

Zentrum Pharmakologie und Toxikologie

Abteilung Molekulare Pharmakologie (ab Okt. 2008 Pharmakologie)

Centre for Pharmacology and Toxicology

Department of Molecular Pharmacology (since Oct. 2008 Pharmacology)



Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Regulation der Transkription von Pankreasspezifischen Genen und β -Zellmasse
 - ▷ Regulation des Transkriptionsfaktors CREB durch Antidepressiva
 - ▷ Arzneimittel-induzierte Apoptose als Konsequenz der Hemmung von Ser/Thr Phosphatasen - Wirksamkeit in Zytostatika-resistenten Tumorzellen und potentielle Resistenzmechanismen gegen Phosphatasehemmstoffe
 - ▷ Kardiale Regeneration mit bioartifiziellem Herzgewebe
 - ▷ Entwicklung von in vitro Modellen für die Arzneimittelsicherheitsanalytik
 - ▷ Regulation of transcription of pancreas specific genes and β cell mass
 - ▷ Regulation of the Transcription Factor CREB by Antidepressants
 - ▷ Drug-Induced Apoptosis as Consequence of the Inhibition of Ser/Thr-Phosphatasen - Activity in resistant tumour cells and potential mechanisms of resistance against phosphatase inhibitors
 - ▷ Cardiac repair with tissue engineered myocardium
 - ▷ Development of in vitro models for drug safety assessment
-



Abteilungsdirektor Head of Department

Prof. Dr. med. Jürgen Brockmüller (komm. bis Okt. 2008)
 Prof. Dr. med. Wolfram-Hubertus Zimmermann (ab Okt. 2008)

Kontaktinformationen Contact

Abteilung Molekulare Pharmakologie
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN
 Robert-Koch-Straße 40, D-37075 Göttingen
 Telefon +49-551 / 39-5781, Fax +49-551 / 39-5699
 t.kulla@med.uni-goettingen.de
 www.pharmacology.med.uni-goettingen.de/

Hochschullehrer/innen Professors and Lecturers

+49-551 /

Brockmüller, Jürgen (bis Sept. 2008)	Prof. Dr. med.	j.brockmoeller@med.uni-goettingen.de	39-5311
Zimmermann, Wolfram-Hubertus (ab Okt. 2008)	Prof. Dr. med.	w.zimmermann@med.uni-goettingen.de	39-5781
Steinfelder, Hans Jürgen	Apl. Prof. Dr. med.	hsteinfe@med.uni-goettingen.de	39-5308

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen Other Group Leaders

Böer, Ulrike (bis Juli 2007)

Krätzner, Ralph (bis Februar 2007)

Oetjen, Elke	PD Dr. med.	eoetjen@med.uni-goettingen.de	39-5782
Didié, Michael	Dr. med.	m.didie@med.uni-goettingen.de	39-5777
Tiburcy, Malte	Dr. med.	m.tiburcy@med.uni-goettingen.de	39-5775

EINLEITUNG

Die Abteilung Molekulare Pharmakologie hat molekulare Mechanismen der Gentranskription vornehmlich, aber nicht ausschließlich, im Zusammenhang mit der Erkrankung Diabetes mellitus untersucht. Es wurden Signalketten charakterisiert, welche von der Zellmembran bis in den Zellkern reichen und dort Gene ein- oder ausschalten. Es wurde insbesondere untersucht, wie Arzneimittel mit diesen Mechanismen interferieren und so therapeutisch erwünschte oder unerwünschte Wirkungen erzielen. Zu den betrachteten Arzneimitteln zählen orale Antidiabetika, Immunsuppressiva wie Cyclosporin A und Tacrolimus sowie Antidepressiva. Weiterhin wurde in der Abteilung auf dem Gebiet der arzneimittelinduzierten Apoptose geforscht.

Ab Oktober 2008:

Die Abteilung Pharmakologie befasst sich mit klassisch pharmakologischen, aber auch gen- und zelltherapeutischen Ansätzen zur Behandlung schwerer Herzerkrankungen. Es ist das Ziel pathophysiologisch relevante Signalkaskaden zu identifizieren, im Tiermodell zu validieren und schließlich therapeutisch zu manipulieren. Auf der anderen Seite wird das therapeutische Potential von Stammzellen sowie von bioartifiziellem Herzgewebe untersucht. Neben klassischen embryonalen und adulten Stammzellen untersuchen wir das therapeutische Potential induzierter und parthenogenetischer Stammzellen. Die Verfügbarkeit von GMP-zertifizierten Reinraumlaboratorien wird eine klinische Umsetzung zelltherapeutischer Verfahren vereinfachen. Um Prozesse der Stammzellentwicklung besser zu verstehen, erforschen wir molekulare Regelkreise, die in der embryonalen Herzentwicklung von Bedeutung sind. Ein weiterer Schwerpunkt der Abteilung ist die Generierung und Anwendung bioartifizierender Gewebe in der Erforschung der Arzneimittelsicherheit. Eine wesentliche Nebenwirkung vieler Arzneimittel ist die Induktion von Herzrhythmusstörungen. Durch eine prä-klinische Anwendung künstlicher Herzgewebe als pharmakologisches Testsystem könnte dieses Gefährdungspotential bereits früh erkannt und damit die Arzneimittelentwicklung maßgeblich beeinflusst werden. Parallel werden Mechanismen der Muskeltoxizität von HMG-CoA-Reduktase-Hemmern an bioartifiziellem Skelettmuskel erforscht, ebenfalls mit der Absicht die Anwendung dieser weit verbreiteten Arzneimittelklasse sicherer zu machen.

