



Berlin Immunology Day

2011

organized by **RCIS** –
Research Center ImmunoSciences

Monday November 14th, 2011 | 09:00 – 18:30 h
Hotel Aquino, Katholische Akademie, Hannoversche Straße 5

Berlin Immunology Day Program

Monday November 14th, 2011 | 09:00 – 18:30 Uhr
Hotel Aquino Katholische Akademie, Hannoversche Straße 5

Time	Speaker	Title of Presentation
09:00 – 09:10	Alf Hamann	Welcome and report on the development of RCIS at the Charité

Block 1 – Molecular Immunology – chaired by Andreas Radbruch

09:10 – 09:40	Peter Kloetzel	The Ubiquitin-Proteasome-System (UPS) at the cross roads of innate and adaptive immunity
09:40 – 10:05	Chakkumal Anish	Synthetic glycoconjugate vaccines : Challenges and promises
10:05 – 10:20	Wolfgang Poller	Single-target RNA interference blocks multiple proinflammatory and profibrotic pathways in human cardiofibroblasts and provides evidence of a novel link between inflammation and fibrosis
10:20 – 10:35	Sebastian Ochsenreither	Identification of a new T-cell antigen in AML stem cells
10:35 – 10:50	Livia Otte	Screening for mimotopes of the anti-aquaporin-4 IgG autoantibody: A novel rational therapeutic approach for the treatment of Neuromyelitis optica

10:50 – 11:20 *Coffee Break*

Block 2 – Clinical and translational Immunology – chaired by Andreas Thiel

11:20 – 11:50	Birgit Sawitzki	Personalized Treg therapy - from bench to bedside
11:50 – 12:05	Verena Moos	Immune activation and -defence during Whipple's disease
12:05 – 12:30	Ahmed Sheriff	The innate immunity component C-reactive protein uncouples heart beat rate and blood pressure
12:30 – 12:45	Andreas Grützkau	Multiparameter flow cytometry analysis of peripheral blood mononuclear cells in ankylosing spondylitis
12:45 – 13:00	Donata Lissner	Inflammasome activation through metabolic stress - consequences for inflammatory bowel disease

13:00 – 14:30 *Lunch and Poster Session*

Program continued RCIS Berlin Immunology Day November 14th, 2011

Block 3 – Cellular Immunology and Immunity – chaired by Carmen Scheibenbogen

Time	Speaker	Title of Presentation
14:30 – 15:00	Max Löhning	Generation, maintenance and reprogramming of immunological memory
15:00 – 15:15	Ulrike Erben	Analysis of functional antigen-specific T cells
15:15 – 15:30	Andreas Hutloff	Regulation of T follicular helper cell development
15:30 – 15:45	Chiara Romagnani	Requirements for Natural Killer cell differentiation and effector functions
15:45 – 16:00	Anja Hauser	Analysis of plasma cell dynamics <i>in vivo</i>
16:00 – 16:30	<i>Coffee Break</i>	

16:30 – 17:00 Election of board

Block 4 – Cellular Immunology and Immunity – chaired by Birgit Sawitzki

17:00 – 17:30	Norbert Suttorp	Innate immunity of the lung - role of pulmonary epithelial cells
17:30 – 17:45	Andreas Thiel	Analysing human immune responses
17:45 – 18:00	Liliana Mochmann	Bone marrow stroma-leukemia interaction
18:00 – 18:15	Michal Or-Guil	Systems immunology of humoral immune responses
18:15 – 18:30	Frank Bachmann	Targeted therapy in a chronic inflammatory disease - psoriasis

Inhaltsverzeichnis Arbeitsgruppen (alphabetisch nach AG-Leiter)

1.....Baldus, Claudia	5
2.....Dörner, Andrea.....	8
3.....Erben, Ulrike / Kühl, Anja	10
4.....Giet van der, Markus.....	12
5.....Grabowski, Patricia.....	15
6.....Hamann, Alf.....	19
7.....Keilholz, Ulrich.....	23
8.....Klugewitz, Katja	28
9.....Kramer, Achim.....	31
10....Or-Guil, Michal	33
11....Poller, Wolfgang.....	35
12....Salama, Abdulgabar.....	37
13....Schneider, Thomas	40
14....Sheriff, Ahmed.....	44
15....Siegmund, Britta.....	47
16....Sieper, Joachim.....	49
17....Volkmer, Rudolf.....	52
Kontakt	54

Arbeitsgruppenleiterin

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

Genutzte Räume

TDH Räume: 205, 206

Namen der im TDH arbeitenden Mitarbeiter

Isabelle Bartram	(PhD Studentin)
Ebru Coskun	(PhD Studentin)
Liliana Mochmann	(Diplom Biologin)
Jutta Ortiz Tanchez	(Biotechnologin)
Monika Dejewska	(Master Studentin)
Nasrin Farhadi Sartangi	(Medizindoktorandin)

Namen der im Haupthaus arbeitenden Mitarbeiter

Cornelia Schlee	(Biotechnologin)
Eva von der Heide	(PhD Studentin)
Sandra Heesch	(Dr. rer. nat)
Martin Neumann	(Dr. med.)
Lars Fransecky	(Dr. med.)

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 Kandidatengenene 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 dem 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.

Ein neuer Schwerpunkt wird zusätzlich die Untersuchung der Leukämie-Knochenmarkstroma Interaktion sein. Neben Untersuchungen zu Resistenzmechanismen soll ebenso die pathobiologische Rolle der mesenchymalen Knochenmarkstromazellen für die Leukämieentstehung sein.

Publikationen (Auswahl):

Baldus CD, Liyanarachchi S, Mrozek K, Auer H, Tanner SM, Guimond M, Ruppert AS, Mohamed N, Davuluri RV, Caligiuri MA, Bloomfield CD, de la Chapelle A. Acute myeloid leukemia with complex karyotypes and abnormal chromosome 21: Amplification discloses overexpression of APP, ETS2, and ERG genes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2004;101:3915-3920. **10.5**

Baldus CD, Martus P, Burmeister T, Schwartz S, Gökbüget N, Bloomfield CD, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. Low *ERG* and *BAALC* expression identifies a new subgroup of adult acute T-lymphoblastic leukemia with a highly favorable outcome. **J Clin Oncol**. 2007;25:3739-3745 **11.8**

Baldus CD, Thibaut J, Goekbuget 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, Goekbuget N, Stroux A, Burmeister T, Neumann M, Heesch S, Haferlach T, Hoelzer D, Hofmann WK, Thiel E, **Baldus CD**. High BAALC expression predicts chemoresistance in adult B-precursor acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. 2010;115(18):3737-44. **10.6**

Heesch S, Schlee C, Neumann M, Stroux A, Kühnl A, Schwartz S, Haferlach T, Goekbuget N, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK, **Baldus CD**. BAALC-associated gene expression profiles define IGFBP7 as a novel molecular marker in acute leukemia. **Leukemia**. 2010;24:1429-36. **8.9**

Mochmann LH, Bock J, Ortiz-Tánchez J, Schlee C, Bohne A, Neumann K, Hofmann WK, Thiel E, **Baldus CD**. Genome-wide screen reveals WNT11, a non-canonical WNT gene, as a direct target of ETS transcription factor ERG. **Oncogene**. 2011;30:2044-56. **7.4**

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 08/2010 Einzelförderung durch die Berliner Krebsgesellschaft
Molekulare Charakterisierung der ETP-ALL
Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie
Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 206**
- ab 10/2011 Einzelförderung durch Deutsche Jose Carreras Leukämie Stiftung
Rolle von IGFBP7 bei akuten Leukämien und Mechanismen der IGFBP7 assoziierten Chemotherapieresistenz
Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie
Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**
- ab 10/2011 Stiftungsprofessur der Deutschen Krebshilfe
Mildred Scheel Professur für molekulare Leukämieforschung
Medizinische Klinik III; Hämatologie/Onkologie
Charité, Campus Benjamin Franklin – **TDH Rm 205**

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

Dr.rer.nat Andrea Dörner
Centrum 11, Campus Benjamin Franklin
Kardiologie und Pneumologie
Tel.: 8445 4581/4346; Fax: 8445 4648
Andrea.doerner@charite.de

Genutzter Raum

Tibor-Diamantstein-Haus, Raum 209

Mitarbeiter

Inga Klumpe (Biologische Doktorandin)
Julia Winter (Biologische Doktorandin)
Sabine Knüppel (Technische Assistentin)



A.Dörner

I.Klumpe

J.Winter

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 (Auswahl)

