

Aus der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten
Allgemeine Dermatologie und Venerologie der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T.Luger

Polymorphismen im ICAM-1 Gen bei Psoriasis vulgaris

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von:
Gerhard Friedl
aus München

2003

Dekan: Univ.-Prof. Dr. C. Soro

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. H. Traupe

2. Berichterstatter: Prof. Dr. I. Kennerknecht

Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2003

Aus der Klinik und Polyklinik für Hautkrankheiten-Allg. Dermatologie und Venerologie
der

Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T.Luger

Referent: Univ. Prof. Dr. med. H. Traupe

Koreferent: Prof. Dr. I. Kennerknecht

Zusammenfassung

Polymorphismen im ICAM-1 Gen bei Psoriasis vulgaris

Gerhard Friedl

Das Krankheitsbild der Psoriasis stellt mit einer Prävalenz von 2-3% ein wichtiges Problem im Bereich der Dermatologie dar. Seine Pathogenese ist bislang noch ungeklärt. Klinisch imponiert bei der Psoriasis neben den Auswirkungen der Keratinozytenhyperproliferation die entzündliche Komponente. Es ist bekannt, daß bei Psoriatikern erhöhte Serumspiegel des solublen ICAM-1 im Vergleich zu Kontrollgruppen vorliegen (Kowalzik et al. 1993), (Hügler 1996). ICAM-1 bietet sich damit als plausibles funktionelles Kandidatgen an.

Um die Hypothese eines ICAM-1 generierten Entzündungsgeschehens bei Psoriasis zu überprüfen, wurde die Segregation zweier bereits beschriebener ICAM-1 Polymorphismen in 99 Trios untersucht. Alle Probanden wurden mittels Polymerase chain reaction (PCR) und Allel-spezifisches-Oligonukleotid (ASO) Techniken für die ICAM-1 Polymorphismen G/R bei Codon 241 (Exon 4) und E/K bei Codon 469 (Exon 6) genotypisiert. Die statistische Auswertung erfolgte durch den Transmission-Disequilibrium-Test nach Spielman (Spielman et al. 1993).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß keines der untersuchten Allele eine signifikante Assoziation mit der Psoriasis aufweist.

Ein ursächlicher Zusammenhang dieser beiden Allele mit der Psoriasis im hier untersuchten Kollektiv erscheint somit unwahrscheinlich. Ergebnisse von Assoziationsuntersuchungen über die hier untersuchten ICAM-1 Allele der jüngeren Vergangenheit zeigen jedoch eine starke ethnische Komponente auf (Nishimura et al. 2000) (Kristiansen et al. 2000). Eine mögliche Assoziation dieser Allele mit der Psoriasis in anderen Populationen ist also nicht auszuschließen. Auch in Hinsicht auf den kürzlich detektierten Psoriasis-Genlocus auf Chromosom 19p13, welcher in unmittelbarer Nachbarschaft zum ICAM-1 Gen liegt (Lee et al. 2000) sind weitere Untersuchungen des ICAM-1 Genes und anderer ICAM-Gene in der Nachbarschaft insbesondere auch mit anderen ethnischen Psoriasis-Kollektiven von Interesse.

Inhalt

1	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	7
2	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	8
3	Danksagung.....	9
4	Einleitung.....	10
4.1	Psoriasis	10
4.1.1	Definition.....	10
4.1.2	Geschichte der Psoriasis	10
4.1.3	Epidemiologie	11
4.1.4	Klinik.....	11
4.1.5	Histologie	13
4.1.6	Genetik.....	14
4.1.7	Pathogenese.....	16
4.2	ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1, CD 54).....	22
4.3	Ziel der Arbeit.....	26
5	Material und Methoden	30
5.1	Patienten.....	30
5.1.1	Patientenkollektiv	30
5.1.2	Einschlusskriterien	30
5.1.3	Ausschlusskriterien	30
5.2	Blutentnahme und DNA-Isolierung	31
5.3	Molekulare Analyse der ICAM-1 Polymorphismen	31
5.4	Polymerase-Kettenreaktion	31
5.4.1	Standard-Ansatz für die PCR.....	32

5.5	Hybridisierung mit einem ASO zur Analyse des G/R 241 Polymorphismus und Kontrolle durch direkte DNA Sequenzierung	33
5.6	Analyse des K/E 469 Polymorphismus durch Restriktionsverdauung und Auftrennung auf einem Polyacrylamid Gel.....	34
5.7	Transmission/Disequilibrium Test (TDT) nach Spielman	34
6	Ergebnisse.....	39
6.1	s-ICAM Werte und Polymorphismusanalyse bei einer Multiplex-Familie	39
6.2	3.2. Analyse der 4 ICAM-1 Allele im untersuchten Kollektiv	41
6.2.1	Allelhäufigkeiten in den untersuchten Trios	41
6.2.2	Statistische Analyse der Alleltransmission.....	42
6.2.3	Alleltransmission im Gesamtkollektiv.....	42
7	Diskussion.....	52
8	Lebenslauf	61
9	Literaturverzeichnis	63

1 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

APC	Antigen präsentierende Zelle
AS	Aminosäure
ASO	Allel spezifisches Oligonukleotid
BAT	B-associated transcript
CD4	Cluster designation 4
CD8	Cluster designation 8
DNA	Desoxyribonucleinacid
ELAM-1	Endothelial adhesion molecule-1
GM-CSF	Granulocyt/Monocyt colony stimulating factor
HLA	Human leucocyte antigen
HSP70	Heat shock protein 70
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1 Gen Symbol
IFN- γ	Interferon- γ
Ig	Immunglobulin
Il-1	Interleukin-1
KDa	1000 Dalton
LFA-1	Leukocyte function associated antigen
Mac-1	CD11b/CD18 Integrin/ Makrophagen-Antigen 1
MHC	Major histocompatibility complex
m-ICAM-1	membrane bound ICAM-1
PCR	Polymerase chain reaction
s-ICAM-1	soluble ICAM-1
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
VAPSE	Variation affecting protein structure or expression
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1

2 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

	Seite
Abbildung 1: Histologischer Aufbau einer Psoriasisefloreszenz	13
Abbildung 2: Genetische und funktionelle Position der Codons 241 und 469 von ICAM-1	23
Abbildung 3: Beispielstammbaum	36
Abbildung 4: Höhe der s-ICAM-1 Werte bei Gesunden und Psoriatikern bezogen auf die Allele G/R 241	40
Tabelle 1: Einteilung der Adhäsionsmoleküle	22
Tabelle 2: Kombinationen der transmittierten und nicht-transmittierten Marker-Allele	37
Tabelle 3: Allelhäufigkeiten im untersuchten Kollektiv	42
Tabelle 4: Transmission der G/R 241 Allele im Gesamtkollektiv	43
Tabelle 5: Transmission der E/K 469 Allele im Gesamtkollektiv	44
Tabelle 6/7: Alleltransmission bei sporadischem Erbgang	45/46
Tabelle 8/9: Alleltransmission bei paternalem Erbgang	47/48
Tabelle 10/11: Alleltransmission bei maternalem Erbgang	49/50
Tabelle 12: p-Werte der einzelnen Erbgänge	51

3 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Heiko Traupe herzlichen Dank für die freundliche Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Dr. André Reis gebührt mein Dank für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seinem Labor sowie die Bereitstellung sämtlicher Arbeitsgeräte und Arbeitsmittel.

Ebenso möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Humangenetik, Freie Universität Berlin, für ihre Unterstützung bei meiner Arbeit bedanken. Insbesondere möchte ich mich bei Dr. Hans Christian Hennies bedanken, der sich immer wieder die Mühe machte, meine Fragen zu beantworten sowie meine Ergebnisse zu kontrollieren.

Herrn Dr. Marcus Schmitt-Egenolf danke ich für viele motivierende Diskussionen und für die engagierte Betreuung der vorliegenden Arbeit.

4 Einleitung

4.1 Psoriasis

4.1.1 Definition

Die Psoriasis ist eine erbliche, benigne, entzündliche Dispositionskrankheit der Haut und der Nägel die mit einer Hyperproliferation und Verhornungsstörung der Epidermis einhergeht. Bei einem Teil der Fälle ist die Erkrankung mit einer spezifischen Arthropathie vergesellschaftet (Psoriasis Arthritis).

4.1.2 Geschichte der Psoriasis

Die Psoriasis wurde erstmalig in dem fast zweitausend Jahre alten Werk De re medica von Celsus erwähnt (Celsus 25 v. Chr. - 45 n. Chr).

1809 beschrieb Robert Willan erstmalig die Psoriasis in ihren verschiedenen Manifestationen. Er konnte die Erkrankung jedoch nicht mit Sicherheit vom Erscheinungsbild der Lepra trennen. Diese Unterscheidung wurde erst 1841 von dem Wiener Dermatologen Ferdinand von Hebra (1816-1880) vorgenommen.

Im Laufe des 19. Jahrhunderts wurden Großteile des heute bekannten klinischen Erscheinungsbildes der Psoriasis beschrieben. Auspitz (1835-1886) grenzte die Psoriasis als definierte klinische Einheit ab. Er beschrieb die Histologie, unter Einführung der Begriffe Akanthose (Verbreiterung des Stratum spinosum) und Parakanthose (Vorkommen von Zellkernen im Stratum corneum), sowie das nach ihm benannte Auspitzphänomen (tropfenförmige Blutung in der psoriatischen Läsion, nach Entfernung der Schuppen und des "letzten Häutchens").

Die Psoriasis pustulosa wurde erstmals 1888 von Crocker beschrieben. Von Zumbusch definierte 1910 die Psoriasis pustulosa generalisata.

4.1.3 Epidemiologie

Die Prävalenz der Psoriasis in Europa wird mit etwa 2-3% angegeben (Henseler 1997). In Abhängigkeit von Kontinent und Rasse sind Prävalenzen von 0,4% in China bis 3% in Dänemark beschrieben worden (Brandrup 1984). Innerhalb eines Kontinents kann die Prävalenz bei fehlender Durchmischung der Populationen stark schwanken. Dem fast vollständigen Fehlen der Psoriasis in der indianischen Bevölkerung Nordamerikas steht eine relativ hohe Prävalenz in der weißen amerikanischen Bevölkerung gegenüber (Farber EM 1991).

Lomholt konnte in seiner 1963 auf den Faroer Inseln durchgeführten Studie annähernd 11.000 der 30.000 Bewohner untersuchen. Er fand eine Prävalenz der Psoriasis in dieser Population von 2,8% (Lomholt 1963). In dieser sehr sorgfältigen Zensusuntersuchung wurde ein gering häufigeres Auftreten der Psoriasis bei Männern (51%) als bei Frauen (49%) dokumentiert.

4.1.4 Klinik

Die klassische Hautveränderung der Psoriasis stellt eine scharf aber oft unregelmäßig begrenzte, entzündliche Papel mit nicht fest haftender, parakeratotischer Schuppung dar. Die häufigste Prävalenz hat die Psoriasis vulgaris vom chronisch stationären Typ. Die Herde treten dabei vorwiegend an den Streckseiten der Extremitäten und an der Kopfhaut auf. Einen Sonderfall stellt die Psoriasis inversa dar. Bei ihr treten die Herde typischerweise in den intertriginösen Falten, perianal und am Bauchnabel auf. Das morphologische Substrat der Psoriasis vulgaris wird als tropfenförmig (guttata), ringförmig (anulär) und bogenförmig (gyriert) beschrieben. Aus einem Zusammenfließen mehrerer Herde kann ein großflächiger Befall resultieren, der als Plaque Psoriasis bezeichnet wird.

Bei einem kleinen Teil der Psoriatiker (0.5-2.5%) tritt eine Sonderform auf, die Psoriasis pustulosa. Hierbei sind die Effloreszenzen durch multiple, gruppiert stehende und oft konfluierende weißliche intraepidermale Pusteln auf geröteter Haut gekennzeichnet. Der Befall des ganzen Körpers oder großer Teile davon wird als Psoriasis pustulosa generalisata (Typ Von Zumbusch) bezeichnet. Davon abzugrenzen ist der Typ Barber (Psoriasis pustulosa palmoplantaris), bei dem nur die Hände und Füße betroffen sind (Braun-Falco O. and RK.: 1991)

Bei 30-50% aller Patienten mit einer der verschiedenen Formen der Psoriasis liegen Nagelveränderungen vor. Als solche Veränderungen sind zu nennen:

1. Tüpfelnägel, hervorgerufen durch Nagelmatrix-Psoriasis und
2. Ölflecke und subunguale Hyperkeratosen hervorgerufen durch Nagelbett-Psoriasis.

Die Diagnose der Psoriasis basiert auf der typischen Klinik mit erythemato-squamösen Effloreszenzen und der fakultativen Auslösbarkeit der drei Psoriasisphänomene:

- | | |
|-----------------------------------|--|
| 1. Kerzenphänomen | Die abgekratzten Schuppen ähneln dem Geschabsel einer Kerze |
| 2. Phänomen des »letzte Häutchen« | Wird durch weiteres Kratzen die parakeratotische Hornschicht entfernt, tritt ein glänzendes oberes Häutchen zutage |
| 3. Auspitz Phänomen | Bei nochmaligem Kratzen auf dem letzten Häutchen kommt es zu einer tropfenförmigen Blutung |

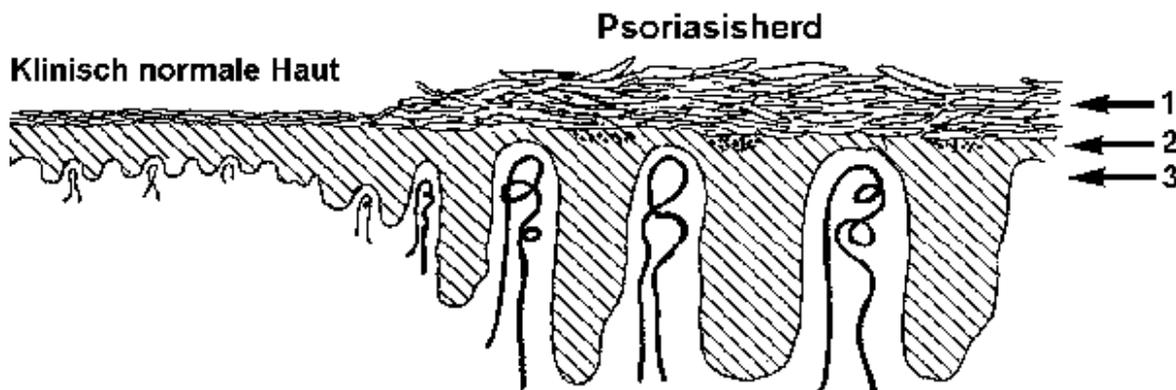


Abbildung 1:

Histologischer Aufbau einer Psoriasisefloreszenz

Die Pfeile markieren die Ebenen der drei klinischen Psoriasisphänomene (aus Braun-Falco et al. 1991)

4.1.5 Histologie

Das histologische Bild der Psoriasis weist typische Phänomene auf.

