

# Berlin Immunology Day

organized by RCIS

Thursday November 20th, 2008, 09.00 – 18.00 h  
(CCM, Paul Ehrlich-Hörsaal)

# Berlin Immunology Day

organized by RCIS

## Program

Time	Speaker	Title of Presentation
09:00 – 09:15	A. Hamann	Welcome
<b>Block 1 – Immunobiology and Autoimmunity - chaired by G.-R. Burmester and A. Hamann</b>		
09:15 – 09:45	G. Burmester	Biologics in the clinic – where we stand
09:45 – 10:00	K. Wolk (AG Sabat)	Biology of IL-22
10:00 – 10:15	R. Glauben (AG Siegmund)	The impact of HDAC inhibition on CD4+ T cells
10:15 – 10:30	K. Neumann (AG Klugewitz)	Endothelial chemokine presentation as therapeutic target in murine T-cell-mediated hepatitis
10:30 – 10:50	<b>Coffee Break</b>	
10:50 – 11:05	R. Manz (DRFZ)	Megakaryocytes constitute an essential component of the survival niche for long-lived plasma cells
11:05 – 11:20	A. Hauser (DRFZ)	Multiphoton Microscopy-visualizing immune reactions <i>in vivo</i>
11:20 – 11:35	A. Hutloff (RKI)	How T and B cells talk to each other
11:35 – 11:50	A. Hegazy (AG Löhning)	Stability and flexibility of CD4 T cell differentiation programs <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>
11:50 – 12:05	B. Maier (AG Kramer)	A circadian clock in the immune system
12:05 – 12:30	A. Hamann	Meeting of members RCIS
12:30 - 14:30	<b>Lunch and Poster Presentation Foyer DRFZ</b>	

Program continued on Thursday, November 20<sup>th</sup>, 2008, 09.00 – 18.00 h

<b>Time</b>	<b>Speaker</b>	<b>Title of Presentation</b>
<b>Block 2 – Immunomodulation - chaired by H.-D. Volk</b>		
<b>14:30 – 15:00</b>	<b>D. Volk</b>	<b>Immunomodulatory cell therapy – from bench to bedside</b>
<b>15:00 – 15:15</b>	H. Appel (AG Sieper)	Regulatory and effector T cells in different chronic arthritides
<b>15:15 – 15:30</b>	K. Kapp (AG Duchmann)	Oral antigen modulates subsequently induced systemic antigen specific immune responses in humans
<b>15:30 – 15:45</b>	S. Rausch (AG Hartmann)	Role of regulatory T cells in immunomodulation by parasitic nematodes
<b>15:45 – 16:00</b>	A. Kühl (AG Loddenkemper)	Anti-human CD2 mAb Treatment protects from Colitis in a humanized Animal Model
<b>16:00 – 16:20</b>	<b>Coffee Break</b>	
<b>Block 3 – Protective Effector Intervention – chaired by W. Uckert</b>		
<b>16:20 – 16:50</b>	<b>W. Uckert</b>	<b>T cell engineering for adoptive therapy</b>
<b>16:50 – 17:05</b>	C. Scheibenbogen (AG Scheibenbogen)	The WT1 regulator PAX2 as tumor rejection antigen
<b>17:05 – 17:20</b>	L. Uharek	Allogeneic NK cells for the treatment of malignant diseases
<b>17:20 – 17:35</b>	G. Willimsky (AG Blankenstein)	Transgenic mice with sporadic immunogenic cancer
<b>17:35 – 17:50</b>	A. Letsch (AG Keilholz/Letsch)	Quality of vaccine-induced WT-1 specific T cell responses in patients with leukaemia and solid cancer

## Inhaltsverzeichnis Arbeitsgruppen (alphabetisch nach AG-Leiter)

1. ....Baldus, Claudia .....	5
2. ....Dörner, Andrea .....	7
3. ....Fechner, Henry .....	9
4. ....Geginat, Jens .....	12
5. ....Gerbitz, Armin.....	14
6. ....Giet van der, Markus .....	16
7. ....Grabowski, Patricia.....	18
8. ....Hamann, Alf.....	21
9. ....Hanski, Christoph .....	24
10. ..Keilholz, Ulrich.....	26
11. ..Klugewitz, Katja .....	30
12. ..Kramer, Achim.....	34
13. ..Loddenkemper, Christoph .....	36
14. ..Or-Guil, Michal.....	38
15. ..Pels, Klaus.....	40
16. ..Poller, Wolfgang .....	42
17. ..Scheibenbogen, Carmen.....	44
18. ..Sheriff, Ahmed.....	46
19. ..Siegmund, Britta .....	48
20. ..Sieper, Joachim.....	50
21. ..Volkmer, Rudolf.....	53
Kontakt .....	55

**Arbeitsgruppenleiterin:**

Priv. Doz. Dr. med. Claudia D. Baldus  
Charité, Campus Benjamin Franklin  
Medizinische Klinik III  
Hämatologie, Onkologie und Transfusionsmedizin  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin, Germany  
Phone: +49-30-8445-4922/2337  
Fax: +49-30-8445-4468  
email: claudia.baldus@charite.de

**Genutzte Räume**

TDH Räume: 205, 206

**Mitarbeiter:**

Ebru Coksun	(Diplom Biologin)
Sandra Heesch	(Diplom Pharmazeutin)
Liliana Mochmann	(Diplom Biologin)
Cornelia Schlee	(Biotechnologin)
Jutta Ortiz Sanchez	(Biotechnologin)
Juliane Bock	(Medizindoktorandin)
Dr. med. Andrea Kühnl	(wissenschaftliche Mitarbeiterin)

**Forschungsgebiet:**

Im Mittelpunkt der Arbeiten stehen die Untersuchungen zur Identifizierung von neuen molekularen Risikofaktoren bei der akuten Leukämie und die Charakterisierung der biologischen Bedeutung dieser neuen Kandidatengenen in der Hämatopoese und Leukämogenese. Insbesondere wird die Funktion des ETS Transkriptionsfaktors *ERG* in der Hämatopoese und bei akuten Leukämien untersucht. Es wird die Expression von verschiedenen und neuen *ERG* Isoformen, die epigenetische Expressionsmodulation, die Regulation durch miRNAs und das Expressionverhalten von *ERG* während der T-Zell Differenzierung untersucht. Zudem werden durch *ERG* regulierte Zielgene mittels eines Chip-on-Chip Ansatzes identifiziert. Ein weiteres Projekt befasst sich mit dem Gen *BAALC* (*brain and akute leukemia cytoplasmic*), welches - wie *ERG* - einen prognostischen Risikofaktor bei akuten Leukämien darstellt. *In-Vitro* Zytotoxizitätsassays untersuchen die *BAALC* vermittelte Zytostatikaresistenz. Ziel der Arbeiten ist die Analyse der molekularen Mechanismen dieser neuen prognostischen Risikofaktoren. Hieraus sollen nicht nur optimierte risikoadaptierte Therapiekonzepte abgeleitet werden, sondern diese werden auch Einblicke in die Regulation dieser Kandidatengene erlauben, um so Targets und Pathways als Angriffspunkte für neue therapeutische Konzepte offen zu legen.

**Publikationen:**

- Baldus CD**, Bullinger L. Gene expression with prognostic implications in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Semin Oncol.* 2008;35:356-64.
- Baldus CD**, Martus P, Burmeister T, Schwartz S, Gökbüget N, Bloomfield CD, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. Low *ERG* and *BAALC* expression identifies a new subgroup of adult acute T-lymphoblastic leukemia with a highly favorable outcome. *J Clin Oncol.* 2007;25:3739-3745 **11.81**
- Baldus CD**, Burmeister T, Martus P, Schwartz S, Gökbüget N, Bloomfield CD, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. High expression of the ETS transcription factor *ERG* predicts adverse outcome in acute T-lymphoblastic leukemia in adults. *J Clin Oncol.* 2006;24:4714-4720. **11.81**
- Baldus CD\***, Thiede C\*, Soucek S, Bloomfield CD, Thiel E, Ehninger G. BAALC expression and FLT3 internal tandem duplication mutations in acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: prognostic implications. *J Clin Oncol.* 2006;24:790-797(\*authors contributed equally) **11.81**
- Marcucci G\*, **Baldus CD\***, Ruppert AS, Radmacher MD, Mrozek K, Whitman SP, Kolitz JE, Edwards CG, Vardiman JW, Powell BL, Baer MR, Moore JO, Perrotti D, Caligiuri MA, Carroll AJ, Larson RA, de la Chapelle A, Bloomfield CD. Overexpression of the ETS Transcription Factor *ERG* Predicts a worse Outcome in Acute Myeloid Leukemia with Normal Karyotype: A Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol.* 2005;23:9234-42. (\*authors contributed equally) **11.81**
- Baldus CD**, Liyanarachchi S, Mrozek K, Auer H, Tanner SM, Guimond M, Ruppert AS, Mohamed N, Davuluri RV, Caligiuri MA, Bloomfield CD, de la Chapelle A. Acute myeloid leukemia with complex karyotypes and abnormal chromosome 21: Amplification discloses overexpression of *APP*, *ETS2*, and *ERG* genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:3915-3920. **10.45**

**Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte**

- ab 01/2005      Max-Eder-Nachwuchsförderung der Deutschen Krebshilfe  
**Bedeutung der Chromosom 21 Gene *APP*, *ERG* und *ETS* für die Leukämogenese.**  
 Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie/Transfusionsmedizin  
 Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 206**
- ab 02/2006      Einzelförderung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft - DFG  
**Biologische Bedeutung des Gens *BAALC* in der Hämatopoese und Leukämogenese.**  
 Medizinische Klinik III, Hämatologie/Onkologie/Transfusionsmedizin  
 Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**

**Pathophysiologische Veränderungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels bei inflammatorischer Kardiomyopathie****Arbeitsgruppenleiterin**

Dr.rer.nat Andrea Dörner  
Centrum 11, Campus Benjamin Franklin  
Kardiologie und Pneumologie  
Tel.: 8445 4577/4346; Fax: 8445 4648  
[Andrea.doerner@charite.de](mailto:Andrea.doerner@charite.de)

**Genutzter Raum**

Tibor-Diamantstein-Haus, Raum 209

**Mitarbeiter**

Linda Ebermann (Biologische Doktorandin)  
Inga Vogelpohl (Biologische Doktorandin)  
Sabine Knüppel (Technische Assistentin)  
Matthias Augustin-Goncalves (Medizinischer Doktorand)  
Sylwia Wika (Medizinische Doktorandin)



A.Dörner

L.Ebermann

I.Vogelpohl

M.Augustin-Goncalves

S.Wika

S.Knüppel

**Forschungsgebiet:**

Die Dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist eine Herzmuskelerkrankung, die durch eine Einschränkung der links- und rechtsventrikulären Funktion bei gleichzeitiger Dilatation der Ventrikel charakterisiert ist. Zahlreiche Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Virusätiologie und ein chronischer Entzündungsprozess (Inflammatorische Kardiomyopathie) eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der DCM spielen. Neben den klassischen Myokarditisviren (Coxsackie- und Adenoviren) können offenbar auch andere Viren (z.B. Parvovirus B19, Humanes Herpesvirus Typ 6) nicht nur eine Myokarditis auslösen, sondern auch im Myokard persistieren. Neben der Schädigung des Herzgewebes durch virale Replikation und (auto)-immunologische Mechanismen führen vor allem intrazelluläre Veränderungen langfristig zur Störung der myokardialen Pumpfunktion. Mittels molekularbiologischer, biochemischer und immunologischer Techniken analysieren wir daher veränderte intrazelluläre Stoffwechselprozesse insuffizienter Herzen von Patienten mit Inflammatorischer Kardiomyopathie

Insbesondere tragen mitochondriale Fehlfunktionen und eine damit verbundene Unterversorgung mit Energie maßgeblich zur Pathophysiologie und Progression der inflammatorischen Kardiomyopathie bei. Ein Schwerpunkt unserer Arbeit liegt daher in der Analyse des bei inflammatorischer Kardiomyopathie gestörten Energiestoffwechsels. Hierbei steht ein mitochondrialer Carrier, der Adeninnukleotid-Translokator (ANT), der ADP und ATP über die innere mitochondriale Membran transportiert und bei diesem Krankheitsbild als Autoantigen beschrieben werden konnte, im Zentrum unseres Interesses. Anhand von humanem Herzgewebe und Tiermodellen der CVB3-induzierten Myokarditis, analysieren wir die für eine Enterovirusinfektion und kardiale Entzündung spezifische Expressionsveränderung der ANT-Isoformen und die dadurch beeinflussten Prozesse, wie Energie gewinnende und weiterleitende Vorgänge, Apoptose und oxidativen Stress. In unseren

laufenden Studien konnte ein signifikanter Einfluss verschiedener Cytokine auf diese Prozesse gezeigt werden.

Die Generierung eines ANT1-transgenen Rattenmodells und deren Analyse unter basalen und myopathophysiologischen Bedingungen liefern prägnante Hinweise, die Mitochondrien und im Speziellen den ANT als interessanten Ansatzpunkt für therapeutische Analysen zu werten. Ziel ist es daher die Regelmechanismen der ANT-Expression und die damit verbundenen mitochondrialen Veränderungen vertiefend zu analysieren und therapeutisch zu nutzen.

Des Weiteren forschen wir an der Hemmung der Coxsackievirus B3-induzierten myokardialen Inflammation. Nach unserer Identifizierung von löslichen Formen des Coxsackie-Adenovirus-Rezeptors arbeiten wir kooperierend an deren therapeutischer Verwendung als antivirales Agens.

### Multi-User-Geräte

Inkubator für Bakterienkulturen, Fluoreszenz-Inversmikroskop, Realtime-PCR

### Spezielle Techniken

Myokarditis-Tiermodelle, CVB3-Infektionen, Expression von Proteinen im bakteriellen System, Mitochondrienanalysen u.a.

### Publikationen:

Antoniak S, Boltzen U, Riad A, Kallwellis-Opara A, Rohde M, **Dörner A**, Tschöpe C, Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss HP, Rauch U. (2008) Viral myocarditis and coagulopathy: increased tissue factor expression and plasma thrombogenicity. *J Mol Cell Cardiol* 45(1):118-26. **IP 5,2**

Lim BK\*, Xiong D\*, **Dörner A\***, Youn TJ, Yung A, Liu TI, Gu Y, Dalton ND, Wright AT, Evans SM, Chen J, Peterson KL, McCulloch AD, Yajima T, Knowlton KU.(2008) Coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) mediates atrioventricular-node function and connexin 45 localization in the murine heart. *J Clin Invest* 118(8):2758-70. **author contributed equally to the study IP 16,9**

Walther T, Tschöpe C, Sterner-Kock A, Westermann D, Heringer-Walther S, Riad A, Nikolic A, Wang Y, Ebermann L, Siems WE, Bader M, Shakibaei M, Schultheiss HP, **Dörner A**. (2007) Accelerated mitochondrial ADP/ATP transport improves hypertension-induced heart disease. *Circulation* 115(3):333-44. **IP 11,2**

Yajima T, Yasukawa H, Jeon ES, Xiong D, **Dörner A**, Iwatate M, Summers-Torres D, Jaiswal N, Hoshijima M, Chien KR, Yoshimura A, Knowlton KU. (2006) An interferon-independent innate defense mechanism against virus infection within the cardiac myocytes requiring gp130-STAT3 signaling. *Circulation* 114(22):2364-73 **IP 11,2**

**Dörner A**, Grunert HP, Lindig V, Chandrasekharan K, Fechner H, **Pauschinger M**, Zeichhardt HP, Schultheiss HP. (2006) Treatment of Coxsackievirus B3 infected Balb/c mice with the soluble Coxsackie Adenovirus Receptor CAR4/7 aggravates cardiac injury. *J Mol Med* 84(10):842-51. **IP 4,7**

**Dörner A**, Xiong D, Couch K, Yajima T, Knowlton KU. (2004) Alternatively spliced soluble coxsackie-adenovirus-receptors inhibit coxsackievirus infection. *J Biol Chem* 279(18):18497-503. **IP 6,2**

Xiong D, Lee GH, Badorff C, **Dörner A**, Lee S, Wolf P, Knowlton KU. (2002). Dystrophin deficiency markedly increases enterovirus-induced cardiomyopathy: A genetic predisposition to viral heart disease. *Nat Med* 8(8):872-7 **IP 28,9**

Piper C, Bilger J, Henrichs EM, Schultheiss HP, Horstkotte D, **Doerner A**. (2000) Is myocardial Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger transcription a marker for different stages of myocardial dysfunction? Quantitative PCR of the messenger RNA in endomyocardial biopsies of patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 36(1):233-41 **IP 9,2**

**Dörner A**, **Pauschinger M**, Kühl U, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP. (2000) The shift in the myocardial adenine nucleotide translocator isoform expression pattern is associated with enteroviral infection in the absence of an active T-cell dependent immune response in human inflammatory heart disease. *J Am Coll Cardiol* 35(7):1778-84 **IP 9,2**

### Forschungsförderung

Promotionsstipendium für Frau Linda.Ebermann, Freie Universität Berlin 5/2006-10/2008

DFG- Einzelprojekt DO 783/2-1: 12/2007-6/2008

SFB-Projekt C7, Transregio 19: 7/2008 -6/2012

**Arbeitsgruppenleiter**

Dr. med. vet. Henry Fechner  
 Charité - Universitätsmedizin Berlin  
 Department of Cardiology & Pneumology  
 Tibor-Diamantstein-Haus R 105/106  
 Hindenburgdamm 30  
 12200 Berlin  
 Germany  
 Tel. +49 30 84454527/4346  
 Fax. +49 30 84454582  
 E-mail: henry.fechner@charite.de

**Genutzter Raum :**

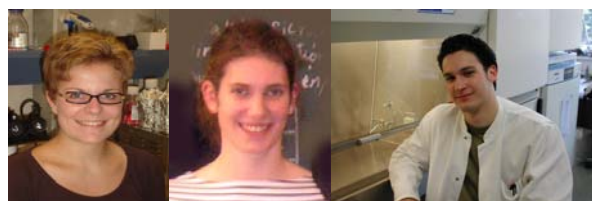
Tibor-Diamantstein-Haus, Raum 105/106/121 (Mitnutzung mit AG Poller)

**Mitarbeiter:**

Dr. rer. nat. Lothar Fecker (wissenschaftlicher Mitarbeiter, gemeinsam mit AG Eberle),  
 Sandra Pinkert (Biologische Doktorandin)  
 Tobias Grössl (Biologischer Doktorand)  
 Tanja Pozzuto (Biologische Doktorandin)  
 Anja Geisler (Biologische Doktorandin)  
 Christina Schwer (Medizinische Technische Assistentin) (gemeinsam mit AG Vetter)  
 Xiaomin Wang (Medizinische Technische Assistentin) (gemeinsam mit AG Poller)  
 Anne Eckstein (Medizinische Doktorandin)  
 Christopher Schemmler (Medizinischer Doktorand)



**H. Fechner   L. Fecker   S. Pinkert   T. Grössl   T. Pozutto   A. Geißler   X. Wang**



**C. Schwer   A. Eckstein   C. Schwemmler**

**Forschungsgebiet:**

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit neuen gentherapeutischen Konzepten für die Behandlung von kardiovaskulären und Tumorerkrankungen und mit der Erforschung von Virus-Rezeptor-Interaktionen und ihrer Bedeutung für virale Infektionen.