Pinkert S, Klingel K, Lindig V, **Dörner A**, Zeichhardt H, Spiller OB, Fechner H (2011). Virus host co-evolution in a persistent CVB3 infected cardiomyocyte cell line. **J Virol**, accepted IP 5,189

Ebermann L, Wika S, Klumpe I, Hammer E, Klingel K, Lassner D, Völker U, Erben U, Zeichhardt H, Schultheiss HP, **Dörner A** (2011). The mitochondrial respiratory chain has a critical role in the antiviral process in Coxsackievirus B3-induced myocarditis. **Lab Invest**. doi: 10.1038/labinvest.2011.145. IP 4,405

Vogelpohl I, Vetter R, Heger J, Ebermann L, Euler G, Schultheiss HP, **Dörner A** (2011). Transgenic overexpression of heart-specific adenine nucleotide translocase 1 positively affects contractile function in cardiomyocytes. **Cell Physiol Biochem**.;27(2):121-8. IP 3,585

Riad A, Westermann D, Zietsch C, Savvatis K, Becher PM, Bereswill S, Heimesaat MM, Lettau O, Lassner D, **Dörner A**, Poller W, Busch M, Felix SB, Schultheiss HP, Tschöpe C (2011). TRIF is a critical survival factor in viral cardiomyopathy. **J Immunol**;186(4):2561-70. IP 5,745

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** 120(23):2358-66. 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

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 z.B. die Herstellung und Verwendung von MHC/HLA-Tetrameren und die Markierung von Bakterien einschließen, werden entzündungsrelevante Antigene für funktionelle CD8⁺ oder CD4⁺ T-Zellen in chronischen Entzündungen identifiziert und verifiziert. Daraus werden Rückschlüsse auf die präsentierenden Strukturen und auf restringierte Peptide für *in situ*-Nachweismethoden möglich.

Multi-User-Geräte/-Techniken

1. Rotationsmikrotom / Microm HM325
2. Cryostat / Leica CM3050S
3. 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 potentieller Antigene.
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 (Auswahl)

1. Schinnerling K, Moos V, Geelhaar A, Allers K, **Loddenkemper C**, Friebel J, Conrad K, **Kühl AA**, **Erben U**, Schneider T. Regulatory T cells in patients with Whipple's disease. **J Immunol**. 2011 Sep 14. [Epub ahead of print] [IF: 5.745]
2. Gerling M, Glauben R, Habermann JK, **Kühl AA**, **Loddenkemper C**, Lehr HA, Zeitz M, Siegmund B. Characterization of chromosomal instability in murine colitis-associated colorectal cancer. **PLoS One**. 2011;6(7):e22114. [IF: 4.411]
3. Bereswill S, Fischer A, Plickert R, Haag LM, Otto B, **Kühl AA**, Dashti JI, Zautner AE, Muñoz M, **Loddenkemper C**, Gross U, Göbel UB, Heimesaat MM. Novel murine infection models provide deep insights into the "ménage à trois" of *Campylobacter jejuni*, microbiota and host innate immunity. **PLoS One**. 2011;6(6):e20953. [IF: 4.411]
4. Blankenhaus B, Klemm U, Eschbach ML, Sparwasser T, Huehn J, **Kühl AA**, **Loddenkemper C**, Jacobs T, Breloer M. *Strongyloides ratti* infection induces expansion of Foxp3+ regulatory T cells that interfere with immune response and parasite clearance in BALB/c mice. **J Immunol**. 2011 Apr 1;186(7):4295-305. [IF: 5.745]
5. Albrecht I, Niesner U, Janke M, Menning A, **Loddenkemper C**, **Kühl AA**, Lepenies I, Lexberg MH, Westendorf K, Hradilkova K, Grün J, Hamann A, Epstein JA, Chang HD, Tokoyoda K, Radbruch A. Persistence of effector memory Th1 cells is regulated by Hopx. **Eur J Immunol**. 2010 Nov;40(11):2993-3006. [IF: 4.942]
6. 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 10.614]
7. 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]
8. Rivino L, Gruarin P, Häringer B, Steinfeldler 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]
9. 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.
10. Epple HJ, Allers K, Tröger H, **Kühl A**, **Erben U**, Fromm M, Zeitz M, **Loddenkemper C**, Schulzke JD, Schneider T. Acute HIV infection induces mucosal infiltration with CD4+ and CD8+ T cells, epithelial apoptosis, and a mucosal barrier defect. **Gastroenterology**. 2010 Oct;139(4):1289-300. [IF 12.899]
11. 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]

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, Kühl, Schulzke, TP-Z1 SFB 633 ‚Induktion und Modulation T-zellvermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt‘ (20011/2-2015/1)

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. Markus Tölle, Patricia Wolter, Dr. Mirjam Schuchardt, Tao Huang, Jasmin Prüfer, Simone Boes, Cornelia Henkel, Nicole Prüfer, Wiebke Kleinschmidt

**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_{1/3} 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. Wir konnten des Weiteren zeigen, dass Proteine im HDL von Patienten mit Niereninsuffizienz akkumulieren, die pro-inflammatorisch wirken und z.B. MCP-1 aktivieren. Ebenso wurde untersucht, welchen Einfluss HDL auf die Funktion von T-Zellen und Makrophagen haben kann. HDL reduziert die Adhäsion und Transmigration von Makrophagen. Interessant hierbei ist, dass bei Patienten mit terminaler Nierenfunktionsstörung, HDL diese protektiven Eigenschaften verliert. Die Mechanismen 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

immunologische 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)

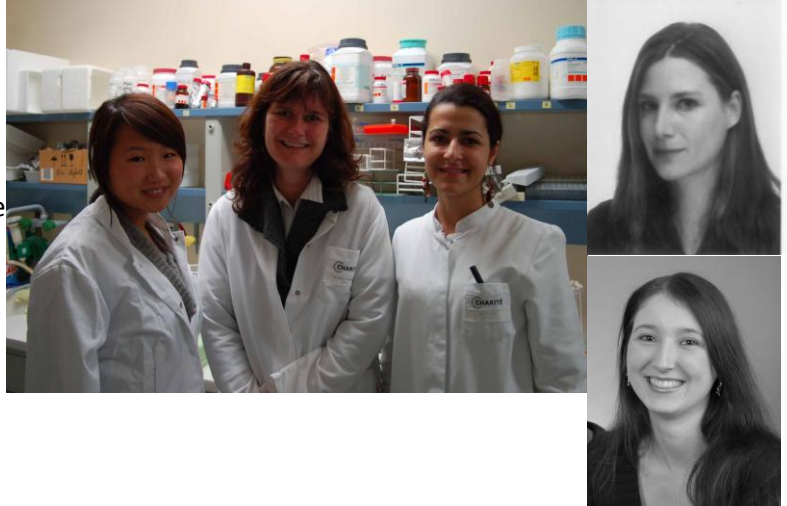
1. Nofer JR, **van der Giet M***, Tölle M, Wolinska I, Sokoll A, von Wnuck-Lipinski K, Baba HA, Gödecke A, Ishii I, Chun J, Kleuser B, Völker W, Fobker M, Zidek W, Assmann G, Levkau B. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P₃: role of HDL-associated lysophospholipids. *Journal of Clinical Investigation*. 2004; 113: 569 – 581. * combined first author (IF: 14.118)
2. Levkau B, Hermann S, Theilmeyer 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 S1P₃. *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 S1P₃ 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 tetrphosphate on purinoceptors in the rat isolated perfused kidney. *British Journal of Pharmacology*. 2010; 161:530-40 (IF: 5.20)
10. Schuchardt M, Tölle, M., Prüfer, J., **van der Giet M**. Pharmacological relevance and potential of sphingosine 1-phosphate in the vascular system. *British Journal of Pharmacology*. 2011; 163:1140-62 (IF: 4.93)
11. Schuchardt M, Prüfer, J., Prüfer, N., Wiedon, A., Huang, T., Chebli, M., Jankowski, V., Jankowski, J., Schäfer-Korting, M., Zidek, W., **van der Giet M**, Tölle, M. The endothelium-derived contracting factor uridine adenosine tetrphosphate induces P2Y₂-mediated pro-inflammtatory signaling by monocyte chemoattractant protein-1 formation. *Journal of Molecular Medicine*. 2011; (IF: 5.19)

