

Abteilungsleiter/in | Head of Department

Prof. Dr. med. Lothar Schweigerer

Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

Telefon

Erdlenbruch, Bernhard	PD Dr. med.	erdlenbr@med.uni-goettingen.de	39-6102
Herting, Egbert (bis 01/2005)	Prof. Dr. med.	eherting@med.uni-goettingen.de	39-6222
Lakomek, Max	Prof. Dr. med.	lakomek@med.uni-goettingen.de	39-6214
Pekrun, Arnulf (bis 02/2003)	Prof. Dr. med.	apekrun@med.uni-goettingen.de	-
Schweigerer, Lothar	Prof. Dr. med.	Lothar.Schweigerer@med.uni-goettingen.de	39-6200
Wilting, Jörg	Prof. Dr. rer. nat.	Joerg.Wilting@med.uni-goettingen.de	39-6270
Witt, Olaf (bis 07/2005)	PD Dr. med.	Owitt@gwdg.de	39-6265

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

Becker, Jürgen	Dr. rer. nat.	Juergen.Becker@med.uni-goettingen.de	39-2575
Diehl, Stefanie (seit 04/2003)	Dr. med.	s.diehl@med.uni-goettingen.de	39-8061
Hecht, Monica (bis 03/2005)	Dr. rer. nat.	monica.hecht@med.uni-goettingen.de	39-2575
Kugler, Wilfried	Dr. rer. nat.	wkugler@med.uni-goettingen.de	39-6216
Papoutsis, Maria (seit 02/2003)	Dr. rer. nat.	maria.papoutsis@med.uni-goettingen.de	39-8061
Pavlakovic, Helena	Dr. med.	helena.pavlakovic@med.uni-goettingen.de	39-6296
Ruehlmann, Michael	Dr. med.	ruehlmann@med.uni-goettingen.de	39-6223
Stahl, Markus Ludwig	Dr. med.	-	-
Vockeroth, Martina (seit 02/2003)	Dr. rer. nat.	mvocker@med.uni-goettingen.de	39-2575

Forschungsschwerpunkte

- ▶ Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen des Hämangioblasten
- ▶ Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen pulmonaler Vorläuferzellen
- ▶ Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen neuronaler Vorläuferzellen

Research Foci

- ▶ Diseases Resulting from Developmental Disruptions of the Hemangioblast
- ▶ Diseases Resulting from Developmental Disruptions of Lung Precursor Cells
- ▶ Diseases Resulting from Developmental Disruptions of Neuronal Precursor Cells

Einleitung

Die pränatale Entwicklung des menschlichen Organismus wird durch komplexe, exakt abgestimmte Regulationsprozesse vermittelt. Das Ergebnis ist ein gesundes Kind.

Sind die normalen embryonalen Entwicklungsprozesse jedoch gestört, so entstehen manchmal syndromale Krankheiten mit schwerwiegender, chronischer Behinderung der Kinder oder bösartige pädiatrische Tumoren mit letalem Ausgang. Ursachen und Mechanismen beider Krankheitsgruppen sind kaum bekannt. Tierexperimentelle Untersuchungen lassen jedoch vermuten, dass molekulare Störungen der Zell- und Gewebeentwicklung essentiell beteiligt sind. Auch Ergebnisse der grundlagenwissenschaftlichen Institutionen vor Ort (Universität und Max-Planck-Institute) haben wesentlich zu diesen Erkenntnissen beigetragen, wurden jedoch bislang auf klinischer Seite nicht umgesetzt.

Mit der Neubesetzung der Abteilung Pädiatrie I (Schwerpunkte Onkologie und Hämatologie) im Mai 2002 wurden auch deren wissenschaftliche Aktivitäten stratifiziert. Bereits vorhandene und neu eingebrachte Interessen konzentrieren sich auf die Beziehung zwischen Embryonalentwicklung, kongenitalen Fehlbildungssyndromen und bösartigen pädiatrischen Tumoren. Grundlagenwissenschaftler und klinisch tätige Pädiater arbeiten dabei zusammen mit dem Ziel, die molekularen Mechanismen ausgewählter, entwicklungsbiologisch determinierter benigner und maligner Krankheiten des Kindesalters zu entschlüsseln und die gewonnenen Erkenntnisse klinisch umzusetzen.

Die ausgesuchten Krankheiten entstammen den klinischen Abteilungsschwerpunkten. Der Hämangioblast ist die Vorläuferzelle der Hämatopoese und Angiogenese. Störungen der Hämatopoese (insbesondere Anämien, Immundefekte und Leukämien) und der Angiogenese (insbesondere Hämangiome, Gefäßmalformationen und Tumovaskularisation) repräsentieren einen Schwerpunkt. Störungen der Entwicklung pulmonaler Vorläuferzellen (darunter insbesondere Lungendysplasien) stellen einen zweiten und Störungen der neuronalen Entwicklung (darunter insbesondere maligne Tumoren des peripheren und zentralen Nervensystems) einen dritten wissenschaftlichen Schwerpunkt. Die Krankheiten werden mittels verschiedener Verfahren (z. B. Erstellung von Gen- und Proteinexpressionsprofilen) besser definiert und klassifiziert, um zukünftig an den molekularen Ursachen ansetzende kausale Therapieverfahren (darunter antiangiogene und tumorzell-differenzierende Ansätze) anwenden zu können.

Die Konzentration auf die erwählten Schwerpunkte bietet uns die Möglichkeit, zu den wissenschaftlichen Schwerpunkten der Fakultät (Vorläuferzellen/Organregeneration, Onkologie, Pharmakogenetik und Neurologie) und ihren Initiativen beizutragen.

Preface

The prenatal development of the human organism is mediated by complex, delicately regulated processes. The result is a healthy child.

Disruption of normal development can result in syndromal diseases with severe and chronic disabilities of the children or in malignant paediatric tumours with lethal outcome. The causes and mechanisms of both disease entities are largely unknown. Experimental data obtained with animals suggest that molecular disruptions of cell and tissue development are causally involved. Results generated by local basic scientific institutes (university and Max-Planck institutes) have contributed essentially to these perceptions, but have not yet been applied clinically.

