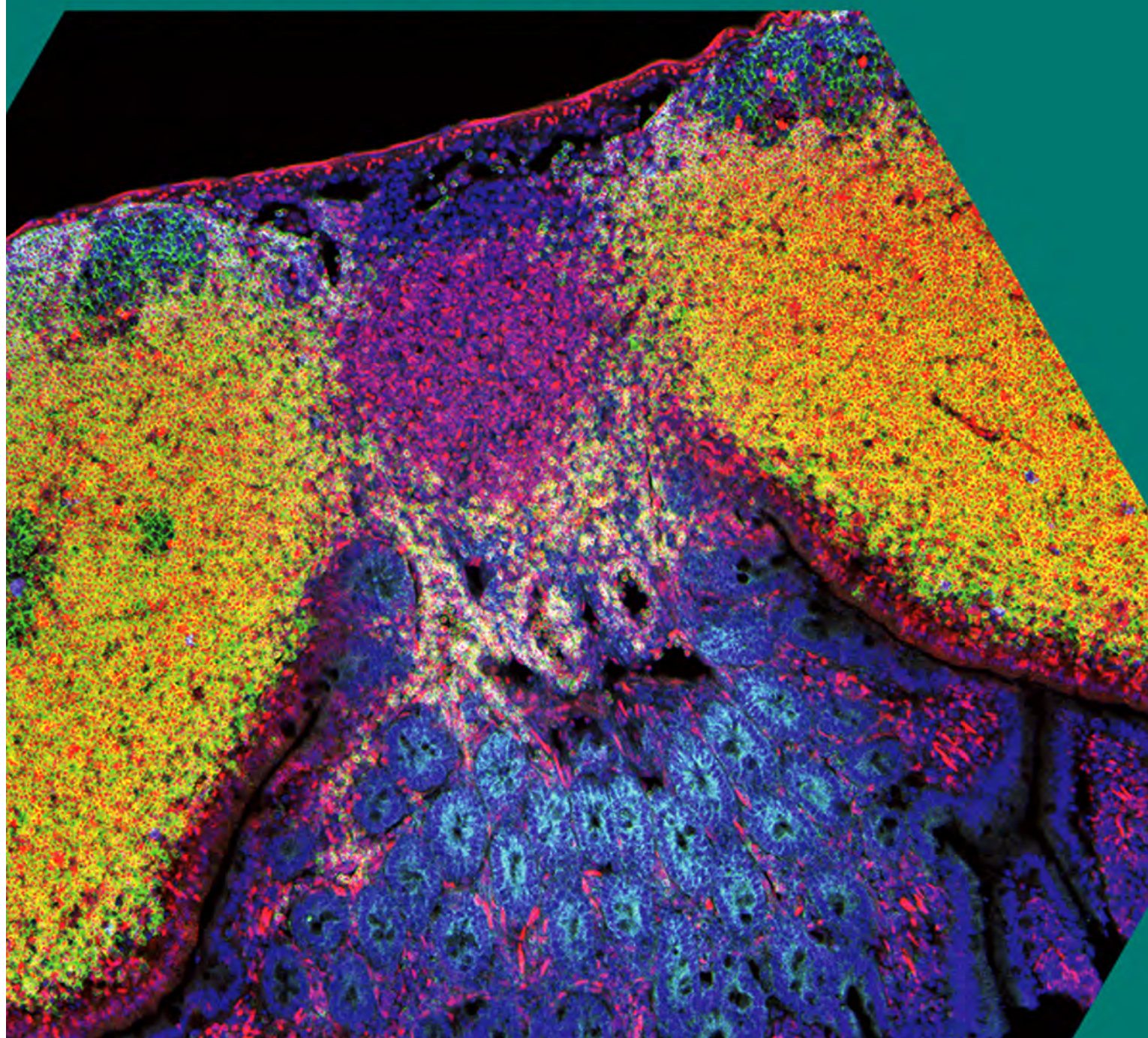


# Jahresbericht 2010|2011





# Jahresbericht 2010|2011



Eingangsbereich des DRFZ

## **Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin** **Ein Institut der Leibniz-Gemeinschaft**

Der vorliegende Jahresbericht beschreibt die Forschungsaktivitäten der Jahre 2010 und 2011. Autoren der Berichte sind die Wissenschaftler des Institutes und die kooperierenden Wissenschaftler der Berliner Universitäten und Forschungseinrichtungen, die am DRFZ in Liaisongruppen arbeiten. Projektberichte in englischer Sprache sind von ausländischen Wissenschaftlern verfasst.

# Inhaltsverzeichnis

## Einleitung

Inhaltsverzeichnis.....	2	Die Leibniz-Gemeinschaft .....	10
Grußwort, Traudl Herrhausen.....	5	Alumni und neue Gesichter am DRFZ .....	11
Grußwort, Gerd-Rüdiger Burmester.....	6	Verwaltung und technisches Personal .....	11
Vorwort, Andreas Radbruch, Petra Starke .....	7	Gremien des DRFZ .....	12
Das DRFZ - Daten und Fakten.....	8	Struktur des DRFZ .....	13

## Programmbereich 1: Pathophysiologie rheumatischer Entzündungen

### DRFZ-Gruppen

Baumgrass, Signaltransduktion.....	16
Berek, B-Zell Immunologie.....	22
Fillatreau, Immune Regulation .....	26
Hauser, Immodynamik.....	32
Nedospasow, Inflammation Biology.....	38
Niesner, Biophysikalische Analytik .....	44
Radbruch, Zellbiologie .....	50
Romagnani, Innate Immunity .....	58

### Liaisongruppen

Buttgereit, Glucokortikoide & Bioenergetik.....	64
