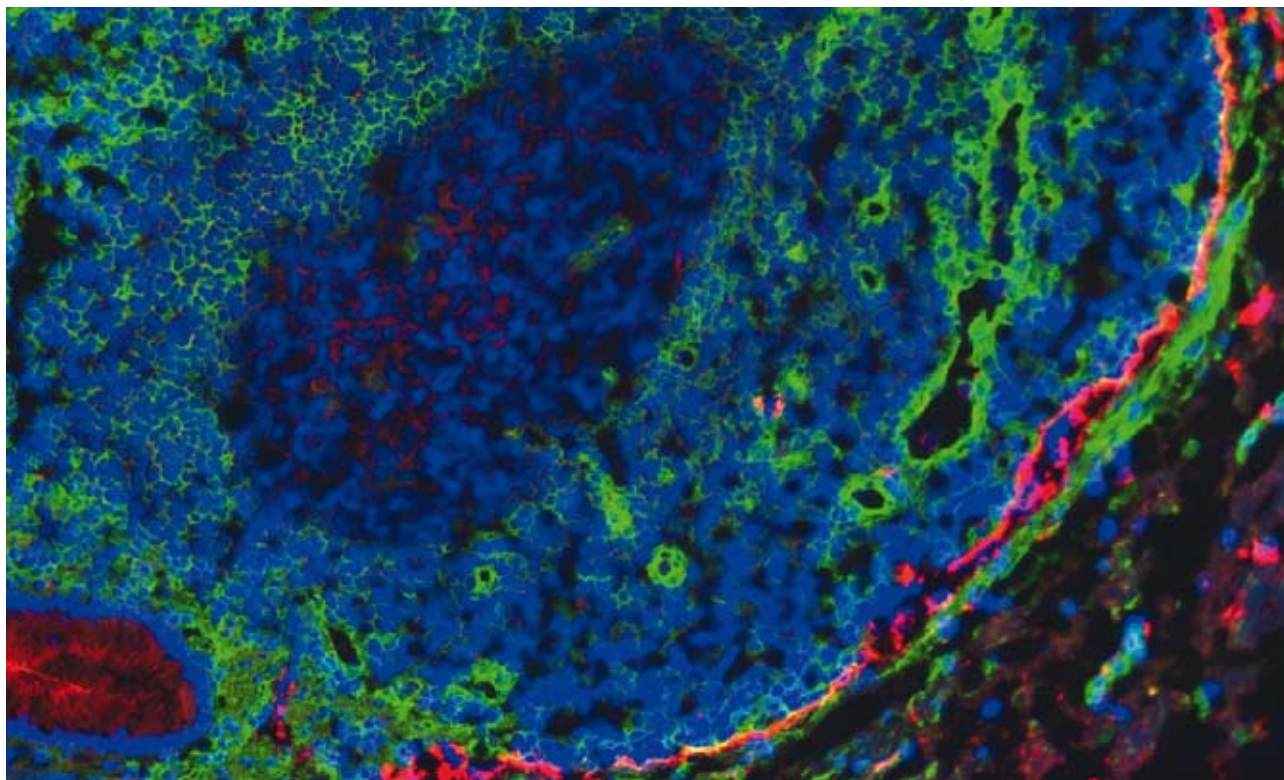


Zentrum Innere Medizin
Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie
Centre for Internal Medicine
Department of Gastroenterology and Endocrinology



Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Pathogenese der chronischen Hepatitis C Virus (HCV) Infektion
 - ▷ Bedeutung des IGF-Systems in Kombination mit anderen Wachstumsfaktorrezeptoren für die Resistenz oder das Ansprechen von Rektumkarzinomen auf eine neoadjuvante Chemotherapie
 - ▷ Differenzierung und Funktion des humanen Osteoblasten-Osteoporose bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen
 - ▷ Neue Biomarker bei gutartigen und bösartigen Neubildungen
 - ▷ Direkte und indirekte Effekte ionisierender Strahlen auf Lebergewebe: *in vitro* und *in vivo* Studien
 - ▷ Pathogenesis of chronic hepatitis C virus (HCV) infection
 - ▷ Role of the insulin-like growth factor axis in combination with other growth factor signaling pathways in the resistance or response of rectal adenocarcinoma to neoadjuvant radiochemotherapy
 - ▷ Differentiation and function of human osteoblasts – Osteoporosis in patients with chronic-inflammatory bowel diseases
 - ▷ New biomarkers in benign and malign diseases
 - ▷ Direct and indirect effects of ionizing radiation on the liver: *in vitro* and *in vivo* studies
-



Abteilungsdirektor **Head of Department**

Prof. Dr. med. Dr. h.c. Giuliano Ramadori

Kontaktdaten **Contact**

Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie

UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN

Robert-Straße 40, D-37075 Göttingen

Telefon +49-551 / 39-6301, Fax +49-551 / 39-8596

gramado@med.uni-goettingen.de

www.gastroenterologie.uni-goettingen.de

Hochschullehrer/innen **Professors and Lecturers**

+49-551 /

Ramadori, Giuliano	Prof. Dr. med. Dr. h.c.	gramado@med.uni-goettingen.de	39-6300 39-6301
Schwörer, Harald	Apl. Prof. Dr. med.	hschwoer@med.uni-goettingen.de	39-8915 39-6326
Armbrust, Thomas	PD Dr. med.	tarmbru@gwdg.de	39-12814
Mihm, Sabine	Apl. Prof. Dr. rer. nat.	smihm@med.uni-goettingen.de	39-8946
Raddatz, Dirk	PD Dr. med.	draddat@gwdg.de	39-8909
Scharf, Jens-Gerd	Apl. Prof. Dr. med.	jscharf@med.uni-goettingen.de	39-8589

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen **Other Group Leaders**

Cameron, Silke	Dr. med., M.A.	silke.cameron@med.uni-goettingen.de	39-8557
Batusic, Danko	Dr. med.	dbatusi@gwdg.de	39-8590
Mansuroglu, Tümen	Dr. med.	tmansuroglu@yahoo.de	39-8557
Meier, Volker	Dr. med.	vmeier1@gwdg.de	39-6333
Moriconi, Federico	Dr. med.		

