

Aus der Psychiatrischen Klinik und Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. Helmut Beckmann

**Mutationsanalyse des Gens
für das Zelladhäsionsmolekül *CELSRI*
bei familiärer katatoner Schizophrenie**

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von
Oliver Grimm
aus Mannheim
Würzburg, September 2003

Referent: Prof. Dr. K.-P. Lesch
Koreferent: Prof. Dr. C. R. Müller-Reible
Dekan: Prof. Dr. S. Silbernagel

Der Promovend ist Arzt.

Die mündliche Prüfung fand am 24. April 2004 statt.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	3
Die Dopaminhypothese der Schizophrenie	4
Die Glutamathypothese der Schizophrenie.....	5
Frontale Stoffwechselstörungen bei Schizophrenie.....	5
Neurodegeneration.....	6
Entwicklungsstörung des Gehirns bei Schizophrenen.....	6
Genetik der Schizophrenie.....	7
periodische Katatonie.....	10
Die Region 22q13 als Kandidat für die periodische Katatonie.....	12
Cadherine.....	13
klassische Cadherine; Cadherine vom Fats-Typ.....	14
Protocadherine.....	14
G-Protein gekoppelte Cadherine.....	15
Funktion und genomische Organisation.....	15
Folgen pathologischer Mutationen bei Cadherinen.....	17
Cadherine und Schizophrenie.....	19
CELSR1.....	19
genomische Organisation.....	19
Expressionsmuster.....	20
Funktion.....	20
Materialien und Methoden.....	22
Materialien.....	22
Geräte und sonstiges Material.....	22
Chemikalien.....	22
Lösungen und Puffer.....	23
Enzyme.....	23
Oligonukleotidprimer.....	23
Software.....	27
Methoden.....	28
Polymerasekettenreaktion.....	28
Automatische Sequenzierung nach der Didesoxymethode.....	28
Datenauswertung.....	29
Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP).....	29

Agarose-Elektrophorese.....	29
DNA-Präparation.....	30
DNA-Aufreinigung.....	30
DNA-Mengenbestimmung.....	30
DNA-Präzipitation.....	30
PCR Amplifikation spezifischer Allele (PASA).....	30
assymetrische PCR.....	31
Ergebnisse.....	32
Diskussion.....	35
Bedeutung der Ergebnisse vor dem Hintergrund der Hypothese einer Entwicklungsstörung.....	36
Das Gen WKL1 ist Träger einer Mutation bei der familiären periodischen Katatonie.....	37
Gibt es einen spezifischen Genotyp für schizophrene Psychosen?.....	37
Zusammenfassung.....	41
Literaturverzeichnis.....	42
Veröffentlichungen im Rahmen der Arbeit.....	52
Widmung.....	53
Lebenslauf.....	54

Einleitung

Geisteskrankheiten sind der Medizin schon seit Jahrhunderten bekannt, davon künden reiche Zeugnisse aus der Antike oder dem Mittelalter. Die Abgrenzung der Geisteskrankheiten untereinander und die damit verbundene Klassifikation fand erst viel später, nämlich im 19. Jahrhundert statt. Das Konzept der „Dementia praecox“ wurde von Kraepelin vorgeschlagen, darauf aufbauend erfolgte die Spezifizierung des Krankheitsbildes durch Bleuler, der mehr die Störung der



Abbildung 1 Katatonikerin in Beugehaltung. Die aktive Starre der Katatonie regte bereits im 19. Jahrhundert eine intensive Suche nach den organischen Ursachen an. Durch Gabe von Bulbocapnin meinte man im Affen einen katatonen Modellzustand hervorrufen zu können (unteres Bild).
Aus: *Illustrierte Geschichte der Medizin* (Toellner, 1992)

Assoziationsfähigkeit im Vordergrund sah und den Terminus „Dementia praecox“ ablehnte, da er bei der Schizophrenie keine generelle Demenz feststellen konnte. Das wesentliche der Erkrankung wurde durch Bleuler so charakterisiert:

„Immer vorhanden ist ... die eigenartige Assoziationsstörung. ... Die Assoziationen verlieren ihren Zusammenhang. Von den tausend Fäden, die unsere Gedanken leiten, unterbricht die Krankheit in unregelmäßigerweise da und dort bald einzelne, bald mehrere, bald einen großen Teil. Dadurch wird das Denkresultat ungewöhnlich und oft logisch falsch. Ferner schlagen Assoziationen neue Bahnen ein... Beim Experiment assoziiert eine Patientin auf Herz 'Faden', weil zwei Herzen wie durch einen Faden verbunden seien; eine andere (Züricherin) auf Nadel – 'der Pinie'. Eine nennt Heue 'ein Unterhaltungsmittel der Kühe'.“ [Bleuler 1911]

Mit dieser klinischen Beobachtung begründete Bleuler die Schizophrenie als eigenständige psychiatrische Krankheitsgruppe. Die somatisch orientierte Psychiatrie um Kraepelin basierte auf dem Dogma „Geisteskrankheit ist Hirnkrankheit“ und dementsprechend früh versuchte man ein Korrelat zur Schizophrenie zu finden. Jedoch gelang es mit den damaligen, meist histopathologischen Methoden nicht, einen eindeutigen hirnologischen Befund zu finden. Abgesehen von der heute

ungleich größeren methodischen Breite, teilt jeder heutige Forschungsansatz mit den damaligen das Unvermögen zu eindeutigen replizierbaren Resultaten zu kommen, die eine tiefergehende Erklärung der Schizophrenie ermöglichen würde.

So mag man jeden neuen neurowissenschaftlichen Forschungsansatz an seiner Erklärungsmacht in Bezug auf die Schizophrenie messen, den diese vereint wie kaum ein anderes Krankheitsbild ein komplexes Zusammenspiel in der Pathogenese, das zwischen der Basis der Genetik und hohen kognitiven Fähigkeiten zur Informationsverarbeitung steht.

Bei einer ungefähren Prävalenz von 1% wird deutlich, dass Schizophrenie nicht nur ein faszinierendes Modell für die Grundlagenwissenschaften, die sich mit der Erklärung des Gehirns befassen, darstellt, sondern auch eine enorme gesellschaftliche Bedeutung hat, nicht zuletzt da vorwiegend junge Menschen betroffen sind, die im Verlauf der Erkrankung zunehmend aus ihrer sozialen Umfeld herausgerissen werden. Neben dem menschlichen Leid, das auch im familiären Umfeld des Kranken tiefe Spuren hinterlässt, enden nicht wenige Leidenswege der Betroffenen mit einer Selbsttötung.

Versuche, die Schizophrenien mittels eines naturwissenschaftlichen Vorgehens zu fassen, gibt es schon lange, die Zunahme experimenteller Daten kommt jedoch aus den letzten zwanzig Jahren, wo es aufgrund neuer Methoden zu vielen neuen Erkenntnissen kam. Einige der heutigen Erklärungsansätze der Schizophrenien sollen im folgenden kurz angerissen werden, um einen Überblick und eine thematische Einordnung der vorgelegten Arbeit zu ermöglichen.

Die Dopaminhypothese der Schizophrenie

Da Neuroleptika hauptsächlich in das Dopaminsystem eingreifen (D₂- und D₄- Rezeptoren), postuliert man eine Störung des dopaminergen Systems als ursächlich. Gleichwohl ließen sich bis heute keine Mutationen in dopaminergen Rezeptoren nachweisen, auch wirken Neuroleptika nicht nur auf das dopaminerge System, sondern auf eine Vielzahl anderer Rezeptoren mit unterschiedlicher Affinität (z.B. der 5-HT_{2A}-Rezeptor soll auch eine wichtige Rolle spielen).

Die therapeutische Wirkung von Neuroleptika verdeutlicht, dass eine mechanistische Vorstellung von einer Blockade der Dopaminrezeptoren innerhalb des gestörten Dopaminsystems falsch sein

muss, da die therapeutische Wirkung erst nach Tagen oder sogar Wochen auftritt. Möglicherweise ist das Dopaminsystem auch nicht ursächlich beteiligt, sondern versucht lediglich eine vorangegangene Störung zu kompensieren [Davis et al., 1991].

Die Glutamathypothese der Schizophrenie

Im Gegensatz zu Dopaminagonisten gelingt es mittels NMDA-Rezeptorantagonisten (Phencyclidin, Ketamin) eine Modellpsychose hervorzurufen, die wesentlich größere Ähnlichkeit mit schizophrenen Erkrankungen aufweist, wie andere Modellpsychosen. In der klinischen Praxis wurde Ketamin bereits als Provokationstest bei Schizophrenen eingesetzt. Die Patienten berichteten auch, dass der dabei induzierte Zustand ihren Psychosen wesentlich ähnlicher sei, als Zustände, die bei anderen psychoaktiven Substanzen induziert werden. Darüber hinaus gibt es Hinweise auf eine vermehrte Expression von Glutamatrezeptoren, eine Verminderung von Glutamat und eine herabgesetzte Glutamataufnahme im Cingulum. Die unmittelbaren therapeutischen Implikationen sind aber deutlich eingeschränkt, da Glycin, ein Glutamantagonist, neurotoxisch wirkt [Nguimfack Mbodie, P. C., 2002; Volk u. Lewis, 2002; Hashimoto, K., M. Iyo 2002].

Frontale Stoffwechselstörungen bei Schizophrenie

Mittels moderner bildgebender Verfahren wie fMRI oder PET wurde bei verschiedenen neuropsychologischen Tests, z.B. dem Wisconsin-Card-Sorting-Test, eine verminderte Perfusion des Frontallappens gefunden. Trotzdem sind auch diese Befunde alles andere als einheitlich, da sie zum einen nicht immer reproduziert werden, andere Autoren finden eine Hyperfrontalität anstatt einer Hypofrontalität, und zum anderen lassen sie sich in einer so vereinfachten Form in Verfahren, die eine höhere zeitliche Auflösung haben (MEG) nicht wiederfinden. Trotzdem läßt sich inzwischen als gemeinsame Basis dieser Befunde ableiten, dass bei Schizophrenien eine gestörte Informationsverarbeitung stattfindet, die sich neurophysiologisch mittels verschiedenster verfahren nachweisen läßt [Weickert, 1999]

Neurodegeneration

Bereits Emil Kraepelin [Kraepelin, 1919] postulierte angesichts der schweren Defektzustände, die

er bei der 'Dementia praecox' fand, einen neurodegenerativen Prozess, der auf Gewebeebene nachzuweisen sein müsse. Da die histopathologischen Studien zu dieser Zeit aber methodisch viel zu ungenau waren, blieb es erst bei dieser Hypothese, die aber angesichts verbesserter morphologischer Methoden heute wieder an Bedeutung gewonnen hat. Was ist aber Neurodegeneration? Zwar gelang verschiedenen Gruppen, der Nachweis einer reduzierten Zellzahl in Gehirnregionen wie dem parahippocampalen Gyrus, dem entorhinalen Cortex, dem präfrontalen Cortex, dem Hippocampus und der Amygdala, aber solche Befunde sind nicht unbedingt Zeichen einer Degeneration. Spezifisch im neuropathologischen Sinn wäre der Nachweis einer Gliose, aber bis heute fand man in post-mortem Gehirnen keinen Nachweis einer gliotischen Reaktion, was bis heute das Hauptargument gegen eine pathophysiologische Bedeutung eines neuronalen Zelluntergangs als wesentlichem Faktor bei der Pathogenese der Schizophrenie ist. Auf der anderen Seite sind heute neue Konzepte aufgetaucht, die es wert sind zumindest kurz erwähnt zu werden.

Der Zelluntergang in manchen Gehirnregionen bei der Schizophrenie könnte sich auf eine fehlregulierte Apoptose zurückführen lassen, was sogar in der Idee, das Protein p53 als Kandidatengen zu betrachten, wurzelte. Diese Fehlregulation könnte zum einen auf eine gestörte Ontogenese, aber auch auf oxidativen Stress, z.B. postnatal, zurückzuführen sein. Oxidativer Stress und Apoptose könnten durch Stress, d.h. einem Anstieg an Glukokortikoiden, der nachweislich excitotoxische Aktivität im Hippocampus entfalten kann, oder einem glutamatergen Exzess verursacht sein [Beckmann, 1999; Coyle, 1993; Sapolsky, 1992; Nguimfack Mbodie, P. C., 2002]

Entwicklungsstörung des Gehirns bei Schizophrenen

Die Vorstellung, Schizophrenie beruhe auf einer gestörten Gehirnentwicklung oder auch -Reifung findet zwar bis heute keinen zwingenden Beweis, aber eine Vielzahl klinischer, epidemiologischer und neurobiologischer Daten findet sich zu einem zunehmend einheitlicheren Bild zusammen [Burney, 1998].

Ein interessanter Aspekt ist die Beobachtung kleinerer physischer Anomalien bei Schizophrenen, was auf der Idee basiert, dass sowohl anatomische Strukturen des Gesichts oder der Extremitäten, als auch das Gehirn selbst, Abkömmlinge des Ektoderms sind [Lane, 1997].

Eine erhöhte Inzidenz an Schizophrenie wurde auch von Kindern finnischer Mütter, die einer Hungersnot ausgesetzt waren berichtet, oder von Mütter die während der Schwangerschaft eine Influenzainfektion durchmachten. Das würde beides für die Bedeutung einer gestörten intrauterinen Entwicklung sprechen.

Morphologische Auffälligkeiten bei Schizophrenen sind vergrößerte Ventrikel oder eine Abnahme des Gyrfikationsindex, welcher ein Maß der corticalen Faltung ist, in der linken Hemisphäre bei Schizophrenen.

Neurohistopathologische Befunde, die eine Migrationsstörung von Neuronen im entorhinalen Kortex bei chronischer Schizophrenie post mortem zeigen [Beckmann, 1999], wären sehr gut mit einem Entwicklungsmodell der Schizophrenie zu vereinbaren, da zum einen ein Entwicklungsbedingter Defekt vorzuliegen scheint und zum anderen dieser Defekt eine Region betrifft, die für Informationsverarbeitung und Gedächtnisbildung zusammen mit dem Hippocampus ein wichtiges System bildet. Doch nicht allen Arbeitsgruppen gelang es bisher diese Befunde zu replizieren.