Dörner, B-Zell-Gedächtnis .....	70
Esplugues, Neuroimmunology .....	76
Hamann, Experimentelle Rheumatologie.....	80
Hiepe, Autoimmunologie .....	86
Hutloff, Chronische Immunreaktion.....	92
Löhning, Experimentelle Immunologie .....	98
Riemekasten, Zell-Autoimmunität .....	106
Scheffold, Zelluläre Immunologie .....	110
Sieper, Spondyloarthritiden .....	112
Worm, Allergologie.....	120

## Programmbereich 2: Epidemiologie rheumatischer Erkrankungen

Listing, Biometrie / Klinische Studien .....	130	Westhoff, Prognosestudien & Frühkohorten .....	142
Minden, Kinder- und Jugendrheumatologie .....	134	Zink, Versorgungsforschung .....	146
Strangfeld, Pharmakoepidemiologie.....	138		

## Zentrale Labore und technische Einrichtungen

Bioinformatik.....	154	Regine von Ramin-Labor .....	164
Zentrallabor für Mikroskopie .....	158	Zentrallabor für Zytometrie & Zellsortierung.....	166
Immunmonitoring .....	160	Zentrallabor .....	168

## Anhang

Publikationen 2010 .....	172	Seminare am DRFZ 2010   2011.....	202
Publikationen 2011.....	177	Lehre 2010/11 - 2011/12 .....	204
Publikationen 2012 .....	183	Drittmittel-Projekte am DRFZ .....	206
Präsentationen auf Kongressen 2010 .....	185	Technologietransfer .....	209
Präsentationen auf Kongressen 2011 .....	191	Ausgewählte Veranstaltungen.....	210
Qualifikationen 2010   2011 .....	198	Impressum.....	212
Auszeichnungen 2010   2011 .....	199	Lageplan.....	213
Stipendien.....	201		