With the reappointment to the Department for Paediatrics I in May 2002, our scientific focus was readjusted towards the relationship between embryonal development, congenital malformations and malignant paediatric tumours. The department teams up basic scientists and clinical paediatricians with the aim of delineating the molecular mechanisms of selected, developmentally coined benign and malignant diseases of childhood and to translate the obtained knowledge into clinical practice.

The disease spectrum to be investigated is derived from the clinical foci of our department. The haemangioblast is the precursor cell to haematopoiesis and angiogenesis. Disruptions of haematopoiesis (in particular, anaemias, immune deficiency and leukaemias) and of angiogenesis (in particular, haemangioma, vascular malformations and tumour vascularisation) represent one focus. Disruptions of pulmonary precursor cells (including lung dysplasias) represent a second and disruptions of neurogenesis (in particular, malignant tumours of the peripheral and central nervous system) a third scientific focus. Using molecular techniques (for example, profiling of gene and protein expression), we aim at better defining and classifying the diseases in order to permit novel therapeutic approaches targeting the molecular basis of these diseases.

Concentrating on these issues allows us the possibility to contribute to the scientific priority programmes of the Faculty of Medicine (i.e., precursor cells / organ regeneration, oncology, pharmacogenomics and neurology).

1. Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen des Hämangioblasten

Der Hämangioblast differenziert sich als Vorläuferzelle zunächst in den Hämatoblasten und den Angioblasten und danach weiter in ein hämatopoetisches sowie ein vaskuläres System.

Hämatopoetisches System

Die Abteilung betreut eines der bundesweit größten Klientel an Patienten mit genetisch-determinierten Störungen der Hämatopoese, darunter Patienten mit β -Thalassämie und Erythrozytenmembran- und enzymdefekten (als Folge von Genmuta-

tionen von Ankyrin, Spektrin, Glucose-6-Phosphat-Isomerase, Pyruvat-Kinase, Triosephosphat-Isomerase und Diaphorase). Die Pathogenese der Krankheiten ist unklar und therapeutische Ansätze sind symptomatisch und oft wenig effektiv. Ziel unserer Arbeiten ist erstens ein besseres Verständnis der Pathophysiologie und zweitens die Entwicklung innovativer, an den molekularen Ursachen orientierter Therapiekonzepte. Die Arbeiten werden in Kooperation mit innerdeutschen Partnern und im europaweiten Verbund durchgeführt. Stellvertretend für andere hämolytische Anämien versuchen wir im Falle der β -Thalassämie inaktive, aber funktionell intakte fötale Globingene mittels pharmakogenomischer Methoden zu reaktivieren, damit sie die defekten adulten Globinketten funktionell ersetzen können und so die Krankheitssymptome supprimieren.

Vaskuläres System

Die Mechanismen der normalen Blut- und Lymphgefäßentwicklung sind kaum definiert. Hämangioblasten differenzieren sich in Angioblasten, unreife Gefäßnetze und schließlich in funktionelle Blutgefäße. Diese Prozesse sind Ergebnis eines präzisen Zusammenspiels gefäßspezifischer Mediatoren und ihrer Rezeptoren, darunter Mitglieder des Ephrin-Signaltransduktionssystems. Sie instruieren die Differenzierung unreifer Endothelien in Venolen oder Arteriolen. Wird das System tierexperimentell gestört (z.B. durch Ausschalten des Liganden Ephrin-B2 oder des entsprechenden Rezeptors Eph-B4), so resultieren Blutgefäßmalformationen mit Aufhebung der venös-arteriellen Grenzen und Spezifizierung. Ob Störungen des Ephrin-Signaltransduktionssystems an Gefäßmalformationen des Kindesalters beteiligt sind, ist bislang unklar. Wir konnten erstmals das Expressionsmuster von Ephrin-B2/Eph-B4 im venösen und arteriellen System des Menschen definieren. Lymphgefäße entwickeln sich erst später aus unreifen venösen Gefäßen oder eigenen Vorläuferzellen. Der Homeobox-Transkriptionsfaktor Prox-1 ist daran essentiell beteiligt. Entsprechend findet man ihn selektiv in Lymphgefäßen exprimiert. Auch die molekulare Pathogenese von Lymphgefäßmalformationen ist wenig untersucht. Möglicherweise spielen Alterationen von Prox-1 eine wichtige Rolle, denn das Ausschalten („Knockout“) von Prox-1 ist im homozygoten Tier letal, im heterozygoten Tier mit fehlender Lymphgefäßentwicklung und intestinaler Lymphansammlung assoziiert. In Präparaten humaner Lymphgefäßmalformationen möchten wir die Prox-1 cDNA sequenzieren und nach möglichen Mutationen durchsuchen.

1. Diseases Resulting from Developmental Disruptions of the Hemangioblast

The hemangioblast as a precursor cell initially develops into the hematoblast and the angioblast which subsequently give rise to the hematopoietic and the vascular systems, respectively.

Haematopoietic system

Within Germany, our department attends one of the largest groups of clients nationwide with genetically determined diseases, including β -thalassemia and defects of erythrocyte

membranes and enzymes (consequent to mutations of the ankyrin, spektrin, glucose-6-phosphate isomerase, pyruvate kinase, triosephosphate isomerase und diaphorase genes). The pathogenesis of these diseases is unclear and therapeutic approaches are symptomatic and often ineffective. The main aims of our work are to firstly better understand their pathophysiology, and secondly develop novel therapeutic concepts aimed at targeting the molecular disease causes. Our work is carried out in collaboration with partners within Germany or other European countries. Using β -thalassemia as an example for other haemolytic diseases and pharmacogenomic methods, we attempt to reactivate silent, but functional intact foetal globin genes in order to functionally replace the defect globin genes, thereby suppressing the disease symptoms.

