syndrome Scale; Kay S.R. „Schizophr. Bulletin, 1987) erfasst. Diese Skala besteht aus drei Kategorien, einer Plus-Skala und einer Negativ-Skala mit je sieben Bewertungseinheiten, die die Ausprägung von positiven bzw. negativen Symptomen beurteilen, sowie einer Globalskala mit 16 Untereinheiten. Für jede Untereinheit können je nach Ausprägung 1 bis 7 Punkte vergeben werden. Daraus errechnet sich der Gesamt- und der Globalscore (Bewertungsbogen siehe Anhang).

Es wurden Blutproben von insgesamt 263 nicht verwandten schizophrenen Patienten kaukasischer Herkunft (154 Männer, 109 Frauen, mit einem Durchschnittsalter von  $33.5 \pm 12.0$  Jahren, in der Altersspanne von 17-78 Jahren) untersucht. Das Erstmanifestationsalter lag bei  $27.3 \pm 19.8$  Jahren. Bei 72 Patienten (27%) handelte es sich um eine Erstmanifestation. Bei 73.8% der Patienten wurde ein paranoider Typus der Schizophrenie (DSM IV: 295.3x, ICD10: F20.0) diagnostiziert, bei 2% ein residualer (DSM IV: 295.6x, ICD10: F20.5) bzw. bei 13.2% ein desorganisierter Typus (DSM IV: 295.1x, ICD10: F20.1). 1% der Patienten wurden als kataton schizophrene (DSM-IV: 295.2x), 5.8% als undifferenziert schizophrene

Patienten (DSM-IV: 295.9x) klassifiziert und 4.2% hatten eine schizophreniforme Erkrankung (DSM-IV: 295.4x).

### 2.1.2 Neuropsychiatrisch gesunde Kontrollgruppe

Kontrollblutproben wurden von freiwilligen Probanden gewonnen. Auch diese durften weder an einer akuten Infektion, noch an einer Autoimmunkrankheit leiden. Weder die Probanden selbst, noch deren Verwandte ersten Grades durften psychiatrische Auffälligkeiten zeigen oder sich schon einmal in psychiatrischer Behandlung befunden haben, was anhand eines klinischen Interviews eruiert wurde. Auch eine allgemeine medizinische Anamnese und Untersuchung einschließlich labormedizinischer Untersuchung wurden durchgeführt.

Bei den Kontrollpersonen handelte es sich um insgesamt 275 nicht verwandte Personen aus München und Umgebung, davon 129 Frauen und 146 Männer, die zufällig ausgewählt wurden. Das Durchschnittsalter betrug 39.3 Jahre mit einer Standardabweichung von  $\pm 14$  Jahren und einer Altersspanne von 18 bis 76 Jahren.

### 2.1.3 Subgruppe für die Bestimmung von sICAM-1 im Serum

Da vorausgehende Untersuchungen gezeigt haben, dass eine neuroleptische Behandlung einen Einfluss auf die Blutkonzentrationen des sICAM-1 hat, wurden nur Patienten mit einer Auswaschzeit von mindestens 8 Wochen in diese Untersuchung eingeschlossen. 70 schizophrene Patienten, darunter 41 Männer und 29 Frauen mit einem Durchschnittsalter von  $31,2 \pm 10,6$  Jahren, sowie eine Gruppe von 129 gesunden Kontrollpersonen (71 männlich, 58 weiblich; Durchschnittsalter:  $30,0 \pm 9,7$  Jahre) wurden hinsichtlich des löslichen sICAM-1 untersucht. 44,6% der schizophrenen Patienten und 56,5% der Kontrollpersonen gaben an zu rauchen.

## 2.2 Labor-Untersuchungen

### 2.2.1 Serumproben

Nach Blutabnahme standen die Serumröhrchen eine halbe Stunde bei Raumtemperatur um die Ausbildung des Blutkuchens zu ermöglichen. Anschließend wurden sie in einer Tischzentrifuge 10 min lang bei 5.000 g und  $+10^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert. Gleich darauf wurde das überstehende Serum in 500  $\mu\text{l}$  Portionen in Eppendorf-Probengefäße pipettiert, beschriftet und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren.

### 2.2.2 DNA-Isolierung

Die Isolierung von genomischer DNA aus 10 ml EDTA Blut erfolgte unter Verwendung des Präparationsverfahrens der Firma Qiagen (QIAamp Blood Kit). Die Methode beruht auf der Anlagerung von DNA an eine Silica Gel Matrix (Anionen Austauscher), welche in Säulen gepackt ist, und auf einem optimierten Puffersystem für die Zell- und Kernlyse, sowie für die Eluierung der DNA aus dem Säulenmaterial. Dieses Verfahren ermöglicht den Verzicht auf toxische und mutagene Substanzen wie Phenol, Chloroform und Isoamylalkohol.

Zur Lysierung der Zellen wurden 10 ml EDTA Blut mit 10 ml kaltem Puffer C1 und 30 ml kaltem H<sub>2</sub>O 10 Minuten auf Eis inkubiert, dann 15 Minuten bei 1300 x g und 4°C zentrifugiert, der Überstand wurde verworfen. Das erhaltene Pellet wurde in 2 ml kaltem Puffer C1 und 6 ml H<sub>2</sub>O suspendiert, nochmals 15 Minuten bei 1300 x g zentrifugiert und der Überstand abgeschüttelt.

Zur Lysierung der Zellkerne und zum Abbau von Proteinen wurde der Rückstand durch die Zugabe von 10 ml Puffer G2 und 200 µl Protease K Lösung aufgelöst und anschließend 60 Minuten bei 50° inkubiert.

Nachdem der Equilibrierung der Qiagen Tips 500 Säulen mit 10 ml QBT Puffer, wurden die Zellkernlösungen auf das Säulenmaterial aufgebracht, 2 mal mit je 15 ml Puffer QC gewaschen und zuletzt mit 15 ml Puffer QF eluiert.

### 2.2.3 Polymerase Kettenreaktion

Für die Entwicklung der Polymerase Kettenreaktion (PCR) wurde Kary B. Mullis 1993 der Nobelpreis verliehen. Durch die PCR wird ermöglicht, definierte DNA Abschnitte millionenfach zu vervielfältigen.

Zunächst wird die zu replizierende DNA durch Hitze in ihre beiden Einzelstränge gespalten. Die DNA Stränge werden denaturiert. Beim Abkühlen lagern sich die Oligonukleotide (Primer) komplementär an die interessierenden DNA Abschnitte an. Ein hitzebeständiges Enzym, die Taq-Polymerase ergänzt die Primersequenzen komplementär zur DNA-Vorlage. Hierzu benötigt das Enzym dNTP's (desoxyribonucleosidtriphosphate). Als Endprodukt erhält man zwei identische DNA-Doppelstränge, die im nächsten Zyklus abermals gespalten und wieder zu Doppelsträngen ergänzt werden. Die Zyklen werden 20- bis 30-mal wiederholt.

### 2.2.4 SNaPshot-Methode

Für die Genotypisierung der beiden Kodons (G241A and A469G) des ICAM-1 Gens auf Chromosom 19p13.1-13.2 etablierte ich eine neue Methode, die SNaPshot-Methode, die sich hervorragend für die Detektion von bereits bekannten „single nucleotide polymorphisms“

(SNPs) und zur Unterscheidung zwischen homozygoten und heterozygoten Kombinationen eignet. Zunächst wird mittels konventioneller PCR, wie oben beschrieben, eine Amplifizierung der DNA durchgeführt. Im nächsten Schritt werden die überzähligen Primer und dNTP's enzymatisch mittels „Shrimp Alkaline Phosphatase“ (SAP) und „Exonuclease I“ (Exo I) aus dem Reaktionsansatz entfernt. Im nächsten Schritt wird die aufgereinigte DNA denaturiert, ein sogenannter SNaPshot-Primer angelagert und der Primer mit dem zum nächsten Nukleotid komplementären Didesoxynukleotid (ddNTP) verlängert. Da der zu untersuchende SNP in seiner Position bekannt ist, wird ein SNaPshot-Primer mit einer Länge von ungefähr 20 Basenpaaren zugegeben, der sich direkt vor dem Polymorphismus anlagert. Das 3`Hydroxyende des SNaPshot-Primers wird jetzt durch die 5`-Triphosphatgruppe eines einzigen fluoreszenzmarkierten 2`3`-ddNTP verlängert. Eine Verlängerung des Strangs ist nicht mehr möglich, da keine freie 3`-Hydroxylgruppe vorhanden ist. Da sich der Primer direkt neben der zu untersuchenden Basenvariante anlagert und auch keine dNTP's im Reaktionsansatz vorhanden sind, können sich die vier farblich unterschiedlich markierten ddNTP's nur komplementär zum jeweiligen Polymorphismus anlagern und somit detektiert werden.

<i>ddNTP</i>	<i>Farbstoff</i>	<i>Farbe</i>
A	dR6G	Grün
C	dTAMRA	Gelb
G	dR110	Blau
U (T)	dROX	Rot

Anschließend werden die überschüssigen ddNTP's durch SAP aus dem Reaktionsansatz entfernt. Im letzten Schritt erfolgt die Elektrophorese und Detektion. Der große Vorteil dieser Methode stellt also die quantitative Bestimmung von SNPs ohne zeitaufwendige Sequenzierung dar.

Vor Durchführung der SnaPshot-Methode bei ICAM-1 mussten sämtliche Parameter optimiert werden. Die Amplifizierung der DNA wurde zunächst für jeden Polymorphismus einzeln, dann als Multiplex-PCR gemeinsam durchgeführt. Die Temperatur des Annealing-Zyklus wurde zwischen 56 und 59°C modifiziert.

Nach der Restriktion mit SAP und Exo I wurde eine DNA-Konzentrationsbestimmung mittels UV-Messung bei 260 nm durchgeführt.

### 2.2.4.1 ICAM-1

Die Genotypisierung der beiden Kodons (G241A and A469G) von ICAM-1 wurde mittels der zuvor beschriebenen SNaPshot-Methode durchgeführt. Hierzu benutzte ich den PTC-200 Thermo-Cycler (MJ Research, Watertown, MA) und den Genetic-Analyser ABI Prism 310. Im ersten Schritt führt man eine Multiplex PCR für beide Kodons gemeinsam durch (siehe Abb.2):

Vorwärts-Primer: 5' - ACT CCC CCA CAA CTT gTC Ag - 3' / 5' - gAg ATC TTg Agg gCA CCT ACC - 3' (A469G); Rückwärts-Primer: 3' - TCA CAC TgA CTg Agg CCT Tg - 5' (G241A) / 3' - TCT TgA TCT TCC gCT ggC - 5' (A469G); Die PCR wurde mit 50 ng DNA auf einem Gesamtvolumen von 25 µl durchgeführt. Dieses beinhaltete zusätzlich 0,25 µl AmpliTaqGold, 2,5 µl 10xPCR-Mix, 0,625 µl von jedem Primer und 2,5 µl dNTP's für 29 Denaturierungs- (95°C), Anlagerungs-(Annealing) (58°C) und Verlängerungs-(Extension)Zyklen (72°C). Nach der Restriktion mit SAP und Exo I, wurde eine SNaPshot PCR für beide Kodons mit den SNaPshot-Primern ICAM4-S 5' - CCg TTg TCT gTT CCC Tgg AC - 3' (G241A) und ICAM6-S 5' - AgA gCA CAT TCA Cgg TCA CCT - 3' (A469G) durchgeführt. Diese PCR wurde mit einem Gesamtvolumen von 10 µl, beinhaltend 1,0 µl Probe and 1 µl SNaPshot-Primer sowie 5,0 µl SNaPshot-Ready-Reaction-Premix ausgeführt. Die Annealingtemperatur betrug 60°C. Anschließend wurde eine erneute Restriktion durchgeführt. Danach wurden die SNaPshot PCR Produkte am ABI Prism 310 genetic Analyser sequenziert.

### 2.2.5 Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer Methode

Unter Verwendung des Light Cycler Systems (Roche Diagnostics) lassen sich die Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer Methode (FRET) und die Schmelzpunktanalyse kombinieren, die eine Verifizierung des Amplifikationsproduktes und eine Analyse von Punktmutationen erlaubt. Die Synthese eines spezifischen Amplifikationsproduktes kann während der Reaktion über zwei benachbarte hybridisation probes gemonitort werden. Diese Probes liegen innerhalb des Amplifikationsprimerpaares. Das 3'-Ende der einen Probe ist mit dem Donor-Fluorophor (Fluoreszein) markiert, wohingegen des 5'-Ende der benachbarten Probe mit dem Akzeptor-Fluorophor markiert ist. Während FRET wird der Donor-Fluorophor über eine externe Lichtquelle angeregt und emittiert Licht, das durch den zweiten Akzeptor-Fluorophor absorbiert wird. Dieser Energietransfer kann nur passieren, wenn die zwei Probes hybridisiert haben und in enger Nachbarschaft zueinander sind. Der Akzeptor-Fluorophor emittiert nun Licht einer anderen Wellenlänge, das spezifisch gemessen wird.

Die Schmelzpunktanalyse basiert darauf, dass jede DNA bei einer charakteristischen Temperatur, der Schmelztemperatur ( $T_m$ ) schmilzt, das heißt bei dieser Temperatur ist die Hälfte der helikalen Struktur der DNA verlorengegangen. Die Schmelztemperatur eines DNA-Moleküls wird stark durch die Basenzusammensetzung beeinflusst: DNAs mit GC-reichen Bereichen haben einen höheren  $T_m$  als solche mit einem Übergewicht von AT-Basen. Die Kombination des Prinzips der Schmelzpunktanalyse mit „hybridization probes“ ermöglicht die Detektion von Genmutationen in homo- wie heterozygoter Form. Wenn keine Mutation in der Zielsequenz vorliegt, hybridisieren die Probes vollständig. Bei einem mutationsbedingten Mismatch erniedrigt sich jedoch der  $T_m$ -Wert des Hybrids, der sich in einem verschobenen Peak der Schmelzkurve darstellt.

#### 2.2.5.1 TNF- $\alpha$

Für die Darstellung der Punktmutation G308A in der TNF- $\alpha$  Promotorregion, wurden folgende Parameter verwendet: Vorwärts-Primer: 5'- TCC TgC ATC CTg TCT ggA Ag -3'; Rückwärts-Primer: 5'- gTC TTC Tgg gCC ACT cAC Tg - 3'; Donor-Hybridisations Probe: 5'- TTg Agg ggC ATg ggg ACg ggg T- fluorescein-3'; Akzeptor-Hybridisations Probe: 5'- LCRed640-AgC CTC CAg ggT CCT ACA CAC AAA TCA gTC - 3'. Die PCR wurde mit 50 ng DNA auf einem Gesamtvolumen von 10  $\mu$ l, beinhaltend 1  $\mu$ l Reaktionsmix, 0.4  $\mu$ M MgCl<sub>2</sub>, 0.25  $\mu$ M von jedem Primer und 0.1  $\mu$ M von der jeweiligen Hybridisations Probe entsprechend den Herstellerangaben für 45 Zyklen denaturiert (95°C, 0 s, Aufheizungsrate (ramp rate) 20°C/s), Angelagert (Annealing) (58°C, 10 s, ramp rate 20°C/s) und Verlängert (Extension) (72°C, 10 s, ramp rate 20°C/s). Nach der Amplifikation wurde eine Schmelzpunktkurve generiert, indem die Reaktion für 30 Sekunden bei 40°C gehalten und dann vorsichtig auf 95°C mit einer ramp rate von 0.1°C/s aufgeheizt wurde. Das Fluoreszenzsignal wurde gegen die Temperatur aufgetragen um die Schmelzkurven darzustellen. Die Peaks für das A-Allel wurden bei 63°C und für das G-Allel bei 68°C erhalten.

#### 2.2.5.2 IL-2

Für den T→G SNP and Position -330 des IL-2 Promotors wurden die folgenden Bedingungen gewählt: forward primer: 5'- ATg CAA TTA gCT CTT TgT gTg g - 3'; reverse primer: 5' - TTC TTT AAA CCC CCA AAg ACT g - 3'; donor hybridization probe: 5'- TTT CTT TgT CAT AAA ACT ACA C - fluorescein-3'; acceptor hybridization probe: 5'- LCRed640- ACA TgT gAA TAg CAT ATT gTg gTg gAC Aag - 3'. Die PCR wurde mit 50 ng DNA in einem



Gesamtvolumen von 10 µl durchgeführt, das 1 µl Reaktionsmischung, 0,4 µM MgCl<sub>2</sub>, 0,25 µM eines jeden Primers und 0,1 µM jeder hybridization probe entsprechend der Anleitung des Herstellers für 45 Zyklen Denaturierung (95°C, 0 s, ramp rate 20°C/s), Annealing (58°C, 10 s, ramp rate 20°C/s) und Extension (72°C, 10 s, ramp rate 20°C/s). Nach der Amplifikation wurde eine Schmelzkurve durch halten der Reaktion bei 40°C für 30 s und anschließender Erhitzung auf 95°C mit einem Anstieg von 0,1°C/s. Das Fluoreszenzsignal wurde gegen die Temperatur aufgetragen um die Schmelzkurve für jede einzelne Probe zu erhalten. Die charakteristischen Peaks traten bei 54°C für das T-Allel und bei 51°C für das G-Allel auf.

### 2.2.5.3 IL-6

Wie für die IL-2-Genotypisierung wurde die Genotypisierung –C174G SNP in der Promoter Region des IL-6 Gens mittels FRET-Methode am Light Cycler (Roche Diagnostics) durchgeführt: forward primer: 5'- ACT ggA ACg CTA AAT TCT AgC C –3'; reverse primer: 5'- TgA CgT gAT ggA TgC AAC AC – 3'; donor hybridization probe: 5'- TTg TgT CTT gCg ATg CTA AAg gAC - fluorescein–3'; acceptor hybridization probe: 5'- LCRed640-TCA CAT TgC ACA ATC TTA ATA Agg TTT CCA – 3'

### 2.2.6 Bestimmung von sICAM-1

Der Nachweis des löslichen ICAM-1 in Serum wurde mittels ELISA unter Verwendung eines kommerziellen Testkits (CELLFREE<sup>®</sup> human ELISA sICAM-1, Endogen Inc., USA) durchgeführt. Die Sensitivität dieses Assays wird vom Hersteller mit einer minimal nachzuweisenden Menge an sICAM-1 von weniger als 0,3 ng/ml bei einem Nachweisbereich von 0,3 bis 10 ng/ml angegeben. Inter- und Intratest-Genauigkeit unterliegen einem Variationskoeffizienten von weniger als 7,5 %.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Immungenetik

##### 3.1.1 Demographische Daten

Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Altersverteilung zwischen den Gruppen. Die schizophrenen Patienten ( $33.5 \pm 12$  Jahre) waren deutlich jünger als die gesunden Kontrollpersonen ( $39.3 \pm 14$  Jahre) ( $T=-5.126$ ,  $df=534$ ,  $p<0.001$ ). Die Geschlechtsverteilung zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollen war hingegen ausgeglichen ( $X^2=1.627$ ,  $df=1$ ,  $p=0.202$ ).

##### 3.1.2 ICAM-1 A241G Polymorphismus

Bei der Untersuchung des A241G SNP fand sich bei 213 der Kontrollpersonen und bei 193 der schizophrenen Patienten das homozygote G241-Allel, während 55 gesunde Kontrollen und 65 Patienten das heterozygote polymorphe Allel aufwiesen. Das sehr selten beobachtete homozygote A-Allel konnte lediglich bei 4 Kontrollpersonen und 2 Patienten gefunden werden. Der statistische Vergleich der Genotyp-Verteilung zeigte einen keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen ( $Chi^2=2.216$ ,  $df=2$ ,  $p=0.330$ ). (siehe Tab.1)

<i>ICAM-1</i>	<i>tatsächliche Genotypen</i>			<i>erwartete Genotypen</i>		
	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>
<b>A241G</b>						
<b>SCH</b>	193	65	2	196	60	5
<b>CON</b>	213	55	4	213	56	4

**Tab.1:** Tatsächliche und nach Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Genotypverteilung des ICAM-1 G241A Polymorphismus bei schizophrenen Patienten (SCH; n=260) und gesunden Kontrollpersonen (CON; n=272)

Im Folgenden wurde die mögliche Geschlechtsabhängigkeit des G241A Polymorphismus untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die weiblichen Patienten eine beinahe identische Genotypverteilung aufwiesen wie die weiblichen Kontrollpersonen ( $X^2=0,155$ ;  $df=1$ ;  $p=0,925$ ), männliche Patienten jedoch zu 26,6% versus 16,8% signifikant häufiger heterozygot waren, als die männlichen Kontrollpersonen ( $X^2=6,052$ ;  $df=1$ ;  $p=0,049$ ; siehe Tabelle 2). Da in der Gruppe der männlichen schizophrenen Patienten im Gegensatz zu den

entsprechenden Kontrollen keine Homozygotie für das A-Allel auftrat, wurden die geschlechtsabhängigen Gruppenunterschiede anhand der Genotypverteilung berechnet.

<i>ICAM-1</i>	<i>Frauen</i>			<i>Männer</i>		
	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>
<b>A241G</b>						
<b>SCH</b>	83	24	2	110	40	0
<b>CON</b>	96	31	2	117	24	2

Tabelle 2: Genotypverteilung des ICAM-1 G241A Polymorphismus bei weiblichen (n=109) bzw. männlichen (n=150) schizophrenen Patienten und weiblichen (n=129) bzw. männlichen (n=143) gesunden Kontrollpersonen.

