

TransLimm

Center for TransLational Immunology

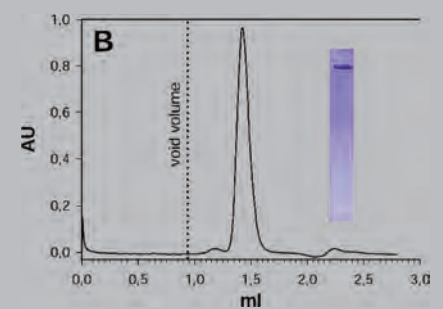
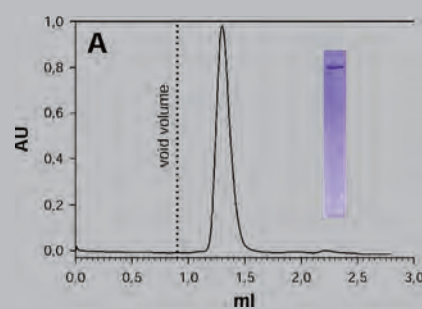


“Vom Labor
in die Klinik”

Tübingen - 2010

“From Bench.....

.....to Bedside”





Glucose-Oxidase (GOD)-Test zur Bestimmung der Glucose-Konzentration während der Herstellung eines rekombinanten Antikörpers in der Zellkultur.



(A) Synthetisches Peptid zur patientenindividualisierten Immuntherapie hergestellt im Wirkstoffpeptid-Labor der Abt. Immunologie der Eberhard Karls Universität.
(B) Erster therapeutischer Antikörper aus der Produkt-Pipeline der Sektion für Experimentelle Antikörpertherapie hergestellt in der GMP-Produktionseinheit der Eberhard Karls Universität Tübingen.



(A) Analyse eines an der Eberhard Karls Universität Tübingen produzierten, gentechnisch optimierten anti-Leukämie Antikörpers.
(B) Vergleich mit einem zugelassenen, konventionellen Antikörper.

TransLimm Center for TransLational Immunology

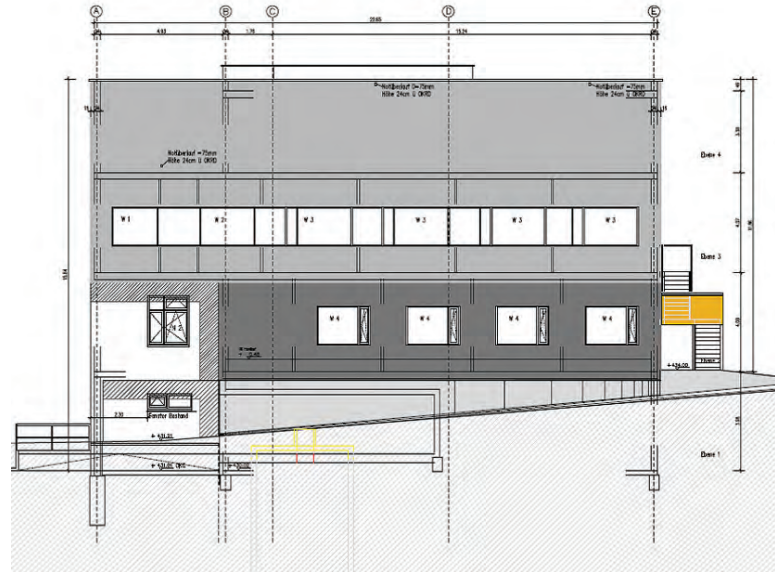


Abb. 1



Abb. 2

Patientenindividuelle Impfstoffe gegen Krebserkrankungen können bald im universitätseigenen GMP-Zentrum hergestellt werden.

Abb. 1 zeigt den Bauplan des sich derzeit noch im Innenausbau befindlichen "GMP-Zentrums für patientenindividuelle Substanzen" der Universität Tübingen. Abb. 2 zeigt den momentanen Stand des Gebäudes kurz vor Fertigstellung. Im Sommer 2010 wird das GMP-Gebäude bezugsfertig sein.

Das "GMP-Zentrum für patientenindividuelle Substanzen" gibt es in dieser Form an keiner anderen Universität und ist weltweit einmalig!

Inhaltsverzeichnis

Grußworte.....	3
Vorwort.....	4
Struktur von TransLimm.....	8

Projektleiter/innen Grundlagenforschung

Drews, Gisela.....	26
Garaschuk, Olga.....	56
Gouttefangeas, Cecile.....	20
Gückel, Brigitte.....	18
Jung, Gundran.....	30
Kontermann, Roland.....	60
Maček, Boris.....	16
Nürnberg, Bernd.....	12
Pawelec, Graham.....	28
Pfizenmaier, Klaus.....	46
Rammensee, Hans-Georg.....	34
Schwab, Matthias.....	50
Stevanović, Stefan.....	70
Wesselborg, Sebastian.....	62
Wiesing, Urban.....	74

Projektleiter/innen klinische Forschung

Bauer, Peter.....	54
Fend, Falko.....	24
Quintanilla-Martínez de Fend, Leticia.....	24
Feuchtinger, Tobias.....	72
Garbe, Claus.....	22
Gawaz, Meinrad.....	52
Handgretinger, Rupert.....	58
Kopp, Hans-Georg.....	32
Königsrainer, Alfred.....	10
Lang, Peter.....	58
Pichler, Bernd.....	14
Riess, Olaf.....	54
Röcken, Martin.....	48
Salih, Helmut.....	40

Firmen

CureVac GmbH.....	42
EMC microcollections GmbH.....	44
Höller & Hüttner AG.....	68
immatics biotechnologies GmbH.....	38

Kompetenzzentren

GK 794.....	36
GK 1302.....	66
SFB 685.....	34
SFB 773.....	64

Forschungsverbünde

Genome Center.....	54
ICEPHA.....	12, 50
Preclinical Molecular Imaging.....	14
Proteom Centrum Tübingen.....	16

Publikationen.....	76
Impressum.....	84

TransLimm

Center for TransLational Immunology



Meine sehr geehrten Damen und Herren,

die Eberhard Karls Universität Tübingen ist stolz auf ihre exzellente immunologische Forschung und sieht das Netzwerk **TransLimm** als ein herausragendes Alleinstellungsmerkmal der Universität. Das Netzwerk dient zum einen dazu, grundlagenwissenschaftliche Erkenntnisse in die klinische Anwendung zu bringen. Zum anderen sollen Fragestellungen aus der klinischen Beobachtung heraus neue Ideen und Hypothesen in der Grundlagenforschung generieren.

Translationale Forschungsansätze haben für unsere Universität generell eine große Bedeutung. Im Netzwerk **TransLimm** führen sie nicht nur zur Entwicklung neuer Produkte und innovativer Therapieformen, sondern sie befördern auch wirtschaftliche Entwicklungschancen durch die Ausgründung von Unternehmen aus der Universität. Hierfür gibt es bereits sehr erfolgreiche Beispiele.

Ein weiterer wichtiger Schritt ist die im Sommer 2010 erfolgende Inbetriebnahme des „GMP-Zentrums für patientenindividuelle Substanzen“, eine universitäre Einrichtung für Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler und ihre klinischen Partner. **TransLimm** nutzt dieses GMP-Zentrum, um weltweit erstmals patientenindividuelle Impfstoffe gegen Krebserkrankungen herzustellen.

Abschließend möchte ich allen Dank sagen, die das Netzwerk **TransLimm** mit großem Engagement ins Leben gerufen haben und weiterhin auf Erfolgskurs halten.

Professor Dr. Bernd Engler
Rektor der Eberhard Karls Universität Tübingen

Liebe Leserinnen und Leser,

Die Immunologie ist seit langem einer der erfolgreichsten und stärksten Forschungsschwerpunkte der Medizinischen Fakultät. Die molekularen Grundlagen der Immunologie, die angeborene wie die adaptive Immunologie, die Tumorimmunologie und die Infektionsimmunologie sind wissenschaftlich vertreten und bilden die Grundlagen des Konzepts des „Centers for Translational Immunology“, kurz **TransLimm**.

Das Immunsystem ist bei sehr vielen Krankheiten beteiligt. Obgleich große Erfolge in der Grundlagenforschung der Immunologie weltweit erzielt wurden, sind viele klinische Probleme nicht gelöst: insbesondere für Infektionskrankheiten, Krebserkrankungen, Allergien und inflammatorische Krankheiten werden neue therapeutische Ansätze gesucht.

Das Ziel unseres hochkarätig besetzten „Centers for Translational Immunology“ ist visionär: adaptive und nicht-adaptive Immunabwehr, Tumorimmunologie, Impfstoff- und Antikörperentwicklung und -therapie sowie die innovative, weltweit einzigartige Strategie der „Individualisierten Immuntherapie“ sollen einen entscheidenden Durchbruch bei der Behandlung von Krebserkrankungen erbringen.

Die Voraussetzungen dafür könnten nicht besser sein: Die effektive Verbindung von exzellenter Grundlagenforschung und klinischer Forschung – translationale Forschung – wird in unserer Fakultät in enger Verbindung mit dem Universitätsklinikum Tübingen seit Jahren gefördert und gelebt.

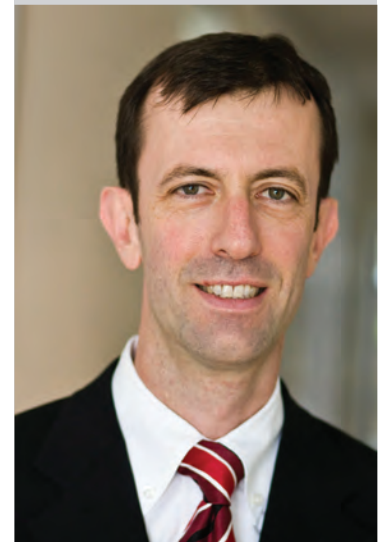
Im Bereich der Impfstoffentwicklung sind durch Ausgründungen aus der Abteilung Immunologie von Prof. Rammensee in Kooperation mit den klinischen Abteilungen Klinische Phase I- und II-Studien durchgeführt und vielversprechende Erfolge erzielt worden. Wenn es gelingt, die Grundlagenforschung weiterhin konsequent in erfolgreiche klinische Anwendungen umzusetzen, werden sich nachhaltige Entwicklungen mit großem Nutzen für die Gesellschaft ergeben.

Unsere exzellente Forschungsinfrastruktur mit starken Facilities für Genomics, Transcriptomics und Proteomics, Imaging sowie das in Deutschland einzigartige GMP-Zentrum zur Herstellung innovativer Moleküle ebnet uns den Weg, um **TransLimm** als internationales Zentrum und Kooperationspartner für in- und ausländische universitäre und außeruniversitäre Forschungsinstitutionen sowie Pharmaunternehmen zu profilieren.

Das Immunsystem besitzt selbst die Fähigkeit, Tumoren zu erkennen und gezielt zu zerstören. Dieses Potential selektiv zu nutzen und daraus Medikamente und Therapieformen zu entwickeln und klinisch umzusetzen, ist ein hochgestecktes und lohnendes Ziel. Wissenschaftler und Ärzte von **TransLimm** sind auf dem besten Weg dorthin.



Prof. Dr. med. Ingo B. Autenrieth
Dekan Medizinische Fakultät





Vorwort

Das Zentrum für Translationale Immunologie „TransLimm“

Unsere Mission ist es, Ergebnisse aus einer exzellenten immunologischen Grundlagenforschung in die Klinik zu transferieren, um innovative Wege in der Therapie beschreiten zu können. Unsere Bestrebungen sollen dazu dienen, den Graben zwischen Grundlagenforschung und klinischer Anwendung zu überwinden, der heute durch viele logistische Probleme sehr tief geworden ist (s. auch: Butler D. Translational research: crossing the valley of death. Nature. 2008 453(7197):840-2).

Brücken bauen für eine Medizin von Morgen:

Das Netzwerk **TransLimm** wurde initiiert, um möglichst rasch und effektiv das erworbene Wissen aus der immunologischen Grundlagenforschung unmittelbar in die Behandlung von Tumor- und Autoimmunerkrankungen einfließen zu lassen. Durch die Verbindung von exzellenter Grundlagenforschung mit der klinischen Anwendung wollen wir vor allem die Bereiche Vakzinierungen/Impfstoffentwicklung und die Immuntherapie mit innovativen Substanzen (synthetische Peptide, RNA) und mit Bestandteilen des Immunsystems (Zytokine, Antikörper, Zellen) zielgerichtet vorantreiben. Das Immunsystem besitzt im Prinzip die Fähigkeit zur gezielten Erkennung und Zerstörung bösartiger Tumoren. Wenn es gelingt, diese Fähigkeit zu nutzen, versprechen Immuntherapien in der Zukunft effiziente und den Standardtherapien überlegene Verfahren für die Behandlung von Krebserkrankungen zu werden.

Andererseits kann das Immunsystem aber auch irrtümlich Angriffe auf körpereigene Zellen und Strukturen ausführen und diese dadurch zerstören. Dieser Prozess kann zu Autoimmunerkrankungen führen. Etwa 60 Autoimmunerkrankungen sind derzeit bekannt. Hierzu gehören zum Beispiel die rheumatische Arthritis oder die Multiple Sklerose. Bisher gibt es nur unzureichende Medikamente bzw. Therapieformen, mit denen Autoimmunerkrankungen erfolgreich behandelt werden können.

Translationale Forschung bedeutet für uns, dass Kliniker und Grundlagenforscher eng miteinander zusammenar-

beiten. Dies ist in Tübingen besonders gut möglich, da sich exzellente Grundlagen- und innovative klinische Forschung in direkter räumlicher Nachbarschaft befinden. Wissenschaftler entwickeln auf der einen Seite neue Ansätze und Methoden im Labor mit dem Ziel, diese auch in die „Klinik“ übertragen zu können. Ärzte geben auf der anderen Seite klinische Beobachtungen von behandelten Patienten zurück in das Labor und sorgen damit für eine direkte Rückmeldung, die zu neuen Denkanstößen in der Grundlagenforschung und zu neuen Therapieprinzipien führen können. Klinisch relevante Fragestellungen bilden so eine fruchtbare Symbiose mit hypothesengeleiteter, experimenteller innovativer Forschung.

Warum ein Zusammenschluss der Tübinger Immunologen zu einem Netzwerk?

TransLimm soll einen spürbaren Beitrag leisten, herausragende Forschungsergebnisse der immunologischen Grundlagenforschung der Eberhard Karls Universität Tübingen in neue, innovative Arzneimittel bzw. Impfstoffe zur Behandlung von Krebserkrankungen oder gegen Erkrankungen des Immunsystems umzusetzen. Die medizinische und naturwissenschaftliche Forschungskompetenz des Netzwerkes im Bereich Immunologie in der Region Tübingen wird zusätzlich durch die Einbindung regionaler Biotech-Unternehmen gestärkt. Dadurch übernimmt **TransLimm** eine innovative Rolle bei der Schaffung zukunftsorientierter Arbeitsplätze und der Standortbindung oder gar der Neuan siedlung von Biotechnologieunternehmen in dieser Region. **TransLimm** vereinigt interdisziplinäre Infrastrukturen mit Bereichen, die eine langjährige Expertise in der translationalen Forschung haben, zu einem einzigartigen regionalen Netzwerk.

Die Funktion von **TransLimm**:

Die Expertise der Tübinger Grundlagenforscher im Bereich Immunologie liegt vorwiegend in den Bereichen adaptive (erworbene) und nichtadaptive (angeborene) Immunabwehr, Tumorimmunologie, Impfstoffentwicklung, Antikörperentwicklung und -therapie und vor allem in der Untersuchung der Bedeutung von genetischen Polymorphismen für die

individualisierte Immunantwort (Immunogenetik). Die Ergebnisse der Grundlagenforschung werden mit Hilfe des **TransLimm**-Netzwerkes möglichst rasch und effizient in klinische Therapieansätze übersetzt („translatiert“). So bringt die Grundlagenforschung innovative Ideen und Therapieformen in die klinischen Bereiche Therapie von bösartigen Tumoren (Krebsimmuntherapie), Therapie von Autoimmunerkrankungen, Therapie von Infektionserkrankungen und in den Bereich Kontrolle unerwünschter Immunreaktionen.

Dass das Prinzip der translationalen Immunologie im Netzwerk **TransLimm** funktioniert, zeigen zum einen die zahlreichen klinischen Studien, die in Tübingen initiiert und zum Teil weltweit erstmals durchgeführt wurden, zum anderen aber auch die erfolgreichen Firmenausgründungen („Spin-offs“) von *immatics biotechnologies* und *CureVac* unter Beteiligung der Abteilung Immunologie der Eberhard Karls Universität.

Einzigartig in Europa und der ganzen Welt ist die Tübinger Strategie einer sogenannten „individualisierten Immuntherapie“, die für die Bekämpfung bösartiger Tumore entwickelt und angewendet werden soll. Krebszellen unterscheiden sich von normalen Zellen immer durch eine Reihe von Veränderungen, etwa durch die falsche Expression von Genen, die im Normalgewebe nicht vorgesehen sind, oder durch Überexpression von normalen Genen, vor allem aber durch Mutationen in der Erbsubstanz. Das Immunsystem kann diese Veränderungen als „Krebsantigene“ erkennen. Bei den meisten Krebserkrankungen erfolgt jedoch keine oder nur eine unzureichende Immunreaktion des Körpers gegen den Tumor, da sich Krebszellen gegen die körpereigene Immunabwehr mit einer Reihe von Gegenmaßnahmen wehren können.

Ziel der Immuntherapie bei Krebs ist es, eine wirksame Immunreaktion gegen die vorhandenen Krebsantigene hervorzurufen. Dass dies im Prinzip funktioniert, zeigen viele Vakzinierungsstudien in den vergangenen 15 Jahren, wobei allerdings in aller Regel nur ein einziges Krebsantigen eingesetzt wurde, und dies meist auch aus der Gruppe der falsch oder überexpri-

mierten Genprodukte. Die Immunantwort gegen solche Antigene ist eher schwach ausgeprägt. Gegen Mutationen ist dagegen eine viel stärkere Immunantwort zu erwarten. Allerdings sind diese Mutationen bei jedem Patienten individuell verschieden. Bisher galt es als unmöglich, die mutierten Peptide für jeden einzelnen Patienten zu ermitteln und für therapeutische Zwecke einzusetzen. Unser Ziel ist es nun, diese Veränderungen jeweils individuell zu identifizieren und möglichst viele davon als Krebsantigene zu nutzen, um einen tumorspezifischen Impfstoff herzustellen. Für jeden Patienten soll dann eigens eine Zusammenstellung der in seinen Krebszellen veränderten Peptide hergestellt werden, mit denen dann individuell immunisiert wird.

Die Probleme bei diesem Vorgehen sind zwar beträchtlich, jedoch nicht unüberwindbar. Wir haben hier in Tübingen alle Voraussetzungen für ein Gelingen dieses Vorgehens: Eine exzellente Grundlagenforschung in der Immunologie, nach dem neuesten Stand ausgestattete Einrichtungen zur Analyse der genetischen Veränderungen in Krebszellen und der daraus resultierenden veränderten Peptide, und vor allem das weltweit einmalige „GMP-Zentrum für patientenindividuelle Substanzen“, welches derzeit als Anbau an die Transfusionsmedizin entsteht. Im Zentrum für Translationale Immunologie, welches in dieser Broschüre erstmals vorgestellt wird, soll dieses einzigartige und innovative Vorhaben zusammen mit anderen anwendungsnahen Projekten vorangetrieben werden.

Ihr



Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee
Vorsitzender von **TransLimm**





Wichtige Meilensteine der Translationalen Immunologie in Tübingen:

- Erste Multipetid-Vakzinierungsstudie (klinische Phase II) bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen durch unsere Ausgründung **immatics biotechnologies**.
- Weltweit erste mRNA Vakzinierungsstudie (klinische Phase I) bei Patienten mit Prostatakrebs durch unsere Ausgründung **CureVac**.
- Durchführung einer Multipetid Vakzinierungsstudie (klinische Phase I) bei Patienten mit Prostatakrebs mit TLR7 Liganden als Adjuvans.
- Erste Transplantationen mit CD3/19-depletierten und NK-Zell angereicherten Stammzellen.
- Präklinische Validierung einer neuen T-Zell depletierenden Methode (α/β Depletion) um körpereigene γ/δ T-Lymphozyten als anti-Tumor Effektorzellen zurückzubehalten. (Eine erste klinische Studie dazu startet in Tübingen Mitte 2010).
- Erste klinische Studie, bei denen mesenchymale Stammzellen gemeinsam mit hämatopoetischen Stammzellen in Kindern mit neurometabolischen Erkrankungen co-transplantiert werden.
- Klinisches Studienzentrum für multizentrische Studien für den adoptiven Transfer von Virus-spezifischen Spender T-Zellen, die gegen CMV, ADV and EBV gerichtet sind, nach allogener Transplantation (Weltweiter Export von Virus-spezifischen Zellen für den klinischen Einsatz in Europäischen Staaten, Russland und, mittels eines FDA-anerkannten Einzel-Patienten IND für die U.S.A.)
- Erster klinischer adoptiver Transfer von aus Spendern stammenden IL-15 aktivierten NK-Zellen (GMP-Herstellungserlaubnis bereits von der zuständigen Behörde erteilt. Eine klinische Studie startet demnächst).

- Klinisches Studienzentrum für multizentrische Studien einer SIOP/EBMT europäischen Studie für die Behandlung von Patienten mit Neuroblastom Rezidiven mittels des chimären Antikörpers anti-GD2 (CHO14.18) nach haploider Transplantation.
- Weltweit erste klinische Anwendung des T-Zell vermittelnden bispezifischen Antikörpers anti-CD19/CD3 (Blinatumomab) in Kindern mit nach allogener Transplantation rezidivierender Leukämie. (Eine klinische Studie startet demnächst mit Tübingen als dem verantwortlichen Studienzentrum).
- Erste klinische Anwendung eines bispezifischen Antikörpers CD28/Melanomantigen beim Menschen.
- Erste klinische Anwendung eines Fc optimierten FLT3 Antikörpers bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (beide genannte Antikörper (CD28/Melanomantigen und FLT3) stehen exemplarisch für Substanzen, die an der Universität Tübingen entwickelt, produziert und klinisch angewendet wurden).
- Erste Zytokin-Studie zur Immundeprivation (selektive Unterdrückung einer Immunantwort) entzündlicher Autoimmunerkrankungen beim Menschen. (Phase I/II Studie, IL-4 Therapie für Psoriasis; 2003)

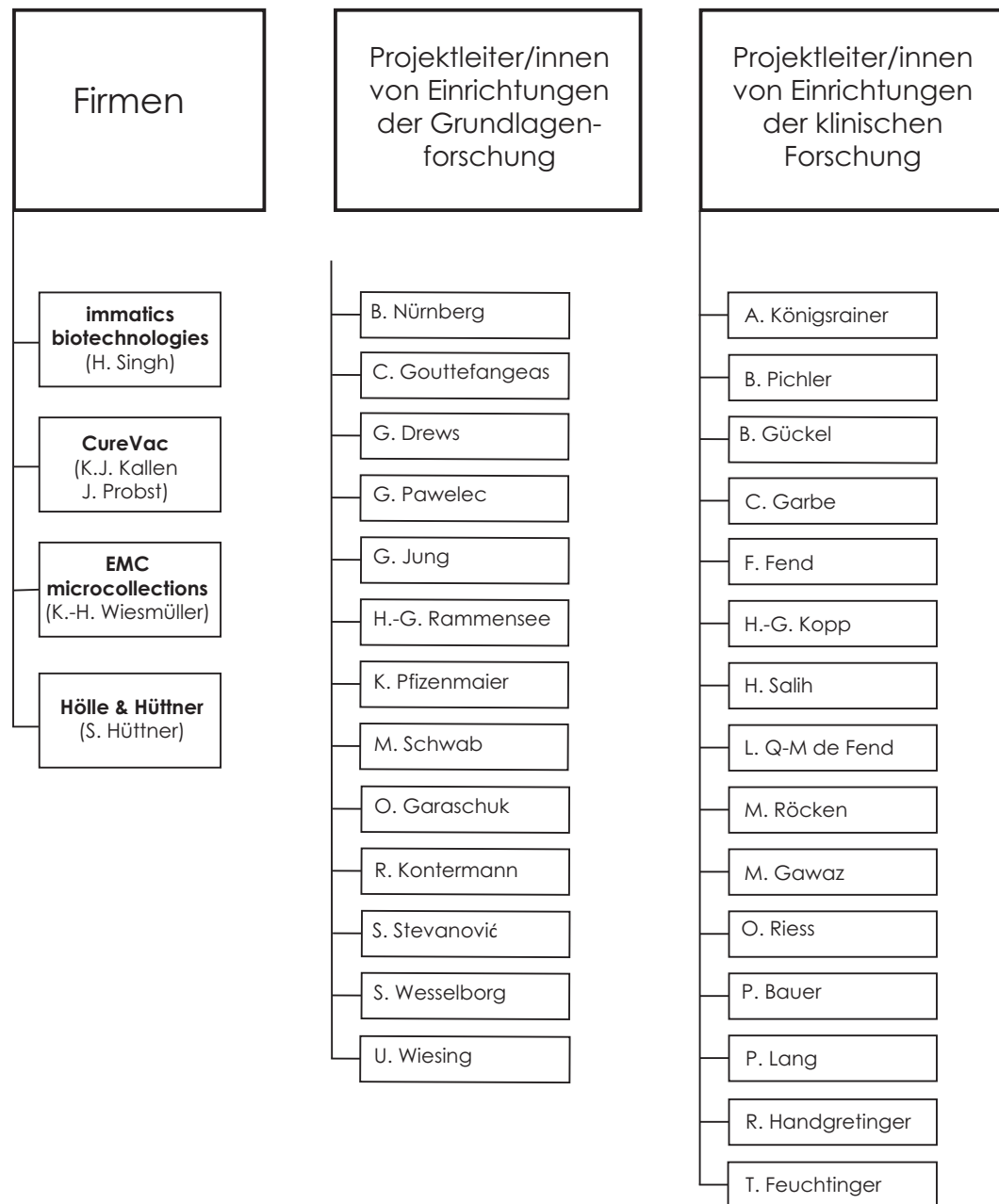
Netzwerk-Strukturen von **TransLimm**



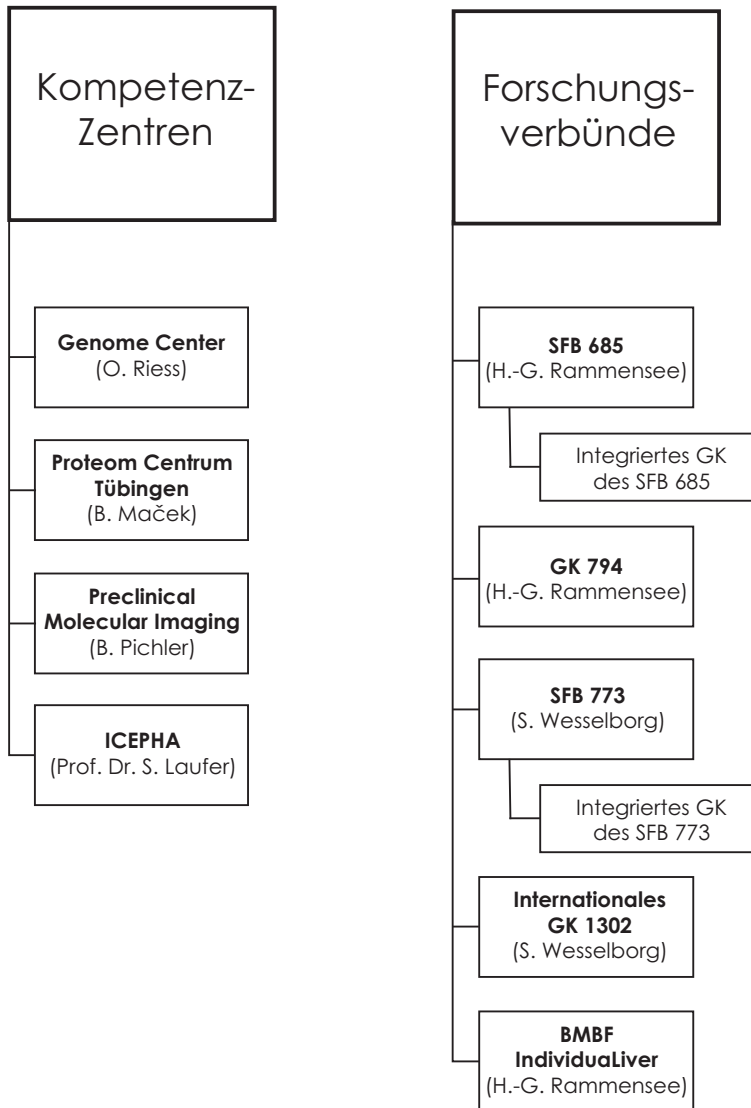
TransLimm Center for TransLational Immunology

- **Vorsitz:** H.-G. Rammensee
- **Koordinator:** J. Frank

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh
 Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing



- **Wirkstoffpeptid Labor:** S. Stevanovic
- **GMP-Koordinator:** U. Freimann



Vorsitzender:
Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee



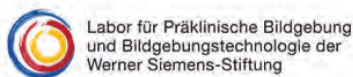
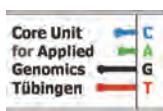
Koordinator:
Prof. Dr. Jürgen Frank



Wirkstoffpeptid-Labor:
Prof. Dr. Stefan Stevanović



GMP-Koordinator:
Dr. Uwe Freimann





Alfred Königsrainer

Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Individuelle Immuntherapie der Peritonealkarzinose

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Peritonealkarzinose (PC) stellt eine Tumorzellaussaat in das Bauchfell (Peritoneum) und damit ein fortgeschrittenes Erkrankungsstadium mit einer mittleren Überlebensdauer von 6 Monaten dar (Abb. 1). Es handelt sich dabei entweder um primäre maligne Erkrankungen des Peritoneums oder häufiger um Absiedelungen von Tumoren des Magen-Darm-Traktes oder der inneren weiblichen Geschlechtsorgane. Eine in unserer Abteilung häufig durchgeführte Behandlung setzt sich aus der kompletten chirurgischen Entfernung des tumorbefallenen Peritoneums und multiviszeralen Resektionen in Kombination mit einer intraabdominellen hyperthermen Chemotherapie (HIPEC) zusammen. Diese Form der chirurgischen Therapie stellt aktuell ein Standardverfahren in der Behandlung der PC dar und führt beim peritoneal metastasierten Dickdarmkrebs zu einem 5-Jahresüberleben von bis zu 25%. Die präoperative Bildgebung spielt eine zentrale Rolle in der Beurteilung der Resektabilität. Unsere Arbeitsgruppe konnte kürzlich zeigen, dass sich das PET-CT, welches neben der anatomischen Lokalisation Auskunft über die Stoffwechselaktivität der einzelnen Tumorknoten gibt und damit eine "topographische" Landkarte erstellt, am besten zur Operationsplanung eignet (Abb. 2). Rezente Daten zeigen weiters, dass ein chemotherapie-induzierter Zelltod durchaus stimulierend auf das Immunsystem wirken und damit eine Antitumorabwehr induzieren kann. Diese Erkenntnis ist wesentlich für die Etablierung kombinierter chemimmuntherapeutischer Therapien.

Ziele

Ziel unserer Arbeiten ist es, die Überlebensrate von Patienten mit Peritonealkarzinose mit Hilfe einer adjuvanten, individuellen Immuntherapie zu verlängern. Im Anschluss an das chirurgische Standardverfahren soll ein immunstimulierendes, patientenindividuelles Multipeptid-Vakzin verabreicht werden. Dieses besteht aus synthetisch hergestellten Eiweißbruchstücken, sogenannten Peptiden. Peptide werden an der Oberfläche jeder Körperzelle präsentiert und schützen diese vor einem Angriff durch das körpereigene Immunsystem. Mutationen bedingen in Tu-

morzellen einen veränderten Peptidpool. Unsere Aufgabe besteht in der Identifizierung dieser tumorspezifischen Peptide und in der Herstellung eines Vakzins, mit dessen Hilfe wir eine Aktivierung des Immunsystems in Tumorpatienten erreichen wollen.

Strategie

Frisches Tumor- sowie korrespondierendes Normalgewebe werden während der Operation asserviert und in einem ersten Schritt vergleichend auf Mutationen untersucht. Hauptaugenmerk legen wir dabei auf tumorspezifische Mutationen, das heißt, Mutationen, die lediglich im Tumor und nicht im Normalgewebe auftreten. In einem zweiten Schritt werden dieselben Gewebeproben massenspektrometrisch untersucht, um tumorspezifische Peptide auf der Zelloberfläche zu identifizieren. Diese beide Analysen werden dahingehend zusammengeführt, dass Peptide aus tumorspezifisch mutierten Genen in einem dritten Schritt als Impfcocktail synthetisch hergestellt werden (Abb. 3). Diese Multipeptidcocktails werden in einer anschließenden klinischen Studie Patienten mit Peritonealkarzinose als Vakzine verabreicht.

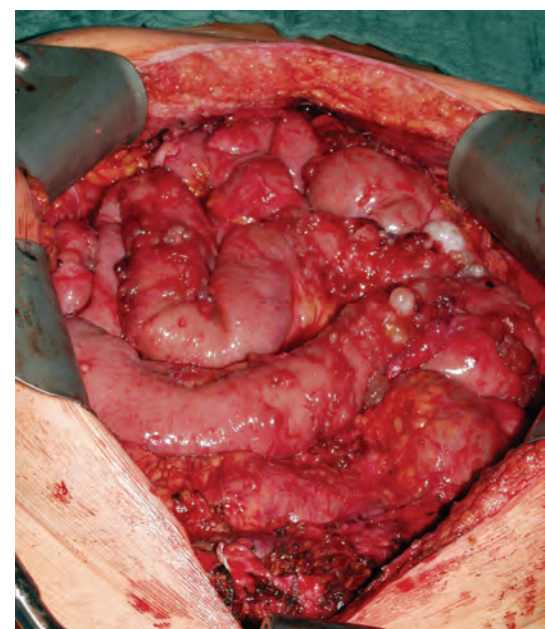


Abb. 1: Intraoperativer Befund einer ausgedehnten Peritonealkarzinose.

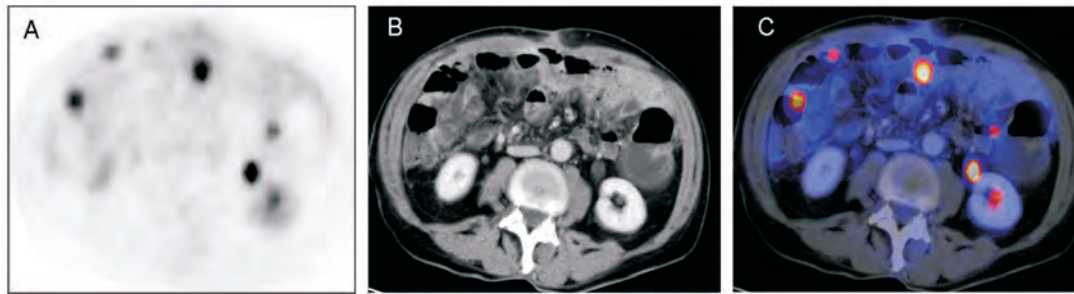


Abb. 2: (A) PET, (B) CT, (C) PET-CT mit Auskunft über die anatomische Lokalisation als auch über die Stoffwechselaktivität der Peritonealkarzinose.

Individual Immunotherapy of Peritoneal Carcinomatosis

Peritoneal carcinomatosis has been regarded as a uniformly lethal clinical entity. It defines metastasis of cancerous tumors onto the inside surfaces of the abdomen (peritoneum). This results either from primary malignancies of the peritoneum or, more often, from regional spread of primary gastrointestinal or gynaecological tumors. Peritoneal carcinomatosis is an advanced form of cancer associated with short survival (4–6 months) and poor quality of life, which may lead to bowel obstruction, ascites and pain. However, the introduction of cytoreductive (debulking) surgery combined with hyperthermic intraabdominal peritoneal chemotherapy (HIPEC) (1) has drastically increased 5 year survival rates up to 25% in colorectal carcinoma patients (2) and thus is nowadays a standard therapeutic approach for primary resectable patients

with peritoneal carcinomatosis. Recent evidence clearly indicates that chemotherapy-induced apoptosis can induce strong antitumor immune responses. Up to date, peritoneally spread gastrointestinal tumors are treated with mitomycin C (MMC, an immunoinhibitory substance), whereas gynaecological tumors are treated with cisplatin (CDDP, a stimulatory agent). This is of note for the design of combined chemo-immuno-therapeutic protocols. Therefore, the aim of this project is to provide substantial work for the development of an individual, adjuvant, multi-peptide-based vaccination trial for peritoneally-disseminated colorectal and ovarian cancer after cytoreductive surgery and intraabdominal chemotherapy.

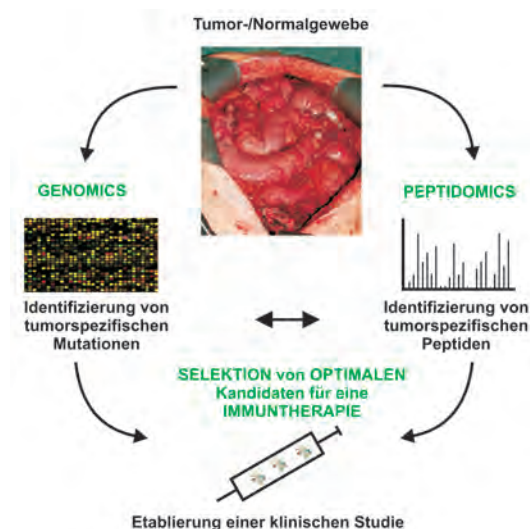


Abb. 3: Vergleichende Analysen von Mutationen als auch von zelloberflächen-präsentierten Peptiden dienen als Grundlage zur Herstellung eines Multi-peptidvazins.

Projektleitung

Prof. Dr. Alfred Königsrainer
Dr. Stefan Löb

Eberhard Karls Universität Tübingen
Klinik für Allgemeine-, Viszeral- und
Transplantationschirurgie
Hoppe-Seyler-Str. 3
72076 Tübingen

Tel.: 0049(0)7071/29 86620
Fax: 0049(0)7071/29 5588

alfred.koenigsrainer@med.uni-tuebingen.de
stefan.loeb@med.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de/allgemeine-chirurgie/





Immunorelevante Signaltransduktoren und ihr Potenzial als pharmakologische Zielstrukturen

Alfred Königsrainer

Bernd Nürnberg

Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh
 Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Therapie immunologischer Erkrankungen, wie Allergien, Asthma oder rheumatoider Arthritis, wie aber auch Immundefizienzen, erfolgt meist durch Inhibition zentraler Signaltransduktionsprozesse in Leukozyten und resultiert in einer generell verminderten Immunantwort. Somit führt die Behandlung immunologischer Erkrankungen meist zu einer Schwächung des gesamten Immunsystems, was mit recht schweren Nebenwirkungen einhergehen kann. Obwohl inzwischen recht viel über einzelne Signalkaskaden, die spezifische Effekte auslösen, bekannt ist, konnte dieses Wissen bislang noch zu keiner neuartigen Therapie führen. Zum einen liegt dies daran, dass noch nicht alle Signalprozesse an denen einzelne Zielproteine beteiligt sind bekannt sind, zum anderen können aber auch einzelne Signalkaskaden untereinander Wechselwirkungen und somit unvorhergesehene, unerwünschte Nebenwirkungen auslösen. Um eine gezielte und erfolgreichere Therapie zu ermöglichen und um innovative Therapieansätze entwickeln zu können ist es wichtig zu verstehen, wie diese Signaltransduktionswege ineinander greifen und welche Effekte diese in anderen Geweben bewirken können.

Ziele

Ziel unserer Arbeit ist es eine molekulare Basis für die Entwicklung selektiver und neuartiger Strategien für die Behandlung immunologischer Erkrankungen zu legen. Der Fokus liegt hierbei auf der Aufklärung G-Protein abhängiger Signalabläufe in spezifischen Leukozytenfunktionen, wel-

che auf Höhe der Phosphatidylinositol 3-Kinasen (PI3K) mit Wachstumsfaktorvermittelten Signalprozessen konvergieren. Die PI3K gelten als sehr vielversprechende Zielstrukturen für die Entwicklung von neuen Arzneimitteln zur Behandlung von immunologischen Erkrankungen, jedoch sind die Bemühungen aufgrund nicht einzuschätzender Nebenwirkungen zum Erliegen gekommen. Die detaillierte Aufklärung der Signalkaskaden und ihrer Interaktionen könnte hier neue Wege eröffnen um diese unerwünschten Wirkungen zu vermeiden.

Strategie

Die Analyse dieser Signalkaskaden erfolgt in unserem Institut auf drei Ebenen. Mit

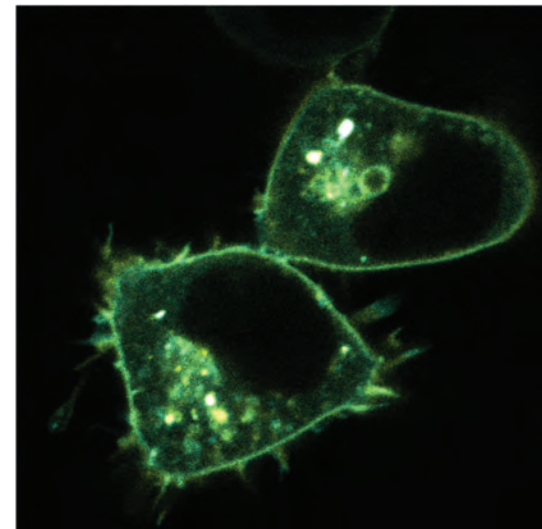


Abb. 1: Kolokalisation (grün) der beiden PI3K_γ Untereinheiten p87 (YFP; gelb) und p110_γ (CFP; blau) in lebenden Zellen.

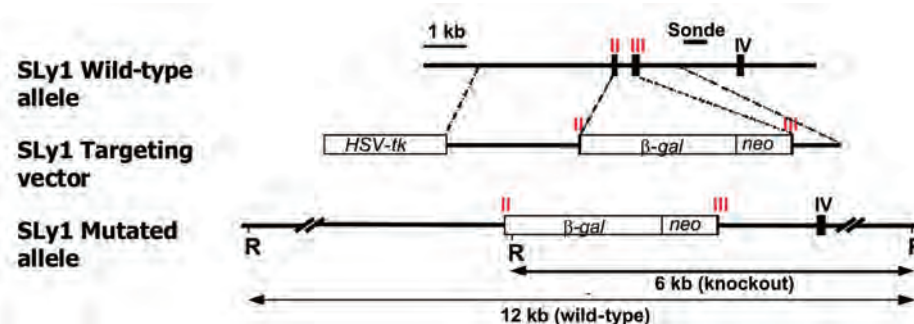


Abb. 2: Schematische Darstellung der Targeting-Strategie für den SLY1 Locus. Gezeigt ist der Bereich zwischen Exon II und IV des sly1 Gens vor und nach erfolgreicher homologer Rekombination, sowie die jeweils erwarteten Fragmentgrößen bei Inkubation mit EcoRI und anschließendem Southern Blot mit der eingezeichneten „Sonde“.

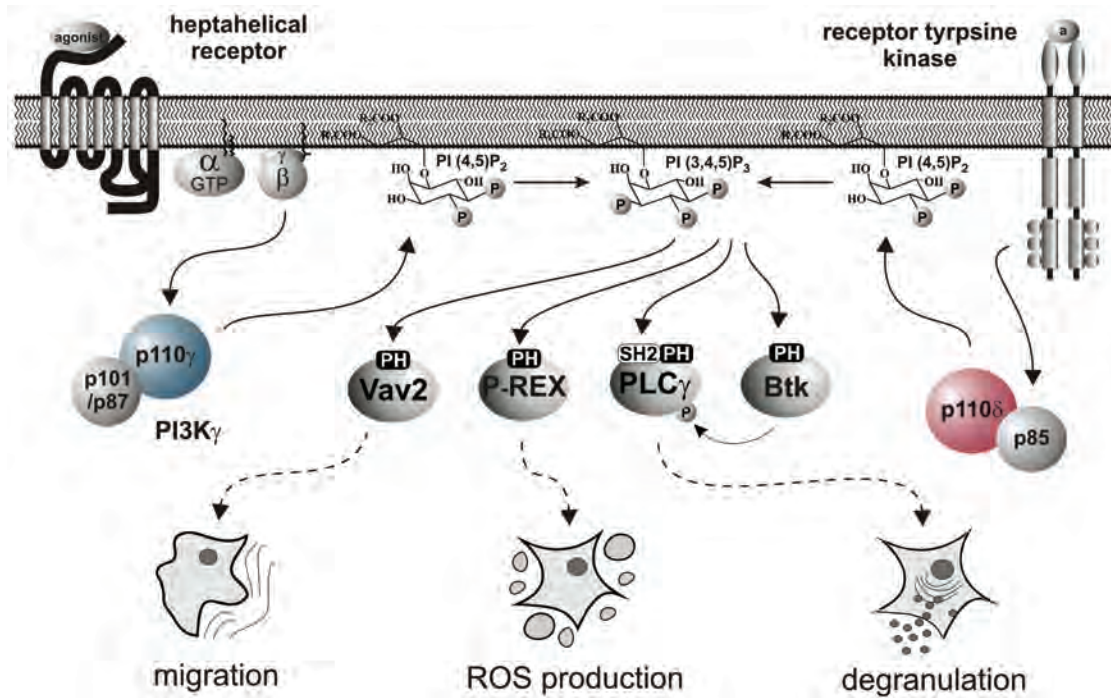


Abb. 3: Schematische Darstellung ausgewählter, für die Funktion von Leukozyten, essentieller Signaltransduktionswege.