PREFACE

The Department of Molecular Pharmacology investigated molecular mechanisms of gene transcription, mainly but not exclusively in the context of Diabetes Mellitus. Signalling cascades, connecting the plasma membrane with nuclear transcription factors, were analysed. Drugs interfering with these mechanisms were studied in order to explain their desired and undesired effects. Oral antidiabetic drugs, immunosuppressants like cyclosporine A and tacrolimus and antidepressive drugs were among the drugs investigated. In addition, drug-induced apoptosis was studied.

Since October 2008:

The Department of Pharmacology investigates pharmacological as well as gene- and cell-therapeutic approaches to treat malignant heart disease. The goal is to identify pathophysiologically relevant signalling cascades, validate them in animal models, and finally modulate them to achieve a therapeutic effect. Another main focus is the exploitation of the therapeutic potential of stem cells and bioartificial myocardium. In this context, embryonic and adult, but also novel induced and parthenogenetic stem cells are investigated, utilized to tissue engineer myocardium, and subsequently tested in pathophysiologically relevant animal models. The availability of GMP-approved clean rooms should facilitate the clinical translation of this research. These studies are complemented with the investigation of molecular signalling pathway, controlling physiological and pathological cardiac growth. Another research focus is the application of tissue engineered heart and skeletal muscle in drug development and drug safety assessment: (1) Arrhythmias are a common side-effect associated with many novel compounds; an early preclinical identification of potentially fatal side-effects would have a major impact on drug development. (2) Muscle toxicity is a common side-effect of HMG-CoA-reductase inhibitors; the aim is to understand the underlying molecular mechanisms and ultimately improve safety of the respective class of compounds.

1. Regulation der Transkription von Pankreasspezifischen Genen und β -Zellmasse

Die Peptidhormone Insulin und Glucagon sind wesentliche Regulatoren des Blutzuckerspiegels. Sie werden in unterschiedlichen Zelltypen der Pankreasinseln gebildet. Ihre Synthese, Sekretion und Wirkung ist bei Diabetes mellitus gestört. Eine vertiefte Kenntnis der Regulation der Gene, welche für diese Peptidhormone kodieren, bildet die Grundlage für ein verbessertes Verständnis der Blutzuckerregulation, der Volkskrankheit Diabetes mellitus und ihrer Therapiemöglichkeiten. Durch transiente Transfektionen in Zellkultur und *in vitro* Analysen von Protein-Protein Interaktionen konnten wir zeigen, dass Thiazolidindione, eine Klasse von oralen Antidiabetika, die Glucagongentranskription hemmen, indem sie an ihren Rezeptor, den Transkriptionsfaktor PPAR γ , binden und als Heterodimer mit dem Transkriptionsfaktor RXR α die Glucagongentranskription hemmen. Wesentlich für eine abgestimmte Regulation der Synthese und Sekretion der auf den Blutzucker gegensätzlich wirkenden Peptidhormone Insulin und Glucagon ist die Hemmung der Glucagon-Gentranskription und Sekretion durch Insulin. Im Rahmen der Entstehung einer diabetischen Stoffwechsellage sind Insulin- und Glucagonspiegel im Blut erhöht. Dieses deutet auf eine Insulinresistenz der Glucagon produzierenden α -Zellen hin. Wir konnten in einer α -Zelllinie und in primären Langerhans'schen Inseln zeigen, dass eine langfristige Insulinbehandlung die Insulin-induzierte Hemmung der Glucagongentranskription aufhebt. Ursächlich für diese Insulinresistenz

scheint der verstärkte Abbau des Insulinrezeptors zu sein. Entzündliche Zytokine, aber auch Arzneimittel können zu der Entwicklung des Diabetes mellitus beitragen, indem sie die Funktion oder die Masse der Insulin produzierenden β -Zellen vermindern. Wir konnten in einer β -Zelllinie und in primären Langerhans'schen Inseln von transgenen Mäusen zeigen, dass das Zytokin Interleukin-1 β die Insulingentranskription durch Verminderung der Aktivität des Transkriptionsfaktors MafA hemmt. Wir konnten ebenfalls in einer β -Zelllinie zeigen, dass die Kinase DLK die transkriptionelle Aktivität von CREB verminderte. Da CREB essentiell für die Aufrechterhaltung von Funktion und Masse von β -Zellen ist, kann dies einen neuen Mechanismus für die Entstehung von Diabetes darstellen. Tatsächlich verminderten die Immunsuppressiva Cyclosporin A und Tacrolimus, deren unerwünschte Wirkung u.a. die Entwicklung eines Posttransplantationsdiabetes ist, durch Aktivierung von DLK das Überleben einer β -Zelllinie.