Es zeigte sich im Vergleich zwischen ICAM-1 241 Genotyp (GG vs. GA oder AA) und Psychopathologie zum Zeitpunkt der Aufnahme wiederum kein Zusammenhang (PANSS positiv:  $T=-0,246$ ;  $df=192$ ;  $p=0,806$ ; PANSS negativ:  $T=0,451$ ;  $df=192$ ;  $p=0,652$ ; PANSS global:  $T=-0,527$ ;  $df=192$ ;  $p=0,599$ ). Außerdem bestand kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Erstmanifestationsalter der Patienten ( $T=-0,823$ ;  $df=176$ ;  $p=0,411$ ), oder Zugehörigkeit zu einer der Haupt-Diagnosegruppen paranoid-halluzinatorisch, desorganisiert/hebephren, bzw. andere diagnostische Subgruppen der Schizophrenie ( $X^2=2,428$ ;  $df=2$ ;  $p=0,297$ ).

### 3.1.3 ICAM-1 A469G Polymorphismus

Bei der Untersuchung des A469G Polymorphismus waren 83 der Kontrollpersonen homozygot für das A-Allel während 133 heterozygot und 55 homozygot bezüglich des G-Allels waren. Die schizophrenen Patienten zeigten ungefähr die gleiche Genotyp-Verteilung mit 75 homozygoten A-Allel-Trägern, 86 heterozygoten und 32 homozygoten G-Allel-Trägern ( $Chi^2=.131$ ,  $df=2$ ,  $p=.937$ ). Tabelle 3 zeigt die tatsächliche und die nach dem Gesetz von Hardy und Weinberg erwartete Genotypverteilung, die weder für die Patienten- noch für die Kontrollgruppe signifikant von den tatsächlich ermittelten Genotypen abweicht (Patienten:  $X^2=0,050$ ;  $df=2$ ;  $p=0,976$ ; Kontrollen:  $X^2=0,017$ ;  $df=2$ ;  $p=0,992$ ). Ein geschlechtsbezogener Vergleich der beiden Gruppen zeigte weder für weibliche ( $X^2=0,034$ ;  $df=2$ ;  $p=0,983$ ), noch für männliche Studienteilnehmer ( $X^2=0,081$ ;  $df=2$ ;  $p=0,960$ ) eine Assoziation des A469G-Polymorphismus mit der Erkrankung.

<b>ICAM-1</b>	<b>tatsächliche Genotypen</b>			<b>erwartete Genotypen</b>		
	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>
<b>A469G</b>						
<b>SCH</b>	75	129	51	76	126	52
<b>CON</b>	83	133	55	82	134	54

Tabelle 3: Tatsächliche und nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Genotypverteilung des ICAM-1 A469G Polymorphismus bei schizophrenen Patienten (SCH; n=255) und gesunden Kontrollpersonen (CON; n=271).

Ein geschlechtsbezogener Vergleich der beiden Gruppen zeigte weder für weibliche ( $X^2=0,034$ ;  $df=2$ ;  $p=0,983$ ), noch für männliche Studienteilnehmer ( $X^2=0,081$ ;  $df=2$ ;  $p=0,960$ ) eine Assoziation des A469G-Polymorphismus mit der Erkrankung.

<b>ICAM-1</b>	<b>Frauen</b>			<b>Männer</b>		
	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>
<b>A469G</b>						
<b>SCH</b>	34	49	22	41	79	29
<b>CON</b>	43	60	26	40	73	29

Tabelle 4: Genotypverteilung des ICAM-1 469 Polymorphismus bei weiblichen (n=105) bzw. männlichen (n=149) schizophrenen Patienten und weiblichen (n=129) bzw. männlichen (n=142) gesunden Kontrollpersonen.

Wiederum bestand kein Zusammenhang zwischen dem ICAM-1 469 A→G Genotyp und der mit PANSS erhobenen Psychopathologie bei Aufnahme der Patienten (PANSS positiv ANOVA:  $F=0,236$ ,  $df=2$ ;  $p=0,790$ ; PANSS negativ ANOVA:  $F=2,955$ ;  $df=2$ ;  $p=0,055$ ; PANSS global ANOVA:  $F=0,956$ ;  $df=2$ ;  $p=0,386$ ). Außerdem bestand kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Erstmanifestationsalter der Patienten (ANOVA:  $F=0,055$ ;  $df=2$ ;  $p=0,947$ ), oder Zugehörigkeit zu einer der Haupt-Diagnosegruppen paranoid-halluzinatorisch, desorganisiert/hebephren, bzw. andere diagnostische Subgruppen der Schizophrenie ( $X^2=8,788$ ;  $df=4$ ;  $p=0,067$ ).

#### 3.1.4 G308A Polymorphismus bei TNF- $\alpha$

Bei der Untersuchung des G308A Polymorphismus des TNF- $\alpha$  Gens auf Chromosom 6 fand sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung ( $Chi^2=1.857$ ,  $df=2$ ,

p=0.395). 188 schizophrene Patienten und 193 gesunde Kontrollpersonen trugen das homozygote G-Allel, während 60 Patienten und 76 Kontrollen den heterozygoten Polymorphismus aufwiesen. Homozygotie für das polymorphe A-Allel ('TNF2-Allel') zeigten nur drei Patienten und sechs Kontrollpersonen (s. Tab. 5)

<i>TNF-<math>\alpha</math></i> - <b>G308A</b>	<i>tatsächliche Genotypen</i>			<i>erwartete Genotypen</i>		
	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>
<b>SCH</b>	3	60	188	4	57	189
<b>CON</b>	6	76	193	7	74	194

Tabelle 5: Tatsächliche und nach Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Genotypverteilung des TNF- $\alpha$  G381A Polymorphismus bei schizophrenen Patienten (SCH; n=251) und gesunden Kontrollpersonen (CON; n=275).

Fasst man wegen des seltenen Auftretens des homozygoten A-Allel die Patienten bzw. Kontrollpersonen, die das polymorphe A-Allel tragen, zusammen, so zeigt sich ein Unterschied bezüglich des TNF- $\alpha$  Genotyps zwischen männlichen Patienten und Kontrollen. Männliche Patienten weisen wesentlich häufiger den GG-Genotyp auf ( $X^2=4,261$ ;  $df=1$ ;  $p=0,039$ , siehe Tabelle 6), während sich die weiblichen Patienten nicht von den Kontrollen unterscheiden ( $X^2=0,270$ ;  $df=1$ ;  $p=0,603$ ).

<b>TNF-<math>\alpha</math></b> <b>G308A</b>	<i>Frauen</i>		<i>Männer</i>	
	<b>GG</b>	<b>GA/AA</b>	<b>GG</b>	<b>GA/AA</b>
<b>SCH</b>	76	27	108	35
<b>CON</b>	99	30	94	52

Tabelle 6: Genotypverteilung des TNF- $\alpha$  -308 Polymorphismus (A-Allel vorhanden bzw. nicht vorhanden) bei weiblichen (n=103) bzw. männlichen (n=143) schizophrenen Patienten und weiblichen (n=129) bzw. männlichen (n=146) gesunden Kontrollpersonen.

Es zeigte sich ebenfalls kein Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$  Genotyp (GG vs. GA oder AA) und Psychopathologie zum Zeitpunkt der Aufnahme (PANSS positiv:  $T=-0,543$ ;  $df=191$ ;  $p=0,588$ ; PANSS negativ:  $T=-0,636$ ;  $df=191$ ;  $p=0,526$ ; PANSS global:  $T=0,339$ ;  $df=191$ ;

$p=0,735$ ). Außerdem bestand kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Erstmanifestationsalter der Patienten ( $T=0,130$ ;  $df=176$ ;  $p=0,896$ ), oder Zugehörigkeit zu einer der Haupt-Diagnosegruppen paranoid-halluzinatorisch, desorganisiert/hebephren, bzw. andere diagnostische Subgruppen der Schizophrenie  $X^2=0,311$ ;  $df=2$ ;  $p=0,856$ ).

### 3.1.5 T330G Polymorphismus bei IL-2

Bei der Untersuchung des T330G SNP des IL-2 Gens zeigte sich ein signifikant häufigeres Auftreten des homozygoten T-Allels bei schizophrenen Patienten als bei gesunden Kontrollpersonen ( $X^2=8,016$ ;  $df=2$ ;  $p=0,018$ ). 52% der schizophrenen Patienten gegenüber 42% der gesunden Kontrollpersonen waren homozygot für das T-Allel, während 38% der Patienten und 51% der Kontrollpersonen heterozygot waren. Sowohl Patienten ( $X^2=0,770$ ;  $df=2$ ;  $p=0,680$ ), als auch Kontrollen ( $X^2=2,785$ ;  $df=2$ ;  $p=0,249$ ) lagen bei dieser Genotypverteilung im Hardy-Weinberg-Equilibrium. (siehe Tabelle 7)

<i>IL-2</i>	<i>tatsächlicher Genotyp</i>			<i>erwarteter Genotyp</i>		
	<b>GG</b>	<b>GT</b>	<b>TT</b>	<b>GG</b>	<b>GT</b>	<b>TT</b>
<b>T330G</b>						
<b>SCH</b>	24	90	123	20	98	119
<b>CON</b>	20	132	109	28	115	117

Tabelle 7: Tatsächliche und nach Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Genotypverteilung des IL-2 –330 T→G Polymorphismus bei schizophrenen Patienten (SCH;  $n=237$ ) und gesunden Kontrollpersonen (CON;  $n=261$ ).

Aufgrund des relativ seltenen Auftretens des homozygoten G-Allels bot es sich erneut an, die Genotypverteilung bezüglich Vorhandensein bzw. Nicht-Vorhandensein des G-Allels zu analysieren. Hier zeigte sich ein auffallend selteneres Vorkommen des G-Allels in der Gruppe der schizophrenen Patienten (48%) verglichen zur gesunden Kontrollgruppe (58%;  $X^2=5,129$ ;  $df=1$ ;  $p=0,024$ ). Dieser Gruppenunterschied war bei männlichen ( $X^2=4,538$ ;  $df=1$ ;  $p=0,033$ ) und weiblichen ( $X^2=1,792$ ;  $df=1$ ;  $p=0,181$ ) Studienteilnehmern etwa gleichermaßen ausgeprägt (siehe Tabelle 9).

<i>IL-2</i>	<i>TT</i>	<i>GT/GG</i>
<b>T330G</b>		

	SCH	CON
G-Allel vorhanden	123 (52%)	114 (48%)
G-Allel nicht vorhanden	109 (42%)	152 (58%)

Tabelle 8: Genotypverteilung des IL-2 -330 Polymorphismus (G-Allel vorhanden bzw. nicht vorhanden) in der Gesamtgruppe der schizophrenen Patienten (SCH; n=237) und in der Gruppe der gesunden Kontrollpersonen (CON; n=261).

<i>IL-2</i>	<i>Frauen</i>		<i>Männer</i>	
	TT	GT/GG	TT	GT/GG
<i>T330G</i>				
SCH	49	50	73	64
CON	52	73	57	79

Tabelle 9: Genotypverteilung des IL-2 -330 Polymorphismus (G-Allel vorhanden bzw. nicht vorhanden) bei weiblichen (n=99) bzw. männlichen (n=137) schizophrenen Patienten und weiblichen (n=125) bzw. männlichen (n=136) gesunden Kontrollpersonen.

Beim Vergleich des Genotyps (TT vs. GT oder GG) mit der Psychopathologie zum Zeitpunkt der Aufnahme zeigte sich, dass Patienten mit homozygotem IL-2 -330 T-Allel höhere Werte in der PANSS Globalscore aufwiesen, was für eine allgemein schwerere Ausprägung der klinischen Symptomatik spricht (PANSS global:  $T=-2,433$ ;  $df=183$ ;  $p=0,016$ ). Allerdings fand sich kein Zusammenhang zwischen den PANSS-Scores für Positiv-/Negativsymptomatik und dem IL-2 Genotyp (PANSS positiv:  $T=-1,869$ ;  $df=183$ ;  $p=0,063$ ; PANSS negativ:  $T=-0,825$ ;  $df=183$ ;  $p=0,410$ ). Zudem bestand kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Erstmanifestationsalter der Patienten ( $T=1,033$ ;  $df=167$ ;  $p=0,303$ ), der Zugehörigkeit zu einer der Haupt-Diagnosegruppen paranoid-halluzinatorisch, desorganisiert/hebephren, bzw. anderen diagnostischen Subgruppen der Schizophrenie ( $X^2=0,042$ ;  $df=2$ ;  $p=0,979$ ).

### 3.1.6 G174A Polymorphismus bei IL-6

Bei der Untersuchung des G174A SNP in der Promotorregion des für IL-6 kodierenden Gens auf Chromosom 7p21 zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den schizophrenen Patienten und den gesunden Kontrollen ( $X^2=4,910$ ,  $df=2$ ,  $p=.086$ ). Tabelle 10 zeigt die Genotypverteilung und die nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Verteilung, die für

beide Gruppen im Equilibrium lag (Patienten:  $X^2=0,002$ ;  $df=2$ ;  $p=0,999$ ; Kontrollen:  $X^2=0,002$ ;  $df=2$ ;  $p=0,999$ ).

<b>IL-6</b>	<b>tatsächliche Genotypen</b>			<b>erwartete Genotypen</b>			
	<b>G174A</b>	CC	CG	GG	CC	CG	GG
<b>SCH</b>		35	111	90	35	112	90
<b>CON</b>		55	131	80	55	132	80

Tabelle 10: Tatsächliche und nach Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Genotypverteilung des IL-6 -174 Polymorphismus bei schizophrenen Patienten (SCH;  $n=236$ ) und gesunden Kontrollpersonen (CON;  $n=266$ ).

Es bestand kein Zusammenhang zwischen IL-6 -G174C Genotyp und Psychopathologie bei Aufnahme der Patienten (PANSS positiv ANOVA:  $F=0,705$ ,  $df=2$ ;  $p=0,495$ ; PANSS negativ ANOVA:  $F=0,744$ ;  $df=2$ ;  $p=0,477$ ; PANSS global ANOVA:  $F=0,071$ ;  $df=2$ ;  $p=0,931$ ). Außerdem fand sich keine Assoziation zwischen Genotyp und Erstmanifestationsalter der Patienten (ANOVA:  $F=0,210$ ;  $df=2$ ;  $p=0,811$ ), sowie Zugehörigkeit zu einer der Hauptdiagnosegruppen paranoid-halluzinatorisch, desorganisiert/hebephren, bzw. anderen diagnostischen Subgruppen der Schizophrenie ( $X^2=8,431$ ;  $df=4$ ;  $p=0,077$ ).

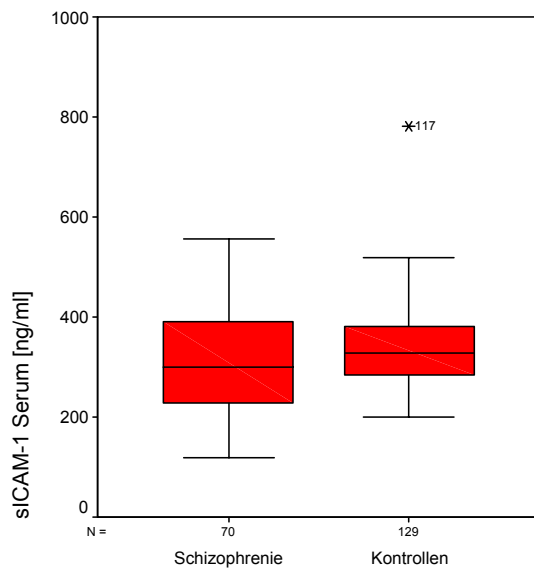
### 3.2 sICAM-1 Konzentration im Serum

Die beiden untersuchten Gruppen unterschieden sich weder bezüglich Alter (schizophrene Patienten:  $31,2 \pm 10,6$  Jahre, gesunde Kontrollen:  $30,0 \pm 9,7$  Jahre;  $T=0,763$ ;  $df=197$ ;  $p=0,447$ ), noch bezüglich Geschlechtsverteilung (29 weibliche und 41 männliche Patienten; 58 weibliche und 71 männliche Kontrollpersonen;  $X^2=0,230$ ;  $df=1$ ;  $p=0,631$ ). 44,6% der Patienten und 56,5% der Kontrollpersonen gaben an zu rauchen, was keinen signifikanten Unterschied darstellte ( $X^2=2,727$ ;  $df=1$ ;  $p=0,099$ ).

In der beschriebenen Subgruppe der seit mindestens acht Wochen medikamentenfreien 70 schizophrenen Patienten und der 129 gesunden Kontrollpersonen wurden die Serumkonzentrationen des löslichen ICAM-1 bestimmt. Der bereits in einer kleineren Population beschriebene Unterschied bestätigte sich: Die schizophrenen Patienten wiesen deutlich niedrigere sICAM-1-Konzentrationen ( $305,5 \pm 106,1$  ng/ml) auf, als die



Kontrollpersonen ( $338,8 \pm 80,3$  ng/ml; einseitiger t-Test:  $T=-2,295$ ;  $df=112,8$ ;  $p=0,012$ ). Das Ergebnis ist in Grafik 1 dargestellt.



Grafik 1: Serumkonzentrationen des sICAM-1 bei schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen. Die Gruppe der schizophrenen Patienten wies signifikant niedrigere Werte auf ( $p=0,024$ ).

### 3.3 Zusammenhang zwischen Serumkonzentration von sICAM-1 und Polymorphismen im ICAM-1 Gen

Da sich die beiden Studienpopulationen bezüglich ihrer sICAM-1 Serumkonzentration deutlich unterschieden, wurde die mögliche Abhängigkeit der sICAM-1 Serumkonzentration vom ICAM-1-Genotypen in den einzelnen Gruppen untersucht. Wie in Tabelle 11a und b dargestellt, zeigt sich bei schizophrenen Patienten weder bezüglich des G241A ( $T=-1,012$ ;  $df=68$ ;  $p=0,315$ ) noch bezüglich des A469G Polymorphismus (ANOVA:  $F=2,758$ ;  $df=2$ ;  $p=0,071$ ) ein Zusammenhang zur Serumkonzentration des löslichen ICAM-1.

Ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen und dem G241A-Polymorphismus zeigte sich allerdings bei Betrachtung der gesunden Kontrollpersonen: Höhere sICAM-1 Konzentrationen fanden sich bei homozygoten Trägern des Wildtyp-Allels ( $T=-2,370$ ;  $df=126$ ;  $p=0,019$ ). Allerdings ließ sich auch in der Gruppe der gesunden Kontrollpersonen kein Zusammenhang zwischen dem A469G-Polymorphismus und den Serumwerten nachweisen (ANOVA:  $F=0,327$ ;  $df=2$ ;  $p=0,722$ ) (siehe Tabelle 12a und b).

ICAM-1 G241A (SCH)	sICAM-1 Serumkonzentration
GG (52)	298,0 ± 107,5 ng/ml
GA/AA (17)	327,3 ± 101,5 ng/ml

ICAM-1 A469G (SCH)	sICAM-1 Serumkonzentration
AA (15)	261,8 ± 94,0 ng/ml
GA (38)	320,8 ± 106,6 ng/ml
GG (15)	304,0 ± 111,1 ng/ml

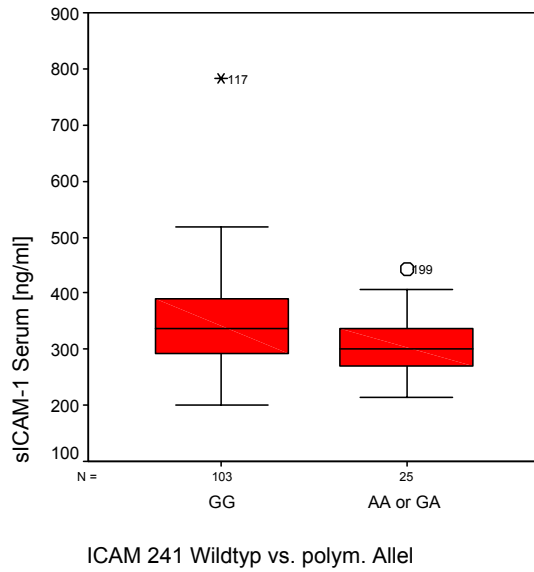
Tabelle 11a + b: Zusammenhang des ICAM-1 G241A- (oben) bzw. des A469G-Polymorphismus und der sICAM-1 Serumkonzentrationen bei schizophrenen Patienten. Es zeigte sich weder für den G241A- ( $p=0,315$ ) noch für den A469G-Polymorphismus ( $p=0,071$ ) ein signifikanter Zusammenhang.

ICAM-1 G241A (CON)	sICAM-1 Serumkonzentration
GG (104)	345,8 ± 82,7 ng/ml
GA/AA (25)	304,5 ± 54,7 ng/ml

ICAM-1 A469G (CON)	sICAM-1 Serumkonzentration
AA (47)	333,5 ± 95,8 ng/ml
GA (54)	336,6 ± 72,5 ng/ml
GG (27)	348,1 ± 62,3 ng/ml

Tabelle 12a +b: Zusammenhang des ICAM-1 G241A (oben) bzw. des A469G Polymorphismus und der sICAM-1 Serumkonzentrationen bei gesunden Kontrollpersonen. Es zeigte sich für den G241A- ( $p=0,019$ ), nicht jedoch für den A469G-Polymorphismus ( $p=0,722$ ) ein signifikanter Zusammenhang.