Hilfe von gereinigten, rekombinanten Proteinen wird in vitro die Interaktion zwischen zwei oder drei Signalkomponenten, unabhängig von weiteren Signalmolekülen untersucht. Komplexere Wechselwirkungen werden in zellulären Systemen anhand von Modellzelllinien meist konfokalmikroskopisch untersucht. Anschließend werden diese im Tiermodell unter Verwendung von gendefizienten Mäusen in vivo bestätigt sowie die physiologische als auch die pathophysiologische Relevanz erforscht.

Signal transducers and their potential as drug targets for immunological diseases

Immunological diseases like allergy, asthma or rheumatoid arthritis, as well as immunodeficiencies are treated via inhibition of central signalling processes in leukocytes resulting in a general diminished immune response. Hence, the treatment of immunological diseases often results in an attenuation of the immune system, potentially causing severe adverse effects. The lipidkinases phosphatidylinositol 3-kinase γ and δ are majorly involved in functions of the immune system and are therefore regarded as promising targets for the treatment of immunological diseases. The efforts in developing such compounds have reduced during the last years due to an unpredictable spectrum of side effects. Knowledge of the exact signalling of both kinases in different cell types and tissues and the crosstalk between these

two signalling cascades would offer a basis for new strategies to prevent adverse effects of such compounds. In order to elucidate the physiological and pathophysiological functions as well as signalling crosstalk of these two kinases we employ purified, recombinant proteins in vitro, confocal live cell imaging in cells as well as genetically engineered mice.

Projektleitung

Prof. Dr. Dr. Bernd Nürnberg*
PD Dr. Sandra Beer-Hammer

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie des Universitätsklinikums Tübingen, Abteilung für Pharmakologie und Experimentelle Therapie
Wilhelmstrasse 56
72074 Tübingen

*Mitglied des Interfakultären Zentrums für Pharmakogenomik und Arzneimittelforschung der Universität Tübingen (ICEPHA)

Tel.: 0049/(0)7071/29 72267
Fax: 0049/(0)7071/29 4942

bernd.nuernberg@uni-tuebingen.de
sandra.beer-hammer@uni-tuebingen.de

www.uni-tuebingen.de/uni/tfi/ipt/index.htm





Molekulare in vivo Bildgebung in der translationalen Forschung

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg

Bernd Pichler

Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Molekulare Kleintierbildgebungsmethoden, wie Positronen-Emissions-Tomographie (PET), Magnetresonanztomographie (MRT) oder optische Bildgebung (OI), erlauben den in vivo Nachweis von kleinsten Mengen an Biomarkern bzw. Metaboliten zusammen mit der Darstellung von hochaufgelösten morphologischen Strukturen. Gerade in Forschungsgebieten wie der Onkologie, Immunologie oder Neurologie stehen Verfahren und Biomarker zur Verfügung, um metabolische Vorgänge, Rezeptor-Expressionen oder Zellwanderungen sichtbar zu machen. So können in der onkologischen Forschung mithilfe der PET Aussagen über den Glukose- bzw. Aminosäurestoffwechsel, Angiogenese oder Hypoxie im Tumor gemacht werden. Mittels MRT hingegen können kleinste morphologische Veränderungen wie Nekrose oder die Permeabilität der Blutgefäße nicht-invasiv dargestellt werden. Neben etablierten Biomarkern werden häufig krankheitsspezifische Medikamente oder Antikörper radioaktiv oder mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert, und für die Bildgebung eingesetzt. Ebenso ist es möglich, einzelne Zellpopulationen wie T-Zellen oder Tumorzellen in vitro zu markieren, um anschließend *in vivo* deren Migration und Homing über mehrere Tage zu verfolgen. Neben den unterschiedlichen Bildgebungsverfahren mit ihren jeweiligen Stärken wurden große Fortschritte in der Entwicklung von Biomarkern erzielt, um spezifisch, mit hoher Auflösung und einer Sensitivität im pikomolaren Bereich physiologi-

sche bzw. pathologische Vorgänge in vivo darzustellen.

Ziele

Das Ziel unserer Arbeitsgruppe ist es, die Möglichkeiten der molekularen, funktionellen und morphologischen PET- und MRT-Bildgebung innerhalb von TransLimm zur Verfügung zu stellen. Des Weiteren hat unser Labor in den letzten Jahren verschiedene Methoden zur T-Zell-Markierung etabliert, um das Migrationsverhalten in Tumor- und Entzündungsmodellen quantitativ über die Zeit zu erfassen. Diese Bereiche werden wir weiter ausbauen und spezifisch an die jeweilige Zellpopulation und Tiermodelle anpassen. Ein weiterer Fokus wird auf der Radiomarkierung von Antikörpern innerhalb der TransLimm-Kooperation liegen, um anschließend deren zeitliche Kinetik und Bindungsverhalten *in vivo* mithilfe der hochauflösenden PET zu untersuchen.

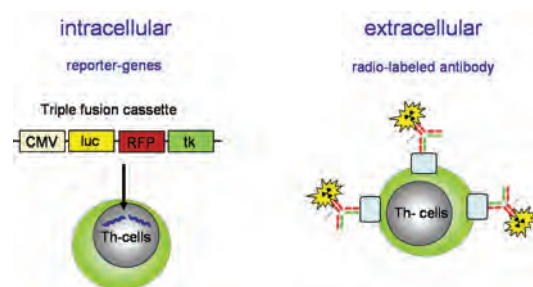


Fig. 1: Development of new cell labelling strategies for PET allow in vivo tracking of cells over several days. Reporter gene transduced cells enable their detection by optical imaging or PET. Alternatively, radiolabeled specific antibodies do not require the genetic manipulation of the cells.

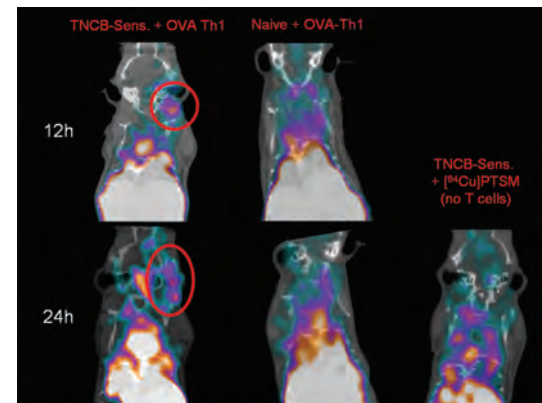


Fig. 2: Imaging of OVA-specific Th1 cell trafficking in a mouse model of chronic inflammation over 24 hours. An increased uptake of OVA-Th1 cells in the draining lymph node of the sensitized mouse is clearly detectable 12 and 24 hours after T cell transfer.

Strategie

Zur Markierung von T-Zell-Subpopulationen werden drei verschiedene Markierungsmethoden, je nach Zielsetzung des jeweiligen Experiments, durchgeführt. Einerseits kann eine in vitro Markierung mit dem lipophilen Tracer Cu-64-PTSM erfolgen. Alternativ steht die Möglichkeit der

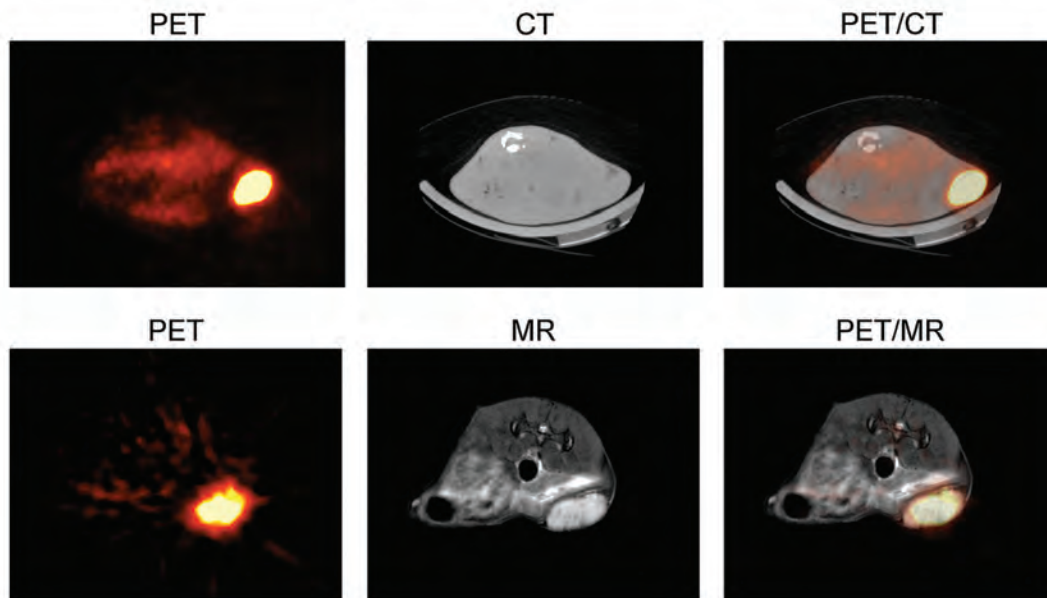


Fig. 3: Imaging of a Cu-64 labelled PSMA-specific monoclonal antibody in a mouse model of human prostate cancer. Significant tracer uptake in the tumor was found already 3 hours after injection. Multimodality imaging using CT or MRT along with PET allows accurate spatial co-registration of the PET signal with the mouse anatomy and provides further information of tumor morphology (necrosis, viable tumor tissue) by MRT.

Radio- bzw. Fluoreszenz-Markierung von spezifischen T-Zellen über Antikörper zur Verfügung. Als dritte Möglichkeit wird die Transduktion von spezifischen T-Zellen mit einem Reporter gen, welches ein rotfluoreszierendes Protein, Luziferase und die Thymidinkinase exprimiert, verfolgt. Die Radiomarkierung von Antikörpern erfolgt mit langlebigen Isotopen wie Cu-64. Die innerhalb von TransLimm zur Verfügung stehenden Antikörper bilden dabei eine Basis für innovative Experimente im Bereich der Immunologie und Onkologie.

Molecular in vivo imaging in translational biomedical research.

Molecular imaging, and in specific dedicated small animal Positron Emission Tomography (PET), high-field Magnetic Resonance Tomography (MRT) and Optical Imaging (OI), is an emerging field in biomedical research. The ability to detect small amounts of substrates or metabolites *in vivo* to visualize and quantify a metabolic rate, receptor expression or functional process, provides a powerful tool, especially in the fields of immunology, oncology and neurology. The development of new, specific biomarkers opens an enormous potential in the field of non-invasive imaging of diseases. The aim within this TransLimm project is to label specific T-cell sub-populations by a radioactive isotope or a fluorescent dye for subsequent imaging of the T-cell trafficking and homing over several days. Furthermore, the specific antibodies available within the TransLimm consortium will

be radiolabelled for further *in vivo* evaluation of their binding kinetics in different mouse models of diseases. Most important, the established methods can be easily translated into clinical applications as the imaging methodologies and biomarkers are available for studies in patients.

Projektleitung

Prof. Dr. Bernd Pichler
Eberhard Karls Universität Tübingen
Labor für Präklinische Bildgebung und
Bildgebungstechnologie der Werner
Siemens-Stiftung
Röntgenweg 13
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 83427
Fax: 0049/(0)7071/29 4451

Bernd.Pichler@med.uni-tuebingen.de
www.preclinicalimaging.org

Dr. Manfred Kneilling
Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitäts-Hautklinik
Liebermeisterstrasse 25
72076 Tübingen

Manfred.Kneilling@med.uni-tuebingen.de





Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler

Boris Maček

Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Proteom Centrum Tübingen

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Systembiologie verwendet analytische Methoden wie Genomik, Transkriptomik und Proteomik zur quantitativen Beschreibung der lebenden Zelle. Es wird angenommen, dass die Komplexität in der Richtung Genom-Transkriptom-Proteom zunimmt und die Funktion von Genen durch Untersuchungen von Proteinen, ihren Modifikationen und Interaktionen am besten ermittelt wird. Gel-freie und auf Massenspektrometrie (MS) basierende quantitative Proteomik hat einen maßgebenden Einfluss auf alle Biowissenschaften, insbesondere auf die Proteom-Analyse der zellulären Homöostase. Mit einfachem experimentellen Aufwand, basierend auf hochpräziser MS und leistungsstarker Bioinformatik, wird die Expression von tausenden Proteinen in einem einzelnen Experiment zuverlässig identifiziert und quantifiziert. Die Aussage erreicht fast die Tiefe von mRNA-basierten Genchips und hat das Potential zur Abbildung kleiner Proteome, z.B. der Hefe. Weiterentwicklungen von biochemischen Trennmethode und Anreicherungsverfahren ermöglichen die Analyse von Positionen posttranslationaler Modifikationen nach einem Stimulus. Daraus ergeben sich viele Hinweise auf eukaryotische und prokaryotische Signaltransduktionsmechanismen, die mit Genomik oder Transkriptomik nicht entdeckt werden können. Neueste MS-Methoden ermöglichen die Identifikation, Lokalisation und Quantifizierung zuvor unbekannter Modifikationen und darüber hinaus die Untersuchung von sich gegenseitig beeinflussenden Modifikationen in der Signaltransduktion.

Ziele

Das Proteome Center Tübingen (PCT) entwickelt bioanalytische Methoden für quantitative Peptid- und Proteinanalysen mittels Hochpräzisions-Massenspektrometrie und wendet diese auf verschiedene wissenschaftliche Fragestellungen der Biomedizin an. Diese Technologie wird am PCT unter anderem dazu verwendet, Ser/Thr/Tyr Proteinphosphorylierungen in Prokaryoten und Eukaryoten zu untersuchen, Substrate von Kinasen zu identifizieren, Genvorhersagen zu verbessern (mithilfe von Genomik-Daten) und Diagnose-Methoden auf Basis der Markierung von

Peptiden/Proteinen mit stabilen Isotopen zu entwickeln. Das PCT ist auch an wissenschaftlichen Kooperationen mit verschiedenen Institutionen in Tübingen beteiligt und bietet einen kostenpflichtigen Service zur Identifikation von Proteinen/Peptiden an.

Strategie

Die Kompetenz des PCT liegt vor allem in dem quantitativen Vergleich von Protein-expressionsprofilen mithilfe modernster Methoden und Instrumentation. Kürzlich verlagerte das PCT seinen Schwerpunkt in den Bereich der hochpräzisen, Peptid-basierten („shot-gun“), quantitativen Proteomik, die einen großen dynamischen Bereich in der Proteinidentifizierung ermöglicht. Die quantitativen Arbeitsschritte stützen sich hauptsächlich auf die Markierung von Zellen und Geweben mittels stabilen Isotopen (Abb 1.) und der

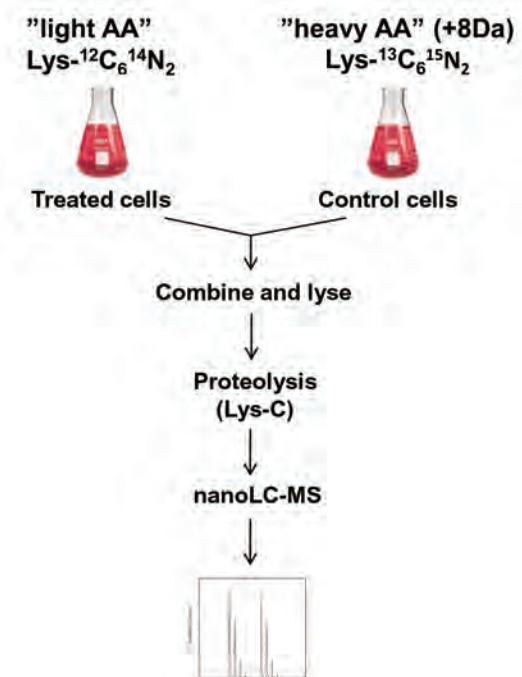


Abb. 1: Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture (SILAC)

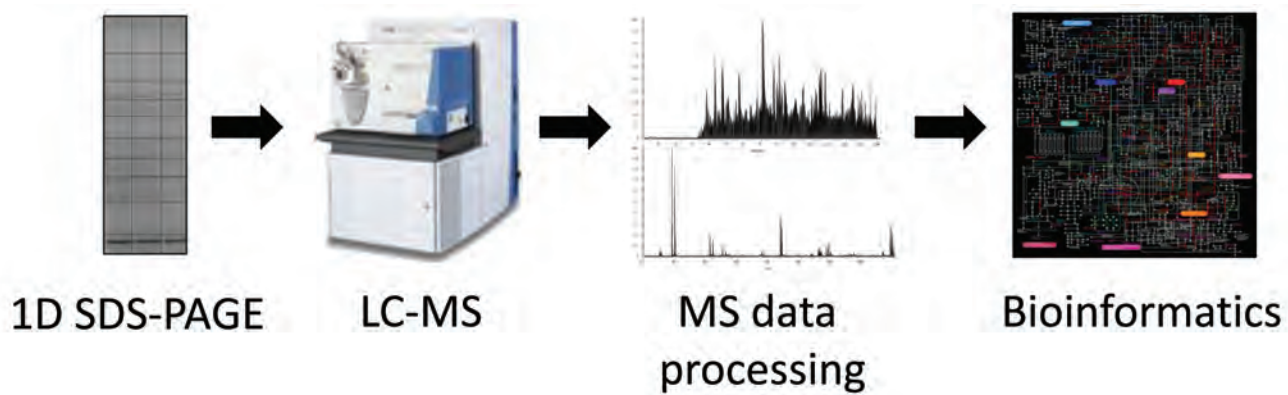


Abb. 2: "Shot-gun" proteomics workflow.

Analyse des gewonnenen Proteinextraktes in einem modernen LTQ-Orbitrap Massenspektrometer (Abb. 2). Darüber hinaus hat das PCT die notwendige Technologie und Expertise für verschiedene Peptid-Auftrennungsmethoden und für die bioinformatische Analyse komplexer Proteomik-Datensätzen.

Proteome Center Tuebingen

Proteome Center Tuebingen (PCT) was founded in 2003 as a part of the Interdepartmental Institute for Cell Biology (IFIZ) and it has since established and applied methods for quantitative comparison of protein expression profiles, using state-of-the-art methodology and instrumentation. PCT currently employs staff of 10 scientists and support personnel with core expertise in methods of protein analysis, such as different electrophoresis techniques and protein identification by mass spectrometry. PCT recently extended its expertise and shifted the emphasis to the workflows in the area of high accuracy peptide-based ("shot-gun") quantitative proteomics that enable high dynamic range of protein detection. The quantitative workflows are mainly based on stable isotope labeling of cells and tissues and measurements of resulting protein digests using state-of-the-art LTQ-Orbitrap mass spectrometry. In addition, PCT possesses considerable infrastructure and expertise for cell biology, protein/peptide separation technologies based on various analytical HPLC methods (strong cation exchange, reversed-phase chromatography, etc.), as well as bioinformatic analysis of shot-gun proteomics data. Among other topics, this technological platform is used at PCT in studies of Serine/Threonine/Tyrosine protein phosphorylation in prokaryotes and eukaryotes, refinement of raw genome sequences (together with genomics data) and development of di-

agnostics tools based on peptide/protein labeling by stable isotopes. The PCT is involved in scientific collaborations with a range of institutions from the Tuebingen area and also offers protein/peptide mass spectrometry services against a fee.

Projektleitung

Prof. Dr. Boris Maček

Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 70558
Fax: 0049/(0)7071/29 5779

boris.macek@uni-tuebingen.de

www.proteom-centrum.de





Entwicklung therapeutischer Vakzinierungsmöglichkeiten für die Behandlung von Brust- und Eierstockkrebs

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček

Brigitte Gückel

Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Brustkrebs gehört zu den häufigsten Tumorleiden, an dem in Deutschland jede 7.-10. Frau erkrankt. Trotz Früherkennung und guter adjuvanter Therapieregime tritt in ca. 30% der Fälle die Erkrankung zu einem späteren Zeitpunkt wieder auf. Eierstockkrebs (OvarialCa) ist das gynäkologische Malignom mit der höchsten Sterblichkeit, nicht zuletzt weil es aufgrund seines asymptomatischen Verlaufs oft erst in Spätstadien diagnostiziert wird. Für beide Krebsformen wird die gezielte Aktivierung des Immunsystems durch so genannte „Krebs-Vakzinen“ als potentiell hochspezifischer und systemischer Therapieansatz bewertet. Aktuelle Entwicklungen von „Krebs-Vakzinen“ basieren auf neuen Kenntnissen immunologischer Effektormechanismen und den wesentlich verbesserten Möglichkeiten, Immunantworten auf humoraler (Antikörper) und zellulärer (T-Zellen) Ebene zu analysieren. So weiß man, dass Tumore Antigene tragen, die aufgrund genetischer und epigenetischer Veränderungen im Verlauf der Krebsentwicklung neu ausgebildet werden und von T-Zellen als „fremd“ erkannt und angegriffen werden können. Initial wurden verschiedene manipulierte Tumorzellen selbst als „Antigenreservoir“ gezüchtet und in der Klinik als Vakzinen erprobt. Neue Techniken zur genauen Charakterisierung tumorassoziierter Antigene, die die Zielstrukturen für „Killerzellen“ (zytotoxische T-Zellen) oder Antikörper sind, bilden derzeit die Basis für neue Diagnostika oder innovative Therapieentwicklungen in Form peptidbasierter Vakzinen.

Ziele

Das Ziel unserer Arbeit ist es, innovative Therapieverfahren für Brust- und Ovarialkrebs zu entwickeln. Dazu möchten wir die spezifischen Strukturen identifizieren, die es den T-Zellen als Hauptakteuren des Immunsystems erlauben, die entartete Krebszelle von gesunden Zellen zu unterscheiden und zu bekämpfen. Weiter möchten wir lernen, wie durch die Applikation dieser Krebsantigene, z. B. in Form synthetischer Peptide in Kombination mit geeigneten Adjuvanzen, das Immunsystem der Patientinnen - ähnlich einer Impfung - gezielt aktiviert werden kann. Diese Fragen sollen in sorgfältig geplanten und kontrollierten klinischen Studien beantwortet werden, die neben der Beobachtung des klinischen Ansprechens auch Vakzine-abhängige Immunantworten genauestens analysieren.

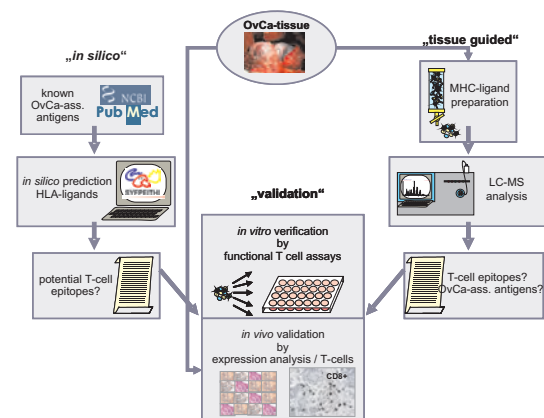


Abb. 1: „Flow-chart“ zur Charakterisierung neuer Tumor-assoziiierter Antigene. In den Aminosäuresequenzen bekannter OvarialCa-assoziiierter Antigene kann über Datenbanken (www.syfpeithi.de) nach HLA-Liganden gesucht werden („in silico-Ansatz“). Sie werden in T-Zell-basierten Tests als potentiell aktivierende T-Zellepitope untersucht. Aus Tumorproben selbst können HLA-Liganden isoliert und mittels massenspektrometrischer Analysen direkt charakterisiert werden.

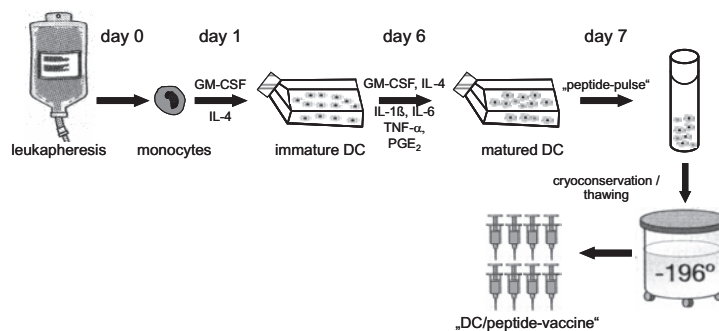


Abb. 2: Herstellung DC-basierter Vaccine: Dendritische Zellen (DCs), die auch „natures adjuvant“ genannt werden, können aus dem Blut mittels der Gabe diverser Zytokine differenziert und gereift werden. Ihre Beladung mit Tumor-assoziierten Antigenen in Form HLA-bindender Peptide erfolgt im reifen Zustand. Peptid-„gepulste“ DCs werden als zelluläre Vakzinen bereits in ersten klinischen Studien erprobt.

Strategie

Krebspezifische Antigene sollen mit Hilfe aktueller Methoden der Genomsequenzierung, der Mutationsanalyse und der massenspektrometrischen Peptidanalyse aus Brust- und Eierstockkrebszellen identifiziert werden. Um die Spezifität des Ansatzes zu gewährleisten wird überprüft, ob ein so gefundenes Kandidatenantigen tatsächlich nur bzw. hauptsächlich in Tumorgewebe vorkommt. Die Eignung eines Antigens als "Krebs-Vakzine" wird weiter validiert, indem es zunächst in Zellkultursystemen zur Aktivierung von T-Zellen herangezogen wird und deren Potential Tumorzellen abzutöten so überprüft werden kann. Ob ein neu identifiziertes Antigen tatsächlich therapeutisches Potential hat oder sich als Biomarker für die Diagnose oder Prognose eignet, kann nur in klinischen Studien beantwortet werden.

Development of immunotherapeutic vaccination strategies for the treatment of breast and ovarian cancer

Therapy of breast cancer has been improved considerably due to the development of target directed drugs. However, the results in metastatic disease are still unsatisfactory. In ovarian carcinoma resistance to chemotherapy is the main cause of therapeutic failure. Thus, additional therapeutical options are urgently needed such as peptide-based cancer vaccines. The purpose of our study is to find new tumor-associated antigens as well as corresponding T-cell epitopes in breast and ovarian cancer by combinations of HLA-ligand analysis (mass spectrometry) and expression profiling. Candidate epitopes were further validated by T-cell based functional assays. We identified many tumor-related antigens of potential therapeutical value, i.e. MHC class-I ligands derived from L1-CAM and HDAC (histone deacetylase), antigens already discussed as marker for poor prognosis in ovarian cancer. In this context a clinical trial was conducted to evaluate the safety and efficacy of dendritic cell (DC)-based vaccination of patients with metastatic breast cancer, particularly bone metastases. Mature DCs were pulsed with HLA-A*02-binding peptides derived from six shared breast cancer associated antigens, namely Her-2/neu, MUC-1, CEA, NY-ESO-1, MAGE-A1, and SSX-2 (represented by 14 different peptides identified as T-cell epitopes) to diminish the risk of tumor escape. Half of the patients tested developed T-cell respon-

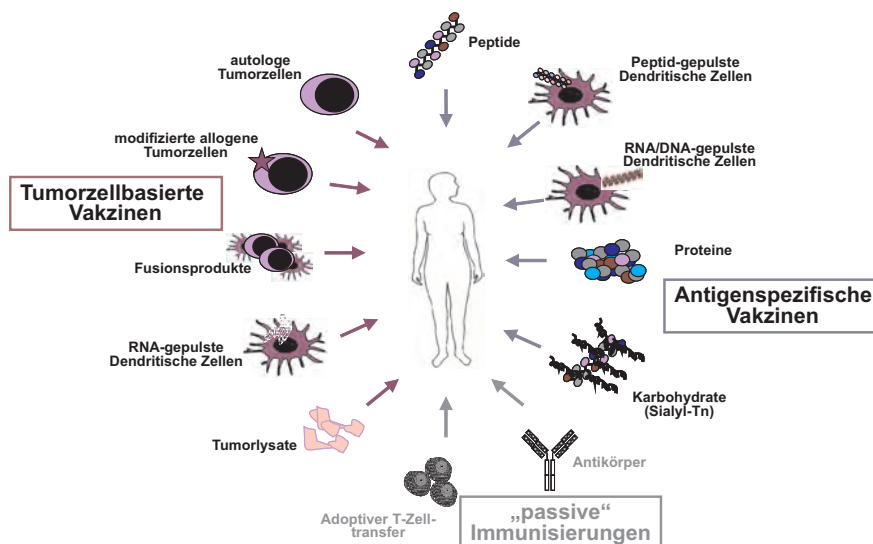


Abb. 3: Vakzinen können in „aktive“ (Tumorzell-basierte und antigenspezifische Vakzinen) oder „passive“ (adoptiver T-Zelltransfer) Immunisierungsstrategien unterteilt werden. Beim adoptiven T-Zelltransfer werden ex vivo aktivierte, immunkompetente Effektorzellen direkt appliziert. Zu den „passiven“ Immunisierungen wird die Applikation therapeutischer Antikörper gerechnet, obwohl eine ihrer Wirkungsweisen die Aktivierung zellulärer Immunantworten sein kann. Bei Antigen-definierten Vakzinen in Form von Proteinen, Peptiden, DNA oder RNA können Dendritische Zellen als „Fähren“ genutzt werden, da sie eine Schlüsselrolle in der T-Zellaktivierung spielen. Tumorzellen selbst können nach immunogenitätssteigernden Modifikationen als Antigenreservoir genutzt werden. Die autologe Tumorzellvakzination hat heute in klinischen Studien kaum noch eine Bedeutung.

ses against antigens included in the vaccine as shown by enzyme-linked immunospot-assay. The treatment was well tolerated demonstrating that immunization strategies could be added to current standard therapeutical regimens such as the application of zoledronic acid and letrozol.

Projektleitung

PD Dr. Brigitte Gückel
Prof. Dr. Diethelm Wallwiener
Prof. Dr. Tanja Fehm

Eberhard Karls Universität Tübingen
Frauenklinik
AG Tumorimmunologie/Immuntherapie
Calwerstraße 7
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 77626
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

brigitte.gueckel@uni-tuebingen.de
diethelm.wallwiener@med.uni-tuebingen.de
Tanja.Fehm@med.uni-tuebingen.de

www.universitaetsfrauenklinik-tuebingen.de/forschung/forschungsschwerpunkte/onkologie.html





Untersuchung der Immunantwort bei Krebspatienten

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel

Cecile Gouttefangeas

Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Krebszellen produzieren veränderte Eiweißstoffe, entweder durch eine neue Expression, Überexpression oder Produktion mutierter Proteine, die als Tumor-assoziierte Antigene bezeichnet werden. Jeder einzelne Tumor exprimiert mehrere dieser Antigene, und Tumore von verschiedenen Zelltypen tragen gemeinsame, aber auch Gewebe-spezifische Tumor-assoziierte Antigene. Es ist schon länger bekannt, dass Tumor-assoziierte Antigene von spezifischen B- und T-Lymphozyten des Immunsystems häufig erkannt werden. Diese anti-tumoralen Eigenschaften des Abwehrsystems können sowohl für die frühzeitige Diagnostik als auch für die Therapie von Krebspatienten eingesetzt werden. Insbesondere können die CD8 Killer T-Lymphozyten die Krebszellen abtöten. Basierend auf diesem Wissen, werden z. Zt. weltweit verschiedene Immuntherapie-Ansätze getestet, mit dem allgemeinen Ziel, eine effiziente anti-Tumor Immunantwort in Krebspatienten zu induzieren. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse zeigen, dass es im Prinzip möglich ist, das körpereigene Immunsystem gegen die Tumorzellen zu stimulieren. Eine klinische Verbesserung ist bislang jedoch nur bei einem Teil der Patienten zu beobachten gewesen. Daher ist ein erweitertes Verständnis der anti-Tumor Immunantwort von besonderer Bedeutung. Darüber hinaus werden derzeit auch verschiedene Adjuvantien zur Verstärkung der Immunantwort untersucht.

Ziele

Ziel unseres Projekts ist es, die komplexen Interaktionen zwischen Tumoren und dem Antigen-spezifischen Immunsystem zu untersuchen. Dabei sind die zellulären Effektoren und die inhibitorischen Mechanismen, die an der Immunantwort beteiligt sind, von besonderer Bedeutung. Daher charakterisieren wir sowohl die Effektor- und regulatorischen T-Zellen, als auch die humorale Antwort gegen Krebsrelevante Antigene. Wir erhoffen uns dadurch die anti-Tumor Immunantwort näher charakterisieren zu können, um neue Ansätze für die Diagnose und Therapie zu entwickeln.

Strategie

Anti-Tumor Antikörper und T-Zell Subpopulationen werden sowohl im Blut als auch im Tumorgewebe analysiert. Untersucht werden vor allem Patienten mit Nierenzell- und Prostatakarzinomen. Zusätzlich werden Patienten, die aktuell an einer T-Zell basierten Immuntherapie-Studie teilnehmen, auf die Induktion von anti-Vakzin T-Lymphozyten getestet. Dafür werden Blutzellen isoliert und verschiedene in vitro Analysen durchgeführt. Wir untersuchen neben der Antikörper vermittelten (humoralen) Immunantwort, auch Subpopulationen bestimmter T-Lymphozyten. Diese sind Effektor-, regulatorische und zytotoxische CD4 Helferzellen und CD8 Zellen, deren anti-tumorale Aktivität durch die Produktion von Zytokinen nachgewiesen wird.

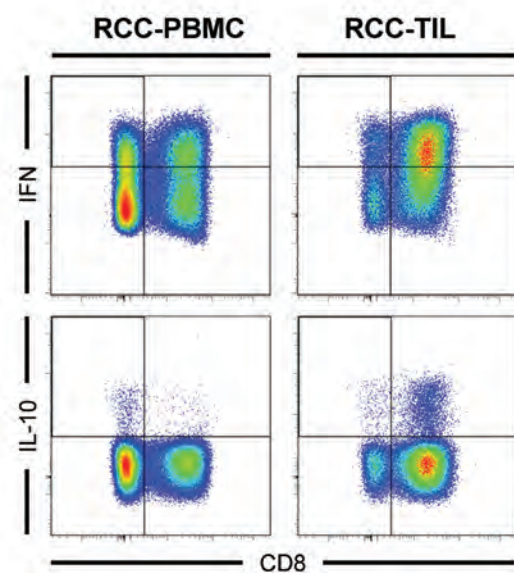


Fig. 1: Functional subpopulations of T lymphocytes in one patient with renal cell carcinoma. Production of IFN- γ and IL-10 is increased in intratumoral CD8 T cells (RCC-TIL) as compared to autologous peripheral counterparts (RCC-PBMC). Intracellular cytokine staining in flow cytometry after stimulation with PMA and ionomycin.

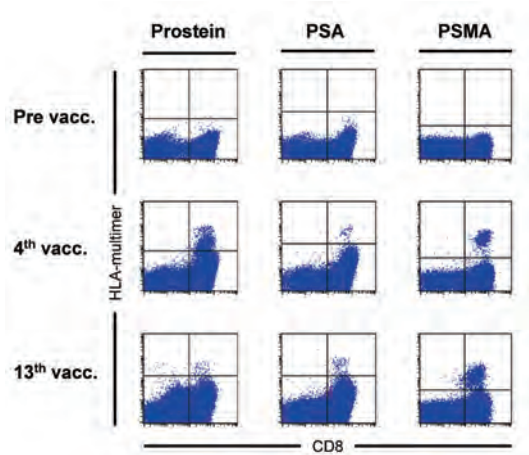


Fig. 2: Monitoring of T cell response during immunotherapy: immunisation of a prostate carcinoma patient with a mix of HLA-class I and -class II synthetic peptides. Flow cytometry analysis shows the induction of CD8 T cells recognizing three peptides derived from the tumor-associated antigens Prostein, PSA and PSMA.

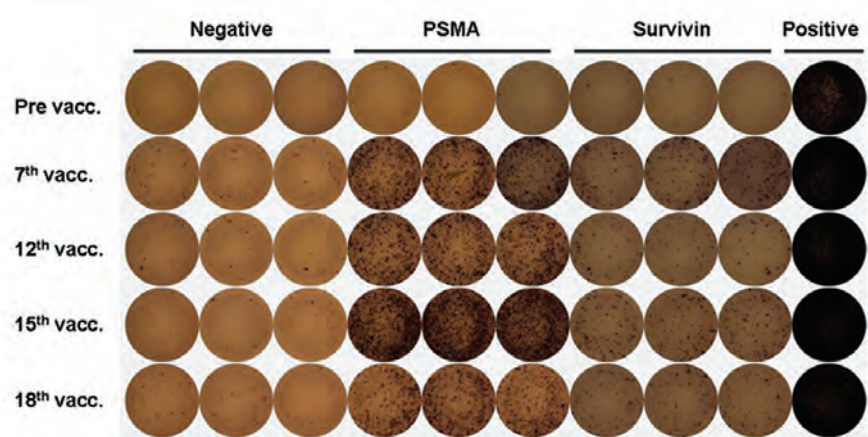


Fig. 3: Monitoring of T cell response during immunotherapy: immunisation of a prostate carcinoma patient with a mix of HLA-class I and -class II synthetic peptides. IFN- γ ELISPOT shows the induction of anti-PSMA and anti-Survivin CD4 T-cells. Negative = irrelevant peptide; positive= Staphylococcal enterotoxin B.

Immunomonitoring in cancer patients

Human malignancies frequently elicit spontaneous immune responses in cancer patients. Numerous tumor-associated antigens recognized by specific antibodies and T cells have been identified over the past years, and these provide essential tools for the development of T-cell based immunotherapies. Although many trials have been carried out, therapy-induced tumor regressions have only been observed in a minority of the patients. Thus, immunotherapy is still a challenging area in which the optimal targeted antigen(s), format, dose, route and adjuvants, as well as various strategies to circumvent T-cell tolerization are being intensively tested. Immunomonitoring in cancer patients is a tedious task, since the T cell frequencies which have to be measured are often very low. Moreover, the immune responses to cancer vaccines do not correlate consistently with clinical benefit, underlying the current lack of surrogate immune marker for vaccine efficacy. We are focusing on the description of adaptive immune responses against tumors in cancer patients, either before or during therapy including immunotherapy. To this aim, fine subsets of T cells are investigated at the phenotypic and at the functional level. The antibody response against various tumor-associated antigens is also evaluated.

Additionally, we are a founding member and co-organiser of the Cancer Immunotherapy Immunoguiding Program (CIP). The aim of this young international work-

ing group is to evaluate, compare and improve the sensitivity and reproducibility of the techniques and protocols applied for the enumeration of antigen-specific T-cells, and thus to contribute to the accurate evaluation of immunotherapy trials.

Projektleitung

Dr. Cécile Gouttefangeas

Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Zellbiologie,
Abt. Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 80994

Fax: 0049/(0)7071/29 5653

cecile.gouttefangeas@uni-tuebingen.de

<http://cms.elchtools.de>





Individualisierte spezifische Immuntherapie beim malignen Melanom

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas

Claus Garbe

Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Das maligne Melanom ist in eine Tumorerkrankung mit steigender Inzidenz. Im Stadium der Fernmetastasierung beträgt die mediane Überlebenszeit 9 Monate. Die in Deutschland zugelassenen Substanzen Interferon- α und Dacarbazin zeigen jeweils nur bei einem Teil der behandelten Patienten einen klinischen Vorteil. Aufgrund des Fehlens wirksamer Substanzen einerseits und einem rasanten Wissenszuwachs in dem Feld der Immunologie andererseits wurde in den letzten Jahren intensiv versucht spezifische Immuntherapien zu etablieren, zum Beispiel die Vakzination mit Peptiden oder Antigen-beladenen dendritischen Zellen. Die Wirksamkeit blieb allerdings bislang deutlich hinter den Erwartungen zurück, obwohl spezifische T-Zellen durch diese Verfahren im Blut der Patienten induziert werden konnten. Jüngeren Erkenntnissen nach scheinen zwei Faktoren hierfür ursächlich zu sein: die durch den Tumor induzierte Unterdrückung einer effektiven Abwehrreaktion einerseits und die Variabilität der Tumorzellen von Patient zu Patient andererseits.

Ziele

Als Ziel hat sich unsere Arbeitsgruppe gesetzt, präklinisch vielversprechende immuntherapeutische Ansätze Patienten in ersten klinischen Studien anzubieten, um so die Entwicklung von wirksamen Immuntherapien voranzubringen. Konzeptionell bedeutend ist die Überzeugung, dass eine hohe Effektivität nur dann möglich ist, wenn individuelle Eigenschaften der Tumorzellen (z.B. das Vorhandensein von Oberflächenstrukturen oder von Mutationen) des jeweiligen Patienten bei der individuellen Therapieplanung berücksichtigt werden, um so eine "maßgeschneiderte" Therapie zu ermöglichen.

Strategie

Drei therapeutische Ansätze werden verfolgt: 1) Die individualisierte Impfung mit mRNA, die für Melanom-spezifische Merkmale kodiert 2) Die Erzeugung einer spezifischen Abwehrreaktion durch direkte Injektion von Interleukin-2 in Tumorgewebe. 3) Die Therapie mit im Labor vermehrten, gegen Melanomzellen gerichteten T-Zellen (sogenannter adoptiver T-Zell-

Transfer) nach Zerstörung des ineffektiven Abwehrsystems durch Chemotherapie.

Der klinische Einsatz im Rahmen von Phase I/II-Studien unter den aktuellen regulatorischen Anforderungen wird ermöglicht durch intensive Netzwerkbildung sowohl zwischen universitären Arbeitsgruppen (z.B. hinsichtlich der Nutzung der GMP-Einheiten zur Herstellung der Prüfsubstanzen), als auch durch Kooperationen mit Industriepartnern.

Individualized specific immunotherapy in malignant melanoma

Even if melanoma-specific T cells can be induced by specific immunotherapy, e.g. by vaccination with peptide-loaded dendritic cells, clinical responses are rare. Two hypotheses may explain the lack of efficacy: 1) tumor-induced tolerance, e.g. mediated by regulatory T cells (Tregs), which prevent the specific cells to attack the tumor and 2) lack of the targeted antigen in the tumor cells either after down-regulation upon therapeutic stress or due to individual differences between patients. Our approach follows the aim to induce clinical responses by addressing these aspects. Three therapeutic strategies are under development: 1. Vaccination with mRNA coding for melanoma-associated antigens after expression anal-

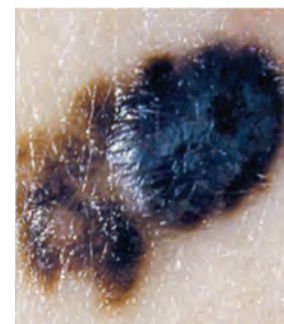


Abb. 1: primäres Melanom der Haut mit typischem Aussehen.

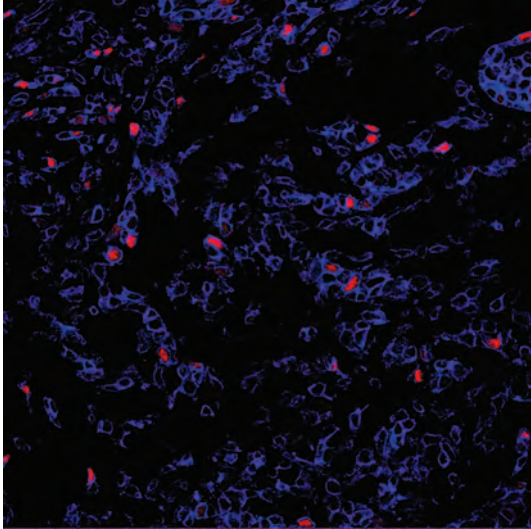


Abb. 2: Fluoreszenzmikroskopische Darstellung von regulatorischen T-Zellen im Tumorgewebe nach Interleukin-2 (rot: Fox-P3, blau: CD3).

ysis of autologous tumor cells. 2. Induction of systemic immune responses after locally applied intratumoral Interleukin-2 combined with systemic anti-CTLA4-antibodies (ipilimumab). 3. Individualized MHC-II-peptide vaccination in combination with adoptive T-cell transfer after lymphodepletion in malignant melanoma. The translation of these strategies into phase I/II clinical trials under the current regulatory requirements is achieved by creation of a broad network between work groups as well as by cooperations with industrial partners.