Die psoriatische Epidermis ist auf das 4- bis 5-fache akantotisch verbreitert. Über den Papillenspitzen finden sich nur wenige Zellschichten. Die Retezapfen sind gleichmäßig verlängert, schmal und am unteren Ende kolbig aufgetrieben. Die Papillenspitzen werden von einer dünnen Zellschicht überzogen. Diese Zellschicht ist das histologische Korrelat des Phänomens des „letzten Häutchen“. Im Stratum corneum treten nebeneinander Hyper- und Parakeratose auf. Dies ist das morphologische Substrat des Kerzenphänomens. Über den Reteleisten finden sich die Munroe'schen Mikroabszesse. Hierbei handelt es sich um umschriebene Ansammlungen eingewanderter neutrophiler Leukozyten. Der Papillarkörper fällt durch lang ausgezogene, ödematöse Papillen mit stark erweiterten und geschlängelten Kapillaren auf. Wird das »letzte Häutchen« bzw. die unterste Schicht der Epidermis entfernt, kommt es zur Arrodierung von Kapillaren im freigelegten Papillarkörper (Auspitz Phänomen). Das entzündliche Infiltrat in

Papillen und Dermis setzt sich aus Lymphozyten, Histiozyten, Makrophagen und Neutrophilen zusammen (Braun-Falco O. and RK.: 1991), (Lever WF. 1989).

4.1.6 Genetik

Die Konkordanzrate der Psoriasis in Zwillingskollektiven wurde mehrfach untersucht. Farber und Mitarbeiter konnten bei der Untersuchung von 125 Zwillingspaaren eine Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen von 70% gegenüber 23% bei zweieiigen Zwillingen feststellen (Farber 1972). Ähnliche Zahlen wurden von Brandrup und Mitarbeitern in einer Zwillingsstudie gefunden. Ihre Untersuchung zeigte eine Konkordanzrate von 64% bei eineiigen Zwillingen gegenüber 14% bei zweieiigen Zwillingen (Brandrup 1984). Diese Ergebnisse lassen auf eine erbliche Disposition für die Entstehung einer Psoriasis schließen.

Die am Besten untersuchten Risikofaktoren aus genetischer Sicht betreffen den HLA Lokus des MHC (major histocompatibility complex). Die Gene des HLA-Systems liegen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. Das HLA-System enthält die Klasse I- (HLA-A, -B, -C), Klasse II- (HLA-DP, -DQ, -DR) und Klasse III-Determinanten (TNF [tumor necrosis factor], BAT [B-associated transcript] und HSP70 [heat shock protein]). Klasse II Antigene werden vorwiegend auf B-Lymphozyten, Makrophagen, Monozyten und unter dem Einfluß von IFN- γ auch auf anderen Zellen wie z.B. T-Lymphozyten und Endothelzellen exprimiert (Henseler 1997).

Die Klasse I HLA-Antigene werden auf der Oberfläche fast aller Zellen exprimiert. Sie spielen eine Rolle bei der Antigenpräsentation gegenüber T-Killerzellen. Darüber hinaus wird den Klasse I Antigenen eine entscheidende Rolle bei der Unterscheidung zwischen fremd und eigen im Immunsystem zugeschrieben. Sie sind somit von Bedeutung bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen und bei Transplantatabstoßungsreaktionen.

Die Erkenntnis, daß es sich bei der Psoriasis um eine vererbare Krankheit mit pathologischer Immunantwort handelt, hat schon früh zu Untersuchungen der HLA-Assoziation geführt. In den

ersten Arbeiten zu diesem Thema wurden die Klasse I HLA-Antigene untersucht. So beschrieben Russel und Mitarbeiter im Jahr 1972 erstmals ein statistisch signifikantes häufigeres Vorkommen von HLA-B13 und B17 bei Psoriatikern (Russell et al. 1972).

In den folgenden Jahren wurden auch die Klasse II Antigene näher untersucht. In einer Studie an 89 deutschen Psoriatikern konnte eine Assoziation der HLA-Antigene HLA-DRB1*0701/2, -DQA1*0201, -DQB1*0303 mit der Psoriasis demonstriert werden (Schmitt-Egenolf et al. 1993). Das größte relative Risiko für Psoriasis konnte bei dem HLA-Antigen Cw6 aufgezeigt werden. Dieses Antigen scheint bei den meisten ethnischen Gruppen mit einer Psoriasis assoziiert zu sein. 55%-80% der weißen Psoriatiker sind Träger des HLA-Cw6 im Vergleich zu 20% der Normalbevölkerung. Das entspricht einem relativen Risiko für Psoriasis zwischen 4 und 15 (Henseler 1997).

Die heute gebräuchliche Einteilung in Typ I und Typ II Psoriasis wurde 1989 von Hensler und Christophers aufgrund der unterschiedlichen Familien anamnestischen Angaben, der HLA-Muster und vor allem aufgrund eines deutlich unterscheidbaren Erstmanifestationsalters der beiden Formen eingeführt.

Typ I Psoriasis zeigt eine positive Familienanamnese, einen Krankheitsbeginn vor dem 40. Lebensjahr und eine starke Assoziation mit HLA Cw-6, B-13, B-57 und A-30. Dem gegenüber steht der Typ II mit einer Erstmanifestation nach dem 40. Lebensjahr, einer zumeist leeren Familienanamnese und weniger ausgeprägter Assoziation mit Cw-2 und B-27 (Christophers and Henseler 1989).

4.1.7 Pathogenese

Im 19. Jahrhundert vermutete man die Ursache der Psoriasis zum einen in einer fehlerhaften Regulation des Keratinozytenwachstums, zum anderen wurde auch eine primäre Entzündung als Auslöser diskutiert (Bos 1999).

Bis in die 70er Jahre unseres Jahrhunderts hatte sich die Keratinozyten-zentrierte Hypothese durchgesetzt. Ein Großteil der Autoren war der Überzeugung, daß ein primärer Keratinozytendefekt für die pathologischen Befunde in psoriatischen Läsionen verantwortlich sei. Für diese These sprach ein schon bei lichtmikroskopischer Betrachtung auffallender Mitosereichtum der Keratinozyten. So konnten Scott und Mitarbeiter zeigen, daß die Anzahl der Mitosen in psoriatischer Epidermis 27 mal höher ist als in gesunder Haut (Scott 1963).

Auch die Beobachtung, daß die epidermale Hyperproliferation nach Transplantation von psoriatischer Epidermis auf athymische Nacktmäuse fortbesteht, wurde als ein Argument für die Keratinozyten-zentrierte These gewertet (Fraki et al. 1983). Durch die Entwicklung neuer immunohistochemischer Techniken, wie z.B. die Einführung von monoklonalen Antikörpern, richtete sich in den darauffolgenden Jahren das Augenmerk auf das schon von Auspitz beschriebene entzündliche Infiltrat. Neben Makrophagen und neutrophilen Granulozyten konnten in den psoriatischen Läsionen aktivierte T-Zellen dermal und epidermal nachgewiesen werden (Bjerke et al. 1978). Zu diesem Zeitpunkt begann man eine autoimmunologische Genese der Psoriasis zu diskutieren. Man vermutete, daß auch unter physiologischen Bedingungen Anti-stratum-corneum-AK vorkommen. In psoriatischer Epidermis kommt es dann als Folge einer Einwanderung von Neutrophilen mit konsekutiver Sezernierung von lysosomalen Enzymen zu einer Antigenpräsentation. Diese von Beutner formulierte Hypothese basierte auf dem Nachweis von Autoantikörpern und Komplement im Stratum corneum psoriatischer Plaques (Beutner 1982).

Heute wird von den meisten Autoren die These vertreten, daß die T-Lymphozyten eine Schlüsselrolle bei der Pathogenese der Psoriasis innehaben. Aktivierte T-Zellen können regelmäßig in psoriatischen Plaques nachgewiesen werden. Der Influx von CD4+ T-Helferzellen (bevorzugt in der Dermis) korreliert häufig mit einer Verschlechterung des klinischen Erscheinungsbilds, während CD8+ T-Zellen (bevorzugt in der Epidermis) meist mit einer Besserung der Effloreszenzen einhergehen (Baker BS 1984). Diese Theorie wird durch die Tatsache gestützt, daß durch die Injektion von CD4+ T-Zellen von Psoriatikern in nicht betroffene Hautareale von SCID (severe combined immunodeficiency) Mäusen eine psoriatische Hautläsion hervorrufen läßt (Nickoloff and Wrone-Smith 1999).

Ebenso für diese These sprechen Erfolge einer CD4 Antikörper Therapie bei schweren Verläufen einer Psoriasis (Morel et al. 1992).

Es gibt jedoch auch andere Meinungen die das Vorhandensein von CD8+ T-Zellen in psoriatischen Plaques mit einer Verschlechterung des klinischen Erscheinungsbildes in Zusammenhang bringen. So entwickelten Gottlieb und Mitarbeiter ein Fusionsprotein bestehend aus Interleukin-2 und Fragmenten des Diphtherie Toxins (DAB389IL-2), welches selektiv das Wachstum aktivierter Lymphozyten blockt. Sie erreichten mittels systemischer Applikation dieses Fusionsproteins eine deutliche klinische Verbesserung einer bestehenden Psoriasis mit gleichzeitiger, signifikanter Verminderung der CD8+ T-Zellen in der Epidermis (Gottlieb et al. 1995).

Ein Hinweis für die Bedeutung der T-Zellen bei der Psoriasis ist die effektive Behandlung der Krankheit durch auf diese Zellen wirksame Immunsuppressiva wie z.B. Cyclosporin A (Bos et al. 1989). Ähnliches gilt auch für Methotrexat, einem effektiven systemischen Antipsoriatikum. Es vermittelt seine Wirkung nicht, wie ursprünglich vermutet, durch einen zytostatischen Effekt auf Keratinozyten, sondern durch seine Toxizität für Lymphozyten (Jeffes et al. 1995).

Weiterhin unterstützt wird die Bedeutung der T-Zellen bei der Pathogenese der Psoriasis durch Studien im Rahmen von Knochenmarkstransplantationen. Es konnte gezeigt werden, daß es bei Psoriatikern, die sich aufgrund einer anderen Erkrankung einer Knochenmarkstransplantation unterziehen mußten, zu einer Ausheilung der Psoriasis gekommen war. Im umgekehrten Falle, konnte bei hautgesunden Empfängern von Knochenmark eines psoriatischen Donors die Übertragung der Krankheit beobachtet werden. Da bei allogenen Knochenmarkstransplantationen T-Lymphozyten des Spenders auf den Empfänger übertragen werden, unterstreichen diese Beobachtungen den Einfluß der T-Zellen auf die Pathogenese der Psoriasis (Yokota A 1996), (Gardembas-Pain M 1990).

Die Rekrutierung und Aktivierung der T-Zellen sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Vor allem das komplexe Netzwerk der Zytokine ist dabei in letzter Zeit zunehmend in den Vordergrund getreten. Untersuchungen haben gezeigt, daß die Zytokin Zusammensetzung in psoriatischen Läsionen einem Typ 1 Zytokin Profil entspricht. Unter einem Zytokin Typ 1 Profil versteht man die von T-Helferzellen produzierten Zytokine IL-2, IFN- γ und TNF- α . Das Typ 2 Zytokin Profil mit den Zytokinen IL-4, IL-5 und IL-10 dagegen stellt keine signifikante Komponente in den betroffenen Hautarealen dar. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß es sich um eine spezielle T-Zell Population handelt, die Typ 1 Zytokine produziert und in psoriatischen Läsionen akkumuliert (Uyemura et al. 1993).

Die Zytokine des Typ 1 Profils geben entscheidende Hinweise bei der Beantwortung der Fragen nach Anlockung und Aktivierung der T-Zellen im Rahmen der Psoriasis.

In vivo und in vitro Versuche von Uyemura K und Mitarbeitern konnten eine vermehrte Produktion von IL-2 in psoriatischen Plaques nachweisen (Uyemura et al. 1993).

Dieses von T-Helferzellen synthetisierte Zytokin wirkt chemotaktisch und stellt zudem einen starken Stimulus zur Aktivierung und Proliferation von T-Zellen dar (Wilkinson and Newman 1994). Dadurch kommt es zu einer vermehrten Migration von T-Zellen in psoriatische Läsionen und bereits vorhandene T-Zellen werden aktiviert, die wiederum Zytokine produzieren. Auf diese Weise entsteht ein positiver Rückkopplungsmechanismus, der für die Aufrechterhaltung einer chronischen Entzündung, wie sie bei der Psoriasis beobachtet werden kann, erforderlich ist (Nickoloff 1991).

Die Bedeutung des IL-2 bei der Pathogenese der Psoriasis läßt sich an einer Beobachtung von Lee und Mitarbeiter aus dem Jahre 1988 erkennen. Sie stellten fest, daß es bei prädisponierten Patienten, die wegen eines metastasierten Nierenzell- Karzinoms mit hohen Dosen IL-2 behandelt wurden, zu einer Exazerbation bzw. einer Erstmanifestation einer Psoriasis gekommen war (Lee et al. 1988).

Anhand dieser Ergebnisse läßt sich die Bedeutung der Zytokine im Rahmen der Pathogenese der Psoriasis erkennen. Da es jedoch, wie oben erwähnt, durch IL-2 zu einer Aktivierung von T-Zellen kommt, die wiederum eine Reihe von Zytokinen sezernieren, ist eine Aussage darüber, ob das IL-2 direkt oder indirekt infolge der T-Zell-Aktivierung für diese Beobachtung verantwortlich ist, problematisch.