1. Pathogenese der chronischen Hepatitis C Virus (HCV) Infektion

Das Hepatitis C Virus ist ein umhülltes, einzelsträngiges RNA-Virus, das akute und häufig auch chronische, progrediente Leberentzündungen verursacht. Weltweit sind etwa 170 Millionen Menschen betroffen. Eine Infektion birgt ein signifikantes Risiko für die Entwicklung einer Leberzirrhose und die Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms. Eine HCV-bedingte Lebererkrankung stellt die häufigste Indikation für eine Lebertransplantation dar.

Die Etablierung einer chronischen Infektion impliziert, dass sich das Virus wirtseigener Abwehrmechanismen, einschließlich derer, die durch Interferone (IFN) vom Typ I vermittelt werden, entzieht.

Eine unter Verwendung degenerierter Primerpaare durchgeführte Quantifizierung der Gesamtheit der IFN-spezifischen Transkripte (IFN_n) hat ergeben, dass in der Leber von Patienten mit chronischer Hepatitis C nicht mehr Typ I IFN exprimiert wird als bei Patienten mit beispielsweise Lebererkrankungen nicht-viraler Genese oder mit gesunder Leber. Auch eine erst kürzlich entdeckte Gruppe von IFN, IFN- λ_{1-3} , ist in der Leber von Hepatitis C Patienten nicht stärker exprimiert als in den entsprechenden Kontrollen. Die fehlende Nachweisbarkeit von IFN Transkripten ist mit zwei konkurrierenden Sichtweisen aus der Literatur kompatibel: Die Gruppe um Ilkka Julkunen nimmt an, dass Hepatozyten an sich schlechte IFN-Produzenten sind. Dagegen gehen amerikanische Gruppen davon aus, dass die virale Protease NS3/4A in die zelluläre Signaltransduktion eingreift und so aktiv die Aktivierung des IFN-Systems unterdrückt. Wir haben aus unseren Experimenten abgeleitet, dass es durchaus sinnvoll ist, IFN-basierte Therapien für die chronische HCV Infektion weiterzuentwickeln. In Kooperation mit Dr. Klucher haben wir die Expression von IFN- λ in der Leber von Patienten untersucht und zeigen können, dass diese zumindest auf mRNA-Ebene eine im Mittel 4-fach höhere Expression dieser Rezeptoren aufweisen als für IFN- α .

Da die Ansprechrate auf das Medikament IFN- α inter-individuell sehr unterschiedlich ist, gehen wir auch der Hypothese nach, inwieweit genetische Variationen in Genen, die an der IFN- α Signaltransduktion beteiligt sind, für das individuelle Ansprechen von Bedeutung sind. In einer Assoziationsstudie konnten wir einen Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus im Gen für IRF-1 (interferon regulatory factor-1) und dem Überwinden einer HCV Genotyp 3 Infektion ohne therapeutische Intervention als auch dem Ansprechen auf eine IFN-Therapie bei HCV Genotyp 1 Infizierten feststellen.

1. Pathogenesis of Chronic Hepatitis C Virus (HCV) Infection

Hepatitis C virus is an enveloped, single-stranded RNA virus, and it is a major cause of acute and of chronic liver disease. Worldwide, an estimated 170 million people are infected with the virus.

HCV infection is a proven risk factor for the development of liver cirrhosis and of hepatocellular carcinoma. End-stage liver disease caused by HCV has become the most common indication for liver transplantation.

The high chronicity rate implicates that the virus is able to escape antiviral host responses that are mediated by interferons (IFN).

A quantification of the whole entity of IFN specific transcripts (IFN_n) revealed that the liver of patients with chronic hepatitis C do not contain more transcripts than tissue from patients with liver disorders unrelated to viral infections, or than healthy livers. Also, transcripts specific for a newly identified group of IFNs, IFN- λ_{1-3} , were not found to be enhanced in the livers when compared to the control groups. Non-detectability of IFN message in patients' tissues is in line with two opposing views from the field. Regarding to Ilkka Julkunen and co-workers, hepatocytes may have an intrinsically poor ability to produce type I IFNs. According to others, the HCV protease NS3/4A actively interferes with the activation of type I IFN genes. We concluded that the absence of type I IFN message in chronic hepatitis C substantiates the rationale for applying type I IFNs, and that our data argue for further development of type I IFN-based therapies. In collaboration with Dr. Klucher, we analyzed hepatic expression of IFN- λ subunits. We were able to show that hepatitis C patients do express about 4 times higher levels of IFN- λ receptor than IFN- α receptor subunit message.