Grafik 2: Zusammenhang des ICAM-1 G241A-Polymorphismus und der sICAM-1 Serumkonzentrationen bei gesunden Kontrollpersonen. Bei den gesunden Kontrollpersonen wiesen die homozygoten Träger des Wildtyps deutlich höhere sICAM-Konzentrationen auf, als Träger des polymorphen Allels G241A- ( $p=0,019$ ).

## 4 Diskussion

Eine genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie gilt wie eingangs beschrieben durch genetische epidemiologische Studien als gesichert. Wie ebenfalls beschrieben weist der auffällige immunologische Phänotyp schizophrener Patienten auf die Beteiligung eines Immunvorgangs an der Pathophysiologie der Schizophrenie hin. Zudem sprechen zahlreiche Daten für eine eventuelle pränatale Infektion und bestimmte Umweltfaktoren als Auslöser der Erkrankung. Da die Schizophrenie ohne Zweifel vor allem eine Erkrankung des ZNS darstellt, welches durch eine funktionelle und physikalische Barriere, die Bluthirnschranke, vom peripheren Immunsystem getrennt wird, erschien uns vor allem die Untersuchung von Parametern, die direkt mit der Integrität der BHS in Verbindung stehen, als interessant. In einer molekulargenetischen Assoziationsstudie zur Identifizierung prädisponierender Gene, die an der Regulation der BHS und der Typ-1/Typ-2 Balance beteiligt sind, wählten wir Gene aus, für die bereits bei anderen Erkrankungen funktionelle Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP) beschrieben wurden. Zum einen interessierten uns zwei Polymorphismen des ICAM-1 Gens, da ICAM-1 eine zentrale Funktion bei der Regulierung der Bluthirnschranke, bei der Balance zwischen zellulärer und humoraler Immunabwehr, sowie bei der Virusabwehr im ZNS einnimmt. Zudem untersuchten wir einen SNP des TNF- $\alpha$  Gens, da der Tumorneurosefaktor-alpha die Expression von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 stark erhöht, eine entscheidende Komponente bei der Immunregulation darstellt, und zudem mehrere Linkage-Analysen bei Schizophrenie auf einen Genlocus auf Chromosom 6p22, auf dem das TNF- $\alpha$  Gen liegt, hinweisen. Zusätzlich wählten wir aufgrund der von unserer Arbeitsgruppe aufgestellten Hypothese zur Imbalance des Th1/Th2-Gleichgewichts bei schizophrenen Patienten jeweils einen charakteristischen Parameter, IL-2 als typisches Th-1 Zytokin, IL-6 als Vertreter der Th-2 Zytokine.

### 4.1 Zusammenhang zwischen ICAM-1 Genotyp und sICAM-1

Bei der Untersuchung des G241A SNP im ICAM-1 Gen wurde kein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung und der Allelfrequenz zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollpersonen gefunden. In der geschlechtsspezifischen Auswertung der Ergebnisse fiel jedoch auf, dass etwa 27% der männlichen schizophrenen Patienten im Gegensatz zu lediglich 17% der männlichen Kontrollpersonen heterozygote Träger des polymorphen 241A-Allels waren ( $X^2=6,052$ ;  $df=2$ ;  $p=0,049$ ).

Das ICAM-1 Gen liegt auf Chromosom 19 in der Region 19p13.3-p13.2 (Vora et al., 1994). Es besteht aus sieben Exons, die durch sechs Introns voneinander getrennt sind. Jede der fünf Immunglobulin-domänen des ICAM-1-Moleküls ist auf einem eigenen Exon kodiert (Voraberger et al., 1991). Das ICAM-1-Protein besteht aus 505 Aminosäuren, wobei die immunglobulin-ähnlichen Domänen von 453 vorwiegend hydrophoben Aminosäuren gebildet werden, gefolgt von einem ebenfalls hydrophoben transmembranalen und einem geladenen zytoplasmatischen Teil (Staunton et al., 1988). Wie oben beschrieben existieren auf diversen Zellen zwei Liganden für ICAM-1: das LFA-1 und MAC-1. Die Bindungsstelle für LFA-1 liegt in der fünften IG-Domäne, während die dritte Ig-Domäne die MAC-1-Bindungsstelle darstellt (Vora et al., 1994). Der von uns untersuchte G241A-Polymorphismus befindet sich im vierten Exon, das für die MAC-1-Bindungsstelle kodiert (Vora et al., 1994), und führt zu einem nicht-synonymen Nukleotidaustausch, der auf Proteinebene in einem nicht-konservativen Austausch der aliphatischen Aminosäure Glycin gegen die alkalische Aminosäure Arginin resultiert. Ein verändertes Bindungsverhalten zwischen ICAM-1 und MAC-1 kann also stark vermutet werden. Aufgrund fehlender experimenteller Daten konnte jedoch die biochemische Funktionalität des G241A-Polymorphismus bislang noch nicht direkt bestätigt werden.

Neben dieser biochemischen Evidenz weist auch die Assoziation des Polymorphismus mit verschiedenen immunvermittelten Erkrankungen auf die Funktionalität des G241A-Polymorphismus hin. Ein nahezu verdoppeltes Vorkommen des polymorphen A-Allels im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen wurde bei rheumatoider Arthritis (Macchioni et al., 2000), bei Morbus Behcet (Boiardi et al., 2001), bei Riesenzellarteriitis (Salvarani et al., 2000) und bei Colitis ulcerosa (Yang et al., 1995) beschrieben.

ICAM-1 stellt ein wichtiges kostimulatorisches Signal bei der Aktivierung der zellulären Immunantwort dar. Während Typ-1-Zellen ein zusätzliches Aktivierungssignal wie ICAM-1 benötigen, um die Produktion von IL-2 zu induzieren und die Produktion von IFN- $\gamma$  zu verstärken, besitzen Th2-Zellen die Fähigkeit, auch ohne ein weiteres Aktivierungssignal ihr typisches Zytokin IL-4 zu produzieren (Croft und Dubey, 1997). Bei einer veränderten Funktion des ICAM-1 Signals würde somit die Th1/Th2-Balance in Richtung Th2-vermittelter Immunabwehr verschoben.

In diesem Zusammenhang könnte der beschriebene funktionelle Polymorphismus im ICAM-1-Gen auch relevante Auswirkungen auf die Entwicklung der im ZNS residenten

Immunzellen, das heißt auf die Mikrogliazellen haben. Wie bereits beschrieben wandern parenchymale Mikrogliazellen während einer Phase der fetalen Hirnentwicklung in das Hirngewebe ein. An diesem Prozess sind vor allem Adhäsionsmoleküle wie das ICAM-1 entscheidend beteiligt (Rezaie et al., 1997; Dalmau et al., 1997). Eine veränderte Funktion oder Affinität des ICAM-1 könnte also bereits in der frühesten Phase der Entstehung der zentralnervösen Immunabwehr eine Störung verursachen.

Es ist zu vermuten, dass das zuvor diskutierte veränderte Bindungsverhalten des ICAM-1 an seine Liganden auch Auswirkungen auf die Extravasation von Immunzellen durch die Blut-Hirnschranke haben dürfte.

Aufgrund des bisher fehlenden Nachweises einer Funktionalität des G241A SNP auf Proteinebene und zur möglichen Erklärung der von unserer Arbeitsgruppe beobachteten erniedrigten sICAM-1 Serumkonzentration bei schizophrenen Patienten, untersuchten wir den möglichen Zusammenhang zwischen ICAM-1 Genotyp und sICAM-1 Serumkonzentration.

Die schizophrenen Patienten wiesen mit durchschnittlich 305,5 ng/ml signifikant erniedrigte sICAM-1 Serumspiegel gegenüber den gesunden Kontrollpersonen (337,7 ng/ml) auf. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen beiden Gruppen hinsichtlich Genotyp- und Allelverteilung, allerdings zeigte der statistische Vergleich der sICAM-1 Serumspiegel bei gesunden Kontrollpersonen, dass heterozygote als auch homozygote Träger des A-Allels signifikant erniedrigte sICAM-1 Serumkonzentrationen aufwiesen als Träger des homozygoten GG Wildtyps (304,5 ng/ml;  $p=0,019$ ). In der Gruppe der schizophrenen Patienten zeigte sich keinerlei Zusammenhang zwischen Polymorphismus und sICAM-1 Serumspiegel.

Die signifikant erniedrigten sICAM-1 Serumkonzentration bei gesunden Kontrollpersonen, die das polymorphe A-Allel aufweisen, geben einen ersten Hinweis auf die Funktionalität des G241A Polymorphismus, die in einer vom Genotyp abhängigen Expression der löslichen Isoform des ICAM-1 bei gesunden Personen besteht. Diese Beobachtung steht im Einklang mit dem Ergebnis einer kürzlich publizierten Studie über den Zusammenhang des sICAM-1 Serumspiegel und dem ICAM-1 G241A SNP (Ponthieux et al., 2003).

Das membranständige ICAM-1 (mICAM-1) wird konstitutiv auf Endothelzellen, Keratinozyten, Leukozyten, Astrozyten und Neuronen exprimiert, wobei proinflammatorische

Zytokine wie IL-2, IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  eine verstärkte Expression induzieren (Boyd et al., 1988; Sobel et al., 1990; Budnik et al., 1996; Miller et al., 1996; Lyons und Benveniste, 1998). Über die Interaktion mit seinen Liganden LFA-1 und MAC-1 überträgt ICAM-1 wie oben beschrieben verschiedene Funktionen wie Leukozytenadhäsion (Springer, 1995) und die Aktivierung von T- und B-Zellen (Siu et al., 1989; Lane et al., 1991). Immunhistochemische und durchflußzytometrische Studien zeigten eine Überexpression von mICAM-1 auf Endothelzellen und zirkulierenden Immunzellen in diversen Autoimmunerkrankungen wie rheumatoider Arthritis (Cush et al., 1993) oder Multipler Sklerose (Bo et al., 1996).

sICAM-1 besteht aus der kompletten extrazellulären Domäne des mICAM-1 und kann im normalen Serum bzw. Plasma nachgewiesen werden (Rothlein et al., 1991; Seth et al., 1991). Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten der Produktion des sICAM-1: Die Synthese über differentielles Splicing der mRNA (Wakatsuki et al., 1995; Komatsu et al., 1997) und die proteolytische Abspaltung der membrangebundenen Form (Budnik et al., 1996; Lyons und Benveniste, 1998). Bislang ging man davon aus, dass die Blutkonzentrationen des sICAM-1 der Expression der membrangebundenen Form entsprechen (Haught et al., 1996) zudem galt sICAM-1 als valider Marker für den Krankheitsverlauf inflammatorischer Erkrankungen (Gearing und Newman, 1993). Während der akuten Exazerbation der Multiplen Sklerose wurden deutlich erhöhte Serum- und Liquorkonzentrationen des sICAM-1 beschrieben (Sharief et al., 1993; Trojano et al., 1996), die gleichzeitig mit Bildgebungsbefunden der Patienten korrelieren (Rieckmann et al., 1997). Allerdings stiegen die sICAM-1 Blutkonzentrationen auch unter Therapie mit IFN- $\beta$  mit deutlicher Besserung der klinischen Symptomatik und einer Reduktion der morphologischen Auffälligkeiten in der Kernspintomographie signifikant an (Trojano et al., 1998; Trojano et al., 1999). Diese konträren Befunde sprechen gegen die alleinige Korrelation von sICAM-1-Konzentration und Schweregrad der Erkrankung und zeigen, dass die Konzentrationen auch von zusätzlichen Faktoren, wie zum Beispiel die hier nachgewiesene Abhängigkeit der sICAM-1 Serumkonzentration vom Genotyp gesunder Personen, abhängen.

Die Ursache der erniedrigten sICAM-1 Konzentrationen bei schizophrenen Patienten und die fehlende Korrelation der sICAM-1 Serumkonzentrationen bei schizophrenen Patienten mit dem Genotyp bleibt weiterhin spekulativ. Es könnte bei schizophrenen Patienten ein krankheits-assoziiertes regulierendes Faktor vorliegen, der den Effekt durch den Genotypen maskiert. Wie in der Einleitung bereits aufgeführt beschreibt die Th1/Th2 Hypothese der Schizophrenie eine Dysbalance mit verminderter zellulärer und verstärkter humoraler

Immunantwort bei einer Subgruppe von schizophrenen Patienten. So produzieren beispielsweise Astrozyten durch den Th-2 Shift das regulatorische IL-10 (Aloisi et al., 2000) und das Th2-typische TGF- $\beta$ , die beide die Expression von MHC II und ICAM-1 auf Makrophagen/Mikroglia hemmen (Hailer et al., 1998), was wiederum zur verminderten T-Zell Aktivierung führt. Zu dieser Beobachtung passt auch der Befund von Bocchio Chiavetto et al., die drei SNPs des IL-10 Gens auf Chromosom 1 (q31-q32), einem Suszeptibilitätsgen in einer Kandidatenregion für Schizophrenie untersucht hat (Bocchio Chiavetto L., 2002). Der bei schizophrenen Patienten signifikant häufiger vorkommende homozygote GCC Genotyp wird mit einer erhöhten IL-10 Produktion assoziiert.

Die Expression von ICAM-1 wird vor allem durch proinflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und IL-2 heraufreguliert. Sowohl für IFN- $\gamma$  als auch für IL-2, zum Beispiel basierend auf dem in dieser Arbeit beschriebenen T330G Polymorphismus, wurden eine verminderte in-vitro Produktion bei schizophrenen Patienten nachgewiesen, so dass ein Überwiegen der Th2-artigen Immunabwehr eine Ursache für die reduzierten sICAM-1 Konzentrationen bei Schizophrenie darstellen könnte. Gleichzeitig wäre damit ein zusätzlicher regulierender Faktor gefunden, der im Gegensatz zu den gesunden Kontrollpersonen die Unabhängigkeit der sICAM-1-Spiegel vom ICAM-1 Genotyp erklären könnte.

#### 4.2 Möglicher Einfluss des IL-2 -330T-Allels auf die Schizophrenie

Einer der am häufigsten replizierten Befunde veränderter Zytokinkonzentrationen bei schizophrenen Patienten gegenüber gesunden Kontrollpersonen ist die deutlich erniedrigte in-vitro Produktion von IL-2 (Ganguli et al., 1992; Yang et al., 1994; Ganguli et al., 1995; Kim et al., 1998; Arolt et al., 2000).

Das Gen für IL-2 liegt auf Chromosom 4q26-q27 (Degraeve et al., 1983) und mehrere Kopplungsuntersuchungen weisen auf einen Risikogenort für Schizophrenie auf dem langen Arm von Chromosom 4, z.B. in der Region 4q22-23, oder 4q31 hin (Kennedy et al., 1999; Mowry et al., 2000). In der Promotorregion, etwa 300 Basenpaare 5' proximal der kodierenden Sequenz des IL-2-Gens, liegen die Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren wie dem Nuclear factor of activated T-cells (NFAT), die für die T-zell-spezifische Transkription des IL-2-Gens verantwortlich sind (Crabtree und Clipstone, 1994). In dieser Region wurde wiederholt ein funktioneller T $\rightarrow$ G SNP auf Position -330 (John et al., 1998) beschrieben, und in-vitro-Studien an anti-CD3/CD28 stimulierten peripheren Blutlymphozyten von 40 gesunden Probanden zeigten, dass Homozygotie für das G-Allel mit



einer früh einsetzenden und lang anhaltenden erhöhten Produktion von IL-2 assoziiert ist (Hoffmann et al., 2001).

Das gehäufte Auftreten des mit verminderter IL-2 Produktion assoziierten T-Allels (Hoffmann et al., 2001) bei schizophrenen Patienten in unserer Untersuchung, steht also im Einklang mit den Berichten über eine reduzierte IL-2-Produktion bei schizophrenen Patienten. Die Korrelation sowohl mit genetischen, als auch mit immunologischen Daten zur Schizophrenie unterstreicht die Relevanz dieses Befundes, so dass der G330T SNP einen bei Kopplungsanalysen beschriebenen Risikogenort für Schizophrenie darstellen könnte.

IL-2 spielt eine zentrale Rolle in der spezifischen Immunantwort, wirkt als Wachstumsfaktor auf T-Zellen, NK-Zellen und B-Zellen und regt die Reifung von Lymphokin-aktivierten Killerzellen an (Arai et al., 1990; Cohen und Cohen, 1996; Feghali und Wright, 1997). Naive T-Zellen können Jahre ohne Zellteilung im Körper existieren. Diese ruhenden T-Zellen können nach Aktivierung wieder in den Zellzyklus eintreten und die durch rasche Zellteilung entstandenen Nachkommen differenzieren zu T-Effektorzellen. Die Proliferation und Differenzierung wird durch Interleukin-2 vermittelt, welches durch die aktivierte T-Zelle selbst produziert wird. Der initiale Kontakt mit einem spezifischen Antigen in Anwesenheit des notwendigen costimulatorischen Signals bewirkt den Eintritt der bisher naiven T-Zelle in die G1-Phase des Zellzyklus. Zur gleichen Zeit wird die Synthese von IL-2 zusammen mit der  $\alpha$ -Kette des IL-2 Rezeptors induziert. Der IL-2 Rezeptor besteht aus drei Ketten:  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ . Ruhende T-Zellen exprimieren eine nur aus  $\beta$ - und  $\gamma$ -Ketten bestehende Form des Rezeptors, welcher IL-2 nur mit moderater Affinität bindet und so ruhenden T-Zellen nur eine Antwort auf sehr hohe IL-2 Konzentrationen zulässt. Die Assoziierung der  $\alpha$ -Kette mit der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Kette bewirkt die Expressierung eines Rezeptors mit erheblich höherer Affinität für IL-2, was der Zelle ermöglicht, bereits auf geringe IL-2 Konzentrationen zu reagieren. Die Bindung von IL-2 an den hochaffinen Rezeptor bewirkt dann die Progression durch den Rest des Zellzyklus und eine klonale Expansion der spezifischen T-Effektorzellen.

Die Antigenerkennung durch den T-Zell Rezeptor induziert die Synthese zahlreicher Transkriptionsfaktoren wie den oben bereits erwähnten NFAT. Dieser Faktor bindet an die Promotorregion des IL-2 Gens, in der ja bekanntlich der von uns untersuchte T→G SNP auf Position -330 liegt, und ist für die Aktivierung der Transkription essentiell. Die IL-2 Gen-Transkription allein bewirkt jedoch nicht die Produktion von IL-2, dieses benötigt zusätzlich die Bindung von B7 an CD28, welches in einer Stabilisierung der IL-2 mRNA und in einer

erhöhten IL-2 mRNA Transkription durch die Aktivierung weiterer Transkriptionsfaktoren (AP-1 und NF $\kappa$ B) resultiert.

Die schwere kombinierte Immundefizienz (SCID) wird mit einer fehlenden IL-2-Produktion durch T-Zellen assoziiert (Pahwa et al., 1989; Weinberg und Parkman, 1990). Diese Patienten weisen nicht nur Zeichen einer Immundefizienz auf, sondern auch Manifestationen von Autoimmunerkrankungen. Allerdings wurde die der Störung zugrunde liegende genetische Läsion bislang nicht identifiziert, sodass nicht klar ist, ob der Phänotyp lediglich eine fehlende IL-2-Antwort reflektiert (Nelson, 2002). Bei einem Patienten konnte jedoch eine Mutation des IL-2- $\alpha$  Rezeptorgens beschrieben werden, die zu einer fehlenden Expression des IL2R $\alpha$  (CD25) führte (Sharfe et al., 1997). Wie oben bereits angeführt kommt die fehlende Expression des IL-2-Rezeptors einem stark reduzierten IL-2-Signal gleich. Demgegenüber führt der bei schizophrenen Patienten häufiger auftretende IL-2 Promotorpolymorphismus zumindest in vitro zu einer reduzierten IL-2-Produktion. Das männliche Kind zeigte verstärkte Empfänglichkeit gegenüber viralen, bakteriellen und Pilzinfektionen und litt bereits im Alter von sechs Monaten unter anderem an einer CMV-Pneumonie und einer Adonovirus-Gastroenteritis. Im Serum konnten erniedrigte Konzentrationen von IgA, normale IgM-Werte und erhöhte IgG-Konzentrationen nachgewiesen werden. Die CD4<sup>+</sup> T-Zellen waren deutlich erniedrigt, was zu einer abnormen CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Ratio von 1:1 (normal: 2:1) führte. In diesen Zusammenhang passt das gehäufte Auftreten positiver Antikörpertiter gegen CMV bei schizophrenen Patienten, welches mit einem durch den IL-2 Promotorpolymorphismus bedingten reduzierten IL-2-Signal assoziiert sein könnte. Auch bestehen Parallelen zwischen dem von Sharfe beschriebenen Fall und schizophrenen Patienten bezüglich der erhöhten IgG-Konzentrationen, die bei schizophrenen Patienten sowohl im Liquor (Muller und Ackenheil, 1995), als auch mit unterschiedlicher Antigenspezifität im Serum beschrieben wurden.

