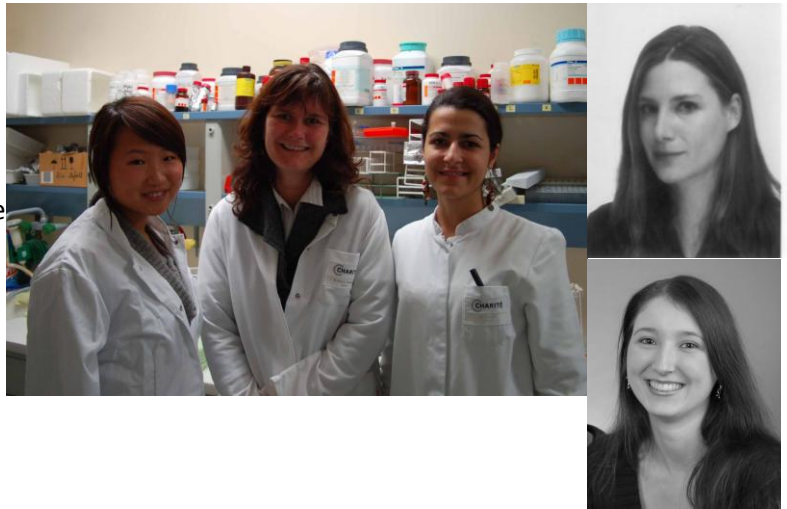


Arbeitsgruppenleiterin:**PD Dr. med. Patricia Grabowski**

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 Zellkulturergebnisse mit einem experimentellen IGF-1R Tyrosinkinase-Inhibitor unterstützen die Relevanz dieses Signalweges bei gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren. Wir werden mit der klinisch am weitesten fortgeschrittenen Substanz (CP751871) der Firma Pfizer entsprechende weitere Zellkulturexperimente durchführen.

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

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

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

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

Spezialtechniken:

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

Publikationen (6 wichtigste):

		IF
1.	A.P. Sutter, K. Maaser, 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.