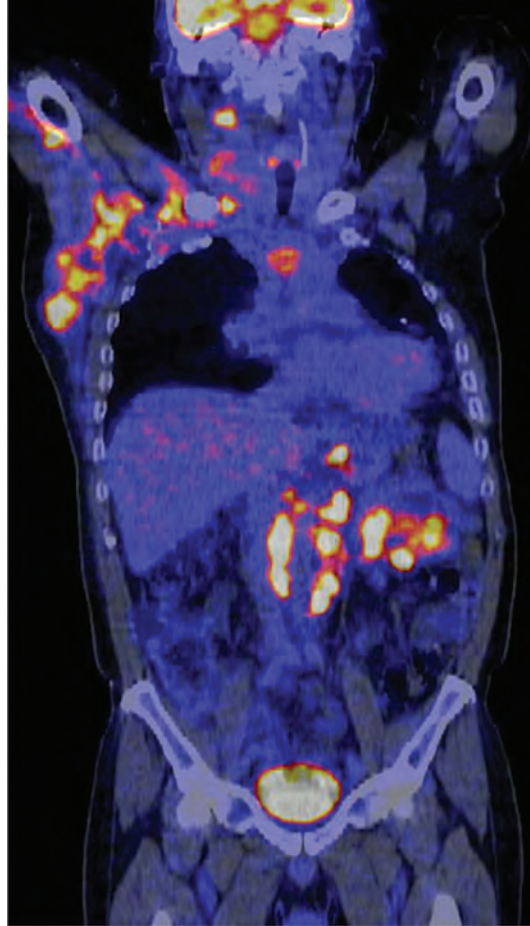


Abb. 4: Durch interdisziplinäre Zusammenarbeit wird eine modernste Ausbreitungsdiagnostik der Tumorerkrankung ermöglicht. Dargestellt sind Aufnahmen einer PET-CT Untersuchung.



Abb. 3: Das Zentrum für Dermatoonkologie Tübingen wurde 2009 von der Deutschen Krebsgesellschaft als Hauttumorzentrum zertifiziert.

Projektleitung

Prof. Dr. Claus Garbe
Dr. Benjamin Weide

Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitäts-Hautklinik
Zentrum für Dermatoonkologie
Liebermeisterstraße 25
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87110
Fax: 0049/(0)7071/29 5187

claus.garbe@med.uni-tuebingen.de
benjamin.weide@med.uni-tuebingen.de

www.dermonko.de





Zellzyklus-Deregulation und tumorspezifisch aktivierte Signaltransduktionswege in malignen Lymphomen

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe

Falko Fend

Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier

Leticia Q-M de Fend

Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit zwei Typen von Non-Hodgkin-Lymphomen, dem ALK-positiven großzellig-anaplastischen T-Zelllymphom (ALCL) und dem Mantelzelllymphom (MCL), die paradigmatisch für das aktuelle Dilemma der auf molekulare Zielstrukturen ausgerichteten therapeutischen Ansätze stehen. Obwohl bei beiden Lymphomen die primäre, tumordefinierende genetische Aberration bekannt ist, sind die pathogenetischen Mechanismen und ihre Bedeutung für die Tumorentstehung und -progression nur zum Teil entschlüsselt. Beim ALCL identifizierten wir den Transkriptionsfaktor C/EBP β als spezifischen Marker und Zielmolekül der onkogenen ALK-Kinase. C/EBP β ist von zentraler Bedeutung für Proliferation und Überleben der Tumorzellen und spielt möglicherweise für den eigenartigen Phänotyp dieses Lymphoms mit Verlust von T-Zell- und Hochregulation von Makrophagenmarkern eine wichtige Rolle. Das MCL ist durch die Überexpression des Zellzyklusproteins Cyclin D1 gekennzeichnet. Die mechanistische Erklärung, dass es dadurch zu einer Deregulation des Zellzyklus mit ungehemmter Proliferation kommt, erklärt die Pathogenese des MCL nur unzureichend. Wir konnten zeigen, dass die spezifische Blockade von Cyclin D1 in MCL-Zelllinien nur geringe Auswirkungen auf Proliferation und Vitalität der Tumorzellen hat, da es zu einer kompensatorischen Hochregulation von Cyclin D2 kommt, was die bisherigen unbefriedigenden Ergebnisse entsprechender klinischer Therapieansätze mit erklären könnte.

Ziele

Die klinische Wirksamkeit gezielter Therapieansätze bei malignen Lymphomen wird durch redundante Aktivierung von überlebensrelevanten Signalkaskaden, sekundäre genetische Alterationen und Resistenzentwicklung der Tumorzellen beeinträchtigt. Unser Ziel ist es, exemplarisch beim Mantelzelllymphom und beim großzellig-anaplastischen T-NHL durch systematische in vitro Analyse wichtiger Signaltransduktionswege therapeutisch nutzbare Schlüssel-moleküle für die Entstehung und Progression dieser beiden Lymphomtypen zu identifizieren und mögliche

Resistenz- und Ausweichmechanismen aufzudecken. Begleitende Validierung der in vitro erhobenen Befunde am Primärtumormaterial soll sicherstellen, klinisch relevante Kandidatenmoleküle und Signalwege zu erfassen.

Strategie

Basierend auf unseren Erfahrungen mit lentiviralem Transfer von siRNAs in schwierig transfizierbare Lymphomzelllinien werden wir mit dieser Methode gezielt deregulierte Proteine ausschalten und die Auswirkungen auf Zellzyklusprogression, Apoptose und den Aktivierungsstatus von

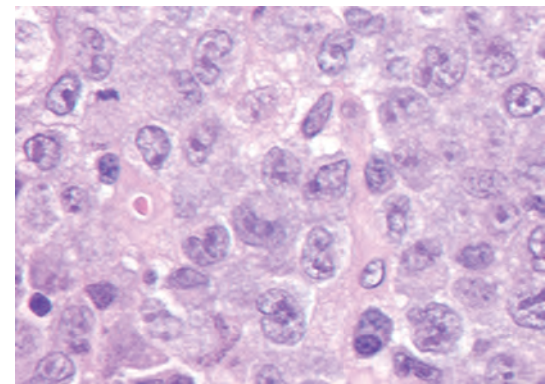


Abb. 1: Großzellig-anaplastisches Lymphom mit typischen, großen blastären Tumorzellen mit oft bohnenförmigen Zellkernen (HE, 400x)

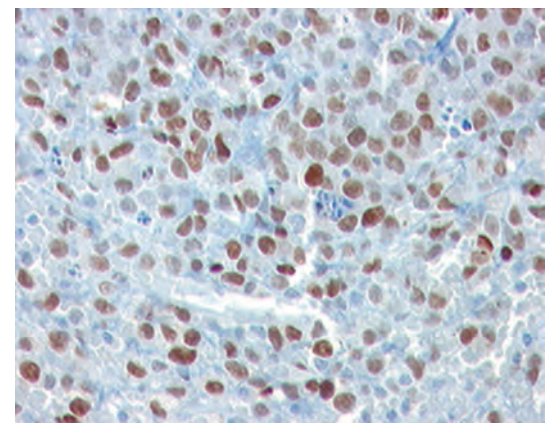


Abb. 2: ALCL mit nukleärer Expression von C/EBP β .

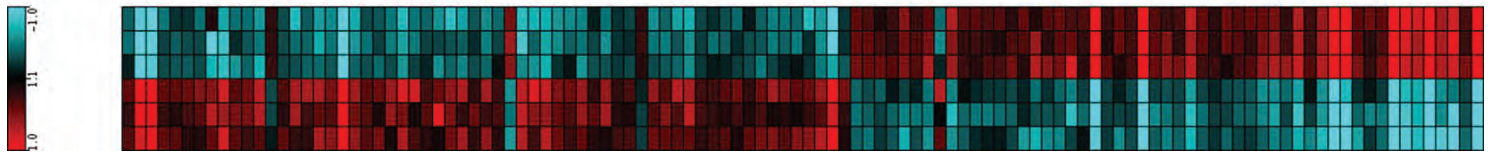


Abb. 3: Heatmap der unterschiedlich exprimierten Gene bei vergleichender Genexpressionsanalyse vor und nach siRNA Knockdown von CEBP β in einer ALCL-Zelllinie; Affymetrix Plattform.

Signal-molekülen analysieren. Durch vergleichende Genexpressionsanalyse mittels Mikroarrays von siRNA-behandelten und unbehandelten Zelllinien werden potentielle Zielgene identifiziert und auf Proteinebene und im Primärtumormaterial validiert. Für Transkriptionsfaktoren wie C/EBP β kommt auch die Chromatin-Immunopräzipitation zum Nachweis von Promoterbindungsstellen zum Einsatz. Diese Ansätze werden durch pharmakologische Inhibitoren als Brücke zu präklinischen Therapiestrategien ergänzt.

Cell cycle deregulation and activated signal transduction pathways in malignant lymphoma

The work of our hematopathology research group focuses on two malignant lymphomas, ALK+ anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and mantle cell lymphoma (MCL). These neoplasms highlight the current dilemma which hampers progress in targeted therapies: although the primary, disease-defining genetic alterations are well known, their precise pathogenetic mechanisms and relevance for tumor cell survival and proliferation are only partly understood. In previous work, we identified the transcription factor C/EBP β as a central target of ALK kinase and a specific marker for ALCL. C/EBP β not only is necessary for growth and survival of ALCL cell lines, but possibly is also responsible for the peculiar hybrid phenotype of this lymphoma. Currently, we are investigating the role of this transcription factor and its downstream targets in ALCL cell lines with an array of techniques, including siRNA-mediated gene knockdown, comparative expression profiling and chromatin immunoprecipitation. The hallmark of MCL is the overexpression of the cell cycle protein cyclin D1 through the translocation t(11;14). However, the mechanistic hy-

pothesis, that this results in deregulation of the cell cycle and unimpeded proliferation, is insufficient to explain MCL pathogenesis. Using lentiviral transfection of specific siRNA, we demonstrated that knockdown of cyclin D1 has only mild effects on cell proliferation and survival, probably due to compensatory upregulation of cyclin D2. Using a similar approach as described above, we plan to dissect the functional role of cyclin D1 in MCL to identify key molecules for MCL pathogenesis which might represent potential targets for specific therapies.

Projektleitung

Prof. Dr. Falko Fend
PD Dr. Leticia Quintanilla-Martínez de Fend

Eberhard Karls Universität Tübingen
Institut für Pathologie
Liebermeisterstr. 8
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 82266
Fax: 0049/(0)7071/29 2258

falko.fend@med.uni-tuebingen.de
Leticia.Quintanilla-Fend@med.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de
/pathologie/





Diabetesprävention durch gezielte Reduktion von oxidativem Stress in beta-Zellen

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend

Gisela Drews

Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Erst seit kurzem ist klar, dass auch bei Typ 2 Diabetes mellitus (T2DM) ein Entzündungsgeschehen vorliegt. Mit dieser Erkenntnis war ein Paradigmenwechsel verbunden: T2DM entsteht primär durch Versagen der beta-Zellen des Pankreas und nicht durch Insulinresistenz. Die beta-Zellen werden sowohl in ihrer Funktion, der Insulinsekretion, beeinträchtigt als auch in ihrer Anzahl durch programmierten Zelltod reduziert. Entscheidend dabei ist die Schädigung der beta-Zellen durch reaktive Sauerstoff- (ROS) und Stickstoffspezies (RNS), die bei einem Überangebot von Glucose und freien Fettsäuren gebildet werden. Für dieses Phänomen in Zusammenhang mit T2DM wurde der Begriff Glucolipotoxizität geprägt. ROS/RNS werden zum einen von Immunzellen gebildet und zum anderen in den beta-Zellen selbst, da Immunzellen u.a. Zytokine abgeben, die wiederum in den beta-Zellen Signalwege stimulieren, die zur Bildung von ROS/RNS führen. Da beta-Zellen, im Vergleich zu anderen Zellen, sehr schlecht mit antioxidativen Mechanismen ausgestattet sind, sind sie extrem anfällig gegenüber oxidativem Stress. Bisher gibt es keine therapeutischen Strategien, mit denen T2DM verhindert werden kann. Dies wäre aber dringend erforderlich, um das weltweit rasante Ansteigen von T2DM zu stoppen. Alle Signalwege, die bei Glucolipotoxizität die ROS/RNS-bedingten Schädigungen der beta-Zellen verringern, sind deshalb hochinteressante Angriffspunkte für eine mögliche präventive Therapie.

Ziele

Ziel ist es, Strategien zu entwickeln, um oxidativen Stress bei T2DM spezifisch in beta-Zellen in einem möglichst frühen Stadium zu reduzieren. Bei oxidativem Stress kommt es zum Entgleisen des Gleichgewichts zwischen Entstehung von ROS/RNS und deren Beseitigung. ROS entstehen in beta-Zellen Glucose-abhängig bei der oxidativen Phosphorylierung in Mitochondrien und durch die NADPH Oxidase. Stickstoffmonoxid (NO) wird durch die Zytokin-induzierbare NO-Synthase gebildet. Um oxidativem Stress vorzubeugen, kann deshalb in die Signalwege eingegriffen werden, die an der ROS/RNS-Entstehung beteiligt sind oder

die antioxidative Kapazität der beta-Zellen durch Hochregulation antioxidativer Enzyme bzw. dem Einsatz von Enzymmimetika erhöht werden.

Strategie

Wir konnten zeigen, dass Modulation eines Ionenkanals beta-Zellen vor oxidativem Stress schützt, da dies zur Hochregulation antioxidativer Enzyme führt. Dieser Signalweg muss weiter aufgeklärt werden, um spezifischere Angriffspunkte zur Aktivitätssteigerung der Enzyme zu identifizieren. Ein weiterer Aspekt gilt der Reduzierung der ROS/RNS Bildung, indem wir Zytokinwirkung und die ROS/RNS-bildenden Signalwege spezifisch hemmen. Bei der Entwicklung entsprechender Inhibitoren werden wir die enorme Expertise anderer TransLimm-Mitglieder nützen. Der Erfolg der Strategien wird in vitro und in diabetischen Mausmodellen evaluiert.

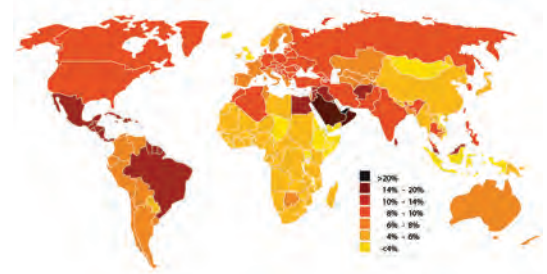


Fig. 1: Prevalence estimates of diabetes, 2005. (Diabetes Atlas 3rd Edition, © International Diabetes Federation, 2006).

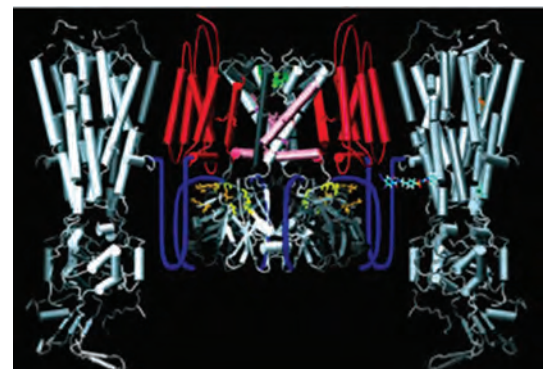


Fig. 2: Structure of the KATP channel. (Bryan, Drews et al., Pflügers Arch. 453, 2007).

Prevention of diabetes by targeted reduction of oxidative stress in beta-cells

Recent findings uncovered a low-grade inflammation in islets of patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) characterized by the presence of immune cells, cytokines and fibrosis. It became clear that beta-cell failure is the critical incident and not insulin resistance. The formation of reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS) is crucial for the pathogenesis of T2DM. ROS/RNS production in beta-cells is stimulated by fuel overload, mainly glucose and free fatty acids, that is termed glucolipotoxicity. Immune cells also generate ROS/RNS and are capable to induce ROS/RNS formation in beta-cells. Main sources of ROS/RNS in beta-cells are mitochondria, NADPH oxidase, and cytokine-induced NO synthase. Beta-cells are equipped with extremely low antioxidant defence mechanisms. Thus, oxidative stress harms beta-cells by impairing their function (insulin secretion) and decreasing their viability by inducing apoptosis. Up to date no strategy is available to prevent T2DM. We have shown that upregulation of antioxidative enzymes in beta-cells is possible by modulating the activity of K_{ATP} channels. This manoeuvre prevents oxidative stress-induced impairment of insulin secretion and loss of beta-cell mass. Our aim is to identify other and more appropriate targets in beta-cells to enhance the antioxidative capacity. A second strategy will focus on the search for targets to inhibit fuel- and cytokine-induced pathways that trigger ROS/RNS formation in beta-

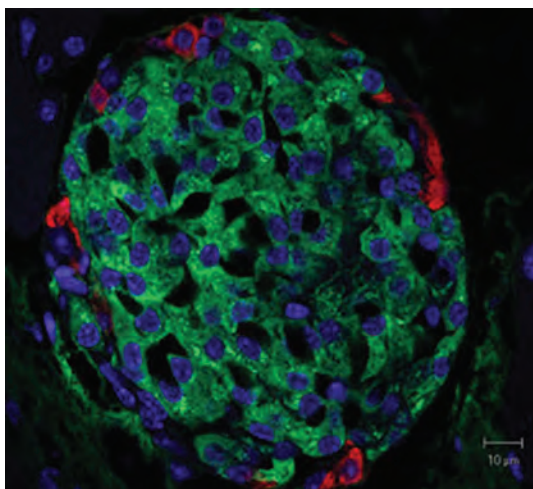


Fig. 3: Fluorescent image of a mouse islet of Langerhans. Red: glucagon, green: insulin, blue: nuclei. (From Prof. M. Solimena, Paul Langerhans Institute, Dresden).

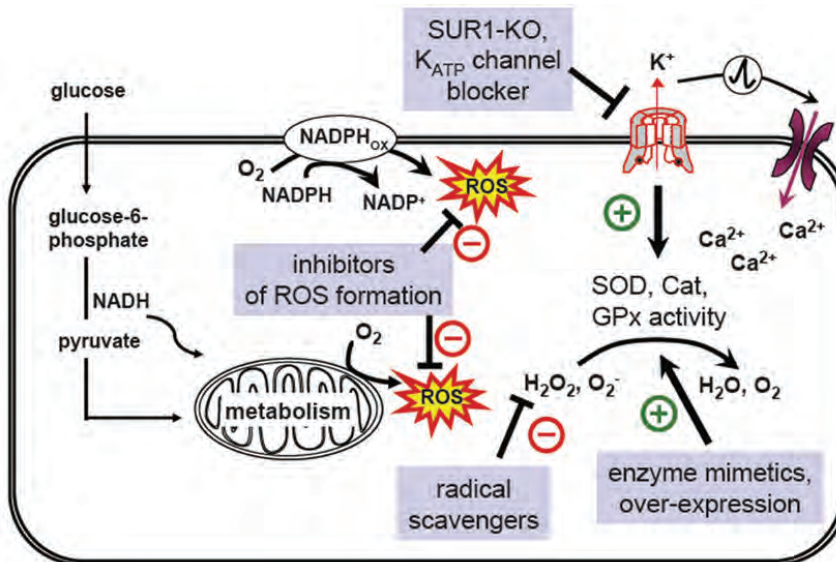


Fig. 4: Possible targets for beta-cell protection against oxidative stress.

cells. The success of these strategies will be evaluated in experiments with primary mouse beta-cells and with diabetic mouse models.

Projektleitung

Prof. Dr. Gisela Drews

Eberhard Karls Universität Tübingen
Pharmazeutisches Institut
Pharmakologie & Toxikologie
Auf der Morgenstelle 8
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 77559

Fax: 0049/(0)7071/29 5382

gisela.drews@uni-tuebingen.de

www.uni-tuebingen.de/pharmazie/index.html





Immunsignaturen zur Prognose klinisch relevanter Reaktionen auf Immuntherapien

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews

Graham Pawelec

Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Das körpereigene Immunsystem ist in der Lage, Krebs als fremd zu erkennen und zu vernichten. Doch führt die Entwicklung von Krebsvarianten innerhalb des Körpers über viele Jahre oder Jahrzehnte oft zu Immuntoleranz, so dass das Immunsystem nicht vor dem Ausbreiten der Krankheit schützen kann. Man weiß sehr wohl, dass eine therapeutische Impfung mit Krebsantigenen die Immunantworten gegen Tumoren reaktivieren kann, doch nur eine Minderheit von Patienten zeigt in klinischen Versuchen auch eine klinisch zufrieden stellende Reaktion. Unterschiedliche Wege der Impfung und die Kombination von Immunmodulatoren in multimodalen Therapien können zu unterschiedlichen Reaktionsraten in unterschiedlichen Patienten führen. Es erwies sich als schwierig, im Voraus zu sagen, welche Patienten auf welche Therapie reagieren würden. Wenn wir herausfinden, welche Immunparameter mit klinisch relevanten Reaktionen assoziiert sind, können wir die Mechanismen erfolgreicher Antitumorreaktionen besser verstehen, was uns helfen würde, die passende, optimale Behandlung für den jeweiligen Patienten zu finden.

Ziele

Wir analysieren gleichzeitig mehrere Immunparameter des jeweiligen Patienten und erstellen eine patientenspezifische „Immunsignatur“, die vorhersagt, wie gut ein Patient auf die folgende Therapie ansprechen wird. Mit der Zeit verstehen wir immer besser, warum bestimmte Immuntherapien in einigen Patienten wirken, in anderen jedoch nicht. So können jene Patienten ausgesucht werden, die am wahrscheinlichsten von einer speziellen Therapie profitieren.

Strategie

Wir analysieren Blutproben von Patienten vor Therapie und bringen die Ergebnisse der Analysen in Zusammenhang mit den späteren klinischen Reaktionen. Die Patienten in unserem Projekt haben Melanome, Nieren- oder Brustkrebs und werden mit unterschiedlichen Immuntherapien behandelt. Wir erstellen patientenspezifische „Immunsignaturen“, die den Zustand des Immunsystems der jeweiligen

Person reflektieren. Immunsignaturen bestehen aus mehreren Parametern: Unter anderem wird bestimmt, welche Arten von Immunzellen im Blut vorhanden sind, und wie funktionsfähig diese sind. Mit Hilfe der Immunsignaturen wollen wir Reaktionen auf Immuntherapien prognostizieren und die am besten geeignete Therapie individuell für jeden einzelnen Patienten aussuchen.

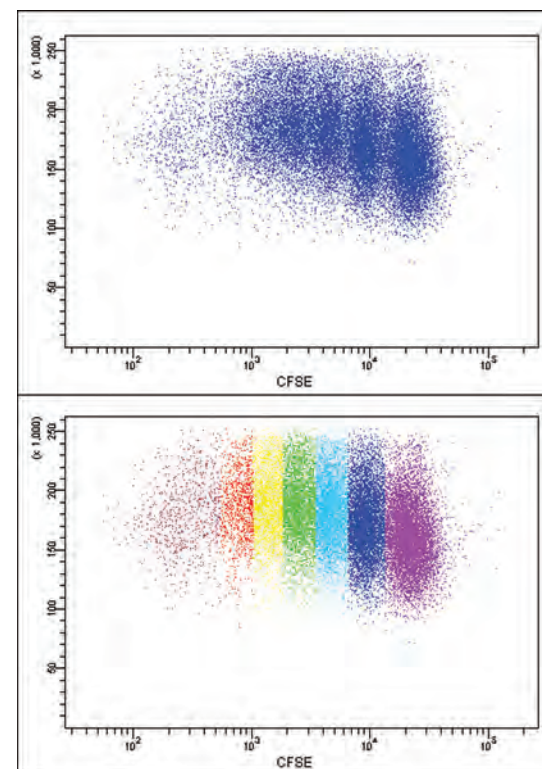


Fig. 1: Flow Cytometry: CFSE based Proliferation assay

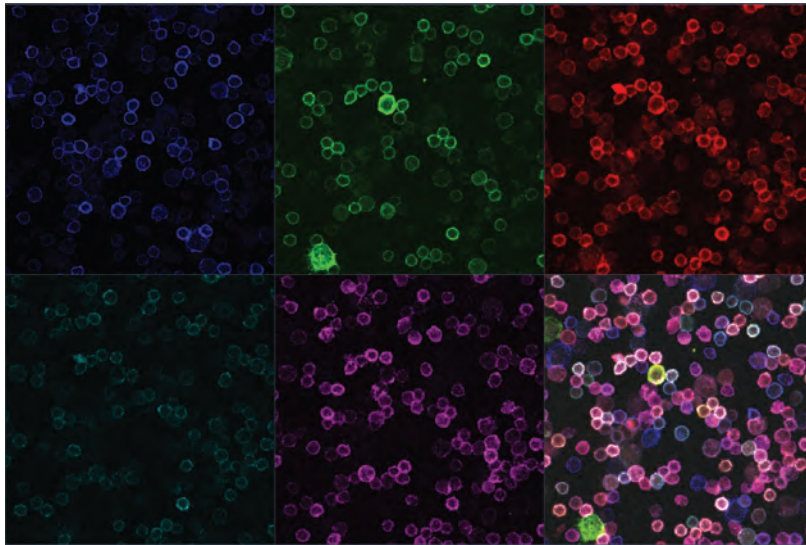


Fig. 2: Fluorescent microscopy of immune cells in peripheral blood.

Immune signatures predicting clinically-relevant responses to immunotherapy

Identifying immune parameters distinguishing between patients who respond well to immunotherapy and those who do not will assist in developing improved protocols and patient selection for clinical trials. This project aims to identify and validate robust immune biomarkers predicting therapeutic responses. On the basis of our preliminary results in prostate cancer, we are investigating correlations between pre-vaccination subsets of circulating immune cells, especially Th17 cells, and clinical outcome. We are currently determining whether this approach is also informative in melanoma, breast and renal cancer trials, and are studying immune signatures prior to, during and after different immunotherapy procedures (both in Tübingen patients and those from international collaborations). Using 17-colour flow cytometry, in addition to Th17 cells, we are analysing suppressor regulatory T-cells (Tregs), the presence of naïve and memory cells, as well as the overall and tumour antigen-specific proliferative, cytotoxic and cytokine-production repertoire of cancer patient's T-cells ("T-cell polyfunctionality"), and telomere length. These parameters are compared with age- and gender-matched healthy controls and correlated with clinical outcome of patients under immunotherapy. We are elucidating the mechanism(s) by which Th17 cells might hamper the induction of an efficient antitumor immune response

elicited by a vaccine. These results will help us to understand and to predict clinically-relevant outcomes, to improve active immuno-therapy protocols, and to better match patients to immunotherapies most likely to succeed.

Projektleitung

Prof. Dr. Graham Pawelec
Dr. Evelyn Derhovanessian

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Klinik II
Waldhörnle Strasse 22
72072 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 82805
Fax: 0049/(0)7071/29 4677

graham.pawelec@uni-tuebingen.de
evelyna.derhovanessian@klinikum.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de/transplant-immu/index.html





Entwicklung, Produktion und initiale klinische Erprobung von gentechnisch optimierten Antitumor-Antikörpern

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec

Gundram Jung

Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Monoklonale Antikörper haben die Tumorthherapie in Teilbereichen deutlich verbessert. In vielen Fällen ist ihre therapeutische Aktivität allerdings immer noch begrenzt. Die Entwicklung neuer Antikörper mit verbessertem therapeutischen Potential bis zu ersten klinischen Studien ist allerdings langwierig und dauert gegenwärtig etwa 10 Jahre.

Die Vision unseres vom BMBF unterstützten Vorhabens ist es, auf der Basis langjähriger, eigener Vorarbeiten gentechnisch optimierte Antitumor-Antikörper zu entwickeln und diese möglichst rasch vom Labor zum Patienten zu bringen. Dazu sollen die wesentlichen Schritte in diesem Prozess, die Antikörperoptimierung, -produktion und initiale klinische Erprobung an der Universität Tübingen durchgeführt werden. Wir haben bereits mehrere in Tübingen entwickelte Antikörper gentechnisch optimiert und charakterisiert. Als Lead1-Antikörper wurde dabei 4G8-SDIEM definiert, ein FLT3-Antikörper, dessen biologische Aktivität in vitro durch Mutationen (SDIEM) deutlich verbessert worden ist. Der Antikörper ist mittlerweile in der im Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin (ZKT) durch Dr. Steffen Aulwurm etablierten Produktionseinheit in industrieller Qualität und Quantität produziert worden (s. Abb.1&2). Er soll in Kürze zur Behandlung von Patienten mit akuter Leukämie eingesetzt werden. Damit ist exemplarisch gezeigt, dass es unter geeigneten Bedingungen möglich ist, in einem Zeitraum von drei Jahren innovative Antikörper vom Labor in die Klinik zu bringen.

Ziele

Basierend auf unserer langjährigen Erfahrung mit bispezifischen Antikörpern (Abb. 3) möchten wir in der Zukunft mit der Entwicklung eines neuen, verbesserten bispezifischen Formats und neuer Antikörper gegen vaskuläre Zielantigene die Grundlage für eine Produktpipeline legen: Im nächsten Jahr soll als Lead2-Produkt ein bispezifischer Antikörper mit FLT3-Spezifität im neuen Format bis zur Produktionsreife weiter entwickelt werden. Während auch dieses Produkt zur Behandlung akuter Leukämien vorgesehen ist, soll Lead3, ein optimierter Antikörper gegen ein vaskuläres Zielantigen, bei un-

terschiedlichen soliden Tumoren eingesetzt werden und damit ein breiteres Indikationsgebiet abdecken. Diese Produktpipeline, soll noch weiter ausgebaut und wie oben skizziert möglichst rasch klinisch evaluiert werden.

Strategie

Antikörper, für die in klinischen Pilotstudien eine therapeutische Wirksamkeit nachgewiesen kann, sollen in Zusammenarbeit mit der pharmazeutischen Industrie bis zur Zulassung weiter entwickelt werden. Wir erwarten, dass mit der hier umrissenen Strategie und der damit vorgesehenen



Abb. 1&2: Vom Labor in die Klinik: Die GMP-konforme Antikörperproduktion für klinische Pilotstudien an der Universität ist eine unabdingbare Voraussetzung für eine verbesserte und beschleunigte Entwicklung von Antitumor-Antikörpern. Am neu errichteten GMP-Gebäude des Universitätsklinikums Tübingen ist mittlerweile eine Einheit etabliert, die Antikörper in industrieller Qualität und Quantität liefern kann (Dr. Steffen Aulwurm). Möglich gemacht hat dies die „disposable technology“, bei der die Fermentation („upstream“, Abb. 1) und die Reinigung („downstream“, Abb. 2) weitgehend unter Verwendung von Einmalmaterialien erfolgen.

neuen Schnittstelle zwischen universitärer und industrieller Entwicklung der „translationalen Prozess“ für innovative, therapeutische Antikörper in paradigmatischer Weise verbessert und beschleunigt werden kann.

Translational research with monoclonal antibodies

Monoclonal antibodies have considerably improved the treatment of some malignancies. However, this success story has its limitations: some patients do not respond at all, others for a limited time only. Thus, numerous strategies have been suggested to increase the efficiency of antitumor antibodies. We focus our efforts on the development of mono- and bispecific antitumor antibodies with improved effector functions. Common theme of the strategies pursued is the preservation of selectivity, that is, the dependency of effector functions on the specific binding of an antibody to its target antigen. However, generating better antibodies is insufficient: currently, it takes more than 10 years for a therapeutic antibody to reach the clinic as an approved drug. Thus antibodies also need to be faster, faster in the clinic. At present, the process of antibody development is almost entirely in the hands of the pharmaceutical industry, which means that it is heavily influenced by non-scientific considerations, such as intellectual property issues. Together with a steadily growing regulatory burden this results in a ponderous developmental process which is often suboptimal with respect to both, the quality of the substances developed and the speed and flexibility with which this is done. We believe that improving this process is a tremendous challenge to be met, and one that calls for structures which allow for a more efficient interaction between academic and industrial institutions.

With our translational research project "Preclinical development, production and initial clinical evaluation of optimized antitumor antibodies" we try to address this problem. We propose the development of antitumor antibodies optimized by recombinant antibody technology at the University of Tübingen to the stage of clinical pilot studies. Optimized antibodies with proven clinical efficiency will then be developed further in cooperation with the pharmaceutical industry. By enabling academic institutions to substantially contribute to antibody development, this process may be improved and acceler-

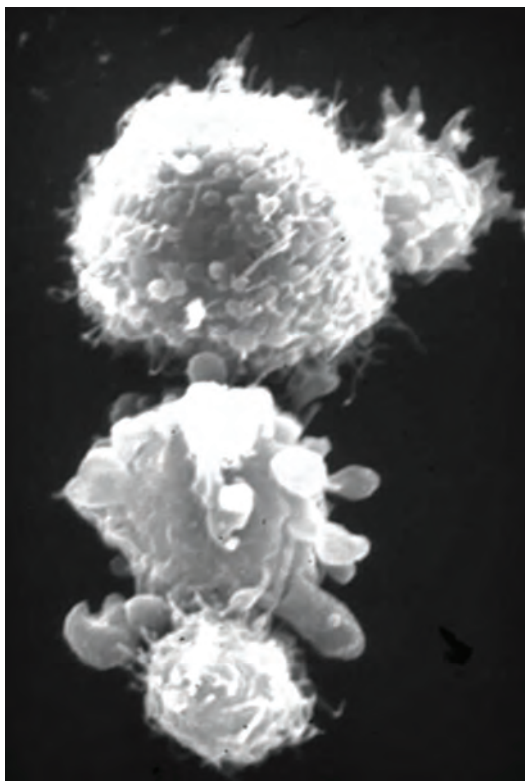


Abb. 3: Bispezifische Antikörper induzieren die Lyse von Tumorzellen durch aktivierte T-Zellen

(Photo: J.Chiu, G.Jung)

ated. In that, the project which is supported by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) has a paradigmatic character.

Projektleitung

Prof. Dr. Gundram Jung
Dr. Ludger Große-Hovest



Eberhard Karls Universität Tübingen
Sektion für Experimentelle Antikörpertherapie, Abt. Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87621
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

gundram.jung@uni-tuebingen.de
ludger.grosse-hovest@uni-tuebingen.de

<http://cms.elchtools.de/>





Modulation der NK-Zell vermittelten anti-Tumor Immunität durch Thrombozyten

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung

Hans-Georg Kopp

Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die meisten Tumorerkrankungen sind im metastasierten Stadium unheilbar. Tumorzellen breiten sich auf dem Blutweg aus, um Fernmetastasen zu bilden. Hierbei sind sie allerdings der Erkennung und Eliminierung durch sogenannte natürliche Killerzellen (NK-Zellen) ausgesetzt. Um der natürlichen Immunität durch NK-Zellen zu entgehen, haben Tumoren verschiedene Mechanismen entwickelt. Ein Beispiel ist die Freisetzung löslicher Liganden für den NK-Zellrezeptor NKG2D, der wichtige Effektormechanismen von NK-Zellen vermittelt.

Injiziert man einer Maus Tumorzellen i.v., so bilden sich Lungenmetastasen. Interessanterweise konnte schon in den 60er Jahren gezeigt werden: bei Mäusen, die keine Thrombozyten haben, funktioniert diese Metastasenbildung nicht. So wurde schon früh den Thrombozyten eine Rolle in der Metastasierung von Tumoren beigegeben. Entfernt man bei den Mäusen zusätzlich die NK-Zellen, so entstehen wieder Lungenmetastasen. Thrombozyten „schützen“ Tumorzellen im Blut also vor den NK-Zellen. Wir arbeiten an der Aufdeckung der zugrundeliegenden Mechanismen und konnten bisher zeigen, daß Thrombozyten einen effektiven „Mantel“ um Tumorzellen bilden und dabei große Mengen TGF- β freisetzen. Das aus den Thrombozyten stammende TGF- β regelt NKG2D auf den NK-Zellen herunter.

Ein weiterer Mechanismus könnte darin bestehen, daß der Plättchenmantel den NK-Zellen einen scheinbar harmlosen Phänotyp vortäuscht, d.h. Tumorzellen umgeben sich demnach mit Thrombozyten wie der Wolf sich mit dem Schafspelz tarnt.

Ziele

Auf der Thrombozytenoberfläche sind zahlreiche immunregulatorische Moleküle vorhanden. Wir identifizierten Kandidaten, die NK-Zellen hemmen aber auch stimulieren könnten. Die Situation erinnert an unsere Resultate auf dem Gebiet der Gefäßneubildung (Neoangiogenese). Hier spielen Thrombozyten ebenfalls eine Rolle, und es zeichnet sich ab, daß Sie nach Bedarf ihrer jeweiligen Umgebung Neoangiogenese fördern oder beeinträchtigen können. Wenn Thrombozyten dazu analog als Biolieferanten fungieren,

welche sich in ihrer immunregulatorischen Aktivität nach dem Bedarf des „Auftraggebers“ richten, dann ist es gut möglich, daß Tumoren diese Funktionen auszunutzen gelernt haben.

Unsere Untersuchungen zielen langfristig darauf ab, neue Therapieziele zu entdecken. Gelänge es, die Thrombozyten als Verbündete der Tumorzellen auszuschalten ohne ihre Funktion in der Blutgerinnung zu beeinträchtigen, dann könnte Tumormetastasierung möglicherweise verhindert werden.

Strategie

Um die funktionelle Relevanz der immunregulatorischen Funktion von Thrombozyten in der Interaktion von Tumorzellen, Thrombozyten und NK-Zellen zu etablieren, sind zunächst Untersuchungen in vitro notwendig. Hier kann studiert werden, wie effektiv NK-Zellen Tumorzellen abtöten. Durch Zugabe von Thrombozyten und gezielt wirksamen Blockern bestimmter Signalwege kann herausgefunden werden, welche immunregulatorischen Moleküle eine funktionelle Rolle spielen. Des Weiteren soll geprüft werden, ob eine medikamentöse Hemmung der Thrombozytenaktivierung mit gängigen Arzneimitteln eine Immunmodulation bewirkt. Die Thrombozyten metastasierter Tumorpatienten werden gezielt auf einen möglicherweise veränderten Immunphänotyp hin untersucht, um Rückschlüsse auf mögliche Tumorescape Mechanismen zu ziehen.

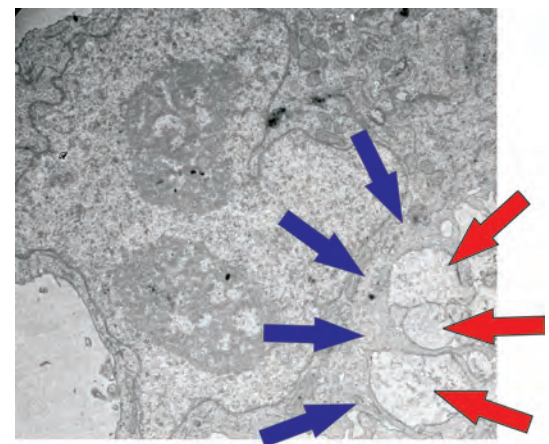


Abb.1: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Tumorzelle (links) in Interaktion mit Thrombozyten (rote Pfeile). Die Tumorzellmembran nimmt großflächig Kontakt mit den Thrombozyten auf (blaue Pfeile).

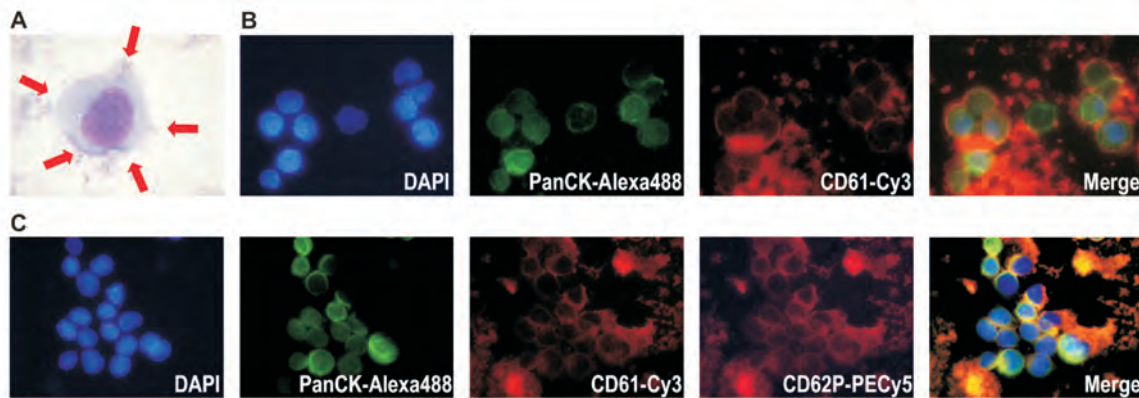


Abb. 2: Thrombozyten ummanteln Tumorzellen und werden dabei aktiviert

- (A) Eine Darmtumorzelle der Zelllinie HCT116 wurde mit Thrombozyten ko-inkubiert. Die roten Pfeile zeigen den sich rasch bildenden Mantel aus Thrombozyten.
- (B) Oberflächenmerkmale der gleichen Zellen wie in (A) sind hier farblich hervorgehoben. Tumorzellen färben sich grün an, Thrombozyten rot und Zellkerne blau.
- (C) Hier ist eine zusätzliche Anfärbung von p-Selectin (CD62P) durchgeführt worden. CD62P ist ein Bestandteil intrazellulärer Granula in Thrombozyten und erscheint auf der Oberfläche, wenn diese nach Aktivierung ihre Inhaltsstoffe freisetzen.

Platelets modulate NK cell anti-tumor reactivity

Platelets can no longer be regarded innocent bystanders when it comes to tumor metastasis. Importantly, they contribute to tumor immune escape: in mice, thrombocytopenia inhibits metastasis, and this is reversed by NK cell depletion. However, the knowledge regarding the molecular mechanisms by which platelets influence NK cells is fragmentary at best. We therefore focused on the study of platelet-mediated tumor immune escape and found that tumor cell - platelet interaction causes release of soluble factors including TGF- β , which potently downregulate NKG2D expression on NK cells. Of note, platelets produce at least 40 times more active TGF- β than any other cell type. We have found that platelet-derived TGF- β is, at least in great part, responsible for platelet-dependent reduction of NKG2D expression and subsequent inhibition of NK cell cytotoxicity and IFN- γ production.

In addition, „pseudoexpression“ of platelet membrane bound immunoregulatory molecules by tumor cells coated with activated platelets or platelet microparticles upon their entry to the bloodstream may play an immunoevasive role. Several immunoregulatory molecules, including various NK cell receptor ligands like MHC class I, GITR ligand or p-selectin are expressed on the platelet surface. We are currently establishing the functional significance of tumor cell pseudoexpression of platelet molecules. Our data indicate that platelets may provide a molecular mimicry mechanism for

tumor cells, which enables them to escape NK cell-mediated tumor immunosurveillance. Our results may help to identify novel therapeutic targets in oncology, especially in the adjuvant treatment setting.

Projektleitung

Dr. Hans-Georg Kopp

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Universitätsklinik für Onkologie, Hämatologie, Immunologie, Rheumatologie, Pulmologie
Otfried-Müller Str. 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87289
Fax: 0049/(0)7071/29 5689

hans-georg.kopp@med.uni-tuebingen.de

www.onkologie-tuebingen.de/ifw2.htm





Sonderforschungsbereich (SFB) 685 Immuntherapie: Von den molekularen Grundlagen zur klinischen Anwendung

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp

Hans-Georg Rammensee

Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die sehr hohen Erwartungen, die ursprünglich an die Entwicklung von Krebs-Immuntherapien gestellt wurden, konnten zunächst nicht erfüllt werden. Erst Jahrzehnte nach Entdeckung der Interferone und der Herstellung monoklonaler Antikörper im Labor gibt es heute eindrucksvolle Teilerfolge. Sie zeigen, wie die enge Verbindung von exzellenter Grundlagenforschung und gezielter Anwendungsforschung langfristig zum Erfolg führen kann. Die in diesem SFB vereinigten Arbeitsgruppen bilden durch ihre bisherige erfolgreiche Grundlagenforschung sowie ihre Expertise in der klinischen Anwendung neuer Erkenntnisse einen idealen Boden für innovative translationale Forschung. Bewusst bringen wir hier die Themen Immunantwort gegen Krebs und Autoimmunität zusammen, da wir uns von der gemeinsamen Bearbeitung der mit beiden Themen verbundenen Problemen Synergieeffekte in Form gegenseitiger neuer Anstöße erhoffen. Die maßgeblichen Ziele für die nächsten Jahre sind wirkungsvolle Immuntherapien gegen Krebs und – zeitversetzt – auch gegen Autoimmunkrankheiten zu entwickeln. Dies wird nur möglich sein, wenn eine fundierte Grundlagenforschung die leitenden Fragestellungen bearbeitet und die Ergebnisse direkt für das Design klinischer Studien zur Verfügung stellt. Gleichzeitig müssen aus der Anwendung sich ergebende neue Fragestellungen unmittelbar in die Grundlagenforschung übernommen werden.

Ziele

Auf welche Weise kommt eine wirksame Immunantwort zustande, und wie lässt sich eine solche Immunantwort in einem Krebspatienten gegen den Tumor erreichen, wie lässt sich eine derartige Immunantwort in einem Patienten mit Autoimmunkrankheit verhindern oder inhibieren? Komplexer Hintergrund dieser im ersten Teil einfach klingenden Frage sind mehrere grundsätzliche und praktische Probleme. Zunächst lassen sich antigenspezifische T-Zellantworten zumindest in Mäusen zwar leicht durch Immunisierung mit Antigen und Adjuvans induzieren, jedoch sind solche T-Zellen oft nicht in der Lage, einen etablierten Tumor zu zerstören. Dann kommt das Problem der Translation in die klinische Anwendung: Das in der

Maus erfolgreiche Adjuvans verhält sich im Menschen möglicherweise anders, beispielsweise wegen unterschiedlicher Verteilung von Toll-like-Rezeptoren auf DC-Subpopulationen (DC = dendritische Zellen). Außerdem sind innovative Adjuvantien für die Anwendung am Menschen in der Regel nicht zugelassen, müssen also in GMP-Qualität beschafft werden; das zu verwendende Antigen ohnehin. Für den Bereich der Autoimmunkrankheiten können die gleichen Erkenntnisse über das Zustandekommen einer wirksamen Immunantwort unter entgegengesetzten Vorzeichen verwendet werden.