Vascular system

The mechanisms of normal blood and lymph vessel development are ill-defined. Haemangioblasts differentiate into angioblasts, immature vascular networks and eventually into functional blood vessels. These processes are the result of a precise interplay of vessel-specific mediators and their receptors, including members of the ephrin signal transduction system. They instruct the differentiation of immature endothelium into venoles and arterioles. Experimental disruption of the system in animals (for example, by „knock-out“ of the ligand ephrin-B2 or the respective receptor, Eph-B4) results in blood vessel malformations, with a loss of the venous-arterial boundaries and specification. Whether or not alterations of the ephrin signal transduction system are responsible for vascular malformations of childhood has remained unclear. We have recently defined the expression pattern of ephrin-B2 / Eph-B4 in the human arteriovenous system. Lymph vessels develop at a somewhat later point in time from immature venous vessels or separate precursor cells. The homeobox gene Prox-1 is involved in an essential manner. As a consequence, it is selectively expressed in lymph vessels. The molecular pathogenesis of lymphatic malformations is seldom investigated. Alterations of Prox-1 may be causally involved as homozygous or heterozygous Prox-1 „knock-out“ animals die in utero or lack lymphatic development and suffer from intestinal lymph accumulation. In specimens of human lymphatic vessel malformations, we will sequence and screen Prox-1 for possible mutations.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Dr. Stephanie Diehl
 Dr. Wilfried Kugler
 Prof. Dr. Max Lakomek
 Dr. Maria Papoutsis
 Dr. Helena Pavlakovic
 Prof. Dr. Arnulf Pekrun (bis 02/2003)
 Prof. Dr. Lothar Schweigerer
 Dr. Martina Vockerodt
 Prof. Dr. Jörg Wilting
 PD Dr. Olaf Witt

Kooperationen | Cooperations

Prof. Dr. Kari Alitalo, Molecular Cancer Biology Laboratory, Biomedicum of the University of Helsinki, Finland

Dr. Lothar Germeroth, IBA-Technologies, Göttingen
 Dr. Jens Harborth, Arbeitsgruppe kombinatorische Biochemie, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen
 Dr. Jörg Hoheisel, Arbeitsgruppe für funktionelle Genomanalyse, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg
 Prof. Dr. Rüdiger Klein, Max-Planck-Institut für Neurobiologie, Martinsried
 Dr. Hilary Muirhead, University of Bristol, UK
 Prof. Dr. Stanislav I. Tomarev, Laboratory of Molecular and Development Biology, National Eye Institute, National Institute of Health, Bethesda, USA
 Prof. Dr. Joan Luis Vives-Corrons, Hospital Clinic i provincial de Barcelona, Spanien
 Prof. Dr. Alberto Zanella, IRCCS Ospedale Maggiore, Mailand, Italien

Drittmittelförderung | Funding

B. Braun-Stiftung Melsungen, Therapie der β -Thalassämie mit dem Histone-Deacetylase-Inhibitor Apicidin, 2003
 DFG, Ausbildungsstipendium für Dr. S. Diehl, 2001-2003
 DFG im Rahmen des SPP 1069 „Angiogenese: Molekulare Mechanismen und funktionelle Interaktionen“ zum Thema „Lymphangiogenesis and hemangiogenesis: Common molecular determinants?“, 2003-2005
 DFG, Normalverfahren, Molekularer Mechanismus der Butyrat-induzierten Differenzierung von Leukämiezellen (Wi1461/3), 2002-2004
 Dieter Schlag-Stiftung Hannover, Therapie der β -Thalassämie durch Valproinsäure, 2002-2003
 Elternhilfe für das krebserkrankte Kind e.V., Induktion von Tumordifferenzierung durch kurzkettige Fettsäurederivate, 2002-2003
 Jose Carreras-Stiftung, Identifizierung von Differenzierungsgenen in Leukämiezellen, Kleinprojekt, 2003
 Kinderkrebs / Schickedanz Stiftung, Klinische Bedeutung angiogener Moleküle bei Kindern mit Leukämie, 2004-2005

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Brockmann K, Stolpe S, Fels C, Khan N, Kulozik AE, Pekrun A (2005) Moyamoya syndrome associated with hemolytic anemia due to Hb Alesha. *J PEDIAT HEMATOL ONC*, 27(8): 436-40.
 Diehl S, Bruno R, Wilkinson GA, Loose DA, Wilting J, Schweigerer L, Klein R (2005) Altered expression patterns of EphrinB2 and EphB2 in human umbilical vessels and congenital venous malformations. *PEDIATR RES*, 57(4): 537-44.
 Paludan C, Schmid D, Landthaler M, Vockerodt M, Kube D, Tuschl T, Münz C (2005) Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *SCIENCE*, 307(5709): 593-6.
 Hagedorn M, Balke M, Schmidt A, Bloch W, Kurz H, Javerzat S, Rousseau B, Wilting J, Bikfalvi A (2004) VEGF coordinates interaction of pericytes and endothelial cells during vasculogenesis and experimental angiogenesis. *DEV DYNAM*, 230(1): 23-33.
 Rössler J, Dietrich T, Pavlakovic H, Schweigerer L, Havers W, Schüler A, Bornfeld N, Schilling H (2004) Higher vessel densities in retinoblastoma with local invasive growth and metastasis. *AM J PATHOL*, 164(2): 391-4.
 Wilting J, Papoutsi M, Becker J (2004) The lymphatic vascular system: secondary or primary? *LYMPHOLOGY*, 37(3): 98-106.
 Krishnan J, Kirkin V, Steffen A, Hegen M, Weih D, Tomarev S, Wilting J, Sleeman JP (2003) Differential in vivo and in vitro expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in tumors and its relationship to lymphatic metastasis in immunocompetent rats. *CANCER RES*, 63(3): 713-22.
 Wilting J, Tomarev SI, Christ B, Schweigerer L (2003) Lymphangioblasts in embryonic lymphangiogenesis. *Lymphat Res Biol*, 1: 33-40.
 Witt O, Monkemeyer S, Ronndahl G, Erdlenbruch B, Reinhardt D, Kanbach K, Pekrun A (2003) Induction of fetal hemoglobin expression by the histone deacetylase inhibitor apicidin. *BLOOD*, 101(5): 2001-7.
 Witt O, Pekrun A (2003) Reactivation of fetal hemoglobin synthesis by histone deacetylase inhibitors in the treatment of β -thalassemia. *Res Adv in Blood*, 2: 1-5.

2. Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen pulmonaler Vorläuferzellen

Die Kinderklinik Göttingen repräsentiert eines der bundesweit größten neonatologischen Zentren mit über 300 Frühgeburten pro Jahr darunter über 80 Frühgeborene mit einem Geburtsge-

wicht unter 1500 g. Limitierend bei der klinischen Versorgung immer unreiferer Frühgeborener ist jedoch die zu Atelektasen neigende Lunge, die zum Atemnotsyndrom führt. Künstliche Beatmung und präventive intratracheale Applikation von Surfactant sind hilfreich. In eigenen Untersuchungen wurden Inaktivationsmechanismen des Surfactant identifiziert, durch deren Ausschaltung die klinische Versorgung Frühgeborener verbessert wurde. Trotz dieser Maßnahmen bewirken Barotrauma und O₂-Zufuhr bei unreifen Frühgeborenen oft einen irreversiblen morphologischen Lungenparenchym-Umbau. Diese so genannte bronchopulmonale Dysplasie ist assoziiert mit erheblicher Mortalität und Morbidität und repräsentiert eines der Hauptprobleme der Neonatologie. Fortschritte in der Behandlung und im klinischen „outcome“ der Patienten sind am ehesten durch ein verbessertes Verständnis der Lungenentwicklung zu erwarten. Bislang existieren jedoch kaum Untersuchungen zu den molekularen Determinanten normaler und pathologischer Lungenentwicklung.

Am Modell von *Drosophila* (d) untersuchen wir derzeit die molekularen Mechanismen der Lungenentwicklung mittels gezielter Überexpression bzw. Ausschalten von d-Fibroblastenwachstumsfaktor (dFGF) in Trachealzellen. Damit möchten wir dFGF-modulierte Gene mittels cDNA-Expressionsprofilen identifizieren. Präliminäre Daten lassen den Nachweis einer Vielzahl dFGF-modulierter, bekannter oder unbekannter Zielgene erwarten. Unbekannte Gene mit potentieller funktioneller Relevanz werden kloniert. Ausgesuchte, signifikant überexprimierte bzw. supprimierte Gene werden mittels RNA- und Proteinexpressionsanalysen validiert und anschließend mittels in situ-Hybridisierung an *Drosophila*-Embryonen hinsichtlich ihrer zeitlichen und örtlichen Expression definiert. Dieser Aspekt wird zu einem späteren Zeitpunkt an Bronchialzellen Frühgeborener detailliert geprüft. Die Zellen können aus Bronchialaspirat beatmeter Frühgeborener einfach gewonnen werden und die Expression relevanter Gene mit sensitiven Methoden bestimmt werden.

2. Diseases Resulting from Developmental Disruptions of Lung Precursor Cells

The Children's Hospital at the University of Göttingen represents one of the largest neonatal centres in Germany with over 300 premature births per year, including more than 80 premature babies below 1500 g of birth weight. Clinical care of the increasingly immature infants is limited by the immature lung, which tends to collapse and eventually lead to respiratory distress syndrome. Artificial ventilation and preventive intratracheal application of surfactant are beneficial. We have successfully identified mechanisms which inactivate surfactant and thereby elaborated strategies to improve the clinical outcome of premature babies. In spite of these measures, barotrauma and the application of oxygen in immature infants often result in irreversible damage to the lung parenchyma. This complication is named bronchopulmonary dysplasia and is associated with severe morbidity and mortality and constitutes one of the main problems of neonatology. Progress in the treatment

and outcome of the patients is most likely to be gained by a better understanding of lung development. However, little knowledge exists so far on the molecular basis of normal and pathological lung development.

Using *Drosophila* (d) as an experimental model, we examine the molecular mechanisms of lung development by targeted over-expression or knock-out of d-fibroblast growth factor (dFGF) in tracheal cells. Subsequently, we intend to identify dFGF-modulated genes, an approach which has been confirmed by preliminary data. Unknown genes with potential functional relevance will be cloned. Selected and significantly up- or down-regulated genes will be validated by RNA and protein expression analyses and subsequently by in situ hybridisation in *Drosophila* embryos in order to define their spatial and temporal expression patterns. All aspects will be re-evaluated in bronchial aspirate of premature infants, which can easily be obtained during routine intubation.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Prof. Dr. Egbert Herting

Dr. Markus Stahl

Kooperationen | Cooperations

PD Dr. Ahmed Mansouri, Abteilung Molekulare Zellbiologie, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen

Prof. Dr. Bengt Robertson, Laboratory for Surfactant Research, Karolinska Institut, Stockholm, Schweden

PD Dr. Reinhard Schuh, Abteilung Molekulare Entwicklungsbiologie, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen

Drittmittelförderung | Funding

Max-Planck-Gesellschaft, Fortbildungsstipendium für Dr. M. Stahl, 2002-2004

MPI/Tandem M.K.F.A.BICH0003, 2005-2008

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Anttila E, Peltoniemi O, Haumont D, Herting E, ter Horst H, Heinonen K, Kero P, Nykänen P, Detomo SB, Hallman M (2005) Early neonatal dexamethasone treatment for prevention of bronchopulmonary dysplasia. Randomised trial and meta-analysis evaluating the duration of dexamethasone therapy. *EUR J PEDIATR*, 164(8): 472-81.

van Kaam AH, Lutter R, Lachmann RA, Haitsma JJ, Herting E, Snoek M, De Jaegere A, Kok JH, Lachmann B (2005) Effect of ventilation strategy and surfactant on inflammation in experimental pneumonia. *EUR RESPIR J*, 26(1): 112-7.