Zu berücksichtigen ist auch, dass eine veränderte IL-2 Produktion, z.B. basierend auf dem Promotorpolymorphismus, vielfältige Auswirkungen auf die Regulation und Expression von anderen Zytokinen und Zytokinrezeptoren hat, beispielsweise auf die Induktion der Produktion von IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  bei Monozyten (Bosco et al., 2000) und TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-10 und diversen Chemokinen bei Lymphozyten durch IL-2 (Nelson, 2002). Zudem werden die Expression der beiden TNF-Rezeptoren, des IL-12-Rezeptors und einiger Chemokinrezeptoren von IL-2 induziert (Nelson, 2002). Dementsprechend weisen Knock-out-Mäuse, denen die Expression des IL-2R $\beta$  fehlt, die also das IL-2-Signal nicht verwerten können, eine extrem gesteigerte Differenzierung von B-

Zellen in Plasmazellen mit daraus resultierenden hohen Serumkonzentrationen von IgG1 und IgE auf (Suzuki et al., 1995). Die von Ramchand und Kollegen berichteten erhöhten IgE-Serumkonzentrationen bei therapieresistenten schizophrenen Patienten (Ramchand et al., 1994) könnten also in Zusammenhang mit einem genetisch bedingt verminderten IL-2-Signal stehen.

IL-2 beeinflusst die neuronale Aktivität und Neurotransmitterausschüttung im Gehirn mit Auswirkungen auf Schlaf, Gedächtnis, Kognition und Lokomotion. In pico- bis nanomolaren Konzentrationen beeinflusst IL-2 zum Beispiel die Differenzierung und das Überleben von Neuronen und Gliazellen. So führt es beispielsweise zu einem verstärkten Neuritenwachstum hippocampaler Neurone und unterstützt das Überleben hippocampaler, corticaler, septaler und cerebellarer Neurone (Sarder et al., 1993). Eine z.B. durch den von uns untersuchten Promotorpolymorphismus verminderte IL-2-Produktion könnte also zu einem verstärkten Untergang hippocampaler, corticaler, septaler und cerebellarer Neurone bei schizophrenen Patienten führen, die mit der Beobachtung einer reduzierten Neuronenzahl im Hippocampus und Frontallappen bei schizophrenen Patienten korrelieren würde (Benes et al., 1986; Benes und Bird, 1987; Benes et al., 1991; Arnold et al., 1995; Goldman-Rakic und Selemon, 1997).

IL-2 moduliert auch die Neurotransmission von Acetylcholin, Dopamin und Noradrenalin in einer dosisabhängig, teilweise biphasischen Weise und erweist sich als spezifischer Regulator der Neurotransmission in Frontalkortex, Hippocampus, Striatum und Hypothalamus (Hanisch und Quirion, 1995; Petitto et al., 1997). In geringen Konzentrationen (100 U/ml) führt es zur Depolarisation hippocampaler Neurone in Kultur, während es in höherer Konzentration (1000 U/ml) eine Hyperpolarisation induziert (Yao et al., 1994). Je nach Menge und Ort der intrathekalen bzw. intracerebralen Applikation von IL-2 führt es zu verstärkter lokomotorischer und explanatorischer Aktivität, oder induziert Sedierung, Schlaf und Synchronisation der elektrokortikalen Aktivität (De Sarro und Nistico, 1990; Nistico und De Sarro, 1991a; Nistico und De Sarro, 1991b).

Das Kletterverhalten von Mäusen gilt als Modell für die Aktivität des dopaminergen Systems, da es von den Dopaminrezeptoren D1 und D2 abhängig ist (Zalcman, 2002). Eine täglich über fünf Tage hinweg durchgeführte intraperitoneale Injektion von IL-2 (0,4 µg/d) führte zur Verdoppelung des Kletterverhaltens. Der Effekt von IL-2 auf das Kletterverhalten war durch D1- oder D2-Rezeptorantagonisten hemmbar (Zalcman, 2002). Dieser Versuch verdeutlicht die Wirkung von IL-2 auf das dopaminerge System. In einem anderen Tierversuch an Mäusen

wurde gezeigt, dass systemisch verabreichtes IL-2 (1,0 µg) zu einer deutlichen Reduktion interstitiellen Dopamins im Nucleus accumbens führt (Song et al., 1999). Auch die Untersuchungen von Lacosta und Kollegen belegen eine Reduktion der dopaminergen Aktivität durch IL-2 (Lacosta et al., 2000).

Bei verminderter in vivo Produktion von IL-2 – beispielsweise bedingt durch den G330T SNP – könnte also dieser dopaminreduzierende Effekt des IL-2 weniger ausgeprägt sein und so zu einer verstärkten dopaminergen Neurotransmission führen, wie sie bei Schizophrenie seit Einführung der ersten Neuroleptika diskutiert wird (Carlsson und Lindqvist, 1963).

Insgesamt steht das häufigere Vorkommens des IL-2 -330 TT-Genotyps bei unseren Untersuchungen im Einklang mit den bisherigen Kopplungsstudien, die einen Risikogenort in der Region des IL-2-Gens beschreiben, als auch mit der bei schizophrenen Patienten beobachteten erniedrigten IL-2 Konzentration, und könnte somit einige der typischen immunologischen Veränderungen bei Schizophrenie erklären. Aufgrund der Auswirkungen von IL-2 auf das Nervensystem korreliert unser Befund zusätzlich mit einigen neurochemischen und neurobiologischen Erklärungsmodellen der Schizophrenie. Zudem lassen die erniedrigte IL-2 Konzentration, z.B. durch den Polymorphismus in der Promotorregion des IL-2 Gens bedingt, als auch die vorher diskutierte verminderte sICAM-1 Konzentration, als kostimulatorisches Signal für die Aktivierung von nativen T-Zellen, den Verdacht auf eine herabgesetzte zelluläre Immunität bei schizophrenen Patienten mit der damit verbundenen erhöhten Empfindlichkeit gegenüber viralen und bakteriellen Erregern zu.

Da man bei der Schizophrenie von einem oligogenen oder polygenen Übertragungsmechanismus ausgeht, kann dieser SNP lediglich einen von vielen Risikogenen für Schizophrenie darstellen. Zudem muss die mögliche Heterogenität der Erkrankung berücksichtigt werden. Dies könnte bedeuten, dass der beschriebene SNP nur für eine Subgruppe schizophrener Patienten einen Risikofaktor darstellen kann. Diese Einschränkungen stehen jedoch im Einklang mit unserem Befund: Das polymorphe Allel kommt, wenn auch seltener, bei gesunden Probanden vor, und ein deutlicher Anteil der schizophrenen Patienten ist homozygot für das Wildtyp-Allel. Bei gesunden Probanden, die das polymorphe Allel tragen fehlen möglicherweise zusätzliche Risikofaktoren für das Auslösen einer Schizophrenie, oder sie verfügen über einen schützenden Mechanismus. Schizophrene Patienten, die den SNP nicht aufweisen, gehören möglicherweise einer anderen Subgruppe der Schizophrenie an.

### 4.3 Keine Assoziation des IL-6-174G→A Polymorphismus mit Schizophrenie

Zahlreiche Publikationen beschreiben erhöhte IL-6 Serumkonzentrationen bei schizophrenen Patienten (Ganguli et al., 1994; Naudin et al., 1996; Frommberger et al., 1997; Lin et al., 1998; Akiyama, 1999; Kim et al., 2000; Maes et al., 2000). Das G-Allel des G174C-SNP in der Promoterregion des Chromosoms 7 (7p21) ist mit erhöhten IL-6-Plasmaspiegeln assoziiert (Fishman et al., 1998). Dieser Befund konnte zwar teilweise nicht repliziert werden, da nur eine Gruppe tendenziell erhöhte IL-6-Serumkonzentrationen bei Trägern des G-Allels fanden (Fernandez-Real et al., 2000), während andere Gruppen keine solche Assoziation beschrieben (Pignatti et al., 2001). Dennoch geben die Daten zumindest einen Hinweis auf die mögliche Assoziation dieses Polymorphismus mit erhöhter IL-6 Produktion.

Die wichtigsten IL-6 produzierenden Zellen stellen Monozyten und Makrophagen dar (Schibler et al., 1992). IL-6 induziert bei proliferierenden B-Zellen die Differenzierung in Plasmazellen und induziert die Produktion von Antikörpern (Barton, 1997; Cerutti et al., 1998). Trotz seiner äußerst pleiotropen Wirkungen wird IL-6 oft unter die Typ-2-typischen Zytokine subsummiert (Li-Weber und Krammer, 2003).

IL-6 und seine Rezeptorkomponenten IL-6R $\alpha$  und gp130 werden auch auf neuronalen Zellen und Gliazellen exprimiert. IL-6 spielt im ZNS nicht nur während Infektionen eine wichtige Rolle, sondern auch bei der Hirnentwicklung und man geht inzwischen davon aus, dass IL-6 auch die Funktion ausgereifter Neurone modulieren kann (Gadient und Otten, 1997b; Juttler et al., 2002). Verschiedene in-vitro Studien an embryonalen kortikalen Neuronen der Ratte zeigten die dosisabhängige Eigenschaft von IL-6, die Anzahl der sich entwickelnden Neurone im Gehirn zu reduzieren (Jarskog et al., 1997; Marx et al., 2001). Ein Genpolymorphismus mit Auswirkung auf die Produktion von IL-6 könnte also in Zusammenhang mit einer gestörten oder zumindest veränderten Hirnentwicklung stehen. Aufgrund der berichteten histologisch/morphologischen Auffälligkeiten in Gehirnen schizophrener Patienten bezüglich Anzahl und Größe der Neurone oder Ausbildung der synaptischen Verbindungen (Rajkowska et al., 1998; Young et al., 2000; Glantz und Lewis, 2000), wäre ein solcher Genpolymorphismus ein geeigneter Kandidat für genetische Untersuchungen bei schizophrenen Patienten.

In der von uns untersuchten Gruppe schizophrener Patienten trat das polymorphe G-Allel allenfalls tendenziell etwas häufiger auf als bei gesunden Kontrollpersonen und erreichte nicht das Signifikanzniveau von 0,050 ( $p=0,086$ ). Bei polygenem Übertragungsmodus und der

wahrscheinlichen Heterogenität der Erkrankung würde man zwar in der Gesamtgruppe der schizophrenen Patienten keinen starken Effekt einzelner Gene erwarten, allerdings gelang es auch hier nicht, eine Subgruppe schizophrener Patienten anhand klinischer oder immunologischer Parameter zu definieren, die durch ein signifikant gehäuftes Auftreten des IL-6 -174 G-Allels gekennzeichnet ist. Insgesamt kann also nicht gezeigt werden, dass der hier beschriebene IL-6 Polymorphismus einen klaren Beitrag für das Gesamtrisiko an Schizophrenie zu erkranken leistet.

4.4 Keine Assoziation des G308A Polymorphismus des TNF- $\alpha$  Gens mit der Schizophrenie  
Bei der Untersuchung des G308A Polymorphismus des TNF- $\alpha$  Gens auf Chromosom 6 konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Allelfrequenz und Genotypverteilung zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen festgestellt werden. Allerdings fiel beim geschlechtsspezifischen Vergleich ein häufigeres Auftreten des homozygoten G-Allels bei schizophrenen Männern (76%) im Vergleich zu gesunden männlichen Kontrollpersonen auf (64%;  $X^2=4,261$ ;  $df=1$ ;  $p=0,039$ ).

Das Gen für TNF- $\alpha$  liegt in der HLA-III-Region auf Chromosom 6p21.3 (Wilson et al., 1997). Da wiederholt Kopplungsanalysen auf diese Region als Risikogenort für Schizophrenie hinweisen (Wright et al., 2001; Schwab et al., 2003a), ist auch das TNF- $\alpha$  Gen ein interessantes Kandidatengen für die Schizophrenie. Für den biallelen Basenaustausch wird ein direkter Effekt auf den TNF- $\alpha$  Plasmaspiegel beschrieben. Einige Autoren fanden eine erhöhte Transkription, verbunden mit einer erhöhten TNF- $\alpha$ -Produktion, bei Vorliegen des TNF2-Allels (homozygot AA) (Allen, 1999), andere allerdings unveränderte Plasmaspiegel (Stuber et al., 1995; Tarkowski et al., 2000)Ugialoso 1998).

TNF-alpha wird von Makrophagen, Lymphozyten und Mastzellen gebildet und trägt zur Immunantwort gegen Pathogene über verschiedene Mechanismen einschließlich der Aktivierung sekundärer und tertiärer Lymphorgane, der Stimulation von NK- und T Zell-Differenzierung, sowie als direkt agierendes Effektormolekül in der Abwehrreaktion bei (Locksley et al., 2001). Das über die TNF-Rezeptoren übertragene Signal kann prinzipiell in zwei verschiedene Signaltransduktionswege eingeteilt werden, zum einen induziert es die Apoptose über die sogenannte zytoplasmatische ‚Death Domain‘ (DD) durch Interaktion mit den auf Körperzellen exprimierten sogenannten Todesrezeptoren Fas und TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand), zum anderen löst es eine inflammatorischen

Immunreaktion und/oder das Überleben der Zellen über den sogenannten TNF-Rezeptor-assoziierten Faktor (TRAF) aus (Benedict, 2003).

Viren wie z.B. CMV (Browne et al., 2001), HSV (Raftery et al., 1999) und HIV (Xu et al., 1999) nutzen den erstgenannten Signaltransduktionsweg, indem sie beispielsweise den Fas-Liganden (FasL) oder TRAIL infizierter Zellen induzieren und so die infizierte Zellen gegen Angriffe zytotoxischer Zellen schützen, indem bei diesen durch die Liganden der Todesrezeptoren die Apoptose auslösen (Benedict, 2003). So wurde beispielsweise im Falle des Cytomegalievirus eine FasL/TRAIL-abhängige Apoptose aktivierter T-Zellen nach Inkubation dendritischer Zellen mit CMV beobachtet (Raftery et al., 1999). Diese Beispiele verdeutlichen die entscheidende Rolle des TNF-Systems in der antiviralen Abwehrreaktion, die so groß ist, dass es für diverse Viren einen evolutionären Vorteil bedeutet, direkt auf dieses System einzuwirken.

In diesem Zusammenhang ist von Bedeutung, dass der von uns untersuchte Promotorpolymorphismus nach einer Studie von Hurme und Helminen auch mit einem erhöhten Risiko für CMV-Infektion assoziiert ist. 70% von 315 anti-CMV seropositiven Personen, aber nur 61% von 85 seronegativen waren homozygot für das G-Allel, während lediglich 28% der seropositiven, aber 37% der seronegativen heterozygote Träger des polymorphen A-Allels waren (Hurme und Helminen, 1998). Bezogen auf diese Beobachtung könnte das häufigere Auftreten der Homozygotie für das G-Allel bei schizophrenen Männern (76%) im Vergleich zu gesunden männlichen Kontrollpersonen (64%;  $X^2=4,261$ ;  $df=1$ ;  $p=0,039$ ) durchaus Relevanz haben. Wegen der herausragenden Bedeutung des TNF- $\alpha$  in der antiviralen Abwehrreaktion ist eine veränderte Empfänglichkeit gegenüber Virusinfektionen eine der wahrscheinlichsten Konsequenzen des Polymorphismus.

Das häufigere Auftreten der Homozygotie für das G-Allel bei schizophrenen Männern im Vergleich zu gesunden männlichen Kontrollpersonen bestätigt auch die deutsch-israelische Arbeitsgruppe um Wildenauer und Lerer, die den -308 SNP in 79 Familien mit gehäuft auftretender Schizophrenie und bei 128 schizophrenen Patienten im Vergleich zu ihren beiden Elternteilen untersuchte. Der Transmissions-Disequilibrium-Test zeigte eine deutliche Assoziation des G-Allels mit Schizophrenie (Mondabon et al., 2002). In einer erweiterten Studie mit insgesamt 207 Familien bestätigte sich die Assoziation des G-Allels mit Schizophrenie (Schwab et al., 2003b).

Im Gegensatz zu unserem Untersuchungsergebnis konnte Boin et al. (Boin et al., 2001) eine Assoziation von G308A Polymorphismus und Schizophrenie herstellen. Bei der

Untersuchung von 84 schizophrenen Patienten (polymorphes A-Allel 21%) und 138 gesunden Kontrollen (polymorphes A-Allel 11%) in Norditalien konnte Boin et al. eine hochsignifikante Assoziation des A-Allels ( $p=0.00042$ ) und der Genotypverteilung ( $p=0.002$ ) bei schizophrenen Patienten herstellen. In dieser Studie war keine der 138 Kontrollpersonen, aber 6 der 84 schizophrenen Patienten (7%) homozygot für das A-Allel.

In der von uns publizierten Replikationsstudie fanden wir wie oben bereits angeführt keine Assoziation des -308 SNP mit Schizophrenie (Riedel et al., 2002). Wir diskutierten dieses widersprechende Ergebnis mit möglichen ethnischen Unterschieden in der Genotypverteilung, die bereits in anderen Studien belegt worden war: So fand sich eine signifikante Reduktion des A-Allels bei M. Bechterew-Patienten aus Süddeutschland, nicht jedoch bei solchen aus Großbritannien (Milicic et al., 2000) und das A-Allel korrelierte mit Asthma in einer Population aus Großbritannien, nicht aber in einer aus Südasien (Winchester et al., 2000). Gallagher wies bereits auf die großen ethnischen Unterschiede in der Häufigkeit des A-Allels hin (Gallagher et al., 1997). Als weitere Erklärungsmöglichkeit diskutierten wir ein statistisches Artefakt aufgrund der geringen Fallzahlen. Die Ergebnisse von Boin wurde erst vor kurzem durch eine brasilianische Studie bestätigt, bei der 4,5% der 186 untersuchten schizophrenen Patienten, aber nur bei 1% der 657 gesunden Kontrollen Homozygotie für das A-Allel aufwies, während Heterozygotie mit 23,5% vs. 21% etwa gleich häufig auftrat (Meira-Lima et al., 2003). Im Gegensatz dazu konnte eine australische Gruppe in vier Kohorten schizophrener Patienten unterschiedlicher ethnischer Herkunft aus dem asiatisch-pazifischen Raum keine Assoziation des -308 SNP mit Schizophrenie nachweisen. Lediglich in einer der untersuchten Populationen zeigte sich tendenziell ein gehäuftes Vorkommen des G- und nicht des A-Allels bei Schizophrenie (Handoko et al., 2003). Auch eine Studie aus Korea fand keinen Zusammenhang zwischen Schizophrenie und dem TNF Promotorpolymorphismus (Pae et al., 2003). Zudem fand sich weder ein Zusammenhang mit der Subgruppe der paranoid-halluzinatorischen Schizophrenie, noch mit dem Geschlecht der Patienten.

Eine weitere Funktion des TNF- $\alpha$  steht offenbar in direktem Zusammenhang mit der unter antipsychotischer Therapie, speziell unter atypischen Neuroleptika, beobachteten Gewichtszunahme. TNF- $\alpha$  wird von Adipozyten produziert (Kern et al., 2001) und spielt so eine Schlüsselrolle in der para- und autokrinen Kontrolle der Adipozytenfunktion (Warne, 2003). Zirkulierendes TNF- $\alpha$  ist bei adipösen Menschen erhöht und nimmt bei Gewichtsabnahme ab (Dandona et al., 1998). In Bezug auf die Gewichtszunahme bei Neuroleptikaeinnahme ist bekannt, dass Clozapin die Serumkonzentrationen von TNF- $\alpha$  und



Leptin erhöht (Pollmacher et al., 1996), (Haack et al., 1999) indem es die Freisetzung von Leptin aus Adipozyten induzieren kann (Argiles et al., 1997; Auwerx und Staels, 1998). Basierend auf diesen Daten wurde der G-308A SNP des TNF- $\alpha$  Promotors in Zusammenhang mit Gewichtszunahme unter Clozapintherapie untersucht (Basile et al., 2001). Hierbei nahmen homozygote Träger des A-Allels doppelt so hoch an Gewicht zu, wie Träger des G-Allels. Da eine Metaanalyse mehrerer Studien zur funktionellen Relevanz des -308 SNP eine dreifach erhöhte Produktion des TNF bei homozygoten Trägern des A-Allels nachgewiesen wurde (Allen, 1999), könnte hier ein kausaler Zusammenhang vorliegen.

#### 4.5 Mögliche Auswirkungen der Immungenetik auf die Immunpathophysiologie bei Schizophrenie

Bereits 1991 beschrieb die Arbeitsgruppe um Norbert Müller eine deutlich verminderte zelluläre Immunreaktion bei schizophrenen Patienten: Auf in-vitro-Stimulation mit Tuberculin, einem typischen Induktor der Th1-Antwort, reagierten Lymphozyten von schizophrenen Patienten deutlich schwächer als Lymphozyten gesunder Kontrollpersonen (Muller et al., 1991b). Als zusätzlicher indirekter Hinweis auf eine reduzierte zelluläre Immunreaktion bei schizophrenen Patienten könnte auch die mehrfach replizierte negative Korrelation zwischen Schizophrenie und rheumatoider Arthritis gewertet werden (Vinogradov et al., 1991).

Die erniedrigte IL-2 Konzentration, z.B. durch den Polymorphismus in der Promotorregion des IL-2 Gens bedingt, als auch die vorher diskutierte verminderte sICAM-1 Konzentration, als kostimulatorisches Signal für die Aktivierung von nativen T-Zellen, unterstützen die Hypothese einer herabgesetzten zellulären Immunität bei schizophrenen Patienten.