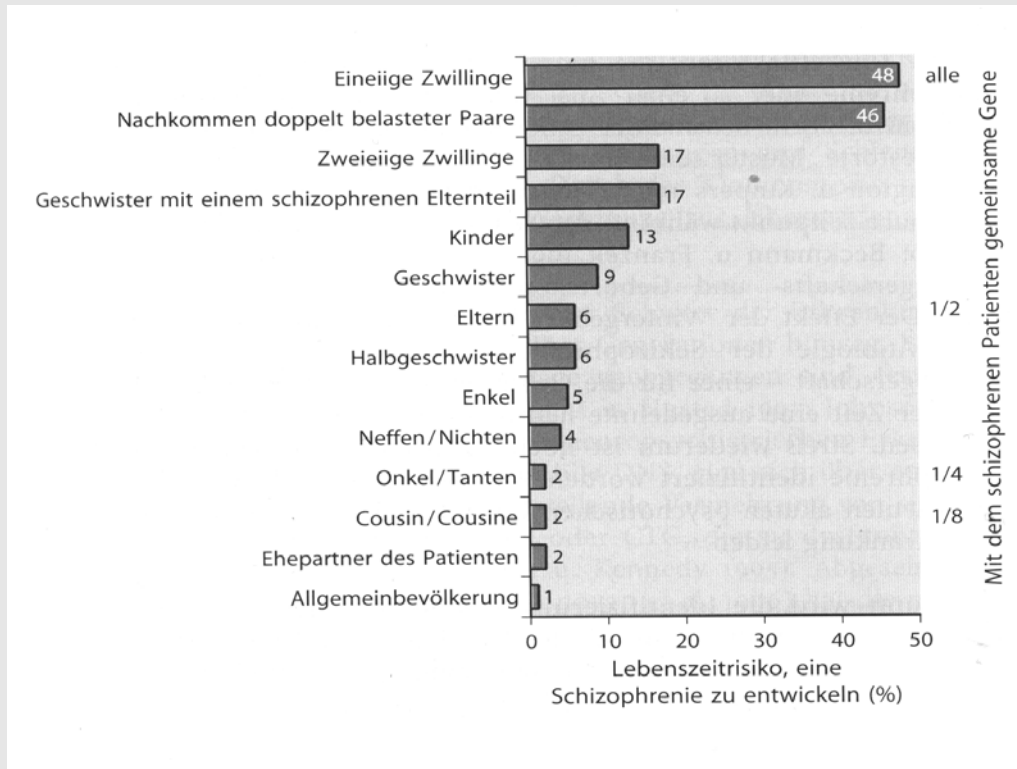
Auf einer anderen Ebene bewegen sich Erklärungsansätze, die die Ursache der Schizophrenien in der Genetik suchen. Bereits früh beobachteten aufmerksame Kliniker, dass Schizophrenien familiär gehäuft vorkommen, insbesondere Karl Leonhard ordnet den unsystematischen Schizophrenien im Gegensatz zu den systematischen Schizophrenien eine besondere familiäre Belastung zu. Da sich diese Arbeit mit der Molekulargenetik der periodischen Katatonie befasst, soll im Folgenden gesondert auf die genetischen Grundlagen der Schizophrenie eingegangen werden.

Genetik der Schizophrenie

Es besteht schon seit längerem der Verdacht, dass Schizophrenie eine nicht zu vernachlässigende erbliche Komponente besitzt, da man zum einen Häufungen innerhalb von Familien beobachtete und zum anderen, da man durch Zwillingsstudien feststellen konnte, dass Schizophrenie bei diesen auffällig gehäuft vorkommen kann. Aus der Familienforschung läßt sich relativ eindeutig ableiten, dass das Erkrankungsrisiko eine Funktion des Verwandtschaftsgrades ist, das heisst in der unmittelbaren Verwandtschaft schizophrener Patienten findet sich eine deutlich erhöhte Prävalenz im Vergleich zur Durchschnittsbevölkerung (Vgl. Abbildung 2).

Abbildung 2

Durchschnittliches Risiko, eine Schizophrenie zu entwickeln. Zusammengestellt nach den zwischen 1920 und 1987 mit europäischen Populationen durchgeführten Familien- und Zwillingsstudien.



Aus: *Psychiatrie der Gegenwart 5* (Helmchen, 1999).

Der sicherlich eindrucksvollste Befund ist der der hohen Konkordanzrate bei eineiigen Schizophrenen, der unbeachtet der Tatsache, ob die Zwillinge getrennt oder gemeinsam aufwachsen, relativ konstant bleibt, nämlich bei etwa 48%. Einschränkend muss man sicherlich darauf hinweisen, dass diese Befunde auch die Umweltkomponente betonen, da bei einer eindeutig determinierten Krankheit eine wesentlich höhere Konkordanz zu fordern ist, wie es sich beispielsweise beim frühkindlichen Autismus findet [Levinson, 1998]

Problematisch und weiterhin ausdauernd diskutiert ist die Definition des Krankheitsspektrums. Bereits für die Schizophrenien existieren verschiedene regional unterschiedlich geläufige Klassifika-

tionen. Zusätzlich stellt sich aber auch noch die Frage, ob man für die Untersuchung des vererbten Phänotyps nicht auch noch andere psychiatrische Erkrankungen mit ähnlichem Krankheitsbild (Psychosen, schizoaffektive Erkrankungen) untersuchen soll, wie bei einigen Studien vorgeschlagen wurde. Das methodische Spektrum reicht von Kopplungsanalysen, die die Verteilung zufälliger Marker bei über mehrere Generationen betroffenen Familien mit zufälligen Markern untersuchen, bis hin zu Assoziationsstudien, die die Korrelation eines großen Patientensamples mit einem für die Krankheitspathogenese interessanten Gen überprüfen.

Im folgenden Überblick beschränke ich mich auf die Aspekte der Kopplungsanalyse, da Assoziationsstudien in keinem direkten Zusammenhang mit meiner Arbeit stehen.

Die Ergebnisse bisher erfolgter Kopplungsanalysen stehen zwar im Einklang mit der angenommenen genetischen Komponente der Schizophrenie, bedürfen jedoch einiger Einschränkungen, die ich kurz abhandeln möchte.

Im Gegensatz zu Erkrankungen, die streng nach den Mendelschen Regeln vererbt werden zeigt die Schizophrenie kein klassisches Vererbungsmuster. So findet sich keine vollständige Penetranz der Erkrankung, d.h. weder autosomale noch gonosomale, weder dominant noch rezessive Erbgänge vermögen den Erbgang der Schizophrenie innerhalb betroffener Familien vollständig zu erklären.

Ein weiterer Unterschied zu klassischen Erbkrankheiten ist die Tatsache, daß schizophrenieähnliche Symptome eben auch durch Drogenmissbrauch, metabolische und neurologische Störungen hervorgerufen werden können.

Dies steht im Zusammenhang mit der Eingangs erwähnten Schwierigkeit der diagnostischen Grenzziehung, bzw. nach der Frage der Reliabilität psychiatrischer Diagnostik.

Eine zunehmend akzeptierte Tatsache ist die der genetischen Heterogenität der Schizophrenie, d.h. es gibt keine eindeutige Zuordnung eines Genlocus zu Phänotyp wie bei der Mukoviszidose, vielmehr geht man von verschiedensten Genloci aus, wobei möglicherweise nicht nur ein Hauptlocus für die Schizophrenie verantwortlich ist, sondern mehrere miteinander vererbte kleinere Loci. Ein solcher Vererbungsmodus erschwert die Suche nach einem Krankheitsgen natürlich erheblich [Levinson, 1999; McGuffin, 2002].

Für die Interpretation einer psychiatrischen Kopplungsanalyse bedeutet dies, dass im Gegensatz zu

berühmten "Volltreffern", wie der Kopplung von Chromosom 4p mit Chorea Huntington, die einen ungewöhnlich hohen LOD-Score erreichte, das Signal zu Rauschen-Verhältnis wesentlich höher ist. Kleinere Loci können davon verdeckt werden, oder Artefakte werden als falsch-positive Treffer wahrgenommen.

Bis heute wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Loci in verschiedensten Kopplungsanalysen geortet. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass die Anzahl der Untersuchten Patienten schwankt, deren Verwandtschaftsgrad je nach Studie verschieden ist, die Heterogenität der Bevölkerung wichtig ist, die Definition von „Schizophrenie“ je nach Untersucher oft deutlich verschieden ist und nicht zuletzt, dass es häufig nicht gelang die gefundenen Loci in anderen Studien zu reproduzieren.

Eine Übersicht über einige gängige Befunde gibt die folgende Tabelle.

	N	1q	2p	3q	4p	4q21	5p	5q	6p24	7q	8p23	9q	10p13	10q11	12p
Blouin	54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Faraone	43	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
Kaufmann	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Levinson	43	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Moises	5	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Shaw	70	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Straub	265	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
Wildenauer	72	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Williams	200	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	10q11	12p	13q32	14q	15p	16q13	17	18p	18q	20q	21q	22q11	Xcen
Blouin	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Faraone	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kaufmann	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Levinson	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Moises	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Shaw	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Straub	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wildenauer	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Williams	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

periodische Katatonie

Die erste systematische Darstellung der Katatonie erfolgte durch den Nervenarzt Karl Ludwig Kahlbaum im Jahre 1874:

„Der Patient sitzt schweigsam, oder völlig stumm und regungslos da, mit starren Mienen, unbeweglichen, in die Weite fixirtem Blick, bewegungs- und scheinbar

völlig willenslos, ohne Reaction auf Sensibilitätseindrücke, zuweilen nur mit einem sehr geringen, aber deutlich erkennbaren Grade dieser auffälligen Erscheinung. Der Gesamtzustand des Kranken macht den Eindruck einer im tiefsten Seelen-Schmerz, oder im höchsten Schreck erfolgten Erstarrung ...“

[Kahlbaum, 1874]

Im Unterschied zu Richtungen in der Psychiatrie, die die verschiedenen Ausprägungen von Psychosen und Schizophrenien als Teil eines Kontinuums psychopathologischer Symptome sahen, klassifizierte der Psychiater Karl Leonhard in der ersten Hälfte des vorigen Jahrhunderts Schizophrenien nach einem System, das zwischen den systematischen und unsystematischen Schizophrenien unterschied und diese noch weiter klassifizierte [Leonhard, 1979]. Eine solche Klassifikation sah Leonhard durch unterschiedliche therapeutische Ansätze und verschiedene Prognosen gerechtfertigt. Bei der hier besprochenen periodischen Katatonie handelt es sich um eine Unterform der unsystematischen Schizophrenien, deren Besonderheiten im Folgenden kurz genannt werden sollen.

Die periodische Katatonie zeichnet sich durch einen raschen Beginn und einen phasenhaften Verlauf aus. Die Periodik nimmt jedoch nicht eine so starke Ausprägung wie bei manisch-depressiven Erkrankungen an. Es lassen sich zwei Pole abgrenzen, ein Erregungszustand und ein Hemmungszustand. Die Erregung zeichnet sich aus durch eine Unruhe mit Parakinesien, d.h. einer verzerrten Ausführung der Willkürmotorik. Die Bewegungsabläufe wirken steif und eckig. Es kommt zu psychomotorischen Auffälligkeiten wie Stereotypien und Iterationen. Bei verbalen Äußerungen kann es zu Wiederholungen einzelner Silben oder Worte, dem sogenannten verbigerieren, kommen. Der andere Krankheitspol, die Hemmung, fällt als Akinese auf. Der Kranke hat ein ausdrucksloses Gesicht, es kann zur Katalepsie und der Flexibilitas cerea kommen, also dem Haltungsverharren, z.B. nach einer passiven Armbewegung des Patienten durch den untersuchenden Arzt. Die Patienten nehmen bizarre, unnatürliche Haltungen ein. Man kann auch negativistische psychomotorische Auffälligkeiten finden, d.h. obwohl offensichtlich freundlich gestimmt, zieht der Patient seine Hand zurück, die er erst dem Arzt reichen wollte. Im Gegensatz zu den systematischen Schizophrenien ist die Prognose der periodischen Katatonie besser, obwohl auch sie in einen Defekzustand einmünden kann, der sich in einer Verlangsamung des Denkens, einer verringerten Affekttiefe und mangelnder Initiative äußert.

Eine interessante Bestätigung des Leonhardt'schen Konzepts rührt von modernen dimensionalen Ansätzen, die versuchen einen zusammenhängenden Symptomenkomplex mittels moderner multivarianter Analyseverfahren zu ermitteln. So zeigt sich, dass die von Peralta (Perlata et al., 2001) und Cuesta isolierten sechs Faktoren motorische Verarmung, Agitiertheit, Stereotypie/Manierismus, Proskinesie, Negativismus und Dyskinesie grosse Gemeinsamkeiten mit den von Kleist oder Leonhard definierten Subtypen der Katatonie zeigen, was für die Validität der verwendeten Konzepte spricht [Pfuhlmann, 1997; Stöber 1995 und 1998]

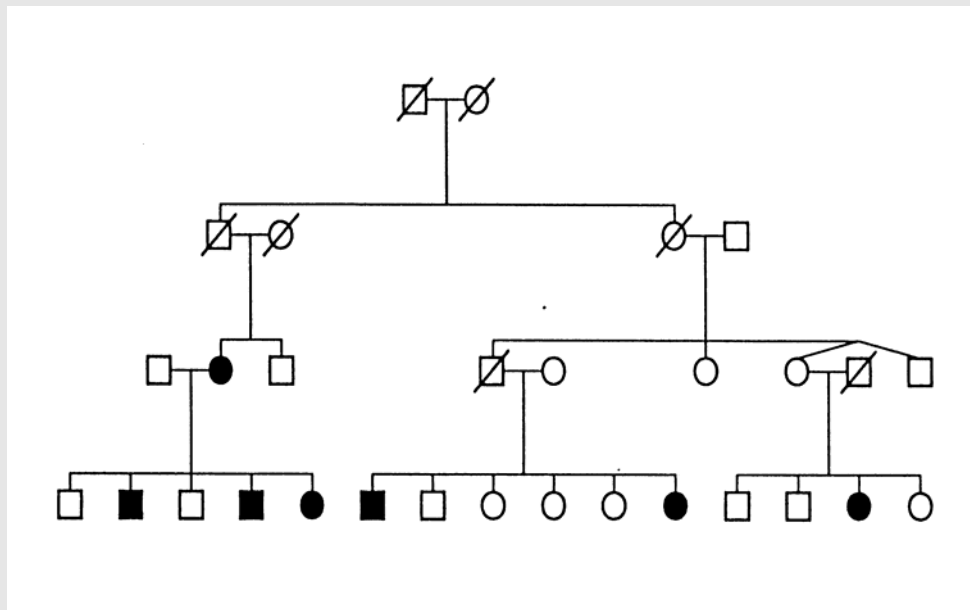
Für die psychiatrische Genetik ist diese Krankheitsbild von besonderem Interesse, da es bereits Karl Leonhard auffiel, dass es eine familiäre Häufung gibt. So ist die Belastung bei Verwandten ersten Grades deutlich erhöht [Beckmann, 1996]. Diese Beobachtung war Ausgangspunkt für die im Folgenden besprochene Kopplungsanalyse.

Die Region 22q13 als Kandidat für die periodische Katatonie

In einer unlängst durchgeführten Kopplungsanalyse von Stöber et al. wurden zwei Loci für die periodische Katatonie gefunden, einer auf Chromosom 15q15, der andere auf Chromosom 22q13. Bei dieser Studie wurden 12 Familien, d.h. 135 Individuen, darunter 57 Erkrankte untersucht. Mittels 356 Mikrosatelliten-Markern wurde das Genom unterteilt. Nach Durchführung einer nicht-parametrischen Kopplungsanalyse wurde Region 15q15 mit einem LOD-Score von 3.57 ($p=2.6 \times 10^{-5}$) und die Region 22q13 mit einem LOD-Score von 1.85 ($p=1.8 \times 10^{-3}$) als Kandidaten für periodische Katatonie identifiziert. Da der zweite Locus hauptsächlich bei einer Familie gefunden wurde, war diese Familie ein klares Ziel für eine Suche nach einem mutierten Kandidatengen, da man vermuteten kann, dass bei dieser betroffenen Familie ein genetischer Effekt am deutlichsten herauskommt.