**Programmbereich 1**  
**Pathophysiologie**  
**rheumatischer**  
**Entzündungen -**  
**DRFZ-Gruppen**



Ria Baumgrass 16



Claudia Berek 22



Simon Fillatreau 26



Anja Hauser 32



Sergei Nedospasow 38



Raluca Niesner 44



Andreas Radbruch 50



Chiara Romagnani 58

**Programmbereich 1**  
**Pathophysiologie**  
**rheumatischer**  
**Entzündungen -**  
**Liaisongruppen**



Frank Buttgereit 64



Thomas Dörner 70



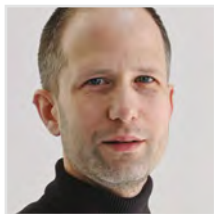
Enric Espluges 76



Alf Hamann 80



Falk Hiepe 86



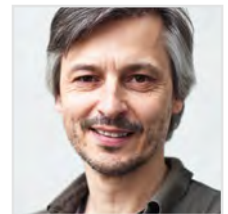
Andreas Hutloff 92



Max Löhnig 98



Gabriela Riemekasten 106



Alexander Scheffold 110



Joachim Sieper 112



Margitta Worm 120

**Programmbereich 2**  
**Epidemiologie**  
**rheumatischer**  
**Erkrankungen**



Joachim Listing 130



Kirsten Minden 134



Anja Strangfeld 138



Gisela Westhoff 142



Angela Zink 146







# Grußwort



Traudl Herrhausen  
Vorsitzende des Stiftungsrats

*Liebe Freunde des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums,*

als Vorsitzende des Stiftungsrates des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums Berlin ist es mir eine Freude und Ehre, Sie zu begrüßen und zur Lektüre des Jahresberichtes einzuladen.

Das DRFZ ist, wie Sie wissen, eine rechtsfähige Stiftung bürgerlichen Rechts mit dem Status der Gemeinnützigkeit, die Stifter sind das Land Berlin und die Immanuel-Krankenhaus GmbH, und seit Januar 2009 ist es Mitglied in der Wissenschaftsgemeinschaft Gottfried Wilhelm Leibniz e.V.

#### **Eine Stiftung hat Organe:**

Zwingend einen Vorstand, im Fall des DRFZ auch einen wissenschaftlichen Beirat und einen Stiftungsrat. Die „geborenen“ und gewählten Mitglieder des Stiftungsrats haben satzungsgemäß ähnliche Aufgaben wie der Aufsichtsrat eines Wirtschaftsunternehmens.

Aber wie ein Paukenschlag heißt es in § 10 (1) der Satzung „... der Stiftungsrat sichert den Erhalt der Qualität der Forschung...“.

#### **Dazu werden explizit folgende Aufgaben aufgezählt:**

- Berufung (und Abberufung) der Direktoren
- Zustimmung zu unbefristeter Beschäftigung von Mitarbeitern
- Bestellung der Mitglieder des Wissenschaftlichen Beirats.

Die Qualität der Forschung ist demnach eindeutig eine Funktion der Qualität der Forscher, deren Persönlichkeit, deren Charakter, deren Unabhängigkeit, deren Phantasie, deren Neugier. Forschung ist kein Beruf - Forschung ist eine Leidenschaft, hat mir neulich ein Forscher gesagt!

Diese ungewöhnlichen Menschen muss der Stiftungsrat aufspüren. Er muss für ein Umfeld sorgen, in dem diese Leidenschaft blühen und gedeihen kann, er muss ermutigen und vertrauen, anspornen und fragen, immer wieder fragen: Was macht Ihr hier?

Das ist ihm seit Gründung des Instituts gelungen – und davon zeugt auch der vorliegende Jahresbericht.

Das DRFZ ist ein junges schlankes Institut, für das herausragende Begabungen unbürokratisch und schnell angeheuert werden können, die in einem praktisch hierarchiefreien Umfeld arbeiten. Da kommen die Besten ihrer Zunft zusammen, und das nicht nur virtuell, sondern ganz real: Man läuft sich über den Weg auf dem Charitéplatz 1.