Strategie

Innovative Vorgehensweisen sollen zu wirkungsvollen Therapieprinzipien führen. Unser Bestreben ist es daher, Grundlagenwissen auf dem Gebiet der Immunologie zu erarbeiten und dieses Wissen zügig zur klinischen Anwendung zu bringen. Schwerpunkte sind im SFB 685 die Therapie von Leukämien mittels adoptivem Transfer von NK-Zellen und T-Zellen sowie die Therapie solider und hämatopoetischer Tumore mittels innovativer Antikörperkonstrukturen und Fusionsproteinen. Als Tübinger Alleinstellungsmerkmal etablieren wir derzeit die genomsequenzbasierte, patientenindividuelle, molekular definierte Immuntherapie mit eigens für jeden Patienten extra unter GMP-Bedingungen hergestellten Substanzen (synthetische Peptide). Ein weiteres wichtiges Ziel ist die rasche klinische Erprobung von selbst entwickelten und an der Universität ebenfalls unter GMP-Richtlinien produzierten Antikörperstrukturen. Die Entwicklung innovativer und wirksamer Biotherapeutika ist eine zentrale Herausforderung für eine moderne und wirkungsvolle Medizin von Morgen.

SFB 685

Immunotherapy: Molecular Basis and Clinical Application

One of the major aims of the Collaborative Research Center 685 is to explore the fundamental principles of immunology and to incorporate this knowledge as rapidly as possible into clinical applications for the benefit of the patient.

The groups that comprise the SFB 685 have already achieved excellent results

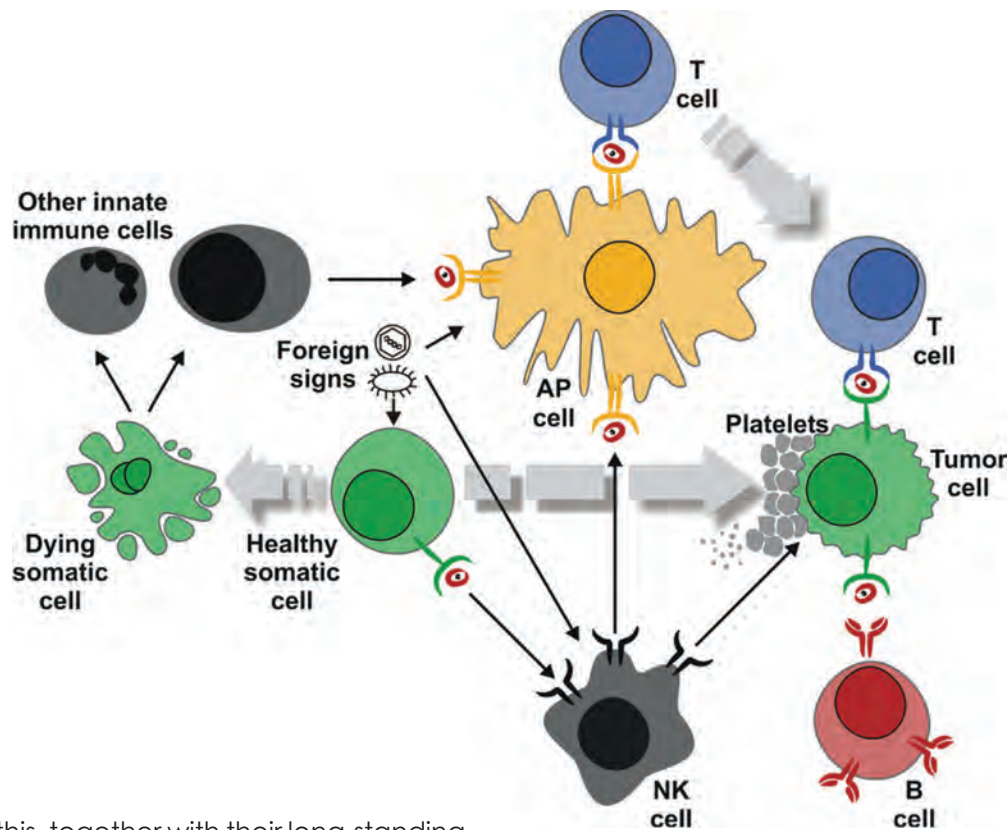


Fig. 1: Graphical presentation of the molecular and cellular interactions investigated by our SFB. Central to this figure is the antigen presenting (AP) cell and its interaction with T cells.

and this, together with their long-standing expertise in transferring novel findings into clinical use, provides an ideal setting for innovative, translational research.

The focus on the immune response against cancer parallel to autoimmunity paves the way for synergy effects that arise from the joint investigation of problems relevant for both areas, for example in the form of new impulses. Within the SFB this includes the treatment of leukemia by means of the adoptive transfer of NK- and T cells as well as the treatment of solid and hematopoietic tumors using innovative antibody constructs and fusion proteins. One of the unique characteristics of the work carried out in Tübingen is the establishment of a genome-sequence based, molecularly defined immunotherapy which enables the GMP production of synthetic peptides specifically designed for the treatment of each individual patient. In addition to this, our main objective is to begin the first phase of clinical trials involving antibody structures developed by our research groups under strict GMP conditions here at the University of Tübingen. We have set ourselves concrete plans for the next years which revolve around the development of effective immunotherapies for treating cancer and – at a later point in time – for treating autoimmune diseases. At the very least, at the end of this period we hope to have gone a long way toward achieving these aims. The design and development of innovative and effective biotherapeutics is one of the major challenges for all those whose ambition is to create modern, efficient and well tolerated drugs for the future.

Projektleitung

Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee
(Sprecher SFB 685)

Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Abteilung Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87628
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

rammensee@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Martin Röcken
(Stellvertretender Sprecher SFB 685)

Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitäts-Hautklinik
Liebermeisterstr. 25
72076 Tübingen
martin.roecken@med.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Thilo Stehle
(Stellvertretender Sprecher SFB 685)

Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Biochemie
Hoppe-Seyler-Str. 4
72076 Tübingen
thilo.stehle@uni-tuebingen.de

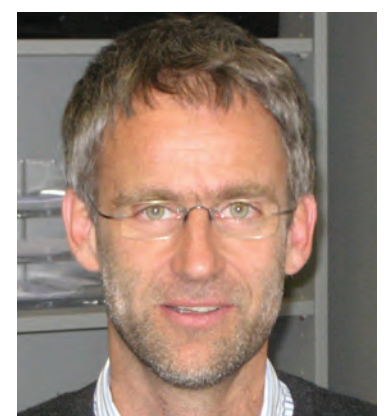
Prof. Dr. Stefan Stevanović
(wissenschaftlicher Sekretär SFB 685)

Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Abteilung Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

www.sfb685.de

gefördert durch die

DFG Deutsche
Forschungsgemeinschaft





GK 794 Graduiertenkolleg "Zellbiologische Mechanismen immunassoziierter Prozesse"

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp

Hans-Georg Rammensee

Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Wir bieten unseren Stipendiaten zahlreiche Forschungsprojekte in den Bereichen Zell- und Molekularbiologie sowie Immunologie. Wir legen besonderen Wert darauf, Grundlagenforschung und klinische Anwendung eng miteinander zu verknüpfen, indem Medizinstudenten Methoden aus der Laborforschung nähergebracht werden, während Naturwissenschaftler mit dem Wissen für klinische Forschung ausgestattet werden.

Der Einsatz zell- und molekularbiologischer Methoden führte in den vergangenen Jahren zu immer neuen Ansätzen in der medizinischen Diagnostik und Therapie. Die Basis für diese neuen Entwicklungen stellt die Analyse zellbiologischer Mechanismen und ihrer pathophysiologischen Ausprägungen dar. Die Aspekte der Zellbiologie sind durch die Forschungsgebiete der Teilnehmer repräsentiert, hierher gehört z. B. die Untersuchung der Struktur und Ultrastruktur der Zelle (Hirnforschung, Augenklinik, Biochemie), die molekularbiologische Analyse der Zelle mit Hilfe der PCR, Sequenzierung, site-directed Mutagenese, Peptidanalyse sowie Gen- und Immuntherapie (Innere Medizin, Augenklinik, Hirnforschung, Physiologie, Zellbiologie, Biochemie, Kinderklinik, Immunologie).

Von besonderer Bedeutung sind für viele der beteiligten Arbeitsgruppen die funktionellen Proteom- und Genomanalysen im weiteren Sinn. Für die Untersuchung von zellbiologischen Mechanismen, die bei immunassozierten Prozessen eine Rolle spielen, ist die Universität Tübingen mit ihrem Umfeld (Max-Planck-Institute, Friedrich-Loeffler-Institut, zahlreiche Biotechnologiefirmen) besonders geeignet. Einige der beteiligten Gruppen arbeiten an neuen Therapieverfahren, wie der therapeutischen Vakzinierung bei Tumorerkrankungen und der Gentherapie bzw. untersuchen die Grundlagen hierfür.

Ziele

Ziel des Graduiertenkollegs ist die Ausbildung und Förderung von naturwissenschaftlichen und medizinischen Doktoranden auf dem Gebiet der Zellbiologie und Immunologie. Es richtet sich an Naturwissenschaftler mit einem abgeschlosse-

nen Studium und Medizinstudenten nach dem Physikum.

Im Graduiertenkolleg "Zellbiologische Mechanismen immunassoziierter Prozesse" sollen Medizinstudenten an Methoden und Arbeitsweisen der Grundlagenforschung herangeführt und Naturwissenschaftlern ein vertieftes Verständnis für klinisch relevante Forschung vermittelt werden. Neben diesen vorrangigen wissenschaftlichen und fachlichen Zielen will das Graduiertenkolleg auch als Schnittstelle zwischen Hochschule und praxisorientierter Gesundheitsforschung fungieren.

Strategie

Neben einer fundierten wissenschaftlichen und methodischen Ausbildung sollen die Kollegiaten in Kommunikation, der effektiven Präsentation von Ergebnissen, Mitarbeiterführung, Antragswesen und Wissenschaftsethik geschult werden. Wegen der institutsübergreifenden Zusammenarbeit können die Forschungsthemen im Kolleg so gewählt werden, dass die Graduierten ein möglichst umfassendes Bild der derzeitigen zellbiologischen Aufgabenstellungen gewinnen.

Als weiteren Schwerpunkt stellt sich das Graduiertenkolleg die Aufgabe, die Zusammenarbeit mit der Industrie zu intensivieren und hochmotivierten Doktoranden die Möglichkeit zu geben, bereits während der beruflichen Orientierungsphase zur Zeit der Promotion auch praktische Erfahrungen in einem biomedizinisch arbeitenden Unternehmen zu sammeln und die ersten Kontakte zu knüpfen. Das Berufsprogramm soll daher durch Trainee-Phasen in Pharmafirmen oder auch an einer ausländischen Forschungseinrichtung abgerundet werden.

GK 794

Research Training Group "Cellular Mechanisms of Immune-Associated Processes"

We offer our research fellows a wide range of opportunities for research and study in the fields of molecular and cell biology as well as immunology. A hallmark of this programme is to bridge basic research with clinical applications, teaching research methods to medical students while providing natural scientists with the knowledge for clinical research.

In the doctoral program "cellular mechanisms of immune-associated processes", MD students will be introduced to methods and procedures in basic science, while Ph.D. students are provided with an in-depth knowledge of clinically relevant research. In addition to these scientific and study-related aims, the doctoral program functions as an interface between academics and application-oriented medical research.

Scholars are not only provided with a thorough scientific and methodological education, but also with skills in communication, presentation of results, funding and ethics. Due to the collaboration of several institutes, the scholars can choose their research subject from a wide range of topics and in doing so get a comprehensive view of current subjects in basic science as well as in clinical research.

Another focus of the doctoral program is the intensive collaboration with industrial partners in order to offer highly motivated graduates the opportunity to gain experience in biomedical companies as a means of career planning already during their doctorate training. The career development part of our program therefore includes trainee positions in the pharmaceutical industry and lab rotations in research institutes abroad.

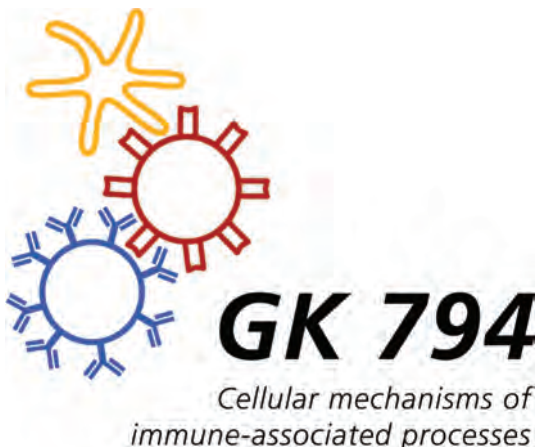


Fig. 1: 4th Network Meeting of the research training schools GK 520, GK 592 and GK 794, November 15-17, 2009, Kloster Schöntal

Projektleitung

Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee
(Sprecher GK 794)

Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Abteilung Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87628
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

rammensee@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Konrad Kohler
(Stellvertretender Sprecher GK 794)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Zentrum für Regenerationsbiologie und
Regenerative Medizin (zrm)
Paul-Ehrlichstr. 15
72076 Tübingen
konrad.kohler@regmed.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Jürgen Frank
Forschungsmanagement
(Koordinator GK 794)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Abteilung Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen
juergen.frank@uni-tuebingen.de

www.zellbiologie-tuebingen.de

gefördert durch die

DFG Deutsche
Forschungsgemeinschaft





Entwicklung innovativer Immuntherapeutika gegen Krebs

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee

Harpreet Singh

Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Firma immatics, eine Ausgründung der Universität Tübingen, Abteilung Immunologie (Prof. Hans-Georg Rammensee) entwickelt neue therapeutische Impfstoffe gegen diverse Krebserkrankungen. Die Produkte von immatics enthalten Kombinationen multipler synthetischer tumor-assoziiertes Peptide (TUMAPs), die als natürliche Liganden von HLA-Klasse I- oder Klasse II-Rezeptoren auftreten. Diese können zytotoxische T-Zellen bzw. T-Helferzellen aktivieren, welche zentrale Funktionen in der zellulären Immunabwehr haben und unter bestimmten Umständen Krebszellen eliminieren. Jedes TUMAP kommt bei der Mehrheit der Patienten natürlicherweise auf den Tumorzellen vor. Setzt man mehrere TUMAPs zugleich ein, so soll sich die Wahrscheinlichkeit erhöhen, Krebszellen zu eliminieren und Behandlungserfolge zu erzielen. TUMAPs sind kurze Peptide und aufgrund etablierter und gut skalierbarer chemischer Syntheseprozesse sehr gut für die Entwicklung von Medikamenten geeignet.

Die Technologie von immatics (XPRESIDENT™) ermöglicht die rasche und rationale Identifizierung tumor-assoziiertes Peptide für verschiedene Krebsarten. Zurzeit befinden sich zwei Multipeptid-Produkte von immatics, IMA901 gegen Nierenzellkrebs und IMA910 gegen Darmkrebs, in klinischen Phase II-Studien. Das dritte Produkt, IMA950 zur Behandlung des Glioms, wird in 2010 mit der klinischen Entwicklung beginnen. Weitere Produktkandidaten sind gegenwärtig in der präklinischen Entwicklung.

Ziele

Ziel von immatics ist die Entwicklung innovativer Immuntherapien zur Behandlung von Krebserkrankungen. Diese Therapien sollen für den Patienten nicht nur wirksamer, sondern auch besser verträglich sein als herkömmliche Therapien.

Strategie

Mithilfe der eigenen Technologieplattform XPRESIDENT™ identifiziert immatics ständig große Mengen tumor-assoziiertes Peptide (TUMAPs) direkt von primären Tumorgeweben. Allein seit 2004 erzielte

die Firma über 200.000 TUMAP-Identifikationen und konnte sich die Patentrechte für jene Sequenzen sichern, die für die Krebstherapie besonders geeignet scheinen. XPRESIDENT™ ermöglicht, tumor-assoziiertes Peptide zu identifizieren, die folgende drei Eigenschaften erfüllen: (1) die natürliche Präsentation der TUMAPs in Tumoren von Patienten, (2) keine oder eine deutlich geringere Präsentation der TUMAPs in Normalgewebe und (3) die ausreichende Fähigkeit der TUMAPs, T-Zellen zu induzieren (Immunogenität).



Abb. 1: immatics entwickelt neue Immuntherapien gegen Krebs. Zurzeit befinden sich zwei Produkte gegen Nieren- und Darmkrebs in klinischer Entwicklung, ein Produkt gegen Hirntumore folgt in Kürze.

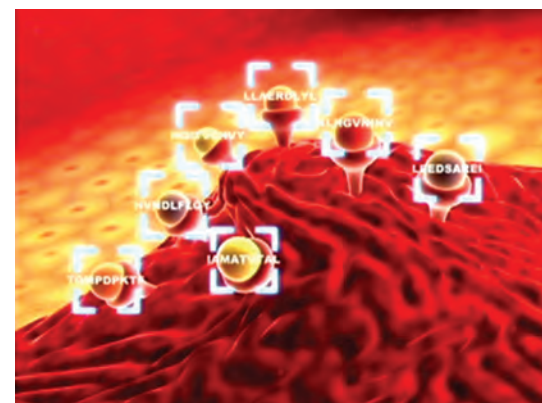


Abb. 2: Tumorzellen präsentieren tumor-assoziiertes Peptide (TUMAPs) auf HLA-Rezeptoren. Die Technologieplattform XPRESIDENT™ ermöglicht die Identifizierung von TUMAPs direkt von Primärtumorgewebe.

Development of novel anti-cancer vaccines for multiple cancer indications

immatics has developed a drug discovery technology platform called XPRESIDENT™ which allows the identification, selection and validation of class I and II TUMAPs from primary human tumor tissue samples.

The central aspect of immatics' drug discovery engine is the ability to identify TUMAPs directly from primary human tumor material, meaning that TUMAPs are confirmed to be naturally processed and presented on real tumors in real patients. This is a significant advantage over other technologies using computer algorithms to predict putative TUMAP sequences or using cell lines which often display an expression profile very distinct from primary tumor cells. This is only possible due to a high sensitivity level (femtomolar range). Typically, immatics identifies up to several hundred different HLA-binding peptides from one small tumor sample. To date, this volume of output remains unmet by any other analytical set-up.

With its latest two versions, XPRESIDENT™ v2.1 and v2.2, the platform is now also able to directly quantitate TUMAPs in tumor vs. healthy tissues allowing for the first time to detect novel antigens over-presented by HLA molecules that cannot be detected on protein (proteomics) or mRNA (genomics) levels and to validate peptides restricted to HLA alleles beyond HLA-A*02.

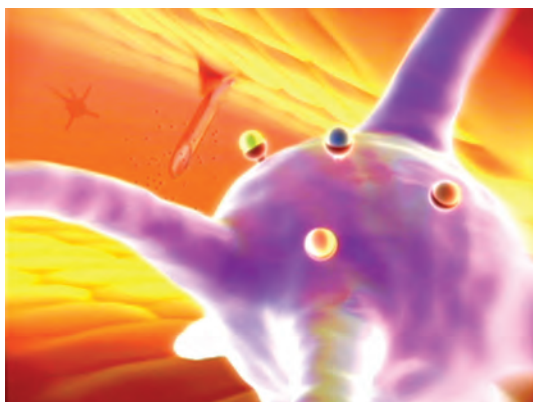


Abb. 3: Die TUMAPs werden in klinischen Studien erprobt. Sie werden direkt in die Haut gespritzt. Dort binden sie an dendritische Zellen, die in dann in die Lymphknoten wandern und dort T-Zellen aktivieren.

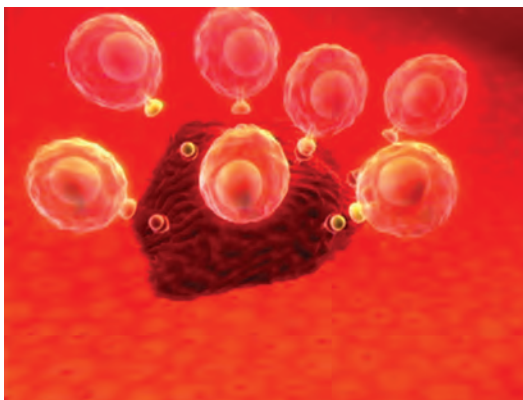


Abb. 4: Mit TUMAPs spezifisch aktivierte T-Zellen greifen Tumorzellen an. Je mehr verschiedene T-Zellen aktiviert werden, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Therapie.

Projektleitung

Dr. Harpreet Singh
Dr. Toni Weinschenk

immatics biotechnologies GmbH
Paul-Ehrlich-Str. 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071 5397 0
Fax: 0049/(0)7071 5397 900

info@immatics.com

www.immatics.com





Tumor-Immunüberwachung durch Natürliche Killer (NK) Zellen: Molekulare Mechanismen und therapeutische Modulation

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh

Helmut Salih

Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Natürliche Killerzellen (NK Zellen) sind zytotoxische Lymphozyten und spielen als Bestandteil des angeborenen Immunsystems komplementär zu den CD8 T Zellen des erworbenen Immunsystems eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr von Tumoren. NK Zell-Reaktivität gegen Tumoren wird durch das Fehlen von MHC Klasse I Molekülen (missing self) induziert. Zudem ist für eine Aktivierung die Erkennung von tumorexprimierten Liganden für aktivierende NK-Rezeptoren wie z.B. NKG2D (induced self) erforderlich. Die Aktivierung von NK Zell Anti-Tumor Effektormechanismen spielt u.a. eine zentrale Rolle für den klinischen Erfolg der allogenen Stammzelltransplantation bei Leukämiepatienten und die Wirksamkeit von therapeutisch applizierten Antikörpern. Letztere stimulieren nach Bindung an ihr Zielantigen den Fc-Rezeptor auf NK Zellen und lösen dadurch „Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity“ (ADCC) aus. Insgesamt wird die Immunantwort von NK Zellen also durch eine Balance aus verschiedenen aktivierenden und hemmenden Signalen reguliert. Darüber hinaus wird ihre Reaktivität durch die reziproke Interaktion mit anderen zellulären Komponenten des Immunsystems (z.B. dendritische Zellen, Monozyten, etc.) beeinflusst. In Anbetracht der wichtigen Rolle von NK Zellen bei der Tumorabwehr ist es von großem wissenschaftlichem, aber auch therapeutischem Interesse, die an der Interaktion von NK Zellen mit Tumorzellen und/oder anderen hämatopoetischen Zellen beteiligten Molekülsysteme detailliert zu charakterisieren. Dies gilt umso mehr, da gegenwärtig zahlreiche therapeutische Strategien darauf abzielen, z.B. durch Antikörper gegen Immunrezeptoren die Reaktivität von zytotoxischen Lymphozyten wie NK Zellen und CD8 T Zellen zu stimulieren.

Ziele

Unser Ziel ist die Entwicklung von Strategien zur Verstärkung der NK Zell-Reaktivität für den Einsatz bei Patienten mit malignen Erkrankungen, insbesondere Leukämien. Hierbei reicht das Spektrum unserer Arbeiten von der Aufklärung der molekularen Grundlagen der Interaktion von NK Zellen mit Tumorzellen und

anderen Komponenten der Hämatopoese über die Identifizierung von therapeutischen Substanzen, welche die Expression von immunmodulatorischen Molekülen zu Gunsten einer NK Aktivierung beeinflussen bis zur Entwicklung von rekombinanten Molekülen, durch welche NK Zellen gerichtet gegen Tumorzellen aktiviert werden können.

Strategie

Gemeinsam mit unseren Kooperationspartnern identifizieren und charakterisieren wir unter Verwendung eines breiten Spektrums molekularbiologischer, zellbiologischer und proteinbiochemischer Methoden Molekülsysteme, welche die NK Zell-Reaktivität beeinflussen. Hierbei interessieren wir uns im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Modulation insbesondere auch für funktionelle Unterschiede scheinbar analoger Molekülsysteme in

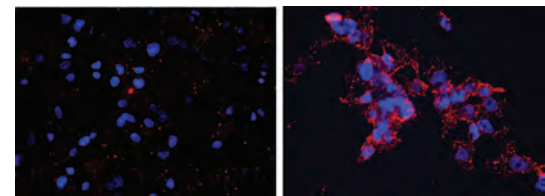


Abb. 1: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer therapeutischen Induktion von NK Zell-aktivierenden Molekülen auf Tumorzellen (Hep3B). Unbehandelte (links) Tumorzellen weisen nur eine geringe Expression der immunaktivierenden NKG2D Liganden (orange) auf. Behandlung mit niedrigdosiertem Bortezomib (rechts) führt zu einer ausgeprägten Zunahme der Expression. Hierdurch können NK Zellen die Tumorzellen besser erkennen und abtöten.

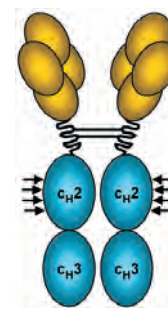


Abb. 2: Schematische Darstellung eines rekombinanten Fusionsproteins bestehend aus der extrazellulären Domäne eines hemmenden NK Zell-Rezeptors (gelb) und einem affinitätsverstärkten Fc Teil eines humanen IgG1 Antikörpers (blau). Die Pfeile symbolisieren den Anteil, an welchem durch Aminosäureaustausch die Bindung an den Fc Rezeptor von NK Zellen verstärkt wird. Durch die Neutralisation der immunsuppressiven Eigenschaften des Zielmoleküls und die gleichzeitige Aktivierung des Fc Rezeptors wird die Anti-Tumorreaktivität der NK Zellen gesteigert.

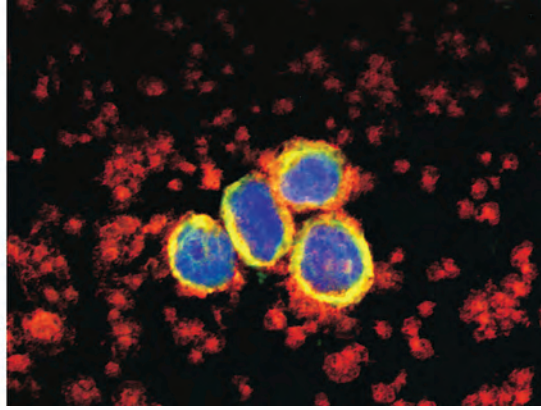
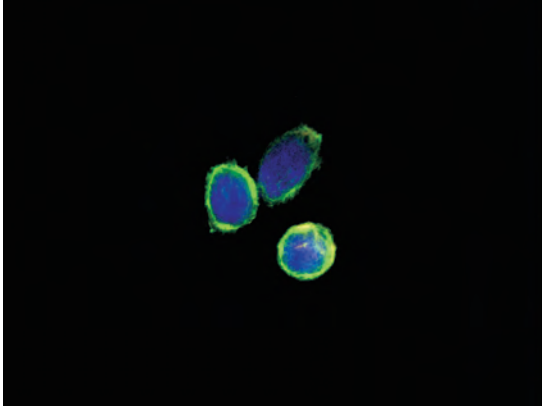


Abb. 3: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Übertragung von immuninhibitorischen Molekülen auf Tumorzellen (grün/blau) durch Thrombozyten (orange). Während die untersuchten Tumorzellen in diesem Beispiel konstitutiv nur geringe Mengen an MHC I (gelb) auf der Oberfläche aufweisen (links), erfolgt in Gegenwart der stark MHC I positiven Thrombozyten (orange) eine Ummantelung der Tumorzellen (rechts). Diese resultiert in einer ausgeprägten MHC I „Pseudoexpression“ (gelb), wodurch NK Zellen, welche die Tumorzellen angreifen, gehemmt werden.

Maus und Mensch. Weiterhin untersuchen wir mit dem Ziel, NK Zell-hemmende Effekte zu neutralisieren, den Einfluss anderer Zellen des Blutes wie Thrombozyten und Monozyten auf die NK Zell-Reaktivität bzw. den „Immune Escape“ von Tumorzellen. Zudem arbeiten wir z.B. an der Entwicklung und Testung von rekombinanten Immunrezeptor-Fc Fusionsproteinen, welche durch Bindung an ihre auf Tumorzellen exprimierten Liganden nicht nur die von uns vorab identifizierten NK Zell-hemmenden Effekte dieser Moleküle neutralisieren, sondern durch ihren modifizierten Fc-Teil auch eine zielgerichtete Aktivierung der NK Zellen gegen die malignen Zellen ermöglichen.

Tumor Immunosurveillance by Natural Killer (NK) cells: Molecular mechanisms and therapeutic modulation

Natural Killer (NK) cells are cytotoxic lymphocytes which play an important role in the immunosurveillance of tumors. NK reactivity is guided by the principles of 'missing-self' and 'induced-self' which imply that cells with low expression of MHC class I ('missing-self') and stress-induced expression of ligands for activating NK receptors ('induced-self') are preferentially recognized and eliminated by NK cells. In fact, NK anti-tumor responses result of an integrative response emerging upon recognition of multiple ligands for activating and inhibitory NK cell receptors. Many of these receptors are yet unknown or ill defined. Apart from the direct interaction with their target cells, NK cell activity is further influenced by the reciprocal interplay with various other hematopoietic cells. In our work we study the expression and release of immunoregulatory surface molecules by tumor (especially leukemia) cells and NK cells and aim to modulate these molecule systems therapeutically to reinforce NK cell effector functions. As seemingly analogue immunoregulatory molecules may mediate different and even opposite ef-

fects on NK cell reactivity in mice and men we comparatively analyze the therapeutic modulation of these proteins to enable the design of rational therapeutic strategies for cancer patients. Moreover, we study the possibilities to influence the interaction of NK cells with other components of the blood like thrombocytes to bolster anti-tumor immune responses. Finally we develop and test immunomodulatory proteins (optimized antibodies or Fc-fusion-proteins) which neutralize the effect of NK-inhibitory molecules on malignant cells and simultaneously enhance and direct NK cell reactivity against these tumor cells. Overall we have a profound interest to translate findings of basic research in tumor immunology into clinically relevant applications to improve therapeutic options of cancer patients.

Projektleitung

Prof. Dr. Helmut R. Salih

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Universitätsklinik für Onkologie, Hämatologie, Immunologie, Rheumatologie, Pulmologie
Otfried-Müller Str. 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 83275
Fax: 0049/(0)7071/29 4391

helmut.salih@med.uni-tuebingen.de

www.med.uni-tuebingen.de/webim2/salih_hp.htm





Patientenindividualisierte Krebsimmuntherapie mittels Botenribonukleinsäure

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih

Jochen Probst

Karl-Heinz Wiesmüller

Karl-Josef Kallen

Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

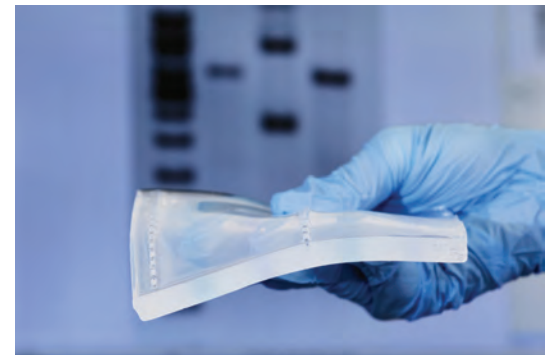
Die CureVac GmbH entwickelt seit ihrer Gründung im Jahr 2000 hochinnovative Therapien auf Basis von Boten-Ribonukleinsäure (engl. messenger RNA, mRNA), den intrazellulären Vorläufermolekülen von Proteinen. Dabei liegt der Schwerpunkt auf Immuntherapeutika, also Wirkstoffen, die das körpereigene angeborene und adaptive Immunsystem stärken, um dadurch einen therapeutischen Nutzen zu erzielen. Spezielle Vorteile mRNA-basierter Therapeutika bestehen in (i) der Flexibilität (kodierende Sequenzen können ohne beträchtliche Veränderungen im Herstellungsverfahren einfach ausgetauscht werden), (ii) dem Wirkprinzip (speziell formulierte mRNA kann als Antigen und Adjuvans in einem Produkt dienen und komplette Immunantworten induzieren) sowie (iii) der Sicherheit des Ansatzes (kein Risiko einer nachhaltigen Veränderung des Wirtsgenoms). Das Unternehmen hat in den letzten Jahren die Voraussetzungen geschaffen, mRNA-basierte Wirkstoffe klinisch zu erproben. Hierzu wurden proprietäre mRNA-Moleküle entwickelt, welche eine deutlich verbesserte Wirksamkeit im Vergleich zu natürlich vorkommenden mRNA-Molekülen aufweisen. Zudem wurde eine weltweit bislang einzigartige und zertifizierte GMP-Produktionseinheit eingerichtet sowie in präklinischen Modellen die gute Wirksamkeit und Verträglichkeit des Ansatzes belegt. Derzeit befinden sich zwei Produktkandidaten in der klinischen Phase I/II-Prüfung.



Ziele

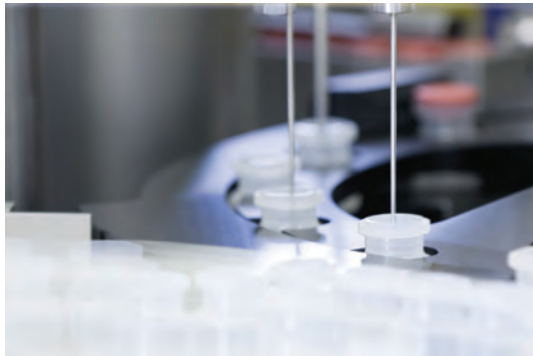
Die CureVac GmbH zielt bei der Entwicklung hochinnovativer Therapeutika darauf, sich als bevorzugter Ansprechpartner für Biotech- und Pharmafirmen zu etablieren. Dabei stellen immuntherapeutische Ansätze zur Behandlung von Krebserkrankungen ein wichtiges Standbein dar.

Im Rahmen von TransLimm ist es das Ziel des Unternehmens in Zusammenarbeit mit Prof. Rammensee eine mRNA-basierte patientenindividualisierte Immuntherapie zu entwickeln. Neben den technischen und wissenschaftlichen Voraussetzungen sollen dabei, in Kontakt mit den zuständigen Behörden, auch offene regulatorische Fragen geklärt werden.



Strategie

In Zusammenarbeit mit Prof. Rammensee sollen von patientenspezifischen Tumorbioskopien zunächst tumorspezifische Mutationen identifiziert werden. Diese sollen anschließend als mRNA abgebildet werden. Ein besonderer Fokus des Projektes liegt dabei darauf, das hierzu notwendige Herstellungsverfahren (artifizielle Gensynthese mit anschließender GMP mRNA-Produktion) bei CureVac zu implementieren und zeitlich zu optimieren. Anschließend sollen die Patienten mit einem individualisierten mRNA-Wirkstoff behandelt werden. Projektbegleitend sollen mit den zuständigen Behörden die regulatorischen Voraussetzungen für eine klinische Prüfung und später mögliche Zulassung erarbeitet werden.



Patient individualized cancer immunotherapy with messenger ribonucleic acids

CureVac GmbH develops highly innovative therapies on the basis of directly applicable messenger RNA (mRNA) molecules. The company has generated proprietary technologies to design and produce mRNA molecules with superior efficacy compared to unmodified mRNA molecules. mRNA therapeutics have several advantages compared to other approaches in the field: (i) Flexibility: coding sequences can be easily exchanged without significant changes in the production process. (ii) Mode of action: formulated mRNA can serve as antigen and adjuvant within one product and induces complete (humoral and cellular) immune responses (iii) Safety: there is no risk of genomic integration. Currently the company is testing two product candidates in clinical phase I/II trials.

The aim of CureVac as project partner of TransLimm is the development of an mRNA based patient individualized cancer immunotherapy. This approach completes CureVac's efforts in the field of cancer immunotherapy and supports the company's aim to become a preferred partner for biotech and pharma companies.

To achieve the project goals, patient individualized antigens will be defined in cooperation with Prof. Rammensee by performing mutation analysis of patient specific tumors. Selected mutations for each individual patient will then be used to compose a mRNA-construct. One major project focus will be the implementation of

the techniques required to produce a patient individual GMP grade mRNA-drug formulation within a reasonable time. In parallel the requirements for clinical trials and drug approval will be discussed with regulatory agencies in order to test this approach in patients.

Projektleitung

Priv. Doz. Dr. Dr. Karl-Josef Kallen
Dr. Jochen Probst

CureVac GmbH
Paul-Ehrlich-Straße 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/92053-0
Fax: 0049/(0)7071/92053-11

karl-josef.kallen@curevac.com
jochen.probst@curevac.com

www.curevac.com





EMC microcollections GmbH: Immunchemie und Verbindungskollektionen mit Wirkstoffpotential

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst

Karl-Heinz Wiesmüller

Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Kernkompetenzen der 1996 gegründeten EMC microcollections GmbH liegen im Bereich der Bio-organischen Synthese, der Chemischen Biologie und Immunchemie. Sie ermöglichen die Herstellung von Verbindungskollektionen mit hohem Wirkstoffpotential für die Entwicklung neuer Therapeutika. EMC besitzt hoch spezialisiertes Know-how bei der mikrochemischen Synthese einer sehr großen Zahl unterschiedlicher Verbindungen in kürzester Zeit. Zu diesen Verbindungen gehören auch rationell hergestellte bioaktive Peptide und Peptidmimetika. EMC kooperiert mit weltweit operierenden Firmen der Pharmazeutischen Industrie und leistet weitere Auftragsarbeiten für kleinere Start-up Unternehmen. Zahlreiche Verbindungen haben sich bereits als aussichtsreiche Leitstrukturen erwiesen. Die Integration von Chemie und Biologie verleiht EMC besondere Kompetenz bei der Entwicklung und Vorbereitung von aussagekräftigen Testprozeduren. Mit ausgefeilten Verfahren und wissenschaftlicher Unterstützung aus Kooperationen mit der Universität Tübingen und international mit zahlreichen Forschungseinrichtungen stellt EMC zusätzlich einzigartige Biochemikalien für die Grundlagenforschung her. Diese stellen chemische und biochemische Werkzeuge zur Charakterisierung neuer biologischer Targets dar und sind wertvoll für die Rezeptorforschung und Signaltransduktion. EMC ist weltweit führend bei der Produktion von Immunmodulatoren, die Toll-like Rezeptoren 1, 2, und 6 aktivieren.

Ziele

Die Durchführung von High-Tech Dienstleistungen in den frühen Phasen der pharmazeutischen Wirkstoffentwicklung ist das Geschäftsmodell von EMC. Schwerpunkte eigener Forschungsprojekte liegen in der Entwicklung neuer Agonisten und Antagonisten für Toll-like Rezeptoren und in der Entwicklung synthetischer Vakzine und Immunmodulatoren. Im Bereich der Nanobiotechnologie werden molekulare Pinzetten und funktionalisierte Nanopartikel als Biotransporter entwickelt. Eigene Leitstrukturen werden im Bereich der Antinfektiva und Enzyminhibitoren sowie für die Regenerationsbiologie weiter ver-

folgt. Das innovative Potential der EMC Verbindungen ist in mehreren Patenten manifestiert. EMC kooperiert mit international angesehenen Forschergruppen innerhalb von BMBF- und EU-geförderten Verbundprojekten.

Strategie

Die bei EMC entwickelten Methoden der parallelen Chemie an fester Phase und in Lösung ermöglichen im Vergleich zur klassischen Chemie eine hundert- bis tausendfache Beschleunigung von Syntheseprozessen. Wirkstoffkandidaten werden rationell hergestellt und in einem geeig-

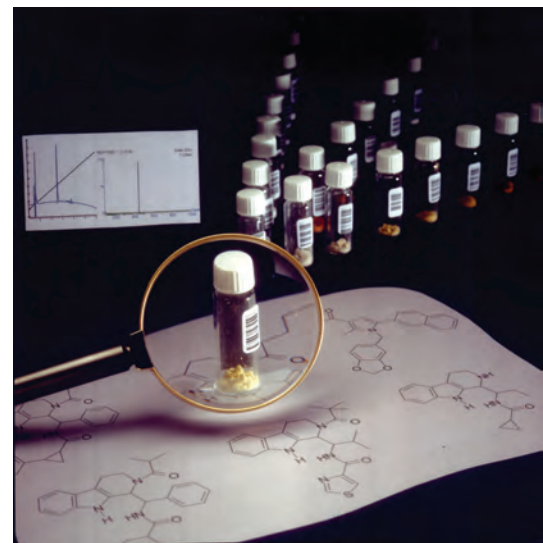


Abb. 1: Anspruchsvolle Synthesen und instrumentelle Analytik für validierte, hochreine Verbindungskollektionen und Forschungschemikalien.

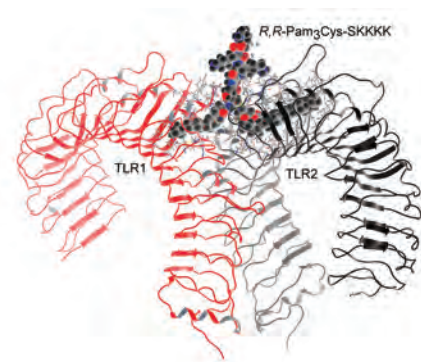


Abb. 2: Rezeptoren des angeborenen Immunsystems kristallisieren mit EMC-Liganden. (Jin et al. (2007), Cell 130, 1071, Kang et al. (2009), Immunity 31, 873).

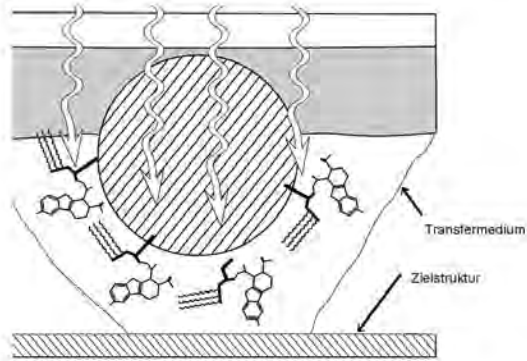


Abb. 3: EMC funktionalisiert Nanopartikel für medizinisch-immunologische und biophysikalische Anwendungen.

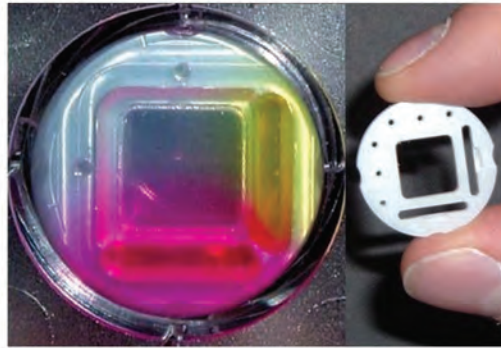


Abb. 4: Der Diffusionsassay mit zweidimensionalem Gradientensystem, entwickelt und patentiert von EMC, beschleunigt die Untersuchung von Wirkstoffkombinationen.

neten Assayformat vorbereitet. Die Strukturen aller Verbindungen werden mit instrumenteller Analytik bestätigt. EMC bringt in zahlreichen Kooperationsprojekten u.a. zur Therapie und Prophylaxe von Krebs und Allergien sowie zur Geweberegeneration neue potentielle Wirkstoffe und immunmodulierende Substanzen ein. EMC ist an der Entwicklung einer Vakzine gegen Atherosklerose beteiligt. Eine Nanopartikelvakzine steht kurz vor der präklinischen Phase, eine Verbindung zur Regeneration des Hörvermögens wurde erfolgreich getestet.

EMC microcollections GmbH: Immun-chemistry and compound collections

EMC is classified as a biotech company and focuses on the generation and biochemical investigation of biologically and pharmacologically relevant organic compound collections. Based on bioorganic chemistry, chemical biology and immunochemistry EMC holds a leading position in drug-discovery-technologies particularly in the areas of methods development and high throughput synthesis of validated compounds. Furthermore, the company provides a powerful spectrum of custom specific peptide- and peptidomimetic synthesis and bio-chemicals for basic research.

The advantage of partnerships with EMC is the strong scientific and experimental background of the company. A full range of integrated medicinal, combinatorial and computational chemistry services is provided by EMC. Efforts are concentrated to improve the lead finding success rate by rational and random search strategies

EMC has leading knowledge in immuno-

chemistry, adjuvant evaluation, optimization and production, the development of therapeutic and prophylactic multi-component synthetic vaccines, in nanobiotechnology and regenerative biology. EMC's third generation vaccines are developed on the basis of synthetic lipopeptides.

EMC supports the characterization of pharmaceutically relevant receptors, enzymes, transporters etc., which have increased dramatically in numbers as a result of the success of genomics and proteomics.