Not least because of great inter-individual differences in the outcome of an IFN- α treatment, we propose that IFN- α effectiveness may be determined by genetic variations in genes that are involved in IFN- α signalling or effectors functions. A first study revealed an association of a polymorphism within the promoter region of the interferon regulatory factor-1 (IRF-1) gene and the natural outcome of HCV genotype 3 infection as well as a tendency of an association with therapy outcome in patients with HCV genotype 1 infections.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. rer. nat. Sabine Mihm

Kooperationen Cooperations

Ralf Bartenschlager, Institut für Molekulare Virologie, Universität Heidelberg

Kevin Klucher, Fa. Zymogenetics, Seattle, WA, USA

Margarete Odenthal, Institut für Pathologie, Universität Köln

Heike Bickeböller und Albert Rosenberger, Abteilung Genetische Epidemiologie, UMG

Stefan Schweyer, Abteilung Pathologie, UMG

Drittmittelförderung Funding

DFG, SFB 402 „Zelluläre und Molekulare Hepatogastroenterologie“, 1996-2006

DFG, MI 474/1-1 „Bedeutung genetischer Polymorphismen für die pharmakologischen Wirkungen von Interferon- α (IFN- α)“, 2007-2009

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Meier V, Mihm S, Ramadori G (2008). Interferon-alpha therapy does not modulate hepatic expression of classical type I interferon inducible genes. *J Med Virol* 80, 1912-1918.

Wietzke-Braun P, Mänhardt LB, Rosenberger A, Uy A, Ramadori G, Mihm S (2007). The outcome of hepatitis C virus infection: Demographic, clinical, and serological correlates. *World J Gastroenterol* 13, 4224-4229.

Doyle SE, Schreckhise H, Khuu-Duong K, Henderson K, Rosler R, Storey H, Yao L, Liu H, Barahmandpour F, Sivakumar P, Chan C, Birks C, Foster D, Clegg CH, Wietzke-Braun P, Mihm S, Klucher KM (2006). Interleukin-29 uses a type 1 interferon-like program to promote antiviral responses in human hepatocytes. *Hepatology* 44, 896-906.

Wietzke-Braun P, Maouzi AB, Mänhardt LB, Bickeböller H, Ramadori G, Mihm S (2006). Interferon Regulatory Factor-1 Promoter Polymorphism and the Outcome of Hepatitis C Virus Infection. Eur J Gastroenterol Hepatol 18, 991-997.

2. Bedeutung des IGF-Systems in Kombination mit anderen Wachstumsfaktorrezeptoren für die Resistenz oder das Ansprechen von Rektumkarzinomen auf eine neoadjuvante Chemotherapie

Veränderungen der Homoöstate zwischen den Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren (IGFs), seinen Bindungsproteinen (IGFBPs) und dem IGF-I-Rezeptor (IGF-IR) werden eine kausale Rolle bei der Karzinogenese unterschiedlicher Tumorerkrankungen wie auch des kolorektalen Karzinom (KRK) zugesprochen. Ziel des Projektes ist es, die pathophysiologische Rolle der IGF-Achse bei der Entstehung des Rektumkarzinoms sowie für das Therapieansprechen von Rektumkarzinomen auf eine neoadjuvanten Radiochemotherapie zu entschlüsseln. Die Untersuchungen sollen an bereits etablierten KRK-Zelllinien, Tumorzelllinien, die aus Rektumkarzinomen isoliert werden sowie an Biopsiematerial von Rektumkarzinomen durchgeführt werden. Basierend auf diesen Ergebnissen sollen Interaktionen bzw. „Crosstalks“ des IGF-IR mit anderen Wachstumsfaktor-Rezeptoren bzw. deren Signaltransduktionspathways untersucht und hinsichtlich ihrer Bedeutung für das Therapieansprechen von Rektumkarzinomen evaluiert werden. Zusammenfassend zielt das Projekt darauf ab, Interaktionen zwischen Wachstumfaktor-Rezeptoren und deren Signaltransduktion in ihrer Komplexität zu identifizieren, die maßgeblich das Therapieansprechen von Rektumkarzinomen beeinflussen und daher auch Ziel einer neuen Therapiestrategie wie z.B. der Blockade von zwei Rezeptoren sein könnten.

2. Role of the insulin-like growth factor axis in combination with other growth factor signalling pathways in the resistance or response of rectal adenocarcinoma to neoadjuvant radiochemotherapy

Recent studies have indicated a complex role for the IGF (insulin-like growth factor) axis in the development and progression of colorectal cancer. The biological activity of IGFs is determined by the integrated actions of local concentrations of IGFs and of IGF-binding proteins in mediating the mitogenic effects of IGFs via activation of the IGF-I receptor (IGF-IR). This project aims to elucidate the role of the IGF axis in the pathogenesis of rectal adenocarcinoma and in the resistance or response of rectal adenocarcinoma to a neoadjuvant radiochemotherapy (RT/CT). The studies will be performed in established colorectal cancer cell lines, in cell lines which will be established from rectal adenocarcinoma, as well as in biopsies taken from rectal adenocarcinoma. Based on these data, crosstalks between the IGF-IR and other growth factor receptors and their signal pathways will be analyzed and evaluated for their functional

relevance to the resistance or response of rectal adenocarcinoma to neoadjuvant RT/CT. This project aims to detect more complex interactions involved in the resistance or response of rectal cancer as molecular targets for the development of new therapeutic strategies, e.g. dual blockade of two receptors.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. med. Jens-Gerd Scharf

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. rer. nat. Thomas Braulke, Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Kinderklinik-Biochemie, Hamburg

PD Dr. rer. nat. Peter Burfeind, Dr. rer. nat. Silke Kaulfuß, Institut für Humangenetik, UMG Göttingen Teilprojekte der klinischen Forschergruppe 179 „Biological Basis of Individual Tumor Response in Patients with Rectal Cancer“

Prof. Dr. med. vet. Eckhard Wolf, Dr. rer. nat. Andreas Hoeflich, Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht, München

Dr. med. Stefan Schweyer, Abteilung Pathologie, UMG Göttingen

Drittmittelförderung Funding

DFG, SCHA 700/3-1, 2008-2011

DFG, GK 355 „Klinische, Zelluläre und Molekulare Biologie Innerer Organe“, 2003-2007

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Kaulfuß S, Burfeind P, Gaedcke J, Scharf J-G (2009). Dual silencing of insulin-like growth factor receptor type 1 and epidermal growth factor receptor in colorectal cancer cell lines is associated with decreased proliferation and enhanced apoptosis. Mol Cancer Ther 8, 821-833.

