



# Berlin Immunology Day

# 2010

organized by RCIS - Research Center  
ImmunoSciences

Thursday December 9<sup>th</sup>, 2010, 09:15 – 18:00 h  
Paul-Ehrlich Hörsaal, Virchowweg 4, CCM

# Berlin Immunology Day Program

Thursday December 9<sup>th</sup>, 2010, 09:15 – 18:00 h  
Paul-Ehrlich Hörsaal, Virchowweg 4, CCM

Time	Speaker	Title of Presentation
09:15 – 09:30	A. Hamann	Welcome and report on the development of RCIS at the Charité
<b>Block 1 – Molecular Immunology – chaired by A. Radbruch</b>		
09:30 – 10:00	C. Scheidereit (MDC)	<b>Mechanisms of IKK – NF-<math>\kappa</math>B signalling in immune and genotoxic responses</b>
10:00 – 10:15	S. Frischbutter (DRFZ)	Discovery of novel molecular mechanisms within the NF- $\kappa$ B signaling in Th cells
10:15 – 10:30	L. Mochmann (AG Baldus)	Genome wide screen reveals <i>WNT11</i> , a noncanonical WNT gene, as a target of the ETS transcription factor ERG
10:30 – 10:45	M. Rother (AG Scheibenbogen)	The Matricellular Signaling Molecule CCN1 Attenuates Experimental Autoimmune Myocarditis by Acting as a Novel Immune Cell Migration Modulator
10:45 – 11:00	G. Grütz (Charité)	Post-transcriptional control of cytokine production
11:00 – 11:15	M. Mashreghi (DRFZ)	miR-182 is induced by IL-2 and promotes the clonal expansion of activated helper T lymphocytes
11:15 – 11:45	<b>Coffee Break</b>	
<b>Block 2 – Cellular Immunology and Immunity – chaired by M. Zeitz</b>		
11:45 – 12:15	F. Melchers (MPIIB)	<b>From stem cells to B cells</b>
12:15 – 12:30	S. Schlickeiser (AG Sawitzki)	Complex N-glycan signature identifies responsiveness to TNF- $\alpha$ induced dendritic cell maturation – selective requirement for hybrid-type N-glycans
12:30 – 12:45	L. I. Kredel (AG Siegmund)	Adipokine-induced polarization of macrophages in the mesenteric fat tissue
12:45 – 13:00	E. Danilowicz-Luebert (Humboldt Universität)	Role of mast cells in early Th2 induction during nematode infection
13:00 – 14:30	<b>Lunch and Poster Session (Foyer DRFZ)</b>	

Program continued RCIS Berlin Immunology Day December 9<sup>th</sup>, 2010

**Block 3 – Cellular Immunology and Immunity – chaired by H. Wardemann**

Time	Speaker	Title of Presentation
14:30 – 15:00	A. Zychlinski (MPIIB)	<b>NETs: from infection to autoimmunity</b>
15:00 – 15:15	U. Höpken (MDC)	Cooperative function of CCR7 and lymphotoxin in the formation of a lymphoma-permissive niche within secondary lymphoid organs
15:15 – 15:30	D. Stather (AG Letsch/Keilholz)	Low expression of the T-cell exhaustion marker PD-1 and vaccine induced increase of T-cell maturation marker CCR7 are associated with favourable clinical outcome in a Wilms Tumor Gene 1 (WT1) peptide- vaccination trial in leukaemia patients
15:30 – 15:45	A. Hegazy (DRFZ)	Interferons and T-bet reprogram Th2 cells into a stable GATA-3+T-bet+ “Th2+1” cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions
15:45 – 16:00	S. Fillatreau (DRFZ)	Novel regulatory roles for IL-10-producing plasmablasts as suppressors of innate immunity

**16:00 – 16:30**      *Coffee Break*

**Block 4 – Clinical and translational Immunology – chaired by H.-D. Volk**

16:30 – 17:00	K. Matuschewski (MPIIB)	<b>Protective immune responses against Plasmodium liver stages</b>
17:00 – 17:15	C. Scheibenbogen	Vorstellung: Charité als neues FOCIS Center of Excellence
17:15 – 17:30	R. Volkmer (AG Volkmer)	F <sub>c</sub> -gerichtete Liganden zur Apherese autoreaktiver IgG <sub>3</sub> Antikörper
17:30 – 17:45	U. Syrbe (AG Sieper)	Synovial and Peripheral Blood CD4+ Foxp3+ T cells in inflammatory joint diseases
17:45 – 18:00	J. Pfeil (AG Hamann)	Induction of antigen-specific immunosuppression by carrier-conjugated peptides

<sup>1</sup> Keynote Lecture maximum 25 min. presentation, 5 min. discussion

<sup>2</sup> Normal presentation maximum 12 min. presentation, 3 min. discussion

## Inhaltsverzeichnis Arbeitsgruppen (alphabetisch nach AG-Leiter)

1.....Baldus .....	5
2.....Dörner .....	7
3.....Erben, Ulrike / Kühl, Anja .....	9
4.....Giet van der, Markus.....	11
5.....Grabowski, Patricia.....	13
6.....Hamann, Alf.....	17
7.....Hanski, Christoph .....	20
8.....Keilholz, Ulrich.....	22
9.....Klugewitz, Katja .....	27
10....Kramer, Achim.....	30
11....Or-Guil, Michal .....	32
12....Pels, Klaus.....	34
13....Penack, Olaf.....	36
14....Poller, Wolfgang.....	38
15....Salama, Abdulgabar.....	40
16....Sawitzki, Birgit .....	43
17....Scheibenbogen, Carmen .....	47
18....Sheriff, Ahmed.....	49
19....Siegmund, Britta.....	52
20....Sieper, Joachim.....	54
21....Volkmer, Rudolf.....	57
Kontakt .....	59

**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  
E-mail: claudia.baldus@charite.de

**Genutzte Räume**

TDH Räume: 205, 206

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Isabelle Bartram	(Diplom Biologin)
Juliane Bock	(Medizindoktorandin)
Ebru Coskun	(Diplom Biologin)
Sandra Heesch	(Diplom Pharmazeutin)
Dr. med. Andrea Kühnl	(wissenschaftliche Mitarbeiterin)
Liliana Mochmann	(Diplom Biologin)
Cornelia Schlee	(Biotechnologin)
Jutta Ortiz Sanchez	(Biotechnologin – z. Z. in Elternzeit)

**Forschungsfeld:**

Im Mittelpunkt der Arbeiten stehen die Untersuchungen zur Identifizierung von neuen molekularen Risikofaktoren bei der akuten Leukämie und die Charakterisierung der biologischen Bedeutung dieser Kandidatengenen in der Hämatopoese und Leukämogenese. Insbesondere wird die Funktion des ETS Transkriptionsfaktors ERG in der Hämatopoese und bei akuten Leukämien untersucht. Hierfür konnten mittels eines CHIP-on-CHIP Ansatzes Zielgene von ERG charakterisiert werden. Das ERG Targetgene WNT11 wurde so identifiziert, dessen Rolle bei akuten Leukämien bisher noch nicht bekannt war. Funktionelle Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Modulation von ERG und WNT11 das Proliferations- und Adhäsionsverhalten der Leukämiezellen beeinflusst.

Einen weiteren Schwerpunkt umfasst die Charakterisierung des IGF Signalweges bei akuten Leukämien, mit besonderem Fokus auf die Rolle der IGF Binding Proteine IGFBP2 und IGFBP7. Dieses ist von Interesse, da die Inhibition der IGF Rezeptoren in klinischen Studien bei verschiedenen soliden Tumorerkrankungen bereits getestet wird, der Stellenwert bei hämatologischen Erkrankungen bleibt hingegen noch zu untersuchen.

In einem weiteren Ansatz konnte mittels globaler Geneexpressionsuntersuchungen eine neue, sehr unreife Subgruppe der akuten T-lymphoblastischen Leukämie des Erwachsenen identifiziert werden: die early T-cell Progenitor ALL (ETP-ALL). Interessanterweise konnten wir in weiteren Untersuchungen eine sehr hohe Rate von Mutationen in der Rezeptortyrosinkinase FLT3 in dieser Subgruppe nachweisen. Hieraus ergeben sich erstmals neue molekular optimierte Therapiekonzepte mit den gezielten Einsatz von Tyrosinkinaseinhibitoren für diese neu identifizierte Subgruppe der FLT3 mutierten ETP-ALL. Insgesamt haben diese verschiedenen Projektarbeiten zum Ziel, prognostisch wie therapeutisch relevante Zielstrukturen und deren zugrundeliegende Regulationsmechanismen als Grundlage für neue therapeutische Konzepte zu untersuchen.

## Publikationen (6 wichtigste):

	IF
<b>Baldus CD</b> , 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.	10.5
<b>Baldus CD</b> , 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	11.8
<b>Baldus CD</b> , 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.	11.8
<b>Baldus CD</b> , 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	11.8
<b>Baldus CD</b> , Thibaut J, Goekbüget N, Stroux A, Schlee C, Mossner M, Burmeister T, Schwartz S, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. Prognostic implications of NOTCH1 and FBXW7 mutations in adult acute T-lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2009;94:1383-90.	5.9
Kühnl A, Goekbüget N, Stroux A, Burmeister T, Neumann M, Heesch S, Haferlach T, Hoelzer D, Hofmann WK, Thiel E, <b>Baldus CD</b> . High BAALC expression predicts chemoresistance in adult B-precursor acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2010;115(18):3737-44.	10.6

## Drittmittelprojekte:

- 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  
 Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 206**
- ab 06/2010      Einzelförderung durch Gutermuth Stiftung  
**Charakterisierung der molekularen und prognostischen Bedeutung von IGFBP2 bei der akuten myeloischen Leukämie**  
 Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie  
 Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**
- ab 08/2010      Einzelförderung durch die Berliner Krebsgesellschaft  
**Molekulare Charakterisierung der ETP-ALL**  
 Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie  
 Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 206**

**Pathophysiologische Veränderungen des mitochondrialen Energie-stoffwechsels bei inflammatorischer Kardiomyopathie****Arbeitsgruppenleiterin**

Dr.rer.nat Andrea Dörner  
Centrum 11, Campus Benjamin Franklin  
Kardiologie und Pneumologie  
Tel.: 8445 4581/4346; 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

J.Winter

S.Wika

S.Knüppel

**Forschungsschwerpunkte**

Myokarditis wird in unseren Breiten vor allem durch klassische kardiotope Viren wie Coxsackie- und Adenoviren ausgelöst. Das Coxsackievirus B3 ist diesbezüglich das best untersuchte virale Pathogen. Virale Replikation und (auto)-immunologische Mechanismen verursachen dabei in Abhängigkeit der genetischen/immunologischen Prädisposition des Organismus intrazelluläre Veränderungen, die langfristig zu Störungen der myokardialen Pumpfunktion und zur Herzinsuffizienz führen. Mitochondriale Fehlfunktionen und ein damit verbundener eingeschränkter zellulärer Energiestoffwechsel tragen hierbei zur Schwere der Erkrankungen bei. Wir analysieren welchen Einfluss immunologische Komponenten auf die mitochondriale Funktion nehmen und inwieweit sie an dem antiviralem Prozess des infizierten Gewebes beteiligt ist.

Des Weiteren arbeiten wir nach unserer Identifizierung von löslichen Formen des Coxsackie-Adenovirus-Rezeptors an deren therapeutischen 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**

Pinkert S, Westermann D, Wang X, Klingel K, **Dörner A**, Savvatis K, Gröbl T, Krohn S, Tschöpe C, Zeichhardt H, Kotsch K, Weitmann K, Hoffmann W, Schultheiss HP, Spiller OB, Poller W, Fechner H (2009) Prevention of Cardiac Dysfunction in Acute Coxsackievirus B3 Cardiomyopathy by Inducible Expression of a Soluble Coxsackievirus-Adenovirus-Receptor. *Circulation*, in press. IP 14,595

Ebermann L, Piper C, Kühl U, Klingel K, Schlattner U, Siafarikas N, Zeichhardt H, Schultheiss HP, **Dörner A**. (2009) Impact of myocardial inflammation on cytosolic and mitochondrial creatine kinase activity and expression. *Basic Res Cardiol* 104(3):247-57 IP 5,407

Wang Y, Ebermann L, Sterner-Kock A, Wika S, Schultheiss H.P, **Dörner A**, Walther T. (2009) Myocardial overexpression of adenine nucleotide translocase 1 ameliorates diabetic cardiomyopathy in mice. *Exp Physiol*: 94(2) 220-7. IP 2,91

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

**Drittmittelprojekte:**

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

DFG-Projekt FE 785/2-1: 2009-2012

**Arbeitsgruppenleiter**

Dr. rer. medic. Anja Kühl (Institut für Pathologie)  
Dr. rer. nat. Ulrike Erben (Medizinische Klinik I)  
Charité – Campus Benjamin Franklin  
Karl-Landsteiner-Haus (Haus IA)  
Hindenburgdamm 30  
12200 Berlin

**Mitarbeiter**

Katja Blunert  
Katja Grollich  
Simone Spieckermann

**Genutzte Räume**

305 (Labor), 317 (Büro/Mikroskop)

**Forschungsfeld:**

Die Expertise der Arbeitsgruppe, die von Christoph Loddenkemper geleitet wurde, liegt bei der Entwicklung systematischer Methoden zur Beurteilung histopathologischer Veränderungen in Mensch und Tier in verschiedenen entzündlichen Erkrankungen und zur *in situ*-Detektion definierter Zellpopulationen. Schwerpunkt ist hierbei die zentrale systematische Bewertung pathologischer Veränderungen (Scoring) in verschiedenen Tiermodellen (CED, Hepatitis, Arthritis). Spezifische Scores z.B. für Transfercolitis oder ConA-Hepatitis spiegeln spezifische Unterschiede und Gemeinsamkeiten der Entzündungsmuster in den vielfältigen Modellen wider. Gleichzeitig verfügen wir über ein breites methodisches Spektrum zur immunhistologischen Charakterisierung muriner und humaner Zellen (z.B. Lymphozyten, Makrophagen, dendritische Zellen), anatomischer Strukturen (z.B. Gefäße) oder von Zellvorgängen (z.B. Proliferation, Apoptose). Die Funktionalität, die Aktivität und Antigenspezifität von Zellsubpopulationen können z.B. über die Produktion von Zytokinen und Chemokinen immunfluoreszenzoptisch und immunhistochemisch *in situ* dargestellt werden. Mit einer Vielfalt rekombinanter Methoden, die die Herstellung und Verwendung von MHC/HLA-Tetrameren einschließen, werden entzündungsrelevante Antigene und deren MHC/HLA-Kontext für funktionelle CD8<sup>+</sup> oder CD4<sup>+</sup> T-Zellen in chronischen Entzündungen identifiziert und verifiziert. Rückschlüsse auf die präsentierenden Strukturen und auf restringierte Peptide sollen die Ableitung MHC/HLA-basierter *in situ*-Nachweismethoden erlauben.