Ein weiteres Zytokin aus dem Typ 1 Profil ist TNF- α .

Seine Produktion ist in läSIONaler Haut gegenüber nicht betroffener und gesunder Haut deutlich erhöht (Ettehadhi et al. 1994). Eine Hochregulierung kann durch die Zytokine IL-1, IL-2 sowie dem GM-CSF und INF- γ erfolgen (Aggarwal and Natarajan 1996). TNF- α wirkt stimulierend

auf die Expression einiger Mediatoren wie z.B. IL-1, IL-6, IL-8 und auf Adhäsionsmoleküle wie E-Selektin, VCAM-1 und ICAM-1 (Groves et al. 1995).

Das dritte Zytokin aus dem Typ-1 Profil ist INF- γ .

Die Wirkung von INF- γ in der Epidermis besteht physiologischer Weise in einer Hemmung der Proliferation von Keratinozyten. Bei Psoriatikern konnten Nickoloff und Mitarbeiter eine Verringerung dieses antiproliferativen Effektes auf Keratinozyten nachweisen. INF- γ induzierte vielmehr die Differenzierung der Keratinozyten durch die Expression der Oberflächenmoleküle HLA-DR und ICAM-1, was für eine Aktivierung der Keratinozyten spricht (Nickoloff 1988). Als weitere Veränderungen, die durch INF- γ in psoriatischer Haut induziert werden, sind zu nennen:

Aktivierung von APC's (Antigen präsentierende Zellen) (Nickoloff 1988)

Hochregulierung der Anzahl der TNF- α -Rezeptoren (Aggarwal and Natarajan 1996)

Induktion einer vermehrten ICAM-1 Expression auf Endothelzellen und Keratinozyten (Barker et al. 1990).

Nickoloff schloß daraus, daß die Hyperproliferation und die veränderte Differenzierung der psoriatischen Keratinozyten auf ihre veränderte Ansprechbarkeit dem INF- γ gegenüber zurückzuführen sind.

Durch intradermale Applikation von INF- γ konnten Fierlbeck und Mitarbeiter bei Psoriasispatienten psoriatische Herde auf zuvor nicht betroffenen Hautarealen auslösen (Fierlbeck et al. 1990)

Zytokine sind in ihrer Funktion als Wegweiser und Aktivatoren von T-Zellen essentiell bei der Pathogenese der Psoriasis. Um die dadurch entstehende Entzündungsreaktion über einen

längeren Zeitraum zu etablieren, ist jedoch eine weitere Stoffgruppe, die der Adhäsionsmoleküle, erforderlich.

Adhäsionsmoleküle erlauben den Zellen des Immunsystems, sich einerseits im gesunden Organismus frei zu bewegen. Auf der anderen Seite ermöglichen sie es den immunkompetenten Zellen, den Ort eines entzündlichen Geschehens aufzufinden und dort zu verbleiben.

Adhäsionsmoleküle mit einer Funktion im Immunsystem lassen sich in drei Gruppen einteilen:

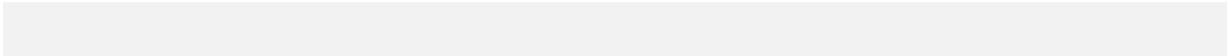


Tabelle 1:**Einteilung der Adhäsionsmoleküle** (Springer 1990)

β_2 Integrine	LFA-1, Mac-1
Selektine	P-Selektin, E-Selektin, L-Selektin
Immunglobuline	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM, PECAM

Integrine ermöglichen Zell-Zell und Zell-Matrix Kontakte. Die Affinität der Integrine zu ihren Liganden ist veränderlich. Zu den Integrinen zählen auch die zwei Rezeptoren LFA-1 und Mac-1. Diese Rezeptoren dienen als Bindungsstellen für ICAM-1. Selektine werden auf Leukozyten und Endothelzellen exprimiert und ermöglichen durch eine relativ lockere Bindung das „rolling“ von Leukozyten entlang der Endothelien. Die Adhäsionsmoleküle ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, NCAM, VCAM und das PECAM gehören zur Immunglobulinsuperfamilie (Springer 1990).

4.2 ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1, CD 54)

Das Gen ICAM-1 befindet sich auf dem Abschnitt 19p 13.3-13.2 auf dem kurzen Arm des Chromosom 19. Die exakte Lokalisation ist das Intervall zwischen den Markern D19S413 und D19S221 (Deloukas et al. 1998). Das Gen besteht aus 7 Exons die durch 6 Introns von einander getrennt werden. Das Glykoprotein ICAM-1 besteht aus 5 Immunglobulin(Ig)-

ähnlichen Domänen. Jedes dieser 5 extrazellulär gelegenen Ig-ähnlichen Domänen wird durch ein eigenes Exon codiert (Voraberger et al. 1991).

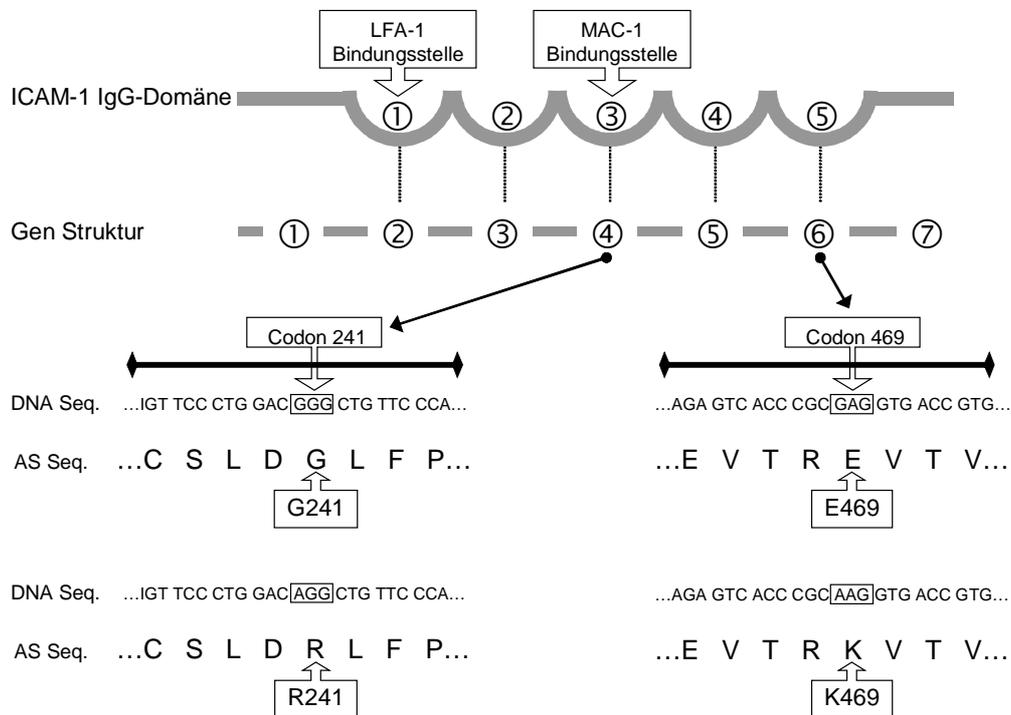


Abbildung 2:

Genetische und funktionelle Position der Codons 241 und 469 von ICAM-1

(modifiziert nach Huiying et al. 1995)

Das Molekulargewicht von ICAM-1 wird mit 80-114 kDa angegeben. ICAM-1 besteht aus insgesamt 505 Aminosäuren. Davon entfallen 453 auf die Ig-ähnlichen Domänen, 24 auf den transmembranösen Teil und 28 auf den cytoplasmatischen Rest (Staunton et al. 1988). ICAM-1 ist auf vielen verschiedenen Zelltypen nachweisbar. Zu diesen Zelltypen gehören Endothelzellen, Epithelzellen, Makrophagen und dendritische Zellen in menschlichem Thymus, Lymphknoten, Nieren, Leber und der Haut (Springer 1990). Auf Keratinozyten und vaskulären Endothelzellen

kommt es physiologischer Weise nicht vor. Im Rahmen der Psoriasis kann seine Expression auf beiden Zelltypen nachgewiesen werden. (Horrocks et al. 1990).

Hämatopoetische Zellen exprimieren ICAM-1 auf Stammzellen des Knochenmarks, auf Zellen der lymphatischen Reihe und auf Zellen der myeloischen Zelllinie bis hin zum Erythroblastenstadium. Auf Monozytenoberflächen findet sich eine ICAM-1 Expression in allen Reifestadien (van de Stolpe and van der Saag 1996).

Bei Zellen, die normalerweise kein ICAM-1 exprimieren, kann es durch verschiedene Faktoren zu einer Expression von ICAM-1 kommen. Die wichtigsten bisher beschriebenen Stimuli sind TNF- α , Interferon (IFN) und Interleukin-1. Glukokortikoide bewirken eine effektive Verminderung der ICAM-1-Expression (van de Stolpe et al. 1993), (Palkama et al. 1993). ICAM-1 tragende Zellen können Bindungen mit Zellen eingehen die ihrerseits eines der beiden β_2 Integrine LFA-1 bzw. Mac-1 besitzen. Zu den LFA-1/Mac-1 exprimierenden Zellen gehören Leukozyten (Diamond et al. 1991).

Des weiteren stellt ICAM-1 einen Rezeptor für Rhinoviren dar (Gruppe der Picornaviren), die für ca. 40-50% der Erkältungskrankheiten verantwortlich sind. Die Rhinoviren binden an die Domänen 1 und 2 von ICAM-1. Die Domäne 1 stellt zugleich die Bindungsstelle für LFA-1 dar (Marlin et al. 1990).

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von Nyfors und Mitarbeitern. Sie konnten in ihrer Studie an 245 Kindern zeigen, daß bei ca. 25% der Kinder zum Zeitpunkt der Erstmanifestation eine Infektion der oberen Luftwege vorausgegangen war. Bei 50% der Probanden wurde ein Psoriasis Schub innerhalb 2-3 Wochen nach einem solchen Infekt beschrieben (Nyfors et al. 1975).

Die Bindungsstelle für MAC-1 unterscheidet sich klar von derjenigen für LFA-1 und den Rhinoviren. Sie befindet sich in Domäne 3 von ICAM-1 (Diamond et al. 1991).

ICAM-1 wird von mehr als 95% der infiltrierenden Leukozyten in psoriatischen Läsionen exprimiert. Dadurch spielt es vermutlich eine entscheidende Rolle beim „trafficking“ von mononukleären Leukozyten in die Epidermis und somit beim Aufrechterhalten des Entzündungsprozesses (Nickoloff 1988).

Die Bedeutung von ICAM-1 bei psoriatischen Läsionen zeigt sich auch bei einer Vielzahl erfolgreich eingesetzter Medikamente. Die Behandlung von Keratinozyten durch PUVA (Psoralen + UVA) führt zu einer verminderten Expression von ICAM-1 (Urano et al. 1997). Auch Dimethyl-Fumarat hat neben seinem antiproliferativen Effekt eine down-Regulation von ICAM-1 zur Folge (Sebok et al. 1998). Bei einer Untersuchung über Kortikosteroide in Anwendung bei Psoriasis wurde beobachtet, daß der therapeutische Effekt nicht, wie ursprünglich angenommen, durch die Hemmung der Zytokinproduktion zustande kommt. Vielmehr ist eine Reduktion der Adhäsionsmoleküle für die Verringerung des Entzündungsgeschehens verantwortlich (Berti et al. 1998). Eine sehr effektive Reduktion der ICAM-1 Expression auf papillären Endothelzellen erzielt der Wirkstoff Cyclosporin A (Petzelbauer et al. 1991). Die Tatsache, daß der Wirkstoff auch klinisch zu einem deutlichen Rückgang der Effloreszenzen führt, unterstreicht die Bedeutung des ICAM-1 bei der Aufrechterhaltung der Psoriasis. ICAM-1 kommt physiologischerweise in gebundener und gelöster Form vor. An Zelloberflächen gebundenes ICAM-1 wird als m-ICAM-1 (membran bound ICAM-1) bezeichnet. Im Plasma und im Liquor kann es auch in löslicher Form nachgewiesen werden und wird dann als s-ICAM-1 (solubles ICAM-1) bezeichnet.

Der Entstehungsmechanismus von s-ICAM-1 ist noch nicht vollständig geklärt. Gegenwärtig existieren zwei Hypothesen. Eine Hypothese besagt, daß es sich bei s-ICAM-1 um den proteolytisch abgelösten extrazellulären Teil des m-ICAM-1 handelt. Dies würde erklären,

warum das molekulare Gewicht von s-ICAM-1 niedriger ist als das von m-Icam-1 (Rothlein et al. 1991). Die zweite Hypothese vermutet ein splicing auf RNA Ebene (van de Stolpe and van der Saag 1996).

4.3 Ziel der Arbeit

In den letzten Jahren konzentrierten sich die Untersuchungen zur Pathogenese der Psoriasis immer mehr auf immunologische Aspekte. In diesem komplexen Netzwerk von Zytokinen, Oberflächenmolekülen und Leukozyten hat das Adhäsionsmolekül ICAM-1 eine Schlüsselrolle inne. In mehreren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die s-ICAM-1 Konzentration im Serum von Psoriatikern erhöht ist (Schopf et al. 1993), (Kowalzick et al. 1993), (Hügler 1996).

Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob es sich bei diesen erhöhten s-ICAM-1 Werten bei Psoriatikern

- 1) um ein Epiphänomen als Reaktion auf ein entzündliches Geschehen in der Haut handelt, oder
- 2) die erhöhten s-ICAM-1 Werte eine ursächliche Rolle bei der Pathogenese der Psoriasis spielen

Für die zweite These sprechen die Untersuchungsergebnisse von Kowalzick et al. Sie konnten zeigen, daß die s-ICAM-1 Werte bei Psoriatikern auch nach erfolgreicher UV-Therapie erhöht blieben (Kowalzick et al. 1993). Hügler beobachtete bei 10 psoriatischen Familien in einigen Fällen generell hohe ICAM-1 Werte, während in anderen Familien vergleichsweise

niedrige s-ICAM-1 Werte vorlagen (Hügler 1996). Dies läßt vermuten, daß sich die s-ICAM-1 Werte bei Familien mit Psoriasis dichotom verhalten und vermutlich genetisch reguliert werden.