Im Unterschied zu vorangegangenen Kopplungsanalysen besteht bei einer Krankheit, der man einen komplexen Erbgang unterstellt, ein Vorteil bei der Anwendung einer nicht-parametrischen Analyse im Vergleich zu einer parametrischen. Bei einer parametrischen Analyse muss der genaue Vererbungsmodus bekannt sein, d.h. die Analyse basiert auf einem vorher bekannten Vererbungsmodell. Im Gegensatz dazu ist die nicht-parametrische Analyse modellfrei. Das kommt einer Analyse des Vererbungsmodus bei Schizophrenie entgegen, da hier kein genauer Vererbungsmodus bekannt ist.

Abbildung 3 Der Stammbaum der betroffenen Familie, deren Phänotyp mit dem Locus 22q13 segregiert.



Aus: *Splitting schizophrenia: periodic catatonia – susceptibility locus on chromosome 15q15* (Stöber, 2000)

Eines der in Region 22q13 lokalisierten Kandidatengene ist das Cadherin *CELSRI*. Interessanterweise gibt es eine bekannte Chromosomenanomalie, eine 22q13-Deletion, die einen neuropsychiatrischen Phänotyp darstellt, der Ähnlichkeit mit dem Spektrum der autistischen Erkrankungen, den sogenannten „pervasive developmental disorders“ darstellt [Prasad, 2000].

Um darzulegen, weshalb eine Untersuchung dieses Gens von besonderem Interesse ist, soll im Folgenden kurz auf die Cadherine und ihre mögliche Bedeutung für neuropsychiatrische Erkrankungen eingegangen werden

Cadherine

Cadherine sind eine erst seit kurzem charakterisierte Klasse von Ca^{2+} -abhängigen Zelladhäsionsmolekülen, die besonders Interesse erregen, da sie eine wichtige Rolle bei der Morphogenese des Gehirns zu spielen scheinen. Um eine Einordnung des untersuchten Kandidatengens zu ermögli-

chen, werden im folgenden allgemeine Merkmale der Cadherine charakterisiert.

Bei der überwiegenden Mehrzahl von Cadherinen handelt es sich um Transmembranproteine, die sich alle durch ein den Cadherinen eigenes Motiv, das sogenannte Cadherin- oder EC- Motiv , auszeichnen. Das EC- Motiv besteht aus der negativ geladenen Protein-Primärstruktur DXD, DRE oder DXNDNAPXF. Das EC-Motiv wird im extrazellulären Teil des Proteins mehrfach wiederholt. Der intrazelluläre Teil variiert erheblich, so dass von einer breiten evolutionären Diversifikation der Cadherine ausgegangen werden kann.

klassische Cadherine; Cadherine vom *Fats*-Typ

Diese Cadherin-Klasse interagiert intrazellulär mit catenin 120p^{ctn} und β -catenin, ist also mit verschiedenen Strukturproteinen des Zytoskeletts assoziiert. Hauptsächliche Rolle scheint die Beteiligung an der Organisation der Zonula Adherens im Epithel zu sein. Es ist bekannt, dass Autoantikörper gegen diese Cadherine bei verschiedenen dermatologischen Erkrankungen eine Rolle spielen.

Entsprechende Cadherine bei *Drosophila* zeigen, wenn sie durch Mutation defekt sind, ein Gen-spezifisches Muster von Entwicklungsstörungen. Beispielsweise führt eine Mutation des DN-Cadherins zum Absterben im Embryonalstadium, gestörter Lokomotion beim Adulten und Fehlwachstum von Axonen

Protocadherine

Protocadherine sind eine Subfamilie der klassischen Cadherine, die sich durch etwa sechs extrazelluläre Cadherin Domänen, die sequentiell angeordnet sind, auszeichnen. Zwar ist über die Funktion der Protocadherine wenig mehr bekannt, als dass sie in hohem Maße ektodermal während der Ontogenese exprimiert werden, jedoch zeigt ihre genomische Organisation Parallelen zum V-D-J Rearrangement der Immunglobuline. Nach einigen neueren Berichten wäre so eine Diversifikation der Zellspezifität denkbar, d.h. die hoch variablen Protocadherine sind wesentlich für die Entstehung verschiedener Gehirnnuclei durch eine Art Zellaggregation. Darüberhinaus ist eine Untergruppe der Protocadherine, die CNRs (*cadherin-related neuronal receptor*), wahrscheinlich wesentlich an der Modulation von Synapsen beteiligt; ein möglicher Signaltransduk-

tionsmechanismus liegt in ihrer Verbindung zur Tyrosinkinase *Fyn* begründet [Wu, 1999 und 2000].

G-Protein gekoppelte Cadherine

Durch ein intrazelluläres Motiv zeigt diese Cadherinklasse, zu der auch *CELSRI* gehört, eine auffallende Ähnlichkeit zu G-Protein gekoppelten Peptid-Hormon-abhängigen Rezeptoren. Das Drosophila-Äquivalent Flamingo führt bei Mutanten zu einer gestörten Zell-Polarität, was in einer gestörten Embryogenese resultiert. Die Familie der Secretin-Rezeptoren, die eine große Ähnlichkeit zu Flamingo zeigt, erhöht bei Bindung ihres Liganden die intrazelluläre cAMP/IP₃-Relation. Die Störung der Embryogenese ist also im Zusammenhang mit einer Störung der nachgeschalteten intrazellulären Signalkaskade zu sehen.

CELSRI (Maus), *MEGF2* (Ratte) und *mFmi* (Drosophila) scheinen eine wichtige Rolle bei der neuronalen Morphologie, wahrscheinlich durch Regulation der Zellpolarität, zu spielen.

Funktion und genomische Organisation

An Synapsen finden sich am Rande der sogenannten aktiven Zone (Neurotransmitterausschüttung, Rezeptoren) vermehrt verschiedene Cadherine. Hier findet wahrscheinlich eine Stabilisierung der interneuronalen Verbindung auf einer morphologisch fassbaren Ebene statt. Darüber hinaus finden sich Tyn-gekoppelte CNRs auch in der aktiven Zone und zwar hauptsächlich bei kleinen und unreifen Synapsen. CNR-mRNA ist in verschiedenen Gehirnregionen nachweisbar, z.B. im Neocortex, im Hippocampus und im Cerebellum, wobei verschiedene Neuronen über ein ganz eigenes CNR-Expressionsmuster verfügen. Das legt die Bedeutung der CNRs für die Gehirndifferenzierung nahe. Für das N-Cadherin liegen Studien vor, die eine Änderung der Expressionsmuster im Zusammenhang mit der Physiologie der Synapse sehen, d.h. dass beispielsweise Antikörper, die gegen eine konservierte CNR-Sequenz gerichtet waren, zu einer signifikanten Hemmung der LTP führten [Goda, (2002); Murase, (1999)].

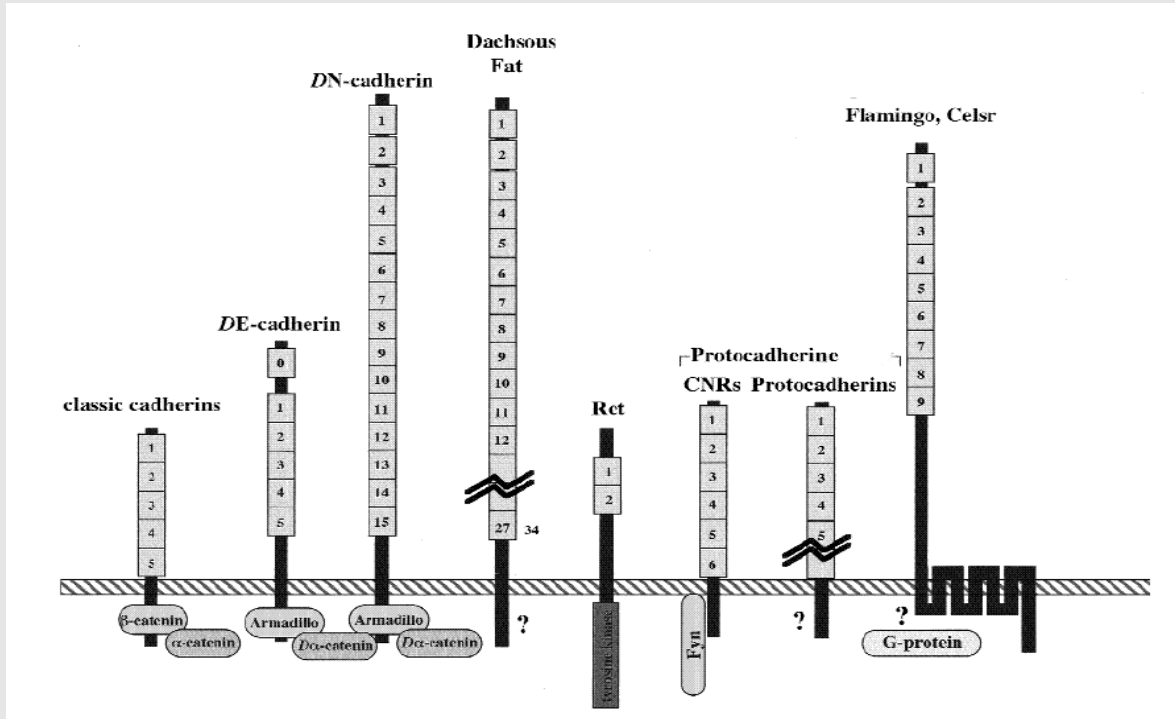
Bei Cadherin-11 knock-out-Mäusen findet sich eine Störung der LTP im Hippocampus. Für eine Psychiatrische Betrachtung ist interessant, dass diese Mäuse verschiedene Verhaltensauffälligkeiten zeigen, z.B. verminderte Anzeichen von ängstlichem Verhalten [Manabe, (2000)].

Auch das extrazelluläre Protein Reelin, das eine wichtige Rolle bei der Kortikogenese hat und hierbei auch im Zusammenhang mit neuropsychiatrischen Erkrankungen untersucht wird [Fatemi, (2001)] zeigt eine funktionelle Verbindung zu den Cadherinen. Das Cadherin eigene EC1-Motiv kann nämlich an Reelin binden und dadurch eine weit reichende Modifikation des entsprechenden Neurons verursachen [Senzaki, 1999]. Aus einer evolutionären Perspektive heraus zeigt sich, dass die Reelin-bindenden Domänen der Cadherine von den Amphibien bis zu den Säugetieren hin zunehmen, parallel der Zunahme der Gehirnkplexität von den Amphibien zu den Säugetieren.

Zusammen gefasst lässt sich sagen, dass eine Fülle von Einzelbefunden eine große Bedeutung der CNRs für die synaptische Funktion und Struktur nahe legen [Togashi, (2002)].

Die genomische Organisation der Cadherine lässt einige Gemeinsamkeiten erkennen. Klassische und desmosomale Cadherine bestehen im allgemeinen aus 12-17 Exons und relativ stark konservierten Introns, während andere Cadherine z.B. Protocadherine ein ungewöhnlich langes erstes Exon zeigen, das die extrazelluläre Domäne, die transmembranäre Region und einen Teil des cytoplasmatischen Bereichs kodieren (hierzu gehört auch *CELSRI*). Viele Mitglieder der Cadherin-Familie liegen in nächster Nähe zu anderen Cadherinen der gleichen Subfamilie, z.B. VE-Cadherin, E-Cadherin und P-Cadherin auf Chromosom 16q22.

Abbildung 4 Schema der Proteindomänen verschiedener Cadherine. Alle Proteine sind membranständig (schräg schraffierter Balken). Die Fragezeichen deuten auf eine unbekannte intrazelluläre Funktion hin, z.B. unbekannte Adaptorproteine oder unbekannte Signaltransduktion.



Aus:

Cadherin superfamily genes (Yagi, 2000)

Folgen pathologischer Mutationen bei Cadherinen

Cadherine sind evolutionär breit diversifizierte Moleküle, die weit mehr als „Zellverbandsklebstoff“ sind. Vielmehr ermöglichen sie komplexe interzelluläre Regulationsvorgänge. Evolutionär breit diversifizierte Proteinklassen sind oft anfällig für pathogene Mutationen, wie sich am Beispiel verschiedener neurologischer Erkrankungen (z.B. Marie-Charcot-Tooth) zeigt. Nicht so ausgeprägt diversifizierte Proteinklassen, z.B. die Cytochromoxidase C, übernehmen meist lebensnotwendigere Funktionen, dementsprechend sind Mutationen dort meist tödlich. Das soll exemplarisch an dermatolog. Autoimmunerkrankungen, dem Usher-Syndrom, Morbus Alzheimer und neoplastischen Erkrankungen gezeigt werden.

In der Dermatologie sind die Desmogleine, eine zu den Cadherinen gehörende Proteingruppe, die an den epidermalen Desmosomen vorkommt und intrazellulär an das ebenfalls als Antigen dienende Plakoglobulin gebunden ist, als Antigene von Autoimmunerkrankungen der Pemphigusgruppe bekannt. Da die Expression der Desmogleine in verschiedenen Schichten der Epidermis unterschiedlich ist, erfolgt die Spaltbildung in suprabasaler (Pemphigus vulgaris) oder subkornealer (Pemphigus foliaceus) Lage. Diese seltenen Autoimmunerkrankungen werden leider erst meist im generalisierten Stadium diagnostiziert; den Betroffenen hängt wortwörtlich die Haut in Fetzen herunter. Dadurch wird eindrucksvoll die Rolle der Desmogleine als „Zellklebstoff“ unterstrichen. Das sogenannte Usher-Syndrom ist ein autosomal-rezessiver, phäno- und genotypisch heterogener Symptomkomplex aus Retinitis pigmentosa, Taubheit und Schwindel. Bei manchen der vier Untertypen kommt es zu gelegentlichen epileptischen Anfällen. In zwei betroffenen Familien konnten Mutationen in dem Protocadherin 15 auf 10q21-22 gezeigt werden [Ahmed et al., 2001]. Diese Mutation verdeutlicht die wichtige Rolle der Protocadherine bei der Entwicklung des Nervensystems, da alle betroffenen Strukturen (Gehör, Vestibularorgan, Retina) Abkömmlinge des Ektoderms sind und dem Nervensystem zugerechnet werden.

Cadherine spielen eine wichtige Rolle bei der Tumorentstehung. In vielen epithelialen Tumoren, z.B. Adenokarzinomen der Brust und des Kolons, wurde eine erniedrigte Expression von E-Cadherin gefunden, die den Zellen wahrscheinlich ein Vordringen in das umgebende Gewebe ermöglicht.