**Schwerpunkte unserer gegenwärtigen Arbeit sind**

- (1) die Entwicklung von gentherapeutischen Strategien zur Behandlung viraler Herzerkrankungen. Dazu zählen die Entwicklung von Adeno-assoziierten-Virus-(AAV) und adenoviralen Vektoren, welche small hairpin (sh) RNAs und micro-RNA basierte siRNAs (miRNAs) exprimieren, mit denen spezifische Targetgene von Viren und deren Rezeptoren herunter reguliert werden. Weiterhin werden virale Vektoren entwickelt, die lösliche Rezeptorproteine exprimieren, welche die Interaktion des Virus mit seinen zellulären Rezeptoren blockieren. Ziel dieser Untersuchungen ist es, Strategien zu entwickeln, mit denen virale Infektionen des Herzens in Zukunft besser behandelt werden können. Die Untersuchungen werden für die Behandlung von Coxsackie-, Adenovirus- und Parvovirus-Infektionen der Herzens durchgeführt und beinhalten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* Studien.
- (2) die Entwicklung von gentherapeutischen Strategien zur Behandlung der Herzinsuffizienz. Hierbei werden AAV und adenovirale Vektoren hergestellt, die shRNA und misRNAs exprimieren, die gegen verschiedene negative Regulatorproteine des intramyokardialen  $Ca^{2+}$  Stoffwechsels gerichtet sind. Ziel ist es, die bei der Herzinsuffizienz vorhandene Störung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Homöostase zu normalisieren, um dadurch eine Verbesserung der hämodynamischen Parameter des insuffizienten Herzens zu erzielen.
- (3) neue gentherapeutische Strategien für die Behandlung von Tumorerkrankungen zu entwickeln. Fokussiert wird dabei an der Entwicklung onkolytischer Adenovektoren gearbeitet, die durch zusätzliche Expression tumortoxischer Transgene eine erhöhte antitumorale Wirksamkeit aufweisen. Es werden *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen an Lungentumormodellen und Modellen des malignen Melanoms durchgeführt
- (4) die Herstellung neuer viraler Vektoren mit verbesserter Wirksamkeit und Sicherheit, wobei wir uns vor allem auf die Entwicklung pharmakologisch regulierbarer (Tet-On System) Genexpressionsvektoren konzentrieren.
- (5) die Analyse von Mechanismen, die die Infektion endothelialer Zellen mit Parvovirus B19 (B19) beeinflussen. Insbesondere interessieren uns dabei die Virus-Rezeptor-Interaktionen und B19 Latenzmechanismen. Ziel ist es herauszufinden, durch welche Regulationsmechanismen die kardio-endotheliale B19 Infektion beim Menschen beeinflusst wird.

**Multi-User-Geräte:**

S2-Sterilbank, Fluoreszenz-Inversmikroskop, ABI 310 Genetic Analyzer

**Spezielle Techniken**

AAV- und adenovirale Vektortechnologie, pharmakologisch regulierbare Genexpressionssysteme, RNA Interferenztechnologie

**Publikationen:**

**Fechner, H**, Sipo, I, Westermann, D, Pinkert, S, Wang, X, Suckau, L, Kurreck, J, Zeichhardt, H, Muller, OJ, Vetter, R, Tschöpe, C, Poller, W. (2008) Cardiac-targeted RNA interference mediated by an AAV9 vector improves cardiac function in coxsackievirus B3 cardiomyopathy. *J Mol Med.* 86: 987-97. **IP: 4,82**

Skurk C, Wittchen F, Suckau L, Witt H, Noutsias M, **Fechner H**, Schultheiss HP, Poller W. (2008) Description of a local cardiac adiponectin system and its deregulation in dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 29: 1168-80. **IP: 7.924**

**Fechner, H.**, Pinkert, S., Wang, X., Sipo, I., Suckau, L., Sollerbant, K., Zeichhardt, H., Grunert, H.-P., Schultheiss, H.-P., Poller, W. (2007) Coxsackievirus B3 and adenovirus infections of cardiac cells are efficiently inhibited by vector-mediated RNA interference targeting their common receptor. *Gene Ther.* 14: 960-71 **IP: 4,812**

**Fechner, H.**, Suckau, L., Kurreck, J., Sipo, I., Wang, X., Pinkert, S., Loschen, S., Rekitke, J., Weger, S., Dekkers, D., Vetter, R., Erdmann, V.A., Schultheiss, H.-P., Paul, M., Lamers, J., Poller, W. (2007) Highly efficient and specific modulation of cardiac active calcium sequestration by adenovector-based expression of a *short hairpin* RNA targeting phospholamban. *Gene Ther.* 14:211-8 **IP: 4,812**

Sipo, I., **Fechner, H.**, Pinkert, S., Suckau, L., Wang, X., Weger, S., Poller, W. (2007). Differential internalization and nuclear uncoating of self-complementary AAV pseudotype vectors as determinants of cardiac cell transduction. *Gene Ther.*, 14, 1319-29. **IP: 4,812**

**Fechner, H.**, Wang, X., Hurtado Picó, A., Wildner, J., Suckau, L., Pinkert, S., Sipo, I., Weger, S., Poller, W. (2007) A bidirectional Tet-dependent promotor construct regulating the expression of E1A for tight control of oncolytic adenovirus replication. *J. Biotechnol.* 127:560-74. **IP: 2,565**

Sipo I., Wang X., Hurtado Picó A., Suckau L., Weger S., Poller W., **Fechner H** (2006). Tamoxifen-regulated adenoviral E1A chimeras for the control of tumor selective oncolytic adenovirus replication in vitro and in vivo. *Gene Ther.* **13**:173-186. **IP: 4.782**

Hurtado Picó, A., Wang, X., Sipo, I., Siemetzki, U., Eberle J., Poller, W., **Fechner H.** (2005). Viral and nonviral factors causing unspecific replication of tumor- and tissue-specific promotor-dependent oncolytic adenoviruses. *Mol Ther.* **11**, 563-577. **IF: 5.443**

**Fechner, H.**, Wang, X., Srour, M.A., Siemetzki, U., Seltmann, H., Sutter A.P., Scherübl, H., Zouboulis, C.C., Schwaab, R., Hillen, W., Schultheiss, H.-P. and Poller, W. (2003). A tetracycline-dependent transactivator-transrepressor system for tight external control of adenovirus replication and therapeutic transgene expression. *Gene Ther.* **10**, 1680-1690. **IP: 5.293**

**Fechner, H.**, Noutsias, M., Hinze, K., Wang, X., Escher, F., Dekkers, D., Lamers, J.M.J., Vetter, R., Paul, M., Schultheiss, H.-P., Tschoepe, C., and Poller, W. (2003). Regulation of Coxsackie-adenovirus-receptor expression during myocardial tissue formation and repair. *Circulation* **107**, 876-82 **IP: 11,164**

## Forschungsförderung

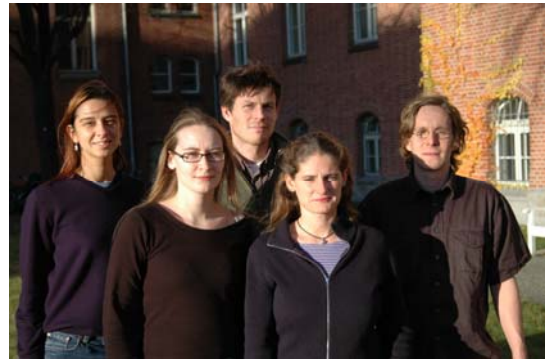
Förderung durch:

1. Deutsche Forschungsgemeinschaft: Az: SFB- Transregio 19 TP A1 „Bedeutung der Parvovirus B19 (PVB19)-Rezeptoren und der B19-Latenz in der Pathogenese der kardioendothelialen B19 Infektion“; Förderungszeitraum 7/2008 bis 6/2012
2. Deutsche Forschungsgemeinschaft: Az: SFB- Transregio 19 TP C1 „RNA Interferenz-vermittelte Ausschaltung negativer SERCA2a-Regulatorproteine zur Verbesserung der Ca<sup>2+</sup> Homöostasis“; Förderungszeitraum 7/2008 bis 6/2012
3. Deutsche Krebshilfe „Entwicklung therapeutischer Ansätze beim Malignen Melanom auf der basis selektiv replizierender Adenovektoren mit induzierbarer Expression von Todesliganden“, Az: 107398; Förderzeitraum: 11/2006-11/2009

\* Alle drei Dittmittelpjekte beschäftigen sich entweder direkt mit der Erforschung von Infektionskrankheiten bzw. sind durch die Verwendung viraler Vektoren damit assoziiert.

**AG Zelluläre Immunologie****Arbeitsgruppenleiter:**

Dr. Jens Geginat  
Junior Group Leader "Cellular Immunology"  
(SFB650) Campus Charite Mitte c/o DRFZ  
Charite Research Center ImmunoSciences  
(RCIS) and German Rheumatology Research  
Center (DRFZ) Chariteplatz 1  
10117 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 28460708  
Fax: ++49 (0)30 28460603  
E-mail: geginat@drfz.de

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 04/014; Mitbenutzung: 04/004,5,7,16,17, 02/023

**Wissenschaftliche Mitarbeiter:**

Dr. Svenja Steinfelder, Doktorandin; Diplomandin: Anja Weick, Technische Assistenz: Bodo Steckel

**Homepage:**

<http://www.drfz.de/index.php?id=zellulaereimmunologi>

**Forschungsgebiet:**

Unser Forschungsschwerpunkt ist die Bildung und Funktion von verschiedenen Typen von humanen Gedächtnis T-Lymphozyten. Die antigen-induzierte Aktivierung von reifen T-Zellen kann unterschiedliche Konsequenzen haben, die vom Zelltod über Bildung von regulatorischen T-Zellen bis zur Differenzierung von Effektor- Gedächtnis- und regulatorischen Zellen reichen.

**Forschungsprojekte:**

Regulatorische T-Zellen kontrollieren Autoimmunreaktionen und können bei der T-Zellreifung im Thymus („natürliche“) oder bei der T-Zellaktivierung in der Peripherie („adaptive“) gebildet werden. Wir wollen untersuchen wie humane CD4 T-Zellen bei tolerogener Aktivierung zu regulatorischen oder Gedächtnis T-Zellen differenzieren. Ein Ziel ist es dabei Oberflächenmarker zu charakterisieren, die im humanen Blut neue Typen von antigen-erfahrenen CD4 T-Zellen mit regulatorischem Potential identifizieren. Außerdem wollen wir dendritische T zellen identifizieren, die regulatorische T zellen induzieren können.

**Multi-User-Geräte:**

Automacs, FACS Canto

**Publikationen:**

1. **L. Lozza, L. Rivino**, G. Guarda, D. Jarossay, A. Rinaldi, F. Bertoni, F. Sallusto, A. Lanzavecchia and **J. Geginat**. The strength of T cell stimulation determines IL-7 responsiveness, recall potential and lineage commitment of primed human CD4<sup>+</sup>IL-7R<sup>hi</sup> T cells. *European Journal of Immunology* (IF:5), 2008 38(1):30-39
2. E. V. Acosta-Rodriguez, **L. Rivino, J. Geginat**, D. Jarossay, M. Gattorno, A. Lanzavecchia, F. Sallusto and G. Napolitano. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17–producing T helper memory cells *Nature Immunology* (IF: 28) 2007, 8(6):639-646

3. **L. Rivino**, M. Messi, D. Jarrossay, Antonio Lanzavecchia, Federica Sallusto and **J. Geginat**. Chemokine receptor expression identifies pre-Th1, pre-Th2 and non-polarized cells among human CD4<sup>+</sup> central memory T cells. *The Journal of Experimental Medicine* (IF:14) 2004, 200 (6): 725-735
4. F. Sallusto, **J. Geginat**, and A. Lanzavecchia. Central memory and effector memory T cell subsets: Function, generation and maintenance. *Annual Review of Immunology* (IF: 47) 2004, 22: 745-763
5. A. Gett, F. Sallusto, A. Lanzavecchia and **J. Geginat**. T lymphocyte fitness determined by signal strength. *Nature Immunology* (IF:28) 2003, 4:355-60
6. **J. Geginat**, A. Lanzavecchia and F. Sallusto. Proliferation and differentiation potential of human CD8<sup>+</sup> memory T cell subsets in response to antigen or homeostatic cytokines. *Blood* (IF:10) 2003, 101:4260-6
7. **B. Häringer**, **L. Lozza**, **B. Steckel** and **J. Geginat**. Identification and characterization of type 1 regulatory (Tr1)-like cells in human blood  
submitted

**Drittmittelprojekte:**

SFB 650 Junior Group

**Arbeitsgruppenleiter:**

PD Dr. Armin Gerbitz  
Charite Zentrum für Tumormedizin  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie CBF  
Labor für experimentelle Stammzelltransplantation  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: ++49-30-8445 4589  
Fax.: ++49-30-8445 4190  
[armin.gerbitz@charite.de](mailto:armin.gerbitz@charite.de)

**Genutzte Räume:**

E09

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Andrea Wilke (MTA), Florian Helm (Doktorand), Ksenia Zatsepina (Doktorandin), Fabian Lieske (MTA)

**AG homepage:**

<http://www.sfb-tr36.com>

**Forschungsgebiet:**

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit den Mechanismen der immunologischen Kontrolle hochmaligner B-Zell-Lymphome durch tumorspezifische Fremdanigene und in MHC Mismatch Situation nach haploidenter Stammzelltransplantation. Als Fremdanigene dienen in murinen Lymphom-Modellen OVA und GFP sowie das humane Onkogen c-myc, das im verwendeten Mausmodell als Transgen die Lymphom-Genese treibt. Folgende Fragestellungen werden bearbeitet:

1. Welche Rolle spielt das Interferon-System bei der durch Fremdanigene vermittelten Abstoßung hochmaligner B-Zell-Lymphome?
2. Welche Peptide aus GFP sind im Kontext des murinen MHC von Bedeutung für die Vermittlung von Abstoßung.
3. Wird Toleranz durch B-Zell-Lymphome in der haploidenten Situation induziert?
4. Welche Rolle spielen Defekte in den Signalwegen der Apoptose und Seneszenz bei der Abstoßung hochmaligner B-Zell-Lymphome

**Spezialtechniken**

Mausstämme

Fluoreszenz-Mikroskopie, syngene und allogene Stammzelltransplantation in der Maus, verschiedene Mausstämme (GFP transgen, OVA transgen, IFN $\gamma$ <sup>-/-</sup>, IFN $\gamma$ -R<sup>-/-</sup>, STAT1<sup>-/-</sup>, hu-c-myc tg).

**Publikationen:**

- 1: **Gerbitz A**, Hillemanns P, Schmid C, Wilke A, Jayaraman R, Kolb HJ, Eissner G, Holler E. Influence of polymorphism within the heme oxygenase-1 promoter on overall survival and transplantation-related mortality after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Oct;14(10):1180-9.  
Impact-Faktor: ca. 3,9
2. Ewing M, Hildebrandt G, Wilke A, Andreesen R, Holler E, **Gerbitz A**. Expression of heme oxygenase-1 protects endothelial cells from irradiation-induced apoptosis. *Endothelium*. 2005 May-Jun;12(3):113-9.  
Impact-Faktor: ca. 2
3. **Gerbitz A**, Ewing P, Olkiewicz K, Willmarth NE, Williams D, Hildebrandt G, Wilke A, Liu C, Eissner G, Andreesen R, Holler E, Guo R, Ward PA, Cooke KR. A role for CD54 (intercellular adhesion molecule-1) in leukocyte recruitment to the lung during the development of experimental idiopathic pneumonia syndrome. *Transplantation*. 2005 Mar 15;79(5):536-42.  
Impact-Faktor: ca. 3,9
4. **Gerbitz A**, Nickoloff BJ, Olkiewicz K, Willmarth NE, Hildebrandt G, Liu C, Kobzik L, Eissner G, Holler E, Ferrara JL, Cooke KR. A role for tumor necrosis factor-alpha-mediated endothelial apoptosis in the development of experimental idiopathic pneumonia syndrome. *Transplantation*. 2004 Aug 27;78(4):494-502.  
Impact-Faktor: ca. 3,9
5. **Gerbitz A**, Ewing P, Wilke A, Schubert T, Eissner G, Dietl B, Andreesen R, Cooke KR, Holler E. Induction of heme oxygenase-1 before conditioning results in improved survival and reduced graft-versus-host disease after experimental allogeneic bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004 Jul;10(7):461-72.  
Impact-Faktor: ca. 3,8
6. **Gerbitz A**, Schultz M, Wilke A, Linde HJ, Scholmerich J, Andreesen R, Holler E. Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let them eat yogurt. *Blood*. 2004 Jun 1;103(11):4365-7.  
Impact-Faktor: ca. 9,8
7. **Gerbitz A**, Mautner J, Geltinger C, Hortnagel K, Christoph B, Asenbauer H, Klobeck G, Polack A, Bornkamm GW. Deregulation of the proto-oncogene c-myc through t(8;22) translocation in Burkitt's lymphoma. *Oncogene*. 1999 Mar 4;18(9):1745-53.  
Impact-Faktor: ca. 6

**Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte**

DFG Ge999/5-3  
DFG SFB TR36  
DFG SFB TR54

**Arbeitsgruppenleiter**

Prof. Dr. med. Markus van der Giet  
Charite – Campus Benjamin Franklin  
Med. Klinik mit SP Nephrologie Transplantationszentrum  
Hindenburgdamm 30  
12203 Berlin  
Tel: 030 8445 2379 FAX: 030 8445 3338  
e-mail: markus.vandergiet@charite.de

**Genutzte Räume:**

**R110 im TDH und R113 (zum Teil)**

**Mitarbeiter:**

Dr. med. Markus Tölle, Dr. med. Wolfgang Weiss, dipl. biochem M. Schuchardt, dipl.biol.  
Annette Wiedon, dipl.biotech. Tao Huang, Dr. Anna Jürgens

**Forschungsgebiet:**

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit Jahren mit der kardiovaskulären protektiven Wirkung von High-Density Lipoproteinen (HDL). Dabei konnten wir durch systematische Analyse der Komponenten des HDL feststellen, dass vor allem Sphingolipide antiinflammatorische Signale durch Aktivierung von spezifischen Rezeptoren vermitteln. Vor allem das Sphingolipid, Sphingosin-1-Phosphat (S1P) ist von besonderem Interesse. Wir konnten feststellen, dass Aktivierung der korrespondierenden S1P Rezeptoren zu einer Aktivierung der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthase führt, die für die Funktion des Endothels von hoher Bedeutung ist. Ebenso werden durch S1P proinflammatorische Signale, wie das Monocyte Chemoattractant Protein 1, die induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase, die sekretorische Phospholipase A2 wie auch die Induktion von Matrixmetalloproteinase 9 gehemmt. Alle Faktoren spielen bei der Atherosklerosebildung eine wichtige Rolle. Interessant ist auch, dass S1P Wirkungen auf das Immunsystem hat. Das synthetische den Sphingolipiden verwandte FTY720 ist erfolgreich als Immunsuppressivum bei Autoimmunerkrankungen, Transplantationen und auch der Multiplen Sklerose klinisch getestet. FTY720 induziert ein Lymphozytenhoming und verhindert gleichzeitig einen Egress von Lymphozyten aus den Lymphknoten. Es kommt zu einer Depletion zirkulierender Lymphozyten. Dadurch wird das Immunsystem reduziert. Wir selbst konnten zeigen, dass FTY720 einen Einfluss auf die Funktion von dendritischen Zellen hat, indem es die Antigenpräsentation reduziert. Auch das S1P im HDL kann die dendritische Zellfunktion durch Reduktion der Antigenpräsentation beeinflussen. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz wird auch die Funktion von HDL massiv gestört. HDL verliert sein antiinflammatorischen Wirkungen und kann nicht mehr dendritische Zellen in ihrer Funktion blockieren, sondern aktiviert die dendritische Zellfunktion.

