

Abteilungsdirektor/in | Head of Department

Prof. Dr. med. Heinz-Joachim Radzun

Hochschullehrer/innen | Professors and Lecturers

Telefon

Radzun, Heinz-Joachim	Prof. Dr. med.	hradzun@med.uni-goettingen.de	39-8630
Hemmerlein, Bernhard	PD Dr. med.	hemmer@med.uni-goettingen.de	39-8639
Schweyer, Stefan	PD Dr. med.	sswyer@med.uni-goettingen.de	39-6865
Fayyazi, Afshin (bis 03/2004)	Prof. Dr. med.	-	-

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen | Other Group Leaders

Middel, Peter (bis 12/2004) Dr. med. peter.middel@klinikum-kassel.de -

Forschungsschwerpunkte

- ▶ Makrophagenapoptose in granulomatösen Entzündungsreaktionen
- ▶ Funktion tumor-assoziiertes Makrophagen (TAM) und Tumor-Stroma-Interaktionen im Prostata- und Nierenzellkarzinom
- ▶ Cytokine und Chemokine bei Morbus Crohn
- ▶ Apoptosedefizienz in malignen Keimzelltumoren des Hodens

Research Foci

- ▶ Macrophage Apoptosis in Granulomatous Immune Reactions
- ▶ Function of Tumour-associated Macrophages (TAM) and Tumour-Stroma Interactions in Prostate and Renal Cell Carcinoma
- ▶ Cytokines and Chemokines in Crohn's Disease
- ▶ Deficiency of Apoptosis in Malignant Germ Cell Tumours of the Testis

Einleitung

Aufgaben der Abteilung sind Krankenversorgung, Lehre und Forschung. Die Forschung hat ihren Schwerpunkt in der funktionellen Analyse von Makrophagen und dendritischen Zellen, die in entzündlichen Prozessen und Neoplasien untersucht wird. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Analyse der Apoptose und deren Induktion in Entzündungszellen sowie malignen Keimzelltumoren. Als Arbeitsweisen kommen neben molekularbiologischen Methoden *in vitro* vor allem solche zur Anwendung, die in histologischen Schnittpräparaten des Menschen die zelluläre Zuordnung der Gen- und Proteinexpression erlauben wie *in situ*-Hybridisierung und Immunhistochemie.

Preface

Besides clinical pathology and teaching, the department of pathology is also involved in research. One point of interest is the function of macrophages and dendritic cells, which are analysed in inflammatory and neoplastic diseases. A further research focus deals with the analysis of apoptosis and its induction during inflammatory processes and neoplastic transformation. Besides molecularbiological *in vitro* analysis, methods are applied, which allow the direct cellular estimation of gene and protein expression in human tissue as *in situ* hybridisation and immunohistochemistry.

1. Makrophagenapoptose in granulomatösen Entzündungsreaktionen

Granulomatöse Entzündungen stellen eine häufige und zugleich besondere Form der chronischen Abwehrreaktion dar, deren Entwicklung auf die Abgrenzung des Agens (Fremdmaterial, Noxen oder Erreger) vom übrigen Gewebe abzielt. Dabei kommt es zur Differenzierung und Akkumulation von Makrophagen als Monozyten-Abkömmlinge, die nicht nur das pathologische Agens phagozytieren und degradieren können, sondern durch die Produktion von Zytokinen (z. B. TNF-alpha), freien Radikalen (z. B. reactive oxygen intermediates und NO) und lytischen Enzymen (z. B. Proteasen) die entzündliche Reaktion amplifizieren und somit zur lokalen Gewebsdestruktion führen können. In mehreren Projekten zeigten wir, dass der programmierte Zelltod (Apoptose) von Makrophagen ein wichtiger Mechanismus in der Regulation unterschiedlicher granulomatöser Entzündungsreaktionen darstellt. Findet eine kontrollierte Makrophagenapoptose statt, heilen die Granulome unter Narbenbildung ab. Gerät die Apoptose von Makrophagen außer Kontrolle, kann es zur Destabilisierung der Granulome und somit zur Ausdehnung der Gewebsdestruktion, zum Organversagen und sogar zum Tode des Patienten kommen. Interessanterweise war die Apoptose von Makrophagen stets mit fehlender Expression des anti-apoptotischen