Meins M, Böhm D, Grossmann A, Herting E, Fleckenstein B, Fauth C, Speicher MR, Schindler R, Zoll B, Bartels I, Burfeind P (2004) First non-mosaic case of isopseudocentric chromosome 18 (psu idic(18)(pter --> q22.1::q22.1 --> pter) is associated with multiple congenital anomalies reminiscent of trisomy 18 and 18q- syndrome. *AM J MED GENET*, 127(1): 58-64.

Rauprich P, Walter G, Jarstrand C, Robertson B, Herting E (2004) Influence of modified natural and synthetic surfactant preparations on bacterial killing by polymorphonuclear leucocytes. *IMMUNOBIOLOGY*, 209(8): 609-17.

van Kaam AH, Lachmann RA, Herting E, De Jaegere A, van Iwaarden F, Noordduyn LA, Kok JH, Haitsma JJ, Lachmann B (2004) Reducing atelectasis attenuates bacterial growth and translocation in experimental pneumonia. *AM J RESP CRIT CARE*, 169(9): 1046-53.

Wang Y, Walter G, Herting E, Agerberth B, Johansson J (2004) Antibacterial activities of the cathelicidins prophenin (residues 62 to 79) and LL-37 in the presence of a lung surfactant preparation. *ANTIMICROB AGENTS CH*, 48(6): 2097-100.

Herting E, Stichtenoth G, Robertson B (2003) Syringes with rupper-coated plungers and inactivation of surfactant. *LANCET* 361: 311-3.

Rudiger M, Some M, Jarstrand C, Calkovska A, Linderholm B, Robertson B, Herting E (2003) Influence of partial liquid ventilation on bacterial growth and alveolar expansion in newborn rabbits with group B-streptococcal pneumonia. *PEDIATR RES*, 54(6): 808-13.

3. Krankheiten aufgrund von Entwicklungsstörungen neuronaler Vorläuferzellen

Neuronale Vorläuferzellen entwickeln sich in solche des peripheren und zentralen Nervensystems und bilden letztendlich Strukturen wie die Neuralleiste und die zentrale Neuroglia. Werden die unreifen Zellen in ihrer Entwicklung gestört, so können sie maligne entarten und zu Tumoren des peripheren oder zentralen Nervensystems, darunter Neuroblastome und Glioblastome werden. Unsere Abteilung beschäftigt sich wissenschaftlich insbesondere mit den Mechanismen der Entstehung und Progression des Neuroblastoms und mit Ansätzen zur Therapie des Neuroblastoms und malignen Tumoren des zentralen Nervensystems, insbesondere des Glioblastoms.

Neuroblastom

Das Neuroblastom ist das häufigste solide Malignom des Kindesalters. Es entspringt unreifen Zellen der Neuralleiste. Die Einteilung erfolgt in vier Stadien zunehmender Tumorausbreitung. Trotz Therapieintensivierung versterben weiterhin 40% aller Neuroblastompatienten und ca. 80% der Patienten des vierten Stadiums. Die Mechanismen der Entstehung und Progression des Neuroblastoms sind ungeklärt, doch scheint das N-myc-Onkogen einen wichtigen Beitrag zu leisten. Die N-myc-Amplifikation korreliert klinisch mit einer schlechten Prognose. Deshalb werden bereits jetzt Neuroblastompatienten mit N-myc-Amplifikation aggressiver behandelt als dies ohne N-myc-Amplifikation der Fall wäre.

Wir haben erstmals mittels molekularer Transfektionsstudien nachweisen können, dass N-myc die Progression experimenteller Neuroblastome fördert, indem es die Angiogenese ermöglicht. Interessanterweise geschieht dies nicht – wie man eigentlich erwartet hätte – über die Verstärkung proangiogener Signale, sondern über die Abschwächung normalerweise vorhandener antiangiogener Signale, darunter Interleukin-6, „leukemia inhibitory factor“ und Activin-A.

Wir konnten erstmals klinisch die Korrelation einer hohen Activin-A Expression mit günstiger Prognose nachweisen. Zur Untersuchung der Mechanismen haben wir mittels Transfektionsexperimenten in humanen Neuroblastomzellen eine erhöhte Activin-A-Expression erzeugt. Ein Vergleich der mittels Affymetrix® Genchip-Analyse in den Activin-A und Kontrolltransfizierten Neuroblastomzellen erhaltenen Genexpressionsprofile zeigte einige Auffälligkeiten, insbesondere die Regulation von Zelladhäsions- und Homeoboxmolekülen.

Neben Activin-A korreliert auch die Expression von TrkA mit günstiger Prognose von Neuroblastompatienten. Nach Erzeugung einer hohen TrkA-Expression mittels molekularer Transfektionsstudien konnten wir eine TrkA-vermittelte Hochregulation bislang unbekannter antiangiogener Moleküle beobachten, deren Reinigung wir nun anstreben.

Eine verbesserte Behandlung des Neuroblastoms könnte zukünftig durch den Einsatz alternativer, innovativer Therapiestrategien erfolgen, darunter Antiangiogenese und immunologische Vakzination. Zur immuntherapeutischen Behandlung des Neuroblastoms haben wir mit der Herstellung eines Neuroblastom-spezifischen Impfstoffes begonnen. Er basiert

auf der Verwendung autologer dendritischer Zellen, welche Tumorantigene in Form von Tumorzell-Lysat oder Tumorzell-tRNA transportieren und damit die Aktivierung von Immuneffektorzellen und schließlich die Eradikation von Neuroblastomen bewirken soll.

Maligne Tumoren des ZNS

Die Gruppe maligner Hirntumoren repräsentiert die häufigste Entität solider Malignome des Kindesalters. Die Prognose ist weiterhin schlecht, da chirurgische Maßnahmen aufgrund vitaler Gefährdung nicht radikal sein können und die Penetration von Chemotherapeutika in das zentrale Nervensystem aufgrund der Blut-Hirn-Schranke unzureichend ist. Zur Verbesserung der Therapie verfolgen wir mehrere Strategien: erstens die pharmakologische Öffnung der Blut-Hirn-Schranke, zweitens die Entwicklung neuer, schrankengängiger Chemotherapeutika und drittens den Einsatz tumorzelldifferenzierender Agenzien.