Das Ziel der Arbeitsgruppe teilt sich in zwei Teile. Zum einen wollen wir die Funktion von S1P, dem S1P-Rezeptorsystem bzw. den neuen S1P-Rezeptoranaloga studieren und die Einflüsse auf immunologische und antiinflammatorische Mechanismen studieren. Zum zweiten wollen wir untersuchen, warum HDL bei Niereninsuffizienz dysfunktionell wird und welche Einflüsse dieses HDL auf immunologische und inflammatorische Prozesse hat. Hierbei konnte sich bereits zeigen, dass HDL einige immunmodulierende Eigenschaften aufweist.

Im Rahmen eines von der DFG geförderten Schwerpunktprogrammes ist die Arbeitsgruppe national und international stark vernetzt. Dieses Schwerpunktprogramm leite ich ab dem Jahr 2010 für einen Zeitraum von drei Jahren. SPP1267: Sphingolipide: Signale und Therapie (2007 – 2013).

### Multi-User Geräte

Microphotometer zur Quantifizierung von DNA, RNA oder Proteinen  
Real-time RT-PCR Cycler

### Publikationen

1. Tölle M, Pawlak A, Schuchardt M, Kawamura A, Tietge UJ, Lorkowski S, Keul P, Assmann G, Chun J, Levkau B, **van der Giet M**, Nofer JR. HDL-associated lysosphingolipids inhibit HAD(P)H oxidase-dependent monocyte chemoattractant protein-1-production. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2008; 28: 1542-1548
2. Keller C, Gil P, Tölle M, **van der Giet M**, Chun J, Levkau B, Radeke H, Schäfer-Korting M, Kleuser B. Immunomodulator FTY720 induces myofibroblast differentiation via the lysophospholipid receptor S1P3 and Smad3-signalling. *American Journal of Pathology* 2007; 170: 281 – 292. (IF: 7.053)
3. Keul P, Tölle M, Lucke S, von Wnuck Lipinski K, Heusch G, Schuchardt M, **van der Giet M**, Levkau. The sphingosine-1-phosphate analogue FTY720 reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2007; 27: 607 – 613. (IF: 5.796)
4. Tölle M, Levkau B, Keul P, Brinkmann V, Giebing G, Schönfelder G, Schäfers M, von Wnuck Lipinski, K, Jankowski J, Jankowski V, Chun J, Zidek W, **van der Giet M**. The immunomodulator FTY720 induces eNOS-dependent arterial vasodilation via the lysophospholipid receptor S1P<sub>3</sub>. *Circulation Research*. 2005; 96: 913-920 (IF: 10.117)
5. Levkau B, Hermann S, Theilmeier G, **van der Giet M**, Chun J, Schober O, Schäfers M. HDL stimulates myocardial perfusion in vivo. *Circulation*, 2004, 110: 3355-3359. (IF: 11.164)

### Aktuell drittmittelgeförderte Projekte

DFG (339/5-1): The relevance of sphingolipids in inflammatory cardiovascular disease: Signaling of S1P1 and S1P3 receptors. (2007 – 2010)

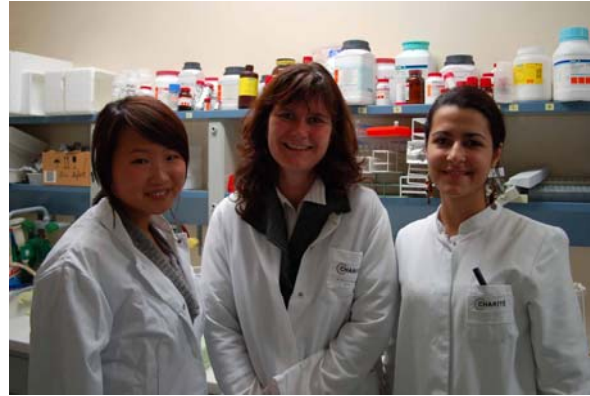
DFG (339/6-2) Funktion von HDL und den assoziierten Sphingolipiden bei Niereninsuffizienz (2007 – 2009)

Else-Kröner Fresenius-Stiftung: Der Einfluss der Niereninsuffizienz auf die Zusammensetzung von HDL (gefördert Dr. Markus Tölle) (10/2007 – 9/2009)

Else-Kröner Fresenius-Stiftung: Die Relevanz von HDL bei der Innate Immunity (in Kooperation mit Dr. Sämann, Akademisches Krankenhaus Wien) (1/2008 – 12/2009)

**Arbeitsgruppenleiterin:**

Dr. med. Patricia Grabowski  
Gastwissenschaftlerin am  
CC10, Med. Klinik I Gastroenterologie,  
Infektiologie, Rheumatologie  
Charité Campus Benjamin Franklin  
Tibor-Diamantstein-Haus  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
E-mail: patricia.grabowski@charite.de  
Tel.: +49 30 8445 4579  
FAX: +49 30 8445 4582

**Genutzte Räume:**

Raum 213

**Mitarbeiterinnen**

Inna Georgieva, Ärztin, Yawen Wang, Medizinstudentin, Sabrina Scheider, Ärztin

**Forschungsgebiet:**

Der Hauptfokus der Arbeitsgruppe liegt in der Erforschung von neuen, spezifischen, diagnostisch oder therapeutisch nutzbaren potentiellen „Targets“ gastrointestinaler Tumorerkrankungen. Zurzeit interessieren uns Mitose-regulierende Gene wie der sog. „Chromosomal passenger complex“, der aus Aurorakinasen, INCENP und Survivin besteht und dem eine proliferationsfördernde Funktion zugeschrieben wird. Survivin als Mitglied der „Inhibitor-of-Apoptosis-Familie“ ist „bifunktional“, anti-apoptotisch und mitosefördernd. Wir haben Survivin immunhistochemisch in verschiedenen gastrointestinalen Tumoren überexprimiert nachgewiesen und konnten zeigen, dass die nukleäre Expression von prognostischer Bedeutung ist. Insbesondere für die neuroendokrinen Tumoren der WHO Klasse 2 (well-differentiated neuroendocrine carcinomas), die bisher am wenigsten gut definiert ist, könnte Survivin sich als neuer relevanter Prognosemarker etablieren. Ob Survivin auch therapeutisch beeinflussbar ist, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe. Zum Einsatz kommen hier spezifische siRNA-Moleküle. für Survivin, die uns von der Arbeitsgruppe um Frau Professor Zaffaroni dank einer engen wissenschaftlichen Kooperation zur Verfügung stehen. Wir benutzen die gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Zelllinien BON, QGP-1 und MIP101 und prüfen die funktionelle Bedeutung von Survivin für Apoptose, Zellzyklus- und Wachstumsregulation sowie für die Chemo- und Strahlenresistenz von Tumoren. Dazu werden auch Kombinationsversuche mit siRNA-survivin und „etablierten“ Bio- und Chemotherapeutika durchgeführt.

Als weiteres Mitglied des Chromosomal passenger complex interessieren uns die Aurorakinasen. Hier haben wir zunächst immunhistochemisch an unserem Patientenkollektiv den Nachweis der Expression von Aurorakinase B geführt und ein ähnliches Verteilungsmuster wie für Survivin festgestellt. Die kommerziell erhältliche Substanz ZM 447439, ein Aurorakinase-Inhibitor, wurde daraufhin bei unseren verschiedenen gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Zelllinien getestet und antiproliferative und proapoptotische Effekte unterschiedlichen Ausmaßes gefunden. Diese Arbeit ist bereits als full paper zur Publikation eingereicht.

Allerdings ist ZM 447439 eine ausschließlich für die Forschung entwickelte Substanz, die aufgrund bestimmter Löslichkeitseigenschaften für die Klinik nicht in Frage kommt. Hier sind wir in der glücklichen Lage, von der Firma Astra Zeneca das entsprechende, klinisch in ersten Phase I-Studien getestete Produkt „AZD1152“ erhalten zu haben. Mit dieser Substanz werden zur Zeit Bestätigungsexperimente an den genannten Modell-Zelllinien durchgeführt.

Ziel hierbei ist es, eine Phase II-Studie bei gastrointestinalen neuroendokrinen Tumoren guter Differenzierung durchzuführen.

Ein ganz anderes „Target“ ist der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) und sein Rezeptor (EGFR). Aufgrund der positiven Ergebnisse bei Kolonkarzinomen und Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen ist dieser als Zielstruktur auch bei gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren interessant. Allerdings sind die immunhistochemischen Expressionsergebnisse widersprüchlich (unsere eigenen Daten zeigen keine Expression des EGFR bei unserem Patientenkollektiv); die einzige klinische Studie mit dem Tyrosinkinase-Inhibitor Gefitinib verlief negativ. Die Signalübertragung in die Zelle könnte aber durch cross-Aktivierung mit dem Insulin-like-Growth-Factor (IGF-1) und seinem Rezeptor (IGF-1R) zustande kommen. Wir haben immunhistochemische Untersuchungen zur Expression von IGF-1R sowie der „downstream“ aktiven Boten STAT3/phosphoSTAT bereits durchgeführt und finden eine entsprechende Expression. Erste Zellkulturergebnisse mit einem experimentellen IGF-1R Tyrosinkinase-Inhibitor unterstützen die Relevanz dieses Signalweges bei gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren. Wir werden mit der klinisch am weitesten fortgeschrittenen Substanz (CP 751871) der Firma Pfizer entsprechende weitere Zellkulturexperimente durchführen.

### Spezialtechniken:

Immunhistochemie, Doppelfärbungen, SSCP-PCR-Analysen, siRNA-Technik

### Publikationen:

- |   | IF  |
|---|-----|
| C.N. Arnold, T. Nagasaka, A. Goel, I. Scharf, <b>P. Grabowski</b> , A. Sosnowski, A. Schmitt-Gräf, C.R. Boland, R. Arnold, H.E. Blum. Molecular characteristics and predictors of survival in patients with malignant neuroendocrine tumors. <i>International Journal of Cancer</i> 2008, 123(7):1556-64  | 4,4 |
| <b>P. Grabowski</b> , J. Schrader, J. Wagner, D. Hörsch, R. Arnold, C.N. Arnold, I. Georgieva, H. Stein, M. Zeitz, P.T. Daniel, I. Sturm. Loss of nuclear p27 expression and its prognostic role in relation to cyclin E and p53 mutation in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. <i>Clinical Cancer Research</i> 2008, in press   | 6,5 |
| <b>P. Grabowski</b> , S. Größ, C.N. Arnold, D. Hörsch, R. Göke, R. Arnold, B. Heine, H. Stein, M. Zeitz, H. Scherübl. Nuclear survivin is a powerful novel prognostic marker in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor disease. <i>Neuroendocrinology</i> 2005, 81:1-9   | 2,8 |
| K. Maaser*, <b>P. Grabowski*</b> , Y. Özdem, A. Krahn, B. Heine, H.-J. Buhr, M. Zeitz, H. Stein, H. Scherübl. Up-regulation of the peripheral benzodiazepine receptor during human colorectal carcinogenesis and tumor spread. <i>Clinical Cancer Research</i> 2005, 11:1751-1756 (*Dual first-authorship)  | 6,5 |
| A.P. Sutter, K. Maaser, <b>P. Grabowski</b> , G. Bradacs, K. Vormbrock, M. Höpfner, A. Krahn, B. Heine, H. Stein, R. Somasundaram, D. Schuppan, M. Zeitz, H. Scherübl. Peripheral benzodiazepine receptor ligands induce apoptosis and cell cycle arrest in human hepatocellular carcinoma cells and enhance chemosensitivity to paclitaxel, docetaxel, doxorubicin and the Bcl-2 inhibitor HA 14-1. <i>Journal of Hepatology</i> 2004, 41: 799-807 | 5,3 |
| K. Schelwies, I. Sturm, <b>P. Grabowski</b> , H. Scherübl, I. Schindler, S. Hermann, H. Stein, H.J. Buhr, E.O. Riecken, M. Zeitz, B. Dörken, P.T. Daniel. Low bax protein expression is a negative prognostic factor in primary colorectal cancer. <i>International Journal of Cancer</i> 2002, 99: 589-596   | 4,4 |

**Drittmittelgeförderte Projekte:**

Ernst-von-Leyden Promotionsstipendium der Berliner Krebsgesellschaft für Inna Georgieva 05/06-05/07

Stipendium des DAAD für Inna Georgieva 05/07-11/07

Sonnenfeld-Stiftung Promotionsstipendium für Inna Georgieva 12/07-03/08; 01/09-08/09

Studentische Forschungsförderung für Yawen Wang 04/08-03/09

Sonnenfeld-Stiftung: Verschiedene Geräte zur Unterstützung des Projektes: „Survivin: Bedeutung für Wachstum, Apoptose, Zellzyklusregulation von neuroendokrinen gastroenteropankreatischen Tumoren“. 13.000 Euro.

DFG-Antrag in Vorbereitung

**AG Experimentelle Rheumatologie****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Alf Hamann  
Direktor Research Center for  
ImmunoSciences  
AG Experimentelle Rheumatologie  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
c/o Deutsches Rheumaforschungszentrum  
Charitéplatz 1  
10117 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 28460655  
Fax: ++49 (0)30 28460656  
E-mail: hamann@drfz.de

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 04/015; Mitbenutzung:  
04/004,5,7,16,17, 02/023

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Postdoc: Dr. Ute Hoffmann; Doktorandin: Francesca Diane Liu; Technische Assistenz: Uta Lauer

Tel. 450-513226, -513417

**Homepage:**

<http://www.drfz.de/index~25.htm>

**Forschungsgebiet:**

Chronische Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis und Allergien werden durch eine Auto- oder Hyperreaktivität des Immunsystems verursacht. Sie haben eine hohe sozio-ökonomische Bedeutung, denn herkömmliche Therapieansätze sind teilweise ineffizient, unspezifisch, mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden und die Heilung ist nicht dauerhaft. In unserer Arbeitsgruppe sollen neuartige Therapiestrategien entwickelt werden, auf Substanzen basierend, die das Immunsystem spezifisch modulieren. Ziel ist, körpereigene regulatorische Mechanismen zu aktivieren und dadurch entzündliche Immunantworten spezifisch zu supprimieren, so dass die immunologische Balance von pathogener Aktivität zu Toleranz verschoben wird.

Einen weiteren Forschungsschwerpunkt stellt die Immunregulation viraler Erkrankungen dar: Die Balance zwischen pro-inflammatorischen und anti-inflammatorische Zytokinen ist entscheidend bei der Virusabwehr. Eine Störung kann zu überschießenden Immunantworten und massiver Gewebsschädigung führen oder eine effektive Entfernung der Viren verhindern. Inwiefern sich diese Zytokine beeinflussen und man möglicherweise immunmodulatorisch eingreifen kann, wollen wir hier ermitteln. Außerdem soll untersucht werden, ob regulatorische T-Zellen dabei eine Rolle spielen.

**Projekte am Standort Hess. Str.:***a) Immunmodulation durch tolerogene biologische Substanzen:*

Im Rahmen eines BMBF geförderten Verbund-Projektes in Kooperation mit dem Max-Delbrück-Zentrum für Molekulare Medizin (MDC), der Molekularen Parasitologie (HU-Berlin) sowie dem Deutschen Rheumaforschungszentrum (DRFZ) sollen verschiedene molekulare Konstrukte sowie aus Parasiten abgeleitete Substanzen getestet werden, die in Tierversuchen eine tolerogene Wirkung gezeigt haben. Ziel ist die Eignung für eine Anwendung in der Klinik zu prüfen.

*b) Immunmodulation durch niedermolekulare Substanzen:*

In Kooperation mit dem Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie (FMP) werden wir nach niedermolekularen Substanzen suchen, die in der Lage sind, regulatorische T-Zellen (Tregs) und den Treg-spezifischen Transkriptionsfaktor Foxp3 zu induzieren.

*c) Immunregulation viraler Erkrankungen:*

Eine Untergruppe von regulatorischen Zellen stellen IL-10 sezernierende Zellen dar, die so genannten Tr1 Zellen. Bei einer Influenzainfektion tritt ein hoher Anteil dieser Zellen auf, der einen modulierenden Effekt auf die Immunantwort gegen das Virus ausübt. Wir möchten Tr1 Zellen näher charakterisieren und nach Isolation der Zellen aus der Lunge ihre suppressorische Kapazität testen. Welche Rolle Tregs bei der Abwehr einer Influenzainfektion spielen, soll ebenfalls untersucht werden.

**Spezialtechniken:***Verschiedene Mausmodelle:*

DTH, Colitismodelle, Arthritis, Influenza

*Analysen:*

Homing, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen

**Publikationen:**

Polansky, J., K. Kretschmer, J. Freyer, S. Floess, A. Garbe, S. Olek, U. Baron, A. Hamann, H. von Boehmer, and J. Huehn. 2008. DNA methylation controls foxp3 gene expression. *Eur J Imm* 38:1654-1663.