Proteins bcl-2 und zugleich mit verstärkter Produktion von bax und TNF-alpha assoziiert. Diese Befundkostellation lässt vermuten, dass in Abwesenheit von bcl-2 das pro-apoptische bcl-assoziierte x-Protein bax Homodimere bildet, die zu einer verstärkten Suszeptibilität von Makrophagen gegenüber einer TNF-alpha-induzierten Apoptose führen. Unter Berücksichtigung dieser Daten wurden weitere *In-vitro*- und *In-vivo*-Experimente etabliert, um genauere Aufschlüsse über die molekularen Mechanismen der Makrophagenapoptose als ein wichtiger Determinant der Gewebsdestruktion in verschiedenen granulomatösen Erkrankungen wie Tuberkulose, Sarkoidose, Katzenkratzkrankheit und Morbus Crohn gewinnen zu können.

1. Macrophage Apoptosis in Granulomatous Immune Reactions

Immunity to different agents ranging from harmless foreign bodies to aggressive microbes is often confined to granulomas, where a long-lasting conflict between the host and the agent may occur. The main actor in granulomatous immune reactions is the monocyte-derived cell population of macrophages. Once migrated into the granulomas, macrophages not only ingest the agent into vesicles, where they are degraded, but also produce different cytokines (e.g. TNF-alpha), release free radicals (e.g. reactive oxygen intermediates and NO) and secrete several lytic enzymes (e.g. proteases), thus causing inflammation, local tissue damage, systemic symptoms, and in some cases even death of the host. In several studies we were able to show that an important mechanism of regulating macrophage activation in granulomatous immune reactions is the programmed cell death (apoptosis). Our results, however, suggest that macrophage apoptosis is a double-edge sword, which not only restricts the destructive potential of macrophages but also, if it gets out of control, amplifies organ destruction and disease progress. Our conclusion that apoptotic macrophages do not express the anti-apoptotic protein bcl2, but express bax and TNF-alpha, suggests that in the absence of bcl2 the pro-apoptotic bcl-associated x protein bax dimerises with itself, thereby promoting macrophage susceptibility to TNF-alpha-induced apoptosis. In the light of these data we have designed further *in vitro* and *in vivo* experiments to investigate molecular mechanisms which control macrophage apoptosis and thereby the out-come of granulomatous diseases such as tuberculosis, sarcoidosis, cat-scratch disease and Crohn's disease.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. med. Stefan Schweyer

Kooperationen | Cooperations

Dr. rer. nat. Soruri, Abteilung Immunologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

2. Funktion tumor-assoziiertes Makrophagen (TAM) und Tumor-Stroma-Interaktionen im Prostata- und Nierenzellkarzinom

Makrophagen sind ein wesentlicher Bestandteil des Immuninfiltrates in malignen Tumoren. Sie sind eine potentiell tumorzytotoxisch wirksame Zellpopulation, die unter anderem Tumor-nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) und Sauerstoffradikale sezernieren kann. Die Zytotoxizität von TAM in Nierenzellkarzinomen ist zu Gunsten wachstums- und metastasierungs-fördernder Eigenschaften supprimiert. So wird ihre Fähigkeit, zytotoxische Konzentrationen von Sauerstoffradikalen zu sezernieren, unterdrückt. Die niedrige Konzentration von Sauerstoffradikalen stimuliert die Produktion von Metalloproteinasen in Nierenzellkarzinomzellen. Metalloproteinasen zerstören anatomische Barrieren und fördern somit die Tumor-metastasierung. In bisherigen Untersuchungen konnten gezeigt werden, dass reife Makrophagensubtypen mit einem Tumorprogress assoziiert werden können. Diese Makrophagen produzieren eine Reihe von Wachstumsfaktoren wie z. B. VEGF, COX-2, Gastrin-releasing peptide, CXCL8, die die Angiogenese in malignen Tumoren vorantreiben und darüberhinaus Matrixmetalloproteinasen. Diese Fähigkeit wird nochmals gesteigert unter Hypoxie und unter dem Einfluss nekrotischer Tumorzellen, die besonders in progredienten malignen Tumoren nachweisbar sind. Darüber hinaus wird die inflammatorische Aktivität von TAM durch Hypoxie supprimiert, z. B. durch Inaktivierung der induzierbaren Stickstoffmonoxidsynthase (iNOS). Somit scheinen TAM im Nierenzellkarzinom eher das Tumorstadium und die Metastasierung zu fördern und keine wesentliche Rolle in der Tumorrejektion zu spielen.