Cameron S, Hünerbein D, Mansuroglu T, Armbrust T, Scharf J-G, Schwörer H, Füzesi L, Ramadori G (2009). Response of the primary tumor in symptomatic and asymptomatic stage IV colorectal cancer to combined interventional endoscopy and palliative chemotherapy. BMC Cancer 9, 218

3. Differenzierung und Funktion des humanen Osteoblasten - Osteoporose bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen

Bei Patienten mit Morbus Crohn (MC) besteht häufig eine erniedrigte Knochendichte (BMD) und ein erhöhtes Risiko für Frakturen. Als Ursache wird die Steroid-Therapie, aber auch die Erkrankung selbst verantwortlich gemacht. In einer prospektiven Studie untersuchten wir Patienten im akuten Schub eines MC und in steroid-freier Remission hinsichtlich Knochenstoffwechsel, Knochendichte, Entzündungsmarkern sowie Zykotinen. Als Vergleich dienten alters- und geschlechtsadaptierte gesunde Probanden sowie Osteoporosepatienten. Von sieben Patienten mit akutem Schub des MC hatten vier eine Osteopenie oder Osteoporose nach WHO Kriterien. Die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) war mit der BMD am Femurhals ($R^2=0.853$, $p<0.01$) und an der Wirbelsäule assoziiert ($R^2=0.772$, $p<0.05$). Die BSG korrelierte weiterhin negativ zur Knochenformation gemessen an der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase ($R^2=0.725$, $R=-0.852$, $p<0.05$). Der klinische Aktivitätsindex CDAI war nicht in der Lage das Risiko für die Knochenbeteiligung vorherzusagen. Bei Patienten mit MC scheint der Entzündungsprozess, charakterisiert durch die hohe BSG, Knochenverlust anzuzeigen und kann für die Bestimmung des Osteoporoserisikos bei MC Patienten wertvoll sein.

Um die Pathogenese der Osteoporose bei Morbus Crohn weiter zu analysieren haben wir mesenchymale humane Progenitorzellen in Richtung osteoblastärer Differenzierung stimuliert und den Effekt von Serum von 7 Patienten mit M. Crohn auf osteoblastencharakteristische Gene untersucht. Wir stellten die Hypothese auf, dass das Serum von Patienten mit M. Crohn und Osteoporose die mesenchymalen Stammzellen unterschiedlich stimuliert im Verhältnis zu Serum von M. Crohn-Patienten ohne Osteoporose. Tatsächlich konnten wir mittels Microarray-Analyse 236 Gene nachweisen, die unterschiedlich zwischen beiden Gruppen exprimiert wurden. Die regulierten Gene betrafen das Actin-Zytoskelett, Zelladhäsion, zelluläre Matrixsynthese, Knochenerkrankungen, Wnt und TGFbeta Signalwege als auch Lipid- und Fettstoffwechsel. Insgesamt zeigt unsere Untersuchung, dass tatsächlich mit Serum von Patienten mit M. Crohn mit und ohne Osteoporose Unterschiede bestehen, die evtl. auch bei den Patienten selbst zu der Knochenerkrankung disponieren.

3. Differentiation and Function of human osteoblasts – Osteoporosis in patients with chronic-inflammatory bowel diseases

Crohn's disease (CD) is associated with reduced bone mineral density and increased fracture risk. To assess the effects of the inflammatory process itself on bone parameters, we investigated patients with active CD without prior steroid therapy and in steroid free remission 6 months later. Patients with active CD were compared to age- and sex-matched healthy volunteers and osteoporosis patients. Bone mineral density, bone formation and resorption markers were assessed, in addition to simple inflammatory markers and cytokines. Out of seven patients with active disease, three had osteopenia and one osteoporosis (WHO definition). The erythrocyte sedimentation rate (ESR) was associated with BMD at the femoral neck ($R^2=0.853$, $p<0.01$) and the spine ($R^2=0.772$, $p<0.05$). ESR seems to influence bone formation, as shown by lower bone alkaline phosphatase with high ESR ($R^2=0.725$, $R=-0.852$, $p<0.05$). The clinical disease activity score was not useful in determining patients' risk of acquiring bone disease. In conclusion, in patients with Crohn's disease, the degree of the inflammatory process as assessed by ESR indicates bone loss and might be of value in identifying patients at risk of developing osteoporosis.