Doebis, C., K. Siegmund, C. Loddenkemper, J. B. Lowe, A. C. Issekutz, A. Hamann, J. Huehn, and U. Syrbe. 2008. Cellular players and role of selectin ligands in leukocyte recruitment in a T-cell-initiated delayed-type hypersensitivity reaction. *Am J Pathol* 173:1067-1076.

Baron U, Floess S, Wieczorek G, Baumann K, Grützkau A, Dong J, Thiel A, Boeld TJ, Hoffmann P, Edinger M, Türbachova I, Hamann A, Olek S, Huehn J. 2007. DNA demethylation in the human FOXP3 locus discriminates regulatory T cells from activated FOXP3(+) conventional T cells. *Eur J Immunol. Sep;37(9):2378-89. IP: 4,8*

Floess, S., Freyer J., Siewert, C., Baron, Olek, U., S., Polansky, J., Schlawe, K., Chang, H.-D., Bopp, T., Schmitt, E., Klein-Hessling, S., Serfling, E., Hamann, A., and Huehn, J. 2007. Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells. *PLOS Biology* 5:e38 IP: 14,1

Menning A, Höpken UE, Siegmund K, Lipp M, Hamann A, Huehn J. 2007. Distinctive role of CCR7 in migration and functional activity of naive- and effector/memory-like Treg subsets. *Eur J Immunol. Jun;37(6):1575-83. IP: 4,8*

Siewert C, Menning A, Dudda J, Siegmund K, Lauer U, Floess S, Campbell DJ, Hamann A, Huehn J. 2007. Induction of organ-selective CD4+ regulatory T cell homing. *Eur J Immunol Apr;37(4):978-89. IP: 4,8*

Siegmund K, Feuerer M, Siewert C, Ghani S, Haubold U, Dankof A, Krenn V, Schön MP, Scheffold A, Lowe JB, Hamann A, Syrbe U, Huehn J. 2005. Migration matters: regulatory T-cell compartmentalization determines suppressive activity in vivo. *Blood. Nov 1;106(9):3097-104. IP: 10,4*

Huehn, J., Siegmund, K., Lehmann, J.C., Siewert, C., Haubold, U., Feuerer, M., Debes G.F., Lauber J., Frey, O., Przybylski, G.K., Niesner U., de la Rosa, M., Schmidt, C.A., Bräuer, R., Buer, J., Scheffold, A., Hamann A. 2004. Developmental stage, phenotype, and migration distinguish naïve- and effector/memory like-CD4+ T regulatory cells. *J Exp Med.* 199: 303-313 IP: 14,4

**Drittmittelprojekte:**

Im RCIS durchgeführt (seit Januar 2008):

**BMBF Verbundantrag „Biological tolerance-inducing agents to selectively suppress harmful immunoreactivity“**

**Weitere Drittmittelprojekte der AG Hamann:**

DFG	SFB 650	TP1: Inflammation-specific regulatory T cells	Hühn/Scheffold/Hamann
DFG	SFB 633	B1: Mukosa and homing/differentiation of T cells	Hamann
DFG	Einzel	Molekulare Grundlagen der Regulation der P-Selektin-Ligand-Expression auf T-Lymphozyten	Syrbe/Hamann
Sander-Stiftung		Modulation der Immunantwort bei Tumorabwehr und Autoimmunität: neue Wege zur Suppression und Induktion regulatorischer T-Zellen	Hamann/Hühn
BMBF	Verbund	CIPP: TP4: Pan-Selektin Antagonist in Psoriasis	Hamann

**AG Leiter:**

Prof. Dr. rer. nat. Christoph Hanski  
Charite Campus Benjamin Franklin  
Department of Gastroenterology  
Hindenburgdamm 30  
1200 Berlin  
FAX: 0049-30-8445-4582  
TEL: 0049-30-8445-4522  
christoph.hanski@charite.de

**Genutzte Räume im TDH:**

E10, E13, 102

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Marie Luise Hanski, Britta Jebautzke, Santosh Krishna Subramanian, Bhavesh Choudhary, Roser Peiro, Christoph Hanski.

**AG Homepage:**

[http://www.charite.de/gastro/workgroups/ag\\_hanski/index.htm](http://www.charite.de/gastro/workgroups/ag_hanski/index.htm)

**Forschungsgebiet:****1. Etablierung der Kriterien zur Wahl der Responder auf Chemotherapie des Kolonkarzinoms: molekulare Mechanismen der Wirkung von 5-Fluorouracil und Irinotecan**

Nur etwa 30% der Patienten mit Kolonkarzinom sprechen auf die gegenwärtig verwendete Chemotherapie an. Das Ansprechen hängt von der Zusammensetzung der molekularen Läsionen des jeweiligen Tumors ab. Wir untersuchen den Einfluß von zwei in Kolonkarzinomen häufigen und schnell nachweisbaren Läsionen, den Mutationen im p53 Gen und im hMLH1 Gen (das für eine Komponente des *mismatch* Reparatursystems kodiert), auf das Ansprechen auf zwei zur Zeit in der Klinik als *first line* verwendete Chemotherapeutika, 5-Fluorouracil bzw. Irinotecan. Die Untersuchungen werden sowohl in isogenen Zelllinienpaaren als auch im Nacktmausmodell durchgeführt, wobei das makroskopische Ansprechen (Zellzahl, Tumorgroße) mit den zellulären Prozessen (Apoptose, Arrest, Seneszenz) und der Genexpression (Affymetrix Arrays) in Zusammenhang gebracht wird. Das Ziel ist es, die bisher kontrovers diskutierte Rolle der beiden Läsionen bei der Antwort auf die beiden Chemotherapeutika zu klären und die Mechanismen der Antwort in Abhängigkeit von der jeweiligen Läsion aufzuklären (5). Insbesondere wird die Rolle der nichtapoptotischen Prozesse (langfristiger Arrest, Seneszenz), die nach unseren Befunden durch das *mismatch* Reparatursystem beeinflusst werden (2) und für das Ansprechen entscheidend sein können, untersucht. Das langfristige Ziel ist es, die prädiktiven Algorithmen zum Ansprechen von Patienten mit p53- bzw. *mismatch* Reparatur-Defekten zu formulieren.

**2. Mechanismus der präventiven Wirkung von Ursodesoxycholsäure (UDCA) bei ulzerativer Kolitis. Potenzial der unmittelbaren klinischen Anwendung.**

Patienten mit ulzerativer Kolitis stellen ein definiertes Kollektiv mit einem signifikant höheren Kolonkarzinomrisiko als die Gesamtbevölkerung dar. Die Prävention der Kolonkarzinogenese bei diesen Patienten könnte die Dysplasieentwicklung und die nachfolgende Darmresektion vermeiden lassen. Wir haben im Mausmodell der Kolitis (Dextransulfat-induzierte chronische Kolitis) gezeigt, dass die kolitisbedingte Kolonkarzinogenese durch Behandlung mit UDCA inhibiert werden kann (6).

In einem Nachfolgeprojekt wird die Wirksamkeit und der molekulare Mechanismus der Chemoprävention *in vivo* im Detail untersucht. Der Wirkungsmechanismus wird durch die

Analyse des UDCA-induzierten transkriptionellen Profils mittels Oligonukleotidarrays untersucht. Das etablierte Modell gestattet auch die Rolle der immunmodulatorischen Wirkung der UDCA bei der Chemoprävention zu untersuchen. Da Patienten mit ulzerativer Kolitis in der Regel mit 5-ASA behandelt werden, soll in einem zweiten Projekt die Wirksamkeit der UDCA unter der 5-ASA Therapie im Mausmodell getestet und die Zielgene von 5-ASA sowie der Kombination 5-ASA+UDCA identifiziert werden. Da sowohl UDCA als auch 5-ASA häufig verwendete Therapeutika mit geringen Nebenwirkungen sind, könnten die Erkenntnisse zur präventiven Behandlung der Patienten mit chronischer Kolitis genutzt werden.

#### **Gemeinsame Geräte und Spezialtechniken:**

Kühlzentrifugen, Ultrazentrifuge, Cold Lab, PCR Geräte, ELISA-reader, UV-Spektrometer, DNA Array Analyse, Kinase assays.

#### **Publikationen:**

1. Bhonde, M. R. et al. DNA damage-induced expression of p53 suppresses mitotic checkpoint kinase hMps1: the lack of this suppression in p53<sup>mut</sup> cells contributes to apoptosis. *J Biol Chem*, 281: 8675-8685, (2006). IP 5,808
2. Loddenkemper, C. et al. Prevention of colitis-associated carcinogenesis in a mouse model by diet supplementation with ursodeoxycholic acid. *Int J Cancer*, 118: 2750-2757, (2006). IP 4,7
3. Bhonde, M. R. et al. Equivalent effect of DNA damage-induced apoptotic cell death or long-term cell cycle arrest on colon carcinoma cell proliferation and tumour growth. *Oncogene*, 25: 165-175, (2006). IP 6,872
4. Bhonde, M. R. et al. The broad-range cyclin-dependent kinase inhibitor UCN-01 induces apoptosis in colon carcinoma cells through transcriptional suppression of the Bcl-x(L) protein. *Oncogene*, 24: 148-156, (2005). IP 6,318
5. Magrini, R. et al. Cellular effects of CPT-11 on colon carcinoma cells: dependence on p53 and hMLH1 status. *Int J Cancer*, 101: 23-31, (2002). IP 4,056
6. Mann, B. et al. Target genes of  $\beta$ -catenin-Tcell factor/lymphoid-enhancer-factor signaling in human colorectal carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 1603-1608, (1999). IP 10,26

#### **Drittmittelgeförderte Projekte:**

1. Influence of MMR status on the cytotoxicity and mechanism of action of 5-FU in colon carcinoma cells. DFG 2007-2008
2. Rolle von MMR bei der Antwort auf Irinotecan. Braun Stiftung 2006-2007
3. Molekulare Mechanismen der Inhibition der kolitisbedingten murinen Kolonkarzinogenese mittels Ursodesoxycholsäure (UDCA). DFG 2007-2009
4. Prävention der Kolitis-bedingten Kolonkarzinogenese im Mausmodell mit UDCA und 5-ASA: Bestimmung der Wirksamkeit und der Zielgene. Monika Kutzner Stiftung 2007-

**Arbeitsgruppe Tumorimmunologie,  
Abteilung für Hämatologie und Onkologie, Charité, CBF****Beteiligte Wissenschaftler:**

Dr. Anne Letsch  
Prof. Dr. Ulrich Keilholz  
Dr. Antonia Busse (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt II und III)  
Dr. Sebastian Ochsenreither (wissenschaftlicher Mitarbeiter Teilprojekt I und II)  
Maren Knödler (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I und II)  
Kaja Zimmermann (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I und II)  
David Stather (wissenschaftlicher Doktorand Teilprojekt IV)  
Marcel Völker (studentische Hilfskraft Teilprojekt IV)

**Ansprechpartner:****Dr. Anne Letsch**

Charité Campus Benjamin Franklin  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie  
und Onkologie  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: 030/8445-4576 / 4714  
Fax: 030/8445-4552  
anne.letsch@charite.de

**Genutzte Räume:**

Raum 202

**Forschungsgebiet:**

Der Schwerpunkt liegt auf dem Gebiet der Tumorimmunologie und der Entwicklung von Tumorvakzinen in klinischen Studien und translationalen Forschungsprogrammen mit dem Ziel des Einsatzes für Patienten mit fortgeschrittener Tumorerkrankung, minimaler Resterkrankung und adjuvant.

Durchführung mehrerer klinischer Studien mit Vakzinierungen mit unterschiedlichen Tumorpeptiden in Kombination mit den Adjuvantien GM-CSF und dem Helferprotein KLH bei Patienten mit unterschiedlichen soliden Tumoren und Leukämie.

- Detailliertes immunologisches Monitoring dieser Studien:
  - T-Zell-Monitoring mit funktioneller und phänotypischer Charakterisierung im peripheren Blut, Knochenmark und falls möglich im Tumorkompartiment
  - Analyse des T-Zellrezeptor-Repertoires Vakzine-induzierter T-Zellen
  - Analyse regulatorischer Zellelemente
  - Analyse Vakzine-induzierter Antikörper-Antworten
  - Detaillierte Analysen der Tumor-/ Leukämiezellen und Identifizierung potentieller Resistenzmechanismen
- Analyse spontaner Tumor-/ Leukämie-spezifischer T-Zell-Antworten
- Identifizierung neuer Tumor- und Leukämie-assoziiierter Antigene
- Charakterisierung von Tumor-/Leukämie- und Virus-spezifischen T-Zellantworten in verschiedenen Kompartimenten (z.B. peripheres Blut vs. Knochenmark, peripheres Blut vs. Tumor)

Darstellung der Forschungsprojekte, die in den Räumen der RCIS bearbeitet werden:

**I. Randomisierte Multizenter-Vakzinierungsstudie mit WT-1-Peptid, KLH und GM-CSF zur Remissionserhaltung bei Patienten mit AML**

Fragestellung /Hintergrund:

In der bisherigen durch die Carreras-Stiftung geförderten klinischen Phase II-Studie konnten wir zeigen, dass eine Vakzinierung mit dem HLA-A2-bindenden WT1-Peptid bei Patienten mit AML sicher durchgeführt werden kann, trotz Präsenz der Leukämie bei den meisten Patienten eine T-Zell-Antwort induziert, und klinisch relevante Aktivität hat. Dies ist die Voraussetzung für den nächsten Schritt, die Vakzine in kontrollierter Form in der adjuvanten Behandlung bei Hochrisikopatienten zu testen und zu prüfen, ob die Rezidivrate bei Patienten mit AML durch Vakzinierung mit WT1 signifikant gesenkt werden kann. Primäres Studienziel ist innerhalb des 1. Jahres nach Chemotherapie die Rezidivrate von 50% in der Kontrollgruppe auf unter 30% in der Vakzinegruppe zu senken. Sekundäre Studienziele sind Toxizität der Behandlung, Zeit zur Progression, Gesamtüberleben, Bestimmung der Rate der Patienten mit T-Zell-Antwort, Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen Immunantwort und Rezidivrate und Bedeutung erhöhter WT1-mRNA-Konzentration als prognostischer Marker. An dieser Studie werden sich 8 Zentren beteiligen und die Rekrutierung von insgesamt 122 Patienten ist in 1 1/2 Jahren geplant.

**II. EU-Projekt: Vakzinierungsstudie mit WT-1-Peptid, KLH und GM-CSF bei Patienten mit soliden Tumoren:**

Fragestellung /Hintergrund:

WT1-basierte Vakzinierungen haben überraschende klinische und immunologische Effektivität bei Patienten mit AML gezeigt. WT-1 ist auch in einer Vielzahl von Karzinomen überexprimiert und spielt dort, ähnlich wie bei der AML, als Transkriptionsfaktor eine essentielle Rolle für die Proliferation von Tumorzellen. Diese Studie hat daher das Ziel Erfahrungen bei Patienten mit AML auf Tumorpatienten zu übertragen. Ziele dieser Phase-IIa-Studie bei 50 HLA-A2 positiven Patienten mit soliden Tumoren sind die Analyse der Immunologischen Effektivität, der Toxizität und der Klinischen Antwort.

**III. EU-Projekt: Analyse der Transkriptionsfaktoren PAX2 und PAX8 als potentielle Zielstrukturen für Vakzinierungen:**

Fragestellung /Hintergrund:

PAX2 und PAX8 scheinen in einer Vielzahl von Tumorzellen an der Hochregulation von WT1 beteiligt zu sein. Mit Hilfe von siRNAs soll die Relevanz beider Transkriptionsfaktoren für die Proliferation von Tumorzellen analysiert werden. Spontane T-Zellantworten gegen diese Transkriptionsfaktoren sollen analysiert und potentielle damit assoziierte Autoimmunmechanismen ausgeschlossen werden. Dazu ist es notwendig T-Zell-Epitope vorherzusagen und PBMCs von Tumorpatienten und Gesunden bezüglich T-Zell-Antworten gegen diese Epitope mittels Durchfluss-Zytometrie zu screenen. Sollten die vorhergesagten Epitope tatsächlich prozessiert und von T-Zellen erkannt werden, sollen T-Zell-Linien generiert und auf deren Fähigkeit getestet werden relevante Tumorzellen zu lysieren.

#### IV. Identifizierung der Prävalenz möglicher Immun-Resistenzmechanismen akuter Leukämien sowie potentieller T-Zell-Defekte im Kontext von Vakzinestrategien mit dem Wilms Tumorgen-1 (WT1).

##### Fragestellung /Hintergrund:

Ergebnisse einer aktuellen klinischen Phase I/II-Studie mit einem WT1.A2.1-Peptid bei Patienten mit rezidivierter AML zeigen eine hohe Immunogenität mit der Induktion spezifischer T-Zellen bei 70% der Patienten und Hinweise für klinische Effizienz. Bislang fehlen jedoch systematische Untersuchungen zu der Frage, mit welcher Effizienz Leukämieblasten von WT1-spezifischen zytotoxischen T-Zellen (CTL) zerstört werden und welche Charakteristika der Blasten diese Effizienz beeinflussen. Zudem ist wenig über die potentielle Suppression der WT1-spezifischen T-Zellen durch die Leukämie bekannt. Zudem sollen Vakzine-induzierte WT1-spezifische T-Zellen aus peripherem Blut (PB) und Knochenmark (KM) phänotypisch und funktionell charakterisiert werden. Besondere Berücksichtigung sollen dabei immun-regulatorische Moleküle sowie das Vorliegen regulatorischer Zellelemente und deren potentiell unterschiedliche Ausprägung im PB und KM finden.

Da bislang nur erste preliminäre Ergebnisse Vorliegen, kann an dieser Stelle zu „Key Results“ und Perspektiven noch keine Aussage getroffen werden.