Bei einer der erblichen Formen des *Morbus Alzheimer* ist als ursächlich defektes Gen Presenilin-1 (PS1) identifiziert worden, über dessen Funktion bisher nur spekuliert wurde. Nach neueren Untersuchungen [Baki et al., 2001] scheint Presenilin-1 in komplexer Weise bei zumindest einem Cadherin regulatorisch wirksam zu sein. Die zytoplasmatische Schleife des PS1 Proteins bindet an die proximale zytoplasmatische Sequenz von E-Cadherin. Hierbei konkurriert PS1 mit p120, einem bekannten Regulator der Funktion des E-Cadherin, um die Bindungsstelle. Im Gegensatz aber zu p120 ermöglicht PS1 eine erhöhte Bindung dieses E-Cadherins zu β - und γ -Catenin und erhöht die Ca^{2+} -abhängige Zellaggregation. Eine Mutation in PS1 verhindert die Bindung an E-Cadherin. Möglicherweise ist hierbei ein Ansatz für eine ätiologische Erklärung dieser Form von Alzheimer angedeutet, die über die bisherigen Amyloid- und Tauprotein-Theorien hinausgehen und eher mit den eingangs besprochenen Funktionen der Cadherine für die Neuroplastizität zu tun haben.

Cadherine und Schizophrenie

Schon seit geraumer Zeit wird angenommen, dass Schizophrenie eine Störung der Kortikogenese zugrunde liegt. Dementsprechend geht man davon aus, dass ein Gen, welches für die Kortikogenese wichtig ist einen Defekt aufweist. Bisher untersuchte Kandidaten sind mDAB1, PAF-Acetylhydrolase (defekt bei der Miller-Dieker Lissencephalie) und das oben erwähnte Reelin. Da auch Cadherine eine zentrale Rolle bei der Kortikogenese spielen, liegt es nahe, hier einen möglichen Zusammenhang zu postulieren. Diese Hypothese wird gestützt durch einen Vergleich der durch eine Kopplungsanalyse gefundenen Genloci und der Cadherin-Loci. Beispielsweise zeigen 5p14.1-13.1, 5q31 und 13q14 [Schwab et al. 1997; Riley et al. 1998; Barden und Morissette 1999] eine solche Übereinstimmung. Eine interessante Synthese zwischen der Rolle der Cadherine bei Neurogenese und Neuroplastizität [Chisaka, O. (2000)] und der postulierten Gehirnentwicklungsstörung bei Schizophrenien wäre die Annahme einer Mutation in einem Cadherin. Aus diesem Grund wurde das Cadherin *CELSR1* für eine Mutationsanalyse ausgewählt [Gross, 2003].

CELSR1

CELSR1 gehört zu der Eingangs erwähnten Klasse von transmembranen G-Protein gekoppelten Proteinen. Im Folgenden wird auf einige spezielle Aspekte hinsichtlich genomischer Organisation und Lage von *CELSR1* hingewiesen.

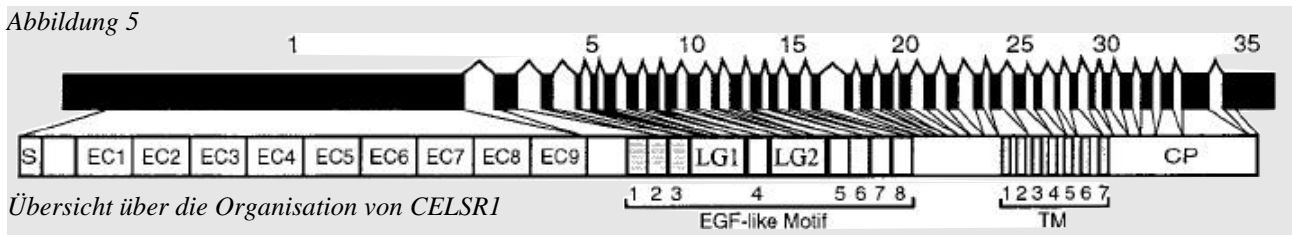
genomische Organisation

CELSR1 zeigt große Verwandtschaft zu einer Subgruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, der sogenannten Secretin-Rezeptor-Familie. Die Homologie umfaßt die 7TM ("seven-pass transmembrane") -Region und eine daran anschließende Cystein-reiche Region.

Die N-terminale Region von *CELSR1* enthält mehrere, kontinuierliche Cadherin-Repeats. C-terminal befinden sich sieben EGF-ähnliche Repeats, die von zwei Laminin-A-ähnlichen Repeats unterbrochen werden. Diese Repeat-Struktur ist an eine G-Protein-typische transmembranäre Region gekoppelt. *CELSR1* befindet sich auf Chromosom 22q13.3. *CELSR1* kann aufgrund des ungewöhnlich langen Exons zur Subgruppe der Protocadherine gerechnet werden, die alle ein un-

gewöhnlich langes erstes Exon aufweisen.

Abbildung 5



CELSR1 zeigt ein sehr großes erstes Exon, das für die extrazellulären Cadherinrepeats codiert (EC1-EC9), sowie eine Transmembranregion (TM), wie sie für G-Protein gekoppelte Proteine typisch ist. Mit 35 Exons und mehr als 170kB Länge, ist *CELSR1* ein sehr großes Gen verglichen mit dem Grossteil der menschlichen Gene. Möglicherweise findet auch bei *CELSR1* ein alternatives Splicing statt, wie es bei den Protocadherinen postuliert wird, da sich grosse Struktur analogien zeigen.

Aus: Large exons encoding multiple ectodomains are a characteristic feature of protocadherin genes (Wu, 2000)

Expressionsmuster

In 11 Tage alten Mäuseembryonen wird *CELSR1* im Gehirn, im Lungenepithel und im Neuralrohr exprimiert, also Gewebearten, die sich vom Ektoderm herleiten. Im Gehirn läßt sich die Expression im Bereich des Ependyms lokalisieren, und zwar im Bereich des lateralen dritten und vierten Ventrikels, sowie im Plexus Choroideus und in der Area postrema. Möglicherweise wird *CELSR1* auch in sehr geringen Mengen in anderen Gehirnregionen exprimiert, es liegt dort jedoch unter der Nachweisgrenze zur Zeit verwendeter Methoden.

Eine interessante Fragestellung ist, ob es möglicherweise ein gewebsspezifisches alternatives Splicing bei *CELSR1* gibt, da ein solches bei Protocadherinen vermutet wird. Zwischen den EC-Domänen des ersten Exons findet hierbei ein Rekombinationsmechanismus statt, der starke Ähnlichkeit mit dem Immunglobulin-Rearrangement zeigt. Eine Mutation in dem für diesen Mechanismus benötigten Enzym *Rekombinase* zeigt im Phänotyp der knock-out-Maus eine Störung der Kortikogenese.

Funktion

Da *Celsr1* oder seine Homologen *Celsr2* und *Celsr3* beim Säugetier noch nicht näher charakterisiert sind, bietet es sich an, Vergleiche mit dem *Drosophila* Ortholog „Flamingo“ zu machen. Flamingo und *Celsr1* zeigen eine weitgehende Übereinstimmung in der Anordnung der Domänen.

Bei *Drosophila*-Mutanten wurde eine Störung des Dendritenwachstums gezeigt [Gao, F.-G. et al. 1999]. Die Autoren dieser Studie berichten von exzessiven dorsalem Dendriten Wachstum im peripheren Nervensystem und Fehlverknüpfung der Dendriten. Da bei *Drosophila* das Schicksal der peripheren Neuronen weitgehend genetisch festgelegt ist, zeigt sich ein solcher Effekt hierbei besonders deutlich. Die Überlappung zwischen Dendriten ist somit weitgehend determiniert. Bei den sogenannten „starry night“-Mutanten mit einem Flamingo-Defekt ist die Steuerung der Dendritenüberlappung zwischen verschiedenen Neuronen derart gestört, dass das Dendritenwachstum übertrieben ist, so dass es zu einer unphysiologisch starken Überlappung zwischen den rezeptiven Feldern einzelner Neuronen kommt. Was ein solcher Effekt im ZNS eines Säugetiers bewirken kann, läßt sich erahnen, bleibt aber spekulativ.

Darüber hinaus hat *CELSRI* eine wichtige Funktion bei der Festlegung der Zellpolarität, und ist somit ein wichtiges Gen für die frühe Embryogenese.

Materialien und Methoden

Materialien

Geräte und sonstiges Material

ABI 310 Sequencer (Applied Biosystems)

Kodak Filme.

Gelelektrophoresekammern.

Zentrifuge Eppendorf 5417 R

Photometer.

T-GRADIENT Thermocycler (Biometra)

Chemikalien

Agarose

Ethidiumbromid

Dimethylsulfoxid

Desoxy-Ribonukleosid-5'-Triphosphate (Promega™)

ABI Prism Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit

Natriumacetat

Isopropanol

Ethanol 99%

Ethanol 70%

Lösungen und Puffer

Auftragspuffer für Agarosegele

MaeI-Puffer

TAE (10x)

400mM Tris, 50mM Natriumacetat, 10 mM ED-
TA pH 8,0

TBE (10x)

890mM Tris, 890mM Borsäure, 20 mM EDTA pH
8.0

10x PCR Puffer A

1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris HCl,

10x PCR Puffer B

0,025 mg/ml BSA, 0,025% Tween 20

Enzyme

Restriktionsendonuklease (*Mae I*)

Taq-DNA-Polymerase (Eurogentech)

Oligonukleotidprimer

<i>DNA Bereich</i>	<i>Primer</i>	<i>Produkt</i>	<i>Annea-ling</i>
		<i>(bp)</i>	<i>Temp (°C)</i>
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CCGGGTGCATGGATTGTGTTTCG-3'	400	
	5'-GGCTCCGCAGCCGGGAAGGTG-3'		68,2
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CGATGGGCGGCTGGCAGGAC-3'	447	
	5'-AGGGGCGGCGATGGGGATGG-3'		68,9
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-GTCCGCCTGCGTCTGCTGTGC-3'	445	64,6
	5'-CCACGGCTTTCACCCTGAGGA-3'		
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-GGGCTACTTCCGAATCGACTCT-3'	455	61,9
	5'-CGGTGGCCGTGGCACTGAGC-3'		
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-GCCCATCAACGCCAACTTGC-3'	515	61,5
	5'-GCACAGACACCACCCTGAAG-3'		

<i>DNA Bereich</i>	<i>Primer</i>	<i>Produkt (bp)</i>	<i>Annea-ling Temp (°C)</i>
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CCCTTGGATTTCGAGGATGTCC-3' 5'-CCGTGGTCCACCGCCTCCAC-3'	428	61,4
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-ACCCCTGACTTCCCCTTCCAGA-3' 5'-CGTGTGCCGTCGGATGCTGTC-3'	428	61,4
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-GCGCTACCTCTGGACTACAAGCA-3' 5'-AGGGTGGAGCATCCTCAAAGAT-3'	484	59,1
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CGCAGAAATCAGACACCACCAC-3' 5'-AGCACGAATCTTTGCCACCAC-3'	461	59,5
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CCAGGTGACCATCTTGGACATT-3' 5'-GGGAAACTGTTGGACTTGTTGG-3'	405	58,4
<i>CELSRI</i> Exon 1	5'-CTTCTCGTGGACCAGAATGACAAC-3' 5'-CCCTTGGCGGGTTCCTGAGG-3'	349	60,7
<i>CELSRI</i> Exon 2	5'-GCTCTCTTCTCCTTTGCCAAGC-3' 5'-GCAGCGTCCGATTCAGGTAGAT-3'	467	62,1
<i>CELSRI</i> Exon 2	5'-CCAGTTCTTCCCGTCGGAGGAC-3' 5'-GGCCATGTGACCTGGGGACAT-3'	422	62,8
<i>CELSRI</i> Exon 3	5'-AGACCTGTCCTGGAGTCAGTCG-3' 5'-CCTAAAGAGACCCCCGTGGG-3'	406	60,4
<i>CELSRI</i> Exon 4	5'-CCGGCTGGACTTGTCATTCCTA-3' 5'-CACAGGGCGAGGGTCGTTTTA-3'	274	59,1
<i>CELSRI</i> Exon 5	5'-CGCCAACCCCTGTTTTCTCTC-3' 5'-CCTCTCAAAGTGCTGGGATTACA-3'	237	59,7
<i>CELSRI</i> Exon 6	5'-CTGGTGGAGAAAACGCTGACAC-3' 5'-GAGGTCGCCAGGGCACTGC-3'	321	60,2
<i>CELSRI</i> Exon 7	5'-AGGCTACACAGAGGCAACTGC-3' 5'-CCGCTGGACACATACTTTCT-3'	382	59,2
<i>CELSRI</i> Exon 8	5'-GGTCCATTCCGTCCTGGTTTCC-3' 5'-GAGAGGGCGGTGTGAGTCCAC-3'	377	61,4

<i>DNA Bereich</i>	<i>Primer</i>	<i>Produkt (bp)</i>	<i>Annea-ling Temp (°C)</i>
<i>CELSRI Exon 9</i>	5'-GGCTCAGACCCACCTTCGTGTT-3' 5'-CTCCCTCGGGCACCCACCTA-3'	354	61,9
<i>CELSRI Exon 10</i>	5'-AATCAGTCGGTGTGGCTCTCC-3' 5'-TCAAGGGGGTCATTCTGTTTTTCC-3'	290	58,7
<i>CELSRI Exon 11</i>	5'-GCGGAGTTTGTGTAAGTGACTG-3' 5'-GGAGAATGGGTCTGAAGAGGAAA-3'	400	58,9
<i>CELSRI Exon 12</i>	5'-CTCGCAAGGGACCAGAGAGGT-3' 5'-CCTCCTGTGTTTCAGCCATAAGAG-3'	330	60,0
<i>CELSRI Exon 13</i>	5'-GTGGAAGGTCTCGTGGATTGT-3' 5'-AATATGTCCCTGTTACCCAGAAT-3'	322	56,8
<i>CELSRI Exon 14</i>	5'-CTCCTGGGCAACCATCTCCAT-3' 5'-AGGAAACCAAAAACCACATCTGT-3'	392	57,7
<i>CELSRI Exon 15</i>	5'-GCTGCAAGGTAGGGCCTCTCC-3' 5'-TGTCCCCGCGCTGTAACCTG-3'	291	61,7
<i>CELSRI Exon 16</i>	5'-TGTTTGTGGTCGTGGGTGTGG-3' 5'-CGCCTGCCTCAGTTCCTACA-3'	203	59,8
<i>CELSRI Exon 17</i>	5'-GTGGATTGAAATACACAAGCATTG-3' 5'-CTCTCACGCATACACGAACACA-3'	230	57,1
<i>CELSRI Exon 18</i>	5'-GGTTTGCACACATCACGACT-3' 5'-CGTCTTCCACGAACTGAGGT-3'	348	60,3
<i>CELSRI Exon 19</i>	5'-GAATGAGCCCACTAGGCAA-3' 5'-TGATGGTAGCAGGGTTCAC-3'	330	60,9
<i>CELSRI Exon 20</i>	5'-GCGAGACTCCACCTCAAAAA-3' 5'-GCAGCAGCAGGTTTCTAAGC-3'	308	60,3
<i>CELSRI Exon 21</i>	5'-TGGTTTTTGAGAAGCACCTG-3' 5'-GGATTTTGACCTGTGGAAGC-3'	369	59,5
<i>CELSRI Exon 22</i>	5'-CAGATGTTTCCTCACCGTGTT-3' 5'-AGGGGAAACACAGACCACAA-3'	340	60,4