1. Regulation of transcription of pancreas specific genes and β cell mass

The peptide hormones insulin and glucagon are essential regulators of blood glucose levels. They are synthesised within distinct cell types of pancreatic islets. In diabetes mellitus, their synthesis, secretion, and action are disturbed. Deep knowledge in the regulation of genes that determine these hormones forms the basis for a better understanding of blood glucose regulation of the pathophysiology of the endemic disease diabetes mellitus and therapy strategies. Using transient transfection assays and in vitro analysis we showed that thiazolidindiones, a class oral antidiabetic drugs, inhibited glucagon gene transcription by binding to their intracellular receptor PPAR γ heterodimerized with RXR α . Crucial for the coordinated synthesis and secretion of insulin and glucagon, which alter blood glucose levels in opposite ways, is the inhibition by insulin of glucagon gene transcription and secretion. During the pathogenesis of diabetes elevated plasma insulin and glucagon levels are found, suggesting an insulin resistance already at the level of the glucagon producing α -cell. Using an α -cell line and primary islets of Langerhans we showed that long-term treatment with insulin prevented insulin-induced inhibition of glucagon gene transcription. This lack seems to be due to an enhanced degradation of the insulin receptor. Proinflammatory cytokines and drugs may participate in the pathogenesis of diabetes mellitus. In a β -cell line and in primary islets of Langerhans of transgenic mice the cytokine interleukin-1 β inhibited human insulin gene transcription by reducing the transcriptional activity of MafA. The transcriptional activity conferred by another protein, CREB, was reduced by the kinase DLK. Given that CREB is essential for the maintenance of β -cell function and mass, our finding might represent a novel mechanism for the pathogenesis of diabetes. Indeed, the immunosuppressive drugs cyclosporin A and tacrolimus, known for their diabetogenic effect, induced apoptosis by activating DLK.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Ralph Krätzner (bis Februar 2007)

Dr. med. Elke Oetjen

Kooperationen Cooperations

L. B. Holzman, University of Michigan Medical School, Ann Arbor, MI, USA

R. Stein, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA

Drittmittelförderung Funding

DFG, Sonderforschungsbereich 402, bis 2006

DFG, Graduiertenkolleg 335, bis 2006

DDG Projektförderung 2005, bis Ende 2006

DDG Projektförderung 2007

Fritz Thyssen Stiftung für Wissenschaftsförderung, 2007 bis 2009

Institut Danone für Ernährung e. V., Forschungsförderung 2005 bis 2007

Habilitandinnenförderung 2006, 2006 bis 2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

González M, Böer U, Dickel C, Quentin T, Cierny I, Oetjen E, Knepel W (2008) Loss of insulin-induced inhibition of glucagon gene transcription in hamster pancreatic islet alpha cells by long-term insulin exposure. *DIABETOLOGIA*, 51(11): 2012-21.

Krätzner R, Fröhlich F, Lepler K, Schröder M, Röher K, Dickel C, Tzvetkov MV, Quentin T, Oetjen E, Knepel W (2008) A peroxisome proliferator-activated receptor gamma-retinoid X receptor heterodimer physically interacts with the transcriptional activator PAX6 to inhibit glucagon gene transcription. *Mol Pharmacol*, 73(2): 509-17.

Plaumann S, Blume R, Borchers S, Steinfelder HJ, Knepel W, Oetjen E (2008) Activation of the dual-leucine-zipper-bearing kinase and induction of beta-cell apoptosis by the immunosuppressive drug cyclosporin A. *Mol Pharmacol*, 73(3): 652-9.

Oetjen E, Blume R, Cierny I, Schlag C, Kutschenko A, Krätzner R, Stein R, Knepel W (2007) Inhibition of MafA transcriptional activity and human insulin gene transcription by interleukin-1beta and mitogen-activated protein kinase kinase in pancreatic islet beta cells. *DIABETOLOGIA*, 50(8): 1678-87.

Oetjen E, Lechleiter A, Blume R, Nihalani D, Holzman L, Knepel W (2006) Inhibition of membrane depolarisation-induced transcriptional activity of cyclic AMP response element binding protein (CREB) by the dual-leucine-zipper-bearing kinase in a pancreatic islet beta cell line. *DIABETOLOGIA*, 49(2): 332-42.

2. Regulation des Transkriptionsfaktors CREB durch Antidepressiva

Das basische-Region-Leucin-Zipper-Protein CREB ist der bestuntersuchte cAMP-abhängige Transkriptionsfaktor. Seine Aktivität wird auch durch Calcium-aktivierte und andere Signalwege reguliert. Es gibt gute Hinweise darauf, dass CREB langfristige Wirkungen vieler Medikamente vermitteln könnte, darunter die Immunsuppressiva Cyclosporin A und Tacrolimus sowie Antidepressiva. Antidepressiva heben bei Patienten eine depressive Verstimmung erst nach längerer Behandlung auf. Diese verzögert eintretende klinische Wirkung könnte molekular mit einem unter der Therapie langsam sich entwickelnden neuen Muster der Genexpression im Gehirn als Grundlage einer neuronalen Adaptation erklärt werden. Wir konnten an transgenen Mäusen zeigen, dass psychosozialer Stress die CRE/CREB-abhängige Gentranskription in mehreren Gehirnschnitten erhöhte. Mehrwöchige Behandlungen mit dem Antidepressivum Imipramin oder dem Phasenprophylaktikum Lithium reduzierte die durch den psychosozialen Stress hervorgerufenen CRE/CREB-abhängige Gentranskription. In Zellkultur konnten wir zeigen, dass eine kurzfristige Lithiumgabe direkt die durch cAMP stimulierte CREB-abhängige Gentranskription steigerte. Dieser Lithiumeffekt