##### **Publikationen:**

Na IK, Busse A, Scheibenbogen C, Ghadjar P, Coupland SE, **Letsch A**, Loddenkemper C, Stroux A, Bauer S, Thiel E, **Keilholz U** (2008). Identification of truncated chemokine receptor 7 in human colorectal cancer unable to localize to the cell surface and unreactive to external ligands. *Int J Cancer* 123:1565-72. IP: 4,6

Eggermont AM, Suci S, Santinami M, Testori A, Kruit WH, Marsden J, Punt CJ, Salès F, Gore M, Mackie R, Kusic Z, Dummer R, Hauschild A, Musat E, Spatz A, **Keilholz U**; for the EORTC Melanoma Group (2008). Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet* 12;372:117-126. IP: 28,6

**Letsch A**, Knoedler M, Na IK, Kern F, Asemissen AM, **Keilholz U**, Loesch M, Thiel E, Volk HD, Scheibenbogen C (2007). CMV-specific central memory T cells reside in bone marrow. *Eur J Immunol* 37:3063-8. IP: 4,7

Ghadjar P, Coupland SE, Na IK, Noutsias M, **Letsch A**, Stroux A, Bauer S, Buhr HJ, Thiel E, Scheibenbogen C, **Keilholz U** (2006). Chemokine receptor CCR6 expression level and liver metastases in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 24; 1910-1916. IP: 13,8

Asemissen AM, Scheibenbogen C, **Letsch A**, Hellstrand K, Thoren F, Gehlsen K, Schmittel A, Thiel E, **Keilholz U** (2005). Addition of histamine to IL-2 treatment augments type 1 T-cell responses in patients with melanoma in vivo: immunologic results from a randomized clinical trial of IL-2 with or without histamine (MP 104). *Clin Cancer Res.* 11:290-7. IP: 5,6

**Letsch A**, **Keilholz U**, Fluck M, Nagorsen D, Asemissen AM, Schmittel A, Thiel E, Scheibenbogen C (2005). Peptide vaccination after repeated resection of metastases can induce a prolonged relapse-free interval in melanoma patients. *Int J Cancer* Jan 114:936-941. IP: 4,4

##### **Förderung der Arbeiten durch:**

- I. Deutsche José-Carreras-Leukämie-Stiftung
- II. und III. EU-Projekt „Cancer Immunology and Immunotherapy“
- IV. Rahel-Hirsch-Habilitations-Stipendium der Charité

**Kooperationen:**

1. AG Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen, Med. Immunologie, Charité CCM
2. AG. PD Dr. Andreas Thiel, DRFZ
3. AG Dr. Jens Geginat, DRFZ
4. AG PD. Dr. Ralf Ignatius, Mikrobiologie, Charité CBF
5. Prof. Stevanovic, und Prof. Rammensee, Tübingen
6. Prof. Ehninger/Prof. Bornhäuser, Hämatologie/Onkologie Universität Dresden
7. Prof. Reinhard Andreesen/ Prof. Andreas Mackensen, Med. Klinik, Hämatologie/Onkologie, Universität Regensburg
8. Prof. Ch. Junghanß, Med. Klinik, Hämatologie/Onkologie. Universität Rostock
9. PD Dr. Florian Weissinger, Med. Klinik II, Universität Würzburg
10. Prof. Lorenz Trümper/ Prof. G. Wulf, Med. Klinik, Hämatologie/Onkologie, Universität Göttingen
11. PD Dr. Ulrich Mahlke, Med. Klinik und Poliklinik, Hämatologie/Onkologie, Universität Heidelberg
12. PD Dr. Mathias Zeis, Hämatologie, Krankenhaus Sankt Georg Hamburg
13. Prof. Haruo Sugiyama, Universität von Osaka, Japan

**Arbeitsgruppenleiterin:**

PD Dr. med. Katja Klugewitz  
 CC10  
 Gastroenterologie/Infektiologie/Rheumatologie  
 Charité Campus Benjamin Franklin  
 Hindenburgdamm 30  
 12203 Berlin  
 Telefon: 030-8445-4026  
 Telefax: 030-8445-4017  
 E-Mail: [katja.klugewitz@charite.de](mailto:katja.klugewitz@charite.de),  
[klugewitz@drfz.de](mailto:klugewitz@drfz.de)

**Genutzte Räume:**

Karl-Landsteiner-Haus, 3.OG  
 Raum-Nr. 312, 316, 323

**Mitarbeiter/innen:**

Dipl. Biochem. Katrin Neumann  
 Dipl. Biol. Nils Kruse  
 Stud. Med. Katja Wechsung  
 Praktikant Andrey Vladimir Gimenez Rivera

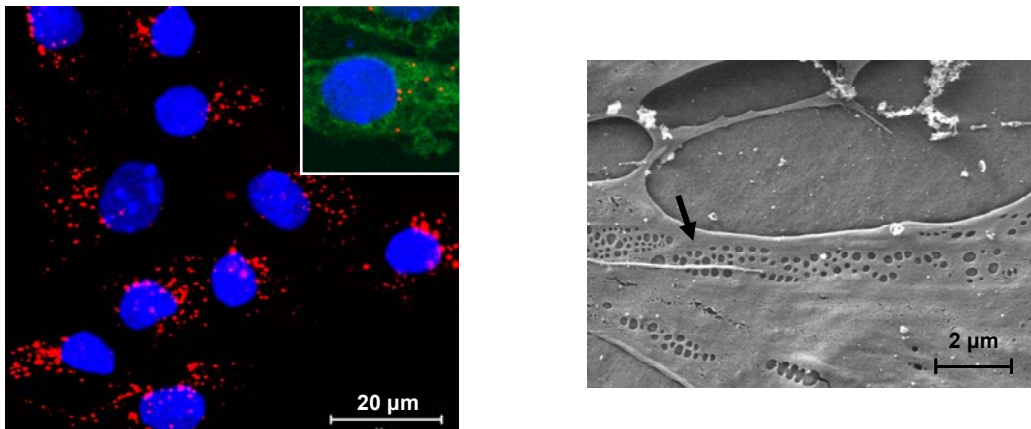
**Forschungsgebiet:****1) Antigen-abhängige Adhäsion, Transmigration und Rekrutierung von CD4<sup>+</sup> T-Zellen in die Leber**

Die Rekrutierung von T-Zellen spielt eine entscheidende Rolle für die Kompartimentalisierung des Immunsystems: Antigenpräsentation und Aktivierung finden in sekundären lymphatischen Organen statt, im entzündlich veränderten Gewebe werden Effektorfunktionen ausgeübt. In der Mukosa, und vermutlich auch in der Leber, werden immunmodulatorische Vorgänge vermittelt. Da Einwanderung in die Leber damit eine Voraussetzung für konsekutive Modulation darstellt, befasst sich ein im RCIS bearbeitetes Projekt mit der antigen-abhängigen Rekrutierung verschiedener CD4<sup>+</sup> T-Zellpopulationen *in vivo*. Ergänzend wird in diesem Zusammenhang im *in vitro* Modell der Frage nachgegangen, ob Zellen antigen-abhängig stärker an Lebersinusendothelzellen adhären und transmigrieren und inwieweit Transmigration sogar zur Modulation der T-Zellfunktion beiträgt.

Eigene Publikationen zum Thema:

- 1) Bertolino, P., Schrage, A., Bowen, D.G., Klugewitz, K., Ghani, S., Eulenburg, K., Holz, L., Hogg, N., McCaughan, G.W., Hamann, A. (2005) Early intrahepatic antigen-specific retention of naive CD8<sup>+</sup> T cells is predominantly ICAM-1/LFA-1 dependent in mice. *Hepatology* 42(5):1063-71.
- 2) Klugewitz, K., Adams, D.H., Emoto, M., Eulenburg, K., Hamann, A. (2004) The composition of intrahepatic lymphocytes: shaped by selective recruitment? *Trends Immunol* 25:590-94.
- 3) Klugewitz, K., Topp, S.A., Dahmen, U., Kaiser, T., Sommer, S., Kury, E. and Hamann, A. (2002) Differentiation-dependent and subset-specific recruitment of T-helper cells into the murine liver. *Hepatology* 35:568-78.

## 2) Chemokinpräsentation durch Lebersinusendothelzellen: ein potientes therapeutisches *Target* für hepatische Entzündungen?



**Abbildung 1:** CXCL12 in Lebersinusendothelzellen, rasterelektronenmikroskopisches Bild einer Lebersinusendothelzelle

Wir konnten zeigen, dass im Gegensatz zu anderen Endothelien Lebersinusendothelzellen die biologische Wirkung der Chemokine CXCL9 und CXCL12 steigern, indem sie die Chemokine von basolateral aufnehmen und apikal präsentieren. Die Chemokine werden dabei über den Clathrin-vermittelten Weg transportiert, wie durch Inhibitionsexperimente gezeigt. In einem darauf aufbauenden Projekt klären wir nun, welche molekularen Mechanismen (z.B. Chemokinrezeptoren) für die basolaterale Aufnahme und die apikale Präsentation verantwortlich sind. Darüber hinaus wollen wir wissen, welche Bedeutung die endotheliale Chemokinpräsentation *in vivo* für die Induktion einer hepatischen Entzündung hat und ob sich hieraus therapeutische Zielstrukturen ableiten lassen.

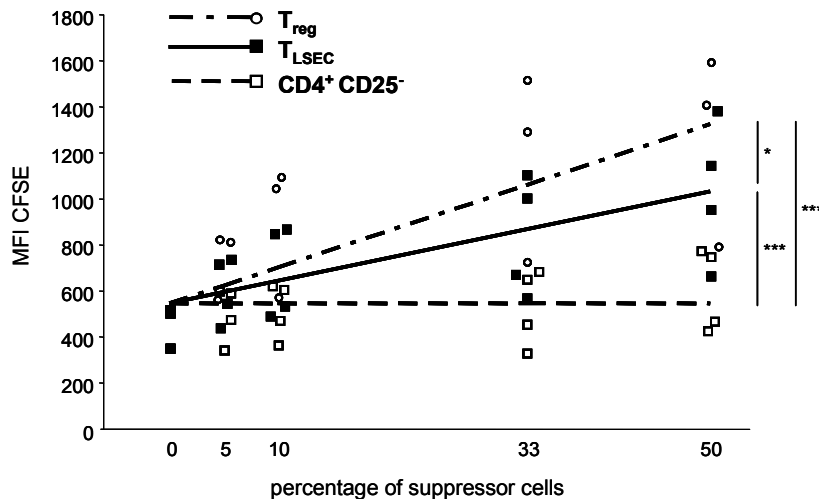
Eigene Publikationen zum Thema:

1) [Schrage, A., Loddenkemper, C., Erben, U., Lauer, U., Hausdorf, G., Jungblut, P.R., Johnson, J., Knolle, P.A., Zeitz, M., Hamann, A., Klugewitz, K.](#) (2008) Murine CD146 is widely expressed on endothelial cells and is recognized by the monoclonal antibody ME-9F1. *Histochem Cell Biol* 129(4):441-51.

2) Schrage, A., Wechsung, K., Neumann, K., Schumann, M., Schulzke, J.D., Engelhardt, B., Zeitz, M., Hamann, A., Klugewitz, K. (2008) Enhanced T cell transmigration across murine liver sinusoidal endothelium is mediated by transcytosis and surface presentation of chemokines. *Hepatology* 48(4):1262-72.

### 3) Induktion nicht-klassischer regulatorischer CD4<sup>+</sup> T-Zellen durch Lebersinusendothelzellen

Nach adoptivem Transfer von Th1- und Th2-Zellen und tolerogener, intravenöser Antigenapplikation erfolgte nach einer Expansionsphase eine Zunahme apoptotischer Zellen in der Leber, die für eine intrahepatische Deletion spricht. Ausgehend von diesen Beobachtungen und vor dem Hintergrund, dass Antigene aus dem Gastrointestinaltrakt über die Pfortader die Leber erreichen, untersuchen wir in einem weiteren Projekt, ob die MHCII-vermittelte Antigenpräsentation wichtig ist für die Induktion oraler Toleranz. Erste Ergebnisse lassen vermuten, dass die Leber antigen-erfahrene Zellen modulieren kann.



**Abbildung 2:** Suppression der Proliferation naiver CD4<sup>+</sup> T-Zellen durch T<sub>LSEC</sub> *in vitro*.

*Priming* durch Lebersinusendothelzellen induziert bei naiven CD4<sup>+</sup> T-Zellen den Phänotyp einer nicht-klassischen, FoxP3 negativen regulatorischen T-Zelle (T<sub>LSEC</sub>), die *in vitro* suppressorische Eigenschaften besitzt und *in vivo* einer Hepatitis entgegenwirkt. Wir gehen aktuell der Frage nach, ob wie T<sub>LSEC</sub> *in vivo* eine Hepatitis supprimieren können. TLSEC exprimieren typische Homing-Moleküle für den Darm ( $\alpha_4\beta_7$ ) und wandern auch verstärkt in den Darm und die mesenterialen Lymphknoten ein. Wir wollen perspektivisch klären, ob T<sub>LSEC</sub> auch eine Wirkung im Darm besitzen und welche molekularen Mechanismen für die Induktion dieses Phänotypes verantwortlich sind.

Eigene Publikationen zum Thema:

- 1) Blumenthal-Barby, F., Eulenburg, K., Schrage, A., Zeitz, M., Hamann, A., Klugewitz, K. (2008) *In vivo* modulation of antigen-experienced cells in response to high-dose oral antigen: deletion but no evidence for alterations in the cytokine phenotype. *Int Immunol* 20(7):893-900.
- 2) Blumenthal-Barby, F., Schrage, A., Eulenburg, K., Zeitz, M., Hamann, A., Klugewitz, K. (2008) Sustained delayed-type hypersensitivity reaction after *in vivo* priming but successful induction of unresponsiveness after adoptive transfer of CD4<sup>+</sup> effector T cells. *Cell Immunol* 253(1-2):110-5.
- 3) Klugewitz K., Blumenthal-Barby, F., Schrage, A., Knolle, P.A., Hamann A. and Crispe I. N. (2002) Immunomodulatory effects of the liver: Deletion of activated CD4<sup>+</sup> effector cells and suppression of IFN $\gamma$ -producing cells after intravenous protein immunization. *J Immunol* 169:2407-13.
- 4) Kruse, N., Schrage, A., Neumann, K., Derkow, K., Schott, E., Erben, U., Eulenburg, K., Fillatreau, S., Zeitz, M., Hamann, A., Klugewitz, K. Liver sinusoidal endothelial cells induce FoxP3<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> anti-inflammatory CD4<sup>+</sup> T cells counteracting murine autoimmune hepatitis. (eingereicht 1.8.2008)

#### 4) *Cross-Talk* verschiedener hepatischer APC-Populationen

In einem ergänzenden Projekt etablieren wir Isolationsmethoden für verschiedene Populationen antigen-präsentierender Zellen der Leber, um letztlich die Bedeutung der einzelnen Subpopulationen für das *priming* von CD4<sup>+</sup> T-Zellen zu untersuchen. Darüber hinaus wollen wir prüfen, ob verschiedene antigen-präsentierende Zellen miteinander oder sogar mit antigen-erfahrenen CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Sinne eines *cross-talks* interagieren und welche funktionellen Konsequenzen dies hat.

#### Multi-User-Geräte und Techniken:

- FACS Canto II Durchflusszytometer
- AutoMACS Zellsortierungsgerät
- Herstellung knochenmarkstransplantierte Mäuse
- Transmigrationsassay und fluorochrom-basierter Adhäsionsassay
- MACS-basierte *ex vivo*-Isolation von Endothelzellen

#### Aktuelle Drittmittelvorhaben (im RCIS durchgeführt):

- Teilprojekt A8, SFB 633 „Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt“
- Rahel-Hirsch-Habilitationsförderprogramm der Charité

**AG Chronobiologie – Institut für Medizinische Immunologie****AG-Leitung:**

Univ. Prof. Dr. Achim Kramer  
Laboratory of Chronobiology  
Charité - Universitätsmedizin Berlin  
Hessische Str. 3-4  
D-10115 Berlin, Germany

Tel +49-(0)30-450 524263

Fax +49-(0)30-450 524942

[achim.kramer@charite.de](mailto:achim.kramer@charite.de)

<http://www.achim-kramer-lab.de/>

**Genutzte Räume:**

Hessische Str. 3-4, 10115 Berlin:

04010, 04011, 04013, 04016, 05007\*, 05013, 05019, 05001\*, 05002\*, 05003\*, 05004\*,  
05004a\*, 05008\*, 05009\*, 05010\*, 05011\*, 05012, 02019\*

(\* = gemeinsame Nutzung mit AG Volkmer, bzw. Multi-User-Nutzung)

**Mitarbeiter:**

Dr. Ute Abraham, Katrin Diesenberg, Astrid Grudziecki, Agnes Hahn, Annette Hayungs,  
Jeannine Mazuch, Dr. Bert Maier, Maike Mette, Dr. Silke Reischl, Manjana Saleh, Thomas  
Wallach, Sabrina Wendt

**Homepage:**

<http://www.achim-kramer-lab.de/>

**Forschungsgebiet:**

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit den molekularen Grundlagen des circadianen Systems von Säugern und dessen Auswirkung auf physiologische und Verhaltensprozesse. Dabei studieren wir unter anderem die Regulation intrazellulärer Prozesse (mit live cell imaging Techniken), die molekulare circadiane Oszillationen generieren. Ein Schwerpunkt liegt hierbei auf posttranslationalen Mechanismen (z.B. Phosphorylierung), die die Dynamik circadianer Oszillationen und damit auch Physiologie und Verhalten entscheidend beeinflussen. Darüber hinaus führen wir einen genomweiten RNAi-basierten Screen durch, der darauf abzielt, bislang unbekannte Gene des circadianen Systems zu identifizieren. Über Kooperation mit theoretischen Biologen/Mathematikern entwickeln wir theoretische Konzepte zur Generierung molekularer Oszillationen und Synchronisierung von oszillierenden Systemen. Ein weiterer Schwerpunkt unserer Forschungen ist die Untersuchung der Funktion circadianer Uhren für Physiologie im Gehirn sowie in peripheren Organen. Neben Untersuchungen zu Synchronisation und Funktion der circadianen Uhr im olfaktorischen Bulbus studieren wir die Rolle der circadianen Uhr im Immunsystem.