Projektleitung

Prof. Dr. Karl-Heinz Wiesmüller
Dr. Renate Spohn

EMC microcollections GmbH
Sindelfinger Str. 3
72070 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/4074-0
Fax: 0049/(0)7071/4074-22

wiesmueller@microcollections.de
spohn@microcollections.de

www.microcollections.de





Entwicklung von Tumor-selektiv wirksamen, Apoptose-induzierenden Zytokinen der TNF Liganden Familie

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh
 Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen

Klaus Pfizenmaier

Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Eine zentrale Zielsetzung der Krebsforschung ist die Entwicklung von Therapien, die eine gezielte Zerstörung von Tumoren ermöglichen. Die Verknüpfung von spezifischen Antikörpern mit tumortherapeutischen Wirkstoffen erlaubt im Prinzip die Herstellung von tumorselektiv wirksamen Reagenzien. Da die Wirkstoffkomponente solcher Reagenzien jedoch im Allgemeinen tumorunabhängig aktiv ist, beruht die tumorselektive Wirkung fast ausschließlich auf Anreicherungseffekten. Das therapeutische Fenster wird daher ganz wesentlich durch die systemischen Nebenwirkungen der Wirkstoffkomponente bestimmt. Neben konventionellen Radio- und Chemotherapeutika stehen dabei vor allem Proteine in Form von Toxinen oder Zytokinen als Wirkstoffkomponente für Antikörperkonjugate zur Verfügung. Aufgrund ihrer Wirkung sind Zytokine, die direkte anti-tumorale und/oder immunstimulierende Wirkungen entfalten können, besonders attraktiv. Hierzu gehören die Apoptose-induzierenden Liganden der Tumornekrosefaktor (TNF)-Familie TNF, CD95L und TRAIL, wobei ein wichtiges Ziel der Forschung die Vermeidung bzw. Minimierung unerwünschter und Dosis limitierender Wirkungen an Nicht-Tumor Geweben ist. Um die therapiebegrenzenden systemischen Nebenwirkungen von proapoptotischen Zytokinen zu reduzieren, wurde in den letzten Jahren die Herstellung von Fusionsproteinen, die ein „Targeting“ von Zytokinen in vivo erlauben, vorangetrieben.

Ziele

Grundsätzliches Ziel des Vorhabens ist es, die Wirkung von Liganden der Tumornekrosefaktor (TNF)-Familie für tumortherapeutische Zwecke nutzbar zu machen, ohne die für diese Zytokine typischen Nebenwirkungen zu induzieren. Hierzu werden im Rahmen dieses Projekts mit gentechnischen Methoden neuartige Fusionsproteine entwickelt, die sich von den derzeit zugelassenen bzw. in klin. Prüfung befindlichen Liganden (TNF, CD95L, TRAIL) sowohl in struktureller als auch funktioneller Hinsicht unterscheiden: es werden Fusionsproteine entwickelt, die tumorselektive Wirkung über „targeting“ und über „targeting“ abhängige Prozessierung/ Aktivierung entfalten; unabhängig davon wird durch Mutagenese die spezifische Aktivität und Rezeptorselektivität der Fusionsproteine optimiert; schließlich werden durch gentechnische Methoden auch die pharmakokinetischen Eigenschaften der Fusionsproteine gezielt verändert.

Strategie

Zytokinderivate für die Tumortherapie werden als Fusionsproteine mit Tumor-selektiven scFv hergestellt, wobei in Bezug auf die Zytokindomäne aktuell die Strategie der Herstellung einzelkettiger Liganden eingesetzt wird, bei dem der natürlicherweise als Homotrimer assoziierte TNF Ligand durch kurze Peptidlinker verbunden ist. Dieses einzelsträngige Molekül ist dem natürlichen Homotrimer funktionell äquivalent, weist aber höhere Stabilität

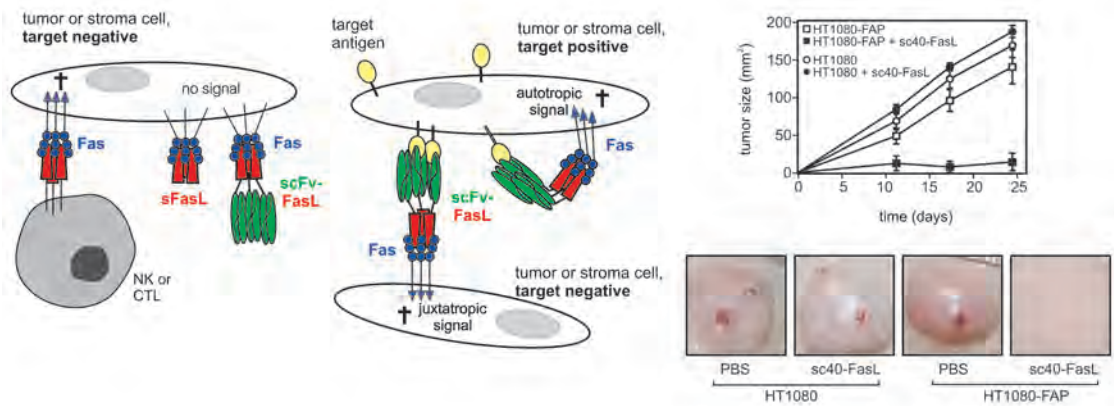


Abb. 1: Schematische Darstellung der „targeting“ abhängigen Apoptose Induktion durch scFv-TNF Liganden Fusionsproteine am Beispiel eines tumorselektiven scFv-FasL(CD95L) Fusionsproteins und dessen tumorinhibierende Wirkung im Xenotransplantationsmodell (aus Samel et al, JBC 2003).

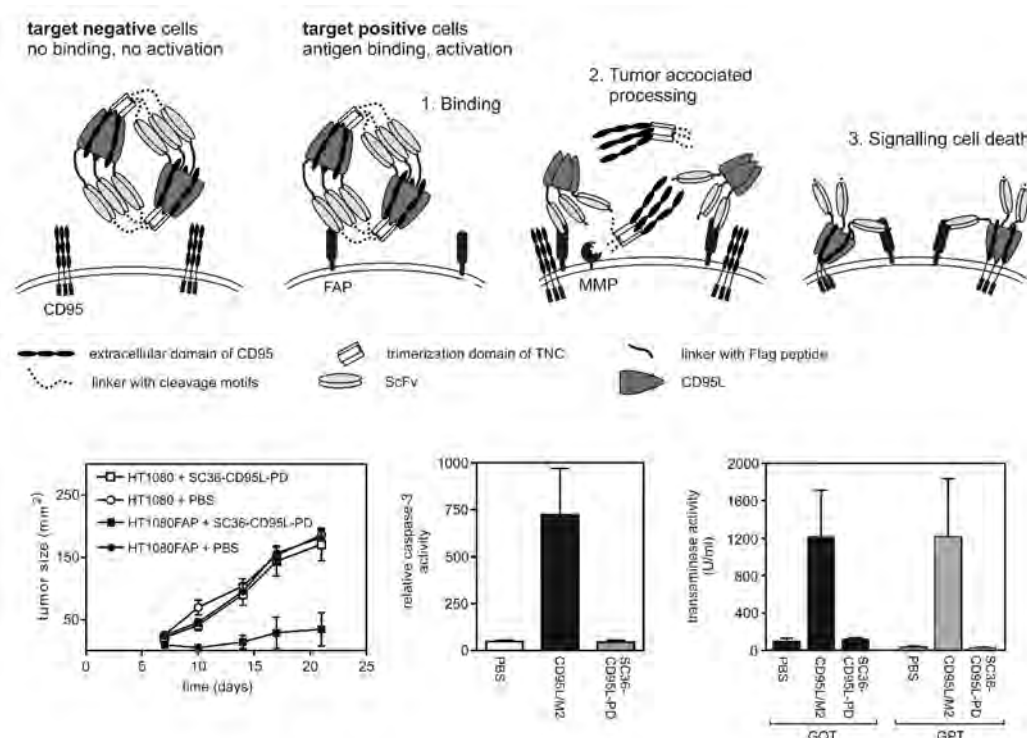


Abb. 2: Schematische Darstellung der tumorselektiven Prozessierung und Aktivierung einer CD95L Prodrug und deren antitumorale Aktivität ohne messbare systemische Nebenwirkungen (Leberwerte AST/ALT normal; aus Watermann et al. Cell Death Diff 2007).

auf. Durch Fusion mit weiteren Komponenten (z.B. Serumalbumine, Inhibitoren) werden gezielt die biologischen und/oder pharmakokinetischen Eigenschaften dieser Fusionsproteine verändert. Die Evaluierung der antitumoralen Aktivität erfolgt sowohl *in vitro* in Zellsystemen als auch in relevanten Tumormodellen der Maus.

Genetic engineering of death ligands for improvement of therapeutic activity

The death ligands TRAIL, FasL/CD95L and TNF are in the focus of intense preclinical and clinical research efforts having the aim to exploit these molecules as new anticancer drugs. A common feature of these ligands is that their transmembrane form display higher and/or broader activity than their soluble counterpart. So, the bioactivity of the soluble form of these ligands ranges from being poorly active (FasL/CD95L) to displaying a receptor type-selective signaling capacity (TNF, TRAIL). The presently approved or clinically exploited recombinant variants of TNF and TRAIL correspond to the soluble trimeric form of these proteins. A further major problem in clinical use of death ligands is their potentially strong off target action, which is well documented for TNF and oligomeric FasL and impacts their usefulness as cancer therapeutics. In order to increase intrinsic bioactivity of death ligands, yet restrain this to the tumor and avoid actions on normal tissues, our work aims at modifying these ligands by ge-

netic engineering to reach three goals: i) stabilization of a trimeric or multimeric organization and improvement of bioavailability, ii) directing ligand action to the diseased tissue through antibody (scFv) mediated targeting, and iii) development of prodrugs with a particularly restricted, tumor selective induction of bioactivity.

Projektleitung

Prof. Dr. Klaus Pfizenmaier
Dr. Jeannette Gerspach-Joner

Universität Stuttgart
Institut für Zellbiologie und Immunologie
Allmandring 31
70569 Stuttgart

Tel.: 0049/(0)711/685 66986
Fax: 0049/(0)711/686 67484

klaus.pfizenmaier@izi.uni-stuttgart.de
jeannette.gerspach@izi.uni-stuttgart.de

www.uni-stuttgart.de/izi/





Gezielte Immuntherapien: Entwicklung für Autoimmunkrankheiten und Krebs

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend

Martin Röcken

Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Haut ist ständig Umwelteinflüssen ausgesetzt – und für jedermann sichtbar. Sie ist die größte zusammenhängende "Organeinheit", eine essentielle Barriere und entscheidender Teil eines funktionierenden Immunsystems. Demzufolge ist die Haut primäres Zielorgan bei vielen fehlgesteuerten Immunprozessen, so bei Autoimmunkrankheiten und Allergien. Durch die exponierte Lage ist die Haut multiplen Umwelteinflüsse wie Infektionen, UV Strahlung und auch Medikamenten ausgesetzt. So erweisen sich Erkrankungen der Haut als zunehmende Bedrohung, insbesondere die ständig zunehmenden Hauttumoren.

Ziele

Die Forschung zentriert sich auf drei Fragenkomplexe: **1)** Wir wollen verstehen, wie das adaptive Immunsystem Entwicklung, Differenzierung und Gewebeschäden solider Organe steuert, unter besonderer Berücksichtigung der Haut. **2)** Uns interessieren die Grundlagen für die Tumorentwicklung in der Haut, und die Entwicklung sinnvoller Tumorthérapien. Insbesondere werden wir die Kenntnisse aus Pathogenese und Therapie von Autoimmunkrankheiten in sinnvolle Therapien gegen Tumorkrankheiten übersetzen. **3)** Als neuesten Weg widmen wir uns, basierend auf Erkenntnissen aus der Transplantations-Immunologie, der Hautregeneration und Hautbarriere, dem Thema der Stammzelltherapie für schwere Hautfragilitätssyndrome. Für diese Krankheiten besteht ein dringender Therapiebedarf; das Konzept erarbeiten wir in enger Kooperation mit dem Department für Pädiatrie und Kollegen der Universität Freiburg.

Strategie

1) Wir untersuchen die Wirkung der adaptiven Immunität auf Entwicklung, Differenzierung und Schädigung solider Organe. Hierfür analysieren wir primär die Interaktion zwischen T Lymphozyten und Antigen-präsentierenden Zellen (APC) und die Regulation der T Lymphozyten-Differenzierung in vitro und in vivo. Diese Kenntnisse nutzen wir, um über kontrollierte in vivo-Modulation von Immunantworten Therapien für chronische Krankheiten zu entwickeln. So fanden wir, dass Interleukin 4

einerseits über den Einfluss auf APC vor Infektionen schützen kann. Andererseits hemmt Interleukin 4 die Interferon / Interleukin 17-dominierte Immunität und kann so schwere Autoimmunkrankheiten wie die experimentelle Enzephalitis, ein Modell der multiplen Sklerose, und die Psoriasis des Menschen zur Heilung bringen. **2)** Die Ergebnisse aus dem Gebiet der Autoimmunkrankheiten zeigen die Rolle von Interferon/Interleukin 17-Immunität für die Gewebszerstörung und Wachstumshemmung. Diese Kenntnisse wurden genutzt, um Therapien gegen autonom wachsende Tumoren zu entwickeln - insbesondere neue Therapiemodalitäten gegen Melanom und Karzinome. So ergab sich, dass Tumor-spezifische Immunantworten Tumoren zum Stillstand bringen können. Entscheidend ist die Bedeutung von Tumor Nekrose Faktor (TNF) und Interferonen; beim Fehlen einer TNF/Interferon-dominierten Immunität können Immunantworten sogar das Tumorstadium fördern. Diese Kenntnis klärt, wie einige der kürzlich entwickelten Tumor-Vakzine Tumorstadium paradoxer Weise fördern statt es zu hemmen. An Modellkrankheiten entwickelte Daten werden kontinuierlich in Therapieansätze

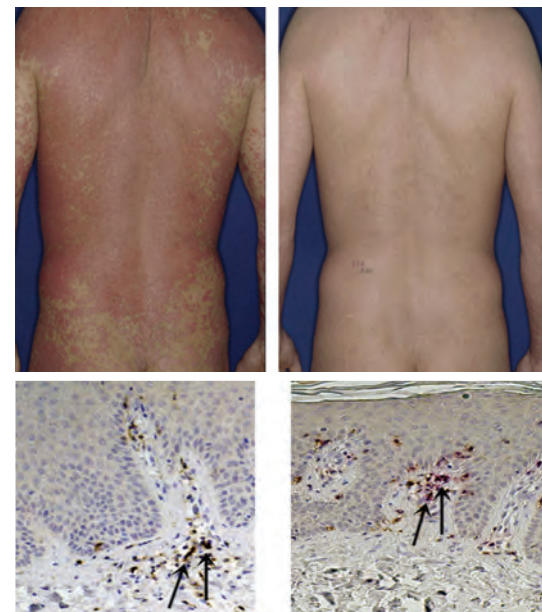


Fig. 1: Psoriasis before (top left) and after treatment with interleukin 4 (top right) and presence of pro-inflammatory CCR5+ T cells (arrows) before therapy (bottom left); clinical clearance and loss of pro-inflammatory CCR5+ T cells within 6 weeks of interleukin 4 therapy (bottom right) (a phase I/II trial; modified from Ghoreschi et al., Nat. Med. 2003).

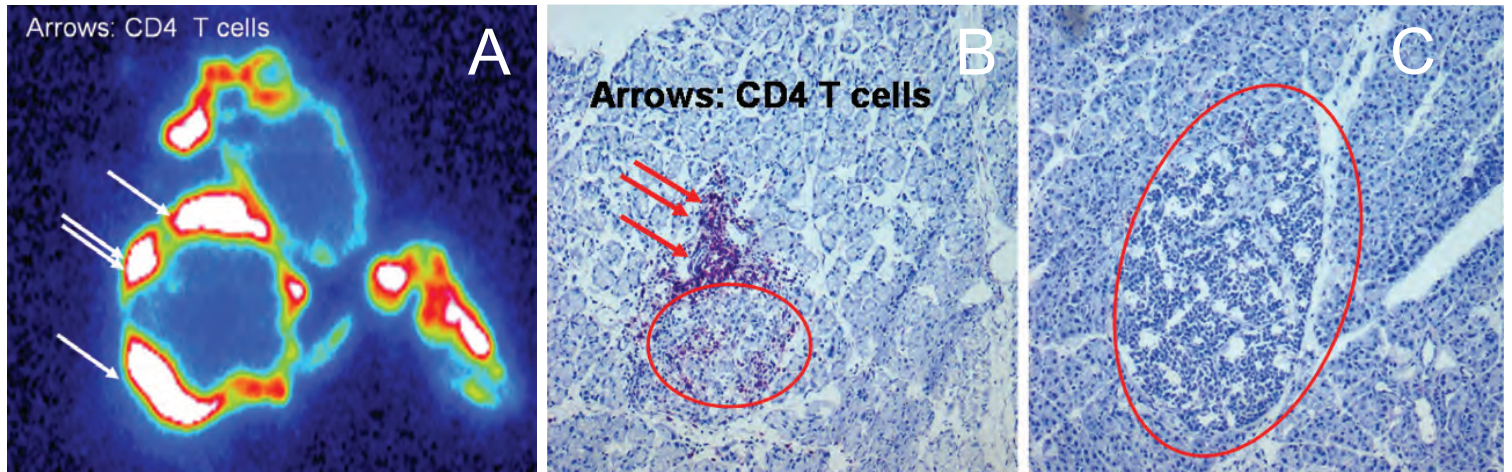


Fig. 2: Pro-inflammatory, interferon- γ producing CD4 T cells that only surround developing tumor, and arrest tumor growth by cytokine mediated signals without any sign of destruction (modified from Müller-Hermelink et al.; Cancer Cell 2008). **A)** Ex vivo imaging of therapeutic, tumor-surrounding CD4+ T helper cells. **B)** Arrest of tumor growth by peritumoral CD4+ T helper cells. **C)** Tumor growth in the absence of therapy.

für den Menschen weiterentwickelt. **3)** Genetisch bedingte Haut-Fragilitätssyndrome gehören zu den am schwersten belastenden Krankheiten des Menschen. Basierend auf Kenntnissen bezüglich Hauterkrankungen, die in Folge von Knochenmarktransplantationen auftreten, sind wir dabei, mit der Abteilung für Pädiatrie eine Stammzelltherapie für schwere, bullöse Haut-Fragilitätssyndrome zu entwickeln. Erste, präklinische Daten zeigen, dass Knochenmarkstammzellen in der Tat die gestörte Barrierefunktion der Haut zumindest teilweise wieder herstellen können. Dies ist eine erste Therapie-Chance für diese schwer erkrankten Kinder.

Target-orientated immunotherapies: development for immune mediated diseases and cancer

The research focuses on three major questions: **1)** How regulates the adaptive immune system development, differentiation and damage of solid organs? We address this by asking who and why interleukin 4-dominated or IL-23 deficient immune responses silence harmful immune reactions in the case of psoriasis or experimental encephalitis, the experimental model disease for multiple sclerosis. On the other side, we analyze the modes of action leading to tissue damage and translate them into novel immune therapies for cancer diseases. The results established a novel therapy for the human disease psoriasis, uncovered unexpected risks of tumor immune therapies, and established key factors responsible for successful tumor immune therapies. **2)** We continuously work on the translation of data from animal experiments into humans, and, inversely, use in vitro

analyses, and, where necessary use model diseases in mice, to analyze in depth the mode of action of novel therapies under development for humans. **3)** As novel direction we took advantage from our experience in transplantation immunology and develop, in close collaboration with the department of pediatrics, a stem cell therapy for severe blistering skin diseases, a group of diseases with urgent but unmet therapeutic need.

Projektleitung

Prof. Dr. Martin Röcken

Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitäts-Hautklinik
Liebermeisterstr. 25
72076 Tübingen

Tel.: 0049 (0)7071/29 84574
Fax: 0049 (0)7071/29 5450

martin.roecken@med.uni-tuebingen.de

www.hautklinik-tuebingen.de





Individualisierte Tumorthherapie mittels Pharmakogenomik

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken

Matthias Schwab

Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

In den vergangenen Jahrzehnten wurde eine Vielzahl von Arzneimitteln entwickelt, die erstmals eine wirksame medikamentöse Therapie von zuvor nicht behandelbaren Krankheiten ermöglichen. Trotz dieser großen Fortschritte sind mangelnde Wirksamkeit und/oder unerwünschte Arzneimittelwirkungen bisher ungelöste Probleme. So zeigen 20 bis 50 % der Patienten keine oder nur unzureichende therapeutische Effekte oder die Therapie muss trotz guter Wirksamkeit wegen Arzneimittelnebenwirkungen abgebrochen werden. Sieht man von Über- und Unterdosierungen eines Medikaments als verantwortlichem Mechanismus ab, sind die Ursachen für mangelnde Wirksamkeit oder Nebenwirkungen noch weitgehend unbekannt. Mit neuen Erkenntnissen aus dem humanen Genomprojekt erhofft man sich, diese Probleme besser lösen zu können. Es wird erwartet, dass sowohl neue krankheitsrelevante Gene als auch therapeutische Zielstrukturen auf genetischer Ebene, insbesondere für onkologische Erkrankungen, identifiziert werden. Damit soll es möglich werden, dem einzelnen Patienten eine für ihn maßgeschneiderte Therapie zukommen zu lassen mit dem Ziel, den Therapieerfolg zu optimieren und unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu minimieren. Beispiele, die diesen Zusammenhang belegen, sind aus der Tumorthherapie bekannt. Für ausgewählte Arzneistoffe sind bereits heute schon genetische Tests zur Therapieoptimierung in der klinischen Anwendung.

Ziele

Vorrangiges Ziel der Pharmakogenomik ist es, klinische Konsequenzen aus der genetischen Variabilität relevanter Drug targets abzuleiten und diese in der prädiktiven Diagnostik für Patienten einzuführen. Wir nutzen darüber hinaus genomweite Ansätze zur Identifizierung neuer Gene, die an der Entstehung von Erkrankungen beteiligt sind. Dies soll zu einer verbesserten Krankheits- und Therapieklassifikation auf molekularer Ebene führen und es zudem erlauben, eine spezifische Arzneimitteltherapie bei genetisch definierten Untergruppen von Patienten zu etablieren. Eine zukünftig individualisierte Arzneimitteltherapie soll das Ansprechen auf Medi-

kamente verbessern und Nebenwirkungen vermeiden (Abb. 1).

Strategie

Zur Umsetzung unserer Ziele wenden wir die bisher etablierten "-omics" Technologien und Methoden an, wie sie beispielhaft in Abb. 2 dargestellt werden. Eine wesentliche Voraussetzung für unsere Untersuchungen sind geeignete Patientenkohorten und Biobanken, die valide Informationen zum Therapieansprechen und/oder zum Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen enthalten. Ein holistischer Ansatz unter Einbeziehung bioinformatischer Expertise ermöglicht die Auswertung und Interpretation der so generierten komplexen Daten.

Individualized tumor therapy by means of pharmacogenomics

Variation in drug disposition and response among patients is a major concern associated with many pharmaceutical agents used in all disciplines of medicine. The clinical relevance of variability is most evident with drugs with a narrow therapeutic window (i.e. the dose used is close to the dose probably resulting in drug-related toxicity in most individuals). With increasingly available information from the Human Genome Project "Pharmacogenomics" aims to elucidate the genomic

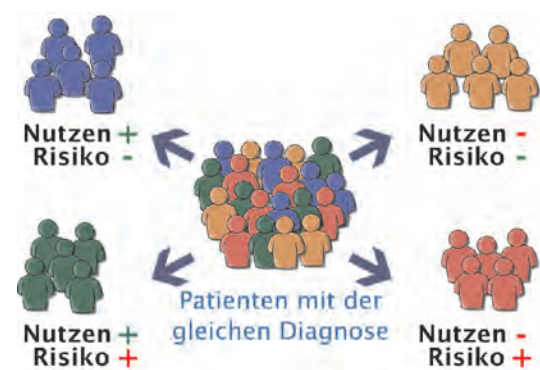


Fig. 1: Individualization of Drug Therapy: benefit and risk

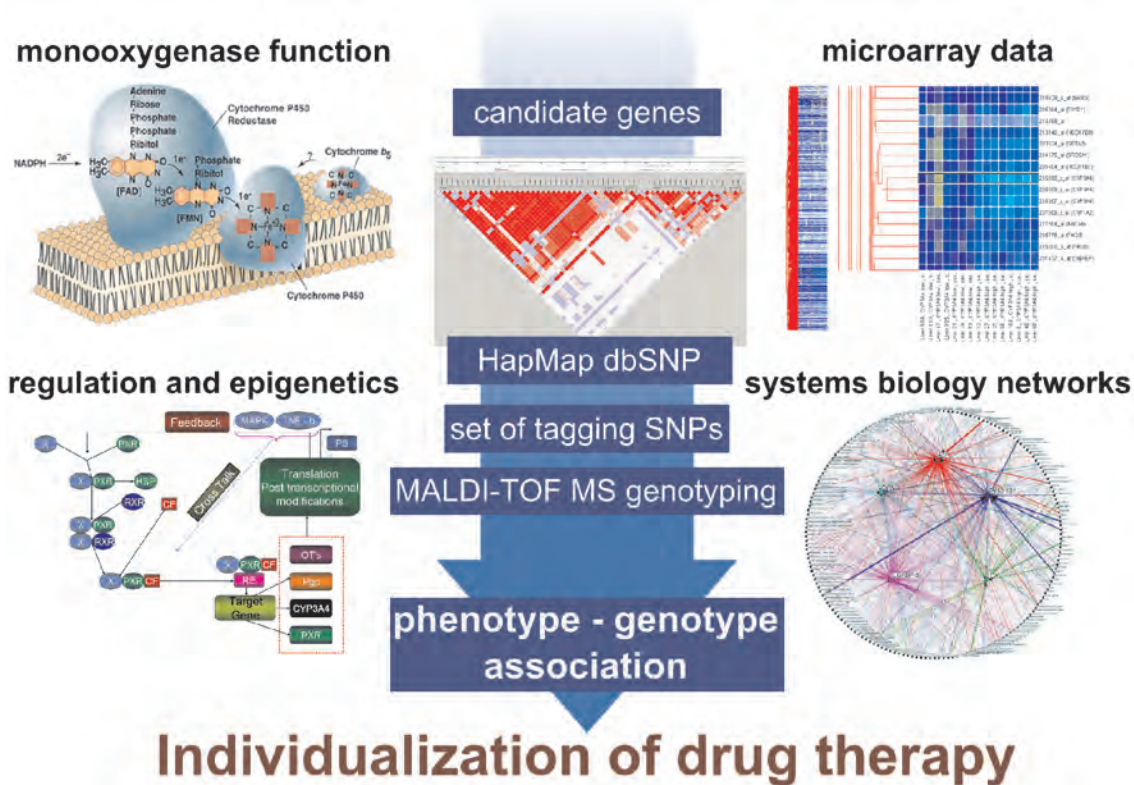


Fig. 2: Strategy of Pharmacogenomics.

key players of drug efficacy and toxicity. There is considerable evidence that profound effects on patient outcome and toxicity are largely contributed by polymorphisms in genes encoding for instance drug metabolizing enzymes, drug transporters and other relevant drug targets (e.g. immunological key molecules). Single genetic factors mostly fail to explain all variation of a complex phenotype such as drug response. Therefore, a more holistic approach addresses genetic polymorphisms in comprehensive biological/ pharmacological pathways. Recently developed “-omics approaches” (e.g. genomics, transcriptomics, proteomics, epigenomics) will aid in the identification of further putative targets for better prediction of drug response and will complement each other. Microarray technologies (e.g. cDNA arrays, GWA) are helpful to identify novel susceptibility genes, to redefine disease diagnosis and to predict therapy response to specific drugs.

Projektleitung

Prof. Dr. Matthias Schwab*
Prof. Dr. Hiltrud Brauch

Institut für Experimentelle und Klinische
Pharmakologie und Toxikologie des
Universitätsklinikums Tübingen,
Abteilung für Klinische Pharmakologie
Otfried-Müller-Str. 45
72076 Tübingen

*Leiter des Dr. Margarete Fischer Bosch-
Institut für Klinische Pharmakologie am
Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart

*Mitglied des Interfakultären Zentrums
für Pharmakogenomik und Arzneimit-
telforschung der Universität Tübingen
(ICEPHA)

Tel.: 0049/(0)711/8101 3700
Fax: 0049/(0)711/85 92 95

matthias.schwab@ikp-stuttgart.de
hiltrud.brauch@ikp-stuttgart.de

www.ikp-stuttgart.de





Thrombozyten als inflammatorische Mediatoren kardiovaskulärer Erkrankungen

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab

Meinrad Gawaz

Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Historisch gehören Thrombozyten zum Koagulationssystem. Neuere Ergebnisse implizieren, dass Thrombozyten auch als inflammatorische Zelle wirken können, an Infektionen (Fitzgerald *Nat Rev Microbiol* 2006) oder pathogen-unabhängiger Inflammation (Gawaz, Langer, *May. JCI* 2005) partizipieren und sogar für die adaptive Immunantwort wichtig sind (Elzey, *Immunity* 2003). Vor wenigen Jahren konnten unsere sowie eine weitere Gruppe unabhängig voneinander aufzeigen, dass Thrombozyten Atherosklerose, eine inflammatorische chronische Erkrankung der arteriellen Gefäße, bereits im frühen Stadium fördern (Massberg, *J Exp Med* 2002, Huo, *Nat Med* 2003). In aktuellen Untersuchungen in einem in vivo Modell der experimentell induzierten Autoimmunen zephalomyelitis (EAE) konnten wir zeigen, dass Thrombozyten im Bereich von inflammatorischen Läsionen vorhanden sind, mit inflammatorischen Zellen interagieren und so die Pathophysiologie der Erkrankung beeinflussen (Abb. 3). Dies war abhängig von einem Rezeptor/Liganden Paar auf Thrombozyt bzw. inflammatorischer Zelle, GPIIb/IIIa/α_{IIb}β₃ und CD40. Weiterhin konnten wir eine Interaktion von Thrombozyten mit dendritischen Zellen in vivo im Bereich vaskulärer Läsionen nachweisen (Langer, *ATVB* 2007). Neben Zell-Zell Interaktionen zwischen Thrombozyten und Leukozyten könnten inflammatorische Effekte durch Thrombozyten auch parakrin vermittelt sein. Fundierte Untersuchungen sind notwendig, um die genauen Mechanismen der thrombozytenvermittelten Inflammation zu charakterisieren.

Ziele

Im geplanten Vorhaben soll die Rolle von

Thrombozyten für inflammatorische kardiovaskuläre Erkrankungen wie Atherosklerose, Myokardinfarkt, Myokarditis, inflammatorische Kardiomyopathie und vaskuläres Remodelling, für welche Mausmodelle in der Arbeitsgruppe etabliert sind, evaluiert werden. Zugrundeliegende Mechanismen der Promotion oder Modulation inflammatorischer Prozesse durch Thrombozyten sollen in geeigneten Knockout Mausmodellen untersucht sowie etablierte (z.B. Clopidogrel) wie in klinischer Erprobung befindliche neue Thrombozyteninhibitoren (z.B. Thrombinantagonisten) getestet werden. So könnten neue Therapieoptionen basierend auf hypothetischen Modellen, die (patho-)physiologische Bedeutung von Thrombozyten als Vermittler von Inflammation in Betracht ziehen, aufgedeckt werden.

Strategie

Basis für die Evaluation der Rolle von Thrombozyten für inflammatorische Prozesse in kardiovaskulären Erkrankungen bilden die etablierten Mausmodelle der Atherosklerose (apoE^{-/-} Maus; Abb. 1), der akuten Myokarditis (Abb. 2), der autoimmun vermittelten inflammatorischen Kardiomyopathie, des Myokardinfarkts sowie der/des vaskulären Regeneration/ Remodellings. Mittels pharmakologischer Ansätze (z.B. Depletion von Thrombozyten) oder genetischen Mausmodellen mit thrombozytenspezifischer Defizienz (z.B. GPIIb/IIIa^{-/-} Maus) wird die Rolle von Thrombozyten per se für die verschiedenen Stadien der Erkrankungen sowie Mechanismen identifiziert, wie Thrombozyten Inflammation modulieren, zum Beispiel über die verstärkte Rekrutierung oder die lokale Aktivierung inflammatorischer Zellen.

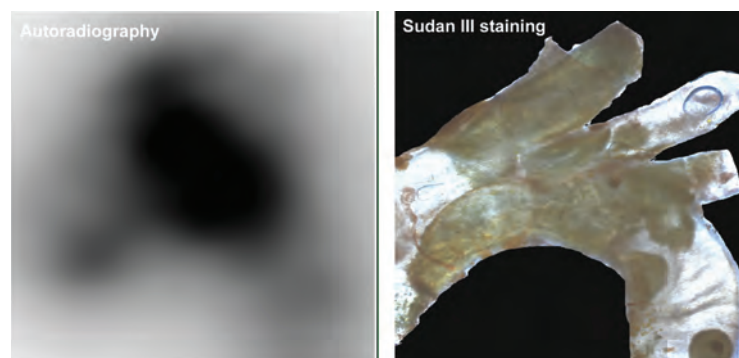


Fig. 1: Atherosclerotic lesion on APE^{-/-} mice and detection of vulnerable plaque areas by radiolabelled GPVI.

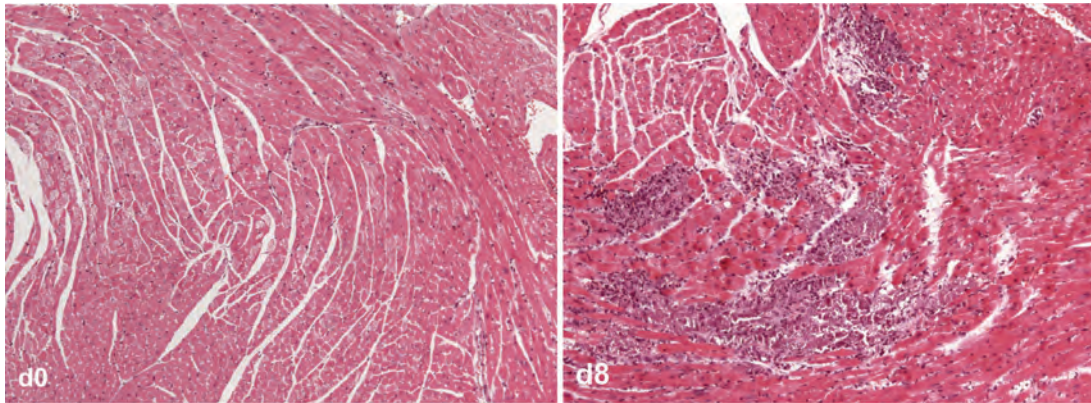


Fig. 2: In vivo model of virus (CVB3) induced acute myocarditis at baseline (day 0) and day 8 after disease induction.

Platelets as inflammatory mediators of cardiovascular diseases

Beyond their role in hemostasis, platelets have been proposed as important players in inflammation (Gawaz, Langer, May, JCI 2005). Indeed, depletion or inhibition of platelets reduces inflammatory cell recruitment in different settings. Recent data even suggested that platelets participate in adaptive immune responses (Elzey, Immunity 2003). Some years ago, our and another independent group showed for the first time that platelets are critical for the initiation of atherosclerotic lesion formation in vivo (Massberg, J Exp Med 2002, Huo, Nat Med 2003). We could now show in an in vivo model of experimentally induced autoimmune encephalomyelitis (EAE) that platelets are present in inflammatory lesions, interact with inflammatory cells and thereby modulate disease progression. This was dependent on distinct receptor/ligand interactions between platelet GPIb and inflammatory cell Mac-1. Besides facilitating leukocyte recruitment, platelets may influence inflammation in many more ways, for example the paracrine secretion of cytokines or chemokines. In the planned project, the role of platelets for major cardiovascular diseases involving inflammation such as atherosclerosis, myocarditis or myocardial infarction are to be investigated (Fig. 1&2). We will use mouse models established in our group and apply pharmacological and genetic approaches to identify involved mechanisms, how platelets may modulate inflammation in these diseases. Thereby, novel so far neglected therapeutic options based on the function of platelets as inflammatory cells may be discovered, especially as constantly new drugs targeting platelet receptors such as thrombin inhibitors are introduced into clinical trials.

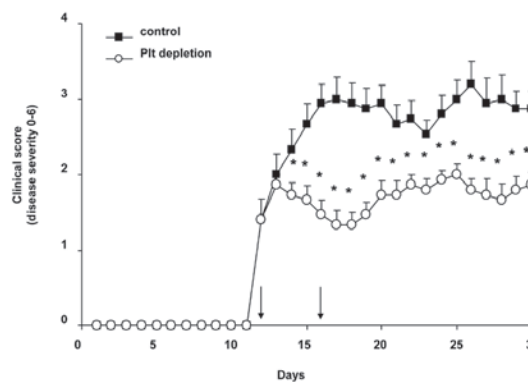


Fig. 3: Platelet depletion results in reduced autoimmune encephalomyelitis (EAE) disease severity in vivo.

Projektleitung

Prof. Dr. Meinrad Gawaz
Dr. Harald F. Langer

Eberhard Karls Universität Tübingen
Innere Medizin III - Kardiologie und
Kreislaufkrankungen
Universitätsklinikum Tübingen
Otfried-Müller-Straße 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 83688
Fax: 0049/(0)7071/29 5749

meinrad.gawaz@med.uni-tuebingen.de
harald.langer@med.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de/
kardiologie/





TransLimm Genome Center

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz

Olaf Rieß

Olga Garaschuk

Peter Bauer

Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Für die individualisierte Immuntherapie von Tumoren ist die Kenntnis von zellulären Veränderungen in den Tumorzellen der Patienten essentiell. Jegliche Eigenart des Tumors, sei es eine bekannte oder neu entdeckte, liefert möglicherweise entscheidende Ansatzpunkte für tumorbekämpfende Antikörper oder Immunisierungsstrategien. Aus genetischer Sicht hat sich das Erbgut der Tumorzellen durch neu entstandene Mutationen immer weiter verändert. Dadurch entstehen zunehmend Schäden im Aufbau und in der Funktion von Eiweißstoffen und damit Struktur- und Stoffwechselbestandteilen. Die Tumorzellen werden damit allen Körperzellen des Tumorpatienten immer unähnlicher und Unterschiede zu gesunden Zellen des Patienten können in einer Immuntherapie - sofern sie bekannt sind - attackiert werden. Im Genomzentrum von TransLimm werden durch Hochdurchsatz-Sequenzanalysen dieser Tumor-Erbsubstanzen diese Veränderungen auf Ebene der DNA identifiziert. Die dabei eingesetzten neuartigen Sequenzieretechnologien erlauben uns, zigtausende von Informationen zeitgleich zu erfassen (Abb. 1). Damit öffnet sich für die Krebspatienten erstmals ein Behandlungsfenster, weil unmittelbar nach chirurgischer Verkleinerung von Tumoren das gewonnene Gewebe genetisch analysiert und die erfassten Daten schon nach 3-4 Wochen für die Produktion von patienten-individuellen Immunisierungslösungen genutzt werden und damit für eine Tumorthherapie eingesetzt werden können.

Ziele

In einer ersten Phase werden tumorspezifische DNA-Veränderungen bei Patienten mit hepatozellulären Karzinomen und Peritonealkarzinose sequenziert. Noch in diesem Jahr soll die Technologie soweit ausgebaut sein, dass wir innerhalb von vier Wochen nach Tumor-Operation relevante Sequenzveränderungen entdecken und hinsichtlich der Wirksamkeit in einer Immuntherapie beurteilen können. Mit Ablauf des Jahres sollen die Analysen um die Sequenzierung und Beurteilung von RNA-(Transkript)-Veränderungen erweitert sein und ein vernetztes Datenwerk für die Immuntherapie zur Verfügung stehen.

Strategie

(1) Bei Krebspatienten werden im Rahmen der chirurgischen Therapie Proben des Tumor und des umgebenden gesunden Gewebes gewonnen und kryokonserviert. (2) Aus kleinen Teilen dieser Gewebeproben wird nach pathologischer Beurteilung eine DNA- und RNA-Präparation unternommen. (3) In diesen Nukleinsäure-Präparationen werden etwa 100-200 relevante Zielsequenzen mit Einfluss auf die immunogenen Eigenschaften des Tumors angereichert und für eine Sequenzierung vorbereitet. (4) Durch Hochdurchsatz-Sequenzierung werden Daten dieser 200 Zielgene hergestellt. (5) Die bioinformatische Analyse des individuellen Datensatzes identifiziert (i) immunogene Mutationen im Tumor, (ii) Fusionstranskripte, (iii) tumorspezifische Transkripte. (iii) Dieser Datensatz wird für die Immuntherapie bereitgestellt.

TransLimm Genome Center

Immunotherapy of tumors necessitates the knowledge of tumor-specific antigens which should be attacked by targeted immune cells. As a substantial part of tumor-specific alterations are due to somatic mutations in the tumor cell lines, high-throughput sequencing of relevant genes in tumors will be able to gather these tumor-specific information. The TransLimm Genome Center is dedicated to prepare and sequence tumor samples from our patients accordingly to provide a list of truncated or otherwise mutated

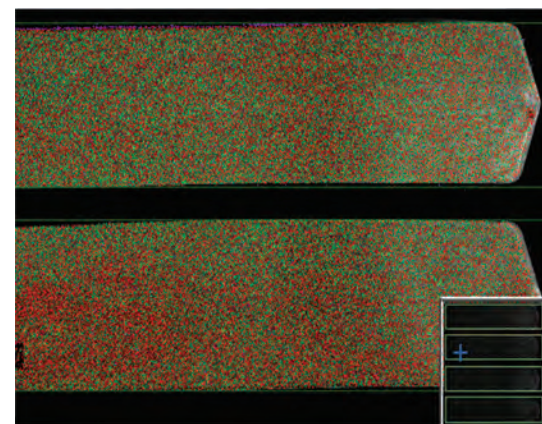


Abb. 1: Sequenzierdichte auf einem Next-Generation-Sequencing Gerät: Auf einer Fläche von 4x2 cm werden etwa 400.000 Sequenzierungen (grüne Punkte) parallel durchgeführt.

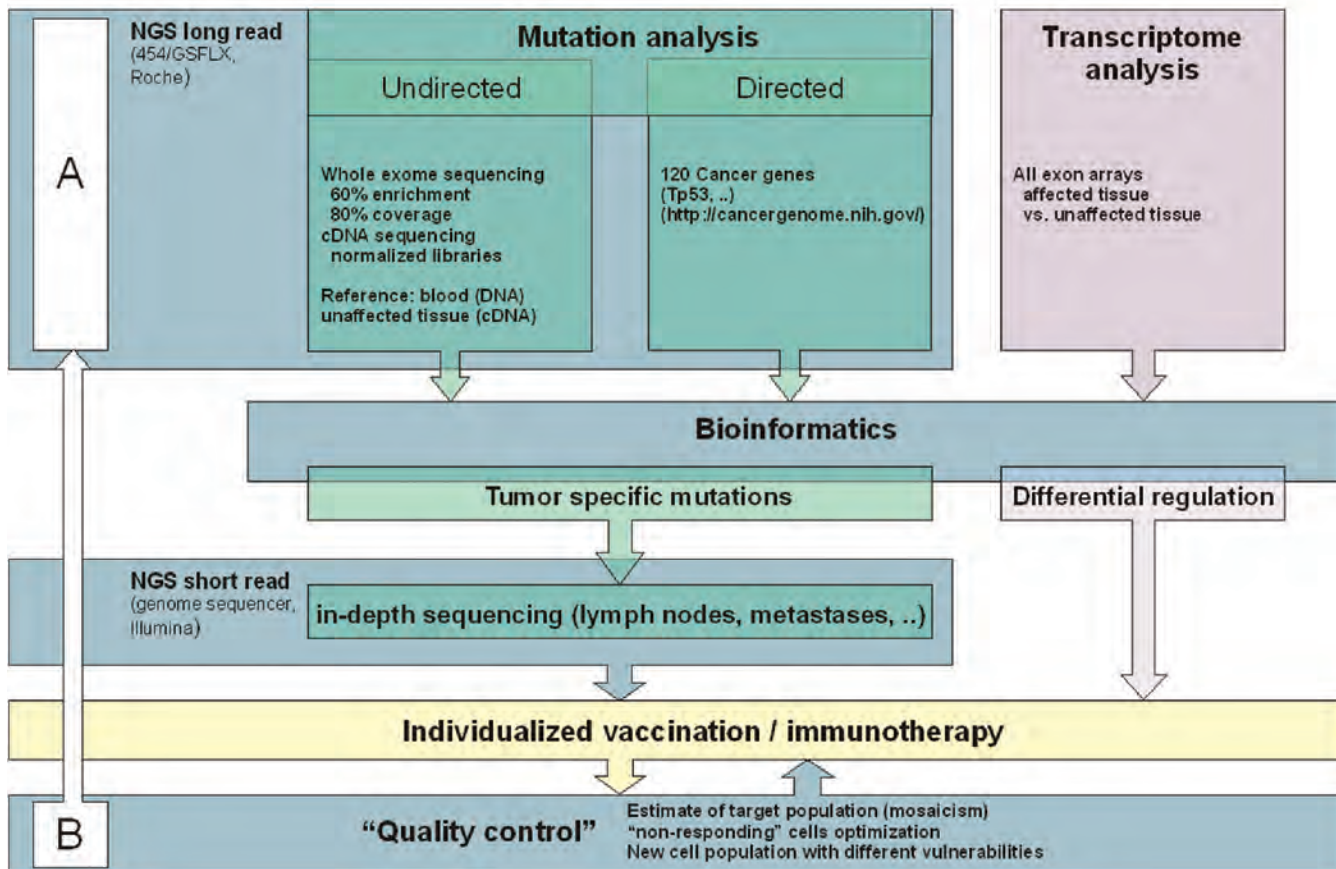


Fig. 2: Highthroughput sequencing in tumor samples (top to down): All patients included in the workflow will receive massive parallel sequencing in tumor samples and normal tissue in order to identify tumor specific mutations (A). After bioinformatic analyses a second sequencing approach might further characterize the status of relevant lymph nodes or in metastases. The individualized vaccination targets are selected upon this complete body of information (including standard expression profiling data). A quality control phase (B) takes up estimates of target populations (mosaicism) and gathers second-line targets in non-responders. All results of this phase help to further streamline the general workflow.

tumor-specific proteins. In a first approach we anticipate to enrich this target sequences for 100-200 relevant genes (Fig. 2) and resequence targeted DNA fragments with 80-100 fold coverage in order to capture part of the constitutional mosaicism. Secondly, these efforts will be complemented by cDNA sequencing of the respective samples. The compilation of both data sets helps to cross-validate and prioritize tumor specific variants. An additional filter set will annotate biological relevance and antigenicity of the respective variants. Thus the TransLimm Genome Center is dedicated to produce accurate genome and transcriptome based targets for immunotherapy. The most critical resource of this objective is time as therapeutic intervention should be available latest 8-10 weeks after surgery. Therefore all steps will be quality controlled and tailored for high validity as there is no time for extended second step validation.