wird durch den CREB Koaktivator TORC vermittelt. Weiterführende *in vitro* Untersuchungen zeigten, dass Lithium direkt die Interaktion zwischen TORC und CREB sowie zwischen den CREB Koaktivatoren TORC und CBP stabilisiert.

2. Regulation of the Transcription Factor CREB by Antidepressants

The basic region-leucine zipper protein CREB is a well established cAMP-dependent transcription factor. Its activity is also regulated by calcium-activated and other signalling pathways. Several lines of evidence suggest that CREB may mediate long-term effects of several drugs, including immunosuppressants like cyclosporine A and tacrolimus as well as antidepressants. Antidepressant therapy is known to be associated with a lag phase before the onset of the clinically beneficial effects consistent with slow onset adaptive changes that can be viewed as drug-induced neuronal plasticity and may be based, at the molecular level, on drug-induced changes in gene expression. Using transgenic mice we showed that psychosocial stress enhanced CREB-dependent gene transcription in several brain regions. Treatment of mice for three weeks either with the antidepressant imipramine or the mood stabilizer lithium reversed the elevated CREB transcriptional activity elicited by psychosocial stress. Using transfection assays in cell lines we showed that short term incubation with lithium enhanced CREB-directed transcription stimulated by cAMP. This effect of lithium was conferred by the newly identified co-activator of CREB, TORC. Subsequent *in vitro* studies demonstrated that lithium directly enhanced the interaction between CREB and TORC and between the CREB coactivators TORC and CBP.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. rer. nat. Ulrike Böer (bis Juli 2007)

Dr. med. Elke Oetjen

Kooperationen Cooperations

G. Flügge, Deutsches Primatenzentrum, Göttingen

C. Schöfl, Universität Erlangen

C. Hiemke, Universität Mainz, Mainz

G. Mayr, UKE Hamburg

Drittmittelförderung Funding

DFG, Sonderforschungsbereich 402, bis 2006

DFG, Graduiertenkolleg 335, bis 2006

Habilitandinnenförderung 2006, 2006 bis 2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Böer U, Cierny I, Krause D, Heinrich A, Lin H, Mayr G, Hiemke C, Knebel W (2008) Chronic lithium salt treatment reduces CRE/CREB-directed gene transcription and reverses its upregulation by chronic psychosocial stress in transgenic reporter gene mice. *NEUROPSYCHOPHARMACOL*, 33(10): 2407-15.

Böer U, Alejel T, Beimesche S, Cierny I, Krause D, Knebel W, Flügge G (2007) CRE/CREB-driven up-regulation of gene expression by chronic social stress in CRE-luciferase transgenic mice: reversal by antidepressant treatment. *PLoS ONE (Online-Journal)*, 2(5): e431.

Böer U, Egilins J, Krause D, Schnell S, Schöfl C, Knebel W (2007) Enhancement by lithium of cAMP-induced CRE/CREB-directed gene transcription conferred by TORC on the CREB basic leucine zipper domain. *BIOCHEM J*, 408(1): 69-77.

3. Arzneimittel-induzierte Apoptose als Konsequenz der Hemmung von Ser/Thr-Phosphatasen - Wirksamkeit in Zytostatika-resistenten Tumorzellen und potentielle Resistenzmechanismen gegen Phosphatasehemmstoffe

Natürliche Hemmstoffe der Ser/Thr-Phosphatasen PP1 und PP2A waren in Tumorzellen, die durch diverse Mechanismen eine Resistenz gegen klassische Zytostatika zeigten, in sehr unterschiedlichem Ausmaß in ihrer pro-apoptotischen Potenz eingeschränkt. Daher ist vorstellbar, dass durch kalkulierte Wahl aus strukturell verschiedenen Hemmstoffen auch in anderweitig resistenten Zellen über diesen Wirkmechanismus eine Apoptose zu erreichen ist. Darüber hinaus wurde auf Genexpressions- wie Funktionsebene versucht, potentielle Resistenzmechanismen gegen die natürlichen Phosphatasehemmstoffe zu charakterisieren. Parallel wurde das pro-apoptotische Potential synthetischer Phosphatasehemmstoffe aus einer Gruppe von verwandten Stoffen bzw. Derivaten des Nitrostyrols (Synthese durch das Labor von Prof. Eger, Pharmazeutische Chemie, Universität Leipzig) in Multi-Drug-resistenten bzw. durch Überexpression von anti-apoptischen Proteinen in apoptosedefizienten Tumorzellen überprüft. In Kooperation mit Dr. C. Ziemann (Genetische Toxikologie, Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin Hannover) wurden die zentralen Mechanismen der Zytotoxizität von Nitrostyrol und seinen Derivaten weitergehend charakterisiert.