**Multi-User:**

Quantitative PCR (ABI), Kryostat (Micron), LC-MS/MS (Waters)

**Publikationen:**

1. Brown SA, Kunz D, Dumas A, Westermarck PO, Vanselow K, Tilmann-Wahnschaffe A, Herzel H, Kramer A (2008) Molecular insights into human daily behaviour. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105:1602-7. (IF 9.6, 2006)
2. Zhao W-N, Malinin N, Yang F-C, Staknis D, Gekakis N, Maier B, Reischl S, Kramer A, Weitz CJ (2007) CIPC is a mammalian circadian clock protein without invertebrate homologs. *Nature Cell Biol* 9:268-75 (IF 18.5, 2006)
3. Reischl S, Vanselow K, Westermarck PO, Thierfelder N, Maier B, Herzel H, Kramer A (2007)  $\beta$ -TrCP1 mediated degradation of PERIOD2 is essential for circadian dynamics. *J Biol Rhythms* 22:375-86. (IF 4.6, 2006)
4. Vanselow K, Vanselow JT, Westermarck PO, Reischl S, Maier B, Korte T, Herrmann A, Herzel H, Schlosser A, Kramer A (2006) Differential effects of PER2 phosphorylation: molecular basis for the human familial advanced sleep phase syndrome (FASPS). *Genes & Dev* 20:2660-2672 (IF 15.1, 2006)
5. Kramer A, Yang F-C, Snodgrass P, Li X-D, Scammel TE, Davis F, Weitz CJ (2001) Regulation of daily locomotor activity, sleep by hypothalamic EGF receptor signalling. *Science* 294:2511-2515 (IF 29.0, 2002)
6. Hoffmüller U, Knaute T, Hahn U, Höhne W, Schneider-Mergener J, Kramer A (2000) Evolutionary transition pathways for changing peptide ligand specificity and structure. *EMBO J* 19:4866-74 (IF 12.5, 2001)
7. Kramer A, Keitel T, Höhne W, Schneider-Mergener J (1997) Molecular basis of the binding promiscuity of an anti-p24 (HIV-1) monoclonal antibody. *Cell* 91:799-809 (IF 38.7, 1998)

**Aktuelle drittmittelgeförderte Projekte:**

DFG Emmy-Noether, SFB618/A4, SFB740/D2, FOR806/7, EU-IP EUCLOCK  
(alle Projekte werden im RCIS durchgeführt)

**Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Christoph Loddenkemper  
Charité Campus Benjamin Franklin  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: 030/8445-2964  
Fax: 030/8445-4473  
christoph.loddenkemper@charite.de

**Genutzte Räume:**

305 (Labor), 317 (Büro)

**Mitarbeiter:**

Dr. Ulrike Erben  
Dr. Anja Kühl  
Simone Spiekermann  
Katja Blunert  
Katja Grollich

**Forschungsgebiet:**

Die AG Loddenkemper beschäftigt sich mit der Entwicklung systematischer morphologischer Methoden zur Beurteilung mukosaler Entzündungsreaktionen und zur in-situ-Detektion definierter Zellpopulationen. Ein Schwerpunkt ist hierbei die zentrale systematische Bewertung pathologischer Veränderungen in verschiedenen Tiermodellen chronisch entzündlicher Darmerkrankungen (CED). Zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit der CED-Modelle untereinander wurden im Rahmen des SFB 633 ‚Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt‘ einheitliche Scoring-Schemata entwickelt. Gleichzeitig steht ein breites methodisches Nachweisspektrum zur immunhistologischen Charakterisierung von murinen und humanen Zellen (z.B. Lymphozyten, Makrophagen, dendritische Zellen) sowie anatomischen Strukturen (z.B. Gefäße) u.a. in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie des CBF zur Verfügung.

Zusätzlich werden immunfluoreszenzoptische und immunhistochemische Methoden verwendet, um u.a. die Funktionalität, Aktivität, und Antigen-spezifität sowie histologische Veränderungen zu erfassen. Ferner werden auf der Basis der Tetramertechnik immundominante Peptide bekannter Antigene charakterisiert und entsprechende Nachweisreagenzien entwickelt.

Die Methoden der in-situ-Detektion definierter Zellpopulationen können hoffentlich in der 2. Förderperiode im Rahmen eines Z-Projektes auch den Teilprojekten des SFB650 „Cellular approaches to a suppression of unwanted immune reactions“ zur Verfügung gestellt werden.

**Multi-User-Geräte/-Techniken:**

1. Rotations-Mikrotom
2. Cryostat

**Ferner könnte für andere Arbeitsgruppen interessant sein:**

1. Standardisierte Beurteilung pathologischer Veränderungen verschiedener Organe im Entzündungsgeschehen und die damit verbundene Nachweis-Methodik (klassische Immunhistochemie; Immunfluoreszenz in Einfach-, Doppel- und Mehrfachfärbungen incl. Tetramer-Färbung).

2. Unterstützung bei der Konstruktion, Expression und Reinigung rekombinanter Proteine z.B. von MHC/HLA-Tetrameren oder löslichen T-Zellrezeptoren.
3. Experimentelle Unterstützung bei verschiedenen Tiermodellen der Colitis (Maus, Ratte).

#### Publikationen:

1. Willmsky G, Czeh M, **Loddenkemper C**, Gellermann J, Wust P, Stein H, Blankenstein T. Tumor immunogenicity, not tumor burden is the primary cause of general cytotoxic T cell unresponsiveness. *J Exp Med* 2008;205:1687-700. IF: 14.484
2. Niesner U, Albrecht I, Janke M, Doebis C, **Loddenkemper C**, Eulenburg K, Chang HD, Lexberg MH, Kreher S, Koeck J, Baumgrass R, Bonhagen K, Kamradt T, Enghard P, Humrich JY, Rutz S, Schulze-Toppf U, Aktas O, Bartfeld S, Radbruch H, Baumgart DC, Duchmann R, Rudwaleit M, Haeupl T, Gitelman I, Krenn V, Gruen J, Sieper J, Zeitz M, Wiedenmann B, Zipp F, Hamann A, Janitz M, Scheffold A, Burmester GR, Radbruch A. Autoregulation of Th1-mediated inflammation by *twist1*. *J Exp Med* 2008;205:1889-901. IF: 14.484
3. Lahl K, **Loddenkemper C**, Drouin C, Freyer J, Arnason J, Eberl G, Hamann A, Wagner H, Huehn J, Sparwasser T. 2007. Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells induces a scurfy-like disease. *J Exp Med* 204: 57-63. IF: 13.965
4. **Kühl, A.A.**, Kakirman, H., Janotta, M., Dreher, S., Cremer, P., Pawlowski, N.N., **Loddenkemper, C.**, Heimesaat, M.M., **Grollich, K.**, Zeitz, M., Farkas, S., Hoffmann, J.C., Aggravation of Different Types of Experimental Colitis by Depletion or Adhesion Blockade of Neutrophils, *Gastroenterology* 2007;133:1882-92. IF: 12.457
5. Braig M, Lee S, **Loddenkemper C**, Rudolph C, Peters AH, Schlegelberger B, Stein H, Dorken B, Jenuwein T, Schmitt CA. Oncogene-induced senescence as an initial barrier in lymphoma development. *Nature* 2005; 436(7051):660-665. IF: 29.273
6. **Erben U**, Thiel E, Bittroff-Leben A, Schoch C, Fichtner I, Dürkop H, Notter M. 2003. CS-1, a novel c-kit<sup>hi</sup> acute myeloid leukemia cell line with dendritic cell differentiation capacity and absent immunogenicity. *Int J Cancer* 105: 232-40. IF: 4.700

#### Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte:

1. Entwicklung systematischer morphologischer Methoden zur Beurteilung mukosaler Entzündungsreaktionen und zur *in-situ*-Detektion definierter Zellpopulationen; Zeitz, Stein, Loddenkemper, TP-Z1 SFB 633 'Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt' (2007/2-2011/1)
2. Histomorphologische Beurteilung und Immunophänotypisierung von Zellpopulation mit Beteiligung bei der Antigenverarbeitung (humanes Gewebe und Mausgewebe); TP-Z3 SFB 421 'Protektive und pathologische Folgen der Antigen-Verarbeitung' (bis Ende 2008)

**AG Systemimmunologie****Arbeitsgruppenleiterin:**

Dr. Michal Or-Guil,  
 FachInstitut Theoretische Biologie,  
 Humboldt-Universität zu Berlin,  
 Invalidenstr. 43, 10115 Berlin.  
 Tel. 030-450 524044

**Standort:**

RCIS, Hessische Str. 3-4,  
 Raum 02-023

**Mitarbeiter:**

Dipl. Chem. Juliane Bongartz, Dipl. Biol. Nicole Bruni, Mag. Rer. Nat. Atijeh Valai, Dipl. Phys. Tom Weber, Dipl. Math. Armin A. Weiser, Dr. Nicole Wittenbrink, Andreas Wolf, Dr. Lei Zhang

**Homepage:** <http://sysimm.eu/>

**Forschungsgebiet:**

Hauptmerkmal der humoralen Immunantwort ist die Erhöhung der mittleren Affinität von Antikörpern als Folge der sogenannten Affinitätsreifung. Dieser Prozess findet in Keimzentren statt, die in den sekundären lymphatischen Organen als Folge der Wechselwirkung und Aktivierung antigen-spezifischer B-Lymphozyten mit Helfer-T-Zellen und folliculären dendritischen Zellen, ausgebildet werden. Trotz intensiver Forschungsarbeit sind die Mechanismen, die zur Affinitätserhöhung führen, bislang nur wenig verstanden. Die Hauptinteressen unserer Arbeitsgruppe liegen in der Erforschung der Mikroevolution von B-Zellen in Keimzentren sowie der Charakterisierung des Antikörper-Repertoires und der Nutzung der Antikörper-Reaktivität im Blut für diagnostische Zwecke.

Dazu machen wir Gebrauch von verschiedenen experimentellen Techniken (konfokale Mikroskopie, Multiparameter-Durchflußzytometrie, Hochdurchsatz-Affinitätsmessungen mit Peptid-Mikroarrays) in Kombination mit theoretischen Methoden (stochastische und deterministische Modellierung, maschinelles Lernen, Theorie optimaler Steuerung). Es werden zur Zeit folgende Themen bearbeitet:

- Synchronisation der Entstehung und Entwicklung von Keimzentren
- Kinetik der zellulären Bestandteile der Keimzentrumsreaktion
- Vergleichende Analyse von primären B-Zell-Rezeptor-Sequenzen aus lebenden und phagozytierten Keimzentrums-B-Zellen
- Analyse des Migrationsverhaltens von Keimzentrums-B-Zellen
- Abschätzung der zeitlichen Entwicklung der Affinitätsreifung basierend auf B-Zell-Rezeptor Sequenzanalysen
- Analyse der Häufigkeit von Punktmutationen bei der Affinitätsreifung als ein Hinweis auf positiv und negativ selektierte Mutationen
- Affinitätsreifung als ein durch Daten abgegrenztes Optimierungsproblem
- Definition eines reduzierten Aminosäure Satzes mittels einer neuen, ausschließlich auf Bindungsaffinitäten basierenden Substitutionsmatrix

- Untersuchung der Reaktivität des Serum Antikörper-Repertoires mittels Peptid-Mikroarray Bindungsstudien unter Verwendung zufällig generierter Peptidbibliotheken
- Klassifizierung von Antikörper-Repertoires zur Diagnose von Allergien, Infektions- und Autoimmunkrankheiten und zur Prognose von Transplantationsabstoßung

Detaillierte Informationen werden auf unserer Homepage (<http://sysimm.eu>) zur Verfügung gestellt.

#### Multi-User Geräte:

Microarray Scanner GenePix 4200AL

#### Publikationen:

M. Or-Guil, N. Wittenbrink, A.A. Weiser, J. Schuchhardt: Recirculation of germinal center B cells: a multilevel selection strategy for antibody maturation, *Imm. Rev.* (2007) (IF 7)

J. Bongartz<sup>1</sup>, V. Tapia<sup>\*</sup>, M. Schutkowski, N. Bruni, A. Weiser, B. Ay, R. Volkmer, M. Or-Guil: Affinity Profiling Using the Peptide Microarray Technology: A Case Study, *Anal. Biochem.* (2007) (IF 3)

M. Or-Guil<sup>\*</sup>, A.A. Weiser<sup>\*</sup>, V. Tapia, A. Leichsenring, J. Schuchhardt, C. Frömmel, R. Volkmer-Engert: SPOT synthesis: Reliability of Array-Based Measurement of Peptide Binding Affinity, *Anal. Biochem.* 342 (2005) (IF 3)

M. Bär, L. Bruschi, M. Or-Guil: Mechanism for Spiral Wave Breakup in Excitable and Oscillatory Media, *Phys. Rev. Lett.* 92 (2004) (IF 6,6)

M. Bär, M. Or-Guil: Alternative Scenarios of Spiral Breakup in a Reaction-Diffusion Model with Excitable and Oscillatory Dynamics, *Phys. Rev. Lett.* 82, 1160 – 1163 (1999) (IF 6,6)

#### Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte:

- Förderung der Nachwuchsgruppe Systems Immunology durch die VolkswagenStiftung
- Partner des SYSTHER Konsortiums - Systems Biology Tools for Cell Therapy and Drug Development (BMBF)

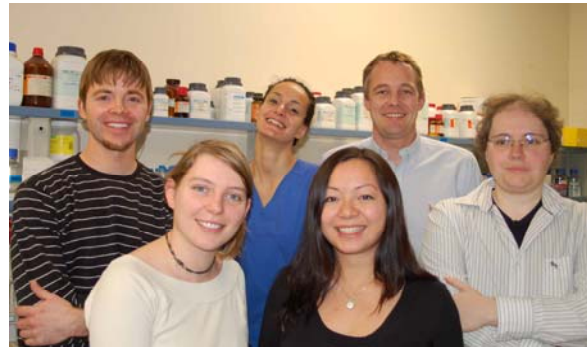
Alle Projekte werden ganz oder teilweise in den Räumlichkeiten des RCIS durchgeführt.

---

<sup>1</sup> Diese Autoren haben den gleichen Beitrag geleistet

**AG Arteriosklerose-Restenose****Arbeitsgruppenleiter:**

Herr Dr. med. Klaus Pels  
Charité - Campus Benjamin Franklin  
Medizinische Klinik II  
Kardiologie und Pulmologie  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin



Tel.: +49-30-8445-2349

Email: klaus.pels@charite.de

**Genutzte Räume im Tibor-Diamantsteinhaus:**

R. 113 (1/2 Labor)

**Mitarbeiter:**

Frau Dr. med. vet. Sandra Artinger  
Frau Dipl.-Biol. Chantip Dang-Heine  
Frau Diana Bösel (BTA)  
Herr Jens Klinowski (Doktorand, Veterinärmediziner)  
Frau Stefanie Utchil (Doktorandin, Humanmedizinerin)

**Forschungsgebiet:**

Die koronare Restenose nach Herzkatheterintervention und die sogenannte In-Stent-Restenose seit Einführung der Implantation von Koronarstents stellen ein gravierendes klinisches und bei hoher Anzahl notwendiger Reinterventionen auch ein großes volkswirtschaftliches Problem dar. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit Jahren mit der Untersuchung der der koronaren Restenose zugrunde liegenden Pathomechanismen und der Erforschung neuer Therapieoptionen im Großtiermodell des Schweines (lokale koronare Gen- und Strahlentherapie).

Thiazolidindione werden klinisch zur Behandlung des Typ II Diabetes eingesetzt. Sie aktivieren den Transkriptionsfaktor „Peroxisome proliferator-activated receptor gamma“ (PPAR $\gamma$ ) und regulieren verschiedene Zielgene, die über die Blutzucker-Kontrolle hinaus in Lipidmetabolismus, Inflammation, Apoptose und Zellproliferation involviert sind. Rosiglitazon erscheint somit als ideale Substanz im Hinblick auf eine Stentbeschichtung zur Verhinderung von In-Stent-Restenosen oder Spätkomplikationen wie Thrombosebildung nach kathetergestützten Koronarinterventionen. Der lokale Einsatz von Rosiglitazon stellt ein viel versprechendes Novum dar, ist bisher noch nicht untersucht worden und eröffnet Möglichkeiten für eine innovative, effiziente und kostengünstigere Therapie der koronaren Restenose. Unsere Arbeitsgruppe untersucht in einem zu diesem Thema aktuell laufenden Projekt, inwieweit die lokale Applikation dieses PPAR $\gamma$ -Liganden in einem präklinischen Schweinemodell die Restenoseformation nach Stentimplantation und auch die Thrombusbildung zu späten Zeitpunkten nach Intervention beeinflusst und welche Mechanismen dieser möglichen Beeinflussung zu Grunde liegen.

**Multi-User-Geräte in Raum 113:**

1. OLYMPUS System-Mikroskop BX51 mit digitaler Fotokamera und DP-SOFT Archivierungssoftware
2. Rotationsmikrotom HM 355 S, für Acrylharzschnitte

**Spezialtechniken:**

1. Immunhistologische Färbung und Auswertung von in Harz eingebetteten Gefäßen

**Publikationen:**

- Deiner, C., Shagdarsuren, E., Schwimmbeck, P.L., Rosenthal, P., Loddenkemper, C., Rauch, U., Pauschinger, M., Dietz, R., Schultheiss, H.P., Dechend, R., **Pels, K.**: Nf-kappa b and AP-1 activation is associated with late lumen loss after porcine coronary angioplasty and antiproliferative beta-irradiation, *Cardiovasc Res*, Jul/2007, 75(1): 195-204 5,826
- Goldin-Lang, P.\*, **Pels, K.\***, Tran, Q.V., Szotowski, B., Wittchen, F., Antoniak, S., Willich, T., Witt, H., Hummel, M., Lenze, D., Poller, W., Schultheiss, H.P., Rauch, U.: Effect of ionizing radiation on cellular procoagulability and co-ordinated gene alterations, *Haematologica*, Aug/2007, 92(8): 1091-1098, \*equal contribution 5,032
- Geller JC, Cassens S, Brosz M, Keil U, Bernarding J, Kropf S, Bierwirth RA, Lippmann-Grob B, Schultheiss HP, Schlüter K, **Pels K.**: Achievement of guideline-defined treatment goals in primary care: the German Coronary Risk Management (CoRiMa) study; *Eur H J*, Dec/2007, 28(24), 3051-3058. 7,341
- Deiner, C., Schwimmbeck, P.L., Koehler, I.S., Loddenkemper, C., Noutias, M., Nikol, S., Schultheiss, H.P., Yla-Herttuala, S., **Pels, K.**: Adventitial VEGF165 gene transfer prevents lumen area loss through induction of positive remodeling and enhanced elastin accumulation after angioplasty in porcine coronary arteries, *Atherosclerosis*, Nov/2006, 189(1): 123-132 3,811
- Pels, K.**, Deiner, C., Coupland, S.E., Noutsias, M., Sutter, A.P., Schultheiss, H.P., Yla-Herttuala, S., Schwimmbeck, P.L.: Effect of adventitial VEGF<sub>165</sub> gene transfer on vascular thickening after coronary artery balloon injury, *Cardiovasc Res*, Dec/2003, 60(3): 664-672 5,826
- Pels, K.**, Labinaz, M., Hoffert, C., O'Brien, E.R.: Adventitial angiogenesis early after coronary angioplasty: Correlation with arterial remodelling, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, Feb/1999, 19(2): 229-238 6,883

**Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte:**

Else-Kröner-Fresenius-Stiftung (P17/05//A69/04//F00): Pels, K: Einfluss systemischer und lokaler Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) – Aktivierung auf die Pathomechanismen der Restenose/In-Stent-Restenose nach experimenteller Koronarintervention. 2006-2009. (*Durchführung im RCIS*).