Projektleitung

Prof. Dr. Olaf Riess
Dr. Peter Bauer

Eberhard Karls Universität Tübingen
Institut für Humangenetik,
Abteilung Medizinische Genetik
Calwerstrasse 7
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 76458
Fax: 0049/(0)7071/29 5171

olaf.riess@med.uni-tuebingen.de
peter.bauer@med.uni-tuebingen.de

www.genetik-tuebingen.de





Funktionelle Eigenschaften von Mikrogliazellen im alternden und erkrankten Gehirn

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß

Olga Garaschuk

Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Mikrogliazellen sind der Hauptbestandteil der aktiven Immunabwehr im Zentralnervensystem. Im gesunden Gehirn befinden sie sich in einem ruhenden Zustand. Die ruhenden Mikrogliazellen patrouillieren deren unmittelbare Umgebung mit ihren Ausläufern und sind ständig an der Reparatur der Mikroverletzungen des Gehirns (sei es ein Mikroinfarkt oder eine sterbende Zelle) beteiligt. Stärkere pathologische Stimuli führen zu Aktivierung von Mikroglia. Alterungsprozesse sowie die neurodegenerativen Erkrankungen (z.B. Morbus Alzheimer) gehen auch mit einer Aktivierung der Mikrogliazellen einher. Aktivierte Mikrogliazellen sind ein substanzieller Bestandteil der senilen Plaque, einer der histologischen Hauptmerkmale der Alzheimer-Krankheit. Die von diesen Zellen ausgehenden entzündlichen Prozesse leisten, aller Wahrscheinlichkeit nach, einen wichtigen Beitrag zur Pathogenese der Erkrankung. Die aktivierten Mikrogliazellen setzen kalziumabhängig mehrere Zytokine/Entzündungsmediatoren (TNF- α , Interleukine, Prostaglandin E₂, etc.) frei. Allerdings wurden bis dato die Mechanismen mikroglialer Kalziumsignalgebung nur in kultivierten Zellen untersucht. Im Vergleich zu in vivo befinden sich diese Zellen in einem ganz anderen Aktivierungszustand. Die Mechanismen sowie der Ablauf dieser Prozesse in vivo sind dagegen weitestgehend unklar.

Ziele

Das Hauptziel unserer Untersuchungen ist es die funktionellen Eigenschaften von Mikrogliazellen in vivo zu charakterisieren. Es handelt sich dabei um die Mechanismen der Kalziumsignalgebung in ruhenden aber auch in aktivierten bzw. sich in einem Aktivierungsprozess befindenden Mikrogliazellen sowie um die zellaktivierungsbegleitenden morphologischen Veränderungen dieser Zellen.

Strategie

Mithilfe der hochauflösenden Zwei-Photonen Mikroskopie kombiniert mit den neuartigen Zellanfärbe-Methoden ist es uns vor Kurzem gelungen die Mikrogliazellen in vivo mit Kalzium-empfindlichen Indikator-Farbstoffen anzufärben und zu visualisieren (Abb. 1). Nun sollen durch in

vivo Langzeitbeobachtungen dieser Zellen im jungen adulten aber auch im alternden (Abb. 2) Gehirn die Gesetzmäßigkeiten deren Kalziumsignalgebung unter Ruhe-Bedingungen untersucht und mit denen der aktivierten Mikrogliazellen in Mausmodellen der Alzheimer-Erkrankung (Abb. 3, 4) verglichen werden. Darüber hinaus soll geklärt werden, inwieweit Mikrogliazellen und die von ihnen freigesetzten entzündlichen Mediatoren zur „Hyperaktivität“ der Neuronen in der Plaque-Nähe (s. Busche et al., Science 2008) beitragen.

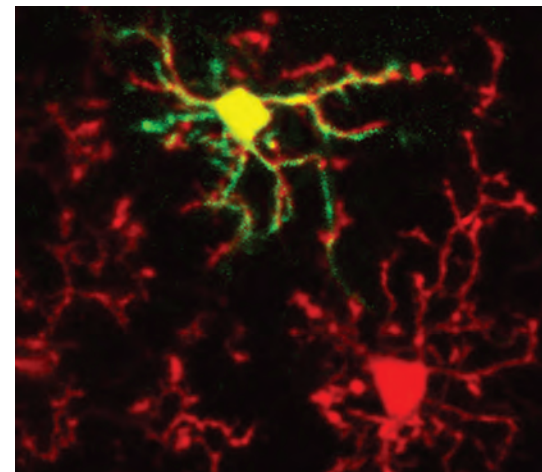


Abb. 1: Mikrogliazellen in vivo, im Cortex einer adulten Maus. Die Zellen exprimieren grünes fluoreszierendes Protein (eGFP, rot). Die obere Zelle ist darüber hinaus mit einem Kalzium-Indikator (Oregon Green BAPTA 1 (OGB-1), grün) gefärbt.

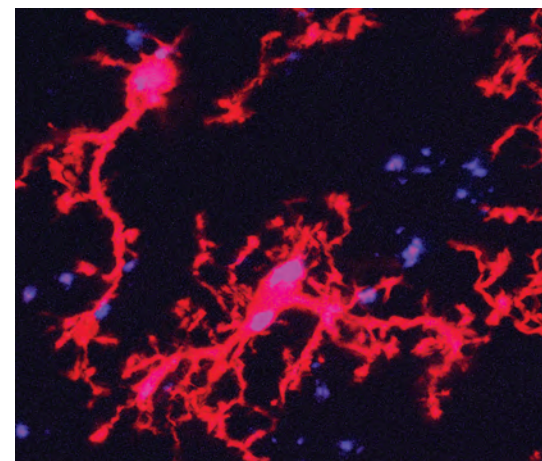


Abb. 2: Mikrogliazellen (rot) im Cortex einer 15 Monate alten Maus. In blau ist die Fluoreszenz des Alterspigments Lipofuscin dargestellt.

Understanding microglial function in the aging and diseased brain

Microglia are primary immune cells of the CNS. Resting microglia found in the healthy adult brain play a critical role in defending its structural and functional integrity. An appearance of a pathological agent/event elicits rapid activation of these cells. Microglial activation also accompanies normal aging as well as neurodegenerative diseases like Alzheimer's disease (AD). In AD brains microglia are clustered in and around amyloid β deposits, the main histological hallmark of the disease. The properties of microglia were extensively studied in reduced preparations (cell cultures) but little is known about functional properties of these cells in vivo. By using multicolor high-resolution two-photon imaging combined with different cell labeling techniques we aim at understanding the mechanisms underlying in vivo calcium signaling in microglia as well as their morphological responses to physiological stimuli in the aging and diseased brain. The ultimate goal of our work is to understand the contribution of microglia to the development of AD and thus to identify possible new strategies for AD therapy.

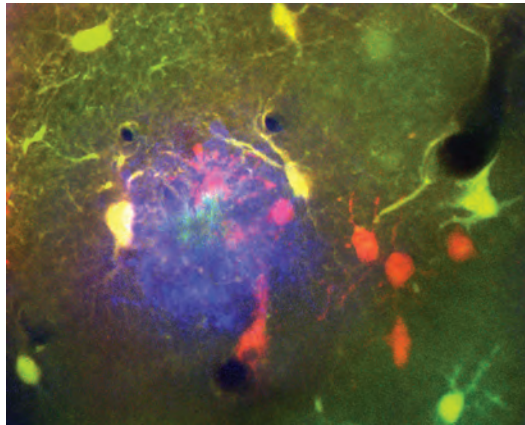


Abb. 4: Abbildung eines anderen Plaques (blau) in der Schicht 1 des Mausekortex. In Plaque-Nähe befinden sich Astrozyten (gelb (OGB-1 + S101)) und Mikroglia-Zellen (rot (eGFP-markiert)).

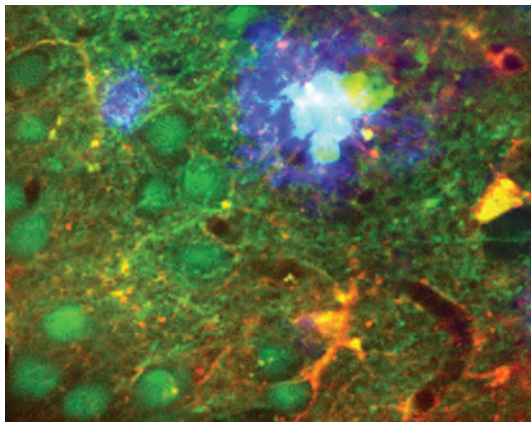


Abb. 3: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Umgebung eines Amyloid-Plaques in vivo, in der Schicht 2/3 des Mausekortex. Die Neuronen und Astrozyten sind mit dem Kalzium-Indikator OGB-1 (grün) eingefärbt. Die Astrozyten sind darüber hinaus mit einem Glia-spezifischen Indikator (Sulforhodamine 101, rot) markiert. Die Plaques sind mit Thioflavin S (blau) eingefärbt.

Projektleitung

Prof. Dr. Olga Garaschuk

Eberhard Karls Universität Tübingen
Physiologisches Institut II
Wilhelmstraße 27
72074 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 73640
Fax: 0049/(0)7071/29 5395

olga.garaschuk@uni-tuebingen.de

www.physiologie.uni-tuebingen.de/dep2/home





Haploidente Stammzelltransplantationen als Plattform für weitere immuntherapeutische Strategien

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh
 Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer

Peter Lang

Roland Kontermann

Rupert Handgretinger

Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović
 Tobias Feuchtinger
 Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT) ist ein etabliertes Verfahren zur Behandlung von Patienten mit verschiedenen fortgeschrittenen bösartigen Erkrankungen. Das ursprüngliche Ziel dieses Verfahrens war es, die Resistenz von Tumorzellen auf konventionelle Dosen von Zytostatika durch eine enorm hohe und ohne Transplantation letale Dosis von Zytostatika zu überwinden und die damit verbundene irreversible Zerstörung des Patientenknorpelmarks durch die Übertragung des Knochenmarks von einem HLA-identen gesunden Spender zu verhindern. In den letzten Jahren hat sich jedoch aufgrund vielfältiger wissenschaftlicher Studien gezeigt, daß der Erfolg der allogenen Knochenmarkstransplantation nicht so sehr von der Dosis der Zytostatika abhängt, sondern vielmehr dadurch bedingt ist, daß der Patient mit dem Knochenmark ein neues und gesundes Immunsystem übertragen bekommt, welches besser in der Lage zu sein scheint, die Proliferation von bösartigen Zellen im Organismus des Patienten zu verhindern. Da nicht für alle Patienten ein HLA-identischer Spender gefunden werden kann, wurde die haploidente Transplantation eingeführt. Während anfänglich diese Transplantationen mit halbidentlichen Eltern oder Geschwistern als Spender mit sehr vielen schweren und auch tödlichen Nebenwirkungen verbunden war, ist sie mittlerweile durch verbesserte Techniken der Elimination von Spender-T-Lymphozyten zu einem relativ sicheren Verfahren geworden.

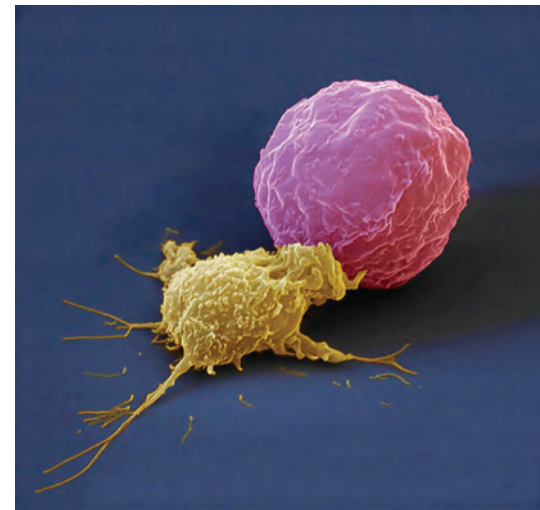


Abb. 1: Elektronenmikroskopisches Bild einer NK-Zelle (gelb), die eine Leukämiezelle (rot) angreift und lysiert. (copyright Eyeofscience, Reutlingen).

Ziele

Das Ziel unserer Arbeiten ist es, die haploidente Transplantation als eine Form der Immuntherapie einzuführen und immuntherapeutische Strategien zu entwickeln, um das Auftreten von Rückfällen nach Transplantation zu verhindern. Hierbei spielen vor allem die sogenannten Natürlichen Killer (NK) Zellen eine wesentliche Rolle. Diese Killerzellen können die Patiententumorzellen genau dann angreifen, wenn die HLA-Antigene des Patienten mit denen des Spenders nur zum Teil übereinstimmen, was gerade bei der haploidenten Transplantation der Fall ist. Durch die detaillierte Analyse des NK-Zellsystems und dessen Funktion nach Transplantation erhoffen wir uns Aufschluss darüber,

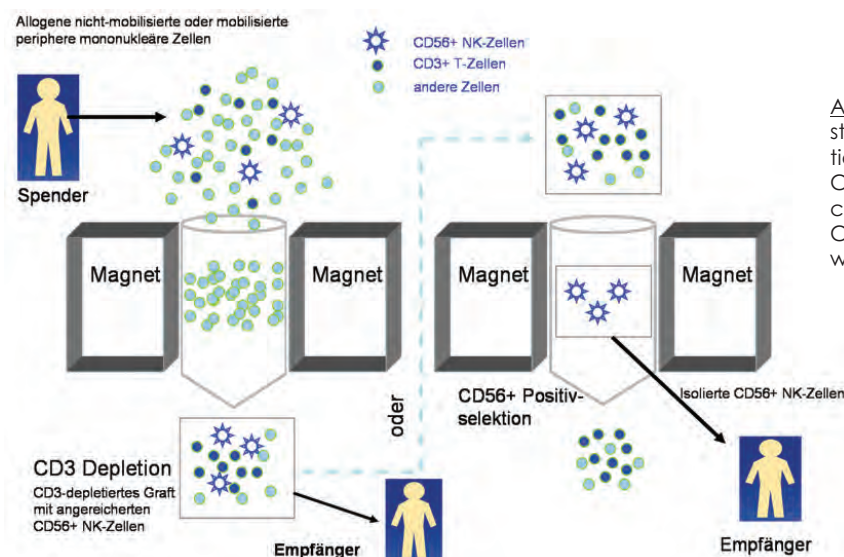


Abb. 2: Schematische Darstellung der NK-Zellapplikation. Es können entweder CD3-depletierte angereicherte oder isolierte CD56⁺ NK-Zellen infundiert werden.

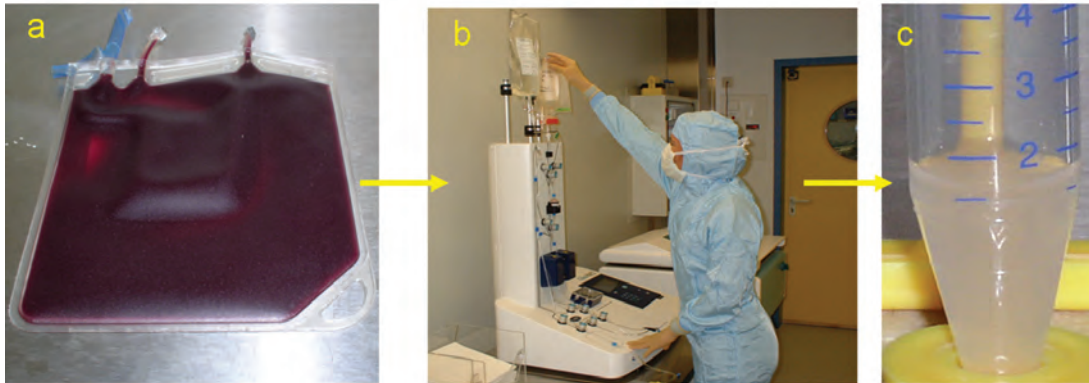


Abb. 3: Ausgehend von Spenderleukapheresen (a) werden NK-Zellen durch ein halbautomatisiertes magnetisches Zellsortierverfahren im Reinraum isoliert (b) und anschließend den Patienten appliziert (c).

wie wir durch gezielte Aktivierung dieser Zellen eventuell noch vorhandene Tumorzellen im Patienten eliminieren können.

Strategie

Als Stammzellquelle verwenden wir mobilisierte periphere Stammzellen von haploidenten Spendern, bei den die T-Zellen mittels Positivselektion von CD34+ Stammzellen oder durch Depletion von CD3- oder alpha/beta-positiven T-Lymphozyten entfernt werden. Dadurch erhoffen wir uns einen zusätzlichen anti-Tumor Effekt durch die im Transplantat verbleibenden NK- Zellen und gamma/delta T-Lymphozyten. Um diese Effekte zu verstärken, setzen wir zusätzlich Zytokine wie Interleukin 2 oder Interleukin 15 ein. Eine zusätzliche Aktivierung dieser Effektorzellen erreichen wir durch die weitere Gabe von monoklonalen Antikörper, die spezifisch gegen Tumorzellen wie etwas das Neuroblastom oder gegen Leukämiezellen gerichtet sind.

Haploidentical stem cell transplantation as a platform for further post-transplant immunotherapeutic strategies.

Hematopoietic allogeneic stem cell transplantation is an established treatment for patients with advanced tumors. Deeper insights into the mode of action of this therapy has provided increasing amount of evidence that the success of HSCT in the treatment of patients with malignancies is related to a major proportion to the establishment of a new, donor-derived immune system in the host and that this allogeneic immune system is capable of exerting a powerful anti-tumor activity. Besides the donor-derived T-lymphocytes, Natural Killer (NK) cells play an important role in this setting. While the activation of allogeneic T-lymphocytes might always bear the risk of inducing severe Graft-versus-Host Disease (GvHD), alloreactive

NK cells do not cause GvHD and are therefore safe and potent effector cells. Especially the discovery of the system of Killer-inhibitory Receptors (KIR) on the NK cells has triggered major research efforts to harness the anti-tumor effects of these cells in the context of HSCT. Other functions of NK cells, such as their ability to exert Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) might also add to their potent anti-tumor effects after HSCT. While GvHD reactions are caused by α/β + T-lymphocytes, another important effector cell population might be γ/δ + T-lymphocytes. These nonalloreactive T-lymphocytes might also be able to mount powerful anti-tumor effects in the context of HSCT and clinical studies to exploit their anti-tumor effects are underway.

Projektleitung

Prof. Dr. Rupert Handgretinger
Prof. Dr. Peter Lang

Eberhard Karls Universität Tübingen
Universitätsklinik für Kinderheilkunde
und Jugendmedizin
Abt. Hämatologie/Onkologie und
Allgemeine Pädiatrie
Hoppe-Seyler-Str. 1
72076 Tübingen

Tel.: 0049(0)7071/29 84744
Fax: 0049(0)7071/29 4713

Rupert.Handgretinger@med.uni-tuebingen.de
Peter.Lang@med.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de/kinder





Rekombinante Antikörper und Nanopartikel für die Tumortherapie

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang

Roland Kontermann

Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Antikörper eignen sich aufgrund einer ausgeprägten Selektivität und relativ hohen Affinität idealerweise für die Tumortherapie. Obwohl die Antikörpertherapie, einschließlich der Verwendung von Antikörperkonjugaten, in den letzten Jahren zunehmend an klinischer Bedeutung gewonnen hat, muss doch festgehalten werden, dass die Effizienz dieser Antikörper noch weit hinter den Erwartungen zurücksteht und oft nur partielle und vorübergehende Remissionen beobachtet werden. Eine Verbesserung der Wirksamkeit therapeutischer Antikörper ist also dringend erforderlich. Rasante Entwicklungen auf dem Gebiet des Antikörper-Engineering haben zur Etablierung einer ganzen Reihe von potenten Antikörpermolekülen geführt. So können z.B. bispezifische Antikörper für die Rekrutierung und zielzellabhängige Aktivierung von Effektorzellen des Immunsystems, insbesondere von T-Zellen, eingesetzt werden, welche über klassische Antikörpertherapien nicht erreicht werden. Die T-Zell-Antwort kann dabei durch Einbeziehung costimulatorischer Moleküle noch verstärkt werden. Antikörper bzw. Antikörperfragmente eignen sich darüber hinaus auch als Liganden, z.B. für nanopartikuläre Trägersysteme. Die Kopplung von Antikörpern an die Partikeloberfläche erlaubt einen zielgerichteten Transport, z.B. von liposomal verpackten Wirkstoffen, zum Tumor und somit eine lokale Wirkstofffreisetzung und verbesserte Wirksamkeit.

Ziele

Das Ziel unserer Arbeiten ist die Etablierung neuer zielgerichteter Strategien für die Tumortherapie unter Verwendung rekombinanter Antikörper zur selektiven Erkennung von Tumorzellen bzw. tumorassoziierten Strukturen wie z.B. das Tumorgefäßbett bzw. das Tumorstroma. Dabei beschäftigen wir uns insbesondere mit der Entwicklung von bispezifischen und bifunktionellen Antikörpermolekülen für das Retargeting von T-Zellen zu Tumorzellen und einer effizienten, lokalen Stimulierung der zytotoxischen Aktivität. Darüber hinaus befasst sich unsere Arbeitsgruppe mit der Entwicklung zielgerichteter nanopartikulärer Trägersystemen für die Tumortherapie, insbesondere für den

Transport niedrigmolekularer Wirkstoffe und neuartiger Proteintherapeutika.

Strategie

Neue Antikörperderivate für die Immuntherapie werden von uns rekombinant hergestellt, indem z.B. die antigenbindende Region eines Antikörpers mit einer zweiten Bindestelle verbunden wird (bispesifische Moleküle) bzw. mit einem costimulatorischen Liganden fusioniert wird (bifunktionelle Moleküle). Dabei werden auch Strategien zur Verlängerung der Halbwertszeit einbezogen, wie z.B. die Fusion mit Albumin oder einer

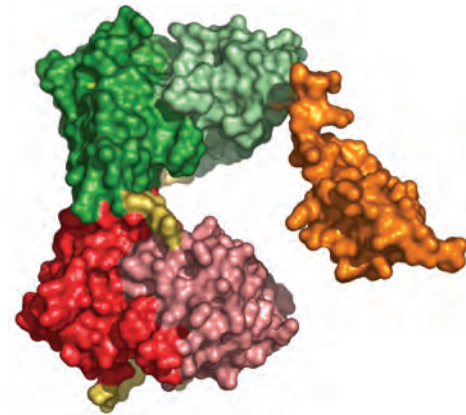


Abb. 1: Strukturmodell eines rekombinanten, bispezifischen Antikörpermoleküls ("single-chain Diabody; scDb") bestehend aus zwei Antigenbindungsstellen (rot, grün) fusioniert mit einer Albuminbindedomäne (orange).

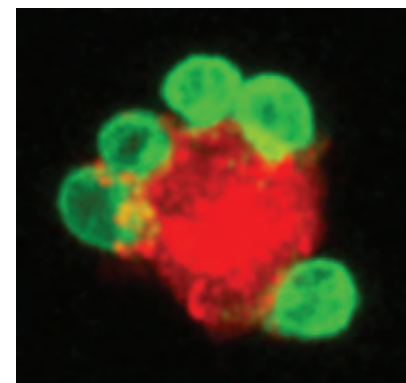


Abb. 2: Bindung von T-Zellen (grün) an eine Tumorzelle (rot) nach Inkubation mit einem bispezifischen Antikörper gegen das T-Zell-Antigen CD3 und das tumor-assoziierte Antigen Carcinoembryonales Antigen.

Albuminbindedomäne. Ferner werden von uns Antikörper gentechnisch so modifiziert, dass sie für eine gerichtete und definierte Kopplung an nanopartikuläre Trägersysteme eingesetzt werden können. Dabei verwenden wir sowohl liposomale als auch polymere Partikel, bzw. sog. Kompositpartikel bestehend aus einem Polymerkern und einer liposomalen Hülle. Die Evaluierung der antitumoralen Aktivität erfolgt sowohl in vitro in Zellkultursystemen als auch in relevanten Tumormausmodellen.

Recombinant antibodies and nanoparticles for cancer therapy

Antibodies offer the possibility to specifically recognize tumor-associated antigens, e.g. on tumor cells, but also on the tumor vasculature and the tumor stroma. Our goal is to develop and apply genetically engineered antibody derivatives for improved cancer therapy. This can be achieved with bispecific and bifunctional antibody molecules capable of retargeting effector T cells to tumor cells leading to a local and strong stimulation of cytotoxic T cell responses. Because these recombinant antibodies suffer from a rapid elimination from the blood stream, we are developing also strategies to

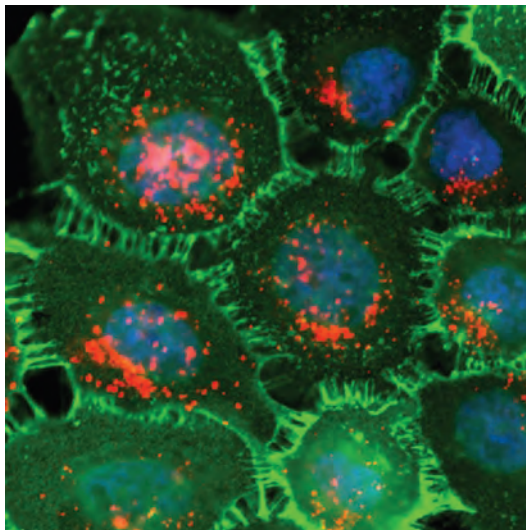


Abb. 4: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme von Tumorzellen (grün) nach Antikörper vermittelter Aufnahme zielgerichteter Nanopartikel (rot). Die Zellkerne sind blau gefärbt.

extend the half-life of these small molecules. Antibodies can also be employed as ligands, e.g. for the targeting of nanoparticulate drug carrier systems such as liposomes, polymeric particles or core-shell composites to tumor cells. Here, we use genetically modified antibody fragments allowing a site-directed and defined conjugation. The antitumor activity of the recombinant antibodies and targeted carrier systems is evaluated in vitro and in vivo in relevant tumor models with the aim to establish novel treatment options in oncology.

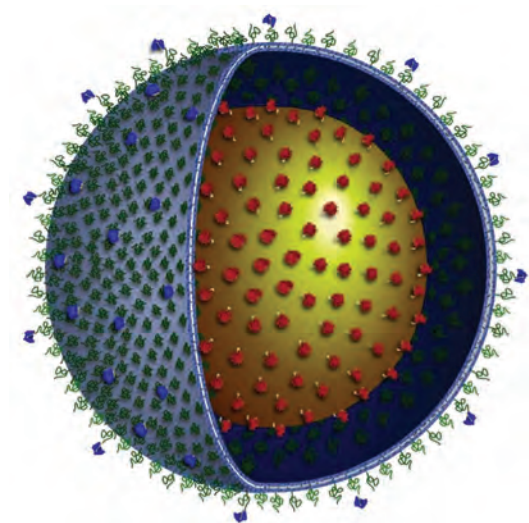


Abb. 3: Aufbau eines Komposit-Nanopartikels, bestehend aus einem polymeren Kern (orange), der mit einem apoptose-induzierenden Protein (rot) funktionalisiert ist, und einer liposomalen Hülle (hellblau), die mit Polyethylenglycolketten (grün) stabilisiert ist und an die Antikörper-fragmente (blau) für das Targeting konjugiert sind.

Projektleitung

Prof. Dr. Roland Kontermann
Dr. Dafne Müller

Universität Stuttgart
Institut für Zellbiologie und Immunologie
Allmandring 31
70569 Stuttgart

Tel.: 0049/(0)711/685-66989
Fax: 0049/(0)711/686-67484

roland.kontermann@izi.uni-stuttgart.de
dafne.mueller@izi.uni-stuttgart.de

www.uni-stuttgart.de/izi/





Interaktion von sterbenden Zellen mit phagozytären Zellen des angeborenen Immunsystems

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger

Sebastian Wesselborg

Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Der menschliche Körper besteht aus etwa 50 Billionen Zellen, von denen ein großer Teil permanent erneuert wird. Im Gegenzug sterben täglich bis zu 100 Milliarden Zellen ab. Dafür hat jede Körperzelle ein endogenes Selbstmordprogramm, die Apoptose. Durch sie werden vor allem im Blut, in der Haut und in den Schleimhäuten geschädigte oder verbrauchte Zellen vernichtet. Doch wie werden diese toten Zellen entsorgt? Blieben die Zell-"Leichen" liegen, dann könnten sie eine Immunreaktion gegen die eigenen Körperzellen stimulieren, weil die Hüllen der zellulären Leichen nach einer gewissen Zeit nicht mehr intakt sind und ihr Inhalt, der Immunzell-aktivierende "Danger"-Signale enthält, ins umliegende Gewebe freigesetzt wird. Deshalb müssen die zellulären Leichen schnell entsorgt werden.

Die körpereigenen "Müllarbeiter", die diese Aufgabe übernehmen, sind die Fresszellen (Phagozyten) des angeborenen Immunsystems. Sie spüren Ihre Beute über freigesetzte Lockstoffe ("Find-me")-Signale auf, erkennen sie über präsentierte "Eat-me"-Signale, verschlingen und verdauen sie. Abschließend produzieren sie tolerogene Botenstoffe (Zytokine), die eine Immunreaktion aktiv unterdrücken. Es gilt mittlerweile als anerkannt, dass Störungen in einem dieser Teil-Prozesse zur Entstehung von Autoimmunerkrankungen, wie dem systemischen Lupus erythematoses, beitragen. Auf der anderen Seite stellt eine Immunaktivierung über diese Mechanismen einen potenziellen Ansatzpunkt für die anti-Tumor Immuntherapie dar.

Ziele

Ziel unserer Arbeit ist es, die Effekte von sterbenden Zellen auf phagozytäre Zellen der angeborenen Immunität im Hinblick auf Anlockung (Chemoattraktion), Phagozytose, Aktivierung, Differenzierung und Zytokinproduktion zu analysieren. Wir wollen verstehen, warum und über welche Mechanismen eine Immunantwort gegen sterbende körpereigene Zellen ausgelöst wird. Damit lässt sich möglicherweise ein therapeutischer Ansatzpunkt für chronisch entzündliche und autoimmune Erkrankungen finden. Außerdem erhoffen

wir uns, über die Manipulation und Konvertierung der tolerogenen Zelltodsignale in immunogene Faktoren eine Perspektive für die anti-Tumor Immuntherapie eröffnen zu können.

Strategie

Mit Hilfe moderner Fraktionierungs- und Screeningverfahren zerlegen wir sterbende Zellen und von ihnen freigesetztes Material in die Einzelbestandteile und untersuchen deren Einfluss auf phagozytäre Zellen der angeborenen Immunität in Migrations-, Phagozytose-, Differenzierungs- und Zytokinproduktions-Tests. Auf diese Weise haben wir bereits mehrere "Find-me"- und "Eat-me"-Signale identifiziert. Haben wir einen neuen Faktor gefunden, beschäftigen wir uns mit seinen molekularen Wirkmechanismen und charakterisieren den verantwortlichen Rezeptor und die zugehörigen Signalwege. Abschließend untersuchen wir, ob und inwiefern Defekte in den so identifizierten Molekülen mit Autoimmunerkrankungen assoziiert sind und ob man die Kandidatenmoleküle für anti-Tumor-Vakzinierungen verwenden kann.

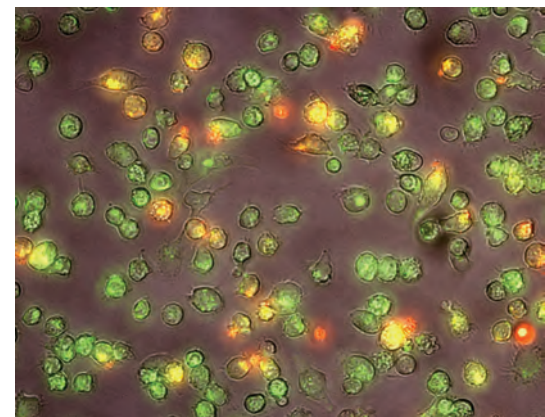


Abb. 1: Phagozytose von sterbenden Zellen (rot) durch professionelle Fresszellen (grün). Bei erfolgreicher Internalisierung ergibt die Überlagerung aus beiden Farben ein gelbes Signal.

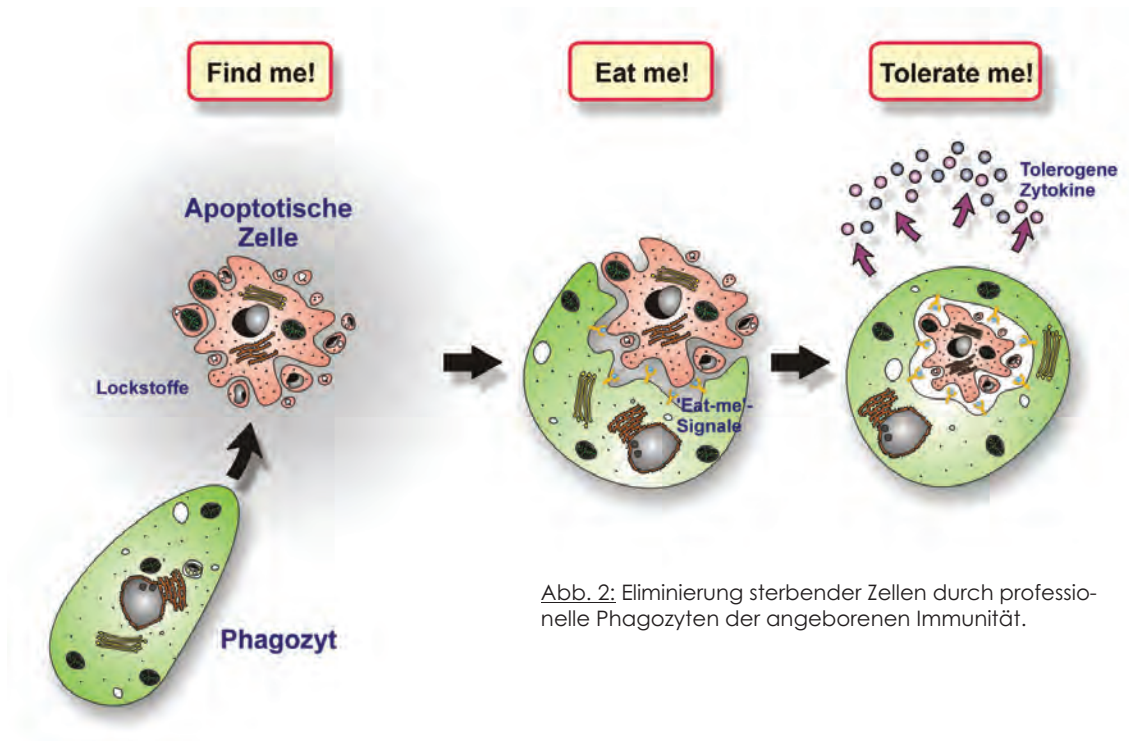


Abb. 2: Eliminierung sterbender Zellen durch professionelle Phagozyten der angeborenen Immunität.

Interaction of dying cells with phagocytic cells of the innate immune system

Every day, in our body billions of cells are generated by proliferation in the context of tissue renewal. Conversely, an equal number of cells is eliminated by apoptosis. The timely and efficient clearance of these dying cell corpses by phagocytic cells of the innate immune system is of central importance for the maintenance of tissue homeostasis. Secreted "Find-me"- and exposed "Eat-me"- signals comprise the central elements mediating the recruitment of professional phagocytes and subsequently triggering the engulfment of the dying prey in this scenario. Thereby, the loss of plasmamembrane integrity is prevented and no intracellular danger signals are released into the surrounding tissue, which otherwise could trigger an inflammatory and autoimmune response. Furthermore, after ingesting dying cells phagocytes release anti-inflammatory mediators in order to actively dampen a putative immune response. There is growing evidence that the onset of inflammatory diseases and autoimmune disorders is closely linked to the inefficient removal of dying cells.

Our work aims at characterizing the effects of dying cells on phagocytic cells of the innate immune system (neutrophils, monocytes, macrophages and dendritic cells) in terms of chemoattraction, phagocytosis, activation, differentiation, and cytokine production. Thereby, we hope to open a therapeutic perspective

for chronic inflammatory and autoimmune disorders. Furthermore, the manipulation of tolerogenic cell death signals and their conversion into immunogenic stimuli comprises a potential strategy for future anti-tumor immunotherapy.

Projektleitung

Prof. Dr. Sebastian Wesselborg
Dr. Kirsten Lauber

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Klinik
Abt. Innere Medizin I
Sektion für Molekulare
Gastroenterologie und Hepatologie
Otfried-Müller-Str. 10
D-72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 84113
Fax: 0049/(0)7071/29 5865

sebastian.wesselborg@uni-tuebingen.de
kirsten.lauber@med.uni-tuebingen.de

www.gastro-1.de/forschung/molekularehepatologie/index.html





Sonderforschungsbereich (SFB) 773 Therapieresistenz solider Tumoren und ihre Überwindung

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger

Sebastian Wesselborg

Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Solide Organismen stellen weiterhin eine der häufigsten Todesursachen dar, für die bislang keine effizienten Therapien zur Verfügung stehen. Ein wesentlicher Grund hierfür ist die Resistenz der Tumorzellen gegenüber traditionellen Behandlungsformen.

Der Sonderforschungsbereich SFB 773 "Therapieresistenz solider Tumoren und ihre Überwindung" hat sich deshalb zum Ziel gesetzt, die molekularen Mechanismen der Therapieresistenz besser zu verstehen. Die interdisziplinäre Gruppe der Projektleiter verbindet das gemeinsame Interesse am Verständnis der Therapieresistenz, die es ermöglichen soll, durch Entwicklung neuer genotoxischer sowie alternativer zielgerichteter Ansätze die Resistenzmechanismen gegenüber konventionellen Therapieverfahren zu durchbrechen.

Eine wesentliche Ursache der Therapieresistenz ist eine mangelnde Aktivierung von Zelltodprozessen in Tumorzellen. Eine Reihe von Projekten des SFB 773 untersuchen daher die Signalwege von Zelltodmechanismen. Ebenso werden Mechanismen untersucht, die durch Aktivierung von Seneszenz- (Alterungs-) Programmen die Teilung von Tumorzellen unterdrücken. Im Mittelpunkt steht die Aufklärung von Signalwegen, die eine Therapieresistenz vermitteln oder durch Aktivierung von Überlebenssignalen eine Wachstumskontrolle der Tumorzellen hemmen. Schließlich widmet sich die Forschungsverbund der Bedeutung von Tumorstammzellen, die ein attraktives Target zur Überwindung der Therapieresistenz darstellen.

Ziele

Ziel des SFB 773 "Therapieresistenz solider Tumoren und ihre Überwindung" ist die Erforschung der molekularen Grundlagen der Resistenzbildung von soliden Tumoren gegenüber Radio- und Chemotherapie, um dadurch effizientere Ansätze zur Bekämpfung therapieresistenter Tumore zu ermöglichen. Im Mittelpunkt stehen dabei die Aufklärung von Signalwegen, Zelltodmechanismen, epigenetischen Veränderungen und die Bedeutung von Tumorstammzellen zur Überwindung der Therapieresistenz. Unter Federführung der Medi-

zischen Fakultät Tübingen sind die Fakultäten Biologie, sowie die Fakultät für Chemie und Pharmazie beteiligt. Für den ersten Förderabschnitt von vier Jahren hat die Deutsche Forschungsgemeinschaft eine Fördersumme von 9,1 Millionen Euro bereitgestellt.

Strategie

In verschiedenen Ansätzen werden Signalwege von Zelltodmechanismen, Zellalterung, Autophagie, Prozesse der epigenetischen Genregulation, Proteinmodifizierung, DNA-Reparatur, Zellzykluskontrolle sowie ihrer Wechselwirkung mit Zelltod und Proliferation der Tumorzellen untersucht. Diese molekularen und zellulären Zusammenhänge werden auf Einzelzellebene und in Tiermodellen analysiert und durch molekular orientierte Bildgebungsverfahren beleuchtet.

SFB 773: Understanding and overcoming therapy resistance of solid tumors

Cancer is a leading cause of morbidity and mortality in the industrialized western countries. While important therapeutic improvements including even curative approaches have been developed for some lymphomas and leukemias, this does not apply for most solid tumors. Current treatment strategies comprise surgery, radiotherapy and chemotherapy, mostly with DNA-damaging anticancer drugs. However, most solid tumors display a high primary resistance to classical genotoxic therapies, limiting the efficacy of current treatment approaches. Consequently, despite very few examples, most solid tumors are still not curable to date.

The SFB 773 "Understanding and overcoming therapy resistance of solid tumors" is therefore devoted to the understanding of molecular mechanisms of treatment resistance of solid human tumors and to the exploration of innovative treatment approaches to overcome treatment resistance by an interdisciplinary approach. All project leaders share a profound interest in understanding the molecular and cellular mechanisms which mediate solid tumor cell resistance to adjuvant non-surgical modalities of tumor therapy, primarily radiotherapy

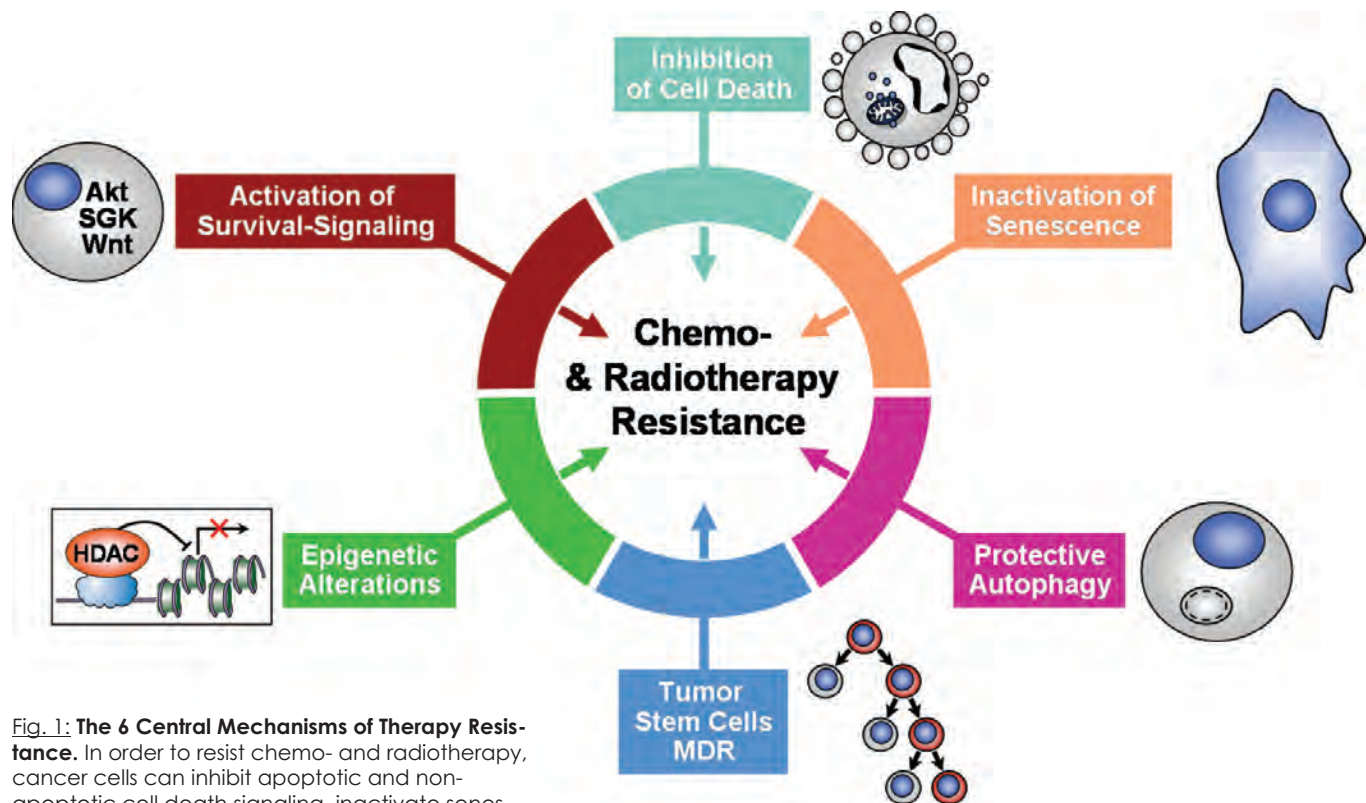


Fig. 1: The 6 Central Mechanisms of Therapy Resistance. In order to resist chemo- and radiotherapy, cancer cells can inhibit apoptotic and non-apoptotic cell death signaling, inactivate senescence programs, activate survival pathways or induce protective autophagy. In addition to genomic DNA mutations, epigenetic events such as histone deacetylation and DNA methylation are also involved in therapy resistance. Other resistance mechanisms include dysregulation of the proteasome pathway or changes in microRNA expression. Finally, tumor stem cells appear to be involved not only in tumor initiation and propagation, but also represent a small fraction of tumor cells with a built-in resistance to genotoxic therapy. All six central mechanisms of therapy resistance are addressed in the SFB 773.

and chemotherapy. The SFB 773 is therefore devoted to translate the knowledge of molecular resistance mechanisms into efficient and innovative treatment strategies aimed at circumventing such resistance pathways in solid tumors. Following their evaluation in preclinical models, these innovative treatment strategies shall be transferred into clinical phase I/II trials in cooperation with the Comprehensive Cancer Center (CCC) Tübingen.