<i>DNA Bereich</i>	<i>Primer</i>	<i>Produkt (bp)</i>	<i>Annea-ling Temp (°C)</i>
<i>CELSRI</i> Exon 23	5'-CAAAGGCTGCCCTTTACAGA-3' 5'-CAGGCTCAGCAGGTTTGAG-3'	315	60,3
<i>CELSRI</i> Exon 24	5'-CTCGGCCCTTACCTTCTCTC-3' 5'-ATGGTAGCTGCTCCAAGCTG-3'	304	60,5
<i>CELSRI</i> Exon 25	5'-TCACTCATGCCTGTCTGACC-3' 5'-AGCTGGGGTCTGTTGGAAAT-3'	300	60,9
<i>CELSRI</i> Exon 26	5'-GGACTCCTTGCTCCTTCCTC-3' 5'-AACAGCCCTTCCAGCTCAT-3'	308	60,1
<i>CELSRI</i> Exon 27	5'-CAGTTGGAGGTCTGCAGTGA-3' 5'-CAACGTGGCAAACCTCTCT-3'	302	59,4
<i>CELSRI</i> Exon 28	5'-AGAGAGGGAGGGAGGAAGG-3' 5'-AGTCCTCACAGCCACAGGAG-3'	336	60,1
<i>CELSRI</i> Exon 29	5'-CTAGGAAGGCAGCAGCAG-3' 5'-ATCTGGCCGATTCTGTCACT-3'	357	59,8
<i>CELSRI</i> Exon 30	5'-AGAGTCATTCCCGTGGTG-3' 5'-AATGGCAGGACACAGGTTG-3'	251	60,2
<i>CELSRI</i> Exon 31	5'-TGGGAACACAGAAGGGGTAG-3' 5'-GGACGTGGGAAAAACAACC-3'	259	60,2
<i>CELSRI</i> Exon 32	5'-CCC GCGCATCCACAG-3' 5'-CAGTGCTGCTGGGCATATC-3'	273	60,4
<i>CELSRI</i> Exon 33	5'-ATGGCTCTCAAGGGAGCAG-3' 5'-GGTCCTCCAGCCTTTCAGT-3'	334	61,3
<i>CELSRI</i> Exon 34	5'-ACTTGACCTTGCCGTGTCTC-3' 5'-CAGGTGAGGTGGGTGTCAG-3'	390	60,2
<i>CELSRI</i> Exon 35	5'-ACCAAGCCGCTACCCTCAC-3' 5'-GTGGCCTTTGGCACTTGTC-3'	330	62,1
CELSR	5'-TCTCCGTGGATCTGTTCTGC-3'	431	61,4
Promotor'	5'-GCGGGGGCTGAGTTC-3'		

<i>DNA Bereich</i>	<i>Primer</i>	<i>Produkt (bp)</i>	<i>Annea-ling Temp (°C)</i>
CELSR	5'-TCTCCGTGGATCTGTTCTGC-3'	575	60,8
Promotor"	5'-TGGTTTCAAGATGGCTGGCTCCTC-3'		

Oligonukleotide für ARMS - PCR

<i>Allel</i>	<i>Primer (Allelspezifität in Klammern)</i>
Ser664Trp	5'-GCGTGATCGGCT-3' (Ser); 5' -GCGCTGTAACCTG-3' (Trp); 5'-GCGT-GATCGGCC-3' (reverse)
Cys1126Arg	5'-GCGTGATCGGCT-3' (Cys); 5'-GCGTGATCGGCC-3' (Arg) ; 5'-CAC-CAGACACAGAC-3' (reverse)
Leu1994Pro	5'-TACTACAAGCTCCT-3' (Leu); 5'-TACTACAAGCTCCC-3' (Pro); 5'-GCGCTGTAACCTG-3' (reverse)
Ile2287Val	5'-CTTTAACTGTACCACCA-3' (Ile); 5'-CTTTAACTGTACCACCG-3' (Val); 5'-ACAGGAACCTGCTG-3' (reverse)

Software

BLAST. (Sequenzanalyse)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>

PRIMER3. (Oligonukleotidkonstruktion)

http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.

RESTRICTION ENZYME ANALYSIS.

<http://darwin.bio.geneseo.edu/~yin/WebGene/RE.html>

Methoden

Polymerasekettenreaktion

Reaktionsansatz:

2µl DNA, 2,5µl 10x Puffer, 2 µl Primer (10pmol/µl), 1µl Taq-Polmerase (0,5U/µl), 1 µl NTPs

(200µM pro Nukleotid), 16,5 µl H₂O.

Die PCR fand in einem Eppendorf Reaktionsgefäß statt. Die Reaktionsschritte der PCR waren 1. 5 min 95°C (Denaturierung) 2. 45 sec 98 °C Denaturierung 3. 30 sec bei der primerspezifischen Annealingtemperatur 4. 45 sec 72°C Extension. Die Schritte 2.-4. wurden 53mal ausgeführt.

Bei Mispriming, d.h. dem Auftreten unspezifischer Banden wurde optional 5% DMSO hinzugesetzt.

Automatische Sequenzierung nach der Didesoxymethode

Heutige DNA-Sequenzierungsverfahren beruhen hauptsächlich auf der von Sanger, Tabor und Richardson [Sanger et al., 1977], [Tabor und Richardson, 1987] entwickelten Methode, dass die Polymerasekettenreaktion bei der Einführung eines 2',3'-Didesoxy-Nukleotids anstatt des normalen 2'-Desoxynukleotids unterbrochen wird. Da der Abbruch an jeder Stelle erfolgen kann, solange ausreichend Nukleotide vorhanden sind, bilden sich verschieden lange Bruchstücke. Beim automatischen Sequenzieren sind die verwendeten Nukleotide mit einem Farbstoff markiert, wobei jedes Nukleotid einen Farbstoff einer bestimmten Wellenlänge zugewiesen bekommt. Die so markierten Fragmente werden in einer 48 cm langen mit einem speziellen Polymer gefüllten Kapillare aufgetrennt und passieren während des Auftrennvorgangs einen Argonlaser und eine CCD-Kamera, die das Absorptionsspektrum des vorbei wandernden Bruchstücks misst. Die so gewonnen Rohdaten werden durch eine Auswertungssoftware untersucht, die Absorptionsmaxima durch Filter- und Kontrastverstärkungsvorgänge den einzelnen Nukleotiden zugewiesen und schließlich als TXT-Datei abgelegt. Ein anschließender manueller Abgleich bereinigt durch die Software nicht erkannte Fehler.

Reaktionsansatz: 9µl H₂O, 3µl Primer (2,5 pmol/µl), 4 µl Ready Reaction Kit, 4µl DNA (10-100 ng).

Der PCR-Cycler lief mit folgendem Programm:

1.5 min 98°C, 2. 30 sec 96°C 3. 30 sec 60°C 4. 30 sec 75°C 5. 30 min 20°C

Datenauswertung

Der Abgleich der durch automatisches Sequenzieren gewonnenen Sequenz erfolgte durch das Online-Tool BLAST . Die Basenfolge wurde als Textdatei eingegeben, der Abgleich mit dem Datenbestand des Humane Genome Projects erfolgt durch einen stochastischen Algorithmus. Die Übereinstimmung der Sequenz mit einer Datenbank wird untersucht, wobei eine positive Übereinstimmung einen gewissen Schwellenwert überschreiten muss. Sequenzen niedriger Komplexität (z. B. Repeats) wurden herausgerechnet. Der Abgleich erfolgte mit den voreingestellten Programmparametern .

Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)

Die Bestimmung der Allelfrequenz des erfolgte durch Schnitt der mit den Primern amplifizierten und aufgereinigten DNA mit dem Restriktionsenzym *MaeI* bei 45°C nach den Angaben des Herstellers. Die Proben wurden auf 1% Agarosegel sichtbar gemacht und auf Kodakfilm abgelichtet.

Agarose-Elektrophorese

Es wurden im allgemeinen 1% Agarosegele verwendet, zur selektiven Auftrennung wurden bis zu 4% Agarosegele verwendet um so eine höhere Trennschärfe zu erreichen [Maniatis et al., 1990]. Agarose wurde mit 60 - 150 ml 1x TAE oder 1x TBE (bessere Trennschärfe) Puffer versetzt und erhitzt bis sich die Agarose als polymerisiertes Gel absetzt. Die Agarosegele wurden mit 0,005% Ethidiumbromid versetzt, um die DNA unter kurzweiligem UV-Licht sichtbar zu machen. Die DNA Proben wurden mit je 5µl Laufpuffer versetzt und anschließend bei 90 Volt 1 - 3 Stunden lang aufgetrennt.

DNA-Präparation

Die Bande mit der erwarteten Größe wurde unter UV-Licht dargestellt und mittels eines Skalpells herauspräpariert. Das vorherige Auftrennen der DNA auf einem Agarosegel erlaubt eine Aufreinigung ohne PCR bedingte Artefakte.

DNA-Aufreinigung

Die Aufreinigung der DNA erfolgte mit einem Standardkit der Firma QIAGEN, wobei wahlweise das Gelextraktionskit (zur Entfernung von Agarose), das PCR Aufreinigungs- oder das Nucleotide Removal Kit (Nukleotide kleiner 17 Basen werden entfernt) zur Anwendung kamen. Die Aufreinigung beruht auf einem säulenchromatographischen Prinzip, die DNA bindet als Anion selektiv an eine Silikatsäule, während kleinere Moleküle keine stabile Bindung mit dem Silikat eingehen und so abgetrennt werden, bis die DNA unter Zugabe eines Lösungspuffers (H₂O oder EB-Puffer) aus der Säule gelöst wird.

DNA-Mengenbestimmung

Um bei der sehr sensitiven Sequenzierungsreaktion die Reaktionsbedingungen zu optimieren, wurde die DNA-Menge des aufgereinigten PCR-Produkts entweder photometrisch oder semi-quantitativ auf einem 1% Agarosegel bestimmt, da bei geringen DNA-Mengen die photometrische Bestimmung zu ungenau ist.

DNA-Präzipitation

20 µl der Reaktion wurden in 80 µl Wasser aufgenommen in ein neues Gefäß überführt und mit 250 µl Ethanol und 10 µl Natriumacetat versetzt (DNA Fällung), bei 13000 Umdrehungen 15 min lang zentrifugiert, der Überstand verworfen und mit 70% Ethanol versetzt, nochmals 10 min mit 13000 Umdrehungen zentrifugiert und dann in 20 µl sterilem Wasser aufgenommen und in die Sequenzierungsprobengefäße überführt.

PCR Amplifikation spezifischer Allele (PASA)

Um die Frequenz eines Allels festzustellen wird nur dieses vermehrt, indem man einen Oligonukleotid-Primer entwirft, der am 3'-Ende spezifisch für das gesuchte Allel, nicht aber für andere ist. Bei einem anderen Allel bindet das 3'-Ende des Primers nicht, und da der *Taq* Polymerase 3'→5' Exonuclease Aktivität fehlt, verhindert dieses insuffiziente 3'-Ende eine korrekte DNA-Amplifikation. Die Primer wurden mit Hilfe des Programms PRIMER3. entworfen, zusätzlich wurde eine zweite nicht passende Base am 3'-Ende eingeführt, um die Dissoziation bei nicht

erwünschter Bindung zu erleichtern [Newton, 1989], [Sarkar, 1991]. Die Optimierung erfolgte nach obigem PCR-Protokoll und Variation der Annealingtemperatur mittels eines Gradienten und Auswahl einer geeigneten MgCl₂-Konzentration. Die PCR Produkte wurden mit 5 µl Laufpuffer auf einem Agarosegel aufgetrennt und zur Auswertung fotografiert.

assymetrische PCR

Bei der Sequenzierung von Exon 27 und Exon 28 wurde das oben angeführte PCR-Protokoll abgewandelt, um einzelsträngige DNA zu erhalten, um so die Qualität der anschließenden Sequenzierung zu erhöhen. Dies erfolgte in dem man die Primerkonzentration um den Faktor 50 verschob, d.h. bei einer Reaktion wurde selektiv ssDNA mit dem *forward*-Primer amplifiziert, bei der folgenden ssDNA in *reverse*-Orientierung [Strachan, 1996].

verwendete Materialien:

2µl DNA (40-60 ng), 2,5µl 10x Puffer, 1µl Primer (10pmol/µl), 5 µl Primer (100pmol/µl) 1µl Taq-Polymerase (0,5U/µl), 1 µl NTPs (200µM pro Nukleotid), 9,5 µl H₂O, 2µl DMSO

Zur Anwendung kam das oben beschriebene PCR Programm mit den Anealingtemperaturen 59,4°C und 60,1°C. Die DNA wurde danach mittels des PCR Removal Kit™ aufgereinigt, quantifiziert und zur Sequenzierung verwendet.

Ergebnisse

Voraussage der Promotorregion

Da das *CELSRI*-Gen bisher nicht vollständig charakterisiert wurde, konnte nicht auf bereits vorliegende Daten zurückgegriffen werden. Aus diesem Grund wurde die Promotorregion mittels eines speziellen Programmes vorausgesagt. Demnach liegt eine AACATA-Sequenz an -585 Position und wurde bei den hier präsentierten Ergebnissen als wahrscheinliche Promotorregion untersucht.

Ausschluss von CELSR1 als Träger einer pathogenen Mutation

Für die Mutationsanalyse wurden alle 35 Exons, die angrenzenden Exon/Intron-Übergänge, die wahrscheinliche Promotorenregion und eine variable Minisatellitenregion in Intron30 untersucht. Dabei wurden fünf Proben sequenziert, drei Kontrollen und zwei Patienten. Bei einer pathologischen Mutation erwartet man eine heterozygote Mutation bei beiden Patienten. Keiner der gefundenen Polymorphismen war jedoch für die Patienten ausschließlich heterozygot.

Polymorphismen in CELSR1

Bei der Sequenzierung wurden 18 Polymorphismen gefunden. Dabei waren 12 stumme Transitionen, fünf mit einem nicht-konservativem Aminosäureaustausch und eine Insertion unter den gefundenen Polymorphismen.