**Multi-User-Geräte/-Techniken:**

1. Automatisiertes Immunfluoreszenz Mikroskop/ Zeiss AxioImager Z1
2. Rotationsmikrotom / Microm HM325
3. Cryostat / Leica CM3050S
4. Luminescent Image Analyser/ FujiFilm LAS-4000

Ferner könnte für andere Arbeitsgruppen interessant sein:

1. Standardisierte Beurteilung pathologischer Veränderungen verschiedener Organe im Entzündungsgeschehen und die damit verbundene Nachweis-Methodik (Immunhistochemie, Immunfluoreszenz).
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 CED-Modellen (Maus, Ratte) sowie bei der Lymphozytenisolierung (z.B. aus der Lamina propria) und bei der durchflusszytometrischen Analyse (z.B. intrazellulärer Zytokine)

**Publikationen:**

1. Schmidt N, Gonzalez E, Visekruna A, **Kühl AA, Loddenkemper C**, Mollenkopf H, Kaufmann SHE, Steinhoff U, Joeris T. Targeting the proteasome: partial inhibition of the proteasome by bortezomib or deletion of the subunit LMP7 attenuates experimental colitis. *Gut*, 59: 896-906, 2010. [IF 4.351]
2. Stanke J, Hoffmann C, **Erben U**, von Keyserling H, Stevanovic S, Cichon G, Schneider A, Kaufmann AM. A flow cytometry-based assay to assess minute frequencies of CD8+ T cells by their cytolytic function. *J Immunol Methods*. 360(1-2):56-65. 2010. [IF 2.347]
3. Rivino L, Gruarin P, Häringer B, Steinfelder S, Lozza L, Steckel B, Weick A, Sugliano E, Jarrossay D, **Kühl AA, Loddenkemper C**, Abrignani S, Sallusto F, Lanzavecchia A, Geginat J. CCR6 is expressed on an IL-10-producing, auto-reactive memory T cell subset with context-dependent regulatory function. *J Exp Med*, 207(3): 565-577, 2010. [IF 15.463]
4. Stroh T, **Erben U, Kühl AA**, Zeitz M, Siegmund B. Combined Pulse Electroporation – A Novel Strategy for Highly Efficient Transfection of Human and Mouse Cells. *PloS One*, 5(3): e9488, 2010.
5. Epple H-J, Allers K, Tröger H, **Kühl A, Erben U**, Fromm M, Zeitz M, **Loddenkemper C**, Schulzke J-D, Schneider T. Mucosal barrier defect, increased mucosal perforin+ CD8 T cells and epithelial apoptosis in acute HIV infection. *Gastroenterology*, 2010. [IF 12.899]
6. Kruse N, Neumann K, Schrage A, Derkow K, Schott E, **Erben U, Kühl A, Loddenkemper C**, Zeitz M, Hamann A, Klugewitz K. Priming of CD4(+) T cells by liver sinusoidal endothelial cells induces CD25(low) forkhead box protein 3(-) regulatory T cells suppressing autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 50(6): 1904-1913, 2009. [IF 11.355]
7. Kuhne M, **Erben U**, Schulze-Tanzil G, Köhler D, Wu P, Richter FJ, John T, Radbruch A, Sieper J, Appel H. HLA-B27-restricted antigen presentation by human chondrocytes to CD8+ T cells: potential contribution to local immunopathologic processes in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*; 60(6):1635-46, 2009. [IF 7.332]
8. Hoffmann JC, Pawlowski NN, Grollich K, **Loddenkemper C**, Zeitz M, **Kühl AA**.  $\alpha\beta$  T Lymphocytes: a new Type of regulatory T Cells suppressing 2,4,6-trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)-induced Colitis. *Int J Colorectal Dis*, 23(10): 909-20, 2008 [IF 1.918]

**Drittmittelprojekte:**

1. Histomorphologische Beurteilung und *in-situ* Analyse regulatorischer- und Effektorzellen; Kühl, Heppner, TP-Z3 SFB 650 ‚Zelluläre Ansätze zur Suppression unerwünschter Immunreaktionen‘ (2009-2012)
2. Entwicklung systematischer morphologischer Methoden zur Beurteilung mukosaler Entzündungsreaktionen und zur *in-situ*-Detektion definierter Zellpopulationen; Zeitz, Stein, Loddenkemper, Schulzke, TP-Z1 SFB 633 ‚Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt‘ (2007/2-2011/1)

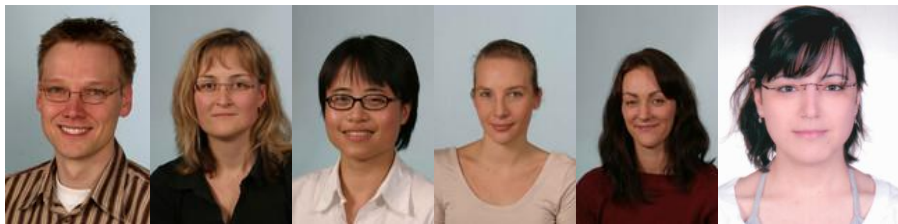
**Arbeitsgruppenleiter**

Prof. Dr. med. Markus van der Giet  
 Charité – Campus Benjamin Franklin  
 Med. Klinik IV- SP Nephrologie  
 Transplantationszentrum  
 Hindenburgdamm 30 12203 Berlin  
 Tel: 030 8445 2379 Fax: 030 8445 3338  
 eMail: markus.vandergiet@charite.de



**Genutzte Räume:** TDH R110 und R113 (zum Teil) und Zellkulturraum (R120)

**Mitarbeiter:** Dr. med. Markus Tölle, Mirjam Schuchardt, Tao Huang, Jasmin Prüfer, Patricia Soban, Miriam Chebli

**Forschungsfeld**

Vaskuläre Veränderungen führen zu einer erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrate. Endogene Moleküle, wie z.B. High-Density Lipoproteine (HDL) haben einen protektiven Einfluss auf das Gefäßsystem und können u.a. inflammatorische Prozesse im Gefäßsystem modulieren. Durch systematische Analyse der Komponenten des HDLs konnten wir feststellen, dass vor allem Sphingolipide anti-inflammatorische Signale durch Aktivierung von spezifischen Rezeptoren vermitteln. Das Sphingolipid, Sphingosin-1-Phosphat (S1P) ist dabei von besonderem Interesse. Eine Aktivierung der S1P Rezeptoren führt zu einer Aktivierung der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthase (eNOS), die für die Funktion des Endothels von hoher Bedeutung ist. Ebenso werden durch S1P pro-inflammatorische 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 Atherogenese eine wichtige Rolle. S1P hat außerdem wichtige immun-modulatorische Funktionen. Das synthetische S1P Analogon - FTY720 - ist erfolgreich als Immunsuppressivum bei Autoimmunerkrankungen, Transplantationen und auch der Multiplen Sklerose klinisch getestet. FTY720 induziert ein Lymphozytenhoming, verhindert gleichzeitig einen Egress von Lymphozyten aus den Lymphknoten und führt zu einer Depletion zirkulierender Lymphozyten. Unsere Arbeitsgruppe konnte 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 außerdem die Funktion von HDL massiv gestört. HDL verliert seine anti-inflammatorischen Wirkungen und kann nicht mehr dendritische Zellen in ihrer Funktion blockieren, sondern aktiviert diese. Ebenso wurde untersucht, welchen Einfluss HDL auf die Funktion von T-Zellen und Makrophagen haben kann. So konnte in ersten Ansätzen gezeigt werden, dass die T-Zell-Aktivierung durch HDL deutlich reduziert wird und weiterhin die Adhäsion und Transmigration von Makrophagen durch HDL vermindert wird. Interessant hierbei ist, dass bei Patienten mit terminaler Nierenfunktionsstörung, HDL diese protektiven Eigenschaften verliert. Die Mechanismen hierbei sind gänzlich unbekannt.

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 immuno-

logische und anti-inflammatorische Mechanismen prüfen. Zum zweiten wollen wir untersuchen, warum HDL bei Niereninsuffizienz dysfunktionell wird und welche Einflüsse dieses HDL auf immunologische und inflammatorische Prozesse hat.

**Multi-User Geräte:**

NanoDrop1000

**Publikationen (Auswahl):**

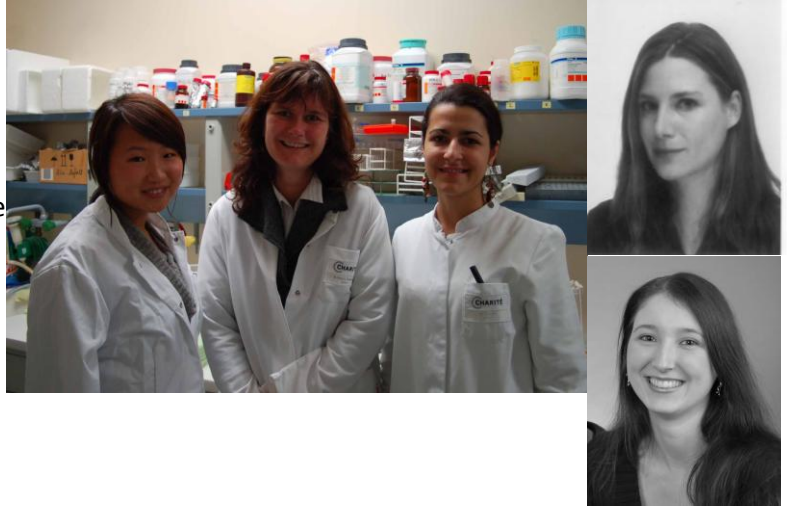
1. Nofer JR, **van der Giet M\***, Tölle M, Wolinska I, Sokoll A, von Wnuck-Lipinski K, Baba HA, Gödecke A, Ishii I, Chun J, Kleuser B, Völker W, Fobker M, Zidek W, Assmann G, Levkau B. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P<sub>3</sub>: role of HDL-associated lysophospholipids. *Journal of Clinical Investigation*. 2004; 113: 569 – 581. \* combined first author (IF: 14.118)
2. 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)
3. 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)
4. 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)
5. 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 S1P<sub>3</sub> and Smad3-signalling. *American Journal of Pathology* 2007; 170: 281 – 292. (IF: 7.053)
6. Tölle M, Jankowski V, Schuchardt M, Wiedon A, Huang T, Hub F, Kowalska J, Jemielity J, Guranowski A, Lodenkemper C, Zidek W, Jankowski J, **van der Giet M**. Adenosine 5'-tetrphosphate is a highly potent purinergic endothelium-derived vasoconstrictor. *Circularion Research* 2008; 103: 1100 – 1108. (IF: 9.9)
7. Tölle M, Pawlak A, Schuchardt M, Kawamura A, Tietge UJ, Lorkowski S, Keul P, Assmann G, Chung J, Levkau B, **van der Giet M**, Nofer JR. HDL-associated lysophingolipids inhibis NAD(P)H oxidase-dependent monocyte chemoattractant protein-1 production. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2008; 28: 1542-1548. 8 (IF: 7.6).
8. **Van der Giet M**, Tölle M, Pratico D, Lufft V, Schuchardt M, Hörl MP, Zidek W, Tietge UJ. Increased type IIA secretory phospholipase A(2) expression contributes to oxidative stress in end-stage renal disease. *Journal of Molecular Medicine*. 2010; 88:75-83 (IF: 5.00)
9. Tölle M, Schuchardt M, Wiedon A, Huang T, Klöckl L, Jankowski J, Jankowski V, Zidek W, **van der Giet M**. Differential effects of uridine adenosine tetraphosphate on purinoceptors in the rat isolated perfused kidney. *British Journal of Pharmacology*. 2010; 161:530-40 (IF: 5.20)

**Drittmittelprojekte:**

1. DFG (339/7-2) Identikation und Charakterisierung von neuen endothelabhängigen vasoaktiven Faktoren (2009 – 2011)
2. DFG - SPP1267: Sphingolipide: Signale und Therapie (2007 – 2013)
3. Novartis GmbH Deutschland – Der Einfluss von mTOR-Inhibitoren auf die Atherosklerose (2009 – 2011)
4. Novartis GmbH Deutschland – Entwicklung einer neuen Formel zur Abschätzung der Nierenfunktionsleistung nach Nierentransplantation (2009 – 2013)

**Arbeitsgruppenleiterin:****PD Dr. med. Patricia Grabowski**

Gastwissenschaftlerin am  
 CC10, Med. Klinik I  
 Gastroenterologie, Infekt., 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**

Dr. med. Inna Georgieva, Ärztin, Yawen Wang, Medizinstudentin, Sabrina Scheider, Ärztin, Jessica Slotta, Medizinstudentin

**Forschungsfeld:**

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-surivin und „etablierten“ Bio- und Chemotherapeutika durchgeführt.

In Kooperation mit der Zentralklinik Bad Berka, Zentrum für Neuroendokrine Tumore, untersuchen wir zusätzlich Patientenproben auf den Nachweis von Survivin im Serum als potentiellen Verlaufspareparameter bei diesen Patienten. Wir haben hierzu Proben sowohl präoperativ als auch postoperativ zu verschiedenen Zeitpunkten und vor verschiedenen Therapiefolgen gewonnen und werten diese mit den vorhandenen Patientenverlaufdaten aus.

Als weiteres Mitglied des Chromosomal passenger complex interessieren uns die Aurora-kinasen. 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 gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Zelllinien getestet und

antiproliferative und proapoptotische Effekte unterschiedlichen Ausmaßes gefunden. Diese Arbeit ist bereits publiziert worden.

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.