Wir Mitglieder des Stiftungsrates werden auch zukünftig dafür sorgen, einerseits außergewöhnliche Begabungen an das DRFZ zu bringen, andererseits aber auch Förderer, Freunde, Stifter, die sich mäzenatisch für das Institut engagieren wollen, zu begeistern, damit über die Finanzierung aus Steuermitteln und Drittmitteln hinaus der Freiraum des Instituts erweitert wird.

Dann erfüllen wir den Auftrag der Stifter. Dann bleibt das DRFZ auf einem guten Weg.

Ihre

Traudl Herrhausen



## Grußwort

Foto: Charité



Prof. Dr. med. Gerd R. Burmester  
Direktor der Medizinischen Klinik für Rheumatologie und  
Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

6

*Liebe Freunde des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums,*

als klinischer und wissenschaftlicher Partner des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums Berlin heiße ich die Leser des jährlichen Berichtes herzlich willkommen.

Rheumatische Erkrankungen umfassen muskulo-skelettale Krankheiten und systemische Autoimmunstörungen. Sie stellen eine massive Belastung der Gesellschaft dar und gehören zu den führenden Ursachen beim Verlust des Arbeitsplatzes und einer vorzeitigen Invalidität. Sie zählen ebenso zu den häufigsten drei Ursachen, warum Patienten einen Allgemein- oder Spezialisten aufsuchen. Trotz deutlicher Fortschritte in der Diagnose und der Behandlung von rheumatischen Erkrankungen, die z. B. zytokin-gerichtete Therapieansätze und eine zell-depletierende Therapie beinhalten, besteht dennoch ein hoher Bedarf, neue Behandlungsmethoden zu entwickeln. Die Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie der Charité in Verbindung mit der rheumatologischen Einheit am Campus Benjamin Franklin schließen sich hier mit dem DRFZ zusammen, um sich diesen Herausforderungen zu stellen. Diese Bemühungen beruhen auf einer sehr erfolgreichen Zusammenarbeit sowohl in der Klinik als auch dem Forschungslabor.

Was wissen wir über die gegenwärtige Situation von Menschen mit Arthritis und systemischen Autoimmunerkrankungen? Sehr viel Wissen ist in der epidemiologischen Einheit des DRFZ zusammengetragen worden, die neuartige und umfassende Studien durchführt sowie die nationale Kerndokumentation und das Biologika-Register, die zu den führenden rheumatologischen Datenbanken weltweit gehören. Sie erhalten Zuarbeit aus der Klinik, geben aber zudem wichtige Impulse zu weiterer klinischer Forschung, die auch selbst initiierte Therapiestudien einschließen. Hier wurden wichtige Ergebnisse auf dem Gebiet der rheumatoiden Arthritis und der Spondyloarthritis gewonnen.

Was ist der Wunsch von Menschen mit rheumatischen Erkrankungen? Natürlich in erster Linie Schmerzbekämpfung und Verhinderung von Funktionsverlust. Wenn man die Patienten genau befragt, so ist eine Heilung das letztendliche Ziel. Dieses ist jedoch, wie bei den meisten internistischen Erkrankungen, nur schwer zu erreichen. Ist es jedoch unmöglich? Die Wissenschaftler des DRFZ und der Charité strengen sich an, hier neue Wege aufzufinden, die das Immunsystem in seinen Ursprungsstand zurück versetzen, um eine Toleranz gegenüber körpereigenen Substanzen herzustellen, die irrtümlich vom Immunsystem als fremd erkannt werden. So stehen neuartige zellgerichtete Therapien im Vordergrund, die von der Stammzelltherapie bis hin zu mildereren Therapieverfahren reichen.

Was ist notwendig, um unsere Ziele in Zukunft zu erreichen? Natürlich ist weiterhin eine intensive Zusammenarbeit zwischen Grundlagenforschung und klinischer Forschung erforderlich. Hier kann die intensive Zusammenarbeit von Wissenschaftlern und Ärzten aus allen Bereichen der Rheumaforschung an der Charité und des DRFZ als ein hervorragendes Beispiel dienen. Leichter ist diese Zusammenarbeit durch die Einrichtung des neuen Labors der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinischer Immunologie direkt gegenüber dem Deutschen Rheumaforschungszentrum geworden. Zusammenfassend können diese Kollaborationen als ein Modell dienen, wie zukünftig bestmögliche Forschung zum Wohl des Patienten durchgeführt werden kann.