Einen Überblick über die gefundenen Polymorphismen bietet die nachfolgende Tabelle. Die Datenbankangabe bezieht sich auf NCBI-Datenbank unter Verwendung der dortigen Nomenklatur (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

P o s i t i o n	S N P ¹	A m i n o s ä u r e - s u b s t i t u t i o n	D a t e n b a n k - n u m m e r
nt 1230	AGC→AGT	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 1275	CTC→CTG	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 1991	TCG→TGG	Ser→Trp	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 3042	GTG→GTA	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 3376	TGC→CGC	Cys→Arg	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 4758	ACC→ACT	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 5112	T→G	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 5981	CTC→CCC	Leu→Pro	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 5983	ATC→GTC	Leu→Pro	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 6319	CGG→CGA	Ile→Val	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 6939	CCG→CCT	-	GenBank XM_010054; <i>CELSRI</i> mRNA
nt 18518	C→T	-	GenBank AL031588; BAC clone RP5-1163J1
nt 18589	G→A	-	GenBank AL031588; BAC clone RP5-1163J1
nt 32487	T→G	-	GenBank AL031588; BAC clone RP5-1163J1
nt 45407	C→G	-	GenBank AL031588; BAC clone RP5-1163J1

¹ im Exon mit Tripletangabe, im Intron nur das jeweilige Nukleotidangabe

Intron 30 enthält polymorphe Mikrosatelliten-DNA

(siehe Abbildung 6).

Abbildung 6 Die Abbildung zeigt aufgetrennte PCR-Produkte von Intron 30. Nach der bekannten Sequenz wäre eine Länge von ca. 550 bp zu erwarten gewesen. Links ein 100 bp Marker, rechts verschiedene Proben, die jeweils deutlich länger sind als 550 bp, polymorph sind und teilweise (Bande sechs und sieben) heterozygot sind. Die erste erkennbare Bande des 100 bp Markers beginnt bei 600bp, d.h. Die gezeigten Produkten schwanken zwischen 700 und 600 bp.

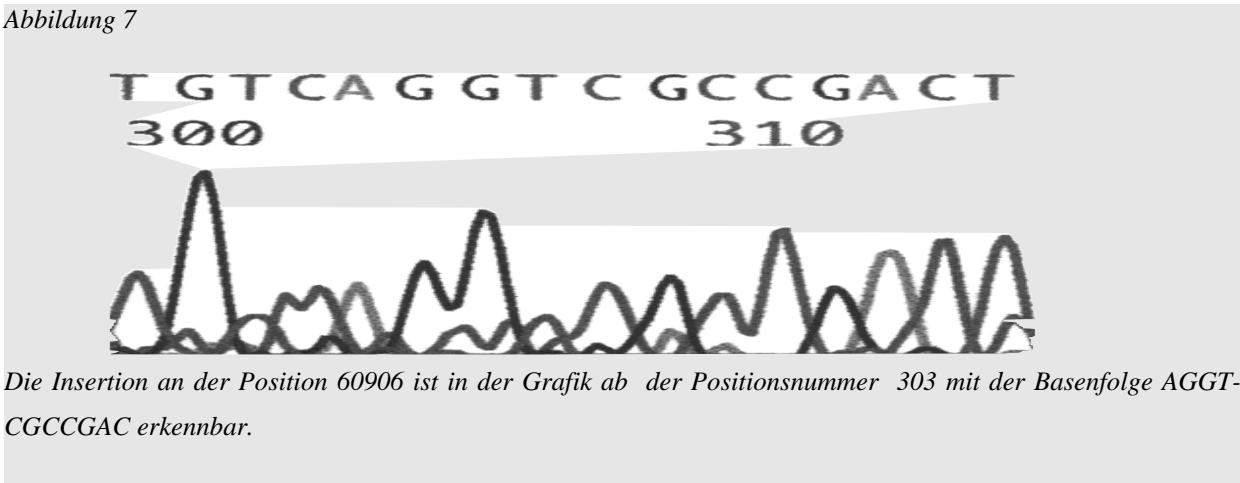


Aus: *Mutational analysis of the neuronal cadherin gene CELSR1 and exclusion as a candidate for catatonic schizophrenia in a large family* (Gross, Grimm et al. , 2001)

Die Exons 30 und 31 codieren für Teile der cytoplasmatischen Domäne von *CELSR1*, die sich an die 7-Helices-Transmembran-Domäne anschließt. Nach den Daten des HGP umfasst Intron 30 734 Basenpaare, die teilweise in einer hochvariablen 8-12 Basen langen Mikrosatelliten-DNA Sequenz angeordnet sind. Da Mikrosatelliten-DNA eine Prädilektionsstelle für pathologische Mutationen ist, wurde versucht dieses Intron zu sequenzieren. Da der G-C-Gehalt von Intron 30 jedoch überdurchschnittlich hoch ist, gelang es trotz verschiedener Sequenzierungsstrategien (u.a. Klonieren in ein Plasmid um Sekundärstrukturen zu vermeiden) nicht eine vollständige Sequenz von Intron 30 zu erhalten. In den jeweils ersten 150-200 bp zeigten sich keine Sequenzauffälligkeiten, jedoch wies das mit den Primern P1 und P2 erhaltene PCR-Fragment bei der Auftrennung mit Agarosegel bei verschiedenen DNA-Proben einen deutlichen Polymorphismus auf, der aber für keine der

Patientenproben spezifisch war. Die Produkte dieses PCR-Produkts sind also ca. 150 bis 200 bp länger, als die bisher bekannte Sequenz.

Abbildung 7



Die Insertion an der Position 60906 ist in der Grafik ab der Positionsnummer 303 mit der Basenfolge AGGT-CGCCGAC erkennbar.

An Position 60906 wurde eine bisher unbekannte Insertion AGGTTCGCCGAC gefunden, die beispielhaft für Sequenzierungs-Primär-Daten gezeigt werden soll.

Diskussion

Die hier vorgelegten Ergebnisse weisen daraufhin, dass *CELSRI* in den untersuchten Bereichen keine pathogene Mutation trägt, die für die Pathogenese der periodischen Katatonie relevant ist. In der Diskussion möchte ich deshalb kurz die Bedeutung dieses Ergebnisses erläutern. Die bei der Mutationsanalyse gefundenen Polymorphismen wurden bei den Transitionen, die eine Änderung der Aminosäuresequenz zur Folge haben, hinsichtlich ihrer Häufigkeit an 100 Chromosomen analysiert. Diese Polymorphismen, hauptsächlich handelt es sich um so genannte SNPs (single nucleotide polymorphism), in einem Fall um eine Insertion, dürften für zukünftige Untersuchungen von Nutzen sein, da sie zum einen eine Analyse der Mutationsereignisse bei *CELSRI* erlauben oder eine Analyse evtl. funktioneller Bedeutungen, d.h. einen eher theoretischen Nutzen aufweisen, oder aber als genetische Marker bei der Kartierung von bestimmten Merkmalen eine gewisse Rolle spielen, da SNPs hier im Gegensatz zu den bisher benutzten polymorphen Repeats einige interessante Vorteile aufweisen.

Im folgenden möchte ich noch kurz einen Ausblick auf zu erwartende Ergebnisse in der Genetik der Schizophrenie geben sowie darauf hinweisen, dass die ätiologisch ursächliche Mutation in der

untersuchten Familie möglicherweise im WKL1-Locus zu finden ist.

Bedeutung der Ergebnisse vor dem Hintergrund der Hypothese einer Entwicklungsstörung

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, ist eine der allgemein anerkannten Hypothesen der Schizophrenien die der neuronalen Entwicklungsstörung. Diese attraktive Hypothese würde es gestatten verschiedene Befunde, z.B. morphologische Auffälligkeiten der Gehirnstruktur, möglicher Einfluss von Influenzaviren, die familiäre Häufung, etc. , miteinander zu verknüpfen, obwohl einschränkend anzumerken ist, dass die tatsächlichen Fakten eher spärlich sind und eine Hypothese, die sich auf ein Computermodell bezieht, zusätzlich zur angeborenen oder erworbenen kortikalen Entwicklungsstörung noch eine neurodegenerative Komponente annimmt, um die chronischen Progredienz des Krankheitsverlaufs abzubilden [Weinberger, 1987,1995 und 1996].

Wegen der Schlüssigkeit dieser Hypothese wurde *CELSRI* als Kandidatengen ausgewählt, da dieses Gen im Menschen wahrscheinlich wichtige Funktionen bei der Embryonalentwicklung aber auch bei der neuronalen Plastizität des Adulten besitzt. Der Ausschluss von Mutationen in den analysierten Regionen stellt somit einen kleinen Beitrag zur Verifikation der Hypothese der neuronalen Entwicklungsstörung bei Schizophrenen dar. Da im Zuge des HGP zunehmend alle Gene des Menschen entdeckt werden, wird die exakte Verifikation der Entwicklungshypothese auf genetischer Ebene in absehbarer Zeit erreichbar, wobei anzunehmen ist, dass der hier dargestellte Ansatz, die Zielregion einer positiven Kopplungsanalyse auf Mutationen zu untersuchen, der vielversprechendste ist, da im Gegensatz zu polygenen Vererbungen, wo unter Umständen eine Summation subtiler und schwer zu bestimmender Polymorphismen zum jeweiligen Phänotyp beiträgt, eine exakt bestimmte Region der genetisch bestimmende Faktor für den Phänotyp ist.

Eine spannende Frage ist die nach der genauen Art der Mutation. In der medizinischen Genetik hat sich seit den Möglichkeiten der Molekulargenetik ein verblüffendes Spektrum an bisher noch wenig bekannten Mutationen offenbart, z.B. die der pathologischen Repeatvermehrung bei einer Vielzahl neurologischer Erkrankungen. Möglicherweise haben Mutationen in bisher noch wenig charakterisierten, regulatorisch bedeutsamen Regionen, sogenannten *cis*-regulatorischen Sequenzen, einen entscheidenden Anteil an der Ausprägung komplexer neuronaler Phänotypen [Edelman, 1998].

Das Gen WKL1 ist Träger einer Mutation bei der familiären periodischen Katatonie

Kürzlich wurde in einem anderen Kandidatengen in der untersuchten Region eine missense-Mutation entdeckt [Meyer et al., 2001]. Dieses Gen kodiert wahrscheinlich einen Kationen-Kanal, der selektiv im Gehirn exprimiert wird, insbesondere in der Amygdala, dem Thalamus, dem Hippocampus und der Substantia nigra. Er zeigt Ähnlichkeit zu einem spannungsabhängigen Ionenkanal, KCNA1, deren charakteristisches Merkmal ein Spannungssensor in der S4-Domäne ist. Die entdeckte Mutation ist ein Leu309Met Aminosäureaustausch, der möglicherweise, die Konformation des Proteins verändert. Er befindet sich in der transmembranen Domäne S6.

Ein Ausschluss des in der vorgelegten Arbeit untersuchten *CELSRI* Kandidatengens spricht für die ursächliche Beteiligung von WKL1. Andererseits legt eine Kopplungsanalyse eine monogene Erkrankung nicht zwingend nahe, da in der vererbten Region möglicherweise zwei oder mehr pathogene Mutationen segregieren und so einen pseudo-monogenen Erbgang erzeugen, der tatsächlich multigen ist. Insofern ist der Ausschluss von *CELSRI* ein wichtiger Beitrag zur Etablierung des exakten Vererbungsmodus. Er beantwortet aber nicht die spannende Frage, ob noch andere Regionen auf 22q13 zur periodischen Katatonie in der untersuchten Familie beitragen.

Interessanterweise berichten Leegwater et al. [Leegwater, 2001] über eine Mutation in MLC1 (ein Synonym für WKL1), die die megaenzephalische Leukenzephalopathie verursacht, eine neurologische Erkrankung mit Beginn im Kindesalter und zerebraler Zystenbildung und konsekutiver Epilepsie. Es könnte sich also bei der Mutation bei den Katatonie-Patienten um eine *gain of function* Mutation handeln, während es sich bei der Mutation der megaenzephalischen Leukenzephalopathie um eine *loss of function* Mutation handeln könnte.

Gibt es einen spezifischen Genotyp für schizophrene Psychosen?

Sofern einige schizophrene Erkrankungen, z.B. die unsystematischen Schizophrenien nach Karl Leonhardt, tatsächlich einem vornehmlich monogenen Erbgang gehorchen, stellt sich die Frage, wie ein genetischer Defekt beschaffen sein muss, damit er zu einem derart umschriebenen Krankheitsbild wie einer schizophrenen Psychose führt.

Um einen kurzen Einblick in das ungeklärte Problem der Phänotyp-Genotyp Beziehung in der

psychiatrischen Genetik zu geben, möchte ich kurz auf einige andere, gut charakterisierte hereditäre Defekte eingehen. Interessanterweise sind bis heute bereits einige genetische Defekte bekannt, die sich auch in Form einer Schizophrenie manifestieren können. Zu diesen Defekten gehören unter anderem die Phenylalaninketonurie, die GM2-Gangliosidose und das MELAS-Syndrom, eine mitochondriale Erkrankung.

Die Phenylalaninketonurie führte in früheren Jahren, als sich das Vollbild wegen fehlendem Neugeborenen-Screening noch manifestieren konnte, aufgrund eines Mangels des Enzyms Phenylalaninhydroxylase zu einer irreversiblen Schädigung u.a. des Gehirns, was sich in einer Störung der geistigen Entwicklung manifestierte, die auch Züge einer schizophrenen Psychose annehmen konnte. Die Phenylalaninketonurie-Patienten waren somit typisch psychiatrische Patienten mit einer Vielzahl an Verhaltensauffälligkeiten und einer mentalen Retardierung.

Die GM2-Gangliosidose, auch Tay-Sachs-Krankheit genannt, ist eine Sphingolipidose, der ein Defekt der beta-Hexosaminidase zugrundeliegt. Neben zahlreichen anderen Manifestationen der Erkrankung, z.B. Myoklonien, Spastik und Makulastörungen, zeigte sich diese Erkrankung auch schon in Form einer katatonen Schizophrenie.

Das MELAS-Syndrom ist eine Mitochondriopathie, die im allgemeinen als mitochondriale Enzephalopathie, Laktatazidose und durch Schlaganfälle auffällt. Aber auch diese Multisystemerkrankung kann sich in Form einer schizophrenen Psychose manifestieren [Hoffmann, 2001].