2. Function of Tumour-associated Macrophages (TAM) and Tumour-Stroma-Interactions in Prostate and Renal Cell Carcinoma

Macrophages comprise an important component of the immune infiltrate in malignant tumours such as renal cell carcinomas. Macrophages potentially exert cytotoxic functions. They can secrete cytotoxic molecules such as TNF- α or radical oxygen species (ROS). Such activated macrophages can be observed in renal cell carcinomas. However, the ROS producing capacity of TAM is suppressed in malignant tumours. Sublethal concentrations of ROS stimulate the secretion of matrix metalloproteinases which lyse anatomical barriers and support metastasis. Recent observations show that certain mature macrophage subtypes are associated with tumour progress. These macrophages secrete VEGF and metalloproteinases enhanced by hypoxia and tumour necrosis particularly observed in aggressive tumours. Furthermore, hypoxia inactivates the inflammatory response in TAM, e.g. production of nitric oxide. Therefore, TAM in renal cell carcinomas are associated with tumour growth and spread and do not play a significant role in tumour host rejection.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. med. Bernhard Hemmerlein

Kooperationen | Cooperations

PD Dr. rer. nat. Peter Burfeind, Abteilung Humangenetik, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

PD Dr. med. Markus Heuser, Dr. rer. nat. Paul Thelen, Abteilung Urologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Prof. Nitza Lahat, Dr. Miki Rahat, Carmel Hospital, Immunology Unit, Rappaport Faculty of Medicine, University of Haifa, Israel

Drittmittelförderung | Funding

Müggenburg-Stiftung (Kooperationsprojekt zwischen Humangenetik, Urologischer Klinik und Pathologie), 2006-2009

Niedersächsisch-Israelische Forschungsförderung, 2006-2008

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Heuser M, Schlott T, Schally AV, Kahler E, Schliephake R, Laabs SO, Hemmerlein B. (2005) Expression of gastrin releasing Peptide receptor in renal cell carcinomas: a potential function for the regulation of neoangiogenesis and microvascular perfusion. *J Urol*, 173: 2154-9.

Grznil M, Hemmerlein B, Thelen P, Schweyer S, Burfeind P. (2004) Blockade of the type I IGF receptor expression in human prostate cancer cells inhibits proliferation and invasion, up-regulates IGF binding protein-3, and suppresses MMP-2 expression. *J Pathol*, 202: 50-9.

Hemmerlein B, Galuschka L, Putzer N, Zischkau S, Heuser M. (2004) Comparative analysis of COX-2, vascular endothelial growth factor and microvessel density in human renal cell carcinomas. *Histopathology*, 45: 603-11.

Hemmerlein B, Johanns U, Halbfass J, Bottcher T, Heuser M, Radzun HJ, Thelen P. (2004) The balance between MMP-2/-9 and TIMP-1/-2 is shifted towards MMP in renal cell carcinomas and can be further disturbed by hydrogen peroxide. *Int J Oncol*, 24: 1069-76.