Unter der Annahme, daß die Hochregulierung von ICAM-1 ursächlich an der Entstehung der Psoriasis beteiligt ist, wäre eine Veränderung des ICAM-1 Gens eine Erklärung, wie es zu einer vermehrten Expression von s-ICAM-1 kommen könnte. Nach Vora et al. besteht die Möglichkeit, daß es sich beim R 241 Allel um ein sog. VAPSE (variation affecting protein structure or expression), also ein die normale Struktur bzw. Expression beeinflussendes Allel handeln könnte (Vora et al. 1994). Er begründet diese Vermutung mit der Tatsache, daß sich der G/R 241 Polymorphismus in der Ig-3-Domäne des Proteins befindet. Da die Ig-3-Domäne mit Mac-1 interagiert, hält der Autor eine Beeinflussung der Bindungskapazität für möglich.

Ein Erklärungsmodell hierfür wäre ein in seinem Bindungsbereich verändertes und dadurch funktionell beeinträchtigtes ICAM-1. Im Sinne eines negativen Rückkopplungsmechanismus könnte dies zu einer vermehrten Produktion führen. Unter diesem Gesichtspunkt sind vor Allem die G/R 241 Allele von besonderem Interesse.

In dieser Arbeit haben wir das Gen ICAM-1 bei Psoriatikern auf zwei bereits beschriebene Polymorphismen (Vora et al. 1994), (Mycko et al. 1998) hin untersucht. Einer der beiden Polymorphismen (G/R 241) befindet sich in Exon 4, in einem Bereich, der für die Ig 3 Domäne des Moleküls kodiert. Von dieser Domäne ist bekannt, daß sie für die Bindung von ICAM-1 an die Mac-1 Form der Leukozytenintegrine von Bedeutung ist (Diamond et al. 1991). Der zweite Polymorphismus liegt in Exon 6 und kodiert für die Ig 5 Domäne des Proteins.

Es liegen bereits zahlreiche Untersuchungen dieser beiden Polymorphismen im ICAM-1 Gen im Zusammenhang mit anderen Krankheiten vor. So wurden in einer Arbeit von Amoli et al die Verteilung der beiden Polymorphismen bei Patienten mit Polymyalgia rheumatica und Kontrollen untersucht. Bei dieser Krankheit sind erhöhte s-ICAM-1 Serumwerte bekannt. Amoli und Mitarbeiter führten eine Genotypisierung von 72 Patienten und 129 Kontrollen bezüglich

HLA-DRB1 und den ICAM-1 Polymorphismen G/R 241 und E/K 469 durch. Die Verteilung der einzelnen ICAM-1 Allele zeigte keinen Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen auf. Des Weiteren bestand keine Assoziation der einzelnen Allele und der Krankheitsaktivität. Das gemeinsame Auftreten von HLA-DRB1*0401 und 241 GG war jedoch mit einem signifikant erhöhtem Risiko einer Exazerbation der Krankheit assoziiert (Amoli et al. 2002).

Eine in Bezug auf die funktionelle Bedeutung des K/E 469 Polymorphismus interessante Arbeit befaßt sich mit der Rolle des ICAM-1 bei der diabetischen Retinopathie. Es ist bekannt, daß die Leukozytenadhäsion eine entscheidende Rolle bei dieser Krankheit spielt. Kamiuchi und Mitarbeiter konnten in ihren Untersuchungen zeigen, daß der 469 KK Genotyp, unabhängig von anderen Risikofaktoren, mit einem 3,5-fach erhöhtem Risiko bezüglich der diabetischen Retinopathie assoziiert war (Kamiuchi et al. 2002).

Gerade bei vaskulären Krankheitsbildern konnten Assoziationen der K/E 469 Allele mit den einzelnen Krankheiten nachgewiesen werden. So fanden Gaetani und Mitarbeiter in einer kürzlich veröffentlichten Studie ein signifikant höheres Vorkommen des EE Allels bei Patienten mit pAVK im Vergleich zu Kontrollen (32,1% versus 17,2%) (Gaetani et al. 2002). In dieser Arbeit wird auch auf die mögliche funktionelle Bedeutung des K/E 469 Polymorphismus hingewiesen. Ergebnisse darüber liegen aber bisher noch nicht vor.

In einer von Jiang und Mitarbeitern durchgeführten Studie an 349 KHK Patienten konnte eine signifikant höhere Frequenz des K Allels (KK+KE) im Vergleich zum E Allel (EE) gegenüber Kontrollen festgestellt werden. Die Autoren schlossen daraus, daß die K Allele des ICAM-1 Polymorphismus bei Codon 469 ein genetischer Faktor sind welche mit einem erhöhtem Risiko zur Ausbildung einer KHK bzw. eines Myokardinfarkts einhergehen (Jiang et al. 2002).

In erster Linie soll die Weitergabe der einzelnen Allele von Eltern auf ihre an Psoriasis erkrankten Kinder untersucht werden. Eventuell vorhandene Abweichungen vom zufälligen

Verteilungsmuster im Sinne einer Assoziation des jeweiligen Allels mit der Psoriasis sollen aufgezeigt werden.

5 Material und Methoden

5.1 Patienten

5.1.1 Patientenkollektiv

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte aus dem Patientenkollektiv der Hautklinik Münster sowie der Hautklinik der Charité in Berlin. Durch die Mitarbeit von niedergelassenen Hautärzten konnten weitere Probanden gewonnen werden. Insgesamt wurden 297 Personen (entspricht 99 Trios) in die Studie miteinbezogen. Unter diesen Personen waren 148 an Psoriasis erkrankt und 149 nicht an Psoriasis erkrankte Angehörige. 25 Trios wiesen eine maternale Vererbung, 24 Trios eine paternale und 50 Trios eine sporadische Vererbung auf.

5.1.2 Einschlusskriterien

Ein sogenanntes Trio, bestehend aus dem Patienten und seinen Eltern, wurde von uns in die Studie aufgenommen, wenn die Diagnose Psoriasis vulgaris vom chronisch stationären Typ gestellt werden konnte und der Krankheitsbeginn vor dem 30. Lebensjahr lag.

5.1.3 Ausschlusskriterien

Patienten mit Krankheitsbeginn nach dem 30. Lebensjahr und Kinder, bei denen sowohl Vater als auch Mutter an Psoriasis erkrankt waren, wurden von der Studie ausgeschlossen.

5.2 Blutentnahme und DNA-Isolierung

Den Patienten und ihren Eltern wurden jeweils 4*9ml venöses Blut in 9ml EDTA Monovetten abgenommen.

Die Isolierung der genomischen DNA fand im Institut für Humangenetik im Virchow Campus der Charité der Universität Berlin statt. Die isolierte DNA wurde anschließend bei – 20°C gelagert.

5.3 Molekulare Analyse der ICAM-1 Polymorphismen

Im ICAM-1 Gen wurden zwei Basensubstitutionen untersucht. Diese führen zu Aminosäurepolymorphismen. Der erste Polymorphismus befindet sich bei Codon 241 in Exon 4: Arg (AGG) bzw. Gly (GGG). Der zweite befindet sich in Exon 6 bei Codon 469 mit den Aminosäuren Lys (AAG) bzw. Glu (GAG).

5.4 Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine Methode zur enzymatischen Amplifikation spezifischer DNA-Fragmente. Die DNA wird zunächst denaturiert. Anschließend werden zwei Oligonukleotide hinzugefügt, deren Sequenz jeweils zu einem DNA-Strang in einem flankierenden Bereich komplementär ist. Sie dienen als Primer für eine DNA-Polymerase. Die Polymerase synthetisiert dann abhängig von der einzelsträngigen DNA-Matrix vom 3'-Hydroxyl-Ende eines Primers ausgehend den zweiten DNA-Strang. Ein Zyklus aus Denaturierung, Anlagerung des Primers („Annealing“) und DNA-Synthese wird mehrfach wiederholt, so daß das Zielfragment exponentiell angereichert wird. Durch die Verwendung einer hitzestabilen DNA-Polymerase kann diese Reaktionsfolge automatisiert werden.

5.4.1 Standard-Ansatz für die PCR

Für die Standard-PCR wurde etwa 40 ng genomische DNA in einem Reaktionsvolumen von 20 µl eingesetzt.

Der Reaktionsansatz setzte sich folgendermaßen zusammen:

H ₂ O	14,2	µl
Puffer	2,0	µl
dNTP	0,2	µl
Primer 1	0,25	µl
Primer 2	0,25	µl
Tag Pol.	0,1	µl
	=17,0	µl
+DNA	3,0	µl
	= 20	µl

Die Reaktion umfaßte nach der Anfangs-Denaturierung bei 95 ° C für 7 min 27 Zyklen mit jeweils 15 sec Denaturierung bei 95 °C, 15 sec Annealing bei 55 ° C und 30 sec Elongation bei 72 ° C sowie eine Abschluss-Elongation bei 72° C für 10 min.

Zur Analyse des ersten Polymorphismus Arg (AGG) bzw. Gly (GGG) bei Codon 241(G/R 241) in Exon 4 wurde folgendes Primerpaar verwendet:

X4L=5'-GATTGAAGAAGCCAGCAG-3'

X4R=5'-GTCGTTGCCATAGGTGAC-3'

Für die Erstellung des PCR-Produkts zur Analyse des zweiten Polymorphismus Lys (AAG) bzw. Glu (GAG) bei Codon 469 (K/E 469) in Exon 6 wurde zunächst folgendes Primerpaar verwendet:

6442= 5'-CCATCGGGGAATCAGTG-3' und

6443= 5'-ACAGAGCACATTCACGGTC-3' (Vora, 1994).

Es konnte damit aber kein brauchbares PCR-Produkt amplifiziert werden. Daraufhin wurden folgende zwei neue Primer entworfen:

469 F= 5'-GCTCAAGTGTCTAAAGGATG-3' und

469 R= 5'-CTGCTACCACAGTGATGATG-3'

Diese Primerpaar flankiert das Codon 469 einmal vom 5'-Ende und einmal vom 3'-Ende und es konnte ein 269 Bp langes PCR-Produkt amplifiziert werden.

5.5 Hybridisierung mit einem ASO zur Analyse des G/R 241 Polymorphismus und Kontrolle durch direkte DNA Sequenzierung

Die wie oben beschrieben hergestellten PCR-Produkte wurden auf 2% TAE Agarose Gel elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend auf eine Biodyne-B-Membran gebロットet.

Zur Identifizierung des R 241 Allels wurde folgendes ASO (Allel-spezifisches Oligonukleotid) verwendet:

5'-TCCCTGGACAGGCTGTTCC-3'.

Dieses bindet nur bei Anwesenheit des R 241 Allels, nicht jedoch bei Anwesenheit des G 241 Allels. Die gebundenen ASOs wurden durch eine Kinasierungsreaktion radioaktiv markiert und konnten so durch die Schwärzung eines Röntgenfilms die Anwesenheit des R 241 Allels anzeigen. Zur Kontrolle wurde bei allen positiven Proben bzw. bei nicht eindeutigem Ergebnis noch eine direkte DNA Sequenzierung mit einem automatischen Sequenzierer (Alf) durchgeführt.

5.6 Analyse des K/E 469 Polymorphismus durch Restriktionsverdauung und Auftrennung auf einem Polyacrylamid Gel

Der K/E 469 Polymorphismus entsteht durch den Austausch einer einzelnen Base. E 469 steht dabei für die Basensequenz GAG und K 469 für die Basensequenz AAG. Zum Nachweis dieses Polymorphismus kam die Restriktionsendonuklease BSTU1 zum Einsatz. Sie besitzt die Basensequenz CGCG und kann nur bei Vorhandensein des E 469 Allels das PCR-Produkt schneiden. Wenn das PCR-Produkt geschnitten wird, entstehen zwei neue Produkte die sich in ihrer Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld vom nicht geschnittenen K 469 Allel unterscheiden. Zur Auftrennung der beiden Produkte wurde ein Polyacrylamid Gel verwendet. Es zeichnet sich durch seine Fähigkeit aus, auch geringe Längendifferenzen von einander trennen zu können. Das durch BSTU 1 geschnittene Produkt, das Allel E 469, wandert im elektrischen Feld schneller als das nicht geschnittene Allel K 469.

5.7 Transmission/Disequilibrium Test (TDT) nach Spielman

Während in Populationsstudien ein Vergleichskollektiv z.B. Blutspender mit dem von der Krankheit betroffenen Kollektiv verglichen wird, wird beim TDT die Kontrollpopulation aus den nicht transmittierten Allelen gebildet. Vergleichskollektive bei Populationsstudien sind problematisch. Üblicherweise verwendete Vergleichskollektive wie z.B. Blutspender repräsentieren ebenso wenig die Allgemeinbevölkerung wie andere rekrutierte Gruppen. Deshalb weichen sie von dem an der Krankheit leidenden Kollektiv ab. Es ist daher günstiger bereits im Krankheitskollektiv die Kontrollpopulation enthalten zu haben, da sich dadurch keinerlei ethnische oder sonstige genetische Unterschiede manifestieren können.

Der sogenannte Transmissions/Disequilibrium Test nach Spielman vergleicht die Transmissionsfrequenz bestimmter Allele von heterozygoten Eltern an ihre betroffenen Kinder gegenüber nicht transmittierten Allelen. Die nicht transmittierten Allele stellen dabei die

Kontrollgruppe dar. Somit ist eine ethnisch perfekt übereinstimmende Kontrollgruppe gefunden worden. Darüber hinaus kann auch bei Krankheiten mit niedriger Prävalenz meist eine ausreichende Anzahl von Fällen rekrutiert werden, da neben den Betroffenen lediglich die beiden Eltern zur Analyse herangezogen werden müssen. Weitere betroffene oder nicht betroffene Geschwister sind nicht erforderlich.

Der TDT untersucht Trios, jedes bestehend aus einem erkrankten Kind und seinen beiden Eltern. In der hier vorliegenden Arbeit kommen zwei Konstellationen von Trios vor: Das „familiäre Trio“ (paternal oder maternal) bedeutet, daß ein Elternteil Merkmalsträger ist, und das „sporadische Trio“, bedeutet, daß die Eltern nicht betroffen sind. Zunächst werden die Genotypen der ausgewählten Marker bei Eltern und Kind typisiert. Sodann wird erfaßt welche Allele von den Eltern auf das Kind übertragen werden und welche nicht.