3. Drug-Induced Apoptosis as Consequence of the Inhibition of Ser/Thr-Phosphatases - Activity in resistant tumour cells and potential mechanisms of resistance against phosphatase inhibitors

Natural inhibitors of ser/thr-phosphatases PP1 and PP2A varied distinctly in their potency to induce apoptosis in multi-drug-resistant tumour cells. Therefore, it appeared reasonable to assume that by calculated choice between structurally divergent inhibitors it remains possible to induce apoptosis by phosphatase inhibition in otherwise drug-resistant tumour cells. In addition, it was attempted to characterize mechanisms of potential resistance towards natural phosphatase inhibitors by expression and functional screening. In parallel, the pro-apoptotic potential of synthetic phosphatase inhibitors derived from nitrostyrene (synthesis in the lab of Prof. Eger, Pharmaceutical Chemistry, University of Leipzig) was investigated in multi-drug-resistant cells or tumour cells made apoptosis-deficient by over-expression of anti-apoptotic proteins. In cooperation with Dr. C. Ziemann (Genetic Toxicology, Fraunhofer Institute of Toxicology and Experimental Medicine Hannover) the central mechanisms of nitrostyrene induced cytotoxicity was investigated in more detail.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Hans Jürgen Steinfeldler

Kooperationen Cooperations

K. Eger, Pharmazeutisches Institut, Universität Leipzig

C. Ziemann, Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin Hannover

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Ziemann C, Riecke A, Rüdell G, Oetjen E, Steinfeldler HJ, Lass C, Kahl GF, Hirsch-Ernst KI (2006) The role of prostaglandin E receptor-dependent signaling via cAMP in Mdr1b gene activation in primary rat hepatocyte cultures. *J PHARMACOL EXP THER*, 317(1): 378-86.

Schweyer S, Bachem A, Bremmer F, Steinfeldler HJ, Soruri A, Wagner W, Pottek T, Thelen P, Hopker WW, Radzun HJ, Fayyazi A (2007) Expression and function of protein phosphatase PP2A in malignant testicular germ cell tumours. *J PATHOL*, 213(1): 72-81.

Werner JM, Eger K, Jürgen Steinfeldler H (2007) Comparison of the rapid pro-apoptotic effect of trans-beta-nitrostyrenes with delayed apoptosis induced by the standard agent 5-fluorouracil in colon cancer cells. *APOPTOSIS*, 12(1): 235-46.

Werner JM, Steinfeldler HJ (2008) A microscopic technique to study kinetics and concentration-response of drug-induced caspase-3 activation on a single cell level. *J Pharmacol Toxicol*, 57(2): 131-7.

Plaumann S, Blume R, Borchers S, Steinfeldler HJ, Knepel W, Oetjen E (2008) Activation of the dual-leucine-zipper-bearing kinase and induction of beta-cell apoptosis by the immunosuppressive drug cyclosporin A. *Mol Pharmacol*, 73(3): 652-9.

4. Kardiale Regeneration mit bioartifiziellem Herzgewebe

Herzinfarkt und Herzinsuffizienz zählen zu den weltweit häufigsten Todesursachen. Klassische pharmakologische wie auch interventionelle Therapieansätze haben zu einer deutlichen Reduktion der Akut-, aber nicht zu einer Verminderung der Langzeit-Morbidität und Mortalität beigetragen. Ursächlich für dieses Dilemma ist die Unfähigkeit des Herzmuskels zur Eigenreparatur. Als neuer reparativer Ansatz wird daher die Implantation von Herzmuskelzellen, abgeleitet aus Stammzellen, propagiert. Obgleich es bei diesem Ansatz scheinbar mittelfristig zu einer leichten Verbesserung der Herzfunktion kommt, sind die Belege für einen echten Herzmuskelaufbau wenig überzeugend. Erschwert wird die kardiale „Zelltherapie“ durch den Verlust implantierter Zellen einerseits durch Zelltod und andererseits durch eine mangelhafte Ansiedlung im defekten Myokard. Die Anwendung von bereits im Labor generiertem und strukturell wie funktionell charakterisiertem bioartifiziellem Herzgewebe soll es ermöglichen, neue größere Muskelelemente passgenau in defektes Myokard zu integrieren. In Vorarbeiten an den Pharmakologischen Instituten der Universitäten Erlangen-Nürnberg und Hamburg konnten wir bereits zeigen, dass dies prinzipiell möglich ist (u.a. Zimmermann et al. 2006, *Nat Med*). Ein Schwerpunkt liegt nun in der Entwicklung humaner und zugleich immunologisch „passender“ Gewebeimplantate zur Anwendung als partieller Herzwandersatz (z.B. nach Herzinfarkt), zur Rekonstruktion kompletter Herzanteile (z.B. bei kongenitalen Herzfehlbildungen) oder zur globalen Unterstützung insuffizienten Myokards (z.B. bei dilatativer Kardiomyopathie). Neben embryonalen und adulten Stammzellen untersuchen wir ebenfalls das Potential induzierter und parthenogenetischer Stammzellen, um Abstoßungsprozesse zu umgehen. Ein Schritt in diese Richtung wäre z.B. der Aufbau einer HLA-typisierten Stammzellbank. Parallel zum reinen Muskelerersatz befassen wir uns mit der

Bereitstellung von therapeutischen parakrinen Faktoren, u.a. zur Induktion von Gefäßwachstum und Schutz vor Apoptose entweder über native oder genetisch manipulierte Zellen.