3. Cytokine und Chemokine bei Morbus Crohn

Der Morbus Crohn ist eine chronisch entzündliche Darmerkrankung, der eine abnorm gesteigerte Th1 Immunantwort zu Grunde liegt. Für die Entstehung und Persistenz einer Th1 Immunantwort ist die Interaktion antigenpräsentierender Zellen mit T-Zellen von entscheidender Bedeutung. Die Interaktion dieser Zellpopulationen wird durch die Expression verschiedener Cytokine und Chemokine wesentlich beeinflusst. Wir konnten bei M. Crohn vermehrt reife myeloische dendritische Zellen nachweisen, die eine gesteigerte Expression von Chemokinen aufweisen, die zur Rekrutierung naiver und reifer T-Zellen bei M. Crohn beitragen. Darüber hinaus konnten wir bei M. Crohn eine gesteigerte Expression von Chemokinen wie Lymphotaktin und Interleukin-16 belegen, die teils über feedback Mechanismen der T-Zellen zu deren Rekrutierung führen. Anhand weiterer Untersuchungen soll die Expression von Osteopontin bei M. Crohn untersucht werden. Osteopontin wird eine übergeordnete polarisierende Wirkung in der Th1 Immunantwort aufgrund der Regulation der Cytokin- und Chemokinexpression antigenpräsentierender Zellen zugeschrieben. Wir konnten zeigen, dass sowohl bei aktivem M. Crohn wie auch im Mausmodell der chronischen Transferkolitis eine gesteigerte Expression von Osteopontin mRNA und Protein nachweisbar ist. Ziel ist es, die Basis für eine effektivere Therapie der chronischen, Th1 dominierten Autoimmunreaktion des M. Crohn durch die spezifische Inhibition von Osteopontin aufzuzeigen.

3. Cytokines and Chemokines in Crohn's Disease

Crohn's disease is a chronic inflammatory disorder, which is characterised by an abnormal Th1 immune response. For the induction and persistence of the Th1 immune response the interaction of antigen presenting cells and T-cells plays a pivotal role. This interaction is influenced by the expression of certain cytokines and chemokines. We were able to demonstrate an increased number of mature myeloid dendritic cells in Crohn's disease showing an increased expression of chemokines responsible for the attraction of naïve and mature T-cells. Furthermore, we have shown an increased expression of chemokines such as lymphotactin and interleukin-16, which promote the recruitment of T-cells at least by a feed back mechanism in Crohn's disease. Further investigations are underway to clear the role of the cytokine Osteopontin in Crohn's disease. For Osteopontin, a superior regulatory function has been suggested in the induction and maintenance of a Th1 immune response. Our preliminary results provide strong evidence for an increased expression of Osteopontin mRNA and protein in active Crohn's disease as well as in a mouse model of chronic transfer colitis. Aim of the study is to provide evidence for a more effective therapy of the chronic, Th1 dominated immune disorder observed in Crohn's disease by specific inhibition of Osteopontin.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

Dr. med. Peter Middel

Kooperationen | Cooperations

Prof. M. Oppermann, Abteilung Immunologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

PD Dr. D. Raddatz, Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Hallermann C, Middel P, Griesinger F, Gunawan B, Bertsch HP, Neumann C (2004) CD4+ CD56+ blastic tumor of the skin: cytogenetic observations and further evidence of an origin from plasmacytoid dendritic cells. EUR J DERMATOL, 14(5): 317-22.

Raddatz D, Middel P, Bockemuhl M, Benohr P, Wissmann C, Schworer H, Ramadori G (2004) Glucocorticoid receptor expression in inflammatory bowel disease: evidence for a mucosal down-regulation in steroid-unresponsive ulcerative colitis. ALIMENT PHARM THERAP, 19(1): 47-61.

4. Apoptosedefizienz in malignen Keimzelltumoren des Hodens

Maligne Keimzelltumoren des Hodens (testicular germ cell tumors; TGCT) repräsentieren den häufigsten soliden Tumor des jungen Mannes zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr. Um auch außerhalb ihres Entstehungsortes überlebensfähig und gegenüber einer Matrix-bedingten Apoptose (Anoikie) resistent zu bleiben, modulieren TGCT ihr umgebendes Stroma. Eigene Untersuchungen konnten zeigen, dass TGCT IFN γ endogen sezernieren und über die Induktion des CXC Chemokins IP-10 auf Tumor-assoziierten Gefäßendothelien zur Rekrutierung IFN γ -positiver T-Lymphozyten in TGCT führen. Ob Lym-