Als Beispiel betrachtet man eine Familie mit sporadischem Auftreten der Psoriasis. Die Genotypen des Marker-Lokus M sind M_1 und M_2 (Abb. 3).

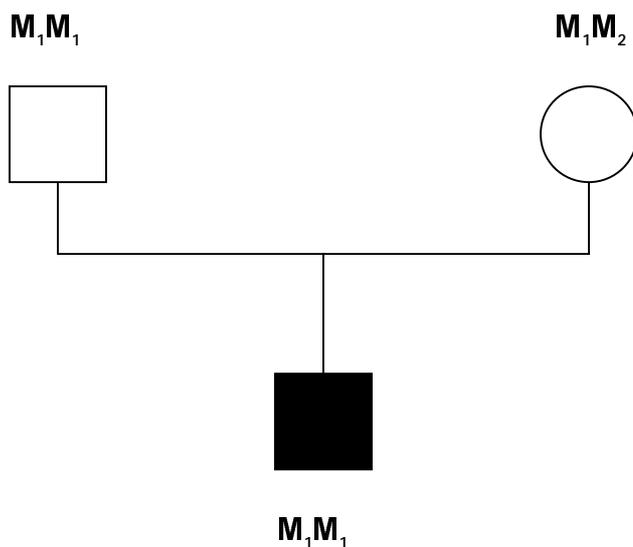


Abbildung 3:

Stammbaum eines sporadischen Trios mit den Genotypen für den Marker-Lokus M

Die heterozygote Mutter gibt Allel M_1 an ihren betroffenen Sohn weiter. Der homozygote Vater überträgt Allel M_1 .

Von den Genotypen der Eltern M_1M_1 , M_1M_2 oder M_2M_2 ausgehend zählt man die Transmissionsereignisse folgendermaßen (Spielman et al. 1993):

- a. Anzahl der M_1 -Transmissionen vom elterlichen Genotyp M_1M_1 auf das betroffene Kind;
- b. Anzahl der M_1 -Transmissionen vom elterlichen Genotyp M_1M_2 auf das betroffene Kind;
- c. Anzahl der M_2 -Transmissionen vom elterlichen Genotyp M_1M_2 auf das betroffene Kind;
- d. Anzahl der M_2 -Transmissionen vom elterlichen Genotyp M_2M_2 auf das betroffene Kind;

Aus den möglichen Konstellationen ergibt sich folgende Vierfeldertafel:

Tabelle 2:

Kombinationen der transmittierten und nicht-transmittierten Marker-Allele M_1 und M_2 von $2n$ Eltern auf n betroffene Kinder (Spielman et al. 1993)

		Nicht-transmittierte Allele		
		M_1	M_2	Insgesamt
Transmittierte Allele	M_1	a	b	a+b
	M_2	c	d	c+d
	Insgesamt	a+c	b+d	2n

Am Ende errechnet man die Signifikanz des Unterschiedes von b und c mit einer binominalen Teststatistik. Die Prüfgröße nach McNemar ist χ^2 -verteilt, mit einem Freiheitsgrad und wird hier errechnet als

$$\chi^2 = (b-c)^2 / (b+c)$$

Die Allele M_1 und M_2 werden unabhängig voneinander an einen betroffenen Nachkommen vererbt, es sei denn eines der beiden Allele wird als assoziierter Marker mit dem Krankheitslokus gekoppelt transmittiert. Für den TDT werden nur Trios berücksichtigt bei denen die Eltern heterozygot bezüglich des mit der Krankheit assoziierten Genlokus sind. Es wird die Häufigkeit einer Transmission des Marker-Allels mit der des Alternativ-Allels verglichen.

Unter der zugrundeliegenden Nullhypothese, daß keine Kopplung zwischen Marker und Krankheitslokus besteht, müßten M_1 und M_2 von den heterozygoten Eltern in Übereinstimmung mit dem Mendelschen Gesetz auf die erkrankten Nachkommen übertragen werden.

Kopplung und Assoziation messen beide eine Abweichung vom Mendelschen Gesetz der unabhängigen Vererbung, aber in unterschiedlicher Weise:

Von Kopplung (linkage) spricht man, wenn ein Phänotyp und ein genetischer Marker überzufällig häufig in Familien co-segregieren. Das Erklärungsmodell hierfür ist, die räumliche Nähe von Marker und der für den Phänotyp verantwortlichen DNA-Sequenz, woraus eine geringere Wahrscheinlichkeit der Trennung durch Rekombination folgt. Kopplung liegt somit für Loci vor.

Von Assoziation spricht man, wenn das Allel eines genetischen Markers in der Population häufiger bei erkrankten als bei gesunden Personen vorkommt. Assoziation ist somit an Allele gebunden.

Zu beachten ist, daß der TDT eine Kopplung nur dann entdecken kann, wenn gleichzeitig eine Assoziation vorhanden ist. Ebenso gilt der Umkehrschluß und es kann mit dem TDT eine Assoziation nur bei gleichzeitiger Kopplung entdeckt werden (Ewens and Spielman 1995).

6 Ergebnisse

6.1 s-ICAM Werte und Polymorphismusanalyse bei einer Multiplex-Familie

Die ersten Polymorphismusanalysen des ICAM-1 Genes wurden von Hügler an einer Familie mit 14 Personen durchgeführt. In dieser Arbeit wurde die Konzentration von s-ICAM-1 im Serum von Psoriatikern und ihren Angehörigen untersucht (Hügler 1996). Seine Ergebnisse decken sich mit denen von Schopf und Kowalzik (Schopf et al. 1993), (Kowalzik et al. 1993) und zeigen die Ausbildung höherer s-ICAM-1 Werte bei Psoriatikern im Vergleich zu nicht an Psoriasis erkrankten Personen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen eventuell bestehenden Zusammenhang zwischen der Höhe der s-ICAM-1 Werte, dem Phänotyp Psoriasis und den einzelnen polymorphen ICAM-1 Allelen zu untersuchen. Dazu wurde bei den 14 Familienmitgliedern eine DNA-Analyse zur Bestimmung des G/R 241 Polymorphismus im ICAM-1 Gen durchgeführt. Die Ergebnisse der Polymorphismusanalyse sind graphisch in Abb.4 dargestellt.

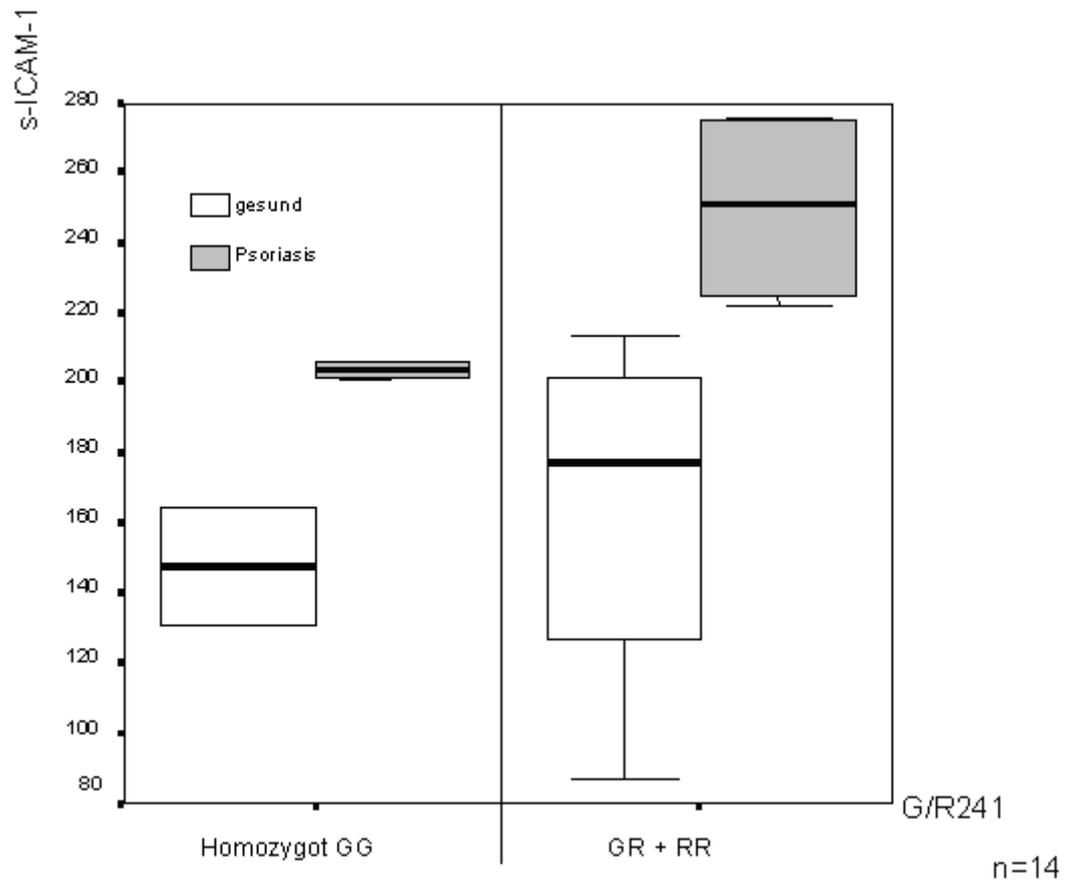


Abbildung 4

Höhe der s-ICAM-1 Werte bei Gesunden und Psoriatikern bezogen auf die Allele G/R 241

Bemerkenswert ist hier vor allem die Tendenz zur Ausbildung höherer s-ICAM-1 Werte bei Psoriatikern bei Anwesenheit des R 241 Allels im Vergleich zu niedrigeren Werten bei Anwesenheit des G 241 Allels. Diese Beobachtung kann als ein Hinweis dafür gewertet werden, daß es sich bei den erhöhten s-ICAM-1 Werten bei Psoriatikern nicht um ein Epiphänomen des entzündlichen Geschehens handelt. Möglicherweise besteht eine Assoziation zwischen dem Allel R 241, den erhöhten s-ICAM-1 Werten und der Psoriasis. Um eine mögliche Assoziation der 4 Allele mit der Psoriasis näher zu untersuchen, wurden weitere 99 Psoriasis Trios analysiert und statistisch durch den TD-Test nach Spielmann ausgewertet.

6.2 3.2. Analyse der 4 ICAM-1 Allele im untersuchten Kollektiv

6.2.1 Allelhäufigkeiten in den untersuchten Trios

Abweichend von den Ergebnissen nach Vora und Mitarbeitern (Vora et al. 1994) und in Übereinstimmung mit den Zahlen von Yang (Yang et al. 1995) ergaben sich folgende Allelhäufigkeiten im Gesamtkollektiv:

Tabelle 3:**Allelhäufigkeiten im untersuchten Kollektiv**

ICAM-1 Genotypen	Psoriatiker (n=148)		Gesunde (n=149)	
	n	%	n	%
241 GG	123	83,1%	118	79,2%
241 GR	23	15,5%	30	20,1%
241 RR	2	1,4%	1	0,7%
469 KK	35	23,8%	38	26,0%
469 KE	84	57,1%	75	51,4%
469 EE	28	19,0%	33	22,6%

6.2.2 Statistische Analyse der Alleltransmission

Bei der Analyse der Alleltransmission im Rahmen der vorliegenden Triostudie durch den TD-Test nach Spielman (Spielman and Ewens 1996) wurden die einzelnen Allele hinsichtlich ihrer Verteilung auf die betroffenen Kinder verglichen. Die Null-Hypothese hierfür war, daß der Marker (Die Allele R/G 241 und E/K 469) und die Krankheit (Psoriasis) nicht gekoppelt sind. Dabei ist berücksichtigt, daß lediglich Eltern, die heterozygot für das entsprechende Allel sind, zur Auswertung herangezogen werden können.

6.2.3 Alleltransmission im Gesamtkollektiv

Die Analyse wurde zuerst am Gesamtkollektiv durchgeführt. Die Rohdaten und p-Werte sind den Tabellen 4 und 5 zu entnehmen.

Tabelle 4:**Transmission der G/R 241 Allele im Gesamtkollektiv**

T/NT	G 241	R 241	Sum
G 241	163	18	181
R 241	16	3	19
Sum	179	21	200 p= 0,7316

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
G 241	18	16	0,1176	p = 0,7316
R 241	16	18		

Tabelle 5:**Transmission der E/K 469 Allele im Gesamtkollektiv**

T (Transmittiert); NT (Nicht transmittiert)

T/NT	K 469	E 469	Sum
K 469	48	49	97
E 469	54	39	93
Sum	102	88	190 p= 0,6222

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
K 469	49	54	0,2427	p = 0,6222
E 469	54	49		

Es konnte im Gesamtkollektiv weder bei den Allelen G/R 241 ($p=0,7316$) noch bei den Allelen E/K 469 ($p=0,6222$) signifikante Unterschiede der Alleltransmission festgestellt werden.

Um mögliche Unterschiede der Alleltransmission aufgrund eines distinkten genomic imprintings (Traupe et al. 1992) zu erfassen, wurde das Gesamtkollektiv für weitere Berechnungen unterteilt. Ausgehend vom Vererbungsmodus wurden drei Untergruppen gebildet: Trios, bei denen weder Vater noch Mutter an Psoriasis erkrankt waren, wurden in der Gruppe eins, „sporadischer Erbgang“ ($n=50$) zusammengefaßt. In der Gruppe zwei, „maternaler Erbgang“ ($n=25$) finden sich die Trios mit betroffenen Müttern. In Gruppe drei, „paternaler Erbgang“ ($n=24$) sind alle Trios mit betroffenen Vätern zusammengefaßt.