Die Herstellung bioartifizierlicher Herzgewebe aus Stammzellen setzt ein tiefes Verständnis der kardialen Entwicklungsbiologie voraus. In diesem Zusammenhang werden Moleküle erforscht, die einerseits kardiale Vorläuferzellen markieren und andererseits als potentieller „kardiogener Schalter“ fungieren könnten (u.a. Isl1).

4. Cardiac repair with tissue engineered myocardium

Myocardial infarction and heart failure constitute the main cause of death throughout the world. Innovations in pharmacological and interventional therapy have reduced acute, but did not affect long-term morbidity and mortality. The reason for this dilemma is the lack of regenerative capacity in heart muscle. This is why implantation of heart cells, derived from stem cells, has gained significant attention as a potentially reparative approach. Sustained reparative effects of cardiac cell therapy have not been observed so far, despite some evidence for a short-term improvement of myocardial performance. High cell death and low cell retention are considered as the main limitations of this approach. This is why we focus on tissue engineering of structurally and functionally defined heart tissue *in vitro*, and its subsequent implantation *in vivo*. Previous work of the group at the Institutes of Pharmacology at the Universities of Erlangen-Nuremberg and Hamburg provided proof-of-concept for this approach (e.g. Zimmermann et al. 2006, *Nat Med*). A main research focus of our group is to advance tissue engineering concepts to generate human and immunologically suitable graft material for partial heart repair (e.g. after myocardial infarction), myocardial reconstruction (e.g. in patients with cardiac malformations), and global heart support (e.g. in patients with dilative cardiomyopathy). Embryonic and adult stem cells, as well as novel induced and parthenogenetic stem cells to circumvent immunological complications, are within the focus of our research efforts. A step towards clinical translation would be the establishment of a HLA-characterized stem cell bank. In parallel to our efforts to re-muscularize a failing heart, we aim at allocating therapeutic paracrine factors (e.g. to induce vascularization or provide protection from apoptosis) via naïve or genetically enhanced cells.

The generation of bio-artificial myocardium from stem cells requires a deep understanding of cardiac developmental biology. We consequently aim at identifying molecules, that on the one hand mark cardiac progenitor cells and on the other hand could function as “cardiogenic-switch” (such as Isl1).

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Wolfram-Hubertus Zimmermann

Dr. Michael Didié

Kooperationen Cooperations

T. Eschenhagen, Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Hamburg

E. Wettwer, U. Ravens, Institut für Pharmakologie, Dresden

A. Schwörer, H. Ehmke, Institut für Vegetative Physiologie, Hamburg
 M. Rubart, L. J. Field, Krannert Research Institute, Indianapolis, USA
 G. Keller, McEwen Center for Regenerative Medicine, Toronto, Canada
 I. Kehat, L. Gepstein; Technion, Haifa, Israel
 R. Zweigert, A-Star, Singapur
 M. Mayr, Kings College, London
 D.W. Han, H. Schöler, MPI für Molekulare Biomedizin, Münster
 T. Böttger, T. Braun, MPI für Herz- und Lungenforschung, Bad Nauheim
 T. Knöpfel, RIKEN Brain Research Institute, Saitama, Japan
 Q. Lin, M. Zenke, Zellbiologie am Helmholtz-Institut für Biomedizinische Technik, Aachen

Drittmittelförderung Funding

BMBF 01GN0520, 2005-2009

DFG, ZI 708/7-1, 2008-2011

DFG FOR, ZI708/8-1, 2008-211

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G, Didié M, Naito H, Nixdorff U, Hess A, Budinsky L, Brune K, Michaelis B, Dhein S, Schwoerer A, Ehmke H, Eschenhagen T (2006) Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat Med* 12:452-458.

Zimmermann WH, Didié, Döker S, Melnychenko I, Naito H, Rogge C, Tiburcy M, Eschenhagen T (2006) Heart Muscle Engineering: An Update on Cardiac Muscle Replacement Therapy. *Cardiovasc Res*. 71:419-429.

Naito H, Melnychenko I, Didié M, Schneiderbanger K, Schubert P, Eschenhagen T, Zimmermann WH (2006) Optimizing Engineered Heart Tissue for Therapeutic Applications as Surrogate Heart Muscle. *Circulation* 114:172-78.

Zimmermann WH, Eschenhagen T (2007) Embryonic stem cells for cardiac muscle engineering. *Trends Cardiovasc Med*. 17:134-140.

Yildirim Y, Naito H, Didié M, Chandapillai Karrikineeth B, Biermann D, Eschenhagen T, Zimmermann WH (2007) Development of a Biological Ventricular Assist Device (BioVAD): Preliminary Data from a Small Animal Model. *Circulation* 116:116-23.