In Kooperation mit der Klinik für Chirurgie der Charité-Campus Benjamin Franklin, mit Herrn PD Dr. M. Kruschewski, untersuchen wir die immunhistochemische Expression und das Verteilungsmuster von Survivin und Aurora Kinase B auch an einem großen Kollektiv kolorektaler Karzinome unterschiedlichen Stadiums, diese Untersuchungen befinden sich bereits in der statistischen Auswertung. Sollten sich hier interessante Ergebnisse zeigen, werden sich weitere Zellkulturexperimente anschließen. Hier sind Kombinationsversuche mit etablierten Chemotherapeutika wie 5-FU, Oxaliplatin, Irinotecan, aber auch den molekular zielgerichteten Therapien wie Cetuximab oder Bevacizumab von Interesse.

2. 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 Zellkultursergebnisse 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 (CP751871) der Firma Pfizer entsprechende weitere Zellkulturexperimente durchführen.

3. Der „periphere Benzodiazepinrezeptor“ (PBR) wird in Tumoren häufig überexprimiert und ist somit auch ein interessantes „Target“. Innerhalb der Zelle ist der PBR meist in der äußeren Mitochondrienmembran lokalisiert, wurde jedoch auch in der Plasmamembran und in oder um den Zellkern nachgewiesen. PBR kommt im Organismus ubiquitär vor. In gesunden gastrointestinalen Geweben wie der kolorektalen Mukosa, dem ösophagealen Plattenepithel sowie im Leberparenchym wird der PBR nur relativ wenig exprimiert. Unsere Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass eine große Mehrheit (knapp 90%) kolorektaler Karzinome PBR überexprimieren. Die Hochregulation des PBR tritt dabei in einem frühen Stadium der Karzinogenese auf und hält bis zur Metastasierung an. Schon bei kleinen Adenomen mit geringgradigen Dysplasien ist der PBR genauso häufig hochreguliert wie in Karzinomen. Auch kolorektale Metastasen zeigten zu einem ähnlich hohen Prozentsatz (86 %) eine PBR Überexpression. Beim Übergang vom Karzinom zur Metastase verstärkt sich die Überexpression signifikant. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass eine starke PBR Überexpression bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen im Stadium UICC III ein unabhängiger prognostischer Marker ist und mit einer deutlich schlechteren Prognose einhergeht. Die offenbar funktionell relevante Bedeutung des PBR in der Krebsentstehung und Progression der Tumorerkrankung scheint nicht nur auf Dickdarmkrebs beschränkt zu sein. So konnten wir auch beim Plattenepithelkarzinom des Ösophagus und beim hepato-zellulärem Karzinom eine PBR Überexpression nachweisen, allerdings in geringerem Ausmaß bei je nur einem Drittel der untersuchten Tumore. Ob die PBR Überexpression im Ösophaguskarzinom prognostisch relevant ist und vielleicht je nach Subtyp (Adeno- oder Plattenepithelkarzinom) verschieden ist, untersuchen wir zur Zeit. Weiterhin interessiert uns die Expression des

PBR in den Früh- und Vorformen des Adenokarzinoms der Speiseröhre, also bei den Barrett-Dysplasien. Hier arbeiten wir eng mit dem pathologischen Institut unseres Hauses zusammen.

Die Überexpression des PBR im Tumorgewebe könnte für diagnostische und therapeutische Ansätze genutzt werden. Zur Diagnose von Gehirntumoren werden bereits erfolgreich radioaktiv-markierte PBR-spezifische Liganden eingesetzt. Ob diese Liganden auch geeignet sind, bei gastrointestinalen Tumoren z.B. Residualgewebe nach Resektion oder Mikrometastasen zu detektieren, müssen weitere Studien zeigen.

Um PBR als Zielprotein neuer Therapieansätze zu etablieren, haben wir bereits die antiproliferativen Effekte spezifischer PBR Liganden untersucht. Die spezifischen exogenen PBR Liganden FGIN-1-27, PK 11195 und Ro5-4684 zeigten sowohl bei kolorektalen als auch bei ösophagealen und hepatozellulären Zelllinien wachstumsinhibierende Wirkung. Darüber hinaus steigerten sie beim hepatozellulären Karzinom die antiproliferativen Effekte etablierter und experimenteller antineoplastischer Substanzen wie Paclitaxel, Docetaxel, Doxorubicin und des Bcl-2 Inhibitors HA 14-1. Die Wirksamkeit der PBR Liganden lag bei allen untersuchten Tumorentitäten (Kolonrektum, Ösophagus, Leber) im ähnlichen Konzentrationsbereich. Ihre antiproliferativen Effekte beruhten sowohl auf einer Induktion von Apoptose als auch auf einer Arretierung des Zellzyklus. Dies lässt auf gemeinsame Signalwege schließen.

### Spezialtechniken:

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

### Publikationen ( 6 wichtigste):

		IF
1.	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. Journal of Hepatology 2004, 41: 799-807	7,0
2.	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. Clinical Cancer Research 2005, 11:1751-1756 (*Dual first-authorship)	6,7
3.	<b>P. Grabowski</b> , S. Griß, 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. Neuroendocrinology 2005, 81:1-9	2,9
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. Clinical Cancer Research 2008, 14(22):7378-84	6,7
5.	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. International Journal of Cancer 2008, 123(7):1556-64	4,7
6.	I. Georgieva, D. Koychev, Y. Wang, J. Holstein, W. Hopfenmüller, M. Zeitz, <b>P. Grabowski</b> . ZM 447439, a novel promising aurora kinase inhibitor, provokes antiproliferative and pro-apoptotic effects alone and in combination with bio- and chemotherapeutic agents in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor cell lines. Neuroendocrinology 2010, 91(2), 121-30.	2,9

### Drittmittelprojekte:

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

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.

Lydia-Rabinowitsch-Stipendium der Charité zur Unterstützung der Projekte von Frau Dr. Patricia Grabowski 04/09-10/09. 10.075 Euro.

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

Prof. Dr. Alf Hamann  
Direktor Research Center for  
ImmunoSciences  
AG Experimentelle Rheumatologie  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
c/o Deutsches Rheumaforschungszent-  
rum  
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:**

Postdocs: Dr. Ute Hoffmann, Dr. Anne Rigby; Doktoranden: Francesca Diane Liu; Jennifer Pfeil; Technische Assistenz: Uta Lauer; Tel. 450-513407, -513417 (Labor)

**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, die das Immunsystem Antigen-spezifisch modulieren. Ziel ist es, tolerogene Impfstoffe zu entwickeln, die in der Lage sind, die körpereigenen Toleranzmechanismen zu aktivieren, so dass die immunologische Balance wiederhergestellt wird und pathogene inflammatorische Aktivitäten supprimiert werden.

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 Gewebeschädigung 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 in einem von uns etablierten High-Troughput Verfahren suchen, die in der Lage sind, regulatorische T-Zellen (Tregs) und den Treg-spezifischen Transkriptionsfaktor Foxp3 zu induzieren.

*c) Immunmodulation durch Induktion tolerogener Signalwege:*

Im Rahmen des SFB 650 haben wir vor, (Auto-)antigenkonstrukte zu erzeugen, die immunmodulatorisch wirken, in dem wir relevante T-Zell-Epitope an Liganden koppeln, die in tolerogene Signalwege involviert sind. So ist bekannt, dass Phagozytose apoptotischer Zellen Ignoranz gegenüber dem aufgenommenen Antigen erzeugt. Kopplung von Antigen an Liganden, die beispielsweise Scavengerrezeptoren, Galactoserezeptoren oder auch AnnexinV binden, könnte so zur Induktion von Foxp3+ Tregs führen.

*d) Immunregulation viraler Erkrankungen:*

Eine Untergruppe von regulatorischen Zellen stellen IL-10 sezernierende Zellen dar, die so genannten Tr1 Zellen. Bei einer Influenzainfektion ist eine signifikante Frequenz dieser Zellen zu beobachten, welche Rolle sie für die Immunantwort gegen das Virus und die Verhinderung einer Immunpathologie spielen, ist jedoch unklar. Wir untersuchen den Einfluss dieser regulatorischen Pathways auf den Verlauf der Infektion und welche Faktoren bei der Induktion dieser Zellen eine Rolle spielen

**Spezialtechniken:***Verschiedene Mausmodelle:*

DTH, Colitismodelle, Arthritis, Influenza, EAE

*Analysen:*

Homing, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen

**Publikationen:**

Menning A, Loddenkemper C, Westendorf AM, Szilagyi B, Buer J, Siewert C, **Hamann A**, Huehn J. 2010. Retinoic acid-induced gut tropism improves the protective capacity of Treg in acute but not in chronic gut inflammation. Eur J Immunol. Sep;40(9):2539-48.

Polansky JK, Schreiber L, Thelemann C, Ludwig L, Krüger M, Baumgrass R, Cording S, Floess S, **Hamann A**, Huehn J. 2010. Methylation matters: binding of Ets-1 to the demethylated Foxp3 gene contributes to the stabilization of Foxp3 expression in regulatory T cells. J Mol Med. Jun 24.

Marelli-Berg FM, Fu H, Vianello F, Tokoyoda K, **Hamann A**. 2010. Memory T-cell trafficking: new directions for busy commuters. Immunology. Jun;130(2):158-65.

**Hamann A.** 2010. How T cells find their way around. *Methods Mol Biol.* 616:3-13.

Huehn, J., Polansky JK, **Hamann A.** 2009. Epigenetic control of Foxp3 expression: The Key to stable regulatory T-cell lineage. *Nat Rev Immunol* 9 (2): 83-89

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 naive- 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	Hamann
DFG	SFB 650 TP1	Induction of stable Foxp3+ regulatory T cells	Hamann

Weitere Drittmittelprojekte der AG Hamann:

DFG	SFB 633	B1: Mukosa and homing/differentiation of T cells	Hamann
DFG	TRR52	Epigenetic control of the transcription of homing receptors	Syrbe/ Hamann
TSB	Verbund	Etablierung epigenetischer Marker in der Immun- und Krebsdiagnostik	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)

**Forschungsfeld/Fragestellungen:****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, Tumorgröße) 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. 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
2. 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
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. 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
6. 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
7. Bhonde MR, Hanski ML, Stehr J, Jebautzke B, Peiró-Jordán R, Fechner H, Yokoyama KK, Lin WC, Zeitz M M, **Hanski C**. Mismatch repair system decreases cell survival by stabilizing the tetraploid G1 arrest in response to SN-38. *Int. J. Cancer*: 126, 2813–2825 (2010)

#### **Drittmittelprojekte:**

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**

**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

**1. Beteiligte Wissenschaftler:**

Prof. Dr. Ulrich Keilholz  
Dr. Anne Letsch (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I –V und VII)  
Dr. Il-Kang Na (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt VI)  
Maren Knödler (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I und II)  
David Stather (wissenschaftlicher Doktorand Teilprojekt III und IV)  
Susanne Döring (medizinische Doktorandin, Teilprojekt IV)  
Marcel Völker-Call (studentische Hilfskraft Teilprojekt IV)

**Genutzte Räume:**

Raum 202

**2. Darstellung des Spektrums aller Forschungsthemen der Forschergruppe:**

Der Schwerpunkt liegt auf dem Gebiet der Tumorimmunologie und der Entwicklung von Tumorstämmen 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-assoziiertes Antigene

- Charakterisierung von Tumor-/Leukämie- und Virus-spezifischen T-Zellantworten in verschiedenen Kompartimenten (z.B. peripheres Blut vs. Knochenmark, peripheres Blut vs. Tumor)

### 3. 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 einer 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. Aufgrund von regulatorischen und organisatorischen Schwierigkeiten hat sich die Initiierung der Studie leider verzögert und ist nun für Januar 2011 avisiert.

#### 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. Ziele dieser Phase-IIa-Studie bei HLA-A2 positiven Patienten mit soliden Tumoren sind die Analyse der Immunologischen Effektivität, der Toxizität und der Klinischen Antwort.

##### Key results/Perspektiven:

Die Rekrutierung der Studie ist nach insgesamt 17 Patienten mit WT1-überexprimierenden Tumoren im Herbst 2010 beendet. Dabei zeigten sich vielversprechende klinische Resultate, bei geringer Toxizität. Die Immunologische Auswertung steht noch aus. Insgesamt rechtfertigen die Ergebnisse im Sinne eines „Proof of Principle“ weiterführende kontrollierte Therapiestudien bei einzelnen Entitäten solider Tumoren.

#### III. 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.

Key results/Perspektiven:

Derzeit erfolgen die Auswertungen der umfangreichen Analysen, so dass in Kürze Ergebnisse bezüglich relevanter Resistenzmechanismen vorliegen sollten.

**IV. Entwicklung einer WT1-Vakzine bei Patienten mit HCC**Fragestellung /Hintergrund:

Einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz für das hepatozelluläre Karzinom (HCC) sowohl in der therapeutischen, als auch potentiell in der prophylaktischen Situation, stellt die Immuntherapie dar. Ein mögliches Target-Antigen dafür ist WT1, der als Transkriptionsfaktor im fetalen Lebergewebe exprimiert ist, allerdings nicht im Lebergewebe von Erwachsenen. Bei chronischen Lebererkrankungen ist WT1 re-exprimiert und mit der Progression dieser Erkrankungen assoziiert. Gleichzeitig ist bei WT1-Expression die Wahrscheinlichkeit der Entwicklung einer Hepato-Karzinogenese höher und beim HCC ist eine erhöhte WT1-Expression mit größerer Verdopplungszeit des HCC und der Höhe des T-Stadiums assoziiert. Angesichts der möglichen funktionellen Relevanz von WT1 für die Progression von chronischen Lebererkrankungen und des HCC soll in diesem Projekt die Eignung von WT1 als Zielstruktur für immuntherapeutische Ansätze, insbesondere unter Berücksichtigung potentiell limitierender immun-suppressiver Mechanismen beim HCC geprüft werden.

Key results/Perspektiven:

Im ersten Schritt konnten spontane WT1-spezifische T-Zell-Antworten bei Patienten mit HCC und zu einem kleineren Anteil auch bei Patienten mit chronischer Hepatitis und Leberzirrhose nachgewiesen werden. Diese Daten unterstützen die Immunogenität von WT1 beim HCC und dessen potentiell Nutzbarkeit als Antigen für immuntherapeutische Ansätze beim HCC.