**ArbeitsgruppenleiterIn:**

Prof. Dr. med. Wolfgang Poller  
Charité-Campus Benjamin Franklin  
Medizinische Klinik II  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: 030-8445-2847  
wolfgang.poller@charite.de

**Genutzte Räume:**

105 + 106 + 121 (nur Mitnutzung)

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Stefanie Krohn, Xiaomin Wang, Lennart Suckau, Sandra Pinkert, Frank Wittchen

**AG homepage :**

[www.sfb-transregio-19.de](http://www.sfb-transregio-19.de) (Projekte A1 und C5)

**Forschungsgebiet:**

1. Anti-inflammatorische und anti-virale Therapie,
2. Inflammatorische und virale Kardiomyopathien Gentherapie,
3. therapeutische RNA Interferenz,
4. Herzinsuffizienz - Molekulare Pathogenese und Therapie

**Spezialtechniken die für andere von Interesse sein könnten:**

1. Gentransfertechnologien (adenovirale und AAV-basierte Vektoren, regulierbare Expressionssysteme)
2. RNA Interferenz in vitro und in vivo
3. microRNA Analysen und Assays
4. Kardiovaskuläre Primärzellkulturen

**Publikationen:**

1. Lisewski U, Shi Y, Wrackmeyer U, Fischer R, Chen C, Schirdewan A, Jüttner R, Rathjen F, Poller W, Radke M, Gotthardt M (2008) The tight junction protein CAR regulates cardiac conduction and cell-cell communication. *Journal of Experimental Medicine* 205:2369-2379 (Epub 2008 Sep 15). **IF: 15.612**
2. Shi Y, Chen C, Lisewski U, Wrackmeyer U, Radke M, Westermann D, Sauter M, Tschöpe C, Poller W, Klingel K, Gotthardt M (2008) Cardiac deletion of the Coxsackievirus-Adenovirus-Receptor abolishes CVB3 infection and prevents myocarditis in vivo. *Journal of the American College of Cardiology*, in press. **IF: 11.054**
3. Suckau L, Fechner H, Chemaly E, Krohn S, Hadri L, Kockskämper J, Westermann D, Bisping E, Ly H, Wang X, Kawase Y, Chen J, Liang L, Sipo I, Vetter R, Weger S, Kurreck J, Erdmann V, Tschöpe C, Pieske B, Lebeche D, Schultheiss H-P, Hajjar R, Poller W (2008) Chronic Cardiac-Targeted RNA Interference for the Treatment of Heart Failure Restores Cardiac Function and Reduces Pathological Hypertrophy. *Circulation*, in press. **IF: 12.755**
4. Skurk C, Wittchen F, Suckau L, Witt H, Noutsias M, Ungethüm U, Schultheiss H-P, Poller W (2008) Description of a Local Cardiac Adiponectin System and its Deregulation in Dilated Cardiomyopathy. *European Heart Journal* 29: 1168-1180 (Epub 2008 Apr 3). **IF: 7.924**

5. Fechner H, Suckau L, Kurreck J, Sipo I, Wang X, Pinkert S, Loschen S, Rekittke J, Weger S, Dekkers D, Vetter R, Paul M, Lamers J, Poller W (2007) Highly Efficient and Specific Modulation of Cardiac Calcium Homeostasis by Adenovector-Derived short hairpin RNA Targeting Phospholamban. *Gene Therapy* 14: 211-218 (Epub 2006 Oct 5) **IF 4.836**

6. Wittchen F, Suckau L, Witt H, Skurk C, Lassner D, Fechner H, Sipo I, Ungethüm U, Ruiz P, Pauschinger M, Tschöpe C, Rauch U, Kühl U, Schultheiss H-P, Poller W (2007) Genomic Expression Profiling of Human Inflammatory Cardiomyopathy Suggests Novel Therapeutic Targets. *Journal of Molecular Medicine* 85: 253-267 (Epub 2006 Nov 15) **IF 5.157**

#### **Listung aktueller Drittmittelgeförderter Projekte:**

SFB Transregio 19, Teilprojekte A1 und C5

2. Förderperiode bewilligt, Laufzeit 2008/2 – 2012/1

**AG Scheibenbogen**

Klinische Tumorimmunologie & Immunmonitoring

**ArbeitsgruppenleiterIn:**

Prof. Dr. med. Carmen Scheibenbogen  
Institut für Med. Immunologie  
Charité Campus Mitte  
Luisenstr. 65  
10117 Berlin  
Tel. 030-450-524103/ -524062 (Sekretariat)  
Labor CCM 450-524138  
Labor CBF 8445-4576

**Genutzte Räume**

TDH 208 (Institut für Med. Immunologie)  
TDH 202 (Kooperationsprojekt mit Prof. Keilholz, Häm/Onk, CBF)

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter**

Sandra Bauer, MTA  
Dr. med. Anne Letsch  
Dipl. Biol. David Stather  
Dipl. Biotechn. Madlen Rother  
Nicole Görner  
Prof. Carmen Scheibenbogen

AG homepage:

<http://immunologie.charite.de/>

**Forschungsgebiet:**

- T-Zell-Monitoring klinischer Vakzine- und Zytokinstudien (WT1-Vakzine bei Leukämien und soliden Tumoren, IL-21 bei Pat. mit Melanom)
- Immunmodulatorische Effekte von Adiponectin (TP B7, SFB TR19)
- Immunmodulatorische Effekte von CCN1 (TP C5, SFB TR19)

**Multi-User-Geräte / Spezialtechniken:**

Funktionelle Multicolor-Durchflußzytometrie

**Publikationen**

Letsch A, Knoedler M, Na IK, Kern F, Asemissen AM, Keilholz U, Thiel E, Volk HD, **Scheibenbogen C**. CMV-specific central memory T cell reside in bone marrow. *Eur. J. Immunol*, 37, 3063-68, 2007 IF 4,7

Godal R, Keilholz U, Uharek L, Asemissen AM, Na IK, Thiel E, **Scheibenbogen C**. Lymphomas are sensitive to perforin dependent pathways despite expression of PI-9 and overexpression of bcl-2. *Blood*, 107, 3205-11, 2006 IF 10,3

Ghadjar P, Coupland SE, Na I-K, Noutsias M, Letsch A, Stroux A, Bauer S, Buhr H, Thiel E, **Scheibenbogen C\***, Keilholz U\*. Chemokine receptor CCR6 expression level is associated with liver metastases in colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 24, 1910-1916, 2006 \*Authors contributed equally IF 13,6

Asemissen AM, Keilholz U, Tenzer S, Müller M, Walter S, Stevanovic S, Schild H, Letsch A, Thiel E, Rammensee HG, **Scheibenbogen C**. Identification of an immunogenic HLA-A\*01-binding T cell epitope of WT1. *Clin Can Res* 12, 7676-7482, 2006 IF 6,2

Letsch A, Keilholz U, Assfalg G, Mailaender V, Thiel E, **Scheibenbogen C**. The bone marrow contains melanoma-reactive CD8<sup>+</sup> effector T cells and compared to peripheral blood enriched numbers of melanoma-reactive CD8<sup>+</sup> memory T cells. *Cancer Research*, 63, 5582-6, 2003 IF 7,6

**Scheibenbogen C**, Letsch A, Thiel E, Schmittel A, Mailaender V, Baerwolf S, Nagorsen D, Keilholz U. CD8 T cell responses to Wilms' tumor gene encoded protein WT1 and proteinase 3 in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 100, 2132-2137, 2002 IF 10,3

- Aktuelle Drittmittelgeförderte Projekte: (bitte markieren, welche davon ganz\* oder teilweise im RCIS durchgeführt werden)
  - **EU Integrated Project**, WP 02.03 Transcription factor PAX2 and PAX8 as new tumor antigens, Cancer Immunology and Immunotherapy, Koordination: Prof. Thierry Boon (Brüssel)
  - **\*José Carreras Leukämie-Stiftung**, T-Zell Therapie der AML, Kooperationspartner: Keilholz (Häm/Onk, CBF)\*
  - **\*Deutsche Krebshilfe**, Mechanismen der immunologisch vermittelten Regression beim Melanom, Kooperationspartner: Keilholz (Häm/Onk, CBF)\*
  - **\*SFB TR 19, Inflammatorische Kardiomyopathie**, Teilprojekte B7 und C5, Kooperationspartner: W. Poller (Kardiologie, CBF) u. C. Skurk (Kardiologie, CBF)

Start des Projektes: 01.07.2008

**Arbeitsgruppenleiter:**

Dr. Ahmed Sheriff  
Charite Universitätsmedizin  
Nephrologie und Internistische Intensivmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. U. Frei  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. R. Dietz

AG Dr. Sheriff  
RCIS  
Charite - Campus Mitte  
Hessische Str. 3-4  
10115 Berlin  
Tel: 030-450 513-326, 030-450 513-316, 030-450 513-334  
Fax: 030-450 513936

**Genutzte Räume:**

Hessische Str. 3-4 (03001, 03002, 03003)

**Mitarbeiter:**

Dr. Hassan Abdel-Aty  
Frank Gebauer  
Dr. rer. nat. Gunnar Janelt  
Dipl. Biotech. Aysun Karatas  
Dr. med. Diethelm Modersohn  
Rene Morgenstern  
Anett Reindl  
med. vet. Anna Christine Slagman  
Gabriele Tenschert  
Dipl.-Ing. Biotech. Birgit Vogt  
Carola Vonhof  
Susanne Wickert  
Franziska Wohlgemuth  
Dipl.-Ing. Biotech. Gülcan Yapici

**Forschungsgebiet:**

Ziel ist die Entwicklung eines neuen Therapieansatzes für die Behandlung nach z.B. Herzinfarkt und Schlaganfall. Die extrakorporale Therapie soll zur Verbesserung der klinischen Prognose durch Verminderung der Läsion im Infarktareal dienen.

Das therapeutische Ziel des Projektes ist die nebenwirkungsarme Absenkung von pathologisch erhöhten Blutspiegeln von CRP mit Hilfe eines extrakorporal eingesetzten CRP-Adsorbers. Der CRP-Adsorber soll die CRP-Blutspiegel zunächst bei Herzinfarktpatienten senken und dadurch das Infarktareal verringern, die vitalen Herzfunktionen erhalten und einen weiteren Herzinfarkt (ereignet sich oft im folgenden halben Jahr) verhindern. In präklinischen (Großtiermodell Schwein) und dann klinischen Pilotstudien soll sich die Therapie klinisch beweisen.

Die Projektziele sind im Einzelnen:

- die Entwicklung eines marktfähigen Prototyps eines CRP-Adsorbers,
- Proof of principle: Erprobung des Adsorbers in Zusammenarbeit mit der internistischen Intensivtherapie (Prof. Dr. Frei, Prof. Dr. Schindler) und der

Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie der Charité Universitätsmedizin  
(Prof. Dr. Dietz, Prof. Dr. Möckel)

- Ausgründung einer Firma nach erfolgreichem Test des Adsorbers im Tiermodell

#### Spezialtechniken, die für Andere von Interesse sein könnten:

- Apoptose, Nekrose, Gentherapie, Co-Stimulation
- Großtiererfahrung insbesondere kardiovaskulär und nephrologisch
- Qualitätsmanagement
- Regulatorische Betreuung (EU, non EU) der Produktgruppe Immunadsorber (Produktklasse III und IIb), deren Zubehör und des aktiven Medizinprodukts zur Steuerung der Immunadsorption
- FACS-Spezialistin, Coulter Counter

#### Publikationen:

[1] B. Vogt, B. Fuhrnrohr, R. Müller, and **A. Sheriff**, CRP and the disposal of dying cells: Consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, *Autoimmunity*, (2007) Jun, 40 (4):295-8; IF 1,4

[2] Franz S, Herrmann K, Fuhrnrohr B, **Sheriff A**, Frey B, Gaipf US, Voll RE, Kalden JR, Jack HM, Herrmann M. After shrinkage apoptotic cells expose internal membrane-derived epitopes on their plasma membranes. *Cell Death Differ* (2007) 14(4):733-42; IF 8,2

[3] U. Appelt, **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, J. R. Kalden, R. E. Voll, and M. Herrmann, Viable, apoptotic and necrotic monocytes expose phosphatidylserine: cooperative binding of the ligand Annexin V to dying but not viable cells and implications for PS-dependent clearance, *Cell Death Differ* 12 (2005) 194-196. IF 8,2

[4] M. Warncke, B. Vogt, J. Ulrich, M. D. von Laer, W. Beyer, H. Klump, B. Micheel, and **A. Sheriff**, Efficient in vitro transduction of naive murine B cells with lentiviral vectors, *Biochem Biophys Res Commun* 318 (2004) 673-679; IF 2,9

[5] **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, S. Franz, P. Heyder, R. E. Voll, J. R. Kalden, and M. Herrmann, Loss of GM1 surface expression precedes annexin V-phycoerythrin binding of neutrophils undergoing spontaneous apoptosis during in vitro aging, *Cytometry A* 62 (2004) 75-80; IF 2,7

[6] **A. Sheriff**, B. Vogt, M. Baumgart, C. Montag, B. Hollenbach, J. A. Schenk, J. Ulrich, F. Elias, and B. Micheel, Intracellular capture of B7 in antigen-presenting cells reduces costimulatory activity, *Biochem Biophys Res Commun* 301 (2003) 873-878; IF 2,9

- **Kurze Listung aktueller Drittmittelgeförderter Projekte (bitte markieren, welche davon ganz\* oder teilweise im RCIS durchgeführt werden)**

*Entwicklung von Therapien und Produkten zur Absenkung des Blutspiegels von pathogenem C-reaktivem Protein (CRP) bei Herzinfarktpatienten:*

GO-Bio-Förderprogramm des BMBF\*

**AG Siegmund****Arbeitsgruppenleiter:**

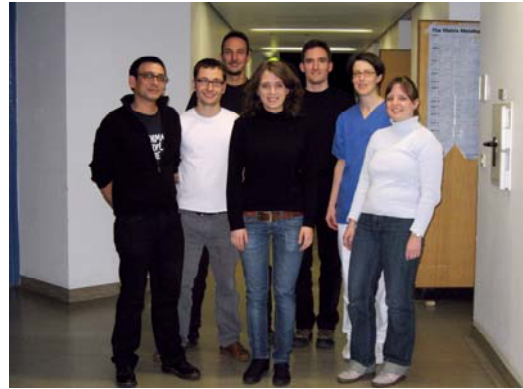
PD Dr. Britta Siegmund

**Genutzte Räume:**

Charité Campus Benjamin Franklin  
Karl-Landsteiner-Haus 3. Etage  
313 (Büro), 303 (Labor)

**Mitarbeiter:**

Dr. Arvind Batra  
Rainer Glauben  
Thorsten Stroh  
Inka Fedke  
Elena Sonnenberg  
Jakob Ihbe

**Forschungsgebiet:**

In der AG Siegmund werden zwei Forschungsfelder bearbeitet:

**1. Regulatorische Funktion von Präadipozyten/ Adipozyten und deren Mediatoren auf die intestinale Entzündung**

Das Fettgewebe wurde lange nur als Energiespeicher angesehen. Bei chronischer Entzündung kommt es jedoch zu einer Hypertrophie des die drainierenden Lymphknoten umgebenden Fettgewebes. Vergleichbar dazu, stellt die Hypertrophie des mesenterialen Fettgewebes ein phänotypisches Charakteristikum des Morbus Crohn dar. Für einzelne Mediatoren des Fettgewebes, wie z.B. Leptin konnten wir bereits eine kritische Funktion in der Regulation der intestinalen Entzündung nachweisen. In aktuellen Arbeiten werden weitere Adipokine in Bezug auf ihre regulatorische Rolle innerhalb der Immunantwort charakterisiert. Einen zusätzlichen Fokus stellt die Untersuchung von Präadipozyten und Adipozyten als Zellen des angeborenen Immunsystems dar. Ziel ist es die Funktion des mesenterialen Fettgewebes bei der intestinalen Entzündung im Menschen zu verstehen.

**2. Einfluss von Histon-Deazetylasen (HDAC) bzw. deren Inhibierung auf die Immunreaktion**

Dieses Projekt beschäftigt sich mit der Wirkung von HDAC-Inhibitoren in (chronischen) Kollitismodellen und Modellen Inflammations-assoziiierter Tumorgenese in der Maus. Hierauf aufbauend werden die molekularen Grundlagen dieser Wirkung *in vitro* untersucht, wobei die Schwerpunkte auf der Manipulation des NF- $\kappa$ B-Pathway in Monozyten und der Differenzierung von T-Helferzellen liegen. In diesem Zusammenhang arbeiten wir an einer umfassenden Analyse der Expression und Funktion von Histon-Deacetylasen in murinen Lymphozyten.

**Multi-User-Geräte/Techniken:**

Etabliert sind Durchführung und Analyse verschiedener Modelle experimenteller Kolitis und Inflammations-assoziiierter Tumorgenese in Mäusen.

In diesem Zusammenhang wird die experimentelle Endoskopie (Koloskopie) an Mäusen zur Analyse von Entzündungs- und Tumorgeneseverläufen routinemäßig angewendet.

Für andere Gruppen von Interesse könnte ebenfalls der spezifische Gen-Knock-Down mittels siRNA und Elektroporation sein, der für verschiedene Zelltypen und eine Vielzahl von Zielgenen etabliert ist.