6.2.3.1 Alleltransmission bei sporadischem Erbgang

Tabelle 6:**Transmission der G/R 241 Allele bei sporadischem Erbgang**

T/NT	G 241	R 241	Sum
G 241	82	8	90
R 241	9	1	10
Sum	91	9	100 p= 0,8084

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
G 241	8	9	0,0588	p = 0,8084
R 241	9	8		

Tabelle 7:**Transmission der E/K 469 Allele bei sporadischem Erbgang**

T/NT	K 469	E 469	Sum
K 469	27	22	49
E 469	24	19	43
Sum	51	41	92 p= 0,7681

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
K 469	22	24	0,0870	p = 0,7681
E 469	24	22		

6.2.3.2 Alleltransmission bei paternalem Erbgang

Tabelle 8:**Transmission der G/R 241 Allele bei paternalem Erbgang**

Allel G/R 241			
T/NT	G 241	R 241	Sum
G 241	39	4	43
R 241	4	1	5
Sum	43	5	48 p= 1,0000

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
G 241	4	4	0,0000	p = 1,0000
R 241	4	4		

Tabelle 9:**Transmission der E/K 469 Allele bei paternalem Erbgang**

T/NT	K 469	E 469	Sum
K 469	7	13	20
E 469	12	14	26
Sum	19	27	46 p= 0.8415

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
K 469	13	12	0,04	p = 0,8415
E 469	12	13		

6.2.3.3 Alleltransmission bei maternalem Erbgang

Tabelle 10:**Transmission der G/R 241 Allele bei maternalem Erbgang**

T/NT	G 241	R 241	Sum
G 241	40	6	46
R 241	3	1	4
Sum	43	7	50 p= 0,3173

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
G 241	6	3	1,0	p = 0,3173
R 241	3	6		

Tabelle 11:**Transmission der E/K 469 Allele bei maternalem Erbgang**

T/NT	K 469	E 469	Sum
K 469	14	14	28
E 469	16	6	22
Sum	30	20	50 p= 0,7150

Allel:	Transmission:	Nicht-Transmission:	χ^2	TDT p-Wert:
K 469	14	16	0,1333	p = 0,7150
E 469	16	14		

Tabelle 12:**p-Werte der einzelnen Erbgänge**

	G/R 241	E/K 469
Sporadisch	p= 0,8084	p= 0,7681
Maternal	p= 0,3173	p= 0,7150
Paternal	p= 1,0	p= 0,8415

Die berechneten p-Werte sind in Tabelle 5 zusammengefaßt:

Es fanden sich keine statistischen Signifikanzen beim Vergleich der Alleltransmission der einzelnen Erbgänge. Eine Koppelung dieser Allele mit der Psoriasis kann somit im vorliegenden Kollektiv nicht nachgewiesen werden.

7 Diskussion

Die Psoriasis vulgaris ist eine chronisch entzündliche Hauterkrankung mit einer komplexen genetischen Basis. Die Existenz mehrere Dispositionsgene wird heute als gesichert angesehen. Es wäre hilfreich zum Verständnis der Pathogenese der Psoriasis, wenn Aussagen über die Assoziation einzelner an der Entstehung beteiligter Proteine mit der Psoriasis gemacht würden.

Es ist bekannt, daß bei Psoriatikern erhöhte Serumspiegel des solublen ICAM-1 im Vergleich zu Kontrollgruppen vorliegen (Kowalzik et al. 1993), (Hügler 1996). Des weitern konnte eine Dichotomie von untersuchten Psoriasisfamilien in niedrige und hohe s-ICAM-1 Werte nachgewiesen werden. Dabei waren Patienten aus der Gruppe mit hohen s-ICAM-1 Werten an schwereren Verlaufsformen der Psoriasis erkrankt als Familien mit niedrigen Werten (Hügler 1996). Dies kann als ein Hinweis auf einen Kandidatgen-Basisdefekt oder als ein Zeichen einer unterschiedlichen Expression des Oberflächenmarkers gewertet werden.

Die Testung der beiden Polymorphismen im Gen ICAM-1 auf Assoziation mit der Psoriasis soll die Bedeutung des ICAM-1 bei der Pathogenese der Krankheit klären. Hier sind besonders die G/R 241 Allele von Bedeutung. Der G/R 241 Polymorphismus befindet sich in der Ig-3-Domäne des Proteins. Diese Domäne ist an der Bindung mit dem Leukozytenintegrin MAC-1 beteiligt (Vora et al. 1994). Das häufigere Allel ist das G 241 Allel, welches für Glycin kodiert. Im ICAM-1 Protein anderer Spezies wie Hund, Maus und Ratte und auch im menschlichen ICAM-3 befindet sich die Aminosäure Glycin an der analogen Stelle (Yang et al. 1995). Es handelt sich demnach bei dem G 241 Polymorphismus um die konservative Variante,

die sich über die Arten hinweg durchgesetzt hat. Daher gehen verschiedene Autoren davon aus, daß die nicht konservative Substitution des Glycins durch Arginin im R 241 Polymorphismus möglicherweise einen Einfluß auf die Bindungseigenschaften des Proteins besitzt. Dieses Phänomen wird als VAPSE (= variation affecting protein structure or expression) bezeichnet. Ein möglicher Weg zur Detektion einer VAPSE ist der Nachweis einer Assoziation eines solchen Polymorphismus mit einer Krankheit (Vora et al. 1994).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß keines der untersuchten Allele eine signifikante Assoziation mit der Psoriasis aufweist. Unter der Annahme der oben formulierten Beeinflussung der Bindungskapazität kann man aufgrund der vorliegenden Ergebnisse davon ausgehen, daß die exprimierten Isoformen des G/R 241 Polymorphismus keine Vor- oder Nachteile bei der Ausbildung einer Psoriasis haben.

Man muß jedoch beachten, daß Arbeiten über die Bindungseigenschaften der einzelnen hier untersuchten Isoformen des ICAM-1 bisher noch nicht vorliegen. Interessant wäre eine funktionelle Analyse der G/R 241 und K/E 469 Isoformen des Proteins. Fänden sich bei den Allelen deutliche Unterschiede in ihren Bindungseigenschaften, so könnten neue Aussagen über die pathogonische Bedeutung des ICAM-1 bei der Entstehung der Psoriasis gemacht werden. Ein funktionell stark verändertes ICAM-1 welches keinerlei Assoziation mit der Psoriasis aufweist spielt vermutlich keine ursächliche Rolle bei der Entstehung der Krankheit.

Bei einem weiteren Polymorphismus im ICAM-1 Gen liegen bereits Ergebnisse über die Bindungseigenschaften vor.

So konnten Craig und Mitarbeiter bei einer in der afrikanischen Bevölkerung häufig vorkommenden Isoform des ICAM-1, das ICAM-1Kilifi, eine reduzierte Bindung zu LFA-1 nachweisen. Diese Isoform des ICAM-1 geht mit einem erhöhten Risiko zur Ausbildung einer

cerebralen Malaria einher. Daher legten die Autoren die Vermutung nahe, daß über eine ICAM-1-Kilifi vermittelte Reduktion einer Leukozyten induzierten Entzündung es möglicherweise zur Begrenzung weiterer Schäden im Rahmen einer Malaria Infektion kommt. Dies würde bei einer Bevölkerung, die dem Malaria Erreger in hohem Maße ausgesetzt ist von Vorteil sein (Craig et al. 2000).

Es ist bekannt, daß das Krankheitsbild der Psoriasis mit einer signifikant geringeren Prävalenz von allergischen Hauterkrankungen wie atopische Dermatitis und Urticaria einhergeht (Henseler and Christophers 1995). Es wird vermutet, daß durch die Expression eines Th1 Cytokin Profils und durch eine erhöhte Anzahl von Phagozyten die Haut von Psoriatikern im Vergleich zu Nicht-Psoriatikern widerstandsfähiger gegenüber bakteriellen und viralen Infektionen ist (Schlaak et al. 1994). Die hohe Prävalenz der Psoriasis mit ca. 2% könnte somit die Folge eines Selektionsvorteils aufgrund der verbesserten Immunabwehr im Vergleich zur Normalbevölkerung sein.

Bei der Interaktion zwischen T-Zelle, Antigen und MHC-Molekül hat das Adhäsionsmolekül ICAM-1 zwei Aufgaben. Zum einen fixiert es den trimolekularen Komplex; dabei initiiert ICAM-1 den primären antigenunabhängigen Kontakt zwischen T-Zelle und Antigen-präsentierender Zelle. Diese Adhäsion wird im Zuge der T-Zell-Aktivierung noch verstärkt (Springer 1990). Daneben stellt die Bindung von ICAM-1 an seine Liganden ein costimulatorisches Signal auf T-Lymphozyten dar und stimuliert somit die Immunabwehr. Daran läßt sich die Bedeutung des ICAM-1 hinsichtlich einer verbesserten Immunabwehr der Haut im Rahmen der Psoriasis erkennen. Unter diesem Aspekt würde man bei Untersuchungen über die Bindungseigenschaften der einzelnen ICAM-1 Isoformen zu seinen Liganden höhere Affinitäten erwarten.

Die Tatsache, daß sich auch in nicht betroffener Haut von Psoriasis Patienten ICAM-1 nachweisen läßt (im Gegensatz zur Haut von Nicht Psoriatikern) hat zu der Vermutung geführt, daß es sich dabei um einen Auslöser der Krankheit handelt. Aufgrund der Anwesenheit von ICAM-1 in nicht betroffener Haut sind Lymphozyten in der Lage die Blutbahn zu verlassen und in die Epidermis einzuwandern und dort zu verbleiben. Von einigen Autoren wurde diese Beobachtung als entscheidender Unterschied zwischen psoriatischer und gesunder Haut gewertet (Horrocks et al. 1991). Diese Tatsache würde auch gut die geringere Prävalenz von bakteriellen und viralen Hautinfektionen erklären. Da sich ICAM-1 auch in der nicht betroffenen Haut von Psoriatikern nachweisen liess, schlossen diese Autoren ein Epiphänomen als Reaktion auf eine lokale Entzündung aus. Unter Berücksichtigung der hier vorliegenden Ergebnisse muß diese Vermutung neu diskutiert werden. Wenn dem ICAM-1 eine auslösende Rolle bei der Psoriasis zugeschrieben werden soll und die erhöhten s-ICAM-1 Werte nicht als ein Epiphänomen gewertet werden, muß eine der folgenden Aussagen zutreffen:

- I) ICAM-1 ist bei Psoriatikern strukturell verändert und kann somit z.B. leichter in die Epidermis migrieren bzw. hat aufgrund veränderter Bindungseigenschaften eine unterschiedliche Affinität zu seinen Liganden

- II) es findet bei Psoriatikern eine vermehrte Expression von ICAM-1 statt

Wie zuvor schon erwähnt, liegen Arbeiten über die Bindungseigenschaften und Struktur der hier untersuchten Isoformen des ICAM-1 bis jetzt noch nicht vor. Wenn man für die 4 Isoformen des ICAM-1 eine hypothetisch veränderte Struktur annimmt, so kann man aufgrund der vorliegenden Ergebnisse folgende Schlüsse ziehen:

Da keines der untersuchten Allele des ICAM-1 mit der Krankheit assoziiert ist, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit keine der exprimierten Isoformen ursächlich für die Ausbildung der Psoriasis notwendig. Dies erscheint nicht verwunderlich, da die Forschungsergebnisse der letzten Jahre gezeigt haben, daß mehrere Gene unabhängig voneinander zur Psoriasis beitragen. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, daß den hier untersuchten Polymorphismen im ICAM-1 ein Effekt bei der Psoriasis zukommt. Zur Detektion eines solchen möglicherweise vorhandenen Effektes der ICAM-1 Polymorphismen wäre die Stratifizierung der Patienten in Kollektive mit bereits bekannten Markern von Vorteil. Denkbar wäre zum Beispiel eine primäre Aufteilung der Patienten in Untergruppen mit HLA Haplotypen wie Cw*0602 und B*5701, bei denen eine Assoziation mit der Psoriasis bereits bekannt ist. Dies würde einem multiallelischen Vererbungsmodus gerecht und vermag auch eventuelle distinkte Assoziationen aufdecken.

Für die zweite Hypothese, eine vermehrte ICAM-1 Expression sprechen mehrere Gründe. Zum einen steht diese Hypothese im Einklang mit den hier vorliegenden Ergebnissen. Die in dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen im ICAM-1 Gen haben keinen Einfluß auf die Expression des Proteins. Die Expression des ICAM-1 wird zum größten Teil auf transkriptionaler Ebene reguliert. Interessant wären deshalb ergänzende Untersuchungen im Bereich der Genabschnitte, die an der Regulation der Transskription beteiligt sind.

Die das ICAM-1 Gen flankierende 5' Region enthält mehrere Transcription initiation sites und Bindungsstellen für Transskriptionsfaktoren. Daher geht man davon aus, daß Faktoren, welche die Expression aktivieren bzw. hemmen, dort ansetzen (Voraberger et al. 1991). Mutationen oder Polymorphismen die sich in diesen Bereich des ICAM-1 Genes befinden könnten somit z.B. den Einfluß hemmender Faktoren unwirksam machen, was zu einem erhöhten ICAM-1 Spiegel führen würde.

Dabei muß man beachten, daß die Plasmakonzentration des s-ICAM-1 keinen zuverlässigen Rückschluß über die Konzentration des ortständigen, des so genannten m-ICAM-1 erlaubt. In einem Tiermodell gelang der Nachweis, daß bei splenektomierten Mäusen eine TNF induzierte Erhöhung des s-ICAM-1 Spiegels keinerlei Auswirkung auf den m-ICAM-1 Spiegel hat (Komatsu et al. 1997). Es besteht also durchaus die Möglichkeit, daß bei Psoriatikern eine vermehrte Expression von ICAM-1 stattfindet, wobei jedoch nur ein Teil im Plasma als s-ICAM-1 nachweisbar ist. Trotz einer bekannten s-ICAM-1 Erhöhung bei Psoriatikern konnte gezeigt werden, daß s-ICAM-1 kein zuverlässiger Marker zur primären Diagnostik der Psoriasis ist, weil sich bei den Werten deutliche Überlappungsbereiche mit gesunden Probanden ergaben (Hügler 1996). In einer anderen Arbeit kam es nach dem Abklingen eines akuten Psoriasis-schubes auch zur Normalisierung der s-ICAM-1 Werte (Krasowska et al. 2000). Eine Erklärung hierfür könnte eine persistierende Erhöhung des m-ICAM-1 bei Psoriatikern sein, während sich der s-ICAM-1 Spiegel der jeweiligen Krankheitsaktivität anpaßt. s-ICAM-1 würde dann mit der akuten Krankheitsaktivität korrelieren, während m-ICAM-1 im Sinne einer Krankheitsprädisposition permanent erhöht ist. Mittels splicing könnte bei Bedarf dann aus m-ICAM-1 s-ICAM-1 entstehen. Untersuchungen über die Konzentration des m-ICAM-1 bei Psoriatikern liegen bis jetzt noch nicht vor.