**V. Korrelation zwischen Eisenstatus und Immunstatus bei Patienten mit Myelodysplastischem Syndrom**Fragestellung /Hintergrund:

Eisenüberladung ist ein häufiges Problem bei Patienten mit MDS. Zahlreiche Untersuchungen legen nahe, dass der Eisenstoffwechsel und insbesondere eine Eisenüberladung signifikante immunmodulatorische Effekte aufweist und eine wichtige Rolle für eine insuffiziente Infektabwehr spielt. Die Immunmodulation scheint dabei neben der zellulären und der humoralen Immunabwehr auch das Monozyten/Makrophagen-System und das Komplementsystem zu betreffen. Bei Patienten nach allogener Stammzell-Transplantation konnte gezeigt werden, dass Patienten mit hohem Serum-Ferritin vor der Transplantation ein signifikant höheres Risiko hatten an einer Infektion zu versterben oder ein Organversagen zu entwickeln. Bei Patienten mit MDS fehlen bisher systematische Analysen bezüglich des Immunstatus in Korrelation zum Krankheits- und/oder Therapieassoziiertem Eisenstatus und einer damit potentiell einhergehenden Infektneigung. Weiterhin fehlen Analysen bezüglich des Einflusses einer Eisenchelation auf den Immunstatus von Patienten mit MDS. Ziel dieser Untersuchung ist daher die Evaluation einer möglichen Korrelation zwischen Eisenüberladung und Immundefizienz bei Patienten mit MDS, sowie die Evaluation potentieller immunmodulatorischer Effekte einer Eisenchelation bei Patienten mit MDS.

**VI. In vivo Bildgebung zeitlich-örtlicher, spezifischer T-Zellaktivierung und T-Zellmigration zur Evaluation und Entwicklung verbesserter Tumorthérapien.**Fragestellung /Hintergrund:

Die Effizienz der Antigen-spezifischen T-Zelltherapie ist durch ein Fehlen an Langzeiteffekten und eine insuffiziente Infiltration der transferierten T-Zellen in den Tumor limitiert. Wir entwickelten eine Methode, die eine Click-beetle Luziferase zur Erfassung der NFAT Aktivierung mit einer konstitutiven Luziferase kombiniert, um über nicht-invasive Bildgebung gleichzeitig die Migration und Aktivierung von T-Zellen in vivo darzustellen. An Hand eines Tiermodel mit H-Y T-Zellrezeptor (TCR) transgenen (tg) T-Zellen soll mittels in vivo Bildgebung über Biolumineszenz die Erfassung von Migrations- und Aktivierungsmuster im Verlauf ermöglicht werden. Durch das Modell soll die Kinetik von Infiltration und Funktionalität tumor-spezifischer T-Zellen in unterschiedlichen Therapiekombinationen evaluieren, und neue Therapieansätze in ihrer Effektivität getestet werden.

**VII. Weitere Projekte als Kooperationspartner:**

- I. Adoptive WT1-gerichtete T-Zell Therapie der AML, Frau Prof. Scheibenbogen (Med. Immunologie, Charité CCM), Kooperationspartner: Letsch, Uharek (Häm/Onk, CBF), Reinke (Nephrologie, CVK) gefördert durch José Carreras Leukämie-Stiftung,
- II. Stem cell-like memory T cells in bone marrow, Frau Prof. Scheibenbogen (Med. Immunologie, Charité CCM), Kooperationspartner: Letsch, (Häm/Onk, CBF), Reinke (Nephrologie, CVK), Skurk (Kardiologie, CBF) gefördert durch BCRT, Berlin
- III. Analyse von T-Zell-Rezeptorstrukturen im Kontext von T-Zell-Immuntherapien Dr. Sebastian Ochsenreither z. Zt. Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA (Rückkehr an die Charité und gemeinsamer Drittmittelantrag 2011geplant)
- IV. Analyse von Immunproteasomen im Kontext von T-Zell-Immuntherapien Dr. Antonia Busse, z. Zt. Ludwig Institute for Cancer Research, Brüssel (Rückkehr an die Charité und gemeinsamer Drittmittelantrag 2011 geplant)

**4. Förderung der Arbeiten durch:**

- I. Deutsche José-Carreras-Leukämie-Stiftung
- II. EU-Projekt „Cancer Immunology and Immunotherapy“
- III. Rahel-Hirsch-Habilitations-Stipendium der Charité, Stipendium der Sonnenfeld-Stiftung ( D. Stather)
- IV. Drittmittelförderung beantragt
- V. Novartis Pharma GmbH
- VI. Drittmittelförderung beantragt

**5. Kooperationen:**

1. AG Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen, Med. Immunologie, Charité CCM
2. Dr. med. Antonia Busse, z. Zt. Ludwig Institute for Cancer Research, Brüssel
3. Dr. Sebastian Ochsenreither z. Zt. Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA
4. Prof. Dr. Rajan Somasundaram, PD Dr. Katja Klugewitz, Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie, CBF
5. Daniel Seehofer, Andreas Pascher, Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie, Charité Campus Virchow Klinikum, Berlin
6. AG. PD Dr. Andreas Thiel, DRFZ
7. AG Dr. Jens Geginat, DRFZ
8. AG PD. Dr. Ralf Ignatius, Institut für Tropenmedizin, Berlin
9. Prof. Stevanovic, und Prof. Rammensee, Tübingen
10. Prof. Haruo Sugiyama, Universität von Osaka, Japan

## 6. Ausgewählte Publikationen

- Busse A, **Letsch A**, Scheibenbogen C, Nonnenmacher A, Ochsenreither S, Thiel E, **Keilholz U** 3,4  
(2010) Mutation or loss of Wilms' tumor gene 1 (WT1) are not major reasons for immune escape in patients with AML receiving WT1 peptide vaccination. *J Transl Med.* **21;8:5**
- Ochsenreither S, Fusi A, Busse A, **Letsch A**, Haase D, Thiel E, Scheibenbogen C, **Keilholz U** 4,7  
(2010) Long term presence of a single predominant tyrosinase-specific T-cell clone associated with disease control in a patient with metastatic melanoma. *Int J Cancer.* **126:2497-502.**
- Keilholz U\***, **Letsch A\***, Busse A, Asemissen AM, Bauer S, Blau IW, Hofmann WK, Uharek L, Thiel E, Scheibenbogen C (2009) A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS. *Blood.* **113:6541-8**
- 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**
- 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**
- 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**

**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

**Genutzte Räume:**

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

**Mitarbeiter/innen:**

Dipl. Biochem. Katrin Neumann  
Dipl. Biol. Nils Kruse  
Dipl. Biol. Anne Flach  
Dipl. Apothekerin Marlies Broy  
Diplomandin Mareen Buchmann  
Stud. Med. Enver Tahir  
Stud. Med. Katja Wechsung

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

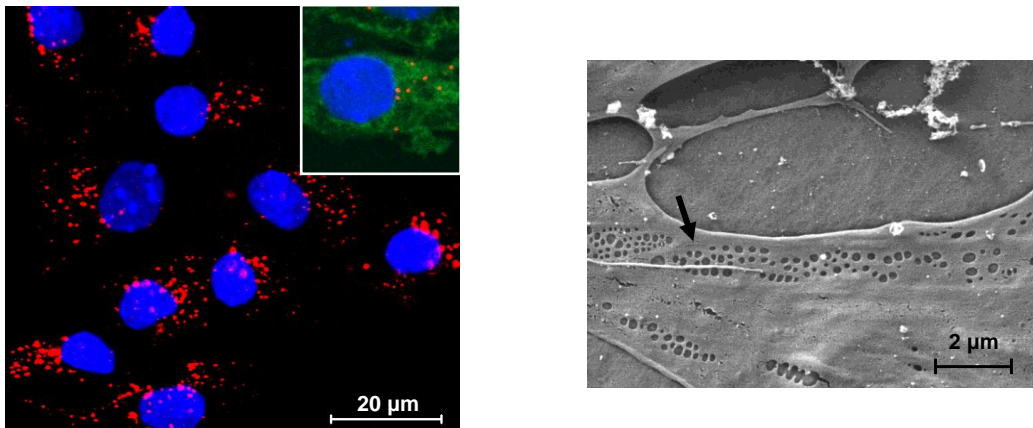
Die Rekrutierung von T-Zellen spielt eine entscheidende Rolle für die Kompartimentalisierung des Immunsystems: Antigenpräsentation und Aktivierung finden in sekundären lymphatischen Organen statt, im entzündlich veränderten Gewebe werden Effektorfunktionen ausgeübt. In der Mukosa, und vermutlich auch in der Leber, werden immunmodulatorische Vorgänge vermittelt. Da die 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 adhäreren und das zu einer verstärkten Transmigration über das Endothel führt und inwieweit Transmigration sogar zur Modulation der T-Zellfunktion beiträgt.

Eigene Publikationen zum Thema:

- 1) 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) 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) 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) Chemokinpräsentation durch Lebersinusendothelzellen: ein potentielles therapeutisches *Target* für hepatische Entzündungen?



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

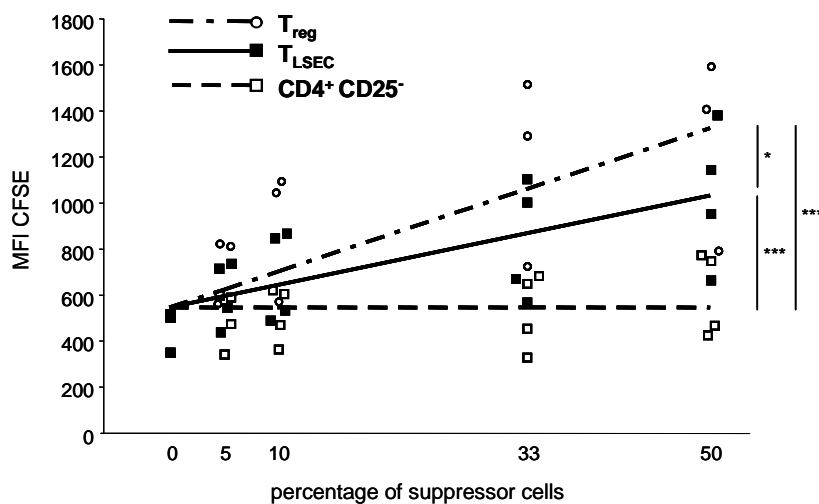
Wir konnten zeigen, dass im Gegensatz zu anderen Endothelien Lebersinusendothelzellen die biologische Wirkung der Chemokine CXCL9 und CXCL12 steigern, indem sie die Chemokine von basolateral aufnehmen und apikal präsentieren. Die Chemokine werden dabei über den Clathrin-vermittelten Weg transportiert, wie durch Inhibitionsexperimente gezeigt wurde. 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 CD25<sup>-</sup> FoxP3<sup>-</sup> regulatorischer CD4<sup>+</sup> T-Zellen durch Lebersinus-endothelzellen

Nach adoptivem Transfer von Th1- und Th2-Zellen und tolerogener, intravenöser Antigenapplikation erfolgte nach einer Expansionsphase eine Zunahme apoptotischer Zellen in der Leber, was 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*.

In einem Modell der Knochenmarkstransplantation an der Maus konnten wir zeigen, dass LSEC auch in Abwesenheit professioneller APC in der Lage sind, CD4<sup>+</sup> T-Zellen zu primen. Dieses *priming* induziert bei naiven CD4<sup>+</sup> T-Zellen jedoch keine Produktion von pro- bzw. anti-inflammatorischen Effektorzytokinen. Es entsteht stattdessen der Phänotyp einer CD25<sup>-</sup> FoxP3<sup>-</sup> regulatorischen T-Zelle (T<sub>LSEC</sub>), die *in vitro* die Proliferation naiver CD4<sup>+</sup> T-Zellen inhibiert und *in vivo* eine T-Zellabhängige, OVA-spezifische Hepatitis supprimiert.

Wir gehen aktuell der Frage nach, auf welche Weise T<sub>LSEC</sub> ihre regulatorische Funktion ausüben. Erste Ergebnisse legen nahe, dass der Effekt Zell-Zellkontaktabhängig ist, aber weder IL-10 noch TGFβ involviert sind. Darüber hinaus klären wir, durch welche Mechanismen LSEC nicht-klassische T<sub>reg</sub> induzieren können.

T<sub>LSEC</sub> 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 untersuchen, 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) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.

**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, 04016, 05002\*, 05003\*, 05005\*, 05006\*, 05007\*, 05011\*, 05012, 05013, 05018\*, 05019  
(\* = gemeinsame Nutzung mit AG Volkmer)

**Mitarbeiter:**

Dr. Ute Abraham, Astrid Grudziecki, Annette Hayungs, Dr. Roman Klemz, Jeannine Mazuch, Dr. Bert Maier, Maike Mette-Thaben, Dr. Rupert Öllinger, Dr. Silke Reischl, Manjana Saleh, Katja Schellenberg, Dr. Mathias Teschke, Thomas Wallach, Sabrina Wendt

**Homepage:**

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

**Forschungsfeld:**

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 (Auswahl):**

Abraham U, Granada AE, Westermark PO, Heine M, **Kramer A\***, Herzel H (2010) Coupling governs entrainment range of circadian clocks. **Mol Sys Biol**, in press (\*=corresponding author)

Spörl F, Schellenberg K, Blatt T, Wenck H, Wittern KP, Schrader A, **Kramer A** (2010) A circadian clock in HaCaT keratinocytes. **J Invest Dermatol** Oct 21. [Epub ahead of print]

Ko HW, Kim EY, Chiu J, Vanselow JT, **Kramer A**, Edery I (2010) A hierarchical phosphorylation cascade that regulates the timing of PERIOD nuclear entry reveals novel roles for proline-directed kinases and GSK-3beta/SGG in circadian clocks. **J Neurosci** 30:12664-12675

Keller M, Mazuch J, Abraham U, Eom GD, Herzog ED, Volk HD, **Kramer A\***, Maier B (2009) A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2009 Dec 1. [Epub ahead of print] (\*=corresponding author; this paper was highlighted in Nature)

Maier B, Wendt S, Vanselow JT, Wallach T, Reischl S, Oehmke S, Schlosser A, **Kramer A** (2009) A large-scale functional RNAi screen reveals a role for CK2 in the mammalian circadian clock. **Genes & Dev** 23:708-718

Hennig S, Strauss HM, Vanselow K, Yildiz Ö, Schulze S, Arens J, **Kramer A**, Wolf E (2009) Structural and functional analyses of PAS domain interactions of the clock proteins Drosophila PERIOD and mouse PERIOD2. **PLoS Biol** 7:e1000094.