**Publikationen:**

1. Stroh, T., Batra, A., Glauben, R., Fedke, I., Erben, U., Kroesen, A., Heimesaat, M.M., Bereswill, S., Girardin, S., Zeitz, M., et al. 2008. Nucleotide oligomerization domains 1 and 2: regulation of expression and function in preadipocytes. *J Immunol* 181:3620-3627. (JI: 6.068)
2. Glauben, R., Batra, A., Stroh, T., Erben, U., Fedke, I., Lehr, H.A., Leoni, F., Mascagni, P., Dinarello, C.A., Zeitz, M., et al. 2008. Histone deacetylases: novel targets for prevention of colitis-associated cancer in mice. *Gut* 57:613-622. (IF: 10,015)
3. Batra, A., Pietsch, J., Fedke, I., Glauben, R., Okur, B., Stroh, T., Zeitz, M., and Siegmund, B. 2007. Leptin-dependent toll-like receptor expression and responsiveness in preadipocytes and adipocytes. *Am J Pathol* 170:1931-1941. (IF: 5.917)
4. Glauben, R., Batra, A., Fedke, I., Zeitz, M., Lehr, H.A., Leoni, F., Mascagni, P., Fantuzzi, G., Dinarello, C.A., and Siegmund, B. 2006. Histone hyperacetylation is associated with amelioration of experimental colitis in mice. *J Immunol* 176:5015-5022. (JI: 6.068)
5. Siegmund, B., and Zeitz, M. 2005. Transglutaminases: new target molecules for inflammatory bowel disease? *Gut* 54:443-444. (IF: 10,015)
6. Siegmund, B., Sennello, J.A., Jones-Carson, J., Gamboni-Robertson, F., Lehr, H.A., Batra, A., Fedke, I., Zeitz, M., and Fantuzzi, G. 2004. Leptin receptor expression on T lymphocytes modulates chronic intestinal inflammation in mice. *Gut* 53:965-972. (IF: 10,015)

**Aktuelle Drittmittel-geförderte Projekte:**

Nachwuchsgruppe im Rahmen des Emmy-Noether-Programms der DFG

Einzelförderung: Histonacetylierung – Epigenetische Modifikationen als Regulator der intestinalen Effektor T Helferzellantwort

SFB 633 TP A12: Induktion und Modulation T-Zell-vermittelter Immunreaktion im Gastrointestinaltrakt

**ArbeitsgruppenleiterIn:**

Prof. Dr. Joachim Sieper  
Campus Benjamin Franklin (CBF)  
Medizinische Klinik I  
Rheumatologie  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin  
Tel.: 030/8445-4535  
E-Mail: joachim.sieper@charite.de

**Genutzte Räume:**

E 03 bis E 07 und E 21

**Mitarbeiter:**

PD Dr. Martin Rudwaleit, PD Dr. Heiner Appel, Marta Steinrich-Zöllner, Rebecca Scheer, Peihua Wu, Rene Heydrich, Adelheid Ditten, Timon Sommer

**AG homepage:** [www.rheumatologie-berlin.de](http://www.rheumatologie-berlin.de)

**Forschungsgebiet:**

Wir haben in den letzten Jahren unser Forschungsinteresse auf die Untersuchung der Pathogenese, der Epidemiologie, der Diagnose und der Behandlung einer Gruppe von entzündlich-rheumatischen Erkrankungen, die als Spondyloarthritiden (SpA) bezeichnet werden, konzentriert. Zu dieser Gruppe zählen die ankylosierende Spondylitis (Morbus Bechterew) als der Prototyp dieser Erkrankungen, die reaktive Arthritis, die Arthritis/Spondylitis bei Psoriasis und bei den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Die Gesamtprävalenz der SpA ist mit 0,6 bis 1,5 sicherlich ebenso hoch wie die der rheumatoiden Arthritis.

Bezüglich der Pathogenese haben wir die Hypothese aufgestellt und verfolgt, dass die primäre Immunantwort insbesondere bei der ankylosierenden Spondylitis gegen Knorpelantigene gerichtet ist. Diese Vermutung stützt sich auf kernspintomographische Untersuchungen, histopathologische Untersuchungen und den Nachweis von T-Zellantworten gegen Knorpelantigene in vitro. Wir selbst haben CD8+ T-Zellantworten gegen Aggrecan, einem Protein aus dem Knorpel nachweisen können (Zou, 2004). Im Folgenden haben wir dann die Suche nach möglichen Knorpelantigenen auf alle Knorpelproteine ausgedehnt und konnten in der Tat 2 Peptide identifizieren, die gegenüber CD8+ T-Zellen durch das HLA-B27 Molekül präsentiert wurden (Atagunduz, 2005). Dieser Nachweis gelang uns unter Verwendung von T-Zellen aus der Gelenkflüssigkeit von Patienten mit ankylosierender Spondylitis. Wir haben weiterhin Untersuchungen am Modell der HLA-B27 transgenen Maus durchgeführt und konnten in der Tat eine Arthritis im Maus-Modell durch Immunisierung mit einem Aggrecan-Peptid induzieren (Kuon, 2004). Zum Nachweis von antigenspezifischen T-Zellen im Gewebe haben wir die Herstellung von HLA-B27 Peptiden-Tetrameren in unserem Labor etabliert und konnten sowohl in Gelenkflüssigkeit als auch im Gewebe solche antigenspezifischen T-Zellen nachweisen (Appel 2004a, 2004b). Unser Ziel ist es hierbei zunächst, Peptide zu identifizieren und dann deren Bedeutung für den Nachweis von Peptid-spezifischen T-Zellen im Gewebe von SpA-Patienten mit Hilfe der Tetramer-Technologie nachzuweisen.

Weiterhin haben wir immunhistologische Untersuchungen von Hüftköpfen durchgeführt, die wir von Patienten mit AS erhalten haben, bei denen eine Hüftgelenk-Ersatzoperation durchgeführt wurde. Eine solche Operation ist bei bis zu 5% der AS-Patienten erforderlich da der Hüftkopf im Rahmen einer Entzündung betroffen sein kann. Hier konnten wir zeigen, dass T-Zellinfiltrate nur dort subchondral nachweisbar waren, wo auch noch Knorpel auf der Gelenkoberfläche vorhanden war, ein weiteres Argument, dass der Knorpel eine wichtige Rolle in der Immunantwort spielt (Appel et al Arthritis Rheum 54;1805-13, 2006 u. 54;2845-51, 2006).

Bessere Kenntnisse über Prognose und Verlauf bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis und anderen Spondyloarthritiden sind dringend erforderlich. Bisher gibt es dazu nur begrenzte Aussagen. Berichte über AS-Kohorten beinhalteten nur Patienten mit langer Krankheitsdauer. Aus diesem Grunde hatten wir innerhalb des Kompetenznetzes Rheumatologie in Deutschland eine Spondyloarthritis-Inzeptionskohorte vor 5 Jahren begonnen, bei denen Patienten nur eingeschlossen werden konnten, wenn die Krankheitsdauer nicht länger als 5-10 Jahre war. Die ersten Patienten aus dieser Kohorte werden z.Zt. bereits 5 Jahre beobachtet und die Daten werden im Augenblick ausgewertet. Wir erwarten dadurch wichtige Einblicke in dieses Krankheitsbild. Im Rahmen dieser Kohorte werden im Labor begleitende serologische, DANN- und T-Zell-Untersuchungen durchgeführt.

Weiterhin haben wir innerhalb des NGFN (Nationales Genomforschungsnetz) aktiv dazu beigetragen, die entzündlichen Signaturen von hochgereinigten Lymphozyten und Thrombozyten bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis zu analysieren, dies auch im Vergleich zu anderen entzündlich-rheumatischen Erkrankungen.

Zusätzliche Projekte sind serielle immunhistologische Untersuchungen der Synovialmembran von Patienten mit reaktiver Arthritis unter TNF-Blocker-Therapie (DFG-Projekt innerhalb der Klinischen Forschergruppe KFO SI620/8-4) und serielle immunhistologische Untersuchungen der Synovialmembran von Patienten mit Arthritis unter intraartikulärer Injektion von Morphin (DFG-Projekt innerhalb der Klinischen Forschergruppe KFO- 100/2-1) und Identifizierung und Charakterisierung von E. coli Antigen-spezifischen T-Zellen bei Morbus Crohn und seinen rheumatologischen Manifestationen (DFG-Projekt SFB 633, TP 4).

### **Multi-User-Geräte, die anderen AG Gruppen zur Verfügung gestellt werden, und Spezialtechniken, die für andere Gruppen von Interesse sein könnten:**

Mikroskop von Olympus: Synovialmembranen, Femurköpfe von AS-, RA- und OA-Patienten, Facettengelenke (Wirbelsäule) von AS- und OA-Patienten mikroskopieren. Konv. Immunhistologie und Immunfluoreszenzmikroskopie vornehmen. Kamera von Olympus: Digitale Speicherung und Dokumentation der Untersuchungsergebnisse.

### **Publikationen:**

1. Appel H, Kuhne M, Spiekermann S, Kohler D, Zachr J, Stein H, Sieper J, Loddenkemper C: Immunohistochemical analysis of hip arthritis in ankylosing spondylitis: evaluation of the bone-cartilage interface and subchondral bone marrow. Arthritis Rheum 54;1805-13, 2006  
Impact-Factor 7.421
2. Appel H, Kuhne M, Spiekermann S, Ebhardt H, Grozdanovic Z, Kohler D, Dreimann M, Hempfing A, Rudwaleit M, Stein H, Metz-Stavenhagen P, Sieper J, Loddenkemper C: Immunohistologic analysis of zygapophyseal joints in patients with ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum 54;2845-51, 2006  
Impact-Factor 7.421
3. Atagunduz P, Appel H, Kuon W, Wu P, Thiel A, Kloetzel PM, Sieper J: HLA-B27-restricted CD8+ T cell response to cartilage-derived self peptides in ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum 52(3):892-901, 2005  
Impact-Factor 7.421

4. Kuon W, Kuhne M, Busch DH, Atagunduz P, Seipel M, Wu P, Morawietz L, Fernahl G, Appel H, Weiss EH, Krenn V, Sieper J: Identification of novel human aggrecan T cell epitopes in HLA-B27 transgenic mice associated with spondyloarthritis. J Immunol 173:4859-66, 2004  
Impact-Factor 6.387

5. Appel H, Kuon W, Kuhne M, Hülsmeier M, Kollnberger S, Kuhlmann S, Weiss E, Zeitz M, Wucherpfennig K, Bowness P, Sieper J: The solvent-inaccessible Cys-67 residue of HLA-B27 contributes to T cell recognition of HLA-B27/peptide complexes. J Immunol 173:6564-73, 2004  
Impact-Factor 6.387

6. Braun J, Brandt J, Listing J, Zink A, Alten R, Krause A, Golder W, Gromnica-Ihle E, Kellner H, Schneider M, Sörensen H, Zeidler H, Thriene W, Sieper J: Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab – a double-blind placebo controlled multicenter trial. The Lancet 359:1187-93, 2002  
Impact-Factor 23.878

### **Drittmittelgeförderte Projekte (bitte markieren, welche davon ganz\* oder teilweise im RCIS durchgeführt werden)**

„Immunpathogenese und Interventionsstrategien bei mukosalen Infektionen“ Teilprojekt 6: Immunmodulatorische Therapie-ansätze bei der chronischen reaktiven Arthritis: Antibiotika plus Immunstimulation versus Antibiotika plus Immunsuppression. Prof. Dr. J. Sieper/ PD Dr. M. Rudwaleit. DFG innerhalb der Klinischen Forschergruppe KFO SI620/8-4

„Molekulare Mechanismen der Opioidanalgesie bei Entzündungsschmerz“. TP 7: Intraartikuläre Applikation von Opioiden und Corticotropin Releasing Factor bei chronischer Arthritis Prof. Dr. J. Sieper/Prof. C. Stein. DFG-Projekt innerhalb der Klinischen Forschergruppe KFO- 100/2-1

SFB 650: TP11 „Induktion und Stabilisierung des IL-10 Gedächtnisses von T<sub>H</sub>1-Zellen für zelluläre immunregulatorische Therapien“. Dr. A. Thiele/Prof. Dr. J. Sieper. DFG-Projekt SIPAGE: „Chronic Inflammation“ Prof. Sieper/ PD Dr. Rudwaleit BMBF FKZ 01GS0413 TP 28

SFB 633: TP 4 "Identifizierung krankheitsbedingter T-Zell-Epitope für die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und ihre rheumatischen Manifestationen. Prof. Dr. J. Sieper. DFG-Projekt.

Verbundprojekt Kompetenznetz Rheuma. Prof. Sieper /PD Dr. Rudwaleit. BMBF/DLR-Projekt

"Untersuchungen zur Immunpathologie bei ankylosierender Spondylitis und Identifizierung von autoreaktiven CD8<sup>+</sup> T-Zellen gegen Knorpelantigene in situ und in der Synovialflüssigkeit" FKZ AP/82-3-1 für 2005 bis 2008. Dr. Appel. DFG Projekt

**AG Molekulare Bibliotheken****Arbeitsgruppenleitung**

Dr. Rudolf Volkmer  
Institut für Medizinische Immunologie  
Charite-Universitätsmedizin Berlin  
Hessische Str. 3-4  
10115 Berlin

**Mitarbeiter:**

Dr. Prisca Boisguerin<sup>1</sup>, Dr. Bernhard Ay<sup>1</sup>, Dr. Rolf Stigler<sup>5</sup>, Dr. Bajarjargal Moonho<sup>7</sup>, Dipl. Chem. Zerrin Fidan<sup>2</sup>, Dipl. Biol. Carsten Mahrenholz<sup>2</sup>, Dipl. Biol. Victor Tapia<sup>2</sup>, Dipl. Chem. Steffen Kröning<sup>2</sup>, Dipl. Ing. Marc Hovestaedt<sup>2</sup>, Dipl. Biol. Lars Vouilleme<sup>2</sup>, Dipl. Biol. Judith Müller<sup>2</sup>, Julia Tribus<sup>3</sup>, Eike Wolter<sup>3</sup>, Anja Krüger<sup>4</sup>, Ines Kretzschmar<sup>6</sup>, Christiane Landgraf<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Postdoc, <sup>2</sup>Doktorand/in, <sup>3</sup>Diplomand/in, <sup>4</sup>stud. Hilfskraft, <sup>5</sup>Admin. <sup>6</sup>TA/Laborleitung, <sup>7</sup>DAAD-Stipendiatin

**Genutzte Räume<sup>1</sup>:**

02009a/b, 02016, 02017, 02018, 04008b, 04009, 005005, 05006, 05015, 05016, 05017, 05010\*, 05011\*, 05012\*, 04008b\*, 04009\*.  
(Multi-User-Räume) 05008/9 und 05018

<sup>1</sup>= Angabe der genutzten Räume aus RCIS Datenbank übernommen

\*= Nutzung zusammen mit AG Kramer

**Forschungsgebiet:**

Die AG Molekulare Bibliotheken fokussiert sich überwiegend auf die detaillierte Untersuchung unterschiedlicher molekularer Erkennungsprozesse. Ein Spektrum von Protein-Ligand-Interaktionen, in dem Antikörper, MHC-Moleküle, T-Zellrezeptoren, Protein-Interaktions-Domänen, Coiled-coiled-Domänen und verschiedene Arten von membranständigen Rezeptoren die Zielmoleküle sind, werden von der Gruppe, meist in Zusammenarbeit mit Kooperationspartnern, bearbeitet. Wir nutzen vorrangig chemische Methoden für die Erforschung dieser hauptsächlich biomolekularen Interaktionen. Für die SPOT Technologie besitzt die Gruppe eine hervorragende Expertise und genießt, belegt durch zahlreiche Publikationen mit internationaler Beteiligung, hohes internationales Ansehen. Innerhalb des RCIS arbeiten wir mit der AG Michal OrGuil zusammen. Zwei gemeinsame Publikationen sind bisher daraus entstanden. Momentane Schwerpunkte in unserer Forschung sind: (i) Entwicklung selektiv IgG-3-Fc-bindender Peptide; (ii) Entwicklung eines *in vivo* Arrays um mit z. B. Peptiden intrazelluläre Prozesse zu interferieren; (iii) Aufbau eines auf Silizium basierenden Biosensors für die Immundiagnostik; (iv) Coiled-Coil Netzwerke und deren Verwendung für die synthetische Biologie und (v) Peptidarrays für die Allergieforschung zusammen mit Prof. Worm und Michal OrGuil. Über die Jahre hat sich ein weit verzweigtes Netzwerk wissenschaftlicher Zusammenarbeit entwickelt. Das reicht von den Berliner Instituten wie dem DRFZ, FMP, ISAS, HMI und MDC über Kooperationen mit deutschen Universitäten, wie z. B. der Universität Jena (Thomas Kamradt), Universität Bonn (Dieter Fürst), Universität Freiburg (Nikolaus Pfanner), Universität Heidelberg (Prof. Bernd Bukau) bis hin zu internationalen Kooperationen wie z.B. mit der Universität Zürich (Karin Moelling), Universität Rom (Prof. Gianni Cesareni), Universität Cambridge (Prof. Ernest Laue), Universität Vancouver (Prof. Bob Hancock) oder dem Weiss Center, Pennsylvania (Prof. Marius Sudol).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das evolutionäre Prinzip der Selektion aus kombinatorischer Vielfalt für uns ein wichtiges Leitprinzip darstellt. Daher setzen wir zellulosegebundene Bibliotheken – Peptidarrays, als Werkzeuge für die Struktur- und Funktionsanalyse von biologischen Molekülen ein.

**Publikationen:**

Tapia V, Ay B, Triebus J, Wolter E, Boisguerin P, Volkmer R (2008). Evaluation the coupling efficiency of phosphorylated amino acids for SPOT synthesis. J Pept Sci 2008, Sep. [Epub ahead of print]

Boisguerin P, Ay B, Radziwill G, Fritz RD, Moelling K, Volkmer R (2007). Characterization of a Putative Phosphorylation Switch: Adaptation of SPOT Synthesis to Analyze PDZ Domain Regulation Mechanisms. ChemBioChem, 2007, 8(18):2302-7

Portwich M, Keller S, Strauss HM, Mahrenholz CC, Kretzschmar I, Kramer A, Volkmer R (2007). A network of coiled-coil associations derived from synthetic GCN4 leucine-zipper arrays. Angew Chem Int Ed Engl. 46(10):1654-7

Ay B, Streit M, Boisguerin P, Schlosser A, Mahrenholz CC, Schuck SD, Kern F, Volkmer R (2007). Sorting and pooling strategy: a novel tool to map a virus proteome for CD8 T-cell epitopes. Biopolymers. 2007;88(1):64-75.

Tapia v, Bongartz J, Schutkowski M, Bruni N, Weiser A, Ay B, Volkmer R, Or-Guil M (2007). Affinity profiling using the peptide microarray technology: a case study. Anal Biochem. 2007, 363(1):108-18

**Aktuelle Drittmittel geförderte Projekt**

SFB 449 TP Z1: Kartierung von Rezeptor-Peptid-Interaktionen

SFB/TR 19 TP B1: Einsatz molekularer Bibliotheken zur Identifizierung von T-Zell-Epitopen im Proteom von Myokarditis induzierenden Enteroviren am Beispiel des Coxsackievirus B3;

FOR 475: TP Struktur und Stabilität kleiner  $\beta$ -Faltblattprotein

FOR 806: TP Defining cellular functions of the A kinase-anchoring protein AKAP18

DFG Einzelprojekt VO 885/3-1: Entwicklung eines *in vivo* Arrays

EFRE Förderung: Entwicklung von Biosensoren auf Siliziumbasis für die Immundiagnostik

BMBF: „Cardioimmun“ spezifische IgG Klasse 3 Binder

**Kontakt:**

Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Büro Forschungsmanagement RCIS / NWFZ  
Tel.: +49 (0)30 450 513 406  
[www.charite.de/rcis](http://www.charite.de/rcis)