To investigate the hypothesis that serum factors are responsible for bone disease in CD, we incubated seven different sera from patients with acute CD with (CD-OPO⁺ n=3) or without osteoporosis (CD-OPO⁻ n=4) and serum from one healthy blood donor with mesenchymal progenitor cells directed toward the osteoblastic phenotype. Hence, a group of 236 genes were identified, which were different in the two groups. A group of 38 genes showed more than a four-fold change in expression for CD-OPO⁺ versus CD-OPO⁻. The induced or suppressed genes corresponded to multiple metabolic pathways, indicating a change in the structure and function of the cells towards increased bone resorption. We suggest that the serum from adult patients with acute CD is a valuable tool to elucidate the

pathogenesis of osteoporosis induced by CD. The above described effects were detectable in CD-OPO⁺ compared to CD-OPO⁻ possibly influencing bone disease in pts. with CD.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

PD Dr. med. Heide Siggelkow

PD Dr. med. Raddatz

Kooperationen Cooperations

Dr. M.Baums, Department of Orthopedic Surgery,UMG

Prof. N. Miosge, Department of Prosthodontics, Tissue Regeneration Work Group, UMG

Dr. G. Salinas-Riester, Microarray Core Facility, Georg-August-University Goettingen

Orthopaedic Center for Musculoskeletal Research, Molecular Orthopedics, University of Würzburg, Germany

Drittmittelförderung Funding

Elsbeth-Bonhoff-Stiftung 2007, Modulation der Osteoblastogenese bei Morbus Crohn - Implikation für die Pathophysiologie der Osteoporose

Elsbeth-Bonhoff-Stiftung 2008, Modulation der Osteoblastogenese bei Morbus Crohn - Implikation für die Pathophysiologie der Osteoporose

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Siggelkow H, Cortis J, Claus C, Funke M, Nolte W, Hüfner M, Raddatz D. Erythrocyte sedimentation rate as an osteoporosis risk factor in patients with active Crohn's disease. **Osteology** in press
Blaschke, M., Cortis, J., Baums, M., Köpp, R., Raddatz, D., Schuetze, N. Miosge, N., Salinas-Riester, G., Siggelkow, H. Serum derived from Crohn's disease patients affects osteoblastic differentiation of mesenchymal progenitor cells: Implications for the pathogenesis of osteoporosis in Crohn's disease. Submitted

Ponce ML, Koelling S, Kluever A, Heinemann DE, Miosge N, Wulf G, Frosch KH, Schütze N, Hüfner M, Siggelkow H (2008). Coexpression of osteogenic and adipogenic differentiation markers in selected subpopulations of primary human mesenchymal progenitor cells. **J Cell Biochem** 104, 1342-55. (IF: 2.775)

Franke S, Siggelkow H, Wolf G, Hein G (2007). Advanced glycation endproducts influence the mRNA expression of RAGE, RANKL and various osteoblastic genes in human osteoblasts. **Arch Physiol Biochem** 113, 154-161. (IF: 0.841)

Viereck V, Siggelkow H, Pannem R, Bräulke T, Scharf JG, Kubler B (2007). Alteration of the insulin-like growth factor axis during in vitro differentiation of the human osteosarcoma cell line HOS 58. **J Cell Biochem** 102, 28-40. (IF: 2.775)

4. Neue Biomarker bei gutartigen und bösartigen Neubildungen

Im Schwerpunkt „Molekulare Tumordiagnostik“ wurden verschiedene Nachweisverfahren etabliert, die 1.) dem Abschätzen eines individuellen Tumorrisikos dienen, die 2.) zur Abschätzung der Prognose einer Tumorerkrankung herangezogen werden können und die 3.) prädiagnostische Aussagen über den Behandlungserfolg mit spezifischen Therapeutika erlauben sollen. Die Rationale für diese Verfahren liefern entsprechende Studien aus der aktuellen relevanten Literatur.

Zur Abschätzung des individuellen Risikos, einen Tumor zu entwickeln, werden genetische Analysen an bestimmten variablen Positionen im Genom vorgenommen. So ist beispielsweise ein bestimmter Genotyp an der Position rs4444903 im Gen für den Wachstumsfaktor EGF bei Patienten mit Leberzirrhose mit einem 4-fach häufigeren Risiko ein HCC zu entwickeln assoziiert.

Von prognostischem Wert bei einem Ösophaguscarcinom ist die quantitative Bestimmung der microRNA-103. Eine hohe Expression

ist mit einer schlechten Prognose assoziiert. Bei Patienten mit kolorektalem Carcinom hingegen kommt der Stabilität der Mikrosatelliten, ein Indikator für einen Defekt im DNA-Reparatursystem, eine Aussagekraft hinsichtlich der weiteren Entwicklung der Erkrankung zu.

Von eindeutig prädikativem Wert für eine Behandlung von Patienten mit kolorektalem Carcinom mit Medikamenten, die sich gezielt gegen den Wachstumsfaktor EGF oder dessen Rezeptor richten, ist der Mutationsstatus in zwei dem Rezeptor nachgeschalteten Proteinen, k-ras und BRAF. Die bekannten Mutationen bewirken eine dauerhafte Aktivierung der Enzyme, so dass die vom Rezeptor ausgehenden Signale für die Vorgänge in der Zelle irrelevant werden.

Dies sind nur einige Beispiele der molekular-genetischen Parameter, deren Bestimmung aus Vollblut oder Tumorgewebeproben über ein entsprechendes Formular angefordert werden können, und die durch eine Vielzahl von immunhistologischen Bestimmungen ergänzt werden.

4. New biomarkers in benign and malign diseases

The research focus ‚Molecular Tumordiagnosics‘ comprises a variety of analyses with three essential aims: 1.) to assess the individual risk to develop a specific tumor, 2.) to help to estimate the prognosis of a specific disease, and 3.) to provide an additional predictive parameter for treatment outcome. All the analyses are based on published data from relevant clinical studies.

To assess the individual risk for tumor development, genotyping of specific variable positions within a genomic DNA sample is performed. For instance, a specific genotype at position rs4444903 within the growth factor gene EGF is described to be associated with a 4-fold higher risk to develop HCC in patients with liver cirrhosis.