Chiu JC, Vanselow JT, **Kramer A**, Edery I (2008) The phospho-occupancy of an atypical SLIMB-binding site on PERIOD that is phosphorylated by DOUBLETIME controls the pace of the clock. **Genes & Dev** 22:1758-72

Brown SA, Kunz D, Dumas A, Westermark 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)

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)

Vanselow K, Vanselow JT, Westermark 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)

**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)

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)

**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)

**Drittmittelprojekte:**

DFG: SFB 618/A4 SFB 740/D2 KlIFO 218 FOR 806/7 SPP 1395

BMBF: ColoNet Bernstein Center CN

EU IP EUCLOCK

(alle Projekte werden im RCIS durchgeführt)

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

Dr. Michal Or-Guil,  
Humboldt Universität zu Berlin  
Institut für Biologie  
Invalidenstraße 43  
10115 Berlin  
Telefon +49 30 2093-9105

**Standort:**

RCIS, Hessische Straße 3-4 ,  
Raum 02-023  
Telefon +49 30 450-524044

**Mitarbeiter:**

Dr. rer. nat. Nicole Wittenbrink, Dipl.-Phys. Johannes Eckstein, Dipl.-Biol. Victor Greiff, Mag. rer. nat. Atijeh Valai, Dipl.-Phys. Tom Weber (IGC Portugal), Sylvia Uhlmann, Andreas Wolf.

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

**Forschungsgebiet:**

Hauptmerkmal der humoralen Immunantwort ist die Erhöhung der mittleren Affinität von Antikörpern als Folge der sogenannten Affinitätsreifung. 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 zurzeit folgende Themen bearbeitet:

- Vergleichende Analyse von B-Zell-Rezeptor-Sequenzen
- Analyse des Migrationsverhaltens von Keimzentrums-B-Zellen und Charakterisierung des B-Zell-Repertoires während der Immunantwort
- Klassifizierung von Antikörper-Repertoires mittels Peptid-Mikroarray-Bindungsstudien zur Diagnose von Krebserkrankungen und zur Prognose von Abstoßung und viraler Nephropathie bei Nierentransplantaten
- Datenanalyse und mathematische Modellierung zur Untersuchung der Affinität und Diversität von Antikörper-Repertoires

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

**Multi-User Geräte:**

Microarray Scanner GenePix 4200AL  
Tecan HS 4800 Pro Hybridisierungsstation

**Publikationen:**

N. Wittenbrink, T. S. Weber, A. Klein, A. A. Weiser, W. Zuschratter, M. Sibia, J. Schuchhardt, **M. Or-Guil**: Broad volume distributions indicate non-synchronized growth and suggest sudden collapses of germinal center B cell populations, *J. Immunol.* (2010) [IF 5,7]

J. Bongartz, N. Bruni, **M. Or-Guil**: Epitope mapping using randomly generated peptide libraries, *Methods Mol Biol.* (2009)

**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 11,8]

J. Bongartz, V. Tapia, 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 3,1]

**M. Or-Guil**, A. A. Weiser, V. Tapia, A. Leichsenring, J. Schuchhardt, C. Frömmel, R. Volkmer-Engert: SPOT synthesis: Reliability of Array-Based Measurement of Peptide Binding Affinity, *Anal. Biochem.* (2005) [IF 3,1]

M. Bär, L. Brusch, **M. Or-Guil**: Mechanism for Spiral Wave Breakup in Excitable and Oscillatory Media, *Phys. Rev. Lett.* (2004) [IF 7,2]

M. Bär, **M. Or-Guil**: Alternative Scenarios of Spiral Breakup in a Reaction-Diffusion Model with Excitable and Oscillatory Dynamics, *Phys. Rev. Lett.* (1999) [IF 7,2]

**Drittmittelprojekte:**

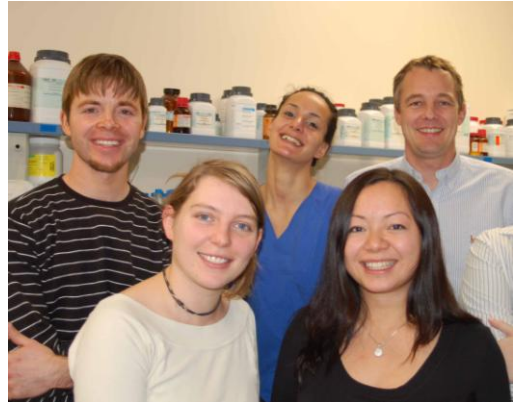
- Partner des SYSTHER Konsortiums – Systems Biology Tools for Cell Therapy and Drug Development (BMBF)
- Koordinator und Partner des NephroFIT-Konsortiums (IBB)

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

Herr PD. 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 Dipl.-Biol. Chantip Dang-Heine

Frau Diana Bösel (BTA)

Herr Jens Klinowski (Doktorand, Veterinärmediziner)

Frau Stefanie Utchil (Doktorandin, Humanmedizinerin)

**Forschungsfeld:**

Die koronare Restenose nach Herzkatheterintervention, und insbesondere die In-Stent-Restenose, stellt immer noch ein gravierendes klinisches und auch ein großes volkswirtschaftliches Problem dar. Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit Jahren mit der Untersuchung der koronaren Restenose zugrunde liegenden Pathomechanismen und der Erforschung neuer Therapieoptionen im Großtiermodell des Schweines (lokale koronare Gen- und Strahlentherapie).

Thiazolidindione sind Substanzen, die klinisch zur Behandlung des Typ II Diabetes eingesetzt werden. 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. Aufgrund dieser Eigenschaften erscheint Rosiglitazon als ideale Substanz im Hinblick auf eine Stentbeschichtung zur Verhinderung von In-Stent-Restenosen oder sogenannten Spätkomplika­tion wie Thrombosebildung nach kathetergestützten Koronarinterventionen. Der lokale Einsatz dieser Substanz für diese Indikation ist bisher noch nicht untersucht worden, stellt somit ein viel versprechendes Novum dar und eröffnet Möglichkeiten für eine innovative, effiziente und kostengünstigere Therapie der koronaren Restenose und bildet somit die Grundlage einer Ratio für geplante klinische Studien.

Unsere Arbeitsgruppe untersucht inwieweit die lokale Applikation dieses PPAR $\gamma$ -Liganden in einem präklinischen Schweinemodell die Restenoseformation nach Stentimplantation und auch die endotheliale Dysfunktion und Thrombusbildung zu späten Zeitpunkten nach Intervention beeinflusst und welche Mechanismen dieser möglichen Beeinflussung zu Grunde liegen. Ein weiterer Fokus liegt hierbei in der Untersuchung molekularbiologischer Veränderungen durch Genexpressionsanalysen und weiterführenden Untersuchung von neuen Targetgenen.

**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
3. Eppendorf Mastercycler
4. Eppendorf Centrifuge 5403

**Spezialtechniken:**

1. Immunhistologische Färbung und Auswertung von in Harz eingebetteten Gefäßen
2. Primer-Design
3. Affymetrix Auswertung

**Die 6 wichtigsten Publikationen:**

- 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
- 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
- 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
- Pels K.**, Schwimmbeck P.L., Rosenthal P., Loddenkemper C., Dang-Heine C., Rauch U., Martens H., Schultheiss H.P., Dechend R., Deiner C.: Long-term clopidogrel administration following severe coronary injury reduces proliferation and inflammation via inhibition of nuclear factor-kappaB and activator protein 1 activation in pigs, *Eur J Clin Invest*. Mar/2009, 174-82, 39(3) 2,784

**Drittmittelprojekte:**

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*).

## AG Experimentelle Stammzelltransplantation

### Arbeitsgruppenleiter:

PD Dr. Olaf Penack

AG Experimentelle Stammzelltransplantation

Charite Universitätsmedizin Berlin

Hindenburgdamm 30

12200 Berlin

Tel.: 030-8445-4504

E-mail: olaf.penack@charite.de

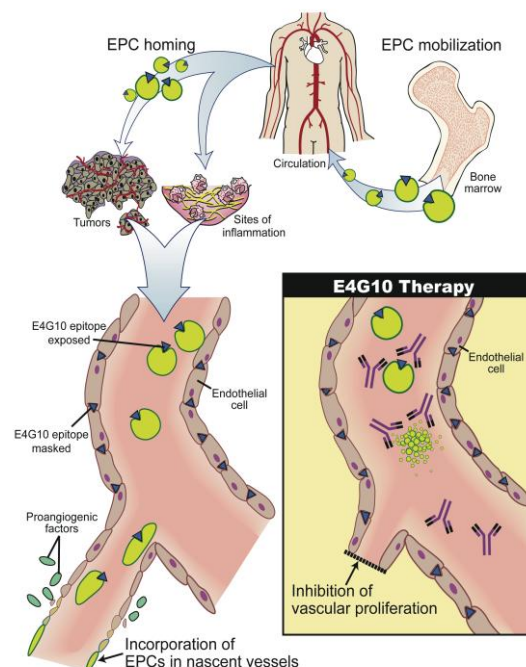
### Wissenschaftliche Mitarbeiter

Postdocs: Dr. rer. nat. Sabine Westphal, Technische Assistenz: Martina Kalupa

### Forschungsgebiet:

Mein Labor arbeitet an der Entwicklung von Strategien zur Vorbeugung und Behandlung der graft-versus-host Erkrankung (GVHD) nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSCT). Ein interessantes neues therapeutisches Konzept mit möglichen Auswirkungen auf Tumorwachstum und entzündliche Prozesse, wie die akute GVHD, ist die Hemmung der Bildung neuer Blutgefäße (Neovaskularisierung). An dem Prozess der Neovaskularisierung sind sowohl die Angiogenese, das Sprießen von gewebeständigen Endothelzellen (ECs), und Vaskulogenese, die Rekrutierung von zirkulierenden endothelialen Vorläuferzellen (EPCs), beteiligt. Die Neovaskularisierung wurde sowohl mit Tumorwachstum als auch mit in einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen in Verbindung gebracht, wodurch sie ein attraktives therapeutisches Ziel bei der HSCT ist. Wir untersuchen zurzeit die Neovaskularisierung und das therapeutische Potenzial der spezifischen Hemmung der Vaskulogenese während der GVHD und des Tumorwachstums in murinen HSCT Modellen.

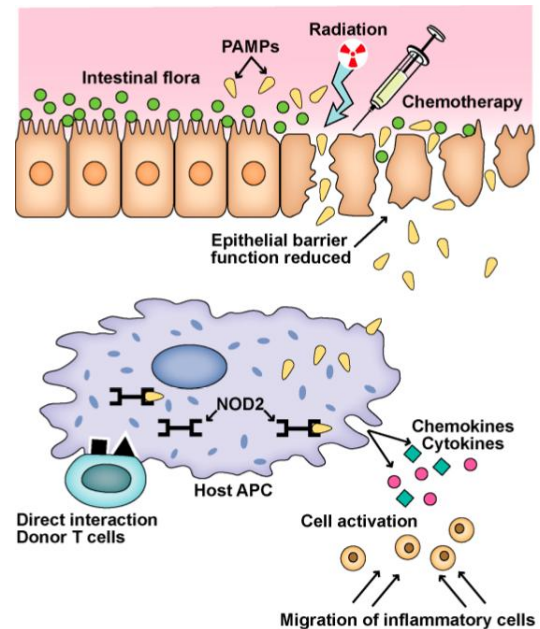
**Abbildung 1.** Migration und therapeutische Depletion von endothelialen Progenitorzellen (EPCs) bei Entzündungen und Tumorwachstum. Die Abbildung wurde von Olaf Penack and Terry Helms (MSKCC) entworfen.



Das Ziel des zweiten Schwerpunkts unserer Arbeit ist es, unser Verständnis der molekularen Mechanismen bei der Initiierung der GVHD zu verbessern. Aktuelle Forschungsergebnisse heben die Bedeutung von Wechselwirkungen zwischen mikrobiell assoziierten Molekülen (pathogen associated molecular patterns, PAMPs) und Rezeptoren des angeborenen Immunsystems (pathogen recognition receptors, PRRs) für die Kontrolle der adaptiven Immunantwort bei entzündlichen Erkrankungen hervor. Wir möchten aufzuklären, wie die GVHD durch

das Zusammenspiel von mikrobiellen Molekülen und angeborener Immunität reguliert wird. Derzeit untersuchen wir die Bedeutung eines dieser PRRs (NOD2) in Maus-Modellen der GVHD. Unsere Daten stehen im Einklang mit klinischen Berichten, die zeigen, dass Patienten mit Mutationen im Gen NOD2 eine höhere Inzidenz der GVHD haben, was auf eine wichtige Funktion von NOD2-Rezeptoren in der Pathophysiologie der GVHD hindeutet.

**Abbildung 2.** Graft-versus-host disease (GVHD). Mikrobielle Substanzen, die PAMPs (pathogen associated microbial patterns) genannt werden, und Immunrezeptoren (PRRs, pathogen recognition receptors), wie NOD2, spielen eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der GVHD. Die Abbildung wurde von Olaf Penack and Terry Helms (MSKCC) entworfen.



## Publikationen

**Penack O**, Henke E, Suh D, King CG, Smith OM, Na IK, Holland AM, Ghosh A, Lu SX, Jenq R, Liu C, Murphy GF, Lu TT, May C, Scheinberg DA, Gao DC, Mittal V, Heller G, Benzra R, Van den Brink MRM. Inhibition of Neovascularization to Simultaneously Ameliorate Graft-versus-host Disease and Decrease Tumor Growth. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Jun;102:894-908.

**Penack O**, Holler E, van den Brink MR. Graft-versus-host disease: regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. *Blood.* 2010 Mar;115:1865-72.