Ihr Gerd-Rüdiger Burmester

## Vorwort

Foto: G. Rothmann



Prof. Dr. rer. nat. Andreas Radbruch  
Wissenschaftlicher Direktor

Foto: G. Rothmann



Petra Starke  
Kaufmännische Direktorin

Zwei ereignisreiche Jahre liegen hinter uns. Dieser Bericht über die Entwicklung des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums Berlin (DRFZ), ein Leibniz Institut, gibt einen kleinen Überblick über die Jahre 2010 und 2011, aber vor allem soll er die Forschung am Institut vorstellen. Diese Forschung findet im engen Verbund mit den Kolleginnen und Kollegen der Charité statt, die sich mit muskuloskelettalen Erkrankungen und chronischen Entzündungen beschäftigen. Zahlreiche Liaisonforschungsgruppen werden gemeinsam von der Charité und dem DRFZ getragen. Andere Forschungsgruppen des DRFZ bearbeiten grundlegende Fragen der Rheumaepidemiologie und der Entzündungsbiologie. Moderne Technologien der Zellvermessung und Isolierung von einzelnen Zellen (Zytometrie und Zellsortierung), der Mikroskopie im lebenden Gewebe (Intravitalmikroskopie) und der Untersuchung der Genregulation (Systembiologie) werden von spezialisierten Arbeitsgruppen weiterentwickelt und den Forschern von DRFZ und Charité zur Verfügung gestellt.

Zentrales Anliegen der Forschung am DRFZ ist die Verbesserung der Behandlung von Patienten mit rheumatischen Erkrankungen, mit dem Ziel, Rheuma eines Tages heilen zu können. Die Forschung findet dabei auf zwei Ebenen statt. Der Programmbereich „Epidemiologie rheumatischer Erkrankungen“ untersucht die Qualität und Sicherheit von heute verfügbaren Therapien, die gesellschaftlichen Auswirkungen rheumatischer Erkrankungen und den Zusammenhang von Umweltfaktoren und Rheuma. Der Programmbereich „Pathophysiologie rheumatischer Entzündungen“ untersucht, wie das Immunsystem die chronische rheumatische Entzündung antreibt, um die Entzündung gezielt und dauerhaft stoppen zu können. Dazu wird auch ein grundlegendes Verständnis von Immunreaktionen, Immunologischem Gedächtnis und Immunregulation erarbeitet.

Die Finanzierung der Forschung am DRFZ erfolgt zu einem wesentlichen Teil über sogenannte „Drittmittel“, die im nationalen und internationalen Wettbewerb eingeworben werden. Das DRFZ ist hier überaus erfolgreich, so werden 8 von 10 Wissenschaftlern aus Drittmitteln bezahlt. Wir sehen das als Zeichen der Qualität der Forschung am DRFZ, ebenso wie die Annahme unserer Forschungsergebnisse zur Veröffentlichung in hochrangigen Fachzeitschriften. Eine wichtige Grundlage der Arbeit des DRFZ ist die Zugehörigkeit zur Leibniz-Gemeinschaft. Nach der Aufnahme im Jahr 2009 wurde das DRFZ im November 2011 erstmals vom Evaluationsausschuss der Leibniz-Gemeinschaft begutachtet, ein wichtiges Element der Qualitätssicherung. Wir sind stolz, dass die Gutachter dem DRFZ eine überzeugende Leistung bescheinigten. Wesentlich unterstützt hat diese Entwicklung Karola Hladky, in der Senatsverwaltung für Wissenschaft seit 17 Jahren zuständig für das DRFZ und stets seine tatkräftige Fürsprecherin. Ende 2011 verabschiedete sie sich in den Ruhestand. Ein ganz besonders herzliches Dankeschön vom DRFZ!