Der IL-2 G330T SNP und das häufigere Auftreten des homozygoten G-Allels des G308A Polymorphismus im TNF- $\alpha$  Gen bei schizophrenen Männern, könnte zudem eine genetische Prädisposition für eine veränderte Virusabwehr darstellen. Dies ist besonders hinsichtlich der bereits in der Einleitung angeführten Hypothese interessant, in der eine pränatale Virusinfektion während der Hirnreifung zu Hirnentwicklungsstörungen führt (Marengo und Weinberger, 2000) (Yolken et al., 2000). Ein genetischer Faktor, der die Virusabwehr des Feten beeinflusst, könnte zudem eine Verbindung zwischen Heredität und Umweltfaktoren darstellen (Yolken et al., 2000). ICAM-1 könnte einer dieser Faktoren sein, da es während einer Virusinfektion sowohl die Antigenpräsentation als auch die Aktivierung des zellulären Immunsystems reguliert (Marker et al., 1995). Bei Patienten mit aktiver Hepatitis C wurde ein deutliches Überwiegen der Th1-Antwort beschrieben, während bei chronisch persistierender

Hepatitis C ohne Aggressivität der Immunreaktion ein Überwiegen der Th2-Zellen beobachtet wurde (Tsai et al., 1997). Es konnte auch gezeigt werden, dass Th2-Zellen eine proinflammatorische Reaktion nach Virusinfektion im Gehirn unterdrücken (Gimsa et al., 2001). Es besteht also ein Zusammenhang zwischen einer latenten, chronifizierten Virusinfektion und der durch verminderte IL-2 Expression und erniedrigte sICAM-1 Konzentration Th2-dominierten Immunabwehr.

Die Rolle von ICAM-1 in der Aktivierung der zellulären Immunantwort ist so herausragend, dass die Hemmung des ICAM-1 als neue Strategie in der Therapie von Autoimmunerkrankungen verfolgt wird (Anderson und Sahaan, 2003). Die Hemmung des ICAM-1-Signals führt dabei zu einer deutlich erhöhten Produktion der Th2-Zytokine IL-4 und IL-5 (Salomon und Bluestone, 1998).

Bei der Therapie mit atypischen Neuroleptika wie Clozapin kommt es zu einer Verschiebung der Zytokinproduktion in Richtung Th1-typischer Zytokine. Auch *in vitro* wurde nachgewiesen, dass Neuroleptika einen Shift von Th2-dominiert hin zu Th1-typischer Zytokinproduktion induzieren (Song et al., 2000). Eine gezielte Beeinflussung der Th1/Th2-Balance könnte aufgrund dieser Beobachtung, und der in dieser Arbeit untermauerten Hypothese einer reduzierten zellulären Immunantwort bei schizophrenen Patienten, eine neue Strategie in der Therapie der Schizophrenie darstellen. Es stellt sich also die Frage, ob die gezielte Verschiebung der Th1/Th2-Balance durch Minderung der Th2-Prädominanz einen positiven therapeutischen Effekt bei schizophrenen Patienten haben könnte.

Die Beeinflussung der Th1/Th2-Balance wurde bei Inhibitoren der Cyclooxygenase-2 (COX-2) beschrieben. Die COX-2 stimuliert über die Produktion von Prostaglandin E<sub>2</sub> eine verstärkte Produktion der Th2-Zytokine IL-6 und IL-10 und inhibiert die Synthese des Th1-Zytokins IL-12. Durch Hemmung der COX-2 wird entsprechend die Produktion von IL-10 gehemmt und die Produktion von IL-12 stimuliert (Hinson et al., 1996; Hilkens et al., 1996).

In einer doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie konnte an insgesamt 50 Patienten gezeigt werden, dass der COX-2 Inhibition zu einer deutlich schnelleren Besserung der schizophrenen Symptomatik führt (Müller et al., 2002).

Weitere, den Mechanismus der veränderten Immunantwort bei schizophrenen Patienten aufklärende Untersuchungen werden helfen, die Pathophysiologie der Schizophrenie besser zu verstehen, um neue Angriffspunkte für eine immunmodulierende Therapie der Schizophrenie zu definieren..

#### 4.6 Methodische Einflussgrößen bei der Untersuchung von SNPs

Fall-Kontroll Studien sind besonders anfällig für falsch positive Befunde, da Patienten- und Kontrollgruppen aus verschiedenen Bevölkerungsgruppen zusammengesetzt sind. Infolge von Unterschieden in der Häufigkeit eines genetischen Merkmals, bei dieser Arbeit also eines SNPs, in unterschiedlichen ethnischen Bevölkerungsgruppen, kann die Assoziation einer bestimmten Ausprägung eines Polymorphismus mit einer Bevölkerungsgruppe, die Assoziation mit der Erkrankung vortäuschen.

Ein weiteres Problem bei der Identifizierung der risikomodulierenden Gene in den durch Kopplungsanalysen ermittelten Kandidatenregionen für die Schizophrenie ist die jeweilige Breite der Region (ca. 20 cM), so dass die weitere Eingrenzung dieser Regionen und die Identifikation von Suszeptibilitätsgenen entweder Zufall, zum Beispiel durch eine geringe Gendichte der Region, oder voraussichtlich langfristige systematische Suche erfordert. In unserem Fall erscheint die Auswahl der untersuchten Polymorphismen in den Kandidatenregionen aufgrund der Funktionalität der SNPs, und auf deren mögliche Auswirkungen auf die bereits vorher beschriebenen Veränderungen in der Immunpathologie der Schizophrenie, sinnvoll. Die Tatsache, dass diese Genloci nicht zuvor durch Linkage Analysen beschrieben wurden könnte auf der viel zu geringen Sensitivität dieser Methode beruhen, die Vielzahl der postulierten Gene zu entdecken.

Eine weitere Einflussgröße für die Fall-Kontroll Studie stellt das erhöhte Durchschnittsalter der gesunden Kontrollpersonen gegenüber den schizophrenen Patienten dar. Da allerdings für die von uns rekrutierten gesunden Kontrollen, die das Risikoalter für das Auftreten einer Schizophrenie noch nicht vollständig durchlebt haben, eine spätere Erkrankung an Schizophrenie nicht generell auszuschließen ist, erscheint das höhere Alter der Kontrollpersonen gegenüber den schizophrenen Patienten eher als Vorteil, da so Spätmanifestationen unwahrscheinlicher werden.

#### 4.7 Schlussfolgerung

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass die hier gewonnenen Befunde und Schlussfolgerungen einen möglichen Zusammenhang zwischen Heredität der Erkrankung, Anfälligkeit für bestimmte äußere Einflussfaktoren, wie zum Beispiel eine Virusinfektion, und dem immunologischen Phänotyp für eine Subgruppe der Schizophrenie herstellen. Entscheidend ist, dass die Modulation des Immunsystems nicht auf ein einzelnes Zytokin oder

einen einzigen SNP zurückzuführen ist, sondern vielmehr ein komplexes Zusammenspiel von Molekülen mit verschiedenen und teilweise entgegengesetzten Wirkungen ein Equilibrium bewirkt, das bei dem Auftreten der Schizophrenie gestört ist. Die Untersuchung genetischer Polymorphismen stellt einen nützlichen Versuch dar, die Ätiologie der Schizophrenie besser zu verstehen, aber es bedarf noch einer weitreichenden Zahl weiterer Untersuchungen zur genaueren Definition der Haplotyp-Verteilung bezogen auf die Schizophrenie und vor allem auf die Unterteilung in weitere Subgruppen.

## 5 Zusammenfassung

Eine genetische Komponente in der Ätiologie der Schizophrenie gilt durch genetische epidemiologische Studien als gesichert.

In dieser Arbeit wurde eine Reihe von Kandidatengenstudien im Fall-Kontroll-Design durchgeführt. Basierend auf den zahlreichen Hinweisen auf eine Beteiligung des Immunsystems an der Ätiogenese und Pathophysiologie der Schizophrenie und speziell basierend auf der Hypothese zur Imbalance des Th1/Th2-Gleichgewichtes bei schizophrenen Patienten wählten wir als Kandidatengene solche aus, die für Zytokine kodieren, denen eine herausragende Rolle in der Th1/Th2-Balance und/oder in der antiviralen Abwehrreaktion des Körpers zukommt. Zudem untersuchten wir das für das Adhäsionsmolekül ICAM-1 kodierende Gen, nachdem eigene Voruntersuchungen auf eine veränderte Expression dieses Adhäsionsmoleküls bei schizophrenen Patienten hingewiesen hatten. In diesem Zusammenhang bestimmten wir erneut die sICAM-1 Serumkonzentration in einer Subgruppe von 70 schizophrenen Patienten und 129 gesunden Kontrollen und untersuchten die mögliche Assoziation mit dem ICAM-1 Genotyp.

Insgesamt wurden 263 schizophrene Patienten und 275 gesunde Kontrollpersonen hinsichtlich der folgenden Kandidatengene untersucht:

- IL-2 T→G SNP auf Position –330 in der Promotorregion (Chromosom 4q26-q27); IL-2 ist ein typisches Th1-Zytokin.
- IL-6 G→A SNP auf Position –174 in der Promotorregion (Chromosom 7p21); IL-6 ist ein typisches Th2-Zytokin.
- TNF- $\alpha$  G→A SNP auf Position –308 in der Promotorregion (Chromosom 6p21.3); TNF- $\alpha$  ist maßgeblich an der antiviralen Immunabwehr beteiligt.
- ICAM-1 G→A auf Position 241 und A→G auf Position 469 in der kodierenden Region des Gens (Chromosom 19p13.3-p13.2); ICAM-1 ist wie oben beschrieben ein Adhäsionsmolekül.

Bei der Untersuchung des T330G SNP des IL-2 Gens zeigte sich ein signifikant häufigeres Auftreten des homozygoten T-Allels bei schizophrenen Patienten als bei gesunden Kontrollpersonen ( $X^2=8,016$ ;  $df=2$ ;  $p=0,018$ ). Die Untersuchung des G174A SNP in der Promotorregion des für IL-6 kodierenden Gens, des G308A Polymorphismus des TNF- $\alpha$  Gens, des A241G SNP sowie des A469G SNP des ICAM-1 Gens erbrachten keine signifikanten Unterschiede.

Der Befund zum IL-2 -330 T→G SNP bestätigt die Hypothese, dass Polymorphismen in Genen die für Immunfaktoren kodieren, mit Schizophrenie assoziiert sind. Zudem sprechen die Ergebnisse zum TNF- $\alpha$  -308 G→A SNP und zum ICAM-1 241 G→A SNP für unterschiedliche (immun-)genetische Risikofaktoren bei männlichen und weiblichen schizophrenen Patienten.

Unsere bereits publizierten Vorbefunde von erniedrigten Serumkonzentrationen von sICAM-1 bei schizophrenen Patienten ließen sich bestätigen.

Zudem konnten wir unsere Arbeitshypothese, dass die erniedrigten sICAM-1 Konzentrationen bei schizophrenen Patienten auf einer genetischen Disposition im ICAM-1 Gen beruhen, nicht bestätigen. Es müssen also andere Faktoren, wie zum Beispiel ein krankheits-assoziiertes Faktor bei schizophrenen Patienten, die erniedrigten Konzentrationen verursachen. In diesem Zusammenhang könnte das Überwiegen der Th2-artigen Immunabwehr die Ursache für die reduzierten sICAM-1 Konzentrationen bei Schizophrenie darstellen

Die signifikant erniedrigte sICAM-1 Serumkonzentration bei gesunden Kontrollen, die das polymorphe A-Allel aufweisen, geben einen ersten Hinweis auf die Funktionalität des Polymorphismus

## 6 Literaturverzeichnis

Abi-Dargham,A., Gil,R., Krystal,J., Baldwin,R.M., Seibyl,J.P., Bowers,M., van Dyck,C.H., Charney,D.S., Innis,R.B., und Laruelle,M. (1998). Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am. J. Psychiatry* 155, 761-767.

Achiron,A., Noy,S., Pras,E., Lereya,J., Hermesh,H., und Laor,N. (1994). T-cell subsets in acute psychotic schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 35, 27-31.

Adams,F., Quesada,J.R., und Gutterman,J.U. (1984). Neuropsychiatric manifestations of human leukocyte interferon therapy in patients with cancer. *JAMA* 252, 938-941.

Akiyama,K. (1999). Serum levels of soluble IL-2 receptor alpha, IL-6 and IL-1 receptor antagonist in schizophrenia before and during neuroleptic administration. *Schizophr. Res.* 37, 97-106.

Allen,R.D. (1999). Polymorphism of the human TNF-alpha promoter--random variation or functional diversity? *Mol. Immunol.* 36, 1017-1027.

Aloisi,F., Ria,F., und Adorini,L. (2000). Regulation of T-cell responses by CNS antigen-presenting cells: different roles for microglia and astrocytes. *Immunol. Today* 21, 141-147.

Anderson,M.E. und Siahaan,T.J. (2003). Targeting ICAM-1/LFA-1 interaction for controlling autoimmune diseases: designing peptide and small molecule inhibitors. *Peptides* 24, 487-501.

Arai,K.I., Lee,F., Miyajima,A., Miyatake,S., Arai,N., und Yokota,T. (1990). Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Annu. Rev. Biochem.* 59, 783-836.

Argiles,J.M., Lopez-Soriano,J., Busquets,S., und Lopez-Soriano,F.J. (1997). Journey from cachexia to obesity by TNF. *FASEB J.* 11, 743-751.

Arnold,S.E., Franz,B.R., Gur,R.C., Gur,R.E., Shapiro,R.M., Moberg,P.J., und Trojanowski,J.Q. (1995). Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *Am. J. Psychiatry* 152, 738-748.

Arolt,V., Rothermundt,M., Wandinger,K.P., und Kirchner,H. (2000). Decreased in vitro production of interferon-gamma and interleukin-2 in whole blood of patients with schizophrenia during treatment. *Mol. Psychiatry* 5, 150-158.

Auwerx,J. und Staels,B. (1998). Leptin. *Lancet* 351, 737-742.

Aversa,G., Punnonen,J., Cocks,B.G., de Waal,M.R., Vega,F., Zurawski,S.M., Zurawski,G., und de Vries,J.E. (1993). An interleukin 4 (IL-4) mutant protein inhibits both IL-4 or IL-13-induced human immunoglobulin G4 (IgG4) and IgE synthesis and B cell proliferation: support for a common component shared by IL-4 and IL-13 receptors. *J. Exp. Med.* 178, 2213-2218.

- Baker, I., Masserano, J., und Wyatt, R.J. (1996). Serum cytokine concentrations in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* *20*, 199-203.
- Banchereau, J., Blanchard, D., Briere, F., Galizzi, J.P., Garrone, P., Hermann, P., Lebecque, S., und Rousset, F. (1993). Role of cytokines in human B lymphocyte growth and differentiation. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* *35*, 61-66.
- Barak, V., Barak, Y., Levine, J., Nisman, B., und Roisman, I. (1995). Changes in interleukin-1 beta and soluble interleukin-2 receptor levels in CSF and serum of schizophrenic patients. *J. Basic Clin. Physiol Pharmacol.* *6*, 61-69.
- Baron, M., Stern, M., Anavi, R., und Witz, I.P. (1977). Tissue-binding factor in schizophrenic sera: a clinical and genetic study. *Biol. Psychiatry* *12*, 199-219.
- Barton, B.E. (1997). IL-6: insights into novel biological activities. *Clin. Immunol. Immunopathol.* *85*, 16-20.
- Bartova, L., Rajcani, J., und Pogady, J. (1987). Herpes simplex virus antibodies in the cerebrospinal fluid of schizophrenic patients. *Acta Virol.* *31*, 443-446.
- Basile, V.S., Masellis, M., McIntyre, R.S., Meltzer, H.Y., Lieberman, J.A., und Kennedy, J.L. (2001). Genetic dissection of atypical antipsychotic-induced weight gain: novel preliminary data on the pharmacogenetic puzzle. *J. Clin. Psychiatry* *62 Suppl 23*, 45-66.
- Bassett, A.S. und Chow, E.W. (1999). 22q11 deletion syndrome: a genetic subtype of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *46*, 882-891.
- Becker, D., Kritschmann, E., Floru, S., Shlomo-David, Y., und Gotlieb-Stematsky, T. (1990). Serum interferon in first psychotic attack. *Br. J. Psychiatry* *157*, 136-138.
- Ben-Shachar D., Livne, E., Spanier, I., Leenders, K.L., und Youdim, M.B. (1994). Typical and atypical neuroleptics induce alteration in blood-brain barrier and brain <sup>59</sup>FeCl<sub>3</sub> uptake. *J. Neurochem.* *62*, 1112-1118.
- Benedict, C.A. (2003). Viruses and the TNF-related cytokines, an evolving battle. *Cytokine Growth Factor Rev.* *14*, 349-357.
- Benes, F.M. (2000). Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. *Brain Res. Brain Res. Rev.* *31*, 251-269.
- Benes, F.M. und Bird, E.D. (1987). An analysis of the arrangement of neurons in the cingulate cortex of schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* *44*, 608-616.
- Benes, F.M., Davidson, J., und Bird, E.D. (1986). Quantitative cytoarchitectural studies of the cerebral cortex of schizophrenics. *Arch. Gen. Psychiatry* *43*, 31-35.
- Benes, F.M., McSparren, J., Bird, E.D., SanGiovanni, J.P., und Vincent, S.L. (1991). Deficits in small interneurons in prefrontal and cingulate cortices of schizophrenic and schizoaffective patients. *Arch. Gen. Psychiatry* *48*, 996-1001.
- Bienvenu, J., Monneret, G., Fabien, N., und Revillard, J.P. (2000). The clinical usefulness of the measurement of cytokines. *Clin. Chem. Lab Med.* *38*, 267-285.



- Bo, L., Peterson, J.W., Mork, S., Hoffman, P.A., Gallatin, W.M., Ransohoff, R.M., und Trapp, B.D. (1996). Distribution of immunoglobulin superfamily members ICAM-1, -2, -3, and the beta 2 integrin LFA-1 in multiple sclerosis lesions. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55, 1060-1072.
- Bogdan, C. und Nathan, C. (1993). Modulation of macrophage function by transforming growth factor beta, interleukin-4, and interleukin-10. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 685, 713-739.
- Bogerts, B. (1999a). The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 249 Suppl 4, 2-13.
- Bogerts, B. (1999b). The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 249 Suppl 4, 2-13.
- Boiardi, L., Salvarani, C., Casali, B., Olivieri, I., Ciancio, G., Cantini, F., Salvi, F., Malatesta, R., Govoni, M., Trotta, F., Filippini, D., Paolazzi, G., Nicoli, D., Farnetti, E., und Macchioni, L. (2001). Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behcet's Disease. *J. Rheumatol.* 28, 1283-1287.
- Boin, F., Zanardini, R., Pioli, R., Altamura, C.A., Maes, M., und Gennarelli, M. (2001). Association between -G308A tumor necrosis factor alpha gene polymorphism and schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 6, 79-82.
- Bosco, M.C., Curiel, R.E., Zea, A.H., Malabarba, M.G., Ortaldo, J.R., und Espinoza-Delgado, I. (2000). IL-2 signaling in human monocytes involves the phosphorylation and activation of p59hck. *J. Immunol.* 164, 4575-4585.
- Boyd, A.W., Wawryk, S.O., Burns, G.F., und Fecondo, J.V. (1988). Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) has a central role in cell-cell contact-mediated immune mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 85, 3095-3099.
- Browne, E.P., Wing, B., Coleman, D., und Shenk, T. (2001). Altered cellular mRNA levels in human cytomegalovirus-infected fibroblasts: viral block to the accumulation of antiviral mRNAs. *J. Virol.* 75, 12319-12330.
- Bruce, L.C. und Peebles, A.M.S. (1903). Clinical and experimental observations in catatonia. *J. Ment. Sci.* 49, 614-628.
- Budnik, A., Grewe, M., Gyufko, K., und Krutmann, J. (1996). Analysis of the production of soluble ICAM-1 molecules by human cells. *Exp. Hematol.* 24, 352-359.
- Cardno, A.G. und Gottesman, I.I. (2000). Twin studies of schizophrenia: From bow-and-arrow concordances to Star Wars Mx and functional genomics. *Am. J. Med. Genet.* 97, 12-17.
- Carlsson, A. und Lindqvist, M. (1963). Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and norepinephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol.* 20, 140-144.
- Carson, M.J., Sutcliffe, J.G., und Campbell, I.L. (1999). Microglia stimulate naive T-cell differentiation without stimulating T-cell proliferation. *J. Neurosci. Res.* 55, 127-134.
- Cash, E., Zhang, Y., und Rott, O. (1993). Microglia present myelin antigens to T cells after phagocytosis of oligodendrocytes. *Cell Immunol.* 147, 129-138.