Na IK, Lu SX, Yim NL, Goldberg GL, Tsai J, Rao U, Smith OM, King CG, Suh D, Hirschhorn-Cymerman D, Palomba L, **Penack O**, Holland AM, Jenq RR, Ghosh A, Tran H, Merghoub T, Liu C, Sempowski GD, Ventevogel M, Beauchemin N, van den Brink MR. The cytolytic molecules Fas ligand and TRAIL are required for murine thymic graft-versus-host disease. *J Clin Invest.* 2010 Jan;120:343-56.

**Penack O**, Smith OM, Cunningham-Bussel A, Liu X, Rao U, Yim N, Na IK, Holland AM, Ghosh A, Lu SX, Jenq R, Liu C, Murphy GF, Brandl K, Van den Brink MRM. NOD2 Regulates Hematopoietic Cell Function during Graft-versus-host Disease. *J Exp Med.* 2009 Sept;206:2101-10.

Jenq RR, King CG, Volk C, Suh D, Smith OM, Rao UK, Yim NL, Holland AM, Lu SX, Zakrzewski JL, Goldberg GL, Diab A, Alpdogan O, **Penack O**, Na IK, Kappel LW, Wolchok JD, Houghton AN, Perales MA, van den Brink MR. Keratinocyte growth factor enhances DNA plasmid tumor vaccine responses after murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009 Feb;113:1574-80.

**Arbeitsgruppenleiter:**

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, Juliane Tank, Leona Gilke

**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. Pinkert S, Westermann D, Wang X, Klingel K, Dörner A, Savvatis K, Größl T, Krohn S, Tschöpe C, Zeichhardt H, Kotsch K, Weitmann K, Hoffmann W, Schultheiss H-P, Spiller O, **Poller W**, Fechner H (2009). *Prevention of Cardiac Dysfunction in Acute Coxsackievirus B3 Cardiomyopathy by Inducible Expression of a Soluble Coxsackievirus-Adenovirus-Receptor*. *Circulation*, in press. IF: 14.595
2. 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
3. Shi Y<sup>§</sup>, Chen C<sup>§</sup>, 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

4. 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, Tschope C, Pieske B, Lebeche D, Schultheiss H-P, Hajjar R, **Poller W** (2009) *Chronic Cardiac-Targeted RNA Interference for the Treatment of Heart Failure Restores Cardiac Function and Reduces Pathological Hypertrophy*. Circulation 119: 1241-1252 (EPub 2009 Feb 23) IF: IF: 14.595

5. 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

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

### **Drittmittelprojekte:**

SFB Transregio 19, Teilprojekte A1 und C5

2. Förderperiode bewilligt, Laufzeit 2008/2 – 2012

**AG Salama****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Abdulgabar Salama

Institut für Transfusionsmedizin

Charité Universitätsmedizin Berlin

Augustenburger Platz 1

13353 Berlin

Tel: ++49 (0)30 553012

Fax: ++49 (0)30 553932

E-mail: [abdulgabar.salama@charite.de](mailto:abdulgabar.salama@charite.de)

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 3113-03-01/02

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Dipl. Bio. Gürkan Bal; Dipl. Ing. Julian Kamhieh-Milz, Viktor Sterzer

Tel. 450-565804, -565805

**Homepage:**

<http://www.trans.charite.de>

**Forschungsgebiet:**

Die idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP), auch Autoimmunthrombozytopenie genannt ist eine Erkrankung, die durch einen beschleunigten Thrombozytenabbau charakterisiert ist. Bei knapp 60% der Patienten sind Autoantikörper gegen thrombozytäre Antigene nachweisbar. Der Grund für die Entstehung der Thrombozytopenie ist bislang unbekannt. Hauptforschungsziel ist die Aufklärung der Pathomechanismen, die in der Autoimmunthrombozytopenie involviert sind. Forschungsschwerpunkte sind:

**Redoxproteomics**

Es gibt Hinweise darauf, dass oxidativer Stress in die Pathophysiologie der ITP involviert ist. Freie Radikale können intrazelluläre Fehlregulationen verursachen und darüber hinaus die thrombozytäre Apoptose induzieren und somit die Lebenszeit von Thrombozyten in der Peripherie verkürzen. Des Weiteren können oxidativ-spezifische Neoepitope hervorgerufen werden, die vom Immunsystem als fremd erkannt werden und darüber hinaus zu einer B Zell- und T-Zelldysregulation führen. Dadurch werden Autoantikörper gegen thrombozytäre Oberflächenproteine gebildet. Unser Forschungsziel ist die Identifizierung oxidationspezifischer Proteinmodifikationen von intrazellulären sowie extrazellulären Proteinen. Wir konnten im RCIS ein FACS Protokoll etablieren um den intrazellulären oxidativen Stress von Thrombozyten festzustellen. Bei knapp der Hälfte der ITP Patienten ist ein erhöhter oxidativer Stress im Vergleich zu Gesunden nachweisbar. Die Ursache dafür muss jedoch weiter aufgeklärt werden. Derzeit werden die Proteome von Thrombozyten zweidimensional aufgetrennt und auf Carboxylierungen untersucht. Somit lassen sich direkt oxidativ modifizierte Proteine identifizieren. Weiterführende Forschungen sollen über die DFG finanziert werden.

**Next Generation Sequencing**

Eine genetische Komponente in der ITP kann nicht ausgeschlossen werden. Diesbezüglich soll das Transkriptom von ITP Patienten und Gesunden mit Hilfe des „Next Generation Sequencing“ sequenziert werden. Alle Transkripte werden in ihrer Gesamtheit quantitativ und qualitativ erfasst. Darüber hinaus ist das Auffinden seltener Transkripte, die Identifizierung bislang unbekannter Gene, die Erfassung von Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

sowie die Identifizierung von bislang unbekanntem Spleißvarianten möglich. Grundvoraussetzung zur Durchführung von Hochdurchsatzverfahren ist die Sicherstellung einer angemessenen Reinheit der Proben. Die Leukozyten stellen die größte Kontaminationsgefahr dar. In der Literatur geht man davon aus, dass sich 10000 bis 100000 mal mehr mRNA Transkripte in kernhaltigen Zellen befinden, als in Thrombozyten. Durch den Einsatz eines diskontinuierlichen und auf Thrombozyten optimierten Dichtegradienten ist es möglich, die Leukozytenkontamination auf ein Minimum zu reduzieren. Diese Technik haben wir bereits erfolgreich in der Hessischen Strasse etablieren können. Die Daten aus den Transkriptomanalysen sollen in Form einer Online-Datenbank mit Sequenzinformation veröffentlicht werden. Die durch die Transkriptomsequenzierung erfassten Daten sind für alle thrombozytenassoziierten Erkrankungen von großer Bedeutung.

### **Stammzellexpansion**

Interleukin stimulierte Endothelzellen fördern die Expansion von humanen Stammzellen in vitro. Die Identifizierung von Stammzellexpansionsfaktoren ist für die autologe Stammzelltransplantation von hoher Bedeutung. Aus diesem Grund wurden die Zellkulturüberstände von IL-1 $\beta$ , IL-3 und IL-6 stimulierten Endothelzellen (HUVEC) mit Hilfe der Massenspektroskopie untersucht. Wir konnten in allen Ansätzen ca. 300 Proteine im proteinfreien Medium identifizieren. Dabei ergaben sich Hinweise auf die Involvierung des Komplement Systems. Das Sekretom von Interleukin stimulierten Endothelzellen ist für das Grundverständnis der physiologischen und pathophysiologischen Vorgänge von chronischen inflammatorischen Krankheitsbildern wie Alzheimer und Multipler Sklerose (MS) von großer Bedeutung.

Auf der anderen Seite konnten wir durch diese Studie bestätigen, dass Mikrovesikel von Interleukinstimulierten Endothelzellen sekretiert werden, da eine Vielzahl von Mikrovesikel/Exosomen assoziierten Proteinen extrazellulär nachgewiesen werden konnten. Wir untersuchen derzeit die Wirkung der Mikrovesikel, die auch miRNA und Proteine beinhalten, funktionell auf der Ebene von Stammzellen. Weitere Forschungen zu diesem Thema sind in Bearbeitung.

### **Projekte am Standort Hess. Str.:**

#### *a) Redoxproteomics*

Als Kooperationspartner ist Prof. Schmitz vom Institut für klinische Chemie und Labormedizin des Universitätsklinikums Regensburg vorgesehen. Im Rahmen dieser Zusammenarbeit haben wir die Möglichkeit Antikörper im Plasma/Serum nachzuweisen (44.000 humane Proteinspots) und gleichzeitig Blutzellen wie z.B. Thrombozyten und Erythrozyten mikropräparativ für Lipidomics und Proteomics anzureichern und massenspektrometrisch zu analysieren. Alle präparativen Methoden werden in der Hessischen Str. durchgeführt.

#### *b) Transkriptomsequenzierung*

Die Thrombozytenisolation wird in der Hessischen Strasse durchgeführt. Die Transkriptomsequenzierung erfolgt mit einem externen Service Provider.

#### *c) Stammzellexpansion*

Die Experimente zum Thema Stammzellexpansion basieren hauptsächlich auf Zellkultur, die derzeit noch im Forschungshaus (CVK) durchgeführt wird. Alle Proteomicsverfahren werden in Kooperation mit AG Klose durchgeführt.

**Publikationen:**

1. Emmerich F, Bal G, Barakat A, Milz J, Mühle C, Martinez-Gamboa L, Dörner T, **Salama A**. High-level Serum B-cell activating factor and promoter polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura Br J Haematol. 2007; 136(2):309-14.
2. Anja Moldenhauer, Gesche Genter, Andreas Lun, Gürkan Bal, Holger Kiesewetter, and **Abdulgabar Salama**<sup>1</sup> Hematopoietic progenitor cells and interleukin-stimulated endothelium: expansion and differentiation of myeloid precursors BMC Immunol. 2008; 9: 56.
3. Gürkan Bal, Julian Kamhieh-Milz, Matthias Futschik<sup>2</sup>, Thomas Häupl<sup>3</sup>, **Abdulgabar Salama**<sup>1</sup>, Anja Moldenhauer<sup>1</sup> Transcriptional profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) (in press)

**Drittmittelprojekte:**

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB650, TP16)  
Human Genome Sciences Inc., Rockville.  
Immucor, 89778006, Diamed, Nr.89771049

**AG Transplantationstoleranz****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Birgit Sawitzki  
AG Transplantationstoleranz  
Institut für Med. Immunologie  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
Monbijoustr. 2a  
10117 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 450524136  
Fax: ++49 (0)30 450524907  
E-mail: birgit.sawitzki@charite.de

**Genutzte Räume:**

01-011, 01-012, 01-017, 01-018

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Doktoranden: Stephan Schlickeiser, Ulrike Schließer, Simone Vogel, Julia Schumann, Ivo Panov  
Technische Assistenz: Katrin Vogt; Christine Appelt, Stefanie Haase  
Gastwissenschaftler: Dr. Undine Gerlach (Chirurgie CC8)

**Homepage:**

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

**Forschungsgebiet:**

Die Gruppe erforscht die einer Transplantattoleranzinduktion zugrunde liegenden immunologischen Mechanismen. Es werden sowohl neue therapeutische Strategien entwickelt (z.B. Transfer von alloantigen-spezifischen regulatorischen T-Zellen, spezifische Eliminierung von pathogenen Gedächtnis-T-Zellen, Beeinflussung der Aktivierung von allo-reaktiven T-Zellen durch dendritische Zellen), die Funktion toleranzassoziiierter Gene (z.B. Toag-1) charakterisiert als auch Nachweise zur immunologischen Diagnostik einer Immunreaktivität oder Toleranz etabliert. Die einzelnen bearbeiteten Projekte werden nachfolgend kurz vorgestellt.

**Projekte am Standort Hess. Str.:****Monitoring des Therapieerfolges in transplantierten Patienten**

EU Project FP5 "Tolerance Indices" [www.transplant-tolerance.org.uk](http://www.transplant-tolerance.org.uk), EU Project FP6 "RISET"  
[www.risetfp6.org](http://www.risetfp6.org) (Katrin Vogt, Stefanie Haase)

Im Rahmen dieser Projekte wird ein molekularbiologisches Immunmonitoring an Patientenproben nach Nierentransplantation durchgeführt. Dabei geht es zum einen um die Identifizierung von potentiell „toleranten“ Patienten, in denen eine Reduzierung der immunsuppressiven Medikamente möglich ohne Funktionsverlust möglich wäre. Im zweiten Projekt wird ein sukzessives studienbegleitendes Monitoring durchgeführt, um ein etwaiges Fehlschlagen der Therapie rechtzeitig aufzudecken.

**Genmarker und Strategien zur therapeutischen Intervention in der experimentellen und klinischen Transplantation**

SFB650 "Zelluläre Ansätze zur Suppression unerwünschter Immunreaktionen", TP14,  
[www.sfb650.charite.de](http://www.sfb650.charite.de), gemeinsame Projektleitung mit PD Dr. Andreas Pascher (Chirurgie)

(Katrin Vogt, Undine Gerlach, Ulrike Schließer, Stefanie Haase)

In der letzten Förderperiode konnten wir Genmarker (z.B. Toag-1, Foxp3/aMann) identifizieren, deren Expressionsanalyse die Vorhersage des Therapieerfolges in klinik-nahen Transplantationsmodellen und Patienten ermöglicht. Wir haben ein Protokoll zur Generierung von Tregs etabliert, die nach Transfer Akzeptanz allogener Transplantate bewirken. Für die nächste Förderperiode werden wir unser „Monitoring“ Programm auf transplantierte Patienten ausweiten, unser Treg-Generierungsprotokoll durch Zugabe von TGF $\beta$ /Vit.A/IL-16 optimieren und untersuchen, ob diese Tregs oder andere Strategien die Langzeitfunktion in unseren kliniknahen Modellen wiederherstellen können.

**Bedeutung der Glykosylierung von Zelloberflächenproteinen für die Reifung und Antigen präsentierende Kapazität dendritischer Zellen**

(Stephan Schlickeiser)

Der Transfer von tolerogenen dendritischen Zellen stellt eine interessante Behandlungsalternative zur Induktion einer Toleranz gegenüber allogenen Transplantaten dar. Die N-Glykosylierung ist eine der wichtigsten posttranslationalen Modifikationen von Proteinen. Sie dient nicht nur der korrekten Faltung und dem intrazellulären Transport von Glykoproteinen, sondern auch der Bildung von hochspezifischen Epitopen, die Grundlage für eine Vielzahl von Zellinteraktionen und biologischen Signalprozessen sind. Es gibt Hinweise, dass sich unreife und reife dendritische Zellen hinsichtlich ihrer Glykosylierungsmuster, bzw. der Expression von bestimmten Glykosidasen und Glykosyltransferasen unterscheiden.