Projektleitung

Prof. Dr. Sebastian Wesselborg
(Sprecher SFB 773)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Klinik
Abt. Innere Medizin I
Sektion für Molekulare
Gastroenterologie und Hepatologie
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 841 13
Fax: 0049/(0)7071/29 5865

sebastian.wesselborg@uni-tuebingen.de

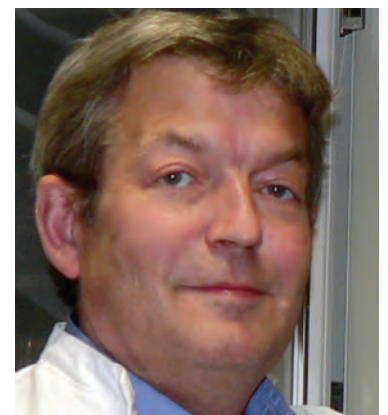
Prof. Dr. Klaus Schulze-Osthoff
(Stellvertretender Sprecher SFB 773)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Interfakultäres Institut für Biochemie (IFIB)
Hoppe-Seyler-Str. 4
72076 Tübingen
kso@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Claus Garbe
(Stellvertretender Sprecher SFB 773)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Sektion für Dermatologische Onkologie
Universitäts-Hautklinik
Liebermeisterstr. 25
72076 Tübingen
claus.garbe@med.uni-tuebingen.de

[www.medizin.uni-tuebingen.de/
Forschung/Forschungsschwerpunkte/
Sonderforschungsbereiche/
SFB_773.html](http://www.medizin.uni-tuebingen.de/Forschung/Forschungsschwerpunkte/Sonderforschungsbereiche/SFB_773.html)

gefördert durch die

DFG Deutsche
Forschungsgemeinschaft





GK 1302

Graduiertenkolleg "Der PI3K Signalweg in Tumorwachstum und Diabetes"

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger

Sebastian Wesselborg

Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Krebserkrankungen sind eine der häufigsten Todesursachen. Obwohl in den letzten Jahrzehnten Fortschritte in Diagnose und Behandlung erzielt wurden, bestehen nach wie vor die meisten Therapieformen in der chirurgischen, chemo- oder strahlentherapeutischen Tumorbehandlung. Eine wesentliche Ursache der Therapieresistenz ist die Inaktivierung von Zelltodprozessen und Aktivierung von Überlebenssignalwegen in Tumorzellen. Hierbei spielt die konstitutive Aktivierung des Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) Überlebenssignalwegs eine besondere Rolle.

Weltweit leiden mehr als 150 Millionen Menschen an Typ 2 Diabetes mellitus. Obwohl akute Komplikationen wie das diabetische Koma mittlerweile adäquat behandelt werden, haben die Langzeitfolgen der mikro- und makrovaskulären Komplikationen einen erheblichen Anteil an der erhöhten Mortalität der Patienten. Typ 2 Diabetes mellitus ist durch Insulinresistenz und die fortschreitende Dysfunktion und Überleben der -Zellen im Pankreas charakterisiert. Neuere Befunde belegen eine wesentliche Rolle der PI3K in der Vermittlung des Insulinsignals bei Glukosetransport, Glykogen- und Lipidstoffwechsel und dem Überleben der Zellen.

Die PI3-Kinase ist an der Regulation einer Vielzahl biologischer Prozesse, wie dem Stoffwechsel, Überleben, Proliferation, Apoptose, Autophagie und Migration von Zellen beteiligt. Störungen in diesem zentralen Signalweg haben einen Einfluss auf die Tumorgenese, da sie die Apoptose inhibieren und die Zellproliferation stimulieren können. Da die PI3K die Aufnahme von Nährstoffen und den Stoffwechsel der Zellen kontrolliert, spielt sie ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Typ 2 Diabetes.

Ziele

Die PI3K reguliert verschiedene zelluläre Prozesse wie Apoptose, Autophagie, Proliferation, Zellmetabolismus und Zellwanderung. Veränderungen dieses zentralen Signalwegs spielen eine wichtige Rolle in der Tumorgenese, indem sie die Apoptose unterdrücken und den Zellzyklus aktivieren. PI3K reguliert ebenso die zelluläre Aufnahme von Nährstoffen und andere

metabolische Vorgänge und beeinflusst hierdurch die Entstehung und Verlauf des Typ 2 Diabetes. Das Hauptziel des Internationalen Graduiertenkollegs ist die Untersuchung des PI3K/Akt Signalwegs und seine Beteiligung an Tumorgenese und Diabetes. Zu diesem Zwecke wurde ein Netzwerkverbund etabliert, welcher die Expertise der exzellenten Forschungsstandorte in Tübingen und Dundee (Schottland/UK) vereint.

Strategie

Ein Verständnis der durch PI3K gesteuerten komplexen Signalwege erfordert interdisziplinäre Forschungsanstrengungen der in diesem Verbundantrag zusammenarbeitenden biochemischen, endokrinologischen, onkologischen, pharmakologischen, physiologischen und zellbiologischen Arbeitsgruppen. Tübingen besitzt eine lange Forschungstradition und eine ausgezeichnete Expertise in der Apoptose, Onkologie und Diabetes. Die Forschungspartner in Dundee sind international anerkannte und führende Experten des PI3K-Signalwegs. Beide Institutionen in Tübingen und Dundee ergänzen sich komplementär und verfügen gemeinsam über ein einzigartiges Repertoire an Methoden, Ressourcen und Betreuungsmöglichkeiten. Unsere Mission ist es, zusammen mit unseren Graduierten sowie mit Hilfe eines umfassenden Ausbildungsprogramms und erstklassigen Umfelds einen tieferen Einblick in die Rolle des PI3K-Signalwegs bei der Tumorentstehung und Diabetes zu erlangen.

GK 1302

Research Training Group "The PI3K Pathway in Tumour Growth and Diabetes"

Phosphatidylinositol-3-kinases (PI3Ks) regulate diverse biological processes including survival, apoptosis, autophagy, proliferation, cellular metabolism and cell migration. Alterations of PI3K-driven pathways have been implicated in tumorigenesis, because they suppress apoptosis or alter cell cycle progression. PI3-kinases control also nutrient uptake and cellular metabolism, and thereby play an important role in type 2 diabetes. This multitude of biological responses is mediated by a

highly complex signalling network and a growing number of downstream effectors, including other kinases, transcription factors, ion channels and transport molecules. It is evident that a better understanding of the complex PI3K signals in cancer and diabetes therefore requires a concerted research by different disciplines in oncology, biochemistry, cell biology, endocrinology, pharmacology, and physiology that are all represented in this network. Tübingen has a long-standing interest and excellent reputation in apoptosis research, oncology and diabetes, which combines basic research in cellular and animal models with clinical research on large patient cohorts. The partners in Dundee (Scotland/UK) are internationally leading scientists in the biochemistry and molecular biology of the PI3K pathway. Both institutions in Tübingen and Dundee complement each other and are unique in the repertoire of applied techniques, resources and scientific supervision. Chaperoned by an intense educational programme, motivated graduates and an outstanding scientific environment, our major mission is to gain greater insight into the molecular mechanisms of how the PI3K pathway contributes to tumour progression and diabetes.



Fig. 1: Joint-Retreat of the International GK 1302 (Tübingen/Dundee) and the International GK 880 'Vascular Medicine' (Mannheim/Heidelberg/Groningen; coordinator: Hans-Peter Hammes) in July 20-22, 2009, Castle Maurach (Bodensee)



Projektleitung

Prof. Dr. Sebastian Wesselborg
(Sprecher GK 1302)

Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Klinik
Abt. Innere Medizin I
Sektion für Molekulare
Gastroenterologie und Hepatologie
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 841 13
Fax: 0049/(0)7071/29 5865

sebastian.wesselborg@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Florian Lang
(Stellvertretender Sprecher GK 1302)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Institut für Physiologie I
Gmelinstr. 5
72076 Tübingen
florian.lang@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Erwin Schleicher
(Stellvertretender Sprecher GK 1302)
Eberhard Karls Universität Tübingen
Abt. Innere Medizin IV
Medizinische Klinik
Otfried-Müller-Str. 10
72076 Tübingen
erwin.schleicher@med.uni-tuebingen.de

www.uni-tuebingen.de/dundee.ac.uk-PI3K

gefördert durch die
DFG Deutsche
Forschungsgemeinschaft





Hölle & Hüttner AG

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfenzenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg

Steffen Hüttner

Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Als eines der größten Baden-Württembergischen Bioinformatik-Unternehmen verfügt die Hölle & Hüttner AG in einem sehr speziellen Markt über gebündeltes Fachwissen und langjährige Erfahrung im Bereich Life Science. Das Tübinger Informationstechnologie-Unternehmen bietet kundenspezifische Fachberatungen, die in individuelle technische Softwarelösungen münden. Bei komplexen Softwareprojekten unterstützen die Experten der Hölle & Hüttner AG ihre Kunden auch vor Ort. 1992 gegründet, sind aus den anfangs drei mittlerweile 30 festangestellte Mitarbeiter geworden. Mit dem Erfahrungsschatz aus über 400 Projekten sowie aktiver Mitarbeit in mehreren von Land und Bund unterstützen Forschungsvorhaben werden Kompetenzen und Leistungen kontinuierlich weiter ausgebaut. Somit verfügt die Hölle & Hüttner AG auch über Expertenwissen im Umgang mit klinischen Studien und den dazugehörigen Fragestellungen. Für das Verwalten großer Datenmengen, deren Aufbereitung und Export bis hin zur Auswertung der Daten wurden bereits geeignete Softwarelösungen implementiert.

Seit Juni 2008 gehört die INTAVIS Bioanalytical Instruments AG als Tochterunternehmen zur Hölle & Hüttner AG. Die Laborgeräte der Hölle & Hüttner AG ergänzen die Produktlinien der INTAVIS AG und komplettieren somit das Angebot des Kölner Unternehmens.

Die Zentrale der Hölle & Hüttner AG ist in Tübingen, Niederlassungen befinden sich in Köln, Heidelberg, Chicago (USA), Nottingham und Edinburgh (UK).

Ziele

Die Hölle & Hüttner AG möchte ihre Stellung als eines der führenden Beratungs- und IT-Unternehmen im Bereich Life Science behaupten und ausbauen. Speziell der 2008 ins Leben gerufene und durch das Land Baden-Württemberg prämierte IdeenScout-Prozess soll dabei helfen. Diese innovative Dienstleistung wird es gerade kleinen und mittelständischen Kunden auch zukünftig ermöglichen eine hochqualifizierte fachliche Beratung zu fairen Konditionen zu bekommen. Der IdeenScout beleuchtet Prozesse und Abläufe und bietet in Verbindung mit den

Experten der Hölle & Hüttner AG Lösungskonzeptionen und Software nach Maß – abgestimmt auf die spezifischen Fragestellungen der Kunden.

Strategie

Das hoch qualifizierte Mitarbeiter-Team besteht aus Software-Experten und Naturwissenschaftlern, die zum Großteil über Doppelqualifikationen verfügen. So vereint die Hölle & Hüttner AG Fachwissen und Erfahrung im Bereich Life Science mit profunder Software-Expertise. Aus diesem Grund können Kunden von der kompetenten Situationsanalyse und individuellen Beratung bis hin zur Umsetzung technisch-wissenschaftlicher Softwarelösungen profitieren.

Mit dem innovativen IdeenScout-Prozess bieten die Tübinger ihren Kunden eine profunde Situationsanalyse und zeigen als Ideengeber und Berater Potenziale zur Verbesserung von Prozessen und Produkten auf. Die Hölle & Hüttner AG entwickelt Lösungsideen und kann diese durch entsprechende Software-Entwicklungen umsetzen.



Vorstände der Hölle & Hüttner AG.

Links: Dr. Steffen Hüttner, rechts: Dr. h.c. Peter Beck.

Hölle & Hüttner AG

Hölle & Hüttner AG uses the challenges in the fields of Life Science for designing solutions for research, development and production. Our own research and development projects enable us to apply strategically new technologies in customized ventures.

Hölle & Hüttner AG was founded in 1992, the interdisciplinary team of 30 scientists and engineers of various specializations works at the headquarter in Tübingen as well as at the client's companies.

The Hölle & Hüttner staff has backgrounds in scientific research and has consequently the ability to understand complex problems and to solve them with its excellent skills. Using our cutting-edge certified development process we develop new, innovative software solutions. Our competence centers Engineering Solutions and Life Science concentrate our industry specific know how. In the intersection of those dynamic industries we show our customers new innovative and efficient ways.



Projektleitung

Dr. Steffen Hüttner

Hölle & Hüttner AG
Derendinger Straße 40
72072 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/976130

Fax: 0049/(0)7071/976190

steffen.huettner@h-net.com

www.h-net.com





Analyse des HLA-Ligandoms zur Identifizierung tumorassoziierter Peptide

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner

Stefan Stevanović

Tobias Feuchtinger
Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Praktisch jedes Protein einer Zelle wird auf der Zelloberfläche durch ein kurzes Peptid repräsentiert. Diese Peptide stammen aus dem normalen Proteinstoffwechsel und werden durch spezielle Rezeptoren, die HLA-Moleküle, innerhalb der Zelle gebunden und anschließend auf der Zelloberfläche präsentiert. Solche HLA-Peptidkomplexe werden ständig von T-Zellrezeptoren abgetastet: T-Zellen sind in der Lage, unerwünschte Veränderungen in der Gesamtheit der HLA-präsentierten Peptide - dem HLA-Ligandom - zu erkennen und darauf zu reagieren. Im Falle einer Virusinfektion, aber auch während einer Tumorerkrankung werden auf der Zelloberfläche fremde oder abnormale (z.B. mutierte) Peptide durch HLA präsentiert, worauf zytotoxische T-Zellen die befallenen Körperzellen eliminieren.

Daher ist die molekulare Analyse des HLA-Ligandoms essenziell für die Charakterisierung von Peptiden, die spezifisch für Tumorzellen sind und über die das T-Zellsystem effizient gegen Tumor vorgehen kann. Drei verschiedene Strategien wurden erfolgreich etabliert und werden parallel verfolgt, um HLA-Liganden als neue Biomarker für Tumoren zu etablieren: Eine Katalogisierung aller HLA-Liganden des Menschen, eine gezielte Suche besonders interessanter Kandidatenpeptide durch synthetische Eichsubstanzen sowie der quantitative Vergleich der HLA-Liganden zwischen Tumor- und Normalgewebe eines einzelnen Patienten.

Ziele

Neben der Identifizierung neuer Zielstrukturen auf Tumorzellen zielt das Projekt auf die Analyse der Individualität: Welche Überlappungen oder Unterschiede bestehen zwischen den HLA-Ligandomen von Primärtumoren und Metastasen? Können tumorassoziierte HLA-Liganden zwischen verschiedenen Patienten oder zwischen Tumoren verschiedenen Ursprungsgewebes identisch sein?

Aus den Ergebnissen der Analysen lassen sich für jeden Patienten individuell Peptidmischungen zusammenstellen, die über eine Impfung sein Immunsystem gegen den eigenen Tumor lenken sollen. Primäres Ziel des Projekts ist es daher, pro Tumorprobe einen Satz von 5-10 tumorassoziier-

ten HLA-Liganden zu identifizieren und für den Einsatz in klinischen Studien als Impfstoff bereitzustellen.

Strategie

Aus Tumorgewebe werden die HLA-Moleküle isoliert und ihre Liganden freigesetzt. Die molekulare Analyse erfolgt durch eine Kombination von Chromatografie und Massenspektrometrie, wobei Peptide in Mengen von wenigen Pikoogramm charakterisiert werden können. Umfangreiche Datenbankvergleiche überprüfen die Peptide auf ihren tumorassozierten Charakter, Stimulationen *in vitro* ermöglichen Aussagen über die Reaktionsmöglichkeit von T-Zellen gegen die neu entdeckten Peptide. Die Herstellung der tumorassozierten Peptide durch chemische Synthese erfolgt nach GMP-Richtlinien, der für die pharmazeutische Produktion erforderliche Antrag auf Herstellungserlaubnis nach dem Arzneimittelgesetz durchläuft derzeit das Prüfverfahren.

HLA ligandome analysis for the identification of tumor-associated peptides

Essentially all human cells express surface molecules (HLA) that perform a kind of "showcase function": Samples of peptides representing most cellular proteins are presented by HLA molecules. This allows T cells to sense the integrity of all cells. Alterations, for example after viral infections or tumor-specific mutations can thus

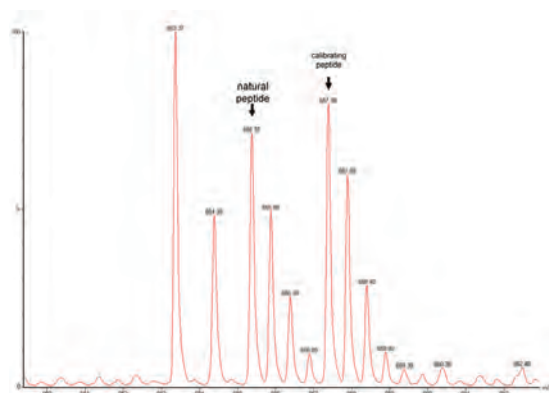


Abb. 1: Massenspektrometrischer Nachweis des Epitops ELTLGEFLKL aus dem Tumorantigen Survivin mit Hilfe eines isotonenmarkierten synthetischen Eichpeptids (calibrating peptide).

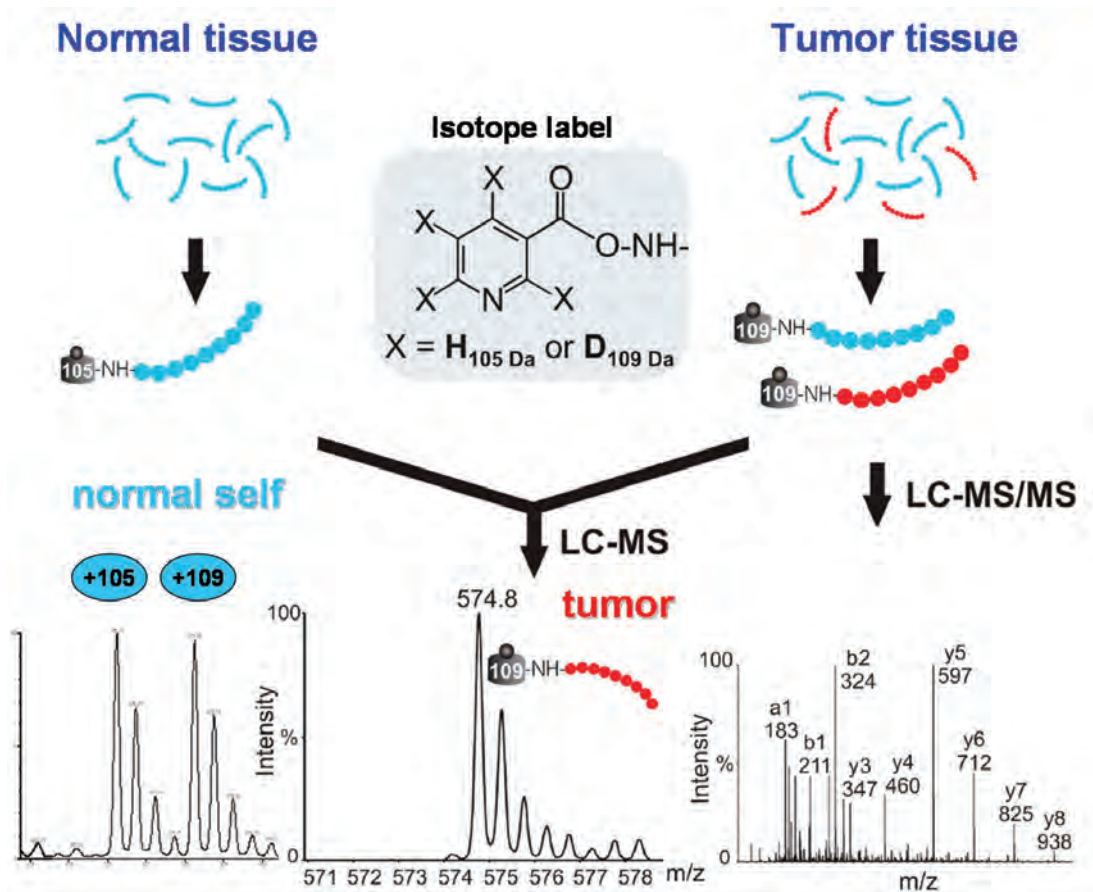


Abb. 2: Unterscheidung „normaler“ (blau) und tumorassoziierter (rot) HLA-Liganden. Aus gesundem Gewebe und dem Tumor werden die HLA-präsentierten Peptide isoliert und unterschiedlich isotopenmarkiert. Alle Peptide, die für den gesunden Zustand repräsentativ sind, tauchen in der Analyse als Signalpärchen auf (links unten), während die tumor-assoziierten Peptide als Einzelsignale sichtbar werden (unten Mitte).

be sensed by T cells. Each individual tumor expresses its own set of tumor antigens (overexpressed, mutated, derived from tumor viruses, fusion proteins etc.) some of which are essential for tumor growth, others being passenger alterations of “normal self”. All categories of tumor antigens can give rise to immunogenic peptides recognizable by T cells that can kill the tumor cells. Within this project, HLA ligandomes of tumor and normal tissues of different origin will be analyzed in order to identify novel target structures for immunotherapy: Immunoprecipitation of HLA molecules is followed by peptide extraction and identification using capillary HPLC and mass spectrometry, sensitive down to low picogram levels. Tumor-associated peptides will be synthesized under GMP conditions individually for each patient and provided for vaccination studies using appropriate adjuvants and conditions. Two layers of individuality – the genotype of the HLA system on the one hand, and the accumulated genomic and proteomic changes of the cells within a tumor on the other, are addressed for an individualized vaccination against cancer, using only molecularly defined therapeutics. In addition, insight into molecular differences between primary

tumors and their metastases, between tumors of different origin and of different hosts will be provided.

Projektleitung

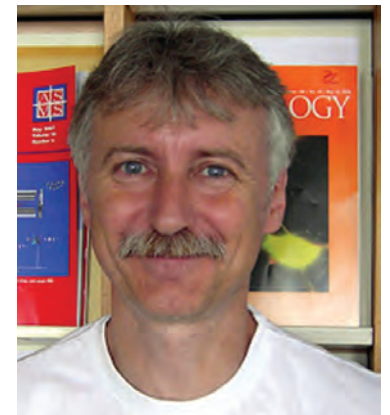
Prof. Dr. Stefan Stevanović

Interfakultäres Institut für Zellbiologie
Abteilung Immunologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 87645
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

stefan.stevanovic@uni-tuebingen.de

<http://cms.elchtools.de/>





Adoptiver Transfer antigenspezifischer T-Zellen bei viralen Infektionen/Reaktivierungen nach allogener Stammzelltransplantation

Alfred Königsrainer
 Bernd Nürnberg
 Bernd Pichler
 Boris Maček
 Brigitte Gückel
 Cecile Gouttefangeas
 Claus Garbe
 Falko Fend
 Gisela Drews
 Graham Pawelec
 Gundram Jung
 Hans-Georg Kopp
 Hans-Georg Rammensee
 Harpreet Singh
 Helmut Salih
 Jochen Probst
 Karl-Heinz Wiesmüller
 Karl-Josef Kallen
 Klaus Pfizenmaier
 Leticia Q-M de Fend
 Martin Röcken
 Matthias Schwab
 Meinrad Gawaz
 Olaf Rieß
 Olga Garaschuk
 Peter Bauer
 Peter Lang
 Roland Kontermann
 Rupert Handgretinger
 Sebastian Wesselborg
 Steffen Hüttner
 Stefan Stevanović

Tobias Feuchtinger

Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Die allogene Stammzelltransplantation (SZT) führt zu einer transienten Immunsuppression, in der Virusinfektionen lebensbedrohlich verlaufen können. Verbesserte SZT-Regime und Supportivmaßnahmen konnten zwar die Infektionsraten senken, für die Kontrolle der Infektionen ist jedoch eine funktionelle T-Zellantwort essentiell. Adenoviren (ADV), Cytomegalieviren (CMV) und Epstein-Barr-Viren (EBV) reaktivieren meist endogen. Die Transfusion Erreger-spezifischer T-Zellen stellt eine viel versprechende neue Therapieform dar um adaptive Immunität auf den Empfänger zu übertragen. Hierbei werden antigenspezifische T-Zellen von einem gesunden Spender isoliert und in einen erkrankten Empfänger infundiert. Eine Isolierung spezifischer T-Zellen ist notwendig, um alloreaktive T-Zellen zu depletieren und damit das Risiko einer komplikationsreichen Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) zu minimieren. Adoptiver T-Zelltransfer wurde bisher in aufwändigen in vitro Protokollen bei Virusinfektionen nach allogener SZT durchgeführt. Spezifischer und deutlich schneller ist die gezielte Selektion von erregerreaktiven gegenüber nicht-reaktiven T-Zellen mithilfe von zytokinspezifischen Antikörpern (IFN γ) nach ex vivo Stimulation mit Antigenen. Bisherige klinische Erfahrungen beziehen sich auf CMV, ADV und EBV. Die Verträglichkeit ist ausgezeichnet und das GvHD-Risiko ist nach bisheriger Erfahrung als gering einzuschätzen. Die Generierung ist ein nach geltenden GMP-Richtlinien zugelassenes Verfahren.

Ziele

Das Ziel unserer Arbeiten ist es durch adoptiven T-Zelltransfer eine bleibende, adaptive Immunität von gesunden Spendern in erkrankte Empfänger transferieren zu können. Dadurch sollen Patienten nach Stammzelltransplantation vor virusbedingten Komplikationen geschützt werden und toxische virostatische Behandlungen vermieden werden. Für möglichst alle potentiellen Empfänger sollen passende T-Zellpräparate prompt verfügbar sein. Aufbauend auf den bisherigen Erfahrungen mit antiviralen T-Zellen bietet das Verfahren des adoptiven T-Zelltransfers die Option in Zukunft auch eine Immunantwort gegen maligne Zellen therapeu-

tisch zu nutzen. Darüber hinaus ist das Verständnis und die gezielte Manipulation der T-Zellantwort als Therapieverfahren eine bleibende Herausforderung.

Strategie

Für den adoptiven Transfer virusspezifischer T-Zellen bei Viruskomplika-tionen nach SZT stehen nach Arzneimittelgesetz und GMP-Richtlinien Methoden wie IFN γ sekretions-Assays zur Herstellung von antigenspezifischen T-Zellen zur Verfügung. Die spezifisch reaktiven, zytokinproduzierenden T-Zellen können magnetisch isoliert werden, wobei das endgültige T-



Abb. 1: Die Generierung ist ein nach geltenden GMP-Richtlinien zugelassenes Verfahren und muss unter großem regulatorischem und materiellem Aufwand in Reinräumen nach geltendem Arzneimittelgesetz durchgeführt werden.

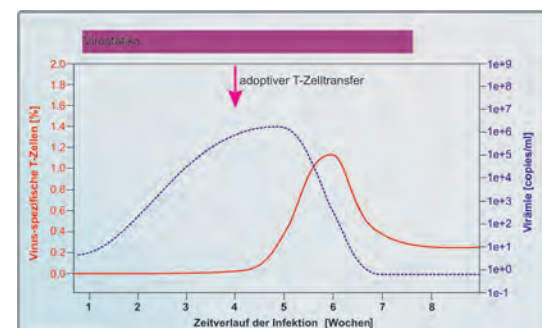


Abb. 2: Im Gegensatz zu konventionellen T-Zelltherapien, bei denen große T-Zellzahlen infundiert wurden, wird eine geringe Zahl an T-Zellen infundiert und diese T-Zellen expandieren dann in vivo.

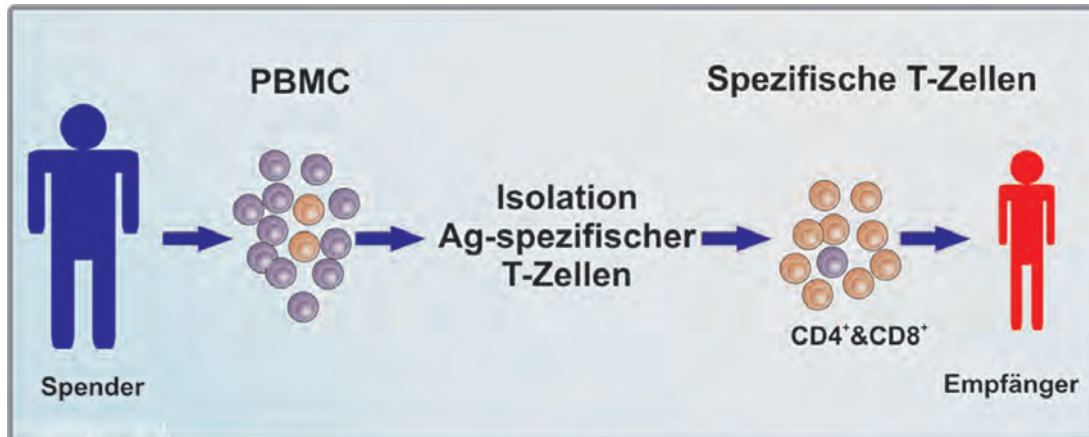


Abb. 3: Die Infusion von antigenspezifischen T-Zellen von einem gesunden Spender auf einen erkrankten Empfänger wird als adoptiver T-Zelltransfer bezeichnet.

Zellpräparat nur wenige, dafür aber spezifisch selektionierte Spender-T-Zellen enthält. IFN γ -selektionierte T-Zellen enthalten eine Mischung aus T-Helfer Zellen und zytotoxischen T-Zellen um eine bleibende Kontrolle viraler Reaktivierungen in vivo zu erreichen. Im Gegensatz zu konventionellen T-Zelltherapien, bei denen große T-Zellzahlen infundiert wurden, wird eine geringe Zahl an T-Zellen infundiert und diese T-Zellen expandieren dann in vivo.

lation of antigen-specific T-cell responses as a treatment approach remains an ongoing challenge and is a focus ongoing translational research.

Adoptive transfer of antigen-specific T-cells in viral infections / reactivations post allogeneic stem cell transplantation

Allogeneic stem cell transplantation (SCT) can expose patients to a transient but marked immunosuppression, during which viral infections are an important cause of morbidity and mortality. The control of these infections will ultimately depend on the restoration of adequate T-cell immunity. Most viral infections after SCT are caused by the endogenous reactivation of persistent pathogens such as adenovirus (ADV), cytomegalovirus (CMV), and Epstein-Barr-virus (EBV). Cellular immunotherapy is an attractive approach to enable immune protection of the host. The isolation of pathogen-specific T-cells from a healthy donor and infusion into a recipient is done by a procedure known as adoptive T-cell transfer. The separation of pathogen-specific T-cells is necessary to deplete alloreactive T-cells and avoid graft-versus-host disease (GvHD). Adoptive T-cell transfer has been performed after allogeneic SCT in many patients with CMV, EBV and ADV infections using time- and labour-consuming protocols. Based on basic research new immunotherapeutic protocols aim at a broader and faster availability of adoptive T-cell transfer. However, the manipu-

Projektleitung

Dr. Tobias Feuchtinger

Eberhard Karls Universität Tübingen
Pädiatrische Hämatologie / Onkologie
Universitätsklinik für Kinderheilkunde
und Jugendmedizin
Hoppe-Seylerstr. 1
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 81378
Fax: 0049/(0)7071/29 4492

tobias.feuchtinger@med.uni-tuebingen.de

www.medizin.uni-tuebingen.de/kinder/labor/immuntherapie-labor/





Ethik der Forschung an innovativen Therapieansätzen

Alfred Königsrainer
Bernd Nürnberg
Bernd Pichler
Boris Maček
Brigitte Gückel
Cecile Gouttefangeas
Claus Garbe
Falko Fend
Gisela Drews
Graham Pawelec
Gundram Jung
Hans-Georg Kopp
Hans-Georg Rammensee
Harpreet Singh
Helmut Salih
Jochen Probst
Karl-Heinz Wiesmüller
Karl-Josef Kallen
Klaus Pfizenmaier
Leticia Q-M de Fend
Martin Röcken
Matthias Schwab
Meinrad Gawaz
Olaf Rieß
Olga Garaschuk
Peter Bauer
Peter Lang
Roland Kontermann
Rupert Handgretinger
Sebastian Wesselborg
Steffen Hüttner
Stefan Stevanović
Tobias Feuchtinger

Urban Wiesing

Wissenschaftliche Grundlagen

Aufgabe der Forschungsethik ist es, Probanden und Patienten, die an medizinischer Forschung teilnehmen vor den Schäden zu schützen, die dabei entstehen können. Geregelt wird dieser Schutz von verschiedenen ethischen und rechtlichen Richtlinien, wie dem Arzneimittelgesetz in Deutschland, international von den Guidelines for Good Clinical Practice der International Conference on Harmonisation oder der Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes. Einigkeit herrscht weitgehend über die ethischen Prinzipien, denen biomedizinische Forschung gerecht werden muss, wie die wissenschaftliche Gültigkeit der Versuchsanordnung, das angemessene Verhältnis von Nutzen zu Risiken und Belastungen, das informierte Einverständnis der Teilnehmer, oder die Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission. Dagegen ist es häufig schwierig, diese ethischen Prinzipien in neuen Kontexten anzuwenden, was in den letzten Jahren zu mehreren Kontroversen geführt hat, etwa bei internationaler medizinischer Forschung in Drittwehländern oder Placebo-Kontrollen. Probleme werfen ebenfalls innovative Therapieansätze und Forschungsmethoden insbesondere bei lebensbedrohenden Erkrank-

kungen auf. Entsprechende Fragen sind wie das Risiko bei speziesspezifischer Forschung eingeschätzt werden kann und wie in solchen Fällen ein gültiges informiertes Einverständnis gegeben werden kann, wenn selbst bei den Experten manche Aspekte umstritten sind.

Ziele

Die ethischen Fragestellungen der in TransLimm vereinigten Forschung sollen im Detail analysiert und im Kontext eines umfassenden, prinzipienorientierten systematischen Ansatzes angemessen beantwortet werden. Hierdurch soll gewährleistet werden, dass ethische Probleme rechtzeitig erkannt und gelöst werden, sowie neuartige Zusammenhänge systematisch erarbeitet werden. Eine projektbezogene Übersicht soll als grundlegende Orientierung für die teilnehmenden Forscher dienen und als Resultat sollen exemplarische ethische Empfehlungen für vergleichbare translationale Forschung an innovativen Therapien erarbeitet werden.

Strategie

Die ethische Forschung, Analyse und Orientierung soll in enger Kooperation die biomedizinische, bei Bedarf auch bera-

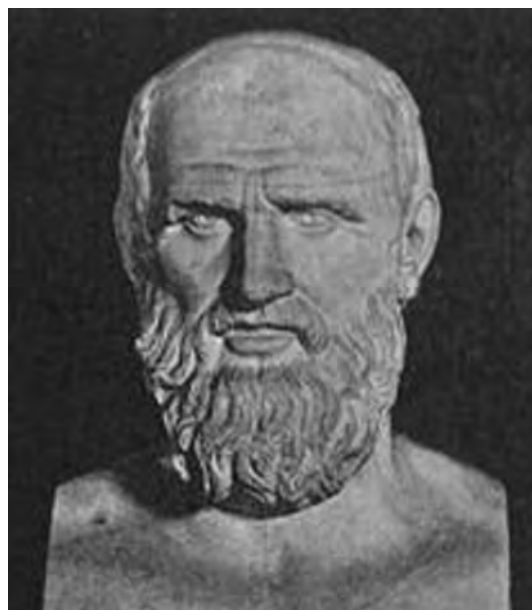


Abb. 1: Hippokrates



Abb. 2: Pasteur

Hippokrates vs. Pasteur

tend, begleiten. In einem ersten Schritt sollen die ethischen Aspekte der verschiedenen Forschungsvorhaben in einer Übersicht aufgearbeitet werden. In Rücksprache mit den Forschern sollen dann die ethischen Probleme präzisiert werden. Ein systematischer prinzipienorientierter Ansatz wird auf diese Probleme angewendet und innerhalb dieser Anwendung weiterentwickelt. Die ethische Methodik der Prinzipienreflexion wird durch Synthese der Ergebnisse von Literaturrecherchen zu relevanten Kontexten ergänzt (z.B. ethische Probleme in der onkologischen Forschung, einschließlich relevanter empirischer Aspekte wie das Auftreten des sog. "therapeutischen Missverständnisses").

Ethics of research on innovative therapeutic procedures.

While many of the main ethical principles guiding biomedical research are uncontroversial, problems occur in their application in new contexts. Recent examples are international research cooperations, illustrated by the HIV-maternal to child transmission trials in 1994 and phase 1 trials with species-specific therapies, after the trial of TGN1412 led to severe harm for the trials participants in 2006. Our objective is to identify comparable contexts related to the different research projects in TransLimm in time, to develop a systematic and principled ethical framework, and to provide advice for the researchers involved. For this purpose we will analyze the different therapeutic approaches in detail according to innovative procedures, disease patterns, international cooperation etc. and relate them to widely accepted principles of research ethics, such as scientific validity, informed consent, and a favorable risk-benefit ratio. Literature research under consideration of relevant empirical aspects will amend this principled ethical reflection. Based on this general framework we will develop systematic and principles recommendations which will provide the necessary ethical orientation for the researchers involved regarding the particular and complex ethical problems especially generated by new contexts of research ethics to which their work may be connected.



Abb. 3: HIV-Impfstoff-Studie

Projektleitung

Prof. Dr. Urban Wiesing
Eberhard Karls Universität Tübingen
Institut für Ethik und Geschichte der
Medizin
Gartenstraße 47
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 78015
Fax: 0049/(0)7071/29 5190

urban.wiesing@uni-tuebingen.de
www.ieg.uni-tuebingen.de/wiesing



Publikationen

Bauer, Peter:

Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, Paisan-Ruiz C, Lichtner P, Scholz SW, Hernandez DG, Krüger R, Federoff M, Klein C, Goate A, Perlmutter J, Bonin M, Nalls MA, Illig T, Gieger C, Houlden H, Steffens M, Okun MS, Racette BA, Cookson MR, Foote KD, Fernandez HH, Traynor BJ, Schreiber S, Arepalli S, Zonozzi R, Gwinn K, van der Brug M, Lopez G, Chanock SJ, Schatzkin A, Park Y, Hollenbeck A, Gao J, Huang X, Wood NW, Deuschl G, Chen H, Riess O, Hardy JA, Singleton AB, Gasser T. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 41:1308-12; 2009.

Schüle R, Schlipf N, Synofzik M, Klebe S, Klimpe S, Hehr U, Winner B, Lindig T, Dotzer A, Riess O, Winkler J, Schöls L, Bauer P. SPG15 is a rare cause of autosomal-recessive spastic paraplegia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80:1402-1404; 2009.

Schüle R, Bonin M, Dürr A, Forlani S, Sperfeld AD, Klimpe S, Mueller JC, Seibel A, van de Warrenburg BP, Bauer P, Schöls L. Autosomal dominant spastic paraplegia with peripheral neuropathy maps to chr12q23-24. *Neurology* 72:1893-8; 2009.

Hehr U, Bauer P, Winner B, Schule R, Olmez A, Koehler W, Uyanik G, Engel A, Lenz D, Seibel A, Hehr A, Ploetz S, Gamez J, Rolfs A, Weis J, Ringer TM, Bonin M, Schuierer G, Marienhagen J, Bogdahn U, Weber BH, Topaloglu H, Schöls L, Riess O, Winkler J. Long-term course and mutational spectrum of spatacsin-linked spastic paraplegia. *Ann Neurol* 62:656-65, 2007.

Krämer UM, Cunillera T, Càmara E, Marco-Pallarés J, Cucurell D, Nager W, Bauer P, Schüle R, Schöls L, Rodríguez-Fornells A, Münte TF. The impact of catechol-O-methyltransferase and dopamine D4 receptor genotypes on neurophysiological markers of performance monitoring. *J Neurosci* 27:17190-8; 2007.

Drews, Gisela:

Düfer M, Gier B, Wolpers D, Krippeit-Drews P, Ruth P, Drews G. Enhanced glucose tolerance by SK4 channel inhibition in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 58(8):1835-43; 2009.

Gier B, Krippeit-Drews P, Sheiko T, Aguilar-Bryan L, Bryan J, Düfer M, Drews G. Suppression of K_{ATP} channel activity protects murine pancreatic β cells against oxidative stress. *J Clin Invest* 119:3246/3256; 2009.

Schulze DU, Düfer M, Wieringa B, Krippeit-Drews P, Drews G. An adenylate kinase is involved in K_{ATP} channel regulation of mouse pancreatic beta cells. *Diabetologia* 50:2126-2134; 2007.

Drews G, Krippeit-Drews P, Düfer M. Electrophysiology of Islet Cells. In: M.S. Islam (ed.), *The Islets of Langerhans, Advances in Experimental Medicine and Biology* 654, p115-163; 2010.

Düfer M, Haspel D, Krippeit-Drews P, Aguilar-Bryan L, Bryan J, Drews G. Activation of the Na⁺/K⁺-ATPase by insulin and glucose as a putative negative feedback mechanism in pancreatic beta-cells. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 457:1351-1360; 2009.

Fend, Falko:

Fend, Leticia Quintanilla-Martinez:

Quintanilla-Martinez L, Pittaluga S, Miething C, Rudelius M, Davies-Hill T, Anastasov N, Klier M, Martinez A, Vivero A, Duyster J, Jaffe ES, Fend F, Raffeld M. The Transcription factor CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) β is constitutively expressed in ALK-positive anaplastic large cell lymphomas, and is dependent upon NPM-ALK kinase activity. *Blood* 108:2029-2036; 2006.

Klier M, Anastasov N, Hermann A, Meindl T, Angermeier D, Raffeld M, Fend F, Quintanilla-Martinez L. Specific lentiviral shRNA-mediated knockdown of cyclin D1 in mantle cell lymphoma has minimal effects on cell survival and reveals a regulatory circuit with cyclin D2. *Leukemia* 22:2097-105; 2008.

Quintanilla-Martinez L, Slotta-Huspenina J, Koch I, Klier M, His E, de Leval L, Klapper W, Gesk S, Siebert R, Fend F. Differential diagnosis of cyclin D2+ mantle cell lymphoma (MCL) based on fluorescence in situ hybridization (FISH) and quantitative Real-Time-PCR. *Haematologica* 94:1595-98; 2009.

Anastasov N, Bonzheim I, Rudelius M, Klier M, Dau T, Angermeier D, Duyster J, Pittaluga S, Fend F, Raffeld M, Quintanilla-Martinez L. C/EBP β expression in ALK+ anaplastic large cell lymphomas (ALCL) is required for cell proliferation and is induced by the STAT3 signaling pathway. *Haematologica* 2010 (in press).

Feuchtinger, Tobias:

Pfeiffer MM, Feuchtinger T, Teltschik HM, Schumm M, Müller I, Handgretinger R, Lang P. Reconstitution of NK cell receptors influences NK activity and relapse rate after haploidentical transplantation of T and B cell depleted grafts in children. *Haematologica* 2010 (in press).

Serangeli C, Bicanic O, Scheible MH, Wernet D, Lang P, Rammensee HG, Stevanovic S, Handgretinger R, Feuchtinger T. Ex vivo detection of adenovirus specific CD4+ T-cell responses to HLA-DR-epitopes of the Hexon protein show a contracted specificity of T(HELPER) cells following stem cell transplantation. *Virology* 397(2):277-84; 2010.

Feuchtinger T, Richard C, Joachim S, Scheible MH, Schumm M, Hamprecht K, Martin D, Jahn G, Handgretinger R, Lang P. Clinical grade generation of hexon-specific T cells for adoptive T-cell transfer as a treatment of adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *J Immunother* 31(2):199-206; 2008.

Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, Lion T, Fuhrer M, Hamprecht K, Handgretinger R, Peters C, Schuster FR, Beck R, Schumm M, Lotfi R, Jahn G, Lang P. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 134(1):64-76; 2006.