- Cassatella, M.A., Meda, L., Bonora, S., Ceska, M., und Constantin, G. (1993). Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.* *178*, 2207-2211.
- Cazzullo, C.L., Saresella, M., Roda, K., Calvo, M.G., Bertrando, P., Doria, S., Clerici, M., Salvaggio, A., und Ferrante, P. (1998). Increased levels of CD8+ and CD4+ 45RA+ lymphocytes in schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* *31*, 49-55.
- Cerutti, A., Zan, H., Schaffer, A., Bergsagel, L., Harindranath, N., Max, E.E., und Casali, P. (1998). CD40 ligand and appropriate cytokines induce switching to IgG, IgA, and IgE and coordinated germinal center and plasmacytoid phenotypic differentiation in a human monoclonal IgM+IgD+ B cell line. *J. Immunol.* *160*, 2145-2157.
- Chen, W.F. und Zlotnik, A. (1991). IL-10: a novel cytotoxic T cell differentiation factor. *J. Immunol.* *147*, 528-534.
- Coffey, C.E., Sullivan, J.L., und Rice, J.R. (1983). T lymphocytes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *18*, 113-119.
- Cohen, M.C. und Cohen, S. (1996). Cytokine function: a study in biologic diversity. *Am. J. Clin. Pathol.* *105*, 589-598.
- Crabtree, G.R. und Clipstone, N.A. (1994). Signal transmission between the plasma membrane and nucleus of T lymphocytes. *Annu. Rev. Biochem.* *63*, 1045-1083.
- Crocq, M.A., Mant, R., Asherson, P., Williams, J., Hode, Y., Mayerova, A., Collier, D., Lannfelt, L., Sokoloff, P., Schwartz, J.C., und . (1992). Association between schizophrenia and homozygosity at the dopamine D3 receptor gene. *J. Med. Genet.* *29*, 858-860.
- Croft, M. und Dubey, C. (1997). Accessory molecule and costimulation requirements for CD4 T cell response. *Crit Rev. Immunol.* *17*, 89-118.
- Cush, J.J., Rothlein, R., Lindsley, H.B., Mainolfi, E.A., und Lipsky, P.E. (1993). Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in the sera of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* *36*, 1098-1102.
- D'Andrea, A., Rengaraju, M., Valiante, N.M., Chehimi, J., Kubin, M., Aste, M., Chan, S.H., Kobayashi, M., Young, D., Nickbarg, E., und et.a. (1992). Production of natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12) by peripheral blood mononuclear cells. *J. Exp. Med.* *176*, 1387-1398.
- Dalmau, I., Vela, J.M., Gonzalez, B., und Castellano, B. (1997). Expression of LFA-1alpha and ICAM-1 in the developing rat brain: a potential mechanism for the recruitment of microglial cell precursors. *Brain Res. Dev. Brain Res.* *103*, 163-170.
- Dandona, P., Weinstock, R., Thusu, K., Abdel-Rahman, E., Aljada, A., und Wadden, T. (1998). Tumor necrosis factor-alpha in sera of obese patients: fall with weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab* *83*, 2907-2910.
- Davis, J.O. und Phelps, J.A. (1995). Twins with schizophrenia: genes or germs? *Schizophr. Bull.* *21*, 13-18.

- De Sarro, G.B. und Nistico, G. (1990). Behavioral and electrocortical power spectrum effects after intracerebral microinfusion of interleukin-2 in rats are antagonized by naloxone. *Int. J. Neurosci.* *51*, 209-210.
- Deckert-Schluter, M., Schluter, D., Hof, H., Wiestler, O.D., und Lassmann, H. (1994). Differential expression of ICAM-1, VCAM-1 and their ligands LFA-1, Mac-1, CD43, VLA-4, and MHC class II antigens in murine *Toxoplasma* encephalitis: a light microscopic and ultrastructural immunohistochemical study. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* *53*, 457-468.
- Degrave, W., Tavernier, J., Duerinck, F., Plaetinck, G., Devos, R., und Fiers, W. (1983). Cloning and structure of the human interleukin 2 chromosomal gene. *EMBO J.* *2*, 2349-2353.
- DeLisi, L.E., Goodman, S., Neckers, L.M., und Wyatt, R.J. (1982). An analysis of lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* *17*, 1003-1009.
- DeLisi, L.E., Sakuma, M., Tew, W., Kushner, M., Hoff, A.L., und Grimson, R. (1997). Schizophrenia as a chronic active brain process: a study of progressive brain structural change subsequent to the onset of schizophrenia. *Psychiatry Res.* *74*, 129-140.
- DeLisi, L.E., Smith, S.B., Hamovit, J.R., Maxwell, M.E., Goldin, L.R., Dingman, C.W., und Gershon, E.S. (1986). Herpes simplex virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus antibody titres in sera from schizophrenic patients. *Psychol. Med.* *16*, 757-763.
- Falkai, P., Schneider-Axmann, T., und Honer, W.G. (2000). Entorhinal cortex pre-alpha cell clusters in schizophrenia: quantitative evidence of a developmental abnormality. *Biol. Psychiatry* *47*, 937-943.
- Fatemi, S.H., Emamian, E.S., Kist, D., Sidwell, R.W., Nakajima, K., Akhter, P., Shier, A., Sheikh, S., und Bailey, K. (1999). Defective corticogenesis and reduction in Reelin immunoreactivity in cortex and hippocampus of prenatally infected neonatal mice. *Mol. Psychiatry* *4*, 145-154.
- Feghali, C.A. und Wright, T.M. (1997). Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front. Biosci.* *2*, 12-26.
- Fernandez-Real, J.M., Broch, M., Vendrell, J., Richart, C., und Ricart, W. (2000). Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *85*, 1334-1339.
- Fiorentino, D.F., Zlotnik, A., Vieira, P., Mosmann, T.R., Howard, M., Moore, K.W., und O'Garra, A. (1991). IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J. Immunol.* *146*, 3444-3451.
- Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J.S., Humphries, S., und Woo, P. (1998). The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.* *102*, 1369-1376.
- Ford, A.L., Foulcher, E., Lemckert, F.A., und Sedgwick, J.D. (1996). Microglia induce CD4 T lymphocyte final effector function and death. *J. Exp. Med.* *184*, 1737-1745.

- Frommberger,U.H., Bauer,J., Haselbauer,P., Fraulin,A., Riemann,D., und Berger,M. (1997). Interleukin-6-(IL-6) plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* *247*, 228-233.
- Gadient,R.A. und Otten,U.H. (1997a). Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Prog. Neurobiol.* *52*, 379-390.
- Gadient,R.A. und Otten,U.H. (1997b). Interleukin-6 (IL-6)--a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Prog. Neurobiol.* *52*, 379-390.
- Gallagher,G., Eskdale,J., Oh,H.H., Richards,S.D., Campbell,D.A., und Field,M. (1997). Polymorphisms in the TNF gene cluster and MHC serotypes in the West of Scotland. *Immunogenetics* *45*, 188-194.
- Ganguli,R., Brar,J.S., Chengappa,K.N., Yang,Z.W., Nimgaonkar,V.L., und Rabin,B.S. (1993). Autoimmunity in schizophrenia: a review of recent findings. *Ann. Med.* *25*, 489-496.
- Ganguli,R., Brar,J.S., Chengappa,K.R., DeLeo,M., Yang,Z.W., Shurin,G., und Rabin,B.S. (1995). Mitogen-stimulated interleukin-2 production in never-medicated, first-episode schizophrenic patients. The influence of age at onset and negative symptoms [see comments]. *Arch. Gen. Psychiatry* *52*, 668-672.
- Ganguli,R., Brar,J.S., Solomon,W., Chengappa,K.N., und Rabin,B.S. (1992). Altered interleukin-2 production in schizophrenia: association between clinical state and autoantibody production. *Psychiatry Res.* *44*, 113-123.
- Ganguli,R. und Rabin,B.S. (1989). Increased serum interleukin 2 receptor concentration in schizophrenic and brain-damaged subjects [letter]. *Arch. Gen. Psychiatry* *46*, 292.
- Ganguli,R., Rabin,B.S., und Belle,S.H. (1989). Decreased interleukin-2 production in schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* *26*, 427-430.
- Ganguli,R., Yang,Z., Shurin,G., Chengappa,K.N., Brar,J.S., Gubbi,A.V., und Rabin,B.S. (1994). Serum interleukin-6 concentration in schizophrenia: elevation associated with duration of illness. *Psychiatry Res.* *51*, 1-10.
- Gearing,A.J. und Newman,W. (1993). Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* *14*, 506-512.
- Gehrmann,J., Matsumoto,Y., und Kreutzberg,G.W. (1995). Microglia: intrinsic immuneffector cell of the brain. *Brain Res. Brain Res. Rev.* *20*, 269-287.
- Gimsa,U., Wolf,S.A., Haas,D., Bechmann,I., und Nitsch,R. (2001). Th2 cells support intrinsic anti-inflammatory properties of the brain. *J. Neuroimmunol.* *119*, 73-80.
- Glantz,L.A. und Lewis,D.A. (2000). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* *57*, 65-73.
- Golab,J. (2000). Interleukin 18--interferon gamma inducing factor--a novel player in tumour immunotherapy? *Cytokine* *12*, 332-338.
- Goldman-Rakic,P.S. und Selemon,L.D. (1997). Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* *23*, 437-458.

- Greenwood,J., Wang,Y., und Calder,V.L. (1995). Lymphocyte adhesion and transendothelial migration in the central nervous system: the role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1. *off. Immunology* 86, 408-415.
- Grell,M. (1995). Tumor necrosis factor (TNF) receptors in cellular signaling of soluble and membrane-expressed TNF. *J. Inflamm.* 47, 8-17.
- Haack,M., Hinze,S.D., Fenzel,T., Kraus,T., Kuhn,M., Schuld,A., und Pollmacher,T. (1999). Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J. Psychiatr. Res.* 33, 407-418.
- Hailer,N.P., Heppner,F.L., Haas,D., und Nitsch,R. (1998). Astrocytic factors deactivate antigen presenting cells that invade the central nervous system. *Brain Pathol.* 8, 459-474.
- Handoko,H.Y., Nancarrow,D.J., Hayward,N.K., Ohaeri,J.U., Aghanwa,H., McGrath,J.J., Levinson,D.F., Johns,C., Walters,M.K., Nertney,D.A., Srinivasan,T.N., Thara,R., und Mowry,B.J. (2003). Tumor necrosis factor haplotype analysis amongst schizoprenia probands from four distinct populations in the Asia-Pacific region. *Am. J. Med. Genet.* 121B, 1-6.
- Hanisch,U.K. und Quirion,R. (1995). Interleukin-2 as a neuroregulatory cytokine. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 21, 246-284.
- Hart,P.H., Ahern,M.J., Smith,M.D., und Finlay-Jones,J.J. (1995). Regulatory effects of IL-13 on synovial fluid macrophages and blood monocytes from patients with inflammatory arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 99, 331-337.
- Haight,W.H., Mansour,M., Rothlein,R., Kishimoto,T.K., Mainolfi,E.A., Hendricks,J.B., Hendricks,C., und Mehta,J.L. (1996). Alterations in circulating intercellular adhesion molecule-1 and L-selectin: further evidence for chronic inflammation in ischemic heart disease. *Am. Heart J.* 132, 1-8.
- Henneberg,A.E., Ruffert,S., Henneberg,H.J., und Kornhuber,H.H. (1993). Antibodies to brain tissue in sera of schizophrenic patients--preliminary findings. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 242, 314-317.
- Hery,C., Sebire,G., Peudenier,S., und Tardieu,M. (1995). Adhesion to human neurons and astrocytes of monocytes: the role of interaction of CR3 and ICAM-1 and modulation by cytokines. *J. Neuroimmunol.* 57, 101-109.
- Hickey,W.F. (1991). Migration of hematogenous cells through the blood-brain barrier and the initiation of CNS inflammation. *Brain Pathol.* 1, 97-105.
- Hickey,W.F., Vass,K., und Lassmann,H. (1992). Bone marrow-derived elements in the central nervous system: an immunohistochemical and ultrastructural survey of rat chimeras. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 51, 246-256.
- Hilkens,C.M., Snijders,A., Snijdewint,F.G., Wierenga,E.A., und Kapsenberg,M.L. (1996). Modulation of T-cell cytokine secretion by accessory cell-derived products. *Eur. Respir. J. Suppl* 22, 90s-94s.

- Hinson,R.M., Williams,J.A., und Shacter,E. (1996). Elevated interleukin 6 is induced by prostaglandin E2 in a murine model of inflammation: possible role of cyclooxygenase-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 93, 4885-4890.
- Hoffmann,S.C., Stanley,E.M., Darrin,C.E., Craighead,N., DiMercurio,B.S., Koziol,D.E., Harlan,D.M., Kirk,A.D., und Blair,P.J. (2001). Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation* 72, 1444-1450.
- Hogg,N. und Leitinger,B. (2001). Shape and shift changes related to the function of leukocyte integrins LFA-1 and Mac-1. *J. Leukoc. Biol.* 69, 893-898.
- Hsieh,C.S., Macatonia,S.E., Tripp,C.S., Wolf,S.F., O'Garra,A., und Murphy,K.M. (1993). Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages [see comments]. *Science* 260, 547-549.
- Hurme,M. und Helminen,M. (1998). Resistance to human cytomegalovirus infection may be influenced by genetic polymorphisms of the tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 receptor antagonist genes. *Scand. J. Infect. Dis.* 30, 447-449.
- Hyde,T.M. und Weinberger,D.R. (1990). The brain in schizophrenia. *Semin. Neurol.* 10, 276-286.
- Impagnatiello,F., Guidotti,A.R., Pesold,C., Dwivedi,Y., Caruncho,H., Pisu,M.G., Uzunov,D.P., Smalheiser,N.R., Davis,J.M., Pandey,G.N., Pappas,G.D., Tueting,P., Sharma,R.P., und Costa,E. (1998). A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 95, 15718-15723.
- Jankovic,D., Liu,Z., und Gause,W.C. (2001). Th1- and Th2-cell commitment during infectious disease: asymmetry in divergent pathways. *Trends Immunol.* 22, 450-457.
- Jarskog,L.F., Xiao,H., Wilkie,M.B., Lauder,J.M., und Gilmore,J.H. (1997). Cytokine regulation of embryonic rat dopamine and serotonin neuronal survival in vitro. *Int. J. Dev. Neurosci.* 15, 711-716.
- John,S., Turner,D., Donn,R., Sinnott,P., Worthington,J., Ollier,W.E., Hutchinson,I.V., und Hajeer,A.H. (1998). Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene. *Eur. J. Immunogenet.* 25, 419-420.
- Joling,P., Boom,S., Johnson,J., Dekker,M.E., van den Tweel,J.G., Schuurman,H.J., und Bloem,A.C. (1994). Domain 5 of the intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is involved in adhesion of B-cells and follicular dendritic cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 355, 131-135.
- Jurewicz,I., Owen,R.J., O'Donovan,M.C., und Owen,M.J. (2001). Searching for susceptibility genes in schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 11, 395-398.
- Juttler,E., Tarabin,V., und Schwaninger,M. (2002). Interleukin-6 (IL-6): a possible neuromodulator induced by neuronal activity. *Neuroscientist.* 8, 268-275.
- Kamata,M., Higuchi,H., Yoshimoto,M., Yoshida,K., und Shimizu,T. (2000). Effect of single intracerebroventricular injection of alpha-interferon on monoamine concentrations in the rat brain. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 10, 129-132.

- Kelly,R.H., Ganguli,R., und Rabin,B.S. (1987). Antibody to discrete areas of the brain in normal individuals and patients with schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 22, 1488-1491.
- Kennedy,J.L., Basile,V.S., und Macciardi,F.M. (1999). Chromosome 4 Workshop Summary: Sixth World Congress on Psychiatric Genetics, Bonn, Germany, October 6-10, 1998. *Am. J. Med. Genet.* 88, 224-228.
- Kern,P.A., Ranganathan,S., Li,C., Wood,L., und Ranganathan,G. (2001). Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab* 280, E745-E751.
- Kim,Y.K., Kim,L., und Lee,M.S. (2000). Relationships between interleukins, neurotransmitters and psychopathology in drug-free male schizophrenics. *Schizophr. Res.* 44, 165-175.
- Kim,Y.K., Lee,M.S., und Suh,K.Y. (1998). Decreased interleukin-2 production in Korean schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 43, 701-704.
- Kirch,D.G. (1993). Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. *Schizophr. Bull.* 19, 355-370.
- Knight,J.G. (1982). Dopamine-receptor-stimulating autoantibodies: a possible cause of schizophrenia. *Lancet* 2, 1073-1076.
- Komatsu,S., Flores,S., Gerritsen,M.E., Anderson,D.C., und Granger,D.N. (1997). Differential up-regulation of circulating soluble and endothelial cell intercellular adhesion molecule-1 in mice. *Am. J. Pathol.* 151, 205-214.
- Kotowicz,K., Dixon,G.L., Klein,N.J., Peters,M.J., und Callard,R.E. (2000). Biological function of CD40 on human endothelial cells: costimulation with CD40 ligand and interleukin-4 selectively induces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and P-selectin resulting in preferential adhesion of lymphocytes. *Immunology* 100, 441-448.
- Lacosta,S., Merali,Z., und Anisman,H. (2000). Central monoamine activity following acute and repeated systemic interleukin-2 administration. *Neuroimmunomodulation.* 8, 83-90.
- Lai,C.F., Ripperger,J., Morella,K.K., Jurlander,J., Hawley,T.S., Carson,W.E., Kordula,T., Caligiuri,M.A., Hawley,R.G., Fey,G.H., und Baumann,H. (1996). Receptors for interleukin (IL)-10 and IL-6-type cytokines use similar signaling mechanisms for inducing transcription through IL-6 response elements. *J. Biol. Chem.* 271, 13968-13975.
- Lamphear,J.G., Stevens,K.R., und Rich,R.R. (1998). Intercellular adhesion molecule-1 and leukocyte function-associated antigen-3 provide costimulation for superantigen-induced T lymphocyte proliferation in the absence of a specific presenting molecule. *J. Immunol.* 160, 615-623.
- Lane,P.J., McConnell,F.M., Clark,E.A., und Mellins,E. (1991). Rapid signaling to B cells by antigen-specific T cells requires CD18/CD54 interaction. *J. Immunol.* 147, 4103-4108.
- Lewis,G., David,A., Andreasson,S., und Allebeck,P. (1992). Schizophrenia and city life. *Lancet* 340, 137-140.

- Li-Weber,M. und Krammer,P.H. (2003). Regulation of IL4 gene expression by T cells and therapeutic perspectives. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 534-543.
- Licinio,J., Seibyl,J.P., Altemus,M., Charney,D.S., und Krystal,J.H. (1993). Elevated CSF levels of interleukin-2 in neuroleptic-free schizophrenic patients. *Am. J. Psychiatry* 150, 1408-1410.
- Lidington,E.A., McCormack,A.M., Yacoub,M.H., und Rose,M.L. (1998). The effects of monocytes on the transendothelial migration of T lymphocytes. *Immunology* 94, 221-227.
- Lin,A., Kenis,G., Bignotti,S., Tura,G.J., De,J.R., Bosmans,E., Pioli,R., Altamura,C., Scharpe,S., und Maes,M. (1998). The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr. Res.* 32, 9-15.
- Locksley,R.M., Killeen,N., und Lenardo,M.J. (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 104, 487-501.
- Lyons,P.D. und Benveniste,E.N. (1998). Cleavage of membrane-associated ICAM-1 from astrocytes: involvement of a metalloprotease. *Glia* 22, 103-112.
- Macatonia,S.E., Hosken,N.A., Litton,M., Vieira,P., Hsieh,C.S., Culpepper,J.A., Wysocka,M., Trinchieri,G., Murphy,K.M., und O'Garra,A. (1995). Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J. Immunol.* 154, 5071-5079.
- Macchioni,P., Boiardi,L., Casali,B., Nicoli,D., Farnetti,E., und Salvarani,C. (2000). Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) gene polymorphisms in Italian patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 18, 553-558.
- Maes,M., Bocchio,C.L., Bignotti,S., Battista,T.G., Pioli,R., Boin,F., Kenis,G., Bosmans,E., De Jongh,R., Lin,A., Racagni,G., und Altamura,C.A. (2000). Effects of atypical antipsychotics on the inflammatory response system in schizophrenic patients resistant to treatment with typical neuroleptics. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 10, 119-124.
- Maes,M., Bosmans,E., Calabrese,J., Smith,R., und Meltzer,H.Y. (1995). Interleukin-2 and interleukin-6 in schizophrenia and mania: effects of neuroleptics and mood stabilizers. *J. Psychiatr. Res.* 29, 141-152.
- Maes,M., Bosmans,E., Kenis,G., De Jong,R., Smith,R.S., und Meltzer,H.Y. (1997). In vivo immunomodulatory effects of clozapine in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 26, 221-225.
- Maes,M., Bosmans,E., Ranjan,R., Vandoolaeghe,E., Meltzer,H.Y., De Ley,M., Berghmans,R., Stans,G., und Desnyder,R. (1996). Lower plasma CC16, a natural anti-inflammatory protein, and increased plasma interleukin-1 receptor antagonist in schizophrenia: effects of antipsychotic drugs. *Schizophr. Res.* 21, 39-50.
- Mahadik,S.P. und Mukherjee,S. (1996). Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophr. Res.* 19, 1-17.
- Marenco,S. und Weinberger,D.R. (2000). The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: following a trail of evidence from cradle to grave. *Dev. Psychopathol.* 12, 501-527.