Neben dem geringeren Auftreten von bakteriellen und viralen Hauterkrankungen findet sich eine Reihe von Krankheiten, die bei Psoriatikern vermehrt auftreten. So konnten Henseler und Mitarbeiter zeigen, daß bei Psoriatikern eine signifikant erhöhte Prävalenz von Adipositas, nicht Insulin abhängigem Diabetes, Hypertonus und Hyperlipidämie besteht (Henseler and Christophers 1995). Die Kombination dieser Krankheiten wird als Syndrom X bezeichnet. Interessant ist bei diesen mit der Psoriasis assoziierten Erkrankungen die Rolle des ICAM-1. Während ein Teil der Adhäsionsmoleküle wie z.B. ELAM-1 bevorzugt auf Endothelien im Bereich kutaner Entzündungen auftreten, weist ICAM-1 keine Organprädisposition auf und findet

sich ubiquitär im Organismus (Picker et al. 1991). Ein im Rahmen einer Psoriasis erhöhter ICAM-1 Spiegel kann sich somit neben der Haut auch an anderen Organen auswirken.

Die Rolle des ICAM-1 bei den unter Syndrom X zusammen gefaßten Erkrankungen war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen der letzten Jahre. In einer kürzlich veröffentlichten Studie konnten Zeisler und Mitarbeiter eine signifikante Erhöhung des s-ICAM-1 Spiegels bei Patientinnen mit Schwangerschaft induzierter Hypertonie gegenüber Kontrollen feststellen. Es bestand dabei ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe des s-ICAM-1 Spiegels und der Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung einer Schwangerschaft induzierten Hypertonie (Zeisler et al. 2001).

Eine Studie der jüngsten Vergangenheit befaßt sich mit der Rolle des ICAM-1 bei der Entstehung von Diabetes im Tierversuch. Martin und Mitarbeiter arbeiteten in dieser Untersuchung mit NOD Mäusen. NOD (Non obese Diabetes) Mäuse leiden an Diabetes Typ I und dienen als Modell für den menschlichen insulinabhängigen Diabetes mellitus. Sie sind als zufällige Mutation in den siebziger Jahren entstanden und durch Inzuchtverfahren weiterentwickelt worden. Martin und Mitarbeiter schalteten bei diesen NOD Mäusen das ICAM-1 Gen aus, worauf hin keines der Tiere einen Diabetes entwickelte. Wurde nur eines der ICAM-1 Allele ausgeschaltet entwickelten 44 % der Mäuse Krankheitssymptome. Bei den Mäusen mit intakten ICAM-1 manifestierte sich bei 64 % ein Diabetes (Martin et al. 2001). Dies zeigt, daß sich die Krankheit Diabetes im Tiermodell in Abhängigkeit von der Gendosis des ICAM 1 entwickelt.

Eine Untersuchung von Nishimura an 164 japanischen Typ I Diabetikern konnte einen signifikanten Unterschied der Verteilung des K/E 469 Polymorphismus im ICAM-1 bei adult-onset Typ I Diabetikern zu Kontrollen nachweisen. Ebenso bestand ein Transmission Disequilibrium bei adult-onset zu young-onset Typ I Diabetikern. Unterschiede in der

Transmission zwischen young-onset Typ I Diabetikern und Kontrollen konnten dagegen nicht nachgewiesen werden (Nishimura et al. 2000). Die Autoren schlossen daraus einen Effekt des K/E 469 Polymorphismus im ICAM-1 auf das age of onset beim Typ I Diabetes. Eine ähnlich angelegte Studie von Nejentsev mit 218 finnischen Typ I Diabetikern ergab keinerlei Assoziation des K/E 469 Polymorphismus mit der Krankheit. Unter Verwendung des TDT ergab sich bei der Untersuchung von 102 finnischen Familien eine Transmissionsrate der Allele von 50% (Nejentsev et al. 2000). In einem dänischen Patientenkollektiv mit 253 Typ I Diabetikern konnte ebenfalls unter Verwendung des TDT keine Assoziation des K/E Polymorphismus mit der Krankheit nachgewiesen werden (Kristiansen et al. 2000). Anhand dieser unterschiedlichen Ergebnisse bei annähernd identischem Studiendesign ist eine ethnische Komponente bei Assoziationsuntersuchungen der ICAM-1 Polymorphismen mit einer Krankheit möglich.

In unserer Arbeit rekrutiert sich das Patientenkollektiv ausschließlich aus deutschen Psoriatikern und ihren Familienangehörigen. Eine fehlende Assoziation in diesem Patientenkollektiv konnte gezeigt werden, was eine Assoziation in anderen Populationen aber keineswegs ausschließt.

Gerade durch Arbeiten der jüngeren Vergangenheit rückt die Bedeutung des ICAM-1 im Zusammenhang mit der Psoriasis wieder in den Vordergrund. In einem Genome Scan an einer großen Zahl von Psoriasis Multiplex-Familien konnte ein Genlokus für Psoriasis auf dem Chromosom 19p13 gefunden werden (Lee et al. 2000). Dieser Befund war unter anderem der Anlaß zu den vorliegenden Untersuchungen. Aus positioneller Sicht könnten auch die anderen ICAM Gene von Interesse sein. So befindet sich ICAM3 ebenso wie ICAM-1 auf dem Abschnitt 19p 13.3-p13.2 des Chromosoms 19. Es ist möglicherweise der wichtigste Ligand für LFA-1 zu Beginn einer Immunantwort. Während ICAM-1 im Bereich statthabender Entzündungen hochreguliert wird, konnte gezeigt werden, daß ruhende, nicht aktivierte Leukozyten lediglich geringe Mengen an ICAM-1 exprimieren. Im Ruhezustand der Leukozyten wird vorwiegend

ICAM-3 exprimiert (Fawcett et al. 1992). Es liegen auch Untersuchungen über die Bedeutung des ICAM-3 im Rahmen der Psoriasis vor. So konnten Griffiths und Mitarbeiter zeigen, daß die s-ICAM-3 Werte, ebenso wie die s-ICAM-1 Werte, bei Psoriatikern im Vergleich zu Kontrollen deutlich erhöht waren. Es fand sich in dieser Arbeit eine Korrelation der s-ICAM-3 Werte mit dem PASI Score (Griffiths et al. 1996).

Ein weiteres, in unmittelbarer Nachbarschaft zu ICAM-1 und ICAM3 liegendes Adhäsionsmolekül, ist das ICAM5. Es konnte einer 80-kb Region auf Chromosom 19p13.2 zugeordnet werden. Es wird ausschließlich auf Neuronen im Bereich des Telencephalons exprimiert, eine funktionelle Bedeutung in der Pathogenese der Psoriasis ist daher nicht zu erwarten (Kilgannon et al. 1998).

Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse schließen nicht aus, daß andere Polymorphismen im ICAM-1 Gen mit der Psoriasis assoziiert sind. ICAM 1 bleibt ein interessanter Kandidat sowohl aus funktioneller wie auch aus positioneller Sicht.

8 Lebenslauf

Name:	Gerhard Friedl
Alter:	34 Jahre
Geburtsdatum:	13.01.69
Geburtsort:	München
Staatsbürgerschaft:	Deutsch
Konfession:	Katholisch
Adresse:	Landsbergerstr.28, 82256 Fürstenfeldbruck
Schulausbildung:	Grundschule am Niederbronnerweg (1975-1979) Graf-Rasso-Gymnasium (1979-89) Abitur (06.89)
Zivildienst:	Kinderhilfe e.V. Fürstenfeldbruck (12.89-2.91)
Studium:	
04.1992	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig Maximilian Universität München
03.1994:	Physikum
03.1995:	1.Staatsexamen
08.1997:	2.Staatsexamen
09.1997-09.1998:	Experimentelle Arbeiten zu der Dissertationsschrift `Genetische Untersuchungen der ICAM-1 Polymorphismen bei Psoriasis´ an der Univ. Hautklinik Münster und am Institut für Humangenetik der Charité in Berlin
10.1998- 02.1999	Praktisches Jahr: Urologie Bundeswehrkrankenhaus Berlin

02.1999- 06.1999	Praktisches Jahr: Chirurgie Krankenhaus Moabit Berlin
06.1999- 10.1999	Praktisches Jahr: Innere Krankenhaus Moabit Berlin
14.10.1999	3. Staatsexamen Gesamtnote: gut
04.2000- 9.2001	AiP Unfallchirurgie Kreisklinikum Fürstfeldbruck
10.2001-11.2002	Assistenzarzt Unfallchirurgie Kreisklinikum Fürstfeldbruck
12.2002- dato	Assistenzarzt Chirurgie UNIKOM Um Qasar

9 Literaturverzeichnis

- Aggarwal, B. B. and K. Natarajan (1996). "Tumor necrosis factors: developments during the last decade." *Eur Cytokine Netw* **7**(2): 93-124.
- Amoli, M. M., E. Shelley, D. L. Matthey, C. Garcia-Porrua, W. Thomson, A. H. Hajeer, W. E. Ollier and M. A. Gonzalez-Gay (2002). "Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in isolated polymyalgia rheumatica." *J Rheumatol* **29**(3): 502-4.
- Baker BS, S. A., Fry L, Valdimarsson H. (1984). "Epidermal T lymphocytes and HLA-DR expression in psoriasis." *Br J Dermatol*. **110**(5): :555-64.
- Barker, J. N., V. Sarma, R. S. Mitra, V. M. Dixit and B. J. Nickoloff (1990). "Marked synergism between tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in regulation of keratinocyte-derived adhesion molecules and chemotactic factors." *J Clin Invest* **85**(2): 605-8.
- Berti, E., A. Cerri, A. V. Marzano, R. Richelda, B. Bianchi and R. Caputo (1998). "Mometasone furoate decreases adhesion molecule expression in psoriasis." *Eur J Dermatol* **8**(6): 421-6.
- Beutner, E. H. (1982). "Autoimmunity in Psoriasis." *CRC Press*.
- Bjerke, J. R., H. K. Krogh and R. Matre (1978). "Characterization of mononuclear cell infiltrates in psoriatic lesions." *J Invest Dermatol* **71**(5): 340-3.
- Bos, J. D. (1999). "The pathogenesis of psoriasis immunological facts and speculations." *Immunology today* **20**: 40-46.
- Bos, J. D., M. M. Meinardi, T. van Joost, F. Heule, A. V. Powles and L. Fry (1989). "Use of cyclosporin in psoriasis [see comments]." *Lancet* **2**(8678-8679): 1500-2.
- Brandrup, F. (1984). "Psoriasis in first-degree relatives of psoriatic twins." *Acta Derm Venereol*(64(3)): 220-6.
- Braun-Falco O., P. G., Wolff HH., and W. RK.: (1991). *Dermatology*.
- Celsus (25 v. Chr- 45 n. Chr). *De re medica*.
- Christophers, E. and T. Henseler (1989). "Patient subgroups and the inflammatory pattern in psoriasis." *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*(151()): 88-92; discussion 106-10.
- Craig, A., D. Fernandez-Reyes, M. Mesri, A. McDowall, D. C. Altieri, N. Hogg and C. Newbold (2000). "A functional analysis of a natural variant of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1Kilifi)." *Hum Mol Genet* **9**(4): 525-30.
- Deloukas, P., G. D. Schuler, G. Gyapay, E. M. Beasley, C. Soderlund, P. Rodriguez-Tome, L. Hui, T. C. Matise, K. B. McKusick, J. S. Beckmann, S. Bentolila, M. Bihoreau, B. B. Birren, J. Browne, A. Butler, A. B. Castle, N. Chiannikulchai, C. Clee, P. J. Day, A. Dehejia, T. Dibling, N. Drouot, S. Duprat, C. Fizames, D. R. Bentley and et al. (1998). "A physical map of 30,000 human genes." *Science* **282**(5389): 744-6.
- Diamond, M. S., D. E. Staunton, S. D. Marlin and T. A. Springer (1991). "Binding of the integrin Mac-1 (CD11b/CD18) to the third immunoglobulin-like domain of ICAM-1 (CD54) and its regulation by glycosylation." *Cell* **65**(6): 961-71.
- Ettehadi, P., M. W. Greaves, D. Wallach, D. Aderka and R. D. Camp (1994). "Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) biological activity in psoriatic skin lesions." *Clin Exp Immunol* **96**(1): 146-51.
- Ewens, W. J. and R. S. Spielman (1995). "The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture." *Am-J-Hum-Genet* **57**(2): 455-64.
- Farber, E. (1972). "The genetics of psoriasis." *JAMA* **219**(8): 1061 passim.