In patients with oesophagus carcinoma, the quantification of miRNA-103 has been demonstrated to be of prognostic value. A high miRNA-103 expression is associated with a poor prognosis. In patients with colorectal carcinoma, on the other hand, microsatellite instability, an indicator of a defect DNA repair system, attributes to disease prognosis.

The mutation status of two proteins acting downstream EGF-EGFR signalling, k-ras and BRAF, have been shown to be of significant predictive value for the treatment of colorectal carcinoma patients with drug targeting the growth factor EGF or its receptor. Whereas wildtype enzymes are activated only after receptor-mediated signalling, mutations cause their sustained activation leading to sustained intracellular signalling independent on receptor activation.

These are some examples out of the molecular/genetic analyses that can be requested via a form and that complement a variety of immunohistochemical analyses.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. rer. nat. Sabine Mihm

Dr. med. Silke Cameron, M.A.

Kooperationen Cooperations

Dr. Christiane Pott, Labor für hämatologische Spezialdiagnostik, Kiel

PD Dr. rer. nat. Susanne Schnittger, MLL Münchner Leukämie Labor GmbH, München

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Haller F, Löbke C, Ruschhaupt M, Cameron S, Schulten H, Schwager S, Heydebreck A, Gunawan B, Langer C, Ramadori G, Sültmann H, Poustka A, Korf U, Füzési L (2008). Loss of 9p leads to p16INK4A downregulation and enables RB/E2F1-dependent cell cycle promotion in gastrointestinal stromal tumours (GISTs). *J PATHOL* 215, 253-262.

Cameron S, Haller F, Dudas J, Moriconi F, Gunawan B, Armbrust T, Langer C, Füzési L, and Ramadori G (2008). Immune cells in primary gastrointestinal stromal tumors. *EJGH* 20, 327-334.

5. Direkte und indirekte Effekte ionisierender Strahlen auf Lebergewebe: in vitro und in vivo Studien

Der genaue Pathomechanismus, der nach Einwirkung ionisierender Strahlen zur strahleninduzierten Leberschädigung bis hin zur Leberzirrhose führt, ist bislang noch ungeklärt, so dass therapeutisch momentan noch keine kausale Therapie der RILD („Radiation induced liver disease“) zur Verfügung steht. Unsere Arbeitsgruppe ging dabei (1) allgemein der Frage nach, welche Expressionsänderungen in bestrahlten Hepatozyten, den parenchymalen Zellen der Leber, stattfinden, und ob (2) pro-inflammatorische Zytokine im speziellen die Genexpression in bestrahlten Hepatozyten beeinflussen können.

(1) Hepatozyten wurden aus Rattenlebern isoliert und in vitro mit 8 Gy bestrahlt. 6 h nach Bestrahlung führten wir vergleichende Genexpressionsanalysen mittels cDNA Arrays durch. Wir fanden 10 Gene, die nach Bestrahlung differenziell hochreguliert waren, jedoch keine differenziell herunterregulierten Gene. Mittels Real-Time-PCR bestätigten wir die Expressionsänderungen. Um zu überprüfen, ob diese 10 Gene auch tatsächlich in vivo verändert sind, haben wir Rattenlebern selektiv bestrahlt (25 Gy) und die Tiere 1, 3, 6, 12, 24 und 48 h nach Bestrahlung getötet. Sowohl auf RNA- als auch auf Proteinebene untersuchten wir das entnommene Lebergewebe nach den 10 „Kandidaten-Genen“. Tatsächlich konnten wir für 3 dieser Gene eine Expressionsänderung auf RNA wie Proteinebene nachweisen (multidrug resistance protein, proteasome component C3, eukaryotic translation initiation factor 2). Histologisch zeigten die bestrahlten Lebern deutliche Zeichen der Verfettung. Wir schlussfolgerten, dass zumindest die drei identifizierten Gene eine Rolle bei der Leberverfettung nach Bestrahlung spielen. Wir meinen, dass die weitere Anwendung unseres methodischen Vorgehens auch noch weitergehende Erkenntnisse zu den Folgen einer Leberbestrahlung liefern wird.

(2) Zur Aufklärung der Rolle von proinflammatorischen Zytokinen im speziellen, analysierten wir hierzu die Genexpression ausgewählter Chemokine (CINC-1, IP-10, MCP-1, MIP-3 α , MIP-3 β , MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , ITAC, SDF-1) in Hepatozyten in vitro nach alleiniger Bestrahlung sowie nach Bestrahlung und zusätzlicher Inkubation mit TNF- α , IL-1 β , IL-6 oder einer Kombination aus IL-6 und TNF- α . Nach alleiniger Bestrahlung kam es zu einer statistisch signifikanten Expressionsminderung für CINC-1, IP-10, MIP-3 β , MIG, MIP-1 α , ITAC und SDF-1, nach Bestrahlung und zusätzlicher Inkubation mir pro-

inflammatorischen Zytokinen (siehe oben) konnte für MCP-1, IP-10, CINC-1 und MIP-3 β jedoch eine statistisch signifikante Expressionssteigerung beobachtet werden. Interessanterweise kommt es nach selektiver Leberbestrahlung *in vivo* zu einer statistisch signifikanten Expressionssteigerung der untersuchten Chemokine. Obwohl die Bestrahlung die wichtigsten Chemokine in der Leber induziert, wurde die massive, erwartete Rekrutierung von Leukozyten im Leberparenchym, nicht beobachtet. Unsere Daten weisen darauf hin, dass nach der Leberbestrahlung Zell-Zell Interaktionen durch die pro-inflammatorischen Zytokine eine Schlüsselrolle in der strahleninduzierten Leberschädigung spielen.