In diesem Projekt wird untersucht, welche Bedeutung bestimmte Glykosylierungsmuster für die Reifung, das Migrationsverhalten und die regulatorische, bzw. allostimulatorische Kapazität von dendritischen Zellen haben.

**Bedeutung des toleranzassoziierten Gens Toag-1 für die T-Zellaktivierung und Reifung dendritischer Zellen**

Transregio 52 „Transkriptionelle Programmierung individueller T-Zell-Populationen“, TP C4

(Simone Vogel, Julia Schumann, Ulrike Schliesser, Christine Appelt)

Die Expression von Toag-1 im Transplantat und im peripheren Blut ist eng mit der Induktion und Aufrechterhaltung einer Toleranz assoziiert. Erste Untersuchungen ergaben, dass Toag-1 als mitochondriales Protein das mitochondriale Potential, die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies und den Zelltod von T-Zellen beeinflusst. In diesem Projekt wird die funktionelle Relevanz von Toag-1 für die T-Zellaktivierung, Toleranzentstehung und -aufrechterhaltung bzw. die Kapazität regulatoriver T-Zellen *in vitro* und *in vivo* näher untersucht werden. Weiterhin wird in diesem Projekt der Einfluss von Toag-1 auf die TLR-vermittelte Reifung von dendritischen Zellen untersucht. Dazu werden unter anderem konditionale T-Zell- und DC-spezifische Toag-1 „knock-in“ und „knock-out“ Mäuse generiert.

**„TEMRA specific target molecules“**

BCRT Individual grant, Projektleitung zusammen mit PD Dr. Andreas Pascher (Chirurgie)

**(Katrin Vogt, Christine Appelt, Undine Gerlach)**

Die Erfolge zur Induktion einer Langzeitakzeptanz aus den Tiermodellen konnten leider noch nicht in die Klinik übertragen werden. Ursachen liegen unter anderem in dem Vorhandensein einer hohen Frequenz donor-spezifischer oder kreuzreaktiver Gedächtnis-T-Zellen. Ergebnisse aus Tiermodellen

und der Klinik zeigen, dass diese Gedächtnis-T-Zellen akute Abstoßungskrisen auslösen oder verstärken können. Eine gezielte Eliminierung oder Inaktivierung dieser Gedächtnis-T-Zellen sollte daher die Frequenz akuter Abstoßungskrisen reduzieren und damit auch zu einer besseren Langzeitfunktion der Transplantate beitragen. Leider gibt es bisher keine Therapieoptionen zur spezifischen Eliminierung pathogener Gedächtnis-T-Zellen, ohne essentielle Gedächtnis-T-Zellen für die z.B. Virusabwehr intakt zu lassen. Unsere vorläufigen Daten zeigen, dass CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup> TEMRA T-Zellen in Patienten, die eine akute Abstoßungskrise entwickeln, signifikant erhöht sind. In diesem Projekt soll die Stabilität und Spezifität dieser T-Zellen näher untersucht werden. Weiterhin sollen durch eine globale Genexpressionsanalyse TEMRA-spezifische Oberflächenproteine identifiziert werden.

### Spezialtechniken:

*Verschiedene Modelle:*

Nierentransplantation (Ratte), Haut- und Hornhauttransplantation (Maus), *in vivo* MLC

*Methoden:*

Kultivierung primärer T-Zellen und dendritischer Zellen, qPCR (mRNA-Expression, epigenetische Modifikation, Virusnachweis), Flow Zytometrie, adenovirale und retrovirale Transduktion

### Publikationen (Auswahl):

de Kleer I, Vercoulen Y, Klein M, Meerding J, Albani S, van der Zee R, **Sawitzki B**, Hamann A, Kuis W, Prakken B. CD30 discriminates heat shock protein 60-induced FOXP3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells with a regulatory phenotype. 2010. *J Immunol.* 2010 Aug 15;185(4):2071-9. **IF: 6,40**

Sagoo P, Perucha E, **Sawitzki B**, Tomiuk S, Stephens DA, Miqueu P, Chapman S, Craciun L, Sergeant R, Brouard S, Rovis F, Jimenez E, Ballow A, Giral M, Rebollo-Mesa I, Le Moine A, Braudeau C, Hilton R, Gerstmayr B, Bourcier K, Sharif A, Krajewska M, Lord GM, Roberts I, Goldman M, Wood KJ, Newell K, Seyfert-Margolis V, Warrens AN, Janssen U, Volk HD, Souillou JP, Hernandez-Fuentes MP, Lechler RI. Development of a cross-platform biomarker signature to detect renal transplant tolerance in humans. 2010 *J Clin Invest.* Jun 1;120(6):1848-61. **IF: 16,6**

Long ET, Baker S, Oliveira V, **Sawitzki B**, Wood KJ. Alpha-1,2-mannosidase and hence N-glycosylation are required for regulatory T cell migration and allograft tolerance in mice. 2010. *PLoS One.* Jan 26;5(1):e8894

Brestrich G, Zwinger S, Roemhild A, Noutsias M, Rohde M, Keeren K, **Sawitzki B**, Volk HD, Reinke P, Hammer MH. Generation of HCMV-specific T-cell Lines From Seropositive Solid-organ-transplant Recipients for Adoptive T-cell Therapy. 2009. *J Immunother.* Oct 6. **IF: 3,66**

**Sawitzki B**, Schlickeiser S, Reinke P, Volk HD. Pretransplant immune risk assessment. 2009. *Curr Opin Organ Transplant.* Sep 24. **IF: 0,44**

Keeren, K., Friedrich M, Gebuhr I, Philipp S, Sabat R, Sterry W, Brandt C, Meisel C, Grütz G, Volk HD and **B. Sawitzki**. Expression of Tolerance Associated Gene-1, a Mitochondrial Protein Inhibiting T Cell Activation, Can Be Used to Predict Response to Immune Modulating Therapies. *J Immunol.* 2009 Sep 15;183(6):4077-87. **IF: 6,40**

Gong, W., Klöpfel M., Reutzel-Selke, A., Jurisch, A., Vogt, K. Haase, S. Höflich, C., Polenz, D., Gerstmayr, B., Tomiuk, S., Volk, H.-D., Pascher, A.\* and **B. Sawitzki\***, High weight differences between donor and recipient affect early kidney graft function – a role for enhanced IL-6 signaling. *Am J Transplant.*, Aug;9(8):1742-51. \* equal contribution **IF: 6,42**

**Sawitzki B.**, Pascher, A., Babel, N., Reinke, P. and H.-D. Volk. Can we use biomarkers and functional assays to implement personalized therapies in transplantation? 2009. *Transplantation.* Jun 15;87(11):1595-601. **IF: 3,61**

**Sawitzki B.**, Reinke, P., Volk, H.-D., Wood, K. and L.A. Turka. Autoimmunity and transplantation: a meeting at the crossroads in Berlin. 2008. *Nature Immunology.* 9:899-902. **IF: 26,22**

**Sawitzki B.\***, Oliveira, V.\*, Chapman, S., Appelt, C., Gebuhr, I., Wieckiewicz, J., Long, E. and K.J. Wood. Anti-CD4 mediated generation of regulatory T cells in vitro – in vitro suppression does not predict in vivo capacity to prevent graft rejection, \* equal contribution, 2008. *Eur J Immunol.* 38:1-12. **IF: 4,66**

Gajanayake T, **Sawitzki B**, Matozan K, Korchagina EY, Lehmann M, Volk HD, Rieben R. Dextran sulfate facilitates anti-CD4 mAb-induced long-term rat cardiac allograft survival after prolonged cold ischemia. 2008. *Am J Transplant.* Jun;8(6):1151-62. **IF: 6,42**

**Sawitzki B**, Bushell, A., Steger, U., Jones, N., Risch, K., Siefert, A., Lehmann, M., Schmitt-Knosalla, I., Vogt, K., Gebuhr, I., Wood, K.J. and H.-D. Volk, Identification of gene markers for the prediction of allograft rejection or permanent acceptance. 2007. *Am J Transplant.* 7(5):1091-102. **IF: 6,42**

Pascher A, Proesch S, Pratschke J, Reutzel-Selke A, **Sawitzki B**, Lehmann M, Tullius SG, Neuhaus P, Volk HD, Reinke P. Rat cytomegalovirus infection interferes with anti-CD4 mAb-(RIB 5/2) mediated tolerance and induces chronic allograft damage. 2006. *Am J Transplant.* Sep;6(9):2035-45. **IF: 6,42**

Wood, K.J., **Sawitzki B**, Interferon gamma: a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo. 2006. *Trends Immunol.* 27:183. **IF: 10,21**

**Sawitzki B**, Kingsley, C.I., Oliveira, V., Karim, M., Herber, M. and Wood, K.J.,

IFN-gamma production by alloantigen-reactive regulatory T cells is important for their regulatory function in vivo. 2005. *J Exp Med.* 201: 1925. **IF: 13,965**

**Sawitzki B**, Kieselbach, B., Fisser, M., Meisel, C., Vogt, K., Gaestel, M., Lehmann, M., Risch, K., Grütz, G. and H.-D. Volk., IFN-gamma regulation in anti-CD4 antibody-induced T cell unresponsiveness. 2004. *J Am Soc Nephrol.* 15(3):695-703. **IF: 6,64**

### Drittmittelprojekte:

Im RCIS durchgeführt:

DFG SFB 650/2 TP14: Genmarker und Strategien zur therapeutischen Intervention in der experimentellen und klinischen Transplantation (Sawitzki / Pascher)

DFG Transregio 52 TP C4: Die Rolle von Toag-1 und Smarca3 bei der transkriptionellen Regulation von T-Zellen (Sawitzki / Volk)

BCRT Grant in Category II: Industry Co-operations: Identification of new target molecules on rejection associated CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup> terminal differentiated effector T cells (Sawitzki / Pascher + Miltenyi Biotec)

EU FP7 "ONE Study - A Unified Approach to Evaluating Cellular Immunotherapy in Solid Organ Transplantation"

**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  
TDH 202 (gemeinsam mit AG Dr. Anne Letsch, Häm/Onk CBF)

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter**

Sandra Bauer, MTA  
Dipl. Biotechn. Madlen Rother  
Dipl. Biol. Sabrina Wilk  
Prof. Carmen Scheibenbogen

AG homepage:

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

Kurze Beschreibung des Forschungsfeldes / der Fragestellungen, die im RCIS bearbeitet werden:

- Immunmodulatorische Effekte von Adiponectin (TP B7, SFB TR19)
- Immunmodulatorische Effekte von CCN1 (TP C5, SFB TR19)
- T-Zell-Monitoring klinischer Immuntherapiestudien (Carreras-Stiftung, Industrie)
- Entwicklung diagnostischer Marker beim chronic fatigue Syndrom

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

Funktionelle Multicolor-Durchflußzytometrie

**Publikationen (6 wichtigste):**

Rother M, S. Krohn, G. Kania, D. Vanhoutte, A. Eisenreich, X. Wang, D. Westermann, K. Savvatis, N. Dannemann, C. Skurk, D. Hilfiker-Kleiner, T. Cathomen, H. Fechner, U. Rauch, H.-P. Schultheiss, S. Heymans, U. Eriksson, **C. Scheibenbogen\***, W. Poller\*. The Matricellular Signaling Molecule CCN1 Attenuates Experimental Autoimmune Myocarditis by Acting as a Novel Immune Cell Migration Modulator, **Circulation**, in press, \*Authors contributed equally IF 14,8

Keilholz U, Letsch A, Busse A, Asemissen AM, Bauer S, Blau IW, Hofmann WK, Uharek L, Thiel E, Scheibenbogen C. A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS. **Blood**. 113:6541-8, 2009, IF 10,6

Asemissen AM, Haase D, Stevanovic S, Bauer S, Busse A, Thiel E, Rammensee HG, Keilholz U, Scheibenbogen C. Identification of an immunogenic HLA-A\*0201-binding T-cell epitope of the transcription factor PAX2. **J Immunother**.:370-5, 2009, IF 4,5

Letsch A, Knoedler M, Na IK, Kern F, Asemissen AM, Keilholz U, Thiel E, Volk HD, **Scheibenbogen C**. CMV-specific central memory T cells 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

#### Drittmittelprojekte:

- **\*SFB TR 19, Inflammatorische Kardiomyopathie**, Teilprojekte B7 und C5, Kooperationspartner: W. Poller (Kardiologie, CBF) u. C. Skurk (Kardiologie, CBF)
- **\*José Carreras Leukämie-Stiftung**, Adoptive WT1-gerichtete T-Zell Therapie der AML, Kooperationspartner: Letsch, Uharek (Häm/Onk, CBF), Reinke (Nephrologie, CVK)
- **BCRT**, Stem cell-like memory T cells in bone marrow, Kooperationspartner: Letsch, (Häm/Onk, CBF), Reinke (Nephrologie, CVK), Skurk (Kardiologie, CBF)
- **\*Fatigatio**, Diagnostische Marker für das EBV-assoziierte Chronic Fatigue Syndrom

\*Im RCIS durchgeführt

**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 513326  
030-450 513316  
030-450 513334  
Fax: 030-450 513936

**Genutzte Räume:**

Hessische Str. 3-4 (03003, 03010c)

**Namen der dort arbeitenden Mitarbeiter:**

Dr. Hassan Abdel-Aty  
Frank Gebauer  
Dr. rer. nat. Gunnar Janelt  
Dr. med. Diethelm Modersohn  
med. vet. Anna Christine Slagman  
med. vet. Christopher Bock  
med. vet. Astrid Puppe  
Gabriele Tenschert  
Dipl.-Ing. Biotech. Birgit Vogt  
Carola Vonhof  
Franziska Wohlgemuth  
Dipl.-Ing. Biotech. Gülcan Yapici  
Adelheid Wilde  
Stefan Schulze  
Jana Bräuer  
Sandra Kaluza

**Forschungsfelder:**

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 einer präklinischen (Großtiermodell Schwein) Studie wurde die These belegt. In Zukunft soll sich die Therapie in einer klinischen Pilotstudie klinisch beweisen.