Herzlichen Dank an dieser Stelle auch den Mitgliedern des Wissenschaftlichen Beirates und des Stiftungsrates, deren ehrenamtliche Tätigkeit die positive Entwicklung des DRFZ erst möglich macht. 2010 verließ Elimar Brandt den Stiftungsrat, dem er von Anbeginn als Vertreter des Immanuel-Krankenhauses angehörte. 2011 verabschiedeten wir Professor Reinhard Kurth nach fast 10 Jahren als Präsident des Stiftungsrates. Als neue Präsidentin des Stiftungsrates begrüßen wir Traudl Herrhausen.

Und nun wünschen wir Ihnen viel Spaß beim Lesen und Blättern,

Andreas Radbruch

Petra Starke



# Das DRFZ - Daten und Fakten

Das DRFZ ist eine **Stiftung bürgerlichen Rechts** und wurde 1988 gegründet. Seit 2009 ist es **Mitglied der Leibniz-Gemeinschaft**.

Das DRFZ hält 3 gemeinsame **Stiftungsprofessuren** mit der Charité: Andreas Radbruch - Experimentelle Rheumatologie, Angela Zink - Rheumaepidemiologie, Falk Hiepe - Rheumatologie.



Posterpräsentation für den Wissenschaftlichen Beirat, 2011

Das DRFZ bildet gemeinsam mit der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie eines von 25 „**Center of Excellence in Rheumatology**“ der Europäischen Liga gegen Rheuma (EULAR). Zudem ist es eine zertifizierte **Ausbildungsstätte für Fachimmunologen** der Deutschen Gesellschaft für Immunologie (DGfI).

Im Jahr 2010 erhielt das DRFZ für die Dauer von 3 Jahren das **TOTAL E-QUALITY Prädikat** für vorbildlich an Chancengleichheit orientierte Personalpolitik. 65 % der Mitarbeiter sind Frauen.

Insgesamt arbeiten am DRFZ 171 **Mitarbeiter**, davon 54 auf Planstellen (Angaben mit Stand 12/2011, ohne Liaison-Gruppen). 20 % der Mitarbeiter kommen aus dem Ausland aus 21 Nationen.

Aktuell bildet das DRFZ im gewerblichen Bereich 2 Tierpfleger aus.

Das DRFZ ist an 5 **Graduiertenkollegs** beteiligt: ZIBI/GRK 1121, ZIBI/IMPRS-IDI, BSRT, IMMUCO (SFB 633) und am Robert Koch Doktorandenkolleg (RoKoDoKo).

Das DRFZ ist Zuschussempfänger der Senatsverwaltung für Wirtschaft, Technologie und Forschung des Landes Berlin und des Bundesministeriums für Bildung und Forschung, sowie Zuwendungsempfänger der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Europäischen Union und weiterer Einrichtungen.

## Drittmittel nach Herkunft

DRFZ-Gruppen	2010	2011
DFG	1.541,2	1.671,1
Bund /BMBF	942,6	1.152,0
Land	61,5	68,0
EU	240,2	204,2
Industrie	910,7	1.022,2
Stiftungen	53,5	89,8
Sonstiges	80,6	20,3
<b>Gesamt</b>	<b>3.830,3</b>	<b>4.227,7</b>

Stand: 31. März 2012

in T Euro

Liaisongruppen	2010	2011
DFG	1.643,7	1.536,3
Bund /BMBF	721,5	906,2
Land	0,0	0,0
EU	561,0	325,6
Industrie	2.961,8	2.940,7
Stiftungen	563,5	517,8
Sonstiges	0,0	60,0
<b>Gesamt</b>	<b>6.451,5</b>	<b>6.286,6</b>

Stand: 29. März 2012

in T Euro