5. Direct and indirect effects of ionizing radiation on the liver: *in vitro* and *in vivo* studies

The exact pathomechanisms that may lead from radiation induced liver injury to cirrhosis are still unknown. Any causal therapy of "RILD" (radiation induced liver disease) is not available. The aim of our project was to understand (1) how the expression of hepatocytes, the parenchymal cells of the liver, is altered in general after gamma irradiation, and (2) in particular whether proinflammatory cytokines can influence the gene expression of irradiated hepatocytes.

(1) Hepatocytes were isolated from rat livers and irradiated *in vitro* with 8 Gy. cDNA array analyses were performed 6 h after irradiation. We found 10 differentially upregulated genes but no differentially down-regulated genes. Those results were confirmed by real-time PCR. To check those genes *in vivo*, we irradiated rat livers selectively with 25 Gy and analysed irradiated livers at 1, 3, 6, 12, 24 and 48 h after irradiation both at RNA and at protein level. Up-regulation was confirmed for three of the *in vitro* altered genes (multidrug resistance protein, proteasome component C3, eukaryotic translation initiation factor 2). Histologically, livers from irradiated animals were characterized by steatosis of hepatocytes. Thus we identified genes that may be involved in liver steatosis after irradiation. The methods shown in this work should help to further clarify the consequences of radiation exposure in the liver.

(2) To elucidate the role of pro-inflammatory cytokines in particular, we analyzed the gene expression of selected chemokines, such as CINC-1, IP-10, MCP-1, MIP-3 α , MIP-3 β , MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , ITAC and SDF-1, in irradiated hepatocytes with or without incubation of additional cytokines like TNF- α , IL-1 β , IL-6 or IL-6 plus TNF- α . After irradiation *in vitro* a downregulation of CINC-1-, IP-10-, MIP-3 β -, MIG-, MIP-1 α -, ITAC- and SDF-1-gene expression was detected, whereas additional incubation of irradiated hepatocytes with proinflammatory cytokines led to a statistically significant increase of MCP-1, IP-10, CINC-1 and MIP-3 β . Interestingly, *in vivo* liver irradiation induced a statistically significant upregulation of the main chemokines analyzed. Although radiation induces the most important chemokines in the liver, we did not observe the massive recruitment of leukocytes into the liver parenchyma that one would expect. Our data suggest that after hepatic irradiation,

cell-cell interactions mediated by proinflammatory cytokines play an important role in radiation-induced liver disease.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. G. Ramadori

Dr. med. F. Moriconi

Dr. med. D. Batusic

Kooperationen Cooperations

PD Dr. H. Christiansen, Dipl. biol. M. Rave-Fränk, Prof. Dr. C.F. Hess, Abt. Strahlentherapie, UMG, Göttingen

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Moriconi F, Christiansen H, Raddatz D, Dudas J, Hermann RM, Rave-Fränk M, Sheikh N, Saile B, Hess CF, Ramadori G (2008). Effect of radiation on gene expression of rat liver chemokines: *in vivo* and *in vitro* studies. *Radiation Res* 169, 162-169.

Hans Christiansen*, Danko Batusic*, Bernhard Saile, Robert Michael Hermann, Josef Dudas, Margret Rave-Fränk, Clemens Friedrich Hess, Heinz Schmidberger, Giuliano Ramadori (2006). Identification of Genes Responsive to Gamma Radiation in Rat Hepatocytes and Rat Liver by cDNA Array Gene Expression Analysis. *Radiation Res* 165, 318-325 (* H. Christiansen and D. Batusic contributed equally to this work)

Christiansen H, Sheikh N, Saile B, Reuter F, Rave-Fränk M, Hermann RM, Dudas J, Hille A, Hess CF, Ramadori G. x-Irradiation in rat liver: consequent upregulation of hepcidin and downregulation of hemojuvelin and ferroportin-1 gene expression. *Radiology*. 2007 Jan;242(1):189-97.

Anhang Appendix

Habilitationen

Wietzke-Braun P, Pathogenetische Ansätze, Diagnostik und Therapie der chronischen Hepatitis C Virusinfektion. Habilitation Universität Göttingen 2008.

Armbrust T, Zur Funktion und Differenzierung mononukleärer Phygozyten der Leber. Habilitation Universität Göttingen 2006.