Die Projektziele sind im Einzelnen:

1. Die spezifische Depletion von C-reaktivem Protein nach experimentellem Herzinfarkt: eine neue Therapieoption

- die Entwicklung eines marktfähigen Prototyps eines CRP-Adsorbers,
- Proof of principle in klinischen Studien: 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

2. C-reaktives Protein (CRP) als pathologischer Modulator der Funktion von Adrenoceptoren

Die Akutbehandlung des Herzinfarkts ist nach wie vor eine Herausforderung für die Intensivmedizin. In den letzten Jahren hat sich die Therapie verbessert, was sich vor allem in der gestiegenen Überlebensrate darstellt. Ein fester Bestandteil der Therapie ist dabei die Gabe von Betablockern nach dem Infarkt. Vor bereits über 20 Jahren wurde gezeigt (Kurzübersicht bei Stühlinger, 2003), dass diese zusätzliche Behandlung die Überlebensrate von Infarktpatienten verbessert. Betablocker haben bei Infarktpatienten eine günstige breite physiologische Wirkung auf Herz und Kreislauf, im Einzelnen z.B.

- Reduktion des myokardialen Sauerstoffverbrauchs
- Verlangsamung der Herzfrequenz
- Herabsetzung der Herzmuskelkontraktilität
- Senkung des Blutdrucks
- Steigerung der Myokardperfusion
- Reduktion der katecholaminvermittelten Effekte
- weniger Herzkammerarrhythmien.

Offensichtlich gibt es einen bisher wenig beachteten Zusammenhang zwischen dem C-Reaktiven Protein (CRP) und den Adrenoceptoren. Die orale Gabe von Betablockern bewirkt im nicht nur eine niedrigere Mortalität, sondern auch signifikant erniedrigte CRP-Spiegel im Blut.

Erste eigene explorative Experimente zeigen, dass es vermutlich eine Interaktion von CRP und Adrenoceptoren gibt, welche sich anhand der Pulsationsrate von Kardiomyozyten auslesen lässt.

**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 (6 wichtigste):**

Slagman AC, Bock C, Abdel-Aty H, Vogt B, Gebauer F, Janelt G, Wohlgemuth F, Morgenstern R, Yapici G, Puppe A, Modersohn D, Mans D, Jerichow T, Ott S, Kunze R, Schrödl W, Janko C, Hermann M, Kalden JR, Kern P, Parsch H, Kirschfink M, Schulz-Menger J, Röttgen R, Unger JK, Frei U, Schindler R, Möckel M, **Sheriff A**: Specific removal of C-reactive protein by apheresis in a porcine cardiac infarction model. *Blood Purification* 2010 [in press] 1,8

Franz S, Herrmann K, Fuhrrohr B, Sheriff A, Frey B, Gaipl 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 8,2

U. Appelt, **A. Sheriff**, U. S. Gaipl, 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. 8,2

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. 2,9

**A. Sheriff**, U. S. Gaipl, 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. 2,7

**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. 2,9

**Drittmittelprojekte:**

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

GO-Bio-Förderprogramm des BMBF\*

C-reaktives Protein (CRP) als pathologischer Modulator der Funktion von Adrenoceptoren:

ProFIT Förderprogramm der Investitionsbank Berlin

**Arbeitsgruppenleiter:**

PD Dr. Britta Siegmund

**Genutzte Räume:**Charité Campus Benjamin Franklin  
Karl-Landsteiner-Haus 3. Etage  
Raum 313 (Büro), 303 (Labor)**Mitarbeiter:**Dr. Arvind Batra  
Dr. Rainer Glauben  
Thorsten Stroh  
Inka Fedke  
Dr. Donata Lissner  
Lea Kredel  
Martin Wetzel  
Marc Auell  
Lukas Poralla  
Elena Sonnenberg**Forschungsfelder:**

In der AG Siegmund werden zwei Forschungsfelder bearbeitet:

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

Fettgewebe ist nicht nur Energiespeicher, sondern auch ein endokrinologisches Organ und immunologisch aktiv. Zellen des Fettgewebes exprimieren „innate Rezeptoren“ und reagieren auf deren Stimulation mit veränderter Freisetzung von z. T. immunregulatorischen Adipokinen. Da bei Morbus Crohn häufig eine Hypertrophie des mesenterialen Fettgewebes auftritt, deren Funktion bisher nicht bekannt ist, charakterisiert die Arbeitsgruppe die Zusammenhänge zwischen Fettgewebe und Immunsystem. Einerseits werden die Effekte verschiedener Adipokine auf Immunzell Subpopulationen bestimmt. Andererseits wird die Antwort von Zellen des Fettgewebes auf bakterielle Stimuli überprüft. Ziel ist das Verständnis der Rolle des mesenterialen Fettgewebes bei intestinaler Entzündung im Menschen.

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

Dieses Projekt beschäftigt sich mit der Wirkung von HDAC-Inhibitoren in (chronischen) Kolitismodellen und Modellen Inflammations-assoziiertes Tumorigenese in der Maus. Hierauf aufbauend werden die molekularen Grundlagen dieser Wirkung *in vitro* untersucht, wobei die Schwerpunkte auf der Manipulation der T-Helferzell-Polarisierung und der Differenzierung von Makrophagen 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-assoziiertes Tumorigenese in Mäusen.

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

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

**Publikationen (ausgewählte Arbeiten seit 2006):**

**Siegmund, B.** 2010. Interleukin-18 in intestinal inflammation: friend and foe? *Immunity* 32:300-302.

Batra, A., Okur, B., Glaben, R., Erben, U., Ihbe, J., Stroh, T., Fedke, I., Chang, H.D., Zeitz, M., and **Siegmund, B.** 2010. Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo. *Endocrinology* 151:56-62.

Stroh, T., Erben, U., Kuhl, A.A., Zeitz, M., and **Siegmund, B.** Combined pulse electroporation--a novel strategy for highly efficient transfection of human and mouse cells. *PLoS One* 5:e9488.

Stroh, T., Batra, A., Glaben, 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.

Glaben, 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.

Batra, A., Pietsch, J., Fedke, I., Glaben, 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.

Glaben, 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.

**Drittmittelprojekte:**

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

**Arbeitsgruppenleiter:**

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 Meyer, 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 Spondyloarthritis (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). 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 Peptidspezifischen T-Zellen im Gewebe von SpA-Patienten mit Hilfe der Tetramer-Technologie nachzuweisen. Kürzlich ist es uns gelungen zu zeigen, dass Chondrozyten HLA-B27 restringierten Peptiden gegenüber CD8+ T-Zellen präsentieren können (Kuhne et al, Arthritis Rheum 2009, 60; 1635-46). Zur Zeit weiten wir diese Untersuchungen auch auf antigen-spezifische Th-17-Zellen (Appel et al, Manuskript in Revision) und regulatorisch T-Zellen (Appel et al, Manuskript eingereicht) aus.

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). In weiteren Untersuchungen haben wir kürzlich die Expression/Sekretion des Proteins Sklerostin im Knochengewebe und Serum von AS-Patienten untersucht und konnten zeigen, dass eine negative Korrelation zwischen Sklerostin und Knochenneubildung besteht (Appel et al, Arthritis Rheum 60; 3257-62, 2009). Weiterhin haben wir die IL-17-Expression im Knochengewebe, Synovialflüssigkeit und Serum bei AS-Patienten untersucht und dies korreliert mit RA- und OA-Patienten.

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 erste Auswertungen wurden publiziert (Rudwaleit et al, Arthritis Rheum 2009, 60; 3402-12). 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), Ergin et al I, Micro Cell Fact 2007; 6:18ff).

### **Multi-User-Geräte**

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

**Publikationen:**

1. 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

2. 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

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. 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

5. Appel H, Ruiz-Heiland G, Listing J, Zwerina J, Hermann M, Haibel H, Baraliakos X, Hempfing A, Rudwaleit M, **Sieper J**, Schett G: Altered skeletal expression of sclerostin and its link to radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 60; 3257-62, 2009

Impact-Factor 7.421

6. Song IH, Appel H, Haibel H, Loddenkemper C, Braun J, **Sieper J**, Rudwaleit M: New onset of Crohn's disease during treatment of active ankylosing spondylitis with etanercept.

*J Rheumatol* 35; 532-6, 2008

**Drittmittelprojekte:**

SFB 650: TP22 „Antigen-spezifische regulatorische T-Zellen für zelluläre Therapie“. Dr. A. Thiel/Prof. Dr. J. Sieper. DFG-Projekt

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

DFG Projekt GZ: SI 620/11-1: Osteoimmunology – IMMUNOBONE – Untersuchungen zur Interaktion zwischen Entzündung, Knochenzerstörung und Knochenneubildung bei Patienten mit AS

BMBF/DLR Projekt FKZ 01EC1009A: ArthroMark Verbund: Biomarker und Bildgebung zur Diagnose und Stratifizierung der Rheumatoiden Arthritis und Spondyloarthritis.

BMBF/DLR Projekt FKZ 01EC1002D: ANCYLOSS Verbund: Klinik und Pathophysiologie von Osteophylenformation und Ankylose TP 4 Prof. Sieper

## AG Molekulare Bibliotheken

### Arbeitsgruppenleitung

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

### Mitarbeiter

Dr. Prisca Boisguerin, Dr. Bernhard Ay, Dr. Rolf Stigler, Dipl. Chem. Zerrin Fidan, Dipl. Biol. Carsten Mahrenholz, Dipl. Biol. Victor Tapia, Dipl. Ing. Marc Hovestaedt, Dipl. Biol. Lars Vouilleme, Dipl. Biol. Judith Müller, Oliver Kortt, Anja Heiduk, Maryam Tajik, Aylin Younis, Matthias Schneider, Cecilia Crux Palma, Ines Kretzschmar, Christiane Landgraf, Annette Hayungs

### Forschungsfelder:

Die AG Volkmer fokussiert sich auf Untersuchungen von Protein-Protein-Interaktionen. Dafür nutzen wir die Technologie der Peptid-Arrays im Mikro- als auch Makro-Format. Diese Technologie nutzen wir sowohl im proteomischen Sinn als auch als zielgerichtete Methode. Im besonderen Fokus der AG stehen Protein-Interaktions-Domänen wie z. B. WW, SH3 oder PDZ Domänen. Diese wurden im Falle der SH3 Domänen proteomweit oder im Fall einer krankheitsrelevanten PDZ Domäne (Mukoviszidose) zielgerichtet untersucht. Im letzteren Fall wurde ein selektiver Inhibitor der betreffenden PDZ Domänen gesucht und auch gefunden. Ein weiterer Schwerpunkt war die Untersuchung des Oligomerisierungsverhaltens von Coiled-Coil Domänen. Unsere Arbeiten führten hier zur Aufdeckung von Regeln die die Ausbildung von doppelsträngigen oder dreisträngigen Coiled-Coils steuern.

Immunologische Schwerpunkte der AG waren Arbeiten zum T-Zell Epitopmapping (Pepmix-Technologie) und zum Kartieren von B-Zell Epitopen. Unsere Technologie konnten wir kürzlich erfolgreich auf die Kartierung von IgE Epitopen im Zusammenhang mit einer Nahrungsmittelallergie anwenden. Im Zusammenhang mit der dilatativen Kardiomyopathie wird momentan versucht selektive IgG-3-Fc-bindende Peptide aufzuspüren. Diese Arbeiten sind eine hohe Herausforderung und noch nicht abgeschlossen.

Das Einschleusen von biologisch aktiven Peptiden in Zellen ist ein weiterer Schwerpunkt der AG. Ziel ist es die über Peptidarrays selektierten Peptide in ausgewählte Zellen einzuschleusen, um intrazellulären Prozessen zu beeinflussen. Im speziellen wollen wir die Auswirkung von EB1-bindenden Peptiden und von PDZ-bindenden Peptiden intrazellulär untersuchen. Dies bedeutet einen Schritt vorwärts in Hinsicht auf die Entwicklung von *in vivo Arrays* dar.

Als Service für das RCIS kann die AG Volkmer die Möglichkeit zur Peptidsynthese im mg-Maßstab als auch die Peptid-Arraytechnologie zu besonderen Konditionen anbieten.

**Publikationen (Auswahl 5 aus den letzten drei Jahren):**

Ruppel E, Ay B, Boisguerin P, Dölle S, Worm M, **Volkmer R.**

Identification of IgE binding to Api g 1-derived peptides. *ChemBioChem* 2010, 11:2283-93.

Mahrenholz CC, Tapia V, Stigler RD, **Volkmer R.**

A study to assess the cross-reactivity of cellulose membrane-bound peptides with detection systems: an analysis at the amino acid level. *J Pept Sci.* 2010, 16:297-302.

Tonikian R, Xin X, Toret CP, Gfeller D, Landgraf C, Panni S, Paoluzi S, Castagnoli L, Currell B, Seshagiri S, Yu H, Winsor B, Vidal M, Gerstein MB, Bader GD, **Volkmer R**, Cesareni G, Drubin DG, Kim PM, Sidhu SS, Boone C  
Bayesian modeling of the yeast SH3 domain interactome predicts spatiotemporal dynamics of endocytosis proteins. *PLoS Biol.* 2009, 7:e1000218.

Tapia VE, Ay B, **Volkmer R.**

Exploring and profiling protein function with peptide arrays. *Methods Mol Biol* 2009, 570:3-17.

Mueller J, Kretschmar I, **Volkmer R**, Boisguerin P. (2008)

Comparison of cellular uptake using 22 CPPs in 4 different cell lines. *Bioconjug Chem* 2008, 19:2363-74.

**Drittmittelprojekte:**

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

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

Mukoviszidose-Stiftung: Selektive CAL PDZ Inhibitoren

ProFIT: Neurotensin-Rezeptor-Tracer

BMBF: Cardioimmun, 01EZ0737.

**Kontakt:**

Charité-Universitätsmedizin Berlin  
Büro Forschungsmanagement RCIS  
Kirsten Kindler  
Tel.: +49 (0)30 450 513 302  
Fax :+49(0)30 450 513 985  
rcis@dfz.de  
[www.charite.de/rcis](http://www.charite.de/rcis)