phozyten zur Reduktion der Anoikie und somit zur Apoptose-Defizienz von TGCT beitragen, wird zur Zeit weiter untersucht. In Anbetracht der pro- und anti-apoptischen Wirkungen von IFN γ auf Tumorzellen zeigten eigene Untersuchungen, dass das endogene IFN γ keine Wirkung auf die Proliferation oder Apoptose neoplastischer Keimzellen aufweist. Experimente mit TGCT-Zelllinien zeigten weiterhin, dass das endogene IFN γ trotz IFN γ -Rezeptor-Expression nicht in der Lage ist, den nachgeschalteten Transkriptionsfaktor Stat-1 (signal transducer and activators of transcription) zu phosphorylieren. Somit scheint die Resistenz der Tumorzellen gegenüber dem endogenen IFN γ auf einem Defekt der Rezeptor-Transkriptionsfaktor-Signalüberleitung zu beruhen. Um mögliche Signaltransduktionswege zu charakterisieren, deren Inhibition bzw. Aktivierung zur Apoptose-Defizienz in TGCT führen, wurden TGCT-Zelllinien auf Apoptose-regulierende Gene untersucht. Mittels cDNA Macroarray, real-time RT-PCR, Western blot, Caspase-Aktivitäts-Assay, In-situ-end-Labeling und Immunzytochemie konnte nachgewiesen werden, dass die Aktivierung des Mitogen-Activated Protein (MAP)-Kinase-Pathways bei der Apoptoseregulation von TGCT eine entscheidende Rolle spielt und eine der Ursachen der Apoptose-Defizienz in malignen Keimzellneoplasien sein könnte. Um die Regulation des MAP-Kinase-Pathways näher zu charakterisieren, sollen TGCT-Zelllinien mittels speziellen cDNA-Microarray auf Gene untersucht werden, die nach Aktivierung des MAP-Kinase-Pathways ihre Expression verändern. Die hierbei erhobenen *in vitro* Befunde sollen anschließend *in situ* auf ihre biologische Relevanz überprüft werden.

4. Deficiency of Apoptosis in Malignant Germ Cell Tumours of the Testis

Testicular germ cell tumours (TGCT) are the most common solid malignancy in young males from 20 to 40 years old. To survive outside their origin and become resistant to matrix-induced apoptosis (anoikis) TGCT modulate their surrounding stroma. Our studies revealed that TGCT secrete IFN γ thus leading to induction of the CXC chemokine IP-10 in endothelial cells and thereby contributing to the recruitment of IFN γ + T lymphocytes. Whether lymphocytes may reduce the anoikis and thereby the apoptosis deficiency of TGCT is currently under investigation. Considering the pro- and anti-apoptotic effects of IFN γ on tumour cells, our investigation showed that endogenous IFN γ has no effect on proliferation and apoptosis in malignant germ cells. Studies with TGCT cell lines demonstrated that endogenous IFN γ is unable to phosphorylate the downstream transcription factor Stat-1 (signal transducer and activators of transcription). It is tempting to speculate that despite IFN γ secretion and IFN γ receptor expression TGCT circumvent effects of the endogenous IFN γ at the level of receptor/STAT signal transduction. To characterise signal transduction pathways involved in inhibition or activation of apoptosis TGCT, cell lines were analysed for the expression of apoptosis-regulated genes by cDNA-Macroarray, real-time-RT-PCR, Western blot, Caspase-assays, In-situ-end-labelling and immu-

nocytochemistry. It was possible to show that the mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway plays an essential role in apoptosis regulation of TGCT and may contribute to the apoptosis deficiency in TGCT. To clarify the regulation of MAP kinase pathway TGCT cell lines will be analysed on differential gene expression after MAP kinase pathway activation by cDNA microarray. Thereafter, *in vitro* expressed genes will be proved on their biological relevance in TGCT *in vivo*.