Bei der Betrachtung dieser drei ausgewählten Erkrankung fällt auf, dass ein umschriebener monogener Defekt zu einem breit diversifizierten Krankheitsbild führt, das sich auch in Form einer schizophrenen Psychose manifestieren kann. Kehrt man nun diese Betrachtung um, stellt sich die Frage, warum die genetisch bedingten Schizophrenien keine derart breite Manifestation eines genetischen Defekts zeigen. Bei den drei erwähnten Erkrankungen, aber auch bei vielen anderen aus dieser Gruppe, d.h. solchen mit neuropsychiatrischen Manifestationen, zeigen sich viele andere Manifestationen auf neurologischer Ebene, z.B. Ataxien, Schlaganfälle, Demyelinisierungen und Epilepsien. Eine solch eindeutige Korrelation konnte bis heute bei den Schizophrenien nicht für eindeutige neurologische Defizite wie den Epilepsien gezeigt werden, obschon sich eine leichte Überschneidung andeutet. Nicht desto trotz ist eines der großen Rätsel der genetischen Ursachen der Schizophrenie, weshalb der Phänotyp Schizophrenie im Gegensatz zu anderen genetischen Erkrankungen eine derart eingeschränkte Organmanifestation zeigt. Es ist sicherlich sehr spannend,

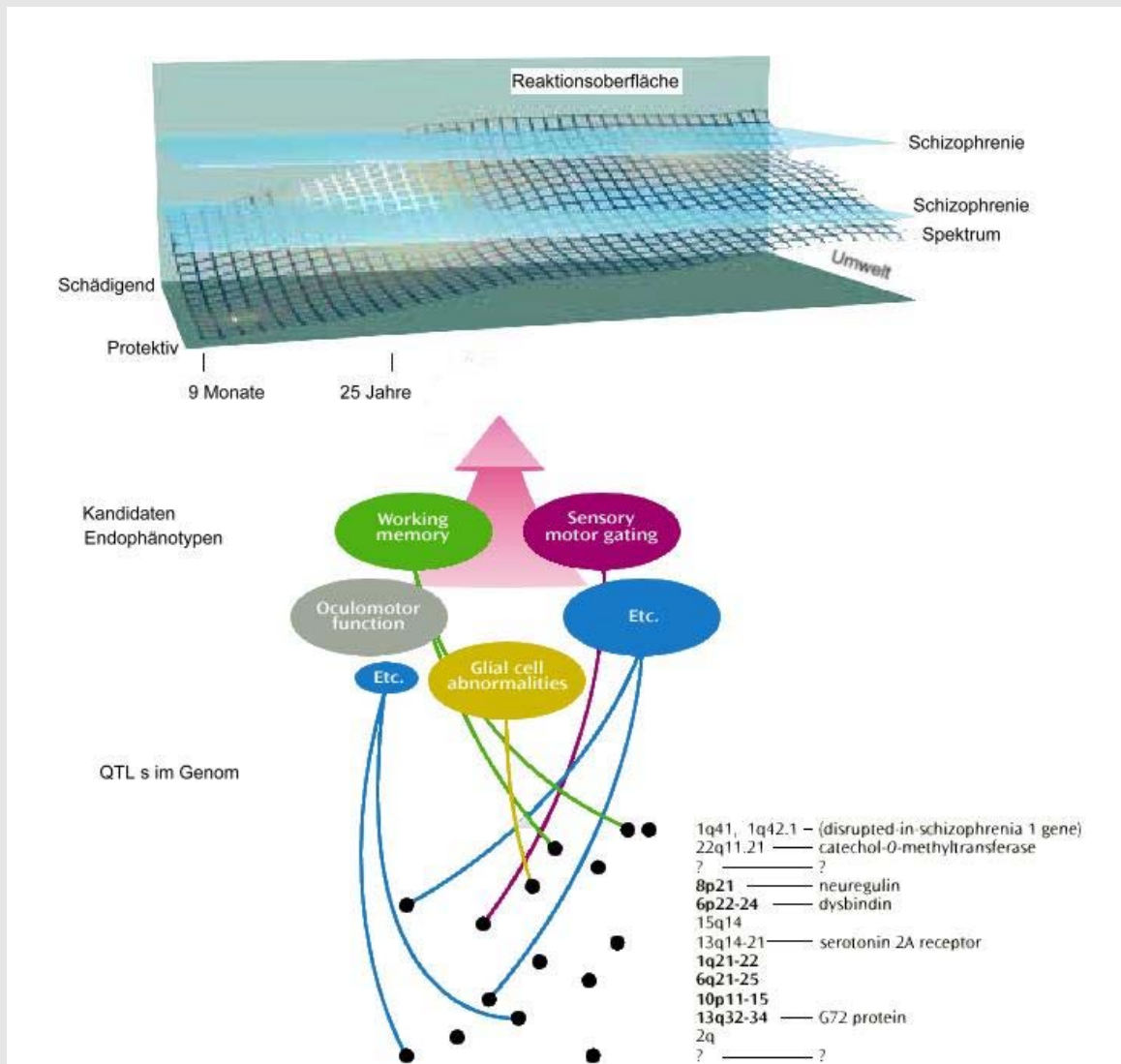


Abbildung 8 Dargestellt ist, wie verschiedene, teilweise bekannte, Gene und Gendefekte zusammenwirken und sogenannte "Endophänotypen" bilden. Ein Endophänotyp kann beispielsweise die kognitive Funktion "Arbeitsgedächtnis" oder histopathologische Auffälligkeiten beinhalten. Der Endophänotyp wirkt wiederum auf die Wahrscheinlichkeit der Krankheitsmanifestation ein, die hier als "Reaktionsoberfläche" dargestellt ist. In Anhängigkeit von der Umwelt, die schädigend oder schützend sein kann, wird die Schwelle zur Krankheitsmanifestation gesenkt. QTL:=quantitative trait loci

Aus: *The Endophenotype Concept in Psychiatry* (Gottesmann, 2003)

ob ein monogener Erbgang dieses Phänomen, z.B. die missense-Mutation bei periodischer Katatonie [Meyer et al., 2000], erklären kann.

In der Psychiatrie wird mit Hilfe solcher Untersuchungen die alte Streitfrage zwischen den Vertretern des Einheitspsychosen-Konzepts und den Vertretern verschiedener abgrenzbarer Entitäten zu klären sein. So kam Kraepelin gegen Ende seiner Karriere zu dem Schluss, dass Schizophrenie möglicherweise keine Krankheitseinheit sei, sondern vielmehr eine unspezifische Reaktion des menschlichen Gehirns. Demgegenüber steht z.B. die Kleist-Leonhard-Schule [Leonhard, 1995], die eine weitere Untergliederung der Krankheitsentität „Schizophrenie“ vornimmt.

Ein neues Konzept, der sogenannte „Endophänotyp“, beschreibt die Möglichkeit der Subtypisierung schizophrener Psychosen mit Hilfe apparativer Diagnostik (siehe Abb. 8), z. B. Elektrophysiologie (P50-Gating-Habituation), funktioneller Bildgebung oder biochemischer Verfahren [Gottesmann, 2003]. Zusätzlich zur Beschreibung des Verhaltens mittels einer psychiatrischen Diagnose wird eine Untersuchungsmethode angewandt, deren Parameter auch eine erbliche Komponente zeigt.

Vereinfacht gesagt, wird die erbliche Komponente so von zwei Seiten eingekreist, in der Hoffnung bei der anschließenden Analyse mittels einer Kopplungsanalyse das Signal-zu-Rauschen-Verhältnis derart zu verbessern, dass es zu einem deutlicheren positiven Ergebnis kommt. Auch für die klinische Psychiatrie ergibt sich hierbei eine interessante Perspektive. Möglicherweise wird in Zukunft eine Subtypisierung der Schizophrenie nicht nur die präzise klinische Beobachtung, wie sie zum Beispiel durch Leonhard verwandt wurde, mit einbeziehen, sondern zusätzlich andere Parameter, die eine präzisere Verlaufsprognose und Therapie ermöglichen.

Gerade die psychiatrische Genetik, die den Kern des Menschen, seine Persönlichkeit, oft aus methodischen Gründen in reduktionistische Konzepte zwingen muss, birgt eine Vielzahl von ethischen Implikationen. Auch gerade von den Betroffenen und ihren Familien wurde die biologische Psychiatrie als befreiend empfunden, denn sie leistet einer Entstigmatisierung Vorschub. Psychische Krankheit ist kein selbstverschuldetes Fehlverhalten. Trotz aller Kritik am grundsätzlichen Versuch psychische Krankheit in einem genetischen Zusammenhang zu sehen, ist doch für eine nicht allzu ferne Zukunft zu hoffen, dass Erkrankte von dieser Arbeit profitieren werden.

Zusammenfassung

In einer kürzlich durchgeführten Kopplungsanalyse der periodischen Katatonie wurden zwei Genloci auf Chromosom 15 und auf Chromosom 22 identifiziert. Für den Genlocus auf Chromosom 22p13.3 wurde ein LOD-Score von 1,85 ($p=0,0018$) ermittelt. Bei einer Durchsicht der in der fraglichen Region auf Chromosom 22 lokalisierten Gene unter Berücksichtigung ihrer Funktion, erschien *CELSRI* als eines der vielversprechendsten Gene, nicht zuletzt, da es relativ selektiv im Nervensystem exprimiert wird. *CELSRI* ist ein zur Gruppe der Cadherine gehörendes Zelladhäsionsmolekül. Cadherine spielen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Gehirns, da sie eine Art Zellsortiermechanismus darstellen, der die Bildung spezifischer Hirnnuclei durch Zellaggregation ermöglicht. Darüber hinaus sind sie an der synaptischen Plastizität, wie sie bei neuronalen Lernvorgängen vorkommt, beteiligt [Huntley, (2002); Skaper, (2001)]. *CELSRI* bildet innerhalb der Cadherine eine eigene Subgruppe. Seine Funktion scheint zum einen in der frühen Embryonalentwicklung zu liegen, zum anderen ist das Drosophila-Ortholog Flamingo einer der wichtigsten Modulatoren des Dendritenwachstums. Dementsprechend erscheint *CELSRI* als interessanter Kandidat für Schizophrenien, bei denen sowohl Störungen in der Embryogenese des Gehirns, als auch eine Dysregulation der synaptischen Plastizität diskutiert wird.

CELSRI wurde in einer mutmaßlichen Promotorregion, dem Exonbereich, Exon/Intron-Übergängen und einem polymorphen Intron auf Mutationen untersucht. DNA-Proben von zwei der erkrankten Familienmitgliedern und drei Kontrollen wurden sequenziert und die so erhaltene Sequenz mittels eines Online-Analyseprogramms verifiziert. Dabei wurden 18 Allelvarianten, 12 stumme Transitionen, fünf missense-Mutationen und eine Insertion entdeckt, die aber in keiner der Patientenproben exklusiv auftrat. Mit grosser Wahrscheinlichkeit enthält *CELSRI* keine krankheitsverursachende Mutation

Die gefundenen Polymorphismen stellen eine interessante Ausgangsbasis für Assoziationsstudien dar.

Literaturverzeichnis

Ahmed ZM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed Z, Khan S, Griffith AJ, Morell RJ, Friedman TB, Riazuddin S, Wilcox ER. (2001) „Mutations of the protocadherin gene PCDH15 cause Usher syndrome type 1F.“ Am J Hum Genet 69(1):25-34.

Baki L, Marambaud P, Efthimiopoulos S, Georgakopoulos A, Wen P, Cui W, Shioi J, Koo E, Oza-wa M, Friedrich VL Jr, Robakis NK. „Presenilin-1 binds cytoplasmic epithelial cadherin, inhibits cadherin/p120 association, and regulates stability and function of the cadherin/catenin adhesion complex.“ (2001) Proc Natl Acad Sci U S A.Feb 27;98(5):2381-6.

Beckmann, H., E. Franzek, et al. (1996). „Genetic heterogeneity in catatonic schizophrenia: a family study.“ Am J Med Genet 67(3): 289-300.

Beckmann, H. (1999). „Neuropathologie der 'endogenen' Psychosen.“In: Psychiatrie der Gegenwart: Schizophrene und affektive Störungen. H. Helmchen, et al. 5: 117- 145.

Bleuler, E. (1911). „Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien.“ Handbuch der Psychiatrie. Leipzig, Wien, Aschaffenburg G. spezieller Teil 4.

Blouin, J. L., B. A. Dombroski, et al. (1998). „Schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 13q32 and 8p21.“ Nat Genet 20(1): 70-3.

Bray, S. (2000). „Planar polarity: out of joint?“ Curr Biol 10(4): R155-8.

Chisaka, O. (2000). „[The cadherin gene family that regulate neural circuits formation and higher order brain functions].“ Tanpakushitsu Kakusan Koso 45(3 Suppl): 301-6.

Coyle, J. T. and P. Puttfarcken (1993). „Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders.“ Science 262(5134): 689-95.

Davis, K. L., R. S. Kahn, et al. (1991). „Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization.“ Am J Psychiatry 148(11): 1474-86.

Doheny, K. F., H. E. McDermid, et al. (1997). „Cryptic terminal rearrangement of chromosome 22q13.32 detected by FISH in two unrelated patients.“ J Med Genet 34(8): 640-4.

Edelman, G. M. and F. S. Jones (1998). „Gene regulation of cell adhesion: a key step in neural morphogenesis“ Brain Research Reviews 26(2-3): 337-352.

Fansa, H., G. Keilhoff, et al. (1999). „[Effect of pre-degeneration of peripheral nerves on plasticity of cultivated Schwann cells and their cell number in vitro].“ Handchir Mikrochir Plast Chir 31(6): 367-72.

Faraone, S. V., T. Matise, et al. (1998). „Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium.“ Am J Med Genet 81 (4): 290-5.

Fatemi, S. H., J. L. Kroll, et al. (2001). "Altered levels of Reelin and its isoforms in schizophrenia and mood disorders." Neuroreport 12(15): 3209-15.

Feinberg, I. (1982). "Schizophrenia: caused by a fault in programmed synaptic elimination during adolescence?" J Psychiatr Res 17(4): 319-34.

Fercakova, A. (2001). "Cell adhesion molecules in the neural development and plasticity." Bratisl Lek Listy 102(12): 552-5.

following a trail of evidence from cradle to grave.“ Dev Psychopathol 12(3): 501-27.

Fritsch (1998). Dermatologie und Venerologie, Springer.

- Gao, F. B., J. E. Brenman, et al. (1999). „Genes regulating dendritic outgrowth, branching, and routing in *Drosophila*.” *Genes Dev* 13(19): 2549-61.
- Gao, F. B., M. Kohwi, et al. (2000). „Control of dendritic field formation in *Drosophila*: the roles of flamingo and competition between homologous neurons.” *Neuron* 28(1): 91-101.
- Ghosh, A. (2000). „Dendritic growth: don't go says flamingo.” *Neuron* 28(1): 3-4.
- Gjessing, L. R. (1974). „A review of periodic catatonia.” *Biol Psychiatry* 8(1): 23-45.
- Goda, Y. (2002). "Cadherins communicate structural plasticity of presynaptic and postsynaptic terminals." *Neuron* 35(1): 1-3.
- Gottesmann, I. und Gould, T. (2003) „The Endophenotype Concept in Psychiatry: Etymology and Strategic Intentions“ *Am J Psychiatry* 160:636-645
- Grace, A. A. (1991). „Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia.” *Neuroscience* 41(1): 1-24.
- Gross, J., Grimm, O., et al. (2003). "Die Cadherin-Hypothese der Schizophrenie." *Fortschr Neurol Psychiatr* 71(2): 84-8.
- Gross, J., Grimm, O., Ortega, G., Mössner, R., Rieder, P., Meyer, J., Lesch, K.-P. (2000). „Allelic Variants of the human *CELSR1* cadherin gene.“ *Eur Arch Psychiatry Clin Neuroscience* 250 Suppl. 1:40
- Gross, J., O. Grimm, et al. (2001). "Mutational analysis of the neuronal cadherin gene *CELSR1* and exclusion as a candidate for catatonic schizophrenia in a large family." *Psychiatr Genet* 11(4): 197-200.