- Marker, O., Scheynius, A., Christensen, J.P., und Thomsen, A.R. (1995). Virus-activated T cells regulate expression of adhesion molecules on endothelial cells in sites of infection. *J. Neuroimmunol.* *62*, 35-42.
- Marx, C.E., Jarskog, L.F., Lauder, J.M., Lieberman, J.A., und Gilmore, J.H. (2001). Cytokine effects on cortical neuron MAP-2 immunoreactivity: implications for schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *50*, 743-749.
- Masserini, C., Vita, A., Basile, R., Morselli, R., Boato, P., Peruzzi, C., Pugnetti, L., Ferrante, P., und Cazzullo, C.L. (1990). Lymphocyte subsets in schizophrenic disorders. Relationship with clinical, neuromorphological and treatment variables. *Schizophr. Res.* *3*, 269-275.
- McAllister, C.G., Rapaport, M.H., Pickar, D., Podruchny, T.A., Christison, G., Alphas, L.D., und Paul, S.M. (1989b). Increased numbers of CD5+ B lymphocytes in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* *46*, 890-894.
- McAllister, C.G., Rapaport, M.H., Pickar, D., Podruchny, T.A., Christison, G., Alphas, L.D., und Paul, S.M. (1989a). Increased numbers of CD5+ B lymphocytes in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry* *46*, 890-894.
- McAllister, C.G., van Kammen, D.P., Rehn, T.J., Miller, A.L., Gurklis, J., Kelley, M.E., Yao, J., und Peters, J.L. (1995). Increases in CSF levels of interleukin-2 in schizophrenia: effects of recurrence of psychosis and medication status. *Am. J. Psychiatry* *152*, 1291-1297.
- McCarron, R.M., Wang, L., Racke, M.K., McFarlin, D.E., und Spatz, M. (1993). Cytokine-regulated adhesion between encephalitogenic T lymphocytes and cerebrovascular endothelial cells. *J. Neuroimmunol.* *43*, 23-30.
- McGue, M. und Gottesman, I.I. (1989). A single dominant gene still cannot account for the transmission of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* *46*, 478-480.
- McGuffin, P., Owen, M.J., und Farmer, A.E. (1995). Genetic basis of schizophrenia. *Lancet* *346*, 678-682.
- McKenzie, G.J., Bancroft, A., Grenicis, R.K., und McKenzie, A.N. (1998). A distinct role for interleukin-13 in Th2-cell-mediated immune responses. *Curr. Biol.* *8*, 339-342.
- Meira-Lima, I.V., Pereira, A.C., Mota, G.F., Floriano, M., Araujo, F., Mansur, A.J., Krieger, J.E., und Vallada, H. (2003). Analysis of a polymorphism in the promoter region of the tumor necrosis factor alpha gene in schizophrenia and bipolar disorder: further support for an association with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* *8*, 718-720.
- Menninger, K.A. (1919). Psychoses associated with influenza. *J. Am. Med. Assoc.* *72*, 235-241.
- Menninger, K.A. (1926). Influenza and schizophrenia. An analysis of postinfluenza "dementia praecox" as of 1918 and five years later. *Am. J. Psychiatry* *5*, 469-529.
- Menninger, K.A. (1928). The schizophrenia syndrome as a product of acute infectious disease. *Arch. Neurol. Psychiatry* *20*, 464-481.
- Mertz, P.M., DeWitt, D.L., Stetler-Stevenson, W.G., und Wahl, L.M. (1994). Interleukin 10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of

prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *J. Biol. Chem.* 269, 21322-21329.

Milicic,A., Lindheimer,F., Laval,S., Rudwaleit,M., Ackerman,H., Wordsworth,P., Hohler,T., und Brown,M.A. (2000). Interethnic studies of TNF polymorphisms confirm the likely presence of a second MHC susceptibility locus in ankylosing spondylitis. *Genes Immun.* 1, 418-422.

Miller,A., Lanir,N., Shapiro,S., Revel,M., Honigman,S., Kinarty,A., und Lahat,N. (1996). Immunoregulatory effects of interferon-beta and interacting cytokines on human vascular endothelial cells. Implications for multiple sclerosis autoimmune diseases. *J. Neuroimmunol.* 64, 151-161.

Mittleman,B.B., Castellanos,F.X., Jacobsen,L.K., Rapoport,J.L., Swedo,S.E., und Shearer,G.M. (1997). Cerebrospinal fluid cytokines in pediatric neuropsychiatric disease. *J. Immunol.* 159, 2994-2999.

Möller,H.-J. und Deister,A. (2000). Schizophrenie. In *Psychiatrie und Psychotherapie*, H.-J.Möller, G.Laux, und H.-P.Kapfhammer, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag), pp. 997-1068.

Mondabon, S., Schwab, S. G., Knapp, M., Albus, M., Hallmayer, J., Borrmann-Hassenbach, M., Lerer, B., Maier, W., und Wildenauer, D. B. Association of Tumor Necrosis Factor alpha Gene -308A Polymorphism with Schizophrenia. *Am.J.Med.Genet.* 114[7], 861. 2002.  
Ref Type: Abstract

Monteleone,P., Fabrazzo,M., Tortorella,A., und Maj,M. (1997). Plasma levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in chronic schizophrenia: effects of clozapine treatment. *Psychiatry Res.* 71, 11-17.

Mowry,B.J., Ewen,K.R., Nancarrow,D.J., Lennon,D.P., Nertney,D.A., Jones,H.L., O'Brien,M.S., Thornley,C.E., Walters,M.K., Crowe,R.R., Silverman,J.M., Endicott,J., Sharpe,L., Hayward,N.K., Gladis,M.M., Foote,S.J., und Levinson,D.F. (2000). Second stage of a genome scan of schizophrenia: study of five positive regions in an expanded sample. *Am. J. Med. Genet.* 96, 864-869.

Muller,N. und Ackenheil,M. (1995). Immunoglobulin and albumin content of cerebrospinal fluid in schizophrenic patients: relationship to negative symptomatology. *Schizophr. Res.* 14, 223-228.

Müller,N. und Ackenheil,M. (1995). Immunoglobulin and albumin content of cerebrospinal fluid in schizophrenic patients: relationship to negative symptomatology. *Schizophr. Res.* 14, 223-228.

Muller,N., Ackenheil,M., Hofschuster,E., Mempel,W., und Eckstein,R. (1991b). Cellular immunity in schizophrenic patients before and during neuroleptic treatment. *Psychiatry Res.* 37, 147-160.

Muller,N., Ackenheil,M., Hofschuster,E., Mempel,W., und Eckstein,R. (1991a). Cellular immunity in schizophrenic patients before and during neuroleptic treatment. *Psychiatry Res.* 37, 147-160.

- Muller,N., Ackenheil,M., Hofschuster,E., Mempel,W., und Eckstein,R. (1993a). Cellular immunity, HLA-class I antigens, and family history of psychiatric disorder in endogenous psychoses. *Psychiatry Res.* 48, 201-217.
- Müller,N., Empl,M., Riedel,M., Schwarz,M.J., und Ackenheil,M. (1997). Neuroleptic treatment increases soluble IL-2 receptors and decreases soluble IL-6 receptors in schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 247, 308-313.
- Muller,N., Hofschuster,E., Ackenheil,M., und Eckstein,R. (1993b). T-cells and psychopathology in schizophrenia: relationship to the outcome of neuroleptic therapy. *Acta Psychiatr. Scand.* 87, 66-71.
- Müller,N., Riedel,M., Hadjamu,M., Schwarz,M.J., Ackenheil,M., und Gruber,R. (1999). Increase in Expression of Adhesion Molecule Receptors on T-Helper Cells During Antipsychotic Treatment and Relationship to Blood-Brain Barrier Permeability in Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 156, 634-636.
- Müller,N., Riedel,M., Scheppach,C., Brandstätter,B., Sokullu,S., Krampe,K., Ulmschneider,M., Möller,H.-J., und Schwarz,M.J. (2002). Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 159, 1029-1034.
- Murray,R.M., Lewis,S.W., und Reveley,A.M. (1985). Towards an aetiological classification of schizophrenia. *Lancet* 1, 1023-1026.
- Mycko,M.P., Kwinkowski,M., Tronczynska,E., Szymanska,B., und Selmaj,K.W. (1998). Multiple sclerosis: the increased frequency of the ICAM-1 exon 6 gene point mutation genetic type K469. *Ann. Neurol.* 44, 70-75.
- Naudin,J., Mege,J.L., Azorin,J.M., und Dassa,D. (1996). Elevated circulating levels of IL-6 in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 20, 269-273.
- Nelson,B.H. (2002). Interleukin-2 signaling and the maintenance of self-tolerance. *Curr. Dir. Autoimmun.* 5, 92-112.
- Nikkila,H.V., Muller,K., Ahokas,A., Miettinen,K., Rimon,R., und Andersson,L.C. (1999). Accumulation of macrophages in the CSF of schizophrenic patients during acute psychotic episodes. *Am. J. Psychiatry* 156, 1725-1729.
- Nimgaonkar,V.L., Yang,Z.W., Zhang,X.R., Brar,J.S., Chakravarti,A., und Ganguli,R. (1995). Association study of schizophrenia and the IL-2 receptor beta chain gene. *Am. J. Med. Genet.* 60, 448-451.
- Nishimura,M., Obayashi,H., Maruya,E., Ohta,M., Tegoshi,H., Fukui,M., Hasegawa,G., Shigeta,H., Kitagawa,Y., Nakano,K., Saji,H., und Nakamura,N. (2000). Association between type 1 diabetes age-at-onset and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphism. *Hum. Immunol.* 61, 507-510.
- Nistico,G. und De Sarro,G. (1991a). Behavioral and electrocortical spectrum power effects after microinfusion of lymphokines in several areas of the rat brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 621, 119-134.

- Nistico,G. und De Sarro,G. (1991b). Is interleukin 2 a neuromodulator in the brain? *Trends Neurosci.* *14*, 146-150.
- Opal,S.M. und DePalo,V.A. (2000). Anti-inflammatory cytokines [see comments]. *Chest* *117*, 1162-1172.
- Pae,C.U., Chae,J.H., Bahk,W.M., Han,H., Jun,T.Y., Kim,K.S., Kwon,Y.S., und Serretti,A. (2003). Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism at position -308 and schizophrenia in the Korean population. *Psychiatry Clin. Neurosci.* *57*, 399-403.
- Pahwa,R., Chatila,T., Pahwa,S., Paradise,C., Day,N.K., Geha,R., Schwartz,S.A., Slade,H., Oyaizu,N., und Good,R.A. (1989). Recombinant interleukin 2 therapy in severe combined immunodeficiency disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *86*, 5069-5073.
- Pandey,R.S., Gupta,A.K., und Chaturvedi,U.C. (1981). Autoimmune model of schizophrenia with special reference to antibrain antibodies. *Biol. Psychiatry* *16*, 1123-1136.
- Pedersen,C.B. und Mortensen,P.B. (2001a). Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Arch. Gen. Psychiatry* *58*, 1039-1046.
- Pedersen,C.B. und Mortensen,P.B. (2001b). Family history, place and season of birth as risk factors for schizophrenia in Denmark: a replication and reanalysis. *Br. J. Psychiatry* *179*, 46-52.
- Pelonero,A.L., Pandurangi,A.K., und Calabrese,V.P. (1990). Serum IgG antibody to herpes viruses in schizophrenia. *Psychiatry Res.* *33*, 11-17.
- Perry,V.H. und Silveira,L.C. (1988). Functional lamination in the ganglion cell layer of the macaque's retina. *Neuroscience* *25*, 217-223.
- Petitto,J.M. und Huang,Z. (1994). Molecular cloning of a partial cDNA of the interleukin-2 receptor-beta in normal mouse brain: in situ localization in the hippocampus and expression by neuroblastoma cells. *Brain Res.* *650*, 140-145.
- Petitto,J.M. und Huang,Z. (1995). Molecular cloning of the coding sequence of an interleukin-2 receptor alpha subunit cDNA in murine brain. *J. Neuroimmunol.* *59*, 135-141.
- Petitto,J.M., Huang,Z., Raizada,M.K., Rinker,C.M., und McCarthy,D.B. (1998). Molecular cloning of the cDNA coding sequence of IL-2 receptor-gamma (gammac) from human and murine forebrain: expression in the hippocampus in situ and by brain cells in vitro. *Brain Res. Mol. Brain Res.* *53*, 152-162.
- Petitto,J.M., McCarthy,D.B., Rinker,C.M., Huang,Z., und Getty,T. (1997). Modulation of behavioral and neurochemical measures of forebrain dopamine function in mice by species-specific interleukin-2. *J. Neuroimmunol.* *73*, 183-190.
- Pignatti,P., Vivarelli,M., Meazza,C., Rizzolo,M.G., Martini,A., und De Benedetti,F. (2001). Abnormal regulation of interleukin 6 in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J. Rheumatol.* *28*, 1670-1676.
- Plioplys,A.V., Thibault,J., Bouchard,J.P., Cockburn,C., und Hawkes,R. (1987). Anti-CNS antibodies in neurological and psychiatric disorders. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* *50*, 1514-1521.

- Pollmacher, T., Hinze, S.D., und Mullington, J. (1996). Effects of clozapine on plasma cytokine and soluble cytokine receptor levels. *J. Clin. Psychopharmacol.* *16*, 403-409.
- Pollmächer, T., Hinze, S.D., Mullington, J., Fenzel, T., und Holsboer, F. (1997). Smoking affects plasma-soluble interleukin-2 receptor levels in patients with schizophrenia [letter; comment]. *Arch. Gen. Psychiatry* *54*, 89-90.
- Ponthieux, A., Lambert, D., Herbeth, B., Droesch, S., Pfister, M., und Visvikis, S. (2003). Association between Gly241Arg ICAM-1 gene polymorphism and serum sICAM-1 concentration in the Stanislas cohort. *Eur. J. Hum. Genet.* *11*, 679-686.
- Printz, D.J., Strauss, D.H., Goetz, R., Sadiq, S., Malaspina, D., Krolewski, J., und Gorman, J.M. (1999). Elevation of CD5+ B lymphocytes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *46*, 110-118.
- Punnonen, J. und de Vries, J.E. (1994). IL-13 induces proliferation, Ig isotype switching, and Ig synthesis by immature human fetal B cells. *J. Immunol.* *152*, 1094-1102.
- Raftery, M.J., Behrens, C.K., Muller, A., Krammer, P.H., Walczak, H., und Schonrich, G. (1999). Herpes simplex virus type 1 infection of activated cytotoxic T cells: Induction of fratricide as a mechanism of viral immune evasion. *J. Exp. Med.* *190*, 1103-1114.
- Rajkowska, G., Selemon, L.D., und Goldman-Rakic, P.S. (1998). Neuronal and glial somal size in the prefrontal cortex: a postmortem morphometric study of schizophrenia and Huntington disease. *Arch. Gen. Psychiatry* *55*, 215-224.
- Ramchand, R., Wei, J., Ramchand, C.N., und Hemmings, G.P. (1994). Increased serum IgE in schizophrenic patients who responded poorly to neuroleptic treatment. *Life. Sci.* *54*, 1579-1584.
- Rantakallio, P., Jones, P., Moring, J., und Von Wendt, L. (1997). Association between central nervous system infections during childhood and adult onset schizophrenia and other psychoses: a 28-year follow-up. *Int. J. Epidemiol.* *26*, 837-843.
- Rapaport, M.H. und Lohr, J.B. (1994). Serum-soluble interleukin-2 receptors in neuroleptic-naive schizophrenic subjects and in medicated schizophrenic subjects with and without tardive dyskinesia. *Acta. Psychiatr. Scand.* *90*, 311-315.
- Rapaport, M.H., McAllister, C.G., Kim, Y.S., Han, J.H., Pickar, D., Nelson, D.L., Kirch, D.G., und Paul, S.M. (1994). Increased serum soluble interleukin-2 receptors in Caucasian and Korean schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* *35*, 767-771.
- Rapaport, M.H., McAllister, C.G., Pickar, D., Tamarkin, L., Kirch, D.G., und Paul, S.M. (1997). CSF IL-1 and IL-2 in medicated schizophrenic patients and normal volunteers. *Schizophr. Res.* *25*, 123-129.
- Rezaie, P., Cairns, N.J., und Male, D.K. (1997). Expression of adhesion molecules on human fetal cerebral vessels: relationship to microglial colonisation during development. *Brain Res. Dev. Brain Res.* *104*, 175-189.
- Rieckmann, P., Altmann, B., Riegel, A., Baudewig, J., und Felgenhauer, K. (1997). Soluble adhesion molecules (sVCAM-1 and sICAM-1) in cerebrospinal fluid and serum correlate with MRI activity in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* *41*, 326-333.

- Rieckmann,P., Nunke,K., Burchhardt,M., Albrecht,M., Wiltfang,J., Ulrich,M., und Felgenhauer,K. (1993). Soluble intercellular adhesion molecule-1 in cerebrospinal fluid: an indicator for the inflammatory impairment of the blood-cerebrospinal fluid barrier. *J. Neuroimmunol.* *47*, 133-140.
- Riedel,M., Kronig,H., Schwarz,M.J., Engel,R.R., Kuhn,K.U., Sikorski,C., Sokullu,S., Ackenheil,M., Moller,H.J., und Muller,N. (2002). No association between the G308A polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene and schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* *252*, 232-234.
- Rimon,R., Nishmi,M., und Halonen,P. (1978). Serum and CSF antibody levels to herpes simplex type 1, measles and rubella viruses in patients with schizophrenia. *Ann. Clin. Res.* *10*, 291-293.
- Rothermundt,M., Arolt,V., und Bayer,T.A. (2001). Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav. Immun.* *15*, 319-339.
- Rothermundt,M., Arolt,V., Weitzsch,C., Eckhoff,D., und Kirchner,H. (1998). Immunological dysfunction in schizophrenia: a systematic approach. *Neuropsychobiology* *37*, 186-193.
- Rothlein,R., Mainolfi,E.A., Czajkowski,M., und Marlin,S.D. (1991). A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J. Immunol.* *147*, 3788-3793.
- Salomon,B. und Bluestone,J.A. (1998). LFA-1 interaction with ICAM-1 and ICAM-2 regulates Th2 cytokine production. *J. Immunol.* *161*, 5138-5142.
- Salvarani,C., Casali,B., Boiardi,L., Ranzi,A., Macchioni,P., Nicoli,D., Farnetti,E., Brini,M., und Portioli,I. (2000). Intercellular adhesion molecule 1 gene polymorphisms in polymyalgia rheumatica/giant cell arteritis: association with disease risk and severity. *J. Rheumatol.* *27*, 1215-1221.
- Sanfilippo,M., Lafargue,T., Rusinek,H., Arena,L., Loneragan,C., Lautin,A., Feiner,D., Rotrosen,J., und Wolkin,A. (2000). Volumetric measure of the frontal and temporal lobe regions in schizophrenia: relationship to negative symptoms. *Arch. Gen. Psychiatry* *57*, 471-480.
- Santambrogio,L., Lipartiti,M., Bruni,A., und Dal Toso,R. (1993). Dopamine receptors on human T- and B-lymphocytes. *J. Neuroimmunol.* *45*, 113-119.
- Sarder,M., Saito,H., und Abe,K. (1993). Interleukin-2 promotes survival and neurite extension of cultured neurons from fetal rat brain. *Brain Res.* *625*, 347-350.
- Sasaki,T., Nanko,S., Fukuda,R., Kawate,T., Kunugi,H., und Kazamatsuri,H. (1994). Changes of immunological functions after acute exacerbation in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *35*, 173-178.
- Schattner,A., Cori,Y., Hahn,T., und Sirota,P. (1996). No evidence for autoimmunity in schizophrenia. *J. Autoimmun.* *9*, 661-666.
- Schibler,K.R., Liechty,K.W., White,W.L., Rothstein,G., und Christensen,R.D. (1992). Defective production of interleukin-6 by monocytes: a possible mechanism underlying several host defense deficiencies of neonates. *Pediatr. Res.* *31*, 18-21.

- Schluter,D., Lohler,J., Deckert,M., Hof,H., und Schwendemann,G. (1991). Toxoplasma encephalitis of immunocompetent and nude mice: immunohistochemical characterisation of Toxoplasma antigen, infiltrates and major histocompatibility complex gene products. *J. Neuroimmunol.* *31*, 185-198.
- Schwab,S.G., Eckstein,G.N., Hallmayer,J., Lerer,B., Albus,M., Borrmann,M., Lichtermann,D., Ertl,M.A., Maier,W., und Wildenauer,D.B. (1997). Evidence suggestive of a locus on chromosome 5q31 contributing to susceptibility for schizophrenia in German and Israeli families by multipoint affected sib-pair linkage analysis. *Mol. Psychiatry* *2*, 156-160.
- Schwab,S.G., Knapp,M., Mondabon,S., Hallmayer,J., Borrmann-Hassenbach,M., Albus,M., Lerer,B., Rietschel,M., Trixler,M., Maier,W., und Wildenauer,D.B. (2003a). Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *Am. J. Hum. Genet.* *72*, 185-190.
- Schwab,S.G., Mondabon,S., Knapp,M., Albus,M., Hallmayer,J., Borrmann-Hassenbach,M., Trixler,M., Grobeta,M., Schulze,T.G., Rietschel,M., Lerer,B., Maier,W., und Wildenauer,D.B. (2003b). Association of tumor necrosis factor alpha gene -G308A polymorphism with schizophrenia. *Schizophr. Res.* *65*, 19-25.
- Schwarz,M.J., Chiang,S., Müller,N., und Ackenheil,M. (2001a). T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain. Behav. Immun.* *15*, 340-370.
- Schwarz,M.J., Muller,N., Riedel,M., und Ackenheil,M. (2001b). The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms. *Med. Hypotheses* *56*, 483-486.
- Schwarz,M.J., Riedel,M., Ackenheil,M., und Müller,N. (2000). Decreased Levels of Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 (sICAM-1) in Unmedicated and Medicated Schizophrenic Patients. *Biol. Psychiat.* *47*, 29-33.
- Seder,R.A., Paul,W.E., Ben Sasson,S.Z., LeGros,G.S., Kagey,S.A., Finkelman,F.D., Pierce,J.H., und Plaut,M. (1991). Production of interleukin-4 and other cytokines following stimulation of mast cell lines and in vivo mast cells/basophils. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* *94*, 137-140.
- Seth,R., Raymond,F.D., und Makgoba,M.W. (1991). Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet* *338*, 83-84.
- Sharfe,N., Dadi,H.K., Shahar,M., und Roifman,C.M. (1997). Human immune disorder arising from mutation of the alpha chain of the interleukin-2 receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* *94*, 3168-3171.
- Sharief,M.K., Noori,M.A., Ciardi,M., Cirelli,A., und Thompson,E.J. (1993). Increased levels of circulating ICAM-1 in serum and cerebrospinal fluid of patients with active multiple sclerosis. Correlation with TNF-alpha and blood-brain barrier damage. *J. Neuroimmunol.* *43*, 15-21.
- Shuto,H., Kataoka,Y., Horikawa,T., Fujihara,N., und Oishi,R. (1997). Repeated interferon-alpha administration inhibits dopaminergic neural activity in the mouse brain. *Brain Res.* *747*, 348-351.