Drittmittelprojekte

1. DFG (339/7-2): Identifikation und Charakterisierung von neuen endothelabhängigen vasoaktiven Faktoren (2009 – 2011)
2. DFG (339/6-3): Ursachen und Mechanismen des funktionellen und dysfunktionellen HDL bei der Gefäßregulation (2011-2013)
3. BMWi: Charakterisierung struktureller Veränderungen im HDL (2011-2014)
4. EKFS: Therapeutische Ansätze zur Beeinflussung pro-arteriosklerotischer Mechanismen (2011-2014)
5. HGFS: Charakterisierung von Proteinen im HDL (2011-2014)

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 (Auswahl)

- | | IF |
|--|-----|
| 1. A.P. Sutter, K. Maaser, P. Grabowski , 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*, P. Grabowski* , 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. P. Grabowski , 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. P. Grabowski , 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, P. Grabowski , 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, P. Grabowski . 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
Rheumaforschungszentrum
Charitéplatz 1
10117 Berlin
Tel: ++49 (0)30 28460655
Fax: ++49 (0)30 28460656
E-mail: hamann@drfz.de

**Genutzte Räume**

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

Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße

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

Homepage

<http://www.drfz.de/experimentelle-rheumatologie/>

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 Gewebsschädigung führen oder eine effektive Entfernung der Viren verhindern. Inwiefern sich diese Zytokine beeinflussen und man möglicherweise immunmodulatorisch eingreifen kann, wollen wir hier ermitteln. Außerdem soll untersucht werden, ob regulatorische T-Zellen dabei eine Rolle spielen.

Projekte am Standort Hessische Straße*a) Modifikation von T-Zell-Epitopen zur antigen-spezifischen tolerogenen Vakzinierung*

Frühere Versuche, durch Vakzinierung mit Peptiden Autoimmunität zu therapieren, sind weitgehend erfolglos geblieben, da zum einen die Wirksamkeit kleiner Peptide begrenzt ist, zum anderen gefährliche Immunaktivierungen durch die Peptide im Tiermodell beobachtet wurden. Durch die Kopplung von Autoantigenen an synthetische makromolekulare Trägermoleküle sollen beide Nachteile einfacher Peptidpräparate vermieden werden. Wir konnten bereits zeigen, dass sich mit unseren Peptid-Konjugaten im Mausmodell der Multiplen Sklerose eine effiziente Protektion erreichen lässt, die auf der Induktion regulatorischer T-Zellen (Treg) und der Suppression antigen-spezifischer Effektor-T-Zellen beruht.

b) Immunmodulation durch Induktion tolerogener Signalwege:

Wir wollen (Auto-)antigenkonstrukte 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 Opsonine, die an Rezeptoren tolerogener Antigenpräsentierender Zellen binden, könnte so zur Induktion von Toleranz führen.

c) Peptidmodifikation von Proteinen oder Peptiden zur Förderung der mukosalen Transzytose

Unser Kooperationspartner T. Pernthaler (AgResearch, Neuseeland) hat für Vakzinierungszwecke mittels „Phage display Screening“ Peptidsequenzen (Muc-Peptide) identifiziert, die daran gekoppelte Makromoleküle rasch durch die Mukosa des Darmes transportieren. Durch das Anfügen dieser Muc-Peptide an Autoantigen-Peptide oder klinisch eingesetzte Polypeptide wie Hormone (Insulin), Cytokine oder Antikörper möchten wir diese oral verfügbar machen. Zurzeit wird der genaue Aufnahmemechanismus durch Laser-Scanning-Mikroskopie und Infrarot-Imaging untersucht. Anschließend soll das Konzept in relevanten Tiermodellen validiert werden.

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 (MOG-Modell, SJLxB10.PL-Modell)

Analysen:

Homing, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen, Laser Scanning Mikroskopie, Infrarot-Imaging

Publikationen (Auswahl)

Doebis C, Menning A, Neumann K, Ghani S, Schlawe K, Lauer U, **Hamann A**, Huehn J, Syrbe U. Accumulation and local proliferation of antigen-specific CD4+ T cells in antigen-bearing tissue. **Immunol Cell Biol.** 2011 May;89(4):566-72.

Steinfelder S, Floess S, Engelbert D, Haeringer B, Baron U, Rivino L, Steckel B, Gruetzkau A, Olek S, Geginat J, Huehn J, **Hamann A**. Epigenetic modification of the human CCR6 gene is associated with stable CCR6 expression in T cells. **Blood.** 2011 Mar 10;117(10):2839-46. Epub 2011 Jan 12.

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

Drittmittelprojekte

Im RCIS durchgeführt (seit Januar 2008):

BMBF	Verbundantrag	Biological tolerance-inducing agents to selectively suppress harmful immunoreactivity	Hamann
DFG	SFB650 TP1	Induction of stable Foxp3+ regulatory T cells	Hamann

Weitere Drittmittelprojekte der AG Hamann:

DFG	SFB633	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

Arbeitsgruppe Tumorimmunologie

1. Beteiligte Wissenschaftler

Prof. Dr. Ulrich Keilholz

Dr. Antonia Busse (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I-III und VII)

Susanne Döring (wissenschaftliche Mitarbeiterin, Teilprojekt IV)

Dr. Maren Knödler (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I und II)

Dr. Anne Letsch (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt I –V, VIII und IX)

Dr. Il-Kang Na (wissenschaftliche Mitarbeiterin Teilprojekt VI)

Dr. Sebastian Ochsenreither (wissenschaftlicher Mitarbeiter Teilprojekt I-III)

Ansprechpartner

Dr. Anne Letsch

Charité Campus Benjamin Franklin

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie
und Onkologie

Hindenburgdamm 30

12200 Berlin

Tel.: 030/8445-4576 / 4714

Fax: 030/8445-4552

anne.letsch@charite.de

Genutzte Räume

Raum 202

2. Darstellung des Spektrums aller Forschungsthemen der Forschergruppe:

Der Schwerpunkt liegt auf dem Gebiet der Tumorimmunologie und der Entwicklung von Tumorstoffen 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-assoziierter Antigene
- Charakterisierung von Tumor-/Leukämie- und Virus-spezifischen T-Zellantworten in verschiedenen Kompartimenten (z.B. peripheres Blut vs. Knochenmark, peripheres Blut vs. Tumor)
- Analyse von Immunproteasomen im Kontext von T-Zell-Immuntherapien

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 weiter verzögert und ist nun für 2012 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. In Planung ist derzeit eine Studie bei Patienten mit malignem Pleuramesotheliom.

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:

Die Auswertungen der umfangreichen Analysen sind abgeschlossen, so dass in Kürze ein Manuskript zu den relevanten Resistenzmechanismen vorliegen sollte.

IV. Entwicklung einer WT1-Vakzine bei Patienten mit HCCFragestellung /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 immunsuppressiver 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 SyndromFragestellung /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. Prozessierung WT1-assozierte Klasse-I Epitope und Einfluss inflammatorischer Zytokine auf deren Antigenität und Präsentation.

Das Projekt soll in Kooperation mit dem Ludwig Institute for Cancer Research, Brüssel durchgeführt und ist derzeit in Planung

VIII. Immunomodulatory effects of 5-azacytidine in Acute myeloid leukemia

Das Projekt ist derzeit in Planung

IX. 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

4. Förderung der Arbeiten durch:

- I. Deutsche José-Carreras-Leukämie-Stiftung
- II. EU-Projekt „Cancer Immunology and Immunotherapy“
Drittmittelantrag für potentielle Folgestudie in Vorbereitung
- III. Rahel-Hirsch-Habilitations-Stipendium der Charité, Stipendium der Sonnenfeld-Stiftung (D. Stather)
- IV. Drittmittelantrag für potentielle Folgestudie in Vorbereitung
- V. Novartis Pharma GmbH
- VI. DFG, ECRC
- VII. Drittmittelförderung beantragt
- VIII. Drittmittelförderung beantragt

5. Kooperationen:

1. AG Prof. Dr. Carmen Scheibenbogen, Med. Immunologie, Charité CCM
2. AG Prof. van der Bruggen, Ludwig Institute for Cancer Research, Brüssel
3. AG Prof. Greenberg, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA
4. Prof. Dr. Rajan Somasundaram, PD Dr. Katja Klugewitz, Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie, CBF
5. Dr. Daniel Seehofer, Dr. 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

Publikationen (Auswahl)