Arbeitsgruppenleiter/innen | Group Leaders

PD Dr. med. Stefan Schweyer

Kooperationen | Cooperations

Dr. P. Burfeind, Abteilung Humangenetik, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Prof. Dr. med. W.-W. Höpker, Allgemeines Krankenhaus Barmbek, Hamburg

PD J.G. Scharf, Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Dr. P. Thelen, Abteilung Urologie, Bereich Humanmedizin, Universität Göttingen

Dr. med. W. Wagner, Dr. T. Pottke, Bundeswehrkarnkenhaus Hamburg, Hamburg

Ausgewählte Publikationen | Selected Publications

Schweyer S, Soruri A, Heintze A, Radzun HJ, Fayyazi A (2004) The role of reactive oxygen species in cisplatin-induced apoptosis in human malignant testicular germ cell lines. *INT J ONCOL*, 25(6): 1671-6.

Schweyer S, Soruri A, Meschter O, Heintze A, Zschunke F, Miosge N, Thelen P, Schlott T, Radzun HJ, Fayyazi A (2004) Cisplatin-induced apoptosis in human malignant testicular germ cell lines depends on MEK/ERK activation. *BRIT J CANCER*, 91(3): 589-98.

Schweyer S, Soruri A, Peters J, Wagner AH, Radzun HJ, Fayyazi A (2003) Malignant germ cell tumours of the testis express interferon-gamma, but are resistant to endogenous interferon-gamma. *BRIT J CANCER*, 89(5): 915-21.

Anhang | Appendix

Habilitationen

Hemmerlein B, Charakterisierung tumorassoziierter Monozyten/Makrophagen im Nierenzellkarzinom. Habilitation Universität Göttingen 2004.

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

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

Roth M, Dr. med. dent., Die Rolle des Chemokinrezeptors CXCR4 und des Liganden SDF-1 bei der Metastasierung des Nierenzellkarzinoms. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Wehner M, Dr. med., Immunhistochemische Charakterisierung tumorassoziierter Makrophagen im Nierenzellkarzinom. Dissertation Universität Göttingen 2005.

Heintz H, Dr. med., Analysen zur Expression und prognostischer Bedeutung der Wachstumsfaktorrezeptoren c-Met und c-Ron bei Patientinnen mit primären Ovarialkarzinomen. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Johanns U, Dr. med., Matrixmetalloproteinasen -2 und -9 und ihre natürlichen Inhibitoren TIMP-1 und TIMP-2 im Nierenzellkarzinom. Dissertation Universität Göttingen 2004.

Baumhoer D, Dr. med., Expression des CXC-Chemokins IP-10 in malignen Keimzell-tumoren des Hodens. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Kiefer A, Dr. med., Die Rolle des Fas/Fas-Ligand-Mechanismus bei der akuten Abstoßungsreaktion der experimentellen Dünndarmtransplantation. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Peters J, Dr. med., Expression von Interferon-gamma und Interferon-gamma-Rezeptor in malignen Keimzellen des Hodens. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Ulrich R, Dr. med., Gefäßneubildung und spontane Tumornekrosen in Nierenzellkarzinomen. Dissertation Universität Göttingen 2003.

Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen | Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

Prof. Dr. Heinz-Joachim Radzun

Deutsche Gesellschaft für Pathologie

Universitäre Gremien | University Boards

Prof. Dr. Heinz-Joachim Radzun

Laborkommission, Habilitationskommission

PD Dr. Bernhard Hemmerlein

Kommission, Cell sorting Unit

Internationale wissenschaftliche Kooperation | International Scientific Cooperations

Prof. Nitza Lahat, Dr Miki Rahat, Carmel Hospital, Immunology Unit, Rappaport Faculty of Medicine, University of Haifa, Israel

Multizentrische Studien | Multicenter Studies

B. Hemmerlein, Referenzpathologie; CHALLENGE-Studie, Leitung: Prof. Griesinger Abteilung Hämatologie und Onkologie

Vorhandene forschungsrelevante Großgeräte

Specialised Research Equipment

Konfokales Lasermikroskop

Laser-Mikrodissektionsgerät