- Siu,G., Hedrick,S.M., und Brian,A.A. (1989). Isolation of the murine intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) gene. ICAM-1 enhances antigen-specific T cell activation. *J. Immunol.* *143*, 3813-3820.
- Smith,R.S. (1992). A comprehensive macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia. *Med. Hypotheses* *39*, 248-257.
- Sobel,R.A., Mitchell,M.E., und Fondren,G. (1990). Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cellular immune reactions in the human central nervous system. *Am. J. Pathol.* *136*, 1309-1316.
- Song,C., Lin,A., Kenis,G., Bosmans,E., und Maes,M. (2000). Immunosuppressive effects of clozapine and haloperidol: enhanced production of the interleukin-1 receptor antagonist. *Schizophr. Res.* *42*, 157-164.
- Song,C., Merali,Z., und Anisman,H. (1999). Variations of nucleus accumbens dopamine and serotonin following systemic interleukin-1, interleukin-2 or interleukin-6 treatment. *Neuroscience* *88*, 823-836.
- Sperner-Unterweger,B., Whitworth,A., Kemmler,G., Hilbe,W., Thaler,J., Weiss,G., und Fleischhacker,W.W. (1999). T-cell subsets in schizophrenia: a comparison between drug-naive first episode patients and chronic schizophrenic patients. *Schizophr. Res.* *38*, 61-70.
- Springer,T.A. (1994). Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* *76*, 301-314.
- Springer,T.A. (1995). Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu. Rev. Physiol* *57*, 827-872.
- Squires,R.F. (1997). How a poliovirus might cause schizophrenia: a commentary on Eagles' hypothesis. *Neurochem. Res.* *22*, 647-656.
- Staunton,D.E., Marlin,S.D., Stratowa,C., Dustin,M.L., und Springer,T.A. (1988). Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene families. *Cell* *52*, 925-933.
- Steinshamn,S., Brekke,O.L., und Waage,A. (1995). Soluble tumour necrosis factor receptors, tumour necrosis factor and interleukin-6 in serum in granulocytopenic patients with fever. *Br. J. Haematol.* *89*, 719-724.
- Stuber,F., Udalova,I.A., Book,M., Drutskaya,L.N., Kuprash,D.V., Turetskaya,R.L., Schade,F.U., und Nedospasov,S.A. (1995). -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J. Inflamm.* *46*, 42-50.
- Sundin,U. und Thelander,S. (1989). Antibody reactivity to brain membrane proteins in serum from schizophrenic patients. *Brain. Behav. Immun.* *3*, 345-358.
- Suzuki,H., Kundig,T.M., Furlonger,C., Wakeham,A., Timms,E., Matsuyama,T., Schmits,R., Simard,J.J., Ohashi,P.S., Griesser,H., und . (1995). Deregulated T cell activation and autoimmunity in mice lacking interleukin-2 receptor beta. *Science* *268*, 1472-1476.



- Suzumura,A., Mezitis,S.G., Gonatas,N.K., und Silberberg,D.H. (1987). MHC antigen expression on bulk isolated macrophage-microglia from newborn mouse brain: induction of Ia antigen expression by gamma-interferon. *J. Neuroimmunol.* *15*, 263-278.
- Tahara,H., Zitvogel,L., Storkus,W.J., Robbins,P.D., und Lotze,M.T. (1996). Murine models of cancer cytokine gene therapy using interleukin-12. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *795*, 275-283.
- Takanaski,S., Nonaka,R., Xing,Z., O'Byrne,P., Dolovich,J., und Jordana,M. (1994). Interleukin 10 inhibits lipopolysaccharide-induced survival and cytokine production by human peripheral blood eosinophils. *J. Exp. Med.* *180*, 711-715.
- Tarkowski,E., Liljeroth,A.M., Nilsson,A., Ricksten,A., Davidsson,P., Minthon,L., und Blennow,K. (2000). TNF gene polymorphism and its relation to intracerebral production of TNFalpha and TNFbeta in AD. *Neurology* *54*, 2077-2081.
- Torrey,E.F., Miller,J., Rawlings,R., und Yolken,R.H. (1997). Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. *Schizophr. Res.* *28*, 1-38.
- Torrey,E.F., Peterson,M.R., Brannon,W.L., Carpenter,W.T., Post,R.M., und van Kammen,D.P. (1978). Immunoglobulins and viral antibodies in psychiatric patients. *Br. J. Psychiatry* *132*, 342-348.
- Trojano,M., Avolio,C., Liuzzi,G.M., Ruggieri,M., Defazio,G., Liguori,M., Santacroce,M.P., Paolicelli,D., Giuliani,F., Riccio,P., und Livrea,P. (1999). Changes of serum sICAM-1 and MMP-9 induced by rIFNbeta-1b treatment in relapsing-remitting MS. *Neurology* *53*, 1402-1408.
- Trojano,M., Avolio,C., Ruggieri,M., Defazio,G., Giuliani,F., Paolicelli,D., und Livrea,P. (1998). Serum soluble intercellular adhesion molecule-I in MS: relation to clinical and Gd-MRI activity and to rIFN beta-1b treatment. *Mult. Scler.* *4*, 183-187.
- Trojano,M., Avolio,C., Simone,I.L., Defazio,G., Manzari,C., De Robertis,F., Calo,A., und Livrea,P. (1996). Soluble intercellular adhesion molecule-1 in serum and cerebrospinal fluid of clinically active relapsing-remitting multiple sclerosis: correlation with Gd-DTPA magnetic resonance imaging-enhancement and cerebrospinal fluid findings. *Neurology* *47*, 1535-1541.
- Trotter,J., Sriram,S., Rassenti,L., Chou,C.H., Fritz,R.B., und Steinman,L. (1985). Characterization of T cell lines and clones from SJL/J and (BALB/c x SJL/J)F1 mice specific for myelin basic protein. *J. Immunol.* *134*, 2322-2327.
- Tsai,S.L., Liaw,Y.F., Chen,M.H., Huang,C.Y., und Kuo,G.C. (1997). Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* *25*, 449-458.
- Tsuang,M. (2000). Schizophrenia: genes and environment. *Biol. Psychiatry* *47*, 210-220.
- van de Stolpe,A. und van der Saag,P.T. (1996). Intercellular adhesion molecule-1. *J. Mol. Med.* *74*, 13-33.
- Vass,K. und Lassmann,H. (1990). Intrathecal application of interferon gamma. Progressive appearance of MHC antigens within the rat nervous system. *Am. J. Pathol.* *137*, 789-800.

- Villemain,F., Chatenoud,L., Galinowski,A., Homo-Delarche,F., Ginestet,D., Loo,H., Zarifian,E., und Bach,J.F. (1989). Aberrant T cell-mediated immunity in untreated schizophrenic patients: deficient interleukin-2 production. *Am. J. Psychiatry* 146, 609-616.
- Villemain,F., Chatenoud,L., Guillibert,E., Pelicier,Y., und Bach,J.F. (1987). Decreased production of interleukin-2 in schizophrenia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 496, 669-675.
- Vinogradov,S., Gottesman,I.I., Moises,H.W., und Nicol,S. (1991). Negative association between schizophrenia and rheumatoid arthritis. *Schizophr. Bull.* 17, 669-678.
- Vora,D.K., Rosenbloom,C.L., Beaudet,A.L., und Cottingham,R.W. (1994). Polymorphisms and linkage analysis for ICAM-1 and the selectin gene cluster. *Genomics* 21, 473-477.
- Voraberger,G., Schafer,R., und Stratowa,C. (1991). Cloning of the human gene for intercellular adhesion molecule 1 and analysis of its 5'-regulatory region. Induction by cytokines and phorbol ester. *J. Immunol.* 147, 2777-2786.
- Wakatsuki,T., Kimura,K., Kimura,F., Shinomiya,N., Ohtsubo,M., Ishizawa,M., und Yamamoto,M. (1995). A distinct mRNA encoding a soluble form of ICAM-1 molecule expressed in human tissues. *Cell Adhes. Commun.* 3, 283-292.
- Warne,J.P. (2003). Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. *J. Endocrinol.* 177, 351-355.
- Weinberg,K. und Parkman,R. (1990). Severe combined immunodeficiency due to a specific defect in the production of interleukin-2. *N. Engl. J. Med.* 322, 1718-1723.
- Wilke,I., Arolt,V., Rothermundt,M., Weitzsch,C., Hornberg,M., und Kirchner,H. (1996). Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 246, 279-284.
- Williams,J., Spurlock,G., Holmans,P., Mant,R., Murphy,K., Jones,L., Cardno,A., Asherson,P., Blackwood,D., Muir,W., Meszaros,K., Aschauer,H., Mallet,J., Laurent,C., Pekkarinen,P., Seppala,J., Stefanis,C.N., Papadimitriou,G.N., Macciardi,F., Verga,M., Pato,C., Azevedo,H., Crocq,M.A., Gurling,H., Owen,M.J., und . (1998). A meta-analysis and transmission disequilibrium study of association between the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 3, 141-149.
- Wilson,A.G., Symons,J.A., McDowell,T.L., McDevitt,H.O., und Duff,G.W. (1997). Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 94, 3195-3199.
- Winchester,E.C., Millwood,I.Y., Rand,L., Penny,M.A., und Kessler,A.M. (2000). Association of the TNF-alpha-308 (G-->A) polymorphism with self-reported history of childhood asthma. *Hum. Genet.* 107, 591-596.
- Wright,P., Nimgaonkar,V.L., Donaldson,P.T., und Murray,R.M. (2001). Schizophrenia and HLA: a review. *Schizophr. Res.* 47, 1-12.
- Xu,X.N., Laffert,B., Screatton,G.R., Kraft,M., Wolf,D., Kolanus,W., Mongkolsapay,J., McMichael,A.J., und Baur,A.S. (1999). Induction of Fas ligand expression by HIV involves the interaction of Nef with the T cell receptor zeta chain. *J. Exp. Med.* 189, 1489-1496.

- Yang,H., Vora,D.K., Targan,S.R., Toyoda,H., Beaudet,A.L., und Rotter,J.I. (1995). Intercellular adhesion molecule 1 gene associations with immunologic subsets of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 109, 440-448.
- Yang,Z.W., Chengappa,K.N., Shurin,G., Brar,J.S., Rabin,B.S., Gubbi,A.V., und Ganguli,R. (1994). An association between anti-hippocampal antibody concentration and lymphocyte production of IL-2 in patients with schizophrenia. *Psychol. Med.* 24, 449-455.
- Yao,H., Wang,F.Z., Ding,A.S., Liu,Z.W., und Ling,S.G. (1994). [Effects of interleukin-1 and interleukin-2 on electrophysiological characteristics of rat hippocampal neurons in culture]. *Sheng Li Xue. Bao.* 46, 539-545.
- Yolken,R.H., Karlsson,H., Yee,F., Johnston-Wilson,N.L., und Torrey,E.F. (2000). Endogenous retroviruses and schizophrenia. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 31, 193-199.
- Yolken,R.H. und Torrey,E.F. (1995). Viruses, schizophrenia, and bipolar disorder. *Clin. Microbiol. Rev.* 8, 131-145.
- Young,K.A., Manaye,K.F., Liang,C., Hicks,P.B., und German,D.C. (2000). Reduced number of mediodorsal and anterior thalamic neurons in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 47, 944-953.
- Yssel,H., de Waal,M.R., Roncarolo,M.G., Abrams,J.S., Lahesmaa,R., Spits,H., und de Vries,J.E. (1992). IL-10 is produced by subsets of human CD4+ T cell clones and peripheral blood T cells. *J. Immunol.* 149, 2378-2384.
- Zalcman,S.S. (2002). Interleukin-2-induced increases in climbing behavior: inhibition by dopamine D-1 and D-2 receptor antagonists. *Brain Res.* 944, 157-164.
- Zorrilla,E.P., Cannon,T.D., Gur,R.E., und Kessler,J. (1996). Leukocytes and organ-nonspecific autoantibodies in schizophrenics and their siblings: markers of vulnerability or disease? *Biol. Psychiatry* 40, 825-833.
- Zurawski,G. und de Vries,J.E. (1994). Interleukin 13 elicits a subset of the activities of its close relative interleukin 4. *Stem Cells* 12, 169-174.

## 7 Geräte und Materialien

### 7.1 Probenverarbeitung

Zentrifuge: Heraeus Sepatech Omnifuge 2.0 RS

Heraeus Sepatech Biofuge fresco

Vortex Genie 2 – Scientific Industries

96-V-Mikrotiterplatte Art.Nr. 710880, BiozymDiagnostik GmbH

DistriTip Mini Syringes für die Distrimon™ repetitive pipette, eppendorf

PCR Softstrips 0,2 ml, Biozym

LightCycler Capillaries, Roche Diagnostics

Formamide (deionisiert), International Biotechnologies, INC

Ethanol pro analysi, Merck

### 7.2 Polymerase Ketten Reaktion

PTC Peltier ThermoCycler – Biozym

Elektrophoreseapparat: Wide Mini Sub Zelle, Biorad

Sequi-Gene Gelkammer, Biorad

Gel-Dokumentationsgerät: Eagle Eye II, Stratagene

Agarosegel 0,8-1,5% in TBE-Puffer

1%ige Ethidiumbromidlösung

Laufpuffer: TBE

### 7.3 Sequenzierung

Light Cycler Version 3.5 - Roche Diagnostics

ABI PRISM® 310 Genetic Analyser – Applied Biosystems

GeneScan® Polymer: Performance Optimized Polymer 4 (POP 4)

GeneSCAN® Polymer ohne TSR

GeneScan® Capillaries, 47 cm x 50 µm, in Verbindung mit POP 4

310 Genetic Analyzer Buffer + EDTA

SNaPshot Ready Reaction Mix, PE Biosystems

SNaPshot Control Primers, PE Biosystems

pGEM -3Zf(+)

Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP), Roche Biosystems

Exonuclease I, New England BioLabs

7-deaza-2'-Deoxyguanosine 5'-Triphosphate 5 mM Solution pH 7,5, Amersham Pharmacia Biotech Inc

20 mM dNTP, Amersham Pharmacia Biotech Inc

Ampli Taq Gold und 10x PCR Puffer, Applied Biosystems by Roche Biosystems

Fluorescence Amide Matrix, PE Biosystems

ABI PRISM<sup>®</sup> 310 Collection 2.0

GeneScan Analysis 3.1

GenoTyper 2.0

---

## 8 Abkürzungen

AP-1 = alkalische Phosphatase 1

BHS = Bluthirnschranke

CD = cluster of differentiation

CON = Kontrollperson

COX = Cyclooxygenase

CSF = Cerebrospinalflüssigkeit

DSM = Diagnostisches u. statistisches Manual

DD = Death Domain

dNTP = desoxyribonukleotidphosphat

ddNTP = didesoxyribonukleotidphosphat

FRET = Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer

ICAM = intercellular adhaesion molecule

IDDM = insulin depend diabetes mellitus

Ig = Immunglobulin

IL = Interleukin

LFA = leukocyte functional antigene

MAC = Macrophage-1 antigene

MBP = myelin basic protein

MHC = major histocompatibility complex

mICAM = membrane bound ICAM

MS = Multiple Sklerose

NFAT = nuclear factor of activated T cells

NK-Zellen = natural killer Zellen

PANSS = positive and negative syndrome scale

PCR = polymerase chain reaction

RA = rheumatoide Arthritis

SAP = shrimp alkaline phosphatase

SCID = severe combined immunodeficiency syndrome

SCH = schizophrener Patient

sICAM = lösliche Form des interzellulären Zelladhäsionsmoleküls-1

sIL-2R = lösliche Form des Interleukin-2-Rezeptors

SNP = single nucleotide polymorphism

T<sub>m</sub> = Schmelztemperatur

TNF- $\alpha$  = Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$

TRAIL = TNF related apoptosis inducing ligand

TRAF = TNF receptor associated factor

VCAM = vascular cell adhaesion molecule

ZNS = zentrales Nervensystem

## 9 Danksagung

Allen voran gilt die Dankbarkeit meinen lieben Eltern, die mir nach dem Pharmaziestudium noch das Medizinstudium ermöglicht und mich in jeglicher Hinsicht unterstützt haben.

Für die Realisierung dieser Arbeit möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. Norbert Müller bedanken, der das Fortschreiten dieser Arbeit stets wohlwollend und stets unterstützend begleitet hat.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Markus J. Schwarz, der mich während des gesamten experimentellen Teils im Labor betreut und unterstützt, sowie mit mir die angeführten Veröffentlichungen geschrieben und damit maßgebend bei der Auswertung und Diskussion dieser Arbeit mitgewirkt hat.

Allen Mitarbeitern der verschiedenen Labors in der Neurochemischen Abteilung, insbesondere Frau Stefanie Behrens, möchte ich Dank sagen für die nette Zusammenarbeit, ihre freundliche Aufnahme und ihre Hilfsbereitschaft.



## 10 Curriculum vitae

### Persönliche Daten

Geburtsdatum: 13.02.1975

Geburtsort: Gütersloh

Familienstand: ledig

### Schulausbildung

1985 –1994

Evangelisch-Stiftisches Gymnasium Gütersloh

### Pharmaziestudium

1994 – 1998

Grundstudium an der Martin Luther Universität Halle,  
Hauptstudium an der Ludwig Maximilians Universität  
München

### Approbation

2000

Approbation als Apotheker in München

### Medizinstudium

1998 - 2004

vorklinischer Studienabschnitt an der Maximilian  
Universität Würzburg  
klinischer Studienabschnitt an der Ludwig Maximilians  
Universität München

### Praktisches Jahr

ab August 2003

1.Tertial Chirurgie im Krankenhaus „Dritter Orden“ in  
München

ab Dezember 2003

2.Tertial Innere Medizin in der „II. und III. Medizinischen  
Klinik Großhadern“ in München

ab April 2004

3. Tertial Pädiatrie im Dr. von Haunersches Kinderspital  
der Universität München

### Approbation

2004

Approbation als Arzt in München

**Forschungsaufenthalt – Yale Universität**

April – August 2003      Department of Immunobiology, Yale University  
PI: Alfred Bothwell, Prof. for Immunobiology  
Yale Child Study Center, Yale University  
PI: James F. Leckman, Prof. for Child Psychiatry

**Stipendium**

2003      Donald J. Cohen Fellowship, Yale Child Study Center

**Dissertation**

seit Oktober 2000      Neurochemische Abteilung der Psychiatrischen Klinik der  
LMU München  
Doktorvater: Prof. Dr. N. Müller  
Thema      Genetische Untersuchungen basierend auf immuno-  
logischen Befunden bei schizophrenen Patienten

**Beruf**

Seit Januar 2005      Assistenzarzt am Klinikum Rechts der Isar der TU  
München, Abteilung Hämatologie / Onkologie

Teile dieser Promotionsarbeit wurden nach Genehmigung durch Herrn Prof. Dr. P. C. Weber zur Veröffentlichung in internationalen Fachzeitschriften eingereicht:

Riedel, M., Krönig, H., Schwarz, M. J., Engel, R. R., Sikorski, C., Kühn, K.-U, Behrens, S., Möller, H.-J., Ackenheil, M., and Müller, N.

Investigation of the ICAM-1 G241A and A469G gene polymorphisms in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2003 Mar;8(3):257-8

Riedel, M., Krönig, H., Schwarz, M. J., Kühn, K.U., Sikorski, C., Sokullu, S., Ackenheil, M., Möller, H.-J., and Müller, N.

No association between the G308A polymorphism of the Tumor necrosis factor-alpha gene and schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2002 Oct;252(5):232-4

Holger Krönig, Michael Riedel, Markus J. Schwarz, Martin Strassnig, Hans-Jürgen Möller, Manfred Ackenheil, Norbert Müller

ICAM G241A Polymorphism and Soluble ICAM-1 Serum Levels: Evidence for an Active Immune Process in Schizophrenia. *Neuroimmunomodulation* 2005;12:54 –59