Feuchtinger T, Lücke J, Hamprecht K, Richard C, Handgretinger R, Schumm M, Greil J, Bock T, Niethammer D, Lang P. Detection of adenovirus-specific T cells in children with adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005 Feb;128(4):503-9; 2005.

Garaschuk, Olga:

Hermes M, Eichhoff G, Garaschuk O. Intracellular calcium signaling in Alzheimer's disease. *J Cell Mol Med* 14:30-41; 2010.

Rocheffort NL, Garaschuk O, Milos, RI, Narushima M, Marandi N, Pichler B, Kovalchuk Y, Konnerth A. Sparsification of neuronal activity in the visual cortex at eye-opening. *PNAS USA* 106:15049-15054; 2009.

Busche MA, Eichhoff G, Adelsberger H, Abramowski D, Wiederhold KH, Haass C, Staufenbiel M, Konnerth A, Garaschuk O. Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* 321:1686-1689; 2008.

Heim N, Garaschuk O, Friedrich MW, Mank M, Milos RI, Kovalchuk Y, Konnerth A, Griesbeck O. Improved calcium imaging in transgenic mice expressing a Troponin-C based FRET sensor. *Nature Methods* 4:127-129; 2007.

Adelsberger H, Garaschuk O, Konnerth A. Cortical calcium waves in resting newborn mice. *Nature Neurosci* 8:988-990; 2005.

Garbe, Claus:

Weide B, Derhovanessian E, Pflugfelder A, Eigentler TK, Radny P, Zelba H, Pfohler C, Pawelec G, Garbe C. High response rate after intratumoral treatment with interleukin-2 - results of a phase II study in 51 metastasized melanoma patients. *Cancer* (in press) 2010.

Weide B, Pascolo S, Scheel B, Derhovanessian E, Pflugfelder A, Eigentler TK, Pawelec G, Hoerr I, Rammensee HG, Garbe C. Direct injection of protamine-protected mRNA: results of a phase I/2 vaccination trial in metastatic melanoma patients. *J Immunother* 32:498-507; 2009.

Weide B, Carralot JP, Reese A, Scheel B, Eigentler TK, Hoerr I, Rammensee HG, Garbe C, Pascolo S. Results of the first phase I/III clinical vaccination trial with direct injection of mRNA. *J Immunother* 31:180-188; 2008.

Hauschild A, Weichenthal M, Rass K, Linse R, Berking C, Bottjer J, Vogt T, Spieth K, Eigentler T, Brockmeyer NH, Stein A, Naher H, Schadendorf D, Mohr P, Kaatz M, Tronnier M, Hein R, Schuler G, Egberts F, Garbe C. Efficacy of low-dose interferon α 2a 18 versus 60 months of treatment in patients with primary melanoma of ≥ 1.5 mm tumor thickness: results of a randomized phase III DeCOG trial. *J Clin Oncol* 28:841-846; 2010.

Garbe C, Radny P, Linse R, Dummer R, Gutzmer R, Ulrich J, Stadler R, Weichenthal M, Eigentler T, Ellwanger U, Hauschild A. Adjuvant low-dose interferon α 2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis. *Ann Oncol* 19:1195-1201; 2008.

Gawaz, Meinrad:

Economopoulou M, Langer HF, Celeste A, Orlova VV, Choi EY, Ma M, Vassilopoulos A, Callen E, Deng C, Bassing CH, Boehm M, Nussenzweig A, Chavakis T. Histone H2AX is integral to hypoxia-driven neovascularization. *Nat Med* 15(5):553-8; 2009.

Choi EY, Chavakis E, Czabanka MA, Langer HF, Fraemohs L, Economopoulou M, Kundu RK, Orlandi A, Zheng YY, Prieto DA, Ballantyne CM, Constant SL, Aird WC, Papayannopoulou T, Gahmberg CG, Udey MC, Vajkoczy P, Quertermous T, Dimmeler S, Weber C, Chavakis T. Del-1, an endogenous leukocyte-endothelial adhesion inhibitor, limits inflammatory cell recruitment. *Science* 322(5904):1101-4; 2008.

Stellos K, Langer H, Daub K, Schoenberger T, Gauss A, Geisler T, Bigalke B, Mueller I, Schumm M, Schaefer I, Seizer P, Kraemer BF, Siegel-Axel D, May AE, Lindemann S, Gawaz M. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation* 117(2):206-15; 2008.

Massberg S, Konrad I, Schürzinger K, Lorenz M, Schneider S, Zohlnhoefer D, Hoppe K, Schiemann M, Kennerknecht E, Sauer S, Schulz C, Kerstan S, Rudelius M, Seidl S, Sorge F, Langer H, Peluso M, Goyal P, Vestweber D, Emambokus NR, Busch DH, Frampton J, Gawaz M. Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo. *J Exp Med* 203(5):1221-33; 2006

Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 115(12):3378-84; 2005.

Gückel, Brigitte:

Gückel B, Stumm S, Kayser S, Rentzsch C, Gruber I, Meuer S, Wallwiener D, Marmé A. Allogeneic vaccination with an immunocompetent CD80-transfected tumor cell line: a phase-I clinical trial for patients with advanced breast cancer. (Submitted)

Gückel B, Marmé A. Krebsvakzinierungen: Bestimmt die Tumormasse den Erfolg? *Senologie* 3:154-158; 2007.

Gückel B, Rentzsch C, Nastke M-D, Marmé A, Gruber I, Stevanović S, Kayser S, Wallwiener D. Pre-existing T-cell immunity against mucin-1 in breast cancer patients and healthy volunteers. *J Cancer Res Clin Oncol* 132(4):265-274; 2006.

Gückel B, Stumm S, Rentzsch C, Marmé A, Mannhardt G, Wallwiener D. A CD80-transfected human breast cancer cell variant induces Her-2/neu-specific T-Cells in HLA-A*02-matched situations in vitro as well as in vivo. *Cancer Immunol Immunother* 54:129-40; 2005.

Gouttefangeas, Cecile:

Feyerabend S, Stevanovic S, Gouttefangeas C, Wernet D, Hennenlotter J, Bedke J, Dietz K, Pascolo S, Kuczyk M, Rammensee HG, Stenzl A. Novel multi-peptide vaccination in HLA-A2 hormone sensitive patients with biochemical relapse of prostate cancer. *The Prostate* 69:917-927; 2009.

Attig S, Hennenlotter J, Pawelec G, Klein G, Koch SD, Pircher H, Feyerabend S, Wernet D, Stenzl A, Rammensee HG, Gouttefangeas C. Simultaneous infiltration of polyfunctional effector and suppressor T cells into renal cell carcinomas. *Cancer Res* 69: 8412-19; 2009.

Britten CM, Gouttefangeas C, Welters MJP, Pawelec G, Koch S, Ottensmeier C, Mander A, Walter S, Paschen A, Müller-Berghaus J, Haas I, Mackensen A, Køllgaard T, Thor Straten P, Schmitt M, Giannopoulos K, Maier R, Veelken H, Bertinetti C, Konur A, Huber C, Stevanovic S, Wölfel T, van der Burg SH. The CIMT-monitoring panel: a two-step approach to harmonize the enumeration of antigen-specific CD8+ T lymphocytes by structural and functional assays. *Cancer Immunol Immunother* 57:289-302; 2008.

Handgretinger, Rupert:

Pui CH, Campana D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Raimondi SC, Onciu M, Coustan-Smith E, Kun LE, Jeha S, Cheng C, Howard SC, Simmons V, Bayles A, Metzger ML, Boyett JM, Leung W, Handgretinger R, Downing JR, Evans WE, Relling MV. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med* 360:2730-2741; 2009.

Klingeblat T, Cornish J, Labopin M, Locatelli F, Darbyshire P, Handgretinger R, Balduzzi A, Owoc-Lempach J, Fagioli F, Or R, Peters C, Aversa F, Polge E, Dini G, Rocha V. Results and factors influencing outcome after fully haploidentical hematopoietic stem cell transplant in children with very-high risk acute lymphoblastic leukaemia- impact of center size: an analysis on behalf of the Acute Leukemia and Pediatric Disease Working Parties of the European Blood and Marrow Transplant Group. *Blood* 2009 (Epub ahead of print)

Chen Y, Hale GA, Neale GA, Knowles J, Barfield R, Wang YD, Kaushal D, Naeve DC, Srivastava DK, Tong Y, Turner V, Naeve C, Handgretinger R. A novel approach for the analysis of T-cell reconstitution by using a T-cell receptor beta-based oligonucleotide microarray in hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 35:831-841; 2007.

Shultz L, Lyons B, Burzenski L, Gott B, Chen X, Chaleff S, Kotb M, Gillies S, King M, Mangada J, Greiner D, Handgretinger R. Human Lymphoid and Myeloid Cell Development in NOD/LtSz-scid IL2R null Mice Engrafted with Mobilized Human Hemopoietic Stem Cells. *J Immunol* 174:6477-6489; 2005.

Leung W, Iyengar R, Triplett B, Turner V, Behm F, Holladay M, Houston J, Handgretinger R. Comparison of Killer IG-Like Receptor Genotyping and Phenotyping for Selection of Allogeneic Blood Stem Cell Donors. *J Immunol* 174:6540-6545; 2005.

Hüttner, Steffen:

Entwicklung ultrasensitiver Technologien für die globale Genexpressionsanalyse an Einzelzellen und von Metatranskriptomen – PASSAGE (2009)

Nachweis- und Prüfverfahren für die Plasma-Sterilisation" im BMBF-Verbund: „Plasmagestützte Oberflächenmodifizierung mittels modularer selektiver Plasmaquelle – Plasmore“ (2008)

PASSAGE – Technology Platform for Gene Expression Analysis (2010)

Von der Idee zur Innovation – Creditreform Februar 2010 Seite 44 & 45

Jung, Gundram:

Otz T, Große-Hovest L, Hofmann M, Rammensee H-G, Jung G. A bispecific single chain antibody that mediates target cell restricted supra-agonistic CD28 stimulation and killing of lymphoma cells. *Leukemia* 23:71-77; 2009.

Herrmann T, Große-Hovest L, Otz T, Krammer PH, Rammensee HG and Jung G. Construction of optimized bispecific antibodies for selective activation of the death receptor Cd95. *Cancer Res* 68:1221-1227; 2008.

Große-Hovest L, Wick W, Minoia R, Weller M, Rammensee HG, Brem G and Jung G. A supra-agonistic, bispecific single chain antibody purified from the serum of cloned, transgenic cows induces T-cell mediated killing of glioblastoma cells in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 117:1060-1064; 2005.

Grosse-Hovest L, Müller S, Minoia R, Wolf E, Zakhartchenko V, Wenigerkind H, Lassnig C, Besenfelder U, Müller M, Lytton SD, Jung G, Brem G. Cloned transgenic farm animals produce a bispecific antibody for T cell-mediated tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(18):6858-63; 2004.

Königsrainer, Alfred:

Zieker D, Königsrainer I, Tritschler I, Löffler M, Beckert S, Traub F, Nieselt K, Bühler S, Weller M, Gaedcke J, Taichman RS, Northoff H, Brücher BL, Königsrainer A. Phosphoglycerate kinase 1 a promoting enzyme for peritoneal dissemination in gastric cancer. *Int J Cancer* 126(6):1513-20; 2010.

Königsrainer I, Zieker D, Beckert S, von Weyhern C, Löb S, Falch C, Brücher BL, Königsrainer A, Glatzle J. Local peritonectomy highly attracts free floating intraperitoneal colorectal tumour cells in a rat model. *Cell Physiol Biochem* 23(4-6):371-8; 2009.

Pfannenberger C, Königsrainer I, Aschoff P, Oksüz MO, Zieker D, Beckert S, Symons S, Nieselt K, Glatzle J, Weyhern CV, Brücher BL, Claussen CD, Königsrainer A. (18)F-FDG-PET/CT to select patients with peritoneal carcinomatosis for cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 16(5):1295-303; 2009.

Brücher BL, Swisher SG, Königsrainer A, Zieker D, Hartmann J, Stein H, Kitagawa Y, Law S, Ajani JA. Response to preoperative therapy in upper gastrointestinal cancers. *Ann Surg Oncol* 16(4):878-86; 2009.

Zieker D, Königsrainer I, Traub F, Nieselt K, Knapp B, Schillinger C, Stirnkorb C, Fend F, Northoff H, Kupka S, Brücher BL, Königsrainer A. PGK1 a potential marker for peritoneal dissemination in gastric cancer. *Cell Physiol Biochem* 21(5-6):429-36; 2008.

Kontermann, Roland:

- Müller, D, Karle A, Meißburger B, Höfig I, Stork R, Kontermann RE. Improved pharmacokinetics of recombinant bispecific antibody molecules by fusion to human serum albumin. *J Biol Chem* 282:12650-12660; 2007.
- Kontermann RE, Münkel S, Neumeyer J, Müller D, Branschädel M, Scheurich P, Pfizenmaier K. A humanized tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1) specific antagonistic antibody for selective inhibition of tumor necrosis factor (TNF) action. *J Immunother* 31:225-234; 2008.
- Müller D, Frey K, Kontermann RE. A novel antibody-4-1BBL fusion protein for targeted costimulation in cancer immunotherapy. *J Immunother* 31:714-722; 2008.
- Messerschmidt SKE, Musyanovich A, Altvater M, Scheurich P, Pfizenmaier K, Landfester K, Kontermann RE. Targeted lipid-coated nanoparticles: delivery of tumor necrosis factor-functionized particles to tumor cells. *J Control Release* 137:69-77; 2009.
- Stork R, Campigna E, Robert B, Müller D, Kontermann RE. Biodistribution of a bispecific single-chain diabody and its half-life extended derivatives. *J Biol Chem* 284:25612-25619; 2009.

Kopp, Hans-Georg:

- Wiesner T, Bugl S, Mayer F, Hartmann JT, Kopp HG. Differential changes in platelet VEGF, Tsp, CXCL12, and CXCL4 in patients with metastatic cancer. *Clin Exp Metastasis* 27(3):141-149; 2010.
- Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet derived TGF- β downregulates NKG2D thereby inhibiting NK cell anti-tumor reactivity. *Cancer Research* 1;69 (19):7775-7783; 2009.
- Kopp HG, Hooper AT, Broekman MJ, Avecilla ST, Luo M, Milde T, Ramos CA, Zhang F, Kopp T, Bornstein P, Lawler J, Marcus AJ, Rafii S. Thrombospondins stored in thrombopoietic cells determine angiogenic switch and revascularization. *Journal of Clinical Investigation* 116(12):3277-3291; 2006.
- Jin DK, Shido K*, Kopp HG*, Petit I, Shmelkov SV, Young LM, Hooper AT, Amano H, Avecilla ST, Heissig B, Hattori K, Zhang F, Hicklin DJ, Wu Y, Zhu Z, Dunn A, Salari H, Werb Z, Hackett NR, Crystal RG, Lyden D, Rafii S. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4(+) hemangiocytes. *Nature Medicine* 12(5):557-567; 2006. (**"equal contribution")
- Kopp HG, Avecilla ST, Hooper AT, Shmelkov SV, Ramos CA, Zhang F, Rafii S. Tie2 activation contributes to hemangiogenic regeneration after myelosuppression. *Blood* 106(2):505-513; 2005.

Lang, Peter:

- Pfeiffer MM, Feuchtinger T, Teltschik HM, Schumm M, Müller I, Handgretinger R, Lang P. Reconstitution of NK cell receptors influences NK activity and relapse rate after haploidentical transplantation of T and B cell depleted grafts in children. *Haematologica* 2010 (in press).
- Burkhardt B, Reiter A, Landmann E, Lang P, Lassay L, Dickerhoff R, Lakomek M, Henze G, von Stackelberg A. Poor outcome for children and adolescents with progressive disease or relapse of lymphoblastic lymphoma: a report from the berlin-frankfurt-muenster group. *J Clin Oncol* 27:3363-3369; 2009.
- Pfeiffer M, Schumm M, Feuchtinger T, Dietz K, Handgretinger R, Lang P. Intensity of HLA class I expression and KIR-mismatch determine NK-cell mediated lysis of leukaemic blasts from children with acute lymphatic leukaemia. *Br J Haematol* 138:97-100; 2007.
- Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, Lion T, Fuhrer M, Hamprecht K, Handgretinger R, Peters C, Schuster FR, Beck R, Schumm M, Löffler R, Jahn G, Lang P. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 134:64-76; 2006.
- Lang P, Barbin K, Feuchtinger T, Greil J, Peipp M, Zunino SJ, Pfeiffer M, Handgretinger R, Niethammer D, Fey GH. Chimeric CD19 antibody mediates cytotoxic activity against leukemic blasts with effectors from pediatric patients transplanted with T cell depleted allografts. *Blood* 15:3982-3985; 2004.

Macek, Boris:

- Borchert N, Dieterich C, Krug K, Schütz W, Jung S, Nordheim A, Sommer R, Macek B. Proteogenomics of *Pristionchus pacificus* reveals distinct proteome structure of nematode models. *Genome Res*, accepted; 2010.
- Macek B, Mann M, Olsen JV. Global and site-specific quantitative phosphoproteomics: principles and applications. *Ann Rev Pharmacol* 49:199-221; 2009.
- Macek B, Gnad F, Soufi B, Kumar C, Olsen JV, Mijakovic I, Mann M. Phosphoproteome analysis of *E. coli* reveals evolutionary conservation of bacterial Ser/Thr/Tyr phosphorylation. *Mol Cell Proteomics* 7(2):299-307; 2008.
- Olsen JV, Macek B, Lange O, Makarov A, Horning S, Mann M. Higher-Energy C-trap Dissociation (HCD) for precise peptide modification analysis. *Nat methods* 4(9):709-712; 2007.
- Olsen JV, Blagoev B, Gnad F, Macek B, Kumar C, Mortensen P, Mann M. Global, in-vivo and site-specific phosphorylation dynamics of signaling networks. *Cell* 127 (3):635-648; 2006.

Nürnberg, Bernd:

- Kurig B, Shymanets A, Bohnacker T, Prajwal Brock C, Ahmadian MR, Schaefer M, Gohla A, Harteneck C, Wymann MP, Jeanclous E, Nürnberg B. Ras is an indispensable coregulator of the class IB phosphoinositide 3-kinase p87/p110 γ . *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:20312-20317; 2009.
- Beer-Hammer S, Zebedin E, von Holleben M, Alferink J, Reis B, Dressing P, Degrandi D, Scheu S, Hirsch E, Sexl V, Pfeiffer K, Nürnberg B, Piekorz R. The catalytic PI3K isoforms p110 and p110 contribute to B cell development and maintenance, transformation and proliferation. *J Leukoc Biol* 2010 (in press).
- Konrad S, Ali SR, Wiege K, Syed SN, Engling L, Piekorz RP, Hirsch E, Nürnberg B, Schmidt RE, Gessner JE.

PI3K and PI3K: Linkers of coordinate C5aR-FcR activation and immune complex-induced inflammation. *J Biol Chem* 283:33296-33303; 2008.

Gohla A, Klement K, Piekorz RP, Pexa K, v Dahl S, Spicher K, Dreval V, Häussinger D, Birnbaumer L, Nürnberg B. An obligatory requirement for the heterotrimeric G protein Gi3 in the anti-autophagic action of insulin in the liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:3003-3008; 2007.

Beer S, Scheikl T, Reis B, Hüser N, Pfeffer K, Holzmann B. Impaired immune responses and prolonged allograft survival in SLY- mutant mice. *Mol Cell Biol* 25 (21):9646-9660; 2005.

Pawelec, Graham:

Derhovanessian E, Larbi A, Pawelec G. Biomarkers of human immunosenescence: impact of Cytomegalovirus infection. *Curr Op Immunol* 21:440-445; 2009.

Derhovanessian E, Adams V, Hähnel K, Groeger A, Pandha H, Ward S, Pawelec G. Pre-treatment frequency of circulating IL-17+CD4+ T-cells, but not Tregs, correlates with clinical response to whole-cell vaccination in prostate cancer patients. *Int J Cancer* 125:1372-1379;2009.

Mazzatti DJ, White A, Forsey RJ, Powell JR, Pawelec G. Gene expression changes in long-term culture of T-cell clones: Genomic effects of chronic antigenic stress in ageing and immunosenescence. *Aging Cell* 6:155-163; 2007.

Knights A, Weinzierl A, Flad T, Guinn B, Müller L, Mufti G, Stevanovic S, Pawelec G. A novel MHC-associated Proteinase 3 peptide isolated from primary CML cells further supports the significance of this antigen for immunotherapy of myeloid leukaemias. *Leukemia* 20:1067-1072; 2006.

Pawelec G, Akbar A, Caruso C, Solana R, Grubeck-Loebenstein B, Wikby A. Human immunosenescence. Is it infectious? *Immunol. Rev.* 205:257-268; 2005.

Pfizenmaier, Klaus:

Gerspach J, Pfizenmaier K, Wajant H. Improving TNF as a cancer therapeutic: tailor-made TNF fusion proteins with conserved antitumor activity and reduced systemic side effects. *Biofactors* 35(4):364-72; 2009

Messerschmidt SK, Musyanovych A, Altvater M, Scheurich P, Pfizenmaier K, Landfester K, Kontermann RE. Targeted lipid-coated nanoparticles: delivery of tumor necrosis factor-functionalized particles to tumor cells. *J Control Release* 137(1):69-77; 2009.

Gerspach J, Wajant H, Pfizenmaier K. Death ligands designed to kill: development and application of targeted cancer therapeutics based on proapoptotic TNF family ligands. *Results Probl Cell Differ* 49:241-73; 2009.

Kontermann RE, Münkel S, Neumeyer J, Müller D, Branschädel M, Scheurich P, Pfizenmaier K. A humanized tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1)-specific antagonistic antibody for selective inhibition of tumor necrosis factor (TNF) action. *J Immunother* 31 (3):225-34; 2008.

Watermann I, Gerspach J, Lehne M, Seufert J, Schneider B, Pfizenmaier K, Wajant H. Activation of CD95L fusion protein prodrugs by tumor-associated proteases. *Cell Death Differ* 14(4):765-74; 2007.

Pichler, Bernd:

Kneilling M, Mailhammer R, Hültner L, Schönberger T, Fuchs K, Schaller M, Bukala D, Massberg S, Sander CA, Braumüller H, Eichner M, Maier KL, Hallmann R, Pichler BJ, Haubner R, Gawaz M, Pfeffer K, Biedermann T, Röcken M. Direct crosstalk between mast cell-TNF and TNFR1-expressing endothelia mediates local tissue inflammation. *Blood* 114(8):1696-706; 2009.

Elsässer-Beile U, Reischl G, Wiehr S, Bühler P, Wolf P, Alt K, Shively J, Judenhofer MS, Machulla HJ, Pichler BJ. PET imaging of prostate cancer xenografts with a highly specific antibody against the prostate-specific membrane antigen. *J Nucl Med* 2009 Apr;50(4):606-11; 2009.

Müller-Hermelink N, Braumüller H, Pichler B, Wieder T, Mailhammer R, Schaak K, Ghoreschi K, Yazdi A, Haubner R, Sander CA, Mocikat R, Schwaiger M, Förster I, Huss R, Weber WA, Kneilling M, Röcken M. TNFR1 signaling and IFN-gamma signaling determine whether T cells induce tumor dormancy or promote multistage carcinogenesis. *Cancer Cell* 13(6):507-18; 2008.

Judenhofer MS, Wehr HF, Newport DF, Catana C, Siegel SB, Becker M, Thielscher A, Kneilling M, Lichy MP, Eichner M, Klingel K, Reischl G, Widmaier S, Röcken M, Nutt RE, Machulla HJ, Uludag K, Cherry SR, Claussen CD, Pichler BJ. Simultaneous PET-MRI: a new approach for functional and morphological imaging. *Nat Med* 14(4):459-65; 2008.

Pichler BJ, Kneilling M, Haubner R, Braumüller H, Schwaiger M, Röcken M, Weber WA. Imaging of delayed-type hypersensitivity reaction by PET and 18F-galacto-RGD. *J Nucl Med* 2005 Jan;46(1):184-9; 2005.

Probst, Jochen:

Scheel B, Braedel S, Probst J, Carralot JP, Wagner H, Schild H, Jung G, Rammensee HG, Pascolo S. Immunostimulating capacities of stabilized RNA molecules. *Eur J Immunol* 34:537-547; 2004.

Carralot JP, Weide B, Schoor O, Probst J, Scheel B, Teufel R, Hoerr I, Garbe C, Rammensee HG, Pascolo S. Production and characterization of amplified tumor-derived cRNA libraries to be used as vaccines against metastatic melanomas. *Genet Vaccines Ther* 3: 6; 2005.

Probst J, Weide B, Scheel B, Pichler BJ, Hoerr I, Rammensee HG, Pascolo S. Spontaneous cellular uptake of exogenous messenger RNA in vivo is nucleic acid-specific, saturable and ion dependent. *Gene Ther* 14:1175-80; 2007.

Rammensee, Hans.Georg:

Lob S, Konigsrainer A, Rammensee HG, Opelz G, Terness P. Inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase for cancer therapy: can we see the wood for the trees? *Nat Rev Cancer* 9:445-452; 2009

Feyerabend S, Stevanovic S, Gouttefangeas C, Wernet D, Hennenlotter J, Bedke J, Dietz K, Pascolo S, Kuczyk M, Rammensee HG, Stenzl A. 2009. Novel multi-peptide vaccination in Hla-A2+ hormone sensitive patients with biochemical relapse of Hla-A2+ prostate cancer. *Prostate* 69:917-927; 2009.

Weide B, Carralot JP, Reese A, Scheel B, Eigentler TK, Hoerr I, Rammensee HG, Garbe C, Pascolo S. 2008. Results of the first phase I/II clinical vaccination trial with direct injection of mRNA. *J Immunother* 31:180-188; 2008.

Rammensee HG, Weinschenk T, Gouttefangeas C, Stevanovic S. Towards patient-specific tumor antigen selection for vaccination. *Immunol Rev* 188:164-176; 2002.

Osterloh P, Linkemann K, Tenzer S, Rammensee HG, Radsak MP, Busch DH, Schild H. Proteasomes shape the repertoire of T cells participating in antigen-specific immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:5042-47; 2006.

Dengjel J, Schoor O, Fischer R, Reich M, Kraus M, Muller M, Kreymborg K, Altenberend F, Brandenburg J, Kalbacher H, Brock R, Driessen C, Rammensee HG, Stevanovic S. Autophagy promotes MHC class II presentation of peptides from intracellular source proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:7922-27; 2005.

Riess, Olaf:

Simón-Sánchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, Paisan-Ruiz C, Lichtner P, Scholz SW, Hernandez DG, Krüger R, Federoff M, Klein C, Goate A, Perlmutter J, Bonin M, Nalls MA, Illig T, Gieger C, Houlden H, Steffens M, Okun MS, Racette BA, Cookson MR, Foote KD, Fernandez HH, Traynor BJ, Schreiber S, Arepalli S, Zonozi R, Gwinn K, van der Brug M, Lopez G, Chanock SJ, Schatzkin A, Park Y, Hollenbeck A, Gao J, Huang X, Wood NW, Deuschl G, Chen H, Riess O, Hardy JA, Singleton AB, Gasser T. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 41:1308-12; 2009.

Schüle R, Schlipf N, Synofzik M, Klebe S, Klimpe S, Hehr U, Winner B, Lindig T, Dotzer A, Riess O, Winkler J, Schöls L, Bauer P. SPG15 is a rare cause of autosomal-recessive spastic paraplegia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80:1402-1404; 2009.

Schüle R, Bonin M, Dürr A, Forlani S, Sperfeld AD, Klimpe S, Mueller JC, Seibel A, van de Warrenburg BP, Bauer P, Schöls L. Autosomal dominant spastic paraplegia with peripheral neuropathy maps to chr12q23-24. *Neurology* 72:1893-8; 2009.

Hehr U, Bauer P, Winner B, Schule R, Olmeiz A, Koehler W, Uyanik G, Engel A, Lenz D, Seibel A, Hehr A, Ploetz S, Gamez J, Rolfs A, Weis J, Ringer TM, Bonin M, Schuierer G, Marienhagen J, Bogdahn U, Weber BH, Topaloglu H, Schöls L, Riess O, Winkler J. Long-term course and mutational spectrum of spatacsin-linked spastic paraplegia. *Ann Neurol* 62:656-65, 2007.

Krämer UM, Cunillera T, Càmarà E, Marco-Pallarés J, Cucurell D, Nager W, Bauer P, Schüle R, Schöls L, Rodríguez-Fornells A, Münte TF. The impact of catechol-O-methyltransferase and dopamine D4 receptor genotypes on neurophysiological markers of performance monitoring. *J Neurosci* 27:17190-8; 2007.

Röcken, Martin:

Kneilling M, Mailhammer R, Hültner L, Schönberger T, Fuchs K, Schaller M, Bukala D, Massberg S, Sander CA, Braumüller H, Eichner M, Maier KL, Hallmann R, Pichler BJ, Haubner R, Gawaz M, Pfeffer K, Biedermann T, Röcken M. Direct crosstalk between mast cell-TNF and TNFR1-expressing endothelia mediates local tissue inflammation. *Blood* 114(8):1696-706; 2009.

Ziegler A, Heidenreich R, Braumüller H, Wolburg H, Weidemann S, Mocikat R, Röcken M. EpCAM, a human tumor-associated antigen promotes Th2 development and tumor immune evasion. *Blood* 113(15):3494-502; 2009.

Brantsch KD, Meisner C, Schönfisch B, Trilling B, Wehner-Caroli J, Röcken M, Breuninger H. Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *Lancet Oncol* 9(8):713-20; 2008.

Müller-Hermelink N, Braumüller H, Pichler B, Wieder T, Mailhammer R, Schaak K, Ghoreschi K, Yazdi A, Haubner R, Sander CA, Mocikat R, Schwaiger M, Förster I, Huss R, Weber WA, Kneilling M, Röcken M. TNFR1 signaling and IFN-gamma signaling determine whether T cells induce tumor dormancy or promote multistage carcinogenesis. *Cancer Cell* 13(6):507-18; 2008.

Ghoreschi K, Thomas P, Breit S, Dugas M, Mailhammer R, van Eden W, van der Zee R, Biedermann T, Prinz J, Mack M, Mrowietz U, Christophers E, Schöndorf D, Plewig G, Sander CA, Röcken M. Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease. *Nat Med* 9(1):40-6; 2003.

Salih, Helmut:

Baessler T, Charton JE, Schmiedel BJ, Grünebach F, Krusch M, Wacker A, Rammensee H-G, Salih HR. CD137 Ligand Mediates Opposite Effects in Human and Mouse NK Cells and impairs NK cell reactivity against Human Acute Myeloid Leukemia cells. *Blood* 2010 (in press).

Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res* 69:7775-7783; 2009.

Baessler T, Krusch M, Schmiedel BJ, Kloss M, Baltz KM, Wacker A, Schmetzer HM, Salih HR. Glucocorticoid-Induced TNFR-Related Protein (GITR) ligand subverts immunosurveillance of Acute Myeloid Leukemia in humans. *Cancer Res* 69:1037-45; 2009.

Baltz KM, Krusch M, Baessler T, Schmiedel BJ, Bringmann A, Brossart P, Salih HR. Neutralization of tumor-derived soluble Glucocorticoid-Induced TNFR- Related (GITR) ligand increases NK cell anti-tumor reactivity. *Blood* 112:3735-43; 2008.

Armeanu S, Krusch M, Baltz KM, Weiss TS, Smirnow I, Steinle A, Lauer UM, Bitzer M, Salih HR. Direct and Natural Killer cell-mediated anti-tumor effects of low-dose Bortezomib in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res* 14:3520-8; 2008.

Schwab, Matthias:

Schroth W, Goetz MP, Hamann U, Fasching PA, Schmidt M, Winter S, Fritz P, Simon W, Suman VJ, Ames MM, Safgren SL, Kuffel MJ, Ulmer HU, Boländer J, Strick R, Beckmann MW, Koelbl H, Weinshilboum RM, Ingle JN, Eichelbaum M, Schwab M, Brauch H. Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA-J Am Med Assoc* 302:1429-1436; 2009.

Ahmed S, Thomas G, Ghossaini M, Healey CS, Humphreys MK, Platte R, Morrison J, Maranian M, Pooley KA, Luben R, Eccles D, Evans DG, Fletcher O, Johnson N, dos Santos Silva I, Peto J, Stratton MR, Rahman N, Jacobs K, Prentice R, Anderson GL, Rajkovic A, Curb JD, Ziegler RG, Berg CD, Buys SS, McCarty CA, Feigelson HS, Calle EE, Thun MJ, Diver WR, Bojesen S, Nordestgaard BG, Flyger H, Dörk T, Schürmann P, Hillemanns P, Karstens JH, Bogdanova NV, Antonenkova NN, Zalutsky IV, Bermisheva M, Fedorova S, Khusnutdinova E, Kang D, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Devilee P, van Asperen CJ, Tollenaar RA, Seynaeve C, Garcia-Closas M, Lissowska J, Brinton L, Peplonska B, Nevanlinna H, Heikkinen T, Aittomäki K, Blomqvist C, Hopper JL, Southey MC, Smith L, Spurdle AB, Schmidt MK, Broeks A, van Hien RR, Cornelissen S, Milne RL, Ribas G, González-Neira A, Benitez J, Schmutzler RK, Burwinkel B, Bartram CR, Meindl A, Brauch H, Justenhoven C, Hamann U, GENICA Consortium, Chang-Claude J, Hein R, Wang-Gohrke S, Lindblom A, Margolin S, Mannermaa A, Kosma VM, Kataja V, Olson JE, Wang X, Fredericksen Z, Giles GG, Severi G, Baglietto L, English DR, Hankinson SE, Cox DG, Kraff P, Vatten LJ, Hveem K, Kumle M, Sigurdson A, Doody M, Bhatti P, Alexander BH, Hooning MJ, van den Ouweland AM, Oldenburg RA, Schutte M, Hall P, Czene K, Liu J, Li Y, Cox A, Elliott G, Brock I, Reed MW, Shen CY, Yu JC, Hsu GC, Chen ST, Anton-Culver H, Ziogas A, Andrulis IL, Knight JA, kConFab, Australian Ovarian Cancer Study Group, Beesley J, Goode EL, Couch F, Chenevix-Trench G, Hoover RN, Ponder BA, Hunter DJ, Pharoah PD, Dunning AM, Chanock SJ, Easton DF. Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2. *Nat Genet* 41:585-590, 2009.

Schwab M, Zanger UM, Marx C, Klein K, Dippon J, Schaeffeler E, Kerb R, Bliedernicht J, Fischer J, Hofmann U, Bokemeyer C, Eichelbaum M, for the German 5-FU Toxicity Study Group. The Role of Genetic and Non-genetic Factors for 5-Fluorouracil Treatment Related Severe Toxicity: A Prospective Clinical Trial. *J Clin Oncol* 26:2131-8; 2008.

Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, Struewing JP, Morrison J, Field H, Luben R, Wareham N, Ahmed S, Healey CS, Bowman R; SEARCH collaborators, Meyer KB, Haiman CA, Kolonel LK, Henderson BE, Le Marchand L, Brennan P, Sangrajrang S, Gaborieau V, Odefrey F, Shen CY, Wu PE, Wang HC, Eccles D, Evans DG, Peto J, Fletcher O, Johnson N, Seal S, Stratton MR, Rahman N, Chenevix-Trench G, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Axelsson CK, Garcia-Closas M, Brinton L, Chanock S, Lissowska J, Peplonska B, Nevanlinna H, Fagerholm R, Eerola H, Kang D, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Hunter DJ, Hankinson SE, Cox DG, Hall P, Wedren S, Liu J, Low YL, Bogdanova N, Schürmann P, Dörk T, Tollenaar RA, Jacobi CE, Devilee P, Klijn JG, Sigurdson AJ, Doody MM, Alexander BH, Zhang J, Cox A, Brock IW, MacPherson G, Reed MW, Couch FJ, Goode EL, Olson JE, Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Uitterlinden A, Rivadeneira F, Milne RL, Ribas G, Gonzalez-Neira A, Benitez J, Hopper JL, McCredie M, Southey M, Giles GG, Schroen C, Justenhoven C, Brauch H, Hamann U, Ko YD, Spurdle AB, Beesley J, Chen X; kConFab; AOCs Management Group, Mannermaa A, Kosma VM, Kataja V, Hartikainen J, Day NE, Cox DR, Ponder BA. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 447:1087-1093; 2007.

Stanulla M, Schaeffeler E, Flohr T, Cario G, Schrauder A, Zimmermann M, Welte K, Ludwig WD, Bartram CR, Zanger UM, Eichelbaum M, Schrappe M, Schwab M. Thiopurine methyltransferase (TPMT) genotype and early treatment response to mercaptopurine in childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA-J Am Med Assoc* 293:1485-1489; 2005.

Singh, Harpreet:

Copier J, Dalgleish AG, Britten CM, Finke LH, Gaudernack G, Gnjjatic S, Kallen K, Kiessling R, Schuessler-Lenz M, Singh H, Talmadge J, Zwierzina H, Håkansson L. Improving the efficacy of cancer immunotherapy. *Eur J Cancer* 45:1424-31; 2009.

Britten CM, Gouttefangeas C, Welters MJ, Pawelec G, Koch S, Ottensmeier C, Mander A, Walter S, Paschen A, Müller-Berghaus J, Haas I, Mackensen A, Køllgaard T, Thor Straten P, Schmitt M, Giannopoulos K, Maier R, Veelken H, Bertinetti C, Konur A, Huber C, Stevanović S, Wölfel T, van der Burg SH. The CIMT-monitoring panel: a two-step approach to harmonize the enumeration of antigen-specific CD8+ T lymphocytes by structural and functional assays. *Cancer Immunol Immunother* 57:289-302; 2008.

Hipp MM, Hilf N, Walter S, Werth D, Brauer KM, Radsak MP, Weinschenk T, Singh-Jasuja H, Brossart P. Sorafenib but not sunitinib affects function of dendritic cells and induction of primary immune responses. *Blood* 111:5610-20; 2008.

Singh-Jasuja H, Walter S, Weinschenk T, Mayer A, Dietrich PY, Staehler M, Stenzl A, Stevanovic S, Rammensee H, Frisch J. Correlation of T-cell response, clinical activity and regulatory T-cell levels in renal cell carcinoma patients treated with IMA901, a novel multi-peptide vaccine. *Journal of Clinical Oncology ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25:3017*; 2007.

Staehler M, Stenzl A, Dietrich PY, Eisen T, Haferkamp A, Beck J, Mayer A, Walter S, Singh-Jasuja H, Stief C. A phase I study to evaluate safety, immunogenicity and anti-tumor activity of the multi-peptide vaccine IMA901 in renal cell carcinoma patients (RCC). *Journal of Clinical Oncology ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25:5098*; 2007.

Stevanovic, Stefan:

Meyer VS, Drews O, Gündler M, Hennenlotter J, Rammensee HG, Stevanovic S. Identification of natural MHC class II presented phosphopeptides and tumor-derived MHC class I phospholigands. *J Proteome Res* 8:3666-3674; 2009.

Stickel JS, Weinzierl AO, Hillen N, Drews O, Schuler MM, Hennenlotter J, Wernet D, Müller CA, Stenzl A, Rammensee HG, Stevanovic S. HLA ligand profiles of primary renal cell carcinoma maintained in metastases. *Cancer Immunol Immunother* 58:1407-1417; 2009.

Meyer VS, Kastenmüller W, Gasteiger G, Franz-Wachtel M, Lamkemeyer T, Rammensee HG, Stevanovic S, Sigurdardottir D, Drexler I. Long-term immunity against actual poxviral HLA ligands as identified by differential stable isotope labeling. *J Immunol* 181:6371-6383; 2008.

Weinzierl AO, Maurer D, Altenberend F, Schneiderhan-Marra N, Klingel K, Schoor O, Wernet D, Joos T, Rammensee HG, Stevanovic S. A cryptic vascular endothelial growth factor T-cell epitope: Identification and characterization by mass spectrometry and T-cell assays. *Cancer Res* 68:2447-2454; 2008.

Dengjel J, Nastke MD, Gouttefangeas C, Gitsioudis G, Schoor O, Altenberend F, Müller M, Krämer B, Missiou A, Sauter M, Hennenlotter J, Wernet D, Stenzl A, Rammensee HG, Klingel K, Stevanovic S. Unexpected abundance of HLA class II presented peptides in primary renal cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 12:4163-4170; 2006.

Wesselborg, Sebastian

Lauber K, Bohn E, Kröber SM, Xiao YJ, Blumenthal SG, Lindemann RK, Marini P, Wiedig C, Zobywalski A, Baksh S, Xu Y, Autenrieth IB, Schulze-Osthoff K, Belka C, Stuhler G, Wesselborg S. Apoptotic cells induce migration of phagocytes via caspase-3 mediated release of a lipid attraction signal. *Cell* 113:717-7308; 2003.

Lauber K, Blumenthal SG, Waibel M, Wesselborg S. Clearance of apoptotic cells: getting rid of the corpses. *Mol Cell* 10:1463-14708; 2004.

Waibel M, Kramer S, Lauber K, Lupescu A, Manns J, Schulze-Osthoff K, Lang F, Wesselborg S. Mitochondria are not required for death receptor mediated cytosolic acidification during apoptosis. *Apoptosis* 12:623-30; 2007.

Peter C, Waibel M, Radu CG, Yang LV, Witte ON, Schulze-Osthoff K, Wesselborg S, Lauber K. Migration to apoptotic "find-me" signals is mediated via the phagocyte receptor G2A. *J Biol Chem* 283:5296-305; 2008.

Dieterle A, Orth R, Daubrawa M, Grotemeier A, Alers S, Ullrich S, Lammers R, Wesselborg S, Stork B. The Akt inhibitor triciribine sensitizes prostate carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis. *Int J Cancer* 15:932-41; 2009.

Blume K, Soeroes S, Waibel M, Keppeler H, Wesselborg S, Herrmann M, Lauber K. Cell surface externalization of annexin A1 as a failsafe mechanism preventing inflammatory responses during secondary necrosis. *J Immunol* 183:8138-47; 2009.

Grotemeier A, Alers S, Pfisterer SG, Paasch F, Daubrawa M, Dieterle A, Viollet B, Wesselborg S, Proikas-Cezanne T, Stork B. AMPK-independent induction of autophagy by cytosolic Ca²⁺ increase. *Cell Signal*; 2010 (in press).

Wiesmüller, Karl-Heinz:

Gerner W, Hammer SE, Wiesmüller K-H, Saalmüller A. Identification of MHC Restriction and Anchor Residues of Foot-and-Mouth Disease Virus Derived Bovine T cell Epitopes. *J Virol* 83:4039-4050; 2009

Ganser A, Roth G, van Galen J, Joost JH, Wammes JG, Müller I, van der Leeuwen F, Wiesmüller K-H, Brock R. High-resolution dose-response profiles of binary mixtures of chemotherapeutics with only two pipetting steps. *Anal Chem* 81:5233-5240; 2009

André T, Reichel A, Wiesmüller K-H, Tampé R, Piehler J, Brock R. Selectivity of competitive multivalent interactions at interfaces. *Chembiochem* 10(11):1878-1887; 2009.

Grunwald C, Schulze K, Reichel A, Weiss VU, Blaas D, Piehler J, Wiesmüller K-H, Tampé R. In situ assembly of macromolecular complexes triggered by light. *PNAS* 107:6146-6151; 2010.

Farhat K, Riekenberg S, Jung G, Wiesmüller K-H, Jungi TW, Ulmer AJ. Identification of full length bovine TLR1 and functional characterization of lipopeptide recognition by bovine TLR2/1 heterodimer. *Vet Res* 41:34; 2010.

Wiesing, Urban:

Wiesing U. (Hg) und Mitarbeit von Ach JS, Bormuth M, Marckmann G: Ethik in der Medizin. Ein Studienbuch (2., überarbeitete und erweiterte Auflage), Oktober 2004, Reclam Verlag.

Wiesing U: "Wer heilt hat Recht?" Über Pragmatik und Pluralität in der Medizin, Januar 2004, Schattauer Verlag

Wiesing U (in Verbindung mit Bockenheimer-Lucius G, Seidler E, Marckmann G): Diesseits von Hippokrates. 20 Jahre Beiträge zur Ethik in der Medizin. Gentner Verlag.

Herausgeber:

Interfakultäres Institut für Zellbiologie
- Abteilung Immunologie -
Universität Tübingen
Prof. Dr. Hans-Georg Rammensee
Auf der Morgenstelle 15
Tel.: 07071/29 87628
Fax.: 07071/29 5653
<http://cms.elchtools.de/>

Redaktion, Konzeption und Gestaltung:

Prof. Dr. Jürgen Frank
Forschungsmanagement
Interfakultäres Institut für Zellbiologie
- Abteilung Immunologie -
Auf der Morgenstelle 15
Tel.: 07071/29 77647
Fax.: 07071/29 5891
Email: juergen.frank@uni-tuebingen.de
<http://cms.elchtools.de/>

Druckerei Maier GmbH
Pfeiferstraße 11
72108 Rottenburg am Neckar
Tel.: 07472/9843-0
Fax: 07472/9843-30
<http://www.prima-maier.de/maier.htm>

© Copyright Interfakultäres Institut für Zellbiologie, Abteilung Immunologie - Alle Rechte vorbehalten
1. Auflage April 2010