- Farber EM, N. L. (1991). "Epidemiology: natural history and genetics." 2nd ed.New York: Marcel Dekker, Inc: p. 209-58.
- Fawcett, J., C. L. Holness, L. A. Needham, H. Turley, K. C. Gatter, D. Y. Mason and D. L. Simmons (1992). "Molecular cloning of ICAM-3, a third ligand for LFA-1, constitutively expressed on resting leukocytes." Nature **360**(6403): 481-4.
- Fierlbeck, G., G. Rassner and C. Müller (1990). "Psoriasis induced at the injection site of recombinant interferon gamma. Results of immunohistologic investigations [see comments]." Arch Dermatol **126**(3): 351-5.
- Fraki, J. E., G. S. Lazarus, R. S. Gilgor, P. Marchase, K. H. Singer and R. A. Briggaman (1983). "Correlation of epidermal plasminogen activator activity with disease activity in psoriasis Transplantation of psoriatic skin onto nude mice." Br J Dermatol **108**(1): 39-44.
- Gaetani, E., A. Flex, R. Pola, P. Papaleo, D. De Martini, E. Pola, F. Aloï, R. Flore, M. Serricchio, A. Gasbarrini and P. Pola (2002). "The K469E polymorphism of the ICAM-1 gene is a risk factor for peripheral arterial occlusive disease." Blood Coagul Fibrinolysis **13**(6): 483-8.
- Gardembas-Pain M, I. N., Foussard C, Boasson M, Saint Andre JP, Verret JL. (1990). "Psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation." Arch Dermatol. **126**(11): 1523.
- Gottlieb, S. L., P. Gilleaudeau, R. Johnson, L. Estes, T. G. Woodworth, A. B. Gottlieb and J. G. Krueger (1995). "Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis." Nat Med **1**(5): 442-7.
- Griffiths, C. E., M. J. Boffa, W. M. Gallatin and S. Martin (1996). "Elevated levels of circulating intercellular adhesion molecule-3 (cICAM- 3) in Psoriasis." Acta Derm Venereol **76**(1): 2-5.
- Groves, R. W., M. H. Allen, E. L. Ross, J. N. Barker and D. M. MacDonald (1995). "Tumour necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression." Br J Dermatol **132**(3): 345-52.
- Henseler, T. (1997). "The genetics of psoriasis." J-Am-Acad-Dermatol **37**(2 Pt 3): S1-11.
- Henseler, T. and E. Christophers (1995). "Disease concomitance in psoriasis." J Am Acad Dermatol **32**(6): 982-6.
- Horrocks, C., J. I. Duncan, A. M. Oliver and A. W. Thomson (1991). "Adhesion molecule expression in psoriatic skin lesions and the influence of cyclosporin A." Clin Exp Immunol **84**(1): 157-62.
- Horrocks, C., J. I. Duncan, H. F. Sewell, A. D. Ormerod and A. W. Thomson (1990). "Differential effects of cyclosporine A on Langerhans cells and regulatory T-cell populations in severe psoriasis: an immunohistochemical and flow cytometric analysis." J Autoimmun **3**(5): 559-70.
- Hügler, U. (1996). "Untersuchungen des löslichen ICAM-1 und des löslichen CD8 in Familien mit Psoriasis." Dissertation.
- Jeffes, E. W., 3rd, J. L. McCullough, M. R. Pittelkow, A. McCormick, J. Almanzor, G. Liu, M. Dang, K. Voss, J. Voss, A. Schlotzhauer and et al. (1995). "Methotrexate therapy of psoriasis: differential sensitivity of proliferating lymphoid and epithelial cells to the cytotoxic and growth-inhibitory effects of methotrexate." J Invest Dermatol **104**(2): 183-8.
- Jiang, H., R. M. Klein, D. Niederacher, M. Du, R. Marx, M. Horlitz, G. Boerrigter, H. Lapp, T. Scheffold, I. Krakau and H. Gulker (2002). "C/T polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene (exon 6, codon 469). A risk factor for coronary heart disease and myocardial infarction." Int J Cardiol **84**(2-3): 171-7.

- Kamiuchi, K., G. Hasegawa, H. Obayashi, A. Kitamura, M. Ishii, M. Yano, T. Kanatsuna, T. Yoshikawa and N. Nakamura (2002). "Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Type 2 diabetes mellitus." *Diabet Med* **19**(5): 371-6.
- Kilgannon, P., T. Turner, J. Meyer, W. Wisdom and W. M. Gallatin (1998). "Mapping of the ICAM-5 (telencephalin) gene, a neuronal member of the ICAM family, to a location between ICAM-1 and ICAM-3 on human chromosome 19p13.2." *Genomics* **54**(2): 328-30.
- Komatsu, S., S. Flores, M. E. Gerritsen, D. C. Anderson and D. N. Granger (1997). "Differential up-regulation of circulating soluble and endothelial cell intercellular adhesion molecule-1 in mice." *Am J Pathol* **151**(1): 205-14.
- Kowalzik, L., H. Bildau, K. Neuber, I. Kohler and J. Ring (1993). "Clinical improvement in psoriasis during dithranol/UVB therapy does not correspond with a decrease in elevated serum soluble ICAM-1 levels [see comments]." *Arch Dermatol Res* **285**(4): 233-5.
- Kowalzik, L., H. Bildau, K. Neuber, I. Köhler and J. Ring (1993). "Clinical improvement in psoriasis during dithranol/UVB therapy does not correspond with a decrease in elevated serum soluble ICAM-1 levels [see comments]." *Arch Dermatol Res*(285(4)): 233-5.
- Krasowska, D., G. Chodorowska, M. Koziol and D. Czelej (2000). "Plasma levels of sICAM-1 in patients affected by psoriasis: no relation to disease severity." *Med Sci Monit* **6**(2): 353-5.
- Kristiansen, O. P., R. L. Nolsoe, H. Holst, S. Reker, Z. M. Larsen, J. Johannesen, J. Nerup, F. Pociot and T. Mandrup-Poulsen (2000). "The intercellular adhesion molecule-1 K469E polymorphism in type 1 diabetes." *Immunogenetics* **52**(1-2): 107-11.
- Lee, R. E., A. A. Gaspari, M. T. Lotze, A. E. Chang and S. A. Rosenberg (1988). "Interleukin 2 and psoriasis." *Arch Dermatol* **124**(12): 1811-5.
- Lee, Y. A., F. Ruschendorf, C. Windemuth, M. Schmitt-Egenolf, A. Stadelmann, G. Nurnberg, M. Stander, T. F. Wienker, A. Reis and H. Traupe (2000). "Genomewide scan in german families reveals evidence for a novel psoriasis-susceptibility locus on chromosome 19p13." *Am J Hum Genet* **67**(4): 1020-4.
- Lever WF., S.-L. G. (1989). "Psoriasis." *In: Histopathology of the skin.*: 156-164.
- Lomholt (1963). "Psoriasis. Prevalence, spontaneous course and genetics: a census study on the prevalence of skindiseases on the Faroe Islands." *G E C Gad*.
- Marlin, S. D., D. E. Staunton, T. A. Springer, C. Stratowa, W. Sommergruber and V. J. Merluzzi (1990). "A soluble form of intercellular adhesion molecule-1 inhibits rhinovirus infection." *Nature* **344**(6261): 70-2.
- Martin, S., N. K. van Den Engel, A. Vinke, E. Heidenthal, B. Schulte and H. Kolb (2001). "Dominant role of intercellular adhesion molecule-1 in the pathogenesis of autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice." *J Autoimmun* **17**(2): 109-17.
- Morel, P., J. P. Revillard, J. F. Nicolas, J. Wijdenes, H. Rizova and J. Thivolet (1992). "Anti-CD4 monoclonal antibody therapy in severe psoriasis." *J Autoimmun* **5**(4): 465-77.
- Mycko, M. P., M. Kwinkowski, E. Tronczynska, B. Szymanska and K. W. Selmaj (1998). "Multiple sclerosis: the increased frequency of the ICAM-1 exon 6 gene point mutation genetic type K469." *Ann-Neurol* **44**(1): 70-5.
- Nejentsev, S., A. P. Laine, O. Simell and J. Ilonen (2000). "Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) K469E polymorphism: no association with type 1 diabetes among Finns." *Tissue Antigens* **55**(6): 568-70.
- Nickoloff, B. J. (1988). "Role of interferon-gamma in cutaneous trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular adhesion events." *Arch Dermatol* **124**(12): 1835-43.

- Nickoloff, B. J. (1991). "The cytokine network in psoriasis [editorial; comment]." Arch Dermatol **127**(6): 871-84.
- Nickoloff, B. J. and T. Wrono-Smith (1999). "Injection of pre-psoriatic skin with CD4+ T cells induces psoriasis." Am J Pathol **155**(1): 145-58.
- Nishimura, M., H. Obayashi, E. Maruya, M. Ohta, H. Tegoshi, M. Fukui, G. Hasegawa, H. Shigeta, Y. Kitagawa, K. Nakano, H. Saji and N. Nakamura (2000). "Association between type 1 diabetes age-at-onset and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphism." Hum Immunol **61**(5): 507-10.
- Nyfors, A., P. A. Rasmussen, K. Lemholt and B. Eriksen (1975). "Improvement of refractory psoriasis vulgaris after tonsillectomy
- Psoriasis in children. A short review and a survey of 245 cases." Dermatologica **92**(151(4)): 216-22.
- Palkama, T., M. L. Majuri, P. Mattila, M. Hurme and R. Renkonen (1993). "Regulation of endothelial adhesion molecules by ligands binding to the scavenger receptor." Clin Exp Immunol **92**(2): 353-60.
- Petzelbauer, P., G. Stingl, K. Wolff and B. Volc Platzer (1991). "Cyclosporin A suppresses ICAM-1 expression by papillary endothelium in healing psoriatic plaques [see comments]." J Invest Dermatol **96**(3): 362-9.
- Picker, L. J., T. K. Kishimoto, C. W. Smith, R. A. Warnock and E. C. Butcher (1991). "ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells." Nature **349**(6312): 796-9.
- Rothlein, R., E. A. Mainolfi, M. Czajkowski and S. D. Marlin (1991). "A form of circulating ICAM-1 in human serum." J Immunol **147**(11): 3788-93.
- Russell, T. J., L. M. Schultes and D. J. Kuban (1972). "Histocompatibility (HL-A) antigens associated with psoriasis." N-Engl-J-Med **287**(15): 738-40.
- Schlaak, J. F., M. Buslau, W. Jochum, E. Hermann, M. Girndt, H. Gallati, K. H. Meyer zum Buschenfelde and B. Fleischer (1994). "T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset." J Invest Dermatol **102**(2): 145-9.
- Schmitt Egenolf, M., W. H. Boehncke, M. Stander, T. H. Eiermann and W. Sterry (1993). "Oligonucleotide typing reveals association of type I psoriasis with the HLA-DRB1*0701/2, -DQA1*0201, -DQB1*0303 extended haplotype." J-Invest-Dermatol **100**(6): 749-52.
- Schopf, R. E., S. Naumann, M. Rehder and B. Morsches (1993). "Soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in patients with psoriasis." Br J Dermatol **128**(1): 34-7.
- Scott, v., E.J. (1963). "Kinetics of hyperplasia in psoriasis." Arch Dermatol **88**: 373-381.
- Sebok, B., B. Bonnekoh, R. Vetter, I. Schneider, H. Gollnick and G. Mahrle (1998). "The antipsoriatic dimethyl-fumarate suppresses interferon-gamma - induced ICAM-1 and HLA-DR expression on hyperproliferative keratinocytes. Quantification by a culture plate-directed APAAP-ELISA technique." Eur J Dermatol **8**(1): 29-32.
- Spielman, R. S. and W. J. Ewens (1996). "The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association [editorial]." Am-J-Hum-Genet **59**(5): 983-9.
- Spielman, R. S., R. E. McGinnis and W. J. Ewens (1993). "Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)." Am-J-Hum-Genet **52**(3): 506-16.
- Springer, T. (1990). "Adhesion receptors of the immune system." Nature **346**(6283): 425-34.
- Staunton, D. E., S. D. Marlin, C. Stratowa, M. L. Dustin and T. A. Springer (1988). "Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene families." Cell **52**(6): 925-33.
- Tomfohrde, J., A. Silverman, R. Barnes, M. A. Fernandez-Vina, M. Young, D. Lory, L. Morris, K. D. Wuepper, P. Stastny, A. Menter and et al. (1994). "Gene for familial psoriasis

- susceptibility mapped to the distal end of human chromosome 17q." *Science* **264**(5162): 1141-5.
- Traupe, H., P. J. van Gorp, R. Happle, J. Boezeman and P. C. van de Kerkhof (1992). "Psoriasis vulgaris, fetal growth, and genomic imprinting [see comments]." *Am-J-Med-Genet* **42**(5): 649-54 *LHM: Bestand in der Charit, -> siehe Zeitschriftenkatalog! ISSN: 0148-7299.
- Trembath, R. C., R. L. Clough, J. L. Rosbotham, A. B. Jones, R. D. Camp, A. Frodsham, J. Browne, R. Barber, J. Terwilliger, G. M. Lathrop and J. N. Barker (1997). "Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis." *Hum-Mol-Genet* **6**(5): 813-20.
- Urano, R., K. Urano, T. Matsuyama, I. Matsuo and M. Ohkido (1997). "PUVA treatment of human keratinocytes suppresses the surface expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and inhibits adherence of PHA-blasts in vitro." *Tokai J Exp Clin Med* **22**(2): 71-6.
- Uyemura, K., M. Yamamura, D. F. Fivenson, R. L. Modlin and B. J. Nickoloff (1993). "The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response." *J Invest Dermatol* **101**(5): 701-5.
- van de Stolpe, A., E. Caldenhoven, J. A. Raaijmakers, P. T. van der Saag and L. Koenderman (1993). "Glucocorticoid-mediated repression of intercellular adhesion molecule-1 expression in human monocytic and bronchial epithelial cell lines." *Am J Respir Cell Mol Biol* **8**(3): 340-7.
- van de Stolpe, A. and P. T. van der Saag (1996). "Intercellular adhesion molecule-1." *J Mol Med* **74**(1): 13-33.
- Vora, D. K., C. L. Rosenbloom, A. L. Beaudet and R. W. Cottingham (1994). "Polymorphisms and linkage analysis for ICAM-1 and the selectin gene cluster." *Genomics* **21**(3): 473-7.
- Voraberger, G., R. Schafer and C. Stratowa (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**(8): 2777-86.
- Wilkinson, P. C. and I. Newman (1994). "Chemoattractant activity of IL-2 for human lymphocytes: a requirement for the IL-2 receptor beta-chain." *Immunology* **82**(1): 134-9.
- Yang, H., D. K. Vora, S. R. Targan, H. Toyoda, A. L. Beaudet and J. I. Rotter (1995). "Intercellular adhesion molecule 1 gene associations with immunologic subsets of inflammatory bowel disease." *Gastroenterology* **109**(2): 440-8.
- Yokota A, H. M., Nakaseko C, Ishii A, Ikegami T, Kogure K, Nishimura M, Matsuura Y, Morio S, Nakamura H, Oh H, Hiruma K, Asai T, Tanabe E. Related (1996). "[Resolution of psoriasis vulgaris following allogeneic bone marrow transplantation for aplastic anemia]." *Review. Japanese.* **37**(1): 35-9.
- Zeisler, H., J. C. Livingston, C. Schatten, C. Tempfer, M. Knofler and P. Husslein (2001). "Serum levels of adhesion molecules in women with pregnancy-induced hypertension." *Wien Klin Wochenschr* **113**(15-16): 588-92.