Gustavson, K. H., W. Arancibia, et al. (1986). „Deleted ring chromosome 22 in a mentally retarded boy.” *Clin Genet* 29(4): 337-41.

Hadjantonakis, A. K., W. J. Sheward, et al. (1997). „Celsr1, a neural-specific gene encoding an unusual seven-pass transmembrane receptor, maps to mouse chromosome 15 and human chromosome 22qter.” *Genomics* 45(1): 97-104.

Hashimoto, K. and M. Iyo (2002). "[Glutamate hypothesis of schizophrenia and targets for new antipsychotic drugs]." *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 22(1): 3-13.

Hoffmann, G. F., Mayatepek, E. (2001). „Stoffwechselerkrankungen.“ In: *Pädiatrie*. C. P. Speer, Gahr, M.

Huntley, G. W., O. Gil, et al. (2002). "The cadherin family of cell adhesion molecules: multiple roles in synaptic plasticity." *Neuroscientist* 8(3): 221-33.

Impagnatiello, F., A. R. Guidotti, et al. (1998). „A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(26): 15718-23.

Ismail, B., E. Cantor-Graae, et al. (1998). „Minor physical anomalies in schizophrenic patients and their siblings.” *Am J Psychiatry* 155(12): 1695-702.

Ismail, B., E. Cantor-Graae, et al. (1998). „Neurological abnormalities in schizophrenic patients and their siblings.” *Am J Psychiatry* 155(1): 84-9.

Jones, P. B., Guth, C., Lewis, S.W., Murray, R.M. (1994). Low intelligence and poor educational achievement precede early onset psychosis. *The Neuropsychology of Schizophrenia*. A. S. David, Cutting, J.C. Hove: 131-142.

Kahlbaum, K. (1874). *Katatonie oder das Spannungsirresein. Eine klinische Form psychischer*

Krankheit. Berlin.

Kaufmann, C. A., B. Suarez, et al. (1998). „NIMH Genetics Initiative Millenium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African-American pedigrees.” *Am J Med Genet* 81(4): 282-9.

Kraepelin, E. (1909-1915). *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte.* Leipzig, Barth.

Lane, A., A. Kinsella, et al. (1997). „The anthropometric assessment of dysmorphic features in schizophrenia as an index of its developmental origins.” *Psychol Med* 27(5): 1155-64.

Leegwater, P.A. et al., (2001) „Mutations of MLC1 (KIAA0027), encoding a putative membrane protein, cause megaencephalic leukencephalopathy with subcortical cysts.“ *Am J Hum Genet* 68: 831-838

Leonhard, K. (1979). *The Classification of Endogenous Psychoses.* New York, Irvington Publishers.

Leonhard, K. (1995). *Aufteilung der endogenen Psychosen und ihre differenzierte Ätiologie.* Stuttgart, Thieme.

Levinson, D. F., M. M. Mahtani, et al. (1998). „Genome scan of schizophrenia.” *Am J Psychiatry* 155(6): 741-50.

Levinson, D. F. (1999). „Psychiatric genetic - a current perspektive.“ *Handbook of Molecular-Genetic Techniques for Brain and Behavior Research.* W. Crusio, Gerlai, R.T., Elsevier Science. 13: 753- 772.

Lu, B., T. Usui, et al. (1999). „Flamingo controls the planar polarity of sensory bristles and asymmetric division of sensory organ precursors in *Drosophila*.” *Curr Biol* 9(21): 1247-50.

Manabe, T., H. Togashi, et al. (2000). "Loss of cadherin-11 adhesion receptor enhances plastic changes in hippocampal synapses and modifies behavioral responses." *Mol Cell Neurosci* 15(6): 534-46.

Marenco, S. and D. R. Weinberger (2000). „The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: following a trail of evidence from cradle to grail.“ *Dev Psychopathol* 12(3): 501-27

McGlashan, T. H. and R. E. Hoffman (2000). „Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity.“ *Arch Gen Psychiatry* 57(7): 637-48.

McGuffin, P. (2002). „Genetic Research in Psychiatry“. In: „Psychiatry as a Neuroscience“ Lopez-Ibor, J. ; Gaebel, W.; Maj, M. Und Sartorius N. John Wiley & Sons Ltd. 2002.

McKusick, e. a. (2001). OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man, John Hopkins University. 2001.

Mehler, M. F. (2000 03 24). „Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation.“ *Brain Research Reviews* 32(1): 277-307.

Murase, S., E. Mosser, et al. (2002). "Depolarization drives beta-Catenin into neuronal spines promoting changes in synaptic structure and function." *Neuron* 35(1): 91-105.

Murase, S. and E. M. Schuman (1999). "The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory." *Curr Opin Cell Biol* 11(5): 549-53.

Newton, C. R., A. Graham, et al. (1989). „Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS).“ *Nucleic Acids Res* 17(7): 2503-16.

Nguimfack Mbodie, P. C. (2002). "[Do the glutamate excitotoxicity theory and potential free radicals implication in schizophrenia aetiopathogenesis provide a new enlightenment to links between:

genome, environment and biology in the determinism of that disorder?]." *Encephale* 28(2): 147-53.

Nollet, F., P. Kools, et al. (2000). „Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members." *J Mol Biol* 299(3): 551-72.

Obst-Pernberg, K. and C. Redies (1999). "Cadherins and synaptic specificity." *J Neurosci Res* 58 (1): 130-8.

Peralta, V., Cuesta, M. (2001). „Motor features in psychotic disorders." *Schizophrenia Research* 47: 107-116.

Pfuhlmann, B., E. Franzek, et al. (1997). „On interrater reliability for Leonhard's classification of endogenous psychoses." *Psychopathology* 30(2): 100-5.

Prasad, C., A. N. Prasad, et al. (2000). „Genetic evaluation of pervasive developmental disorders: the terminal 22q13 deletion syndrome may represent a recognizable phenotype." *Clin Genet* 57(2): 103-9.

Raedler, T. J., M. B. Knable, et al. (1998). „Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex." *Curr Opin Neurobiol* 8(1): 157-61.

Ranscht, B. (2001). „Cadherins: molecular codes for axon guidance and synapse formation." *International Journal of Developmental Neuroscience* 18(7): 643-651.

Redies, C. (2000). „Cadherins in the central nervous system." *Progress in Neurobiology* 61(6): 611-648.

Romero, M. I., N. Rangappa, et al. (2000). "Extensive sprouting of sensory afferents and hyperalgesia induced by conditional expression of nerve growth factor in the adult spinal cord." *J Neurosci* 20(12): 4435-45.

Rozen, S., Skaletsky, H. (1998). „Primer3.” .

Sapolsky, R. M. (1992). „Stress, the aging brain, and the mechanism of neuron death.“ Cambridge, MIT Press.

Sarkar, G. and S. S. Sommer (1991). „Haplotyping by double PCR amplification of specific alleles.” *Biotechniques* 10(4): 436, 438, 440.

Senzaki, K., M. Ogawa, et al. (1999). „Proteins of the CNR family are multiple receptors for Reelin.” *Cell* 99(6): 635-47.

Shaw, S. H., M. Kelly, et al. (1998). „A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes.” *Am J Med Genet* 81(5): 364-76.

Skaper, S. D., S. E. Moore, et al. (2001). "Cell signalling cascades regulating neuronal growth-promoting and inhibitory cues." *Prog Neurobiol* 65(6): 593-608.

Stöber, G., E. Franzek, et al. (1995). „Periodic catatonia: a schizophrenic subtype with major gene effect and anticipation.” *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 245(3): 135-41.

Stöber, G., E. Franzek, et al. (1998). „Gender differences and age of onset in the catatonic subtypes of schizophrenia.” *Psychopathology* 31(6): 307-12.

Stöber, G., I. Haubitz, et al. (1998). „Parent-of-origin effect and evidence for differential transmission in periodic catatonia.” *Psychiatr Genet* 8(4): 213-9.

Stöber, G., J. Meyer, et al. (2000). „hKCNN3 which maps to chromosome 1q21 is not the causative gene in periodic catatonia, a familial subtype of schizophrenia.” *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 250(4): 163-8.

Stöber, G., J. Meyer, et al. (2000). „Linkage and family-based association study of schizophrenia and the synapsin III locus that maps to chromosome 22q13.” *Am J Med Genet* 96(3): 392-7.

Stöber, G., K. Saar, et al. (2000). „Splitting schizophrenia: periodic catatonia-susceptibility locus on chromosome 15q15.” *Am J Hum Genet* 67(5): 1201-7.

Straub, R. E., C. J. MacLean, et al. (1995). „A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6p24- 22: evidence for genetic heterogeneity.” *Nat Genet* 11(3): 287-93.

Straub, R. E., C. J. MacLean, et al. (1997). „Support for a possible schizophrenia vulnerability locus in region 5q22- 31 in Irish families.” *Mol Psychiatry* 2(2): 148-55.

Straub, R. E., C. J. MacLean, et al. (1998). „A schizophrenia locus may be located in region 10p15-p11.” *Am J Med Genet* 81(4): 296-301.

Takeichi, M., S. Nakagawa, et al. (2000). „Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily.” *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355(1399): 885-90.

Toellner, R. (Hrsg.) (1992). „Illustrierte Geschichte der Medizin.“ Karl Müller Verlag Erlangen.

Togashi, H., K. Abe, et al. (2002). „Cadherin regulates dendritic spine morphogenesis.“ *Neuron* 35 (1): 77-89.

Usui, T., Y. Shima, et al. (1999). „Flamingo, a seven-pass transmembrane cadherin, regulates planar cell polarity under the control of Frizzled.” *Cell* 98(5): 585-95.

Vawter, M. P. (2000 09 29). „Dysregulation of the neural cell adhesion molecule and neuro-psychiatric disorders.” *European Journal of Pharmacology* 405(1-3): 385-395.

- Volk, D. W. and D. A. Lewis (2002). „Impaired prefrontal inhibition in schizophrenia: relevance for cognitive dysfunction.“ *Physiol Behav* 77(4-5): 501-5.
- Weinberger, D. R. (1987). „Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia.“ *Arch Gen Psychiatry* 44(7): 660-9.
- Weinberger, D. R. (1995). „From neuropathology to neurodevelopment.“ *Lancet* 346(8974): 552-7.
- Weinberger, D. R. (1996). „On the plausibility of "the neurodevelopmental hypothesis" of schizophrenia.“ *Neuropsychopharmacology* 14(3 Suppl): 1S-11S.
- Wildenauer, D. B. and S. G. Schwab (1998). „Chromosome 8 workshop.“ *Psychiatr Genet* 8(2): 85-7.
- William E. Burney, B. G. B. (1998). „Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia.“ *Neurobiology of mental illness*.
- Williams, N. M., M. I. Rees, et al. (1999). „A two-stage genome scan for schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs.“ *Hum Mol Genet* 8(9): 1729-39.
- Wu, Q. and T. Maniatis (2000). „Large exons encoding multiple ectodomains are a characteristic feature of protocadherin genes.“ *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(7): 3124-9.
- Yagi, T. Und Takeichi, M. (2000). „Cadherin superfamily genes: functions, genomic organization, and neurologic diversity.“ *Genes & Development* 14:1169-1180
- Yong, Y. P., L. A. Knight, et al. (1997). „Partial monosomy for chromosome 22 in a girl with mental retardation.“ *Singapore Med J* 38(2): 85-6.
- Zerbin-Rüdin, E. (1987). „Genetik.“ In: *Psychiatrie der Gegenwart*. K. e. a. Kisker. Berlin,

Heidelberg, New York, Springer. Bd 5: 137-164.

Veröffentlichungen im Rahmen der Arbeit

Gross, J., Grimm, O., et al. (2003). „Die Cadherin-Hypothese der Schizophrenie.“ *Fortschr Neurol Psychiatr* 71(2): 84-8.

Gross, J., Grimm, O., Ortega, G., Mössner, R., Rieder, P., Meyer, J., Lesch, K.-P. (2000). „Allelic Variants of the human *CELSR1* cadherin gene.“ *Eur Arch Psychiatry Clin Neuroscience* 250 Suppl. 1:40

Gross, J., O. Grimm, et al. (2001). „Mutational analysis of the neuronal cadherin gene *CELSR1* and exclusion as a candidate for catatonic schizophrenia in a large family.“ *Psychiatr Genet* 11(4): 197-200.

Widmung

Diese Arbeit ist meiner Frau Yvonne Grimmer gewidmet, ohne deren Unterstützung vieles bedeutend schwerer gewesen wäre.

Weiterhin schulde ich Dank meinen Eltern, die mir ermöglichten meinen Interessen nachzukommen.

Professor Lesch danke ich für die Möglichkeit bei ihm zu forschen.

Dr. Jörg Gross danke ich für die „psychiatrische Unterstützung“ und manch interessantes Gespräch.

Dr. Jobst Meyer für fachkundige Beratung, die mein Interesse an der Molekularbiologie weckte.

Und „last but not least“ die wunderbare Gabriela Ortega, ohne deren Hilfe ich diese Arbeit sicher nicht zuende gebracht hätte. Ihre Aufmunterung war mir eine sehr grosse Hilfe!

Lebenslauf

Oliver Grimm

Lindleinstraße 46

97080 Würzburg

Tel.: 0931 2509653

E-Mail: oliver-grimm@gmx.net



Angaben zur Person

Geburtsdatum und –ort	8.12.1975, Esslingen am Neckar
Familienstand	verheiratet mit Yvonne Grimmer
Eltern	Rosemarie Grimm, geborene Schukraft, Gymnasiallehrerin, Gunter E. Grimm, Universitätsprofessor in Duisburg.
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulbildung und Zivildienst

1982– 1985	Besuch der Oskar-Schwenk-Schule in Waldenbuch
1986– 1988	Besuch des Philipp-Matthäus-Hahn-Gymnasiums in Leinfelden- Echterdingen
1982	Besuch der Henry-School im Distrikt St. Louis, Bundesstaat Missouri, USA
1989- 1995	Besuch des Deutschhaus-Gymnasiums in Würzburg
1995	Abitur (<i>Leistungskurse Deutsch und Chemie</i>)
1995-1996	Zivildienst im Eduarduskrankenhaus in Köln

Studium

1996 - 2003	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Würzburg Famulaturen in <i>Radiologie, Neurologie</i> und <i>Psychiatrie</i> . Fortgeschrittenenpraktikum Biochemie.
1998	Beginn eines Magister-Artiums-Studium an der FernUniversität Hagen

Hauptfach *Philosophie* , Nebenfächer *Psychologie* und *Mathematik*

1999 Beginn des experimentellen Teils meiner Dissertation

2002 zweites Staatsexamen Medizin

2002-2003 Praktisches Jahr

Chirurgie: Lehrkrankenhäuser der Universitäten von Dundee, Schottland und Cambridge, England

Psychiatrie: Universitätsklinik Bern, Schweiz

Innere Medizin: Universitätsklinik Würzburg

2003 Abschluss des Studiums mit dem 3. Staatsexamen

Weitere Interessen

Mitarbeit bei Amnesty International seit 1998

Mitgliedschaft in der Gesellschaft deutscher Ärzte und Naturforscher