5. Entwicklung von in vitro Modellen für die Arzneimittelsicherheitsanalytik

Arzneimittelnebenwirkungen sind wesentliche Morbiditäts- und Mortalitätsfaktoren. Ein frühes Erkennen von gefährlichen Nebenwirkungen ist - genauso wie ein Verständnis der zugrunde liegenden molekularen Mechanismen - für die Bereitstellung sicherer und zugleich effektiver Arzneimittel von entscheidender Bedeutung. Herzrhythmusstörungen, ausgelöst z.B. durch die Blockade von HERG-Kaliumkanälen, sind häufig und können tödlich sein. Dies hat dazu geführt, dass alle neuen Arzneimittel bezüglich dieser Nebenwirkung getestet werden müssen. Je früher ein relevantes Testergebnis vorliegt, umso besser lassen sich Entscheidungen über eine Weiterentwicklung im Rahmen (prä)klinischer Testungen treffen. Menschliche künstliche Herzgewebe lassen sich hier vermutlich als Testsystem verwenden. Zugleich bietet sich durch die Anwendung von Stammzellen aus Patienten mit genetischen Defekten die Möglichkeit, (Neben-)Wirkungen von Arzneimitteln auch vor dem Hintergrund definierter Molekülstörungen zu untersuchen (Gen-Funktionsbeziehungen). Damit lässt sich die Therapie einerseits sicherer und auf der anderen Seite individueller (d.h. krankheitsangepasst) gestalten.

HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (so genannte Statine) senken LDL-Cholesterin und gehören zu den am häufigsten verschriebe-

nen Medikamenten. Statine zeigen Dosis-abhängig muskeltoxische Effekte, die in maximaler Ausprägung bis hin zu einer Rhabdomyolyse führen können. Die zugrunde liegenden Mechanismen sind weitestgehend unklar. Nach Entwicklung eines bioartifizialen Skelettmuskelmodells versuchen wir auf der einen Seite Konzentrations-Nebenwirkungs-Beziehungen unterschiedlicher Statine zu beschreiben und dann schließlich die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen zu identifizieren. Unsere bisherigen Befunde deuten auf eine erhöhte Apoptoseeignung durch einen gestörten intrazellulären Calciumhaushalt hin.

5. Development of in vitro models for drug safety assessment

Unwanted drug effects contribute significantly to morbidity and mortality. An early (pre-clinical) identification of serious side-effects as well as an understanding of the underlying molecular mechanisms are essential for the development of safe and effective drugs. Arrhythmias, e.g. caused by blockade of HERG-potassium channels, are common and potentially deadly side-effects of numerous drugs. This is why every drug has to be screened for its potential to induce fatal arrhythmias. We anticipate that human engineered heart muscle will facilitate drug toxicity and side-effect screening (Long-QT-Screen). In addition, utilization of human stem cells with genetic alterations will enable the identification of (side-)effects in the context of a disease-associated molecular alteration. This will not only improve individual drug treatment, but may also help to decipher gene-function relationships.

HMG-CoA-reductase inhibitors (statins) lower LDL-cholesterol and are widely prescribed. Statin treatment is associated with dose-dependent muscle-toxicity, which can lead to rhabdomyolysis and associated mortality. The underlying mechanisms that lead to muscle destruction are largely unknown. We developed a tissue engineered skeletal muscle system to facilitate the identification of statin-related toxicity. Preliminary data suggest that increased apoptosis under statin treatment may be the consequence of pathological intracellular calcium-handling.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Wolfram-Hubertus Zimmermann

Dr. Malte Tiburcy

Kooperationen Cooperations

E. Weltwer, U. Ravens, Institut für Pharmakologie, Dresden

T. Braun, MPI für Herz- und Lungenforschung, Bad Nauheim

Anhang Appendix

Habilitationen

Oetjen E, Hemmung des Transkriptionsfaktors CREB in der pankreatischen -Zelle ein molekularer Mechanismus der diabetogenen Wirkung der Immunsuppressiva Cyclosporin A und Tacrolimus. Habilitation Universität Göttingen 2008.

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

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

Kutschenko A, Dr. med., Wirkung von reaktiver Sauerstoffspezies auf die Calcineurin - Phosphatase, Dual-Leucine-Zipper-Bearing-Linase (DLK), Insulingentranskription und Vitalität einer pankreatischen β -Zelllinie. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Plaumann S, Dr. med., Wirkung des Immunsuppressivums Cyclosporin A und der Dual-Leucine-Zipper-Bearing Kinase auf

Dibaj P, Dr. med., Untersuchungen zur Funktion von Domänen des Transkriptionsfaktors Pax6 mit Hilfe des GAL4-Systems. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Barth S, Dr. med., Analyse von Okadasäure-resistenten GH3-Tumorzellen mittels der Technik des Differential Display. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Lauer Y, Dr. med., Bedeutung einzelner Domänen des Transkriptionsfaktors CREB für die Hemmung der CREB-Aktivität durch das Immunsuppressivum Cyclosporin A. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Schlag C, Dr. med., Untersuchungen zum Mechanismus der Hemmung der stimulierten CRE/CREB-vermittelten Gentranskription durch die MEK-Kinase 1. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Tezval H, Dr. med., Development of different CRF receptor ligands using chimeric approach. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Wagner E, Dr. med., Apoptoseinduktion in GH3-Zellen durch den Serin/Threonin-Phosphatasehemmer Cantharidinsäure. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Werner J, Dr. med., Etablierung fluoreszenzmikroskopischer Techniken zur Evaluierung der proapoptischen Wirkung der experimentellen Verbindung Nitrotyrol und des etablierten Zytostatikums 5-FU in Kolonkarzinomzellen. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere)

Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)

Grapp M, Dr. rer. nat., Molekulare Mechanismen der Regulation der Glukagon-Gentranskription durch die Pax6-Homöodomäne. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Matsiulka A, Dr. rer. nat., Die Regulation des in die Insulin-abhängige Glukagongentranskription involvierten transkriptionellen Aktivators CBP durch die Glykogen-Synthase-Kinase-3 Beta. Dissertation Universität Göttingen 2007.

González Aguirre M, Dr. rer. nat., Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Glucagon-Producing Alpha Cells. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Jakimenko A, Dr. rer. nat., Localization and dimerization of the ABC half transporter rAbcb7 as compared to rAbcb7. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Diplom- und Masterarbeiten Diploma and Master Theses

Dickinson H, Dipl.-Biol., Identifizierung von Phosphorylierungsstellen der Mitogen-aktivierten Proteinkinase-Kinase-1 innerhalb der KIX-Domäne (CREB-Interaktionsdomäne) des CREB-Koaktivators CBP. Diplomarbeit Universität Göttingen 2006.

Heinrich A, Dipl.-Biol., Effect of the mood stabilizer Lithium on the interaction between the transcription factor CREB and its coactivator TORC as revealed by a cell-free assay system. Diplomarbeit Universität Göttingen 2006.

Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

Prof. Dr. W.-H. Zimmermann:

Co-organizer: Feb. 2008, 6th Dutch-German Meeting (Molecular Cardiology Working Groups of German and Dutch Societies of Cardiology), Amsterdam

Preise und Auszeichnungen Prizes and Awards

Prof. Dr. W.-H. Zimmermann:

2007, Dr. Martini Preis

2007, Hengstberger-Stipendium, vergeben durch die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie

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

Prof. Dr. W.-H. Zimmermann

Sprecher, Arbeitsgruppe 8 „Genetik und Molekularbiologie kardiovaskulärer Erkrankungen“ der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DGK)

Mitglied Kommission für Experimentelle Kardiologie der DGK

Mitglied in Fachgesellschaften:

Deutsche Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie (DGPT)

Deutsche Gesellschaft für Kardiologie (DGK)

American Heart Association (AHA)

European Society of Cardiology (ESC)

Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society (TERMIS)

International Society for Heart Research (ISHR)

Member of Editorial Board:

Journal of Molecular and Cellular Cardiology (JMCC)

Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Prof. Dr. W.-H. Zimmermann

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)

Singapore BioMedical Research Council (BMRC)

Schweizerischer Nationalfonds (SNF)

Dutch Technology Foundation (STW/NWO)

Wiener Wissenschafts-, Forschungs- und Technologiefonds (WWTF)

Israel Science Foundation (ISF)

BioMedicalMaterials (BMM, Holland)

u.a.

Nature Biotechnology, Nature Protocols, Nature Medicine, Circulation, Circulation Research, Cardiovascular Research, FASEB J, J Physiol, Am J Physiol, European Journal of Heart Failure, European Heart Journal, Acta Biomaterialia, J Appl Physiol, Journal of Nanotechnology, Future Cardiology, Future Medicine, Differentiation, Basic Res Cardiol, Biotechnol Appl Biochem, Bio-Techniques, Expert Review of Medical Devices, Regenerative Medicine, Tissue Engineering, Proteomics, Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Antioxidants and Redox Signalling u.a.

Herausgebertätigkeit Editorial Work

Prof. Dr. W.-H. Zimmermann

Editorial Board - Journal of Molecular and Cellular Cardiology

Internationale wissenschaftliche Kooperationen

International Scientific Cooperations

M. Rubart, L. J. Field, Krannert Research Institute, Indianapolis, USA

S. Kattman, G. Keller, McEwen Center for Regenerative Medicine, Toronto, Kanada

I. Kehat, L. Gepstein, Technion, Haifa, Israel

R. Zweigert, A-Star, Singapur (seit 2009 MHH)

T. Knöpfel, RIKEN Brain Science Institute, Saitama, Japan

M. Mayr, Kings College, London

Fakultätsinterne Förderung Internal Faculty Funding

Frauenförderung, Heidenreich von Siebold-Programm 2006, „Entwicklung einer Dysfunktion der pankreatischen Beta-Zelle durch den Transkriptionsfaktor CREB hemmende Signale“ (Elke Oetjen)

Stipendiaten/Stipendiantinnen Scholarship Holders

Phu Do Thanh, MOET-DAAD, Oktober 2006 bis März 2010

Annette Heinrich, Georg-Christoph-Lichtenberg-Stipendium, April 2006 bis Dezember 2008