- ▶ Mittels intraarterieller Applikation kurzkettiger Alkylglyzerine gelang uns in experimentellen Tiersystemen die Öffnung der Blut-Hirnschranke und damit die intrazerebrale Penetration pharmakologisch wirksamer Substanzen. Gute Steuerbarkeit und geringe Nebenwirkungsraten lassen auf die zukünftige klinische Nutzung dieses Ansatzes hoffen.
- ▶ Wir konnten Erucylphosphocholin als neues tumorsupprimierendes Molekül identifizieren, welches die Bluthirnschranke überwindet, gegen konventionelle Chemotherapeutika resistente Tumorzelllinien effektiv supprimiert und kaum Nebenwirkungen besitzt. Wir identifizieren gegenwärtig den Wirkmechanismus und untersuchen insbesondere die durch Erucylphosphocholin modulierten Signaltransduktionswege und Apoptosemechanismen.
- ▶ Die Induktion der Tumorzell-differenzierung als therapeutische Option wird klinisch bereits bei der Promyelozytenleukämie angewandt. Unserer Arbeitsgruppe gelang der Nachweis von kurzkettigen Fettsäuren und deren Derivate (z. B. Valproat) und Histondeacetylaseinhibitoren als potente tumorzell-differenzierende Agenzien. Die an diesem Differenzierungsprogramm beteiligten Gene werden derzeit mittels verschiedener Methoden identifiziert, darunter subtraktive cDNA-Hybridisierung und DNA-microarrays.

3. Diseases resulting from Developmental Disruptions of Neuronal Precursor Cells

Neuronal precursor cells develop into those of the peripheral and central nervous system, which eventually generate structures such as the neural crest or the central neuroglia. Disruption of the development of these immature cells can result into malignant transformation and the generation of tumours of the peripheral or central nervous system, including neuroblastomas and glioblastomas. Our department is interested in the mechanisms which contribute to the development and progression of neuroblastoma and in approaches to improve

the therapy of neuroblastomas and central nervous system malignancies, including glioblastoma.

Neuroblastoma

Neuroblastoma is the most frequent solid malignancy of childhood. It originates from immature cells of the neural crest. It is classified into four stages of increasing tumour dissemination. Despite therapy intensification, approximately 40% of all neuroblastoma patients and 80% of fourth stage patients die. The mechanisms leading to the generation and progression of neuroblastoma are unclear, but the N-myc oncogene may make a significant contribution. N-myc amplification correlates with an unfavourable prognosis. This feature has led to clinical application in which neuroblastoma patients with N-myc amplification receive more intensive treatment than patients with normal N-myc.

Using molecular transfection studies, we have demonstrated for the first time that N-myc facilitates progression of experimental neuroblastomas by permitting angiogenesis. Interestingly, this does not occur – as would have been expected – by the up-regulation of proangiogenic signalling, but rather by the suppression of antiangiogenic molecules, including interleukin-6, leukaemia inhibitory factor and activin-A.

We have shown for the first time a correlation between high activin-A expression and an excellent clinical outcome. To investigate the involved mechanisms, we have established a high activin-A expression in human neuroblastoma cell lines by utilising molecular transfection methodology. A comparison of the gene expression profiles of activin-A and control-transfected cells using Affymetrix® gene chip analyses revealed intriguing differences, in particular with regard to some cell adhesion and homeobox molecules.

In addition to activin-A, expression of TrkA correlates with favourable outcome of neuroblastoma patients. Upon generation of a high activin-A expression by molecular transfection studies, we were able to demonstrate for the first time a TrkA-mediated up-regulation of novel antiangiogenic molecules, which we are currently purifying.

In the future, the outcome of neuroblastoma patients could be improved by novel therapeutic strategies, including antiangiogenesis and immunological vaccination. As an immune therapeutic approach, we have initiated studies to generate a neuroblastoma-specific vaccine. These are based on the selection of autologous dendritic cells which transport tumour antigens either as tumour cell lysate or tRNA and thereby should lead to the eradication of neuroblastomas.

Central nervous system malignancies

Brain tumours constitute the largest group of solid malignancies of childhood. Prognosis is still poor as surgical approaches cannot be radical due to vital threat and penetration of chemotherapeutic drugs is insufficient due to the blood-brain barrier. To improve clinical outcome, we have developed several strategies: Firstly a pharmacological opening of the blood-brain barrier, secondly, development of new chemotherapeutic drugs able to penetrate into the CNS and investigations to overcome the chemoresistance in brain tumour chemotherapy and thirdly application of tumour cell-differentiating drugs.

- ▶ Using animal models and intra-arterial administration of short chain alkyl glycerols, we succeeded in opening the blood-brain barrier, permitting the intracerebral penetration of pharmacologically active drugs. The alkylglycerol-mediated increase in drug delivery to the CNS could be modulated effectively and no adverse side effects were observed, suggesting the future clinical applicability of this approach.
- ▶ We identified erucylphosphocholine as a novel anti-neoplastic drug, which crosses the blood-brain barrier, is effective against tumour cell lines resistant to conventional cytostatic drugs and has few side effects. We are currently investigating its molecular mechanism(s) of action with a focus on signal transduction pathways and apoptotic mechanisms.
- ▶ Induction of tumour cell differentiation is currently in clinical use for promyelocytic leukaemia. We were able to identify short chain fatty acids and their derivatives, e.g. valproate, as well as histone deacetylase inhibitors as potent tumour cell-differentiating substances. Analyses to determine the genes responsible for this differentiation process, e.g. cDNA subtraction hybridisation and DNA microarrays, are currently underway.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Dr. Jürgen Becker
 PD Dr. Bernhard Erdlenbruch
 Dr. Monica Hecht
 Dr. Wilfried Kugler
 Prof. Dr. Max Lakomek
 Dr. Michael Ruehlmann
 Prof. Dr. Lothar Schweigerer