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

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

Bahramsari P, Dr. med., Die Wirkung von oral aufgenommener Lactulose auf die intravenöse GLP-1-Serum-Konzentration bei gesunden Probanden. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Bozkurt S, Dr. med., Risikofaktoren der Osteoporose unter besonderer Berücksichtigung von Homocystein, supprimiertem Cortisol und Laktose-Intoleranz. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Giesen M, Dr. med., Die Rolle der Transkriptionsfaktoren „run-related transcription factor-2" (RUNX2) und Osterix in humanen Osteoblasten - *In-vitro*-Untersuchung zur Differenzierung und Einfluss der Hemmung von RUNX2 mittels siRNA. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Huber S, Dr. med., Transkriptionale Regulation der Lipopolysaccharid-induzierten Genexpression von HO-1 und Prx I. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Macke J, Dr. med., Prospektive Untersuchung zur Verträglichkeit und Patientenzufriedenheit im Hinblick auf die Koloskopie in der Endoskopie der Universitätsklinik Göttingen im Jahr 2002. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Mänhardt L, Dr. med., Hepatitis C Epidemiologische und serologische Charakterisierung von spontan ausgeheilten HCV-infizierten Personen. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Mansur A, Dr. med., Überprüfung der Funktionalität des genetischen Polymorphismus rs2569190 / T-159C im CD14-Gen mittels Allel-spezifischer Transkript-Quantifizierung bei gesunden Probanden und bei Patienten mit chronischer Hepatitis-C-Virus-Infektion. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Maouzi A, Dr. med., Assoziationen genetischer Polymorphismen in Genen, deren Produkte die angeborene Immunität vermitteln, mit klinischen und viralen Parametern einer Hepatitis-C-Virus-Infektion. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Tello K, Dr. med., Wirkung ionisierender Strahlung auf die Viabilität und die TNF- α -Freisetzung von Kupffer-Zellen. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Thurn S, Dr. med., Die Genexpression der neuronalen Adhäsionsmoleküle Ninjurin 1, Semaphorin 6B, Semaphorin 3A und Neuropilin 1 in der Rattenleber sowie ihre Expressionsmodulation im Rahmen der akuten und chronischen Leberentzündung. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Bisping I, Dr. med., Expression von Serotonin (5-HT)-Rezeptoren und ihre Beteiligung an der

Modulation der DNA-Synthese in der humanen Karzinoidzelllinie BON. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Lindhorst A, Dr. med., Expression des Platelet-endothelial-cell-adhesion-molecule-1 (PECAM-1)-Gens und des Intercellular-adhesion-molecule-1 (ICAM-1)-Gens bei der Entzündung und bei den Reparaturprozessen in der Leber. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Hundeshagen A, Dr. med., Charakterisierung der Serotonin-induzierten Kontraktion an menschlichen Temporalarterien unter Verwendung der selektiven Antagonisten BRL 15572, SB 224289 und Ketanserin. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Walden C, Dr. med., Auswirkungen einer suppressiven Thyroxintherapie auf periphere Zielorgane der Schilddrüsenhormone unter besonderer Berücksichtigung des Knochenstoffwechsels. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere) Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)

Eilers K, Dr. rer. nat., Vergleich der Genexpression im entzündlichen Kolonepithel und im kolorektalen Karzinom im Hinblick auf das erhöhte Tumorrisiko bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Pannem R, Dr. rer. nat., Functional analysis of IGFBP-2 in mouse liver myofibroblasts: implications for liver fibrogenesis. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Yeruva S, Dr. rer. nat., Untersuchungen zur Rolle des Darmepithels bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen: Ueber den Einfluss von Zytokinen und Glucocorticoiden auf die Expression der Chemokine CXCL8 und CXCL10 und den NF-κB Signalweg in intestinalen Epithelzelllinien. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Diplom- und Masterarbeiten Diploma and Master Theses

Martius G, Dipl.-Biol., Einfluss von Photonenstrahlung auf die Genexpression von Fettstoffwechselproteinen der Rattenleber. Diplomarbeit Universität Göttingen 2007.

Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

26.-27.01.2007, 23. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Abteilung Gastroenterologie und Endokrinologie, Göttingen

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

Prof. Dr. G. Ramadori

Editorial Board Member Laboratory Investigation

Editorial Board Member BMC

Mitgliedschaften: DGVS, GASL, AASLD, AGA, ASCO, ACCR

PD Dr. Heide Siggelkow

im Beirat in der Sektion Calcium-regulierende Hormone und Knochenstoffwechsel (CRHUKS) der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE)

Im Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Osteologie (DGO)

Stellvertretende Vorsitzende im Bund der Osteologen Niedersachsens e.V.

Vertreterin des DGO im Dachverband Osteologie

Prof. Dr. Sabine Mihm

Editorial Board Member World Journal of Gastroenterology

Language Editor World Journal of Gastroenterology

Universitäre Gremien University Boards

Prof. Dr. G. Ramadori

Studienkommission

Ethikkommission

Arzneimittelkommission

Klinikkonferenz

Forschungskommission

Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Prof. Dr. G. Ramadori

Gutachtertätigkeiten für:

Deutsche Forschungsgemeinschaft

MRC

NIH, Hongkong Singapore

Italian Cancer Society

Wellcome Trust

PD Dr. Heide Siggelkow

Gutachter für:

Osteologie, Experimental Clinical Endocrinology and Diabetes, Hormone and Metabolic Research, Molecular and Cellular Endocrinology, Journal of Cellular Biochemistry

Wiss. Beirat:

Osteologie seit 2008

Prof. Dr. Sabine Mihm

Gutachtertätigkeiten für:

World Journal of Gastroenterology

Journal of Medical Virology

Laboratory Investigation

Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Kunst Baden-Württemberg

Europäische Union, Marie Curie France Regions (MCFR) Programme

Internationale wissenschaftliche Kooperationen International Scientific Cooperations

Prof. Gasbarrini, Gemelli Klinik, Rom, Italien

Prof. Columbano, Toxikologisches Institut, Cagliari, Italien

Prof. Kowalsky, Semmelweis Universität, Budapest, Ungarn

EU-Projekte European Research Projects

Acronym, Förderkennzeichen, Laufzeit in Jahren (z.B. 2002 - 2005)

Stipendiaten/Stipendiantinnen Scholarship Holders

Askar, Eva, Scholarship Damascus University, Syria (10/07-10/10)

Bregadze, Rusudan, Research Scholarship German Academic Exchange Service (DAAD) (10/07- 8/08)

Firmenkooperationen Industrial Cooperations

Novartis, Basel

Astra, Wedel

Roche, Grenzach-Wyhlen

Merck, Darmstadt