	Impact Faktor (ISI)
<u>Ochsenreither S</u> , Fusi A, Geikowski A, Stather D, <u>Busse A</u> , Stroux A, <u>Letsch A</u> , <u>Keilholz U</u> . Wilms' tumor protein 1 (WT1) peptide vaccination in AML patients: predominant TCR CDR3 β sequence associated with remission in one patient is detectable in other vaccinated patients. Cancer Immunol Immunother. 2011 Sep	4,7
<u>Ochsenreither S</u> , Fusi A, <u>Busse A</u> , Bauer S, Scheibenbogen C, Stather D, Thiel E, <u>Keilholz U</u> , <u>Letsch A</u> . "Wilms Tumor Protein 1" (WT1) peptide vaccination-induced complete remission in a patient with acute myeloid leukemia is accompanied by the emergence of a predominant T-cell clone both in blood and bone marrow." J Immunother. 2011 Jan;34(1):85-91	3,8
Busse A, <u>Letsch A</u> , Scheibenbogen C, Nonnenmacher A, Ochsenreither S, Thiel E, <u>Keilholz U</u> (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	3,4
Ochsenreither S, Fusi A, Busse A, <u>Letsch A</u> , Haase D, Thiel E, Scheibenbogen C, <u>Keilholz U</u> (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.	4,7
<u>Keilholz U*</u> , <u>Letsch A*</u> , 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	10,5
Na IK, Busse A, Scheibenbogen C, Ghadjar P, Coupland SE, <u>Letsch A</u> , Loddenkemper C, Stroux A, Bauer S, Thiel E, <u>Keilholz U</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	4,6
Eggermont AM, Suci S, Santinami M, Testori A, Kruit WH, Marsden J, Punt CJ, Salès F, Gore M, Mackie R, Kusic Z, Dummer R, Hauschild A, Musat E, Spatz A, <u>Keilholz U</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	28,6
<u>Letsch A</u> , <u>Keilholz U</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	4,4

Arbeitsgruppenleiterin

PD Dr. med. Katja Klugewitz
CC13
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

Genutzte Räume

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

Mitarbeiter/innen

Dipl. Biochem. Katrin Neumann
Dipl. Biol. Nils Kruse
Dipl. Biol. Christine Rudolph
Dipl. Biochem. Katherine Schultheis
Stud. Med. Enver Tahir
Stud. Med. Ruth Seikowski
Stud. Bioinf. Katrin Hinz

Forschungsfelder**1) Induktion eines Darm-*Homing*phänotyps bei CD4⁺ T-Zellen durch Lebersinus-endothelzellen**

Lebersinusendothelzellen (LSEC) sind nicht-professionelle antigenpräsentierende Zellen (APC) der Leber, die konstitutiv MHC-II und kostimulatorische Moleküle exprimieren. In diesem Projekt konnten wir zeigen, dass die antigenabhängige Aktivierung naiver CD4⁺ T-Zellen sowie die Reaktivierung von Th1-Zellen durch LSEC die Expression darmspezifischer *Homing*rezeptoren auf den CD4⁺ T-Zellen induziert, die daraufhin in das Darmgewebe und das darmassoziierte lymphatische Gewebe migrieren. Die Induktion des Darm-*Homing*phänotyps erfolgt in Abhängigkeit von Retinolsäure. LSEC exprimieren spezifische Enzyme, die Retinaldehydhydrogenasen, mit denen sie das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin A zu Retinolsäure metabolisieren und damit die Expression darmspezifischer *Homing*rezeptoren auf aktivierten CD4⁺ T-Zellen induzieren. LSEC-depletierte Leber-APC waren nicht in der Lage, einen Darm-*Homing*phänotyp bei CD4⁺ T-Zellen zu induzieren. Weiterführend wird untersucht, ob die Aktivierung naiver CD4⁺ T-Zellen durch LSEC für die Induktion des Darm-*Homing*phänotyps notwendig ist, oder ob eine Aktivierung durch andere Leber-APC bei gleichzeitiger Bereitstellung von Retinolsäure durch LSEC ebenfalls zur Migration von in der Leber-aktivierten CD4⁺ T-Zellen in den Darm führt.

2) Induktion CD25⁻ FoxP3⁻ regulatorischer CD4⁺ T-Zellen durch Lebersinus-endothelzellen

In einem Modell der Knochenmarkstransplantation an der Maus konnten wir zeigen, dass LSEC in Abwesenheit professioneller APC in der Lage sind, naive CD4⁺ T-Zellen antigenabhängig zu *primen*. Dieses *priming* induziert jedoch keine Expression pro- oder anti-inflammatorischer Effektorzytokine durch LSEC-aktivierte CD4⁺ T-Zellen. Stattdessen differenzieren die Zellen zu CD25⁻ FoxP3⁻ regulatorischen T-Zellen (T_{LSEC}). T_{LSEC} supprimieren die Proliferation naiver CD4⁺ T-Zellen *in vitro* und in einem Modell der T-Zell-vermittelten Autoimmunhepatitis den Verlauf der Pathogenese *in vivo*. In weiterführenden Versuchen wurde der Frage nachgegangen, über welche Mechanismen die Suppression der Autoimmunhepatitis durch T_{LSEC} erfolgt. Die Induktion der Autoimmunhepatitis in

diesem Mausmodell wird durch CD8⁺ T Zellen vermittelt. Dahingehend wurde gezeigt, dass T_{LSEC} die Aktivierung, Proliferation und Expression von Effektormolekülen von CD8⁺ T Zellen *in vitro* inhibieren. Da T_{LSEC} darmspezifische *Homing*rezeptoren exprimieren und in das Darmgewebe und die mesenterialen Lymphknoten migrieren, wird aktuell am Mausmodell der Transfercolitis untersucht, ob T_{LSEC} den Verlauf einer entzündlichen Darmerkrankung beeinflussen können.

Wir gehen zudem der Frage nach, wie die regulatorische Funktion der T_{LSEC} vermittelt wird. Erste Ergebnisse legen nahe, dass der regulatorische Effekt Zell-Zellkontaktabhängig ist, aber weder IL-10 noch TGFβ involviert sind. Darüber hinaus klären wir, durch welche Mechanismen LSEC nicht-klassische regulatorische T-Zellen induzieren.

Eigene Publikationen zum Thema

- 1) Kruse, N., Neumann, K., Schrage, A., Derkow, K., Schott, E., Erben, Kühl, A., Loddenkemper, C., U., Zeitz, M., Hamann, A., **Klugewitz, K.** (2009) Priming of CD4⁺ T cells by liver sinusoidal endothelial cells induces CD25^{low} forkhead box protein3⁻ regulatory T cells suppressing autoimmune hepatitis. **Hepatology** 50:1904-1913.
- 2) **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⁺ effector cells and suppression of IFNγ-producing cells after intravenous protein immunization. **J Immunol** 169:2407-13.
- 3) 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.
- 4) 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⁺ effector T cells. **Cell Immunol** 253(1-2):110-5.

3) *Cross-Talk* verschiedener hepatischer APC-Populationen

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

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

In diesem Projekt konnten wir zeigen, dass LSEC basolateral homöostatische und inflammatorische Chemokine aufnehmen und diese apikal zur Verfügung stellen, was zu einer verstärkten chemokinabhängigen Transmigration von CD4⁺ T-Zellen durch das Lebersinusendothel *in vitro* führt. An der Internalisierung und Transzytose von Chemokinen durch LSEC sind Chemokinrezeptoren, wie der CXCR4, und Clathrin-*coated* Vesikel beteiligt. Die Glykosaminoglykane Heparan- und Chondroitinsulfat spielen bei der apikalen Immobilisierung der Chemokine durch LSEC eine Rolle. Darüber hinaus haben wir untersucht, welche Bedeutung die endotheliale Chemokinbereitstellung *in vivo* für den Verlauf einer hepatischen Entzündung hat und ob sich hieraus therapeutische Zielstrukturen ableiten lassen. Die Gabe eines Inhibitors der endothelialen Chemokinaufnahme und Transzytose *in vitro* suppressierte den Verlauf einer Concanavalin A-induzierten Autoimmunhepatitis und resultierte in einer verminderten chemokinabhängigen Rekrutierung aktivierter CD4⁺ T-Zellen in das Lebergewebe.

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.

5) Antigenabhängige Adhäsion, Transmigration und Rekrutierung von CD4⁺ T-Zellen in die Leber

Dieses Projekt befasst sich mit der antigenabhängigen Rekrutierung verschiedener CD4⁺ T-Zellpopulationen in die Leber. In diesem Zusammenhang wurde im *in-vitro*-Modell der Frage nachgegangen, ob T-Zellen antigenabhängig an Lebersinusendothelzellen adhären, welchen Einfluss das auf die Transmigration über das Endothel hat und inwieweit Transmigration sogar zur Modulation der T-Zellfunktion beiträgt. Dahingehend wurde gezeigt, dass die Antigenpräsentation durch zytokinaktivierte LSEC zu einer verstärkten Adhäsion und Transmigration von antigenspezifischen CD4⁺ T-Zellen durch das Lebersinusendothel führt.

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⁺ T cells is predominantly ICAM-1/LFA-1 dependent in mice. **Hepatology** 42(5):1063-71.

Multi-User-Geräte und Techniken

- Durchflusszytometer FACSCanto II, Zellsortierungsgerät AutoMACS, Real-Time PCR System StepOnePlus™
- Herstellung knochenmarkstransplantierte Mäuse, Modell der Concanavalin A-induzierten Autoimmunhepatitis, Modell der Transfercolitis
- Transmigrationsassay, Adhäsionsassay, TaqMan[®]-*real-time*-PCR
- MACS-basierte *ex-vivo*-Isolation von Endothelzellen

Drittmittelprojekte (im RCIS durchgeführt):

- SFB 633 „Induktion und Modulation T-Zell-vermittelter Immunreaktionen im Gastrointestinaltrakt“
Teilprojekt A8 „Die Leber als Organ des mukosalen Immunsystems: Aktivierung und antigenabhängige Rekrutierung von CD4⁺ T Zellen bei oraler Antigenaufnahme“
- Integriertes Graduiertenkolleg SFB 633 IMMUCO
- DFG-Einzelbeihilfe „Chemokinvermittelte Transmigration durch das Sinusendothel der Leber: molekulare Mechanismen und therapeutische Zielstrukturen bei hepatischer Entzündung“

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



Genutzte Räume

Hessische Str. 3-4, 10115 Berlin:
 04010, 04011, 04016, 05002, 05003, 05004, 05005, 05006, 05007*, 05011*, 05012, 05013, 05018,
 05019
 (* = gemeinsame Nutzung mit AG Volkmer)

Mitarbeiter

Dr. Ute Abraham, Astrid Grudziecki, Annette Hayungs, Sebastian Jäschke, Dr. Roman Klemz, Jeannine Mazuch, Dr. Bert Maier, Maike Mette-Thaben, Dr. Rupert Öllinger, Dr. Silke Reischl, Manjana Saleh, Katja Schellenberg, Dr. Rolf-Dietrich Stigler, 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)

1. Abraham U, Granada AE, Westermark PO, Heine M, **Kramer A***, Herzog H (2010) Coupling governs entrainment range of circadian clocks. **Mol Sys Biol**, in press (*=corresponding author)
2. 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]
3. 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
4. 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)
5. 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
6. 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.
7. 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
8. Brown SA, Kunz D, Dumas A, Westermark PO, Vanselow K, Tilmann-Wahnschaffe A, Herzog H, **Kramer A** (2008) Molecular insights into human daily behaviour. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 105:1602-7. (IF 9.6, 2006)
9. 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)
10. Vanselow K, Vanselow JT, Westermark PO, Reischl S, Maier B, Korte T, Herrmann A, Herzog 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)
11. **Kramer A**, Yang F-C, Snodgrass P, Li X-D, Scammell 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)
12. 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)
13. **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	SPP 1395	MA 5108
BMBF:	ColoNet	Bernstein Center CN			

(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.-Biol. Victor Greiff, Dipl.-Chem. Juliane Lück, Mag. rer. nat. Atijeh Valai, Dipl.-Phys. Tom Weber (IGC Portugal), Sylvia Uhlmann.

Homepage

<http://sysimm.eu/>

Forschungsfeld

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 (mathematische Modellierung und maschinelles Lernen). Es werden zurzeit folgende Themen bearbeitet:

- Charakterisierung und Lokalisation von B-Zell-Subpopulationen während 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>) zur Verfügung gestellt.

Multi-User Geräte

Microarray Scanner GenePix 4200AL
Tecan HS 4800 Pro Hybridisierungsstation

Publikationen (Auswahl)

A. Weiser, N. Wittenbrink, L. Zhang, A.I. Schmelzer, A. Valai, **M. Or-Guil**: Affinity maturation of B cells involves not only a few but a whole spectrum of relevant mutations, **Int. Immunol.** (2011) [IF 3,3]

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)

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 (Projekte A1 und C5)

Forschungsgebiet

1. Molekulare antiinflammatorische und antivirale Therapiestrategien
2. Identifikation neuer therapeutischer Targets bei Kardiomyopathien
3. Therapeutische RNA Interferenz und microRNA Modulation
4. Herzinsuffizienz - Molekulare Pathogenese und Therapie

Spezialtechniken, die für andere von Interesse sein könnten

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

Publikationen (Auswahl)

1. 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 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** 120: 2358-66 (EPub 2009 Nov 23)
IF: 14.595
2. Bobbert P, Scheibenbogen C, Jenke A, Kania G, Krohn S, Kuehl U, Rauch U, Eriksson U, Schultheiss HP, **Poller W**, Skurk C (2011). Adiponectin Expression in Patients with Inflammatory Cardiomyopathy Indicates Favourable Outcome and Inflammation Control. **European Heart Journal** 32(9): 1134-1147 (EPub 2011 Jan 29).
IF: 10.046
3. Rother M [¶], Krohn S [¶], Kania G, A. Eisenreich, Wang X, Westermann D, N. Dannemann, Skurk C, Hilfiker-Kleiner D, Cathomen T, Fechner H, U. Rauch, Schultheiss hp, Eriksson U, Scheibenbogen C [¶], **Poller W** [¶] (2010). Matricellular Signaling Molecule CCN1 Attenuates Experimental Autoimmune Myocarditis by Acting as a Novel Immune Cell Migration Modulator. **Circulation** 122: 2688-2698 (Epub 2010 Dec 6)
IF: 14.429

4. 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

5. Shi Y [§], Chen C [§], Lisewski U, Wrackmeyer U, Radke M, Westermann D, Sauter M, Tschöpe C, **Poller W**, Klingel K, Gotthardt M (2008) Cardiac deletion of the Coxsackievirus-Adenovirus-Receptor abolishes CVB3 infection and prevents myocarditis in vivo. **Journal of the American College of Cardiology**, in press.
IF: 11.054

6. Suckau L, Fechner H, Chemaly E, Krohn S, Hadri L, Kockskämper J, Westermann D, Bisping E, Ly H, Wang X, Kawase Y, Chen J, Liang L, Sipo I, Vetter R, Weger S, Kurreck J, Erdmann V, Tschöpe C, Pieske B, Lebeche D, Schultheiss H-P, Hajjar R, **Poller W** (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: 14.595

Drittmittelprojekte

SFB Transregio 19, Teilprojekte A1,C5, V1

2. Förderperiode bewilligt, Laufzeit 2008/2 – 2012

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

Genutzte Räume

Hessische Str.: 3113-03-01/02

Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße

Gürkan Bal, Julian Kamhieh-Milz, Viktor Sterzer, Olga Arbach, Miriam Isabel Köhler, Sahime Celik und Laiali Abdel-Nabi
Tel. 450-565804
Fax. 450-565904

Homepage

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

Forschungsgebiet 1: Autoimmunthrombozytopenie

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:

1. Oxidativer Stress Screening
2. Antigen-vermittelten Identifizierung von Autoantigenen (AMIDA)
3. Biomarker Profiling mit Hilfe von ClinProt Beads (*Top-Down* und *Bottom-Up*)
4. Nachweis oxidativer Proteinmodifikation thrombozytärer Oberflächenproteine
5. MikroRNA und Blutungsneigung
6. Antikörperbasierte Mikroarray
7. Einfluss von BAFF auf die Thrombozytenfunktion

Forschungsgebiet 2: Stammzellforschung

Hämatopoetische Stamm-und Progenitorzellen (HSPC) sind durch ihre Fähigkeit definiert, sich selbst zu regenerieren und sich in alle Zelltypen des blutbildenden Systems zu entwickeln. Sie bilden die Grundlage der Zelltherapie zur Behandlung zahlreicher maligner und nicht-maligner hämatopoetischer Erkrankungen. Darüber hinaus stellen sie ein vielversprechendes Ziel der Gentherapie dar, wodurch möglicherweise eine Vielzahl von Krankheiten behandelt werden könnte. Zu den wichtigsten Einschränkungen derartiger Behandlungen zählen u.a. die häufig geringe Anzahl verfügbarer Zellen sowie das unzureichende Engraftment transplanteder Stammzellen. Die experimentellen *ex vivo* Kultivierungen von HSPC dienen als Basis zur Erfindung weiterer Maßnahmen zur Steigerung der Zellzahl und des Engraftmentpotenzials der zu transplantierten Stammzellen. In diesem Zusammenhang ist die Ko-kultur mit Feederzellen ein vielversprechendes Werkzeug. Humane Endothelzellen aus der Nabelschnurvene (HUVEC) sind dafür bekannt, zahlreiche Zytokine zu produzieren, die bekanntermaßen eine wichtige Rolle bei der Proliferation

und Differenzierung der hämatopoetischen Progenitorzellen spielen. Darüber hinaus konnte bereits gezeigt werden, dass die Kokultur von HSPC mit EC als Feederzellen in Zellkontaktsystemen gegenüber den Zytokin-supplementierten Flüssigkulturen deutlich überlegen sind. Wir konnten in den vergangenen Jahren zeigen, dass eine Ko-Kultur nicht notwendig ist, sondern der hämatopoetische Effekt über sekretierte Faktoren erfolgt. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass dieser Effekt durch eine IL-Stimulation der Endothelzellen weiter gesteigert werden konnte. Um die Faktoren zu identifizieren, die für die hämatopoetischen Effekt verantwortlich sind, wurden bereits qualitative sowie ein quantitative Proteomicsstudien durchgeführt. Die Ergebnisse der Proteomstudien ermöglichten das Ableiten weiterer Hypothesen zum unidirektionalen Cross-talk von HUVEC zu HSPC. Ein DFG Antrag wird in Kürze gestellt. Derzeit laufen folgende Untersuchungen:

1. 2D Gelelektrophorese zur quantiativen Bestimmung sekretierter Proteine
2. Metabolomics Studien
3. miRNA Profiling

Projekte am Standort Hessische Str.:

- a) *ITP und Redoxproteomics*
- b) *Stammzellexpansion*

Multiusers Geräte

Biorad iQ5 Real Time Thermocycler
Geldokumentationsgerät

Publikationen (Auswahl)

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. Moldenhauer A, Genter G, Lun A, Bal G, Kiesewetter H, and **Salama A** Hematopoietic progenitor cells and interleukin-stimulated endothelium: expansion and differentiation of myeloid precursors *BMC Immunol*. 2008; 9: 56.
3. Moldenhauer A, Futschik M, Lu H, Helmig M, Götze P, Bal G, Zenke M, Han W, **Salama A**. Interleukin 32 promotes hematopoietic progenitor expansion and attenuates bone marrow cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 2011 Jun;41(6):1774-86. Epub 2011 May 13. PubMed PMID: 21469100.
4. Bal G, Kamhieh-Milz J, Futschik M, Haupl T, **Salama A**, Moldenhauer A. Transcriptional profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *Cell Transplant*. 2011 Jun 7. PubMed PMID: 21669038.
5. Bal G, Kamhieh-Milz J, Sterzer V, Al-Samman M, Debski J, Klein O, Kamhieh-Milz S, Bhakdi S, **Salama** (2011). Proteomic profiling of the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells." submitted.
6. Kamhieh-Milz J, Bal G., Sterzer V., Kamhieh-Milz S, Arbach O and **Salama A**. Reduced antioxidant capacities in platelets from patients with autoimmune thrombocytopenia purpura (ITP). *Platelets*. 2011 Sep 13. PubMed PMID: 21913810.

Drittmittelprojekte

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SA 405 4-1)

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB650, TP16)

Human Genome Sciences Inc., Rockville.

Immucor, 89778006, Diamed, Nr.89771049

AG Infektiologie

Arbeitsgruppenleiter

Prof. Dr. Dr. Thomas Schneider
AG Infektiologie
Charité Universitätsmedizin Berlin
Hindenburgdamm 30
12203 Berlin
Tel: ++49 (0)30 8445 2286
Fax: ++49 (0)30 8445 2903
E-mail: thomas.schneider@charite.de

Genutzte Räume

Charité, CBF: Tibor Diamantstein Haus Raum E10 - E13, 102

Wissenschaftliche Mitarbeiter im Tibor-Diamantstein-Haus

Postdocs: Dr. Kristina Allers, Dr. Verena Moos; Doktoranden: Annika Geelhaar, Katina Schinnerling, Julian Friebe; Technische Assistenz: Diana Bösel, Martina Seipel; Tel. 8445 2692, -2596

Homepage

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

Forschungsgebiet

Unsere Arbeitsgruppe hat eine fundierte Expertise auf dem Gebiet verschiedener Infektionskrankheiten: i) HIV- und SIV-Infektion, ii) chronische bakterielle Infektionen, sowie dem Morbus Whipple und iii) der Pathogenese viraler und parasitärer Infektionen, wie Norovirus Infektion oder Giardiasis.

Die mukosale Immunologie der HIV-Infektion ist Schwerpunkt unserer Arbeit. Besonders interessiert sind wir an der Rolle der CD4⁺ T-Zellen, da wir schon früh zeigen konnten, dass die CD4⁺ Depletion der intestinalen Mukosa der im peripheren Blut vorangeht, dass mukosale CD4⁺ Zellen ein bevorzugtes Ziel des HI-Virus darstellen und dass eine erhöhte Anzahl an aktivierten CD4⁺ und zytotoxischen CD8⁺ Zellen in der intestinalen Mukosa mit einer mukosalen Barrierestörung assoziiert sind. Diese Immunaktivierung wird wahrscheinlich durch regulatorische T-Zellen kontrolliert. Zur Zeit untersuchen wir daher die Immunrestitution der intestinalen Mukosa nach Beginn der antiretroviralen Therapie (ART), um prognostische Marker zu definieren, die mit Komplikationen und Therapieerfolg zusammenhängen und klinische Strategien der HIV Therapie beeinflussen könnten. Das SIV-Modell setzten wir gemeinsam mit dem Primatenzentrum in Göttingen zur Grundlagenforschung ein, um unser Wissen über die Veränderungen der intestinalen Mukosa während der akuten und chronischen Phase der HIV Infektion zu erweitern.

Am Beispiel des Morbus Whipple untersuchen wir Mechanismen einer langsam progredienten chronischen Infektion. Hier konnten wir eine Heterogenität der Infektion zeigen, die von der Immunreaktion des Wirtes abhängig zu sein scheint. Der klassische M. Whipple ist sehr selten und wird durch Immundefekte ermöglicht. Auf der anderen Seite stehen akute Diarrhöen in Kindern und infektiöse Endokarditis, die weitaus häufiger von *Tropheryma whipplei* verursacht werden. Dazu kommen gesunde Ausscheider, die durch eine effektive Immunantwort die systemische Verbreitung von *T. whipplei* verhindern können. So konnte das klinische Spektrum der Infektion mit *T. whipplei* erweitert werden.

Zusammen mit dem Tropeninstitut in Berlin und dem Robert Koch Institut definieren wir Pathomechanismen der Infektion mit z.B. *Giardia duodenalis* oder Norovirus, zwei Infektionen, die gerade bei immunkomprimierten Patienten einen dramatischen Verlauf nehmen können.

Projekte am Standort Tibor Diamantstein Haus, CBF:

a) Bedeutung der Therapiebeginns einer ART für die mukosale immunologische und morphologische Rekonstitution in HIV-infizierten Patienten:

Der Gastrointestinaltrakt (GIT), häufig Manifestationsort HIV (humanes Immundefizienz-Virus)-assoziiierter Erkrankungen, ist auch ein wesentlicher Ort für die Virusvermehrung und die Entstehung der systemischen Immundefizienz. Bereits früh nach Infektion gehen mukosale CD4⁺ T-Zellen nahezu vollständig verloren und die Schleimhautbarriere wird beeinträchtigt. Ein daraus resultierender vermehrter Übertritt mikrobieller Produkte aus dem Darmlumen in die Zirkulation ist Auslöser einer systemischen Immunaktivierung, die als wichtigster Motor des progredienten Immundefekts gilt. Trotz der enormen Bedeutung des GIT in der Pathogenese der HIV-Infektion ist wenig über die mukosale Rekonstitution nach Einleitung einer ART bekannt. Spärliche Untersuchungen zeigen, dass sich der Immunstatus auch nach Jahren unter Therapie bei den meisten Patienten nicht normalisiert; ein wesentlich früherer Therapiebeginn als bisher empfohlen könnte lebensverlängernd sein. Die Hintergründe hierfür sind jedoch bisher nicht verstanden. Die besondere Rolle des mukosalen Immunsystems in der Pathogenese der HIV-Infektion berücksichtigend, sollen in diesem Projekt Immunrekonstitution und -aktivierung in der intestinalen Mukosa in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Beginns der ART charakterisiert werden. Die daraus resultierenden Erkenntnisgewinne werden helfen, die Rolle intestinaler Ereignisse im Verlauf der HIV-Infektion und für den Erfolg der ART zu verstehen

b) Immunpathogenese der M. Whipple:

Der Morbus Whipple ist die chronisch systemische Infektion mit *T. whipplei*, ermöglicht durch Immundefizienzen des Patienten. Der Erreger kommt ubiquitär in der Umwelt vor und verursacht selbst-limitierende akute Infektionen und asymptomatische Besiedelung in Gesunden. Generell herrscht bei M. Whipple Patienten ein anti-inflammatorisches Milieu und erhöhte Aktivierung regulatorischer T-Zellen. Entscheidend für den Krankheitsverlauf scheinen Defizienzen Antigen-präsentierender Zellen, in denen wir Gene identifizieren wollen, die die Etablierung der Infektion steuern. Auserdem interessiert uns die Spezifität von CD8⁺ CTL, die Möglichkeiten der Aktivierung von *T. whipplei*-spezifischen CD4⁺ T-Zellen und die der T-Zell Rekonstitution bei der Entstehung des inflammatorischen Immunrekonstitutionssyndroms im Rahmen der Therapie.

Zusätzlich analysieren wir die Funktionen der epithelialen Barriere bei M. Whipple Patienten, den Einfluss von *T. whipplei* auf den epithelialen Widerstand und Mechanismen, die eine Translokation von *T. whipplei* durch die epitheliale Barriere ermöglichen.

c) Behandlungsstudie zur Therapie des M. Whipple :

In einer Klinischen Prüfung nach dem AMG der Phase II/III wird die zur Zeit präferierte Therapie aus einer Induktionsphase mit intravenösem Ceftriaxon für 2 Wochen und Erhaltungstherapie mit Cotrim oral für ein Jahr mit einer rein oralen Therapie aus Doxycyclin mit Hydroxychloroquin verglichen. Ziel unserer Studie ist eine nicht-Unterlegenheit der beiden Regime zu zeigen damit man zukünftigen Patienten eventuell eine intravenöse Therapie und die damit verbundenen Krankenhausaufenthalte oder Arztbesuche sowie die zusätzlichen Gesundheitsrisiken ersparen kann.

d) Immunpathogenese der H. pylori Infektion

In Zusammenarbeit mit dem MPI für Infektionsbiologie und dem Tropeninstitut untersuchen wir Mechanismen, die Persistenz und Abwehr der Infektion mit *H. pylori* beeinflussen. Auch hier scheint die Aktivierung von Makrophagen und Abwehrmechanismen durch CD4⁺ T-Zellen entscheidend für den Krankheitsverlauf.

Spezialtechniken

Tiermodelle: Rhesusaffen/SIV-Modell

Analysen: Phänotypische und funktionale Analyse mukosaler Zellpopulationen, Immunhistochemie, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen

Publikationen (Auswahl)

Allers, K., G. Hutter, J. Hofmann, C. Loddenkemper, K. Rieger, E. Thiel, and **T. Schneider**. 2011. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation. **Blood**. 117:2791-2799.

Jansen, A., and **T. Schneider**. 2011. Weil's disease in a rat owner. *Lancet Infect Dis*. 11:152.

Epple, H. J., K. Allers, H. Tröger, A. Kuhl, U. Erben, M. Fromm, M. Zeitz, C. Loddenkemper, J. D. Schulzke, and **T. Schneider**. 2010. Acute HIV infection induces mucosal infiltration with CD4+ and CD8+ T cells, epithelial apoptosis, and a mucosal barrier defect. **Gastroenterology**. 139:1289-1300.

Kiewe, P., S. Hammersen, and **T. Schneider**. 2010. A Georgian Woman With Dysphagia and Stridor. **Gastroenterology**. 138:e5-6.

Feurle, G. E., V. Moos, K. Schinnerling, A. Geelhaar, K. Allers, F. Biagi, H. Blaker, A. Moter, C. Loddenkemper, A. Jansen, and **T. Schneider**. 2010. The immune reconstitution inflammatory syndrome in whipple disease: a cohort study. **Ann Intern Med**. 153:710-717.

Moos, V., C. Schmidt, A. Geelhaar, D. Kunkel, K. Allers, K. Schinnerling, C. Loddenkemper, F. Fenollar, A. Moter, D. Raoult, R. Ignatius, and **T. Schneider**. 2010. Impaired immune functions of monocytes and macrophages in Whipple's disease. *Gastroenterology*. 138:210-220.

Martinetti, M., F. Biagi, C. Badulli, G. E. Feurle, C. Müller, V. Moos, **T. Schneider**, T. Marth, A. Marchese, L. Trotta, S. Sachetto, A. Pasi, A. De Sivestri, L. Salvaneschi, and G. P. Carozza. 2009. DRB1*13 and DQB1*06 in Whipple's disease: a study on patients and healthy workers exposed to Tropheryma whipplei. **Gastroenterology**. 136:2289-2294.

Epple, H.-J., **T. Schneider**, H. Tröger, D. Kunkel, K. Allers, V. Moos, M. Amasheh, C. Loddenkemper, M. Fromm, M. Zeitz, and J.-D. Schulzke. 2009. Impairment of the intestinal barrier is evident in untreated but absent in suppressively treated HIV-infected patients. **Gut**. 58:220-227.

Hütter, G., D. Nowak, M. Mossner, Ganepola S., A. Müßig, K. Allers, **T. Schneider**, J. Hofmann, C. Kücherer, O. Blau, I. Blau, W. K. Hofmann, and E. Thiel. 2009. Long-term control of HIV by allogeneic CCR5-D32/D32 stem cell transplantation. **N. Engl. J. Med**. 360:692-698.

Aebischer, T., D. Bumann, H. J. Epple, W. Metzger, **T. Schneider**, G. Cherepnev, A. K. Walduck, D. Kunkel, V. Moos, C. Loddenkemper, I. Jiadze, M. Panasyuk, M. Stolte, D. Y. Graham, M. Zeitz, and T. F. Meyer. 2008. Correlation of T cell response and bacterial clearance in human volunteers challenged with Helicobacter pylori revealed by randomized controlled vaccination with Ty21a-based Salmonella vaccine. **Gut**. 57:1065-1072.

Günther, U., H.-J. Epple, F. Heller, C. Loddenkemper, M. Grünbaum, **T. Schneider**, M. Zeitz, and C. Bojarski. 2008. In vivo diagnosis of intestinal spirochetosis by confocal endomicroscopy. **Gut**. 57:1331-1333.

Tröger, H., C. Loddenkemper, **T. Schneider**, E. Schreier, H.-J. Epple, M. Zeitz, M. Fromm, and J.-D. Schulzke. 2008. Structural and functional changes of the duodenum in human Norovirus infection. **Gut**. 58:1070-1077.

Schneider, T., V. Moos, C. Loddenkemper, T. Marth, F. Fenollar, and D. Raoult. 2008. Whipple's disease: new aspects of pathogenesis and treatment. **Lancet Infect Dis**. 8:179-190.

Tröger, H., H.-J. Epple, **T. Schneider**, U. Wahnschaffe, G.-D. Burchard, T. Jelinek, M. Zeitz, M. Fromm, and J.-D. Schulzke. 2007. Effect of chronic Giardia lamblia infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. **Gut**. 56:328-335.

Epple, H. J., C. Loddenkemper, D. Kunkel, H. Tröger, J. Maul, V. Moos, E. Berg, R. Ullrich, J.-D. Schulzke, H. Stein, R. Duchmann, M. Zeitz, and **T. Schneider**. 2006. Mucosal but not peripheral FOXP3+ regulatory T cells are highly increased in untreated HIV infection and normalize after suppressive HAART. **Blood**. 108:3072-3078.

Somasundaram, R., C. Loddenkemper, M. Zeitz, and **T. Schneider**. 2006. A souvenir from the Canary Islands. **Lancet**. 367:1116.

Drittmittelprojekte

Im RCIS durchgeführt (seit August 2011):

DFG	SFB 633 TP9	Morbus Whipple - Untersuchungen zur Wechselwirkung von T-Zellen und Antigen-präsentierenden Zellen	Moos/Schneider
DFG	SFB 633 TP12	Modulation der T-zellabhängigen Immunabwehr von Helicobacter pylori unter dem Einfluss von Cholesterol, bzw. Cholesterol- α -Glukosiden	Aebischer/Meyer/ Schneider/Ignatius

Arbeitsgruppenleiter

Dr. Ahmed Sheriff
Charité-Universitätsmedizin
Nephrologie und Internistische Intensivmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. U. Frei
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

med. vet. Bianca Manti
med. vet. Christopher Bock
Dr. Klaus Decken
Britta Hähnel
Dr. rer. nat. Gunnar Janelt
Miriam Klischat
Dipl.-Ing. Wolfgang Otto
med. vet. Jens Ötvös
med. vet. Janina Radwainski
Bärbel Siebert
Dipl.-Ing. Biotech. Birgit Vogt
Dipl.-Ing. Biotech. Gülcan Yapici
Stefan Schulze

Forschungsfelder**Die spezifische Depletion von C-reaktivem Protein nach experimentellem Herzinfarkt: eine neue Therapieoption**

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:

- 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 CRP Blutdruck und Herzfrequenz entkoppelt in vivo im Kleintier (Kaninchen). CRP hat auch einen direkten Effekt auf den intrazellulären Kalziumhaushalt von Zellen.

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 (Auswahl)

- [1] 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
- [2] Franz S, Herrmann K, Fuhrnrohr B, **Sheriff A**, Frey B, Gaipf US, Voll RE, Kalden JR, Jack HM, Herrmann M. After shrinkage apoptotic cells expose internal membrane-derived epitopes on their plasma membranes. **Cell Death Differ** (2007) 14(4):733-42 8,2
- [3] U. Appelt, **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, J. R. Kalden, R. E. Voll, and M. Herrmann, Viable, apoptotic and necrotic monocytes expose phosphatidylserine: cooperative binding of the ligand Annexin V to dying but not viable cells and implications for PS-dependent clearance, **Cell Death Differ** 12 (2005) 194-196. 8,2
- [4] M. Warncke, B. Vogt, J. Ulrich, M. D. von Laer, W. Beyer, H. Klump, B. Micheel, and **A. Sheriff**, Efficient in vitro transduction of naive murine B cells with lentiviral vectors, **Biochem Biophys Res Commun** 318 (2004) 673-679. 2,9
- [5] **A. Sheriff**, U. S. Gaipf, S. Franz, P. Heyder, R. E. Voll, J. R. Kalden, and M. Herrmann, Loss of GM1 surface expression precedes annexin V-phycoerythrin binding of neutrophils undergoing spontaneous apoptosis during in vitro aging, **Cytometry A** 62 (2004) 75-80. 2,7
- [6] **A. Sheriff**, B. Vogt, M. Baumgart, C. Montag, B. Hollenbach, J. A. Schenk, J. Ulrich, F. Elias, and B. Micheel, Intracellular capture of B7 in antigen-presenting cells reduces costimulatory activity, **Biochem Biophys Res Commun** 301 (2003) 873-878. 2,9

Drittmittelprojekte

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

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
Dr. Thorsten Stroh
Inka Freise
Sabine Schröter
Dr. Donata Lissner
Dr. Marco Gerling
Lea Kredel
Lukas Poralla

**Forschungsfelder**

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. Hiervon ausgehend werden einerseits 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.

Expression und Funktionalität von NOD1 und NOD2 in murinen Präadipozyten

NOD1 und NOD2 gehören zu der Gruppe zytosolisch lokalisierter Rezeptoren, die durch konservierte bakterielle Kohlenhydratstrukturen aktiviert werden und zu einer Aktivierung des NF κ B-Signaltransduktionsweges in den betreffenden Zellen führen. Bestimmte Polymorphismen im Gen für NOD2 erhöhen dabei das Risiko an Morbus Crohn zu erkranken. Es wird in diesem Projekt untersucht, ob Präadipozyten funktionelles NOD1 und NOD2 exprimieren und so das mesenteriale Fettgewebe eine aktive Rolle im Verlauf einer intestinalen Entzündung übernehmen könnte. Desweiteren wird das Spektrums an NOD2-Liganden charakterisiert, was die rekombinante Expression von NOD2 und die Etablierung eines Testsystem für Ligand-Bindungsstudien auf Grundlage der Oberflächen-Plasmon-Resonanz-Spektroskopie umfasst.

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-assoziiierter Tumorgenese 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 (Auswahl seit 2007)

1. Gerling, M., R. Glauben, J. K. Habermann, A. A. Kuhl, C. Loddenkemper, H. A. Lehr, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2011. Characterization of chromosomal instability in murine colitis-associated colorectal cancer. **PLoS ONE** 6: e22114.
2. Stroh, T., U. Erben, A. A. Kuhl, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2010. Combined pulse electroporation—a novel strategy for highly efficient transfection of human and mouse cells. **PLoS ONE** 5: e9488.
3. **Siegmund, B.** 2010. Interleukin-18 in intestinal inflammation: friend and foe? **Immunity** 32: 300-302.
4. Batra, A., B. Okur, R. Glauben, U. Erben, J. Ihbe, T. Stroh, I. Fedke, H. D. Chang, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2010. Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo. **Endocrinology** 151: 56-62.
5. Glauben, R., E. Sonnenberg, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2009. HDAC inhibitors in models of inflammation-related tumorigenesis. **Cancer Lett** 280: 154-159.
6. Stroh, T., A. Batra, R. Glauben, I. Fedke, U. Erben, A. Kroesen, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, S. Girardin, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2008. Nucleotide oligomerization domains 1 and 2: regulation of expression and function in preadipocytes. **J Immunol** 181: 3620-3627.
7. Glauben, R., A. Batra, T. Stroh, U. Erben, I. Fedke, H. A. Lehr, F. Leoni, P. Mascagni, C. A. Dinarello, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2008. Histone deacetylases: novel targets for prevention of colitis-associated cancer in mice. **Gut** 57: 613-622.
8. Batra, A., J. Pietsch, I. Fedke, R. Glauben, B. Okur, T. Stroh, M. Zeitz, and **B. Siegmund**. 2007. Leptin-dependent toll-like receptor expression and responsiveness in preadipocytes and adipocytes. **Am J Pathol** 170: 1931-1941.

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**

Dr. Uta Syrbe, Rebecca Scheer, Peihua Wu, Rene Meyer, Janine Bleil, Adelheid Ditten, Christoph Sichau, Kristina Conradt, In-Sok Hong

AG homepage: www.rheumatologie-berlin.de

Forschungsfeld

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

Bezüglich der Pathogenese haben wir die Hypothese aufgestellt und verfolgt, dass die primäre Immunantwort insbesondere bei der ankylosierenden Spondylitis gegen Knorpelantigene gerichtet ist. Diese Vermutung stützt sich auf kernspintomographische Untersuchungen, histopathologische Untersuchungen und den Nachweis von T-Zellantworten gegen Knorpelantigene in vitro. Wir selbst haben CD8+ T-Zellantworten gegen Aggrecan, einem Protein aus dem Knorpel nachweisen können (Zou, 2004). Im Folgenden haben wir dann die Suche nach möglichen Knorpelantigenen auf alle Knorpelproteine ausgedehnt und konnten in der Tat 2 Peptide identifizieren, die gegenüber CD8+ T-Zellen durch das HLA-B27 Molekül präsentiert wurden (Atagunduz, 2005). 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, Arthritis Res Ther 2011, 13) und regulatorisch T-Zellen (Appel et al, J Rheumatol 2011, 38;2445-2451) 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 (Auswahl)

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. Rolf Stigler, Dipl. Chem. Zerrin Fidan, Dipl. Biol. Victor Tapia, Dipl. Biol. Lars Vouilleme, Dipl. Biol. Judith Müller, Dipl. Biol. Anja Heiduk, Oliver Kortt, Aylin Younis, Efi Papapavlou, Matthias Schneider, Ines Kretschmar, Christiane Landgraf, Annette Hayungs

Spektrums der Forschungsthemen

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 selektionierten 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)

Fidan Z, Younis A, Schmieder P, **Volkmer R.**

Chemical synthesis of the third WW domain of TCERG 1 by native chemical ligation. **J Pept Sci** 2011, 17:644-9.

Volkmer R, Kretzschmar I, Tapia V.

Mapping receptor-ligand interactions with synthetic peptide arrays: Exploring the structure and function of membrane receptors. **Eur J Cell Biol.** 2011 May 9. [Epub ahead of print]

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

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

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.

Volkmer R.

Synthesis and application of peptide arrays: quo vadis SPOT technology. **ChemBioChem** 2009, 10:1431-42.

Drittmittelprojekte:

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