Kooperationen | Cooperations

Dr. Angelika Eggert, Kinderklinik, Universitätsklinikum Essen
 Prof. Dr. Hansjörg Eibl, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen
 Prof. Dr. Theodore Fotsis, Institut für Biochemie, Universität Ioannina, Griechenland
 Prof. Dr. Gert Fricker, Institut für pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Heidelberg
 Prof. Dr. Moshe Gavish, Dr. Leo Veenman, Technion, Haifa, Israel
 Prof. Dr. Tarik Möröy, Institut für Zellbiologie (Tumorforschung), Universitätsklinikum Essen
 Prof. Dr. Richard A. Reisfeld, Scripps Research Institute, La Jolla, USA
 Dr. Walter Schulz-Schaeffer, Abteilung Neuropathologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen
 Prof. Dr. Hartwig Wolburg, Institut für Pathologie, Universität Tübingen

Drittmittelförderung | Funding

B. Braun-Stiftung Melsungen, Analyse des mitochondrialen Signalweges bei der Erucylphosphocholin-vermittelten Apoptose in Hirntumorzelllinien durch RNA-Interferenz, 2004
 Deutsche Krebshilfe, Chemotheapie maligner Hirntumoren unter Öffnung der Blut-Hirn-Schranke mit Alkylglycerinen: ein neues Konzept für die Behandlung maligner Hirntumoren des Kindes und des Erwachsenen, 2003-2005
 Deutsche Krebshilfe, TrkA-induzierte Inhibitoren der Endothelzellproliferation, 2002-2004
 DFG, Schwerpunktprogramm „Angiogenese“, Interleukin-6 as an N-myc-regulated angiogenesis inhibitor, 2001-2003
 Elternhilfe für das krebserkrankte Kind e.V., Angiogenesestimulatoren in Körperflüssigkeiten krebserkrankter Kinder, 2002-2004

Nationales Genomforschungsnetz 2 – Genomnetz Krebs: Neuroblastom – Mechanismen der Differenzierung und Evaluierung neuer Substanzen, 2004-2006
 Volkswagenstiftung, VW-Vorab, 2003-2005

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Erdlenbruch B, Kugler W, Schinkhof C, Neurath H, Eibl H, Lakomek M (2005) Blood-brain barrier opening with alkylglycerols: Biodistribution of 1-O-pentylglycerol after intravenous and intracarotid administration in rats. *J DRUG TARGET*, 13(3): 143-50.
 Hecht M, Schulte JH, Eggert A, Wilting J, Schweigerer L (2005) The neurotrophin receptor TrkB cooperates with c-Met in enhancing neuroblastoma invasiveness. *CARCINOGENESIS*, 26(12): 2105-15.
 Kugler W, Buchholz F, Köhler F, Eibl H, Lakomek M, Erdlenbruch B (2005) Downregulation of Apaf-1 and caspase-3 by RNA interference in human glioma cells: consequences for erucylphosphocholine-induced apoptosis. *APOPTOSIS*, 10(5): 1163-74.
 Levin E, Premkumar A, Veenman L, Kugler W, Leschiner S, Spanier I, Weisinger G, Lakomek M, Weizman A, Snyder SH, Pasternak GW, Gavish M (2005) The peripheral-type benzodiazepine receptor and tumorigenicity: isoquinoline binding protein (IBP) antisense knockdown in the C6 glioma cell line. *BIOCHEMISTRY-US*, 44(29): 9924-35.
 Schramm A, von Schuetz V, Christiansen H, Havers W, Papoutsi M, Wilting J, Schweigerer L (2005) High activin A-expression in human neuroblastoma: suppression of malignant potential and correlation with favourable clinical outcome. *ONCOGENE*, 24(4): 680-7.
 Schweigerer L, Rave-Fränk M, Schmidberger H, Hecht M (2005) Sublethal irradiation promotes invasiveness of neuroblastoma cells. *BIOCHEM BIOPH RES CO*, 330(3): 982-8.
 Hecht M, Papoutsi M, Tran HD, Wilting J, Schweigerer L (2004) Hepatocyte growth factor/c-Met signaling promotes the progression of experimental human neuroblastomas. *CANCER RES*, 64(17): 6109-18.
 Kugler W, Erdlenbruch B, Otten K, Jendrosseck V, Eibl H, Lakomek M (2004) MAP kinase pathways involved in glioblastoma response to erucylphosphocholine. *INT J ONCOL*, 25(6): 1721-7.
 Erdlenbruch B, Alipour M, Fricker G, Miller DS, Kugler W, Eibl H, Lakomek M (2003) Alkylglycerol opening of the blood-brain barrier to small and large fluorescence markers in normal and C6 glioma-bearing rats and isolated rat brain capillaries. *BRIT J PHARMACOL*, 140(7): 1201-10. Epub 2003 Nov 3.
 Erdlenbruch B, Schinkhof C, Kugler W, Heinemann DE, Herms J, Eibl H, Lakomek M (2003) Intracarotid administration of short-chain alkylglycerols for increased delivery of methotrexate to the rat brain. *BRIT J PHARMACOL*, 139(4): 685-94.

Anhang | Appendix

Erteilte Rufe (angenommen/abgelehnt)

Awarded Appointments (accepted/rejected)

Prof. Dr. med. Egbert Herting, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck 2004

Habilitationen

Erdlenbruch BW, Alkylglycerine zur Öffnung der Blut-Hirn-Schranke eine neue Strategie bei der Chemotherapie von Hirntumoren. Habilitation Universität Göttingen 2004.

Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Busche B, Dr. med., Identifizierung neuer Valproinsäure-Derivate zur Differenzierung von Leukämiezellen. Dissertation Universität Göttingen 2006.
 Köttig A, Dr. med., Erucylphosphocholin-induzierte Apoptose: Beteiligung von Todesrezeptor-Liganden-Systemen und Caspasen. Dissertation Universität Göttingen 2006.
 Krenz K, Dr. med., Induktion neuronaler Differenzierung in Neuroblastomzellen. Dissertation Universität Göttingen 2005.
 Mönkemeyer S, Dr. med., Medikamentöse Genterapie der β -Thalassämie. Dissertation Universität Göttingen 2005.
 Rönndahl G, Dr. med., Induktion von Tumorzellendifferenzierung durch Histondeacetylase-Inhibitoren. Dissertation Universität Göttingen 2005.
 Wiegand N, Dr. med., Einfluss eines porcinen modifizierten natürlichen Surfactantpräparates auf den oxidativen Metabolismus polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten. Dissertation Universität Göttingen 2005.
 Pavlakovic H, Dr. med., Angiogenesis stimulators in children with tumours. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Schinkhof C, Dr. med., Alkylglycerine zur Steigerung des Transports von Methotrexat an der Blut-Hirn-Schranke von Ratten: Struktur-Wirkungs-Beziehungen, Pharmakokinetik und Biodistribution der Alkylglycerine. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Weihofen U, Dr. med., Proliferationsverhalten von B-Streptokokken und Phagozytose durch neutrophile Granulozyten in Beziehung zum klinischen Verlauf bei neonatalen Infektionen. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Zwinger S, Dr. med., Der Triosephosphatisomerase-Mangel – Optimierte, nicht-radioaktive Detektion von Mutationen im Triosephosphatisomerasegen, im Rahmen der Pränataldiagnostik, durch Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Dörfel M, Dr. med., Einfluß von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf die rheologischen Eigenschaften der Erythrozytenmembranen früh- und reifgeborener Säuglinge. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Engelhardt N, Dr. med., Gewebeumsatz und Ischämietoleranz in Abhängigkeit von Körpergröße und Lebensalter: Mikrokolorimetrische Untersuchungen an Ratten- im Vergleich zu Mäusemyokard. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Schulze S, Dr. med., Molekularer Mechanismus der Tumorzeldifferenzierung durch Butyrat in Promyelozytenleukämie-, Kolonkarzinom- und Erythroleukämiezellen. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Stichtenoth G, Dr. med., Einfluss von Mekonium auf die Funktion von pulmonalem Surfactant. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Wissenschaftliche Tagungen | Scientific Meetings

01.-06.09. 2003, International Congress of Lymphology, Prof. Dr. Jörg Wilting, Freiburg

22.11.2003, Neonatologisches Symposium, Prof. Dr. Egbert Herting, Göttingen

05./06.03.2004, Jahrestagung der Arbeitsgruppe „Experimentelle Neuroonkologie“, PD Dr. Erdlenbruch/Dr. Kugler/Prof. Lakomek, Göttingen

20.11.2004, Neonatologisches Symposium, Prof. Dr. Egbert Herting, Göttingen

26.30.09.2005, 20th International Congress of Lymphology, Salvador, Prof. Dr. Jörg Wilting, Brasilien

Preise und Auszeichnungen | Prizes and Awards

Dr. med. Stefanie Diehl

Heinrich-Finkelstein-Preis der Norddeutschen, Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, 2004

Dr. rer. nat. Maria Papoutsis

Presidential Award of the International Society of Lymphology, 2005

Fachgutachtertätigkeit | Function as Expert Consultant

Prof. Max Lakomek

Haematologica /The Hematology Journal

International Journal of Cancer

Prof. Jörg Wilting

Cell and Tissue Research

The American Journal of Pathology

Development

Proceedings of the National Academy of Sciences, USA

Wellcome Trust, UK

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Dr. Wilfried Kugler

Biochemical Pharmacology

Current Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents

European Journal of Pediatrics

Haematologica/The Hematology Journal

Fondazione Pierfranco e Luisa Mariani, Mailand

Herausgebertätigkeit | Editorial Work

Prof. Dr. L. Schweigerer

Angiogenesis

In|Fo|Onkologie

Prof. Dr. J. Wilting

Anatomy and Embryology

Lymphatic Research and Biology

Lymphology

Prof. Dr. A. Pekrun

Annals of Hematology

Internationale wissenschaftliche Kooperationen

International Scientific Cooperations

Prof. Dr. Kari Alitalo, Molecular Cancer Biology Laboratory, Biomedicum of the University of Helsinki, Finland

Prof. Dr. Theodore Fotsis, Institut für Biochemie, Universität Ioannina, Griechenland

Prof. Dr. Moshe Gavish / Dr. Leo Veenman, Dept. of Pharmacology, Technion, Haifa, Israel

Prof. Dr. Jan Johansson, Department of Veterinary Medical Chemistry, University of Uppsala, Schweden

Prof. Dr. Richard A. Reisfeld, Scripps Research Institute, La Jolla, USA

Prof. Dr. Bengt Robertson, Laboratory for Surfactant Research, Karolinska Institut, Stockholm, Schweden

Prof. Dr. Stanislav I. Tomarev, Laboratory of Molecular and Development Biology, National Eye Institute, National Institute of Health, Bethesda, USA

Fakultätsinterne Förderung | Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2003, „Molekulare Grundlagen der Tumor-Arteriogenese“ (Diehl)

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2003, „Die Rolle von Keratopithelin bei der Progression des humanen Neuroblastoms: molekulare Mechanismen und klinische Implikationen“ (Schimmel)

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2004, „Der Wachstumsfaktor Angiopoietin-2 (Ang-2) bei der Progression kindlicher Tumoren“ (Karsten)

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2005, „Bedeutung des Sonic hedgehog Signalwegs für die Progression des Rhabdomyosarkoms“ (Keyser)

Freistellungsförderung, Forschungsförderungsprogramm 2003, „Chemotherapie maligner Hirntumoren unter Öffnung der Blut-Hirn-Schranke mit Alkylglycerinen: ein neues Therapiekonzept für die Behandlung maligner Hirntumoren des Kindes und des Erwachsenen“ (Erdlenbruch)

EU-Projekte | European Research Projects

ENERCA II (European Network for Rare Congenital Anaemias), Project #2004110, 2005-2008

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

Specialised Research Equipment

Real-time PCR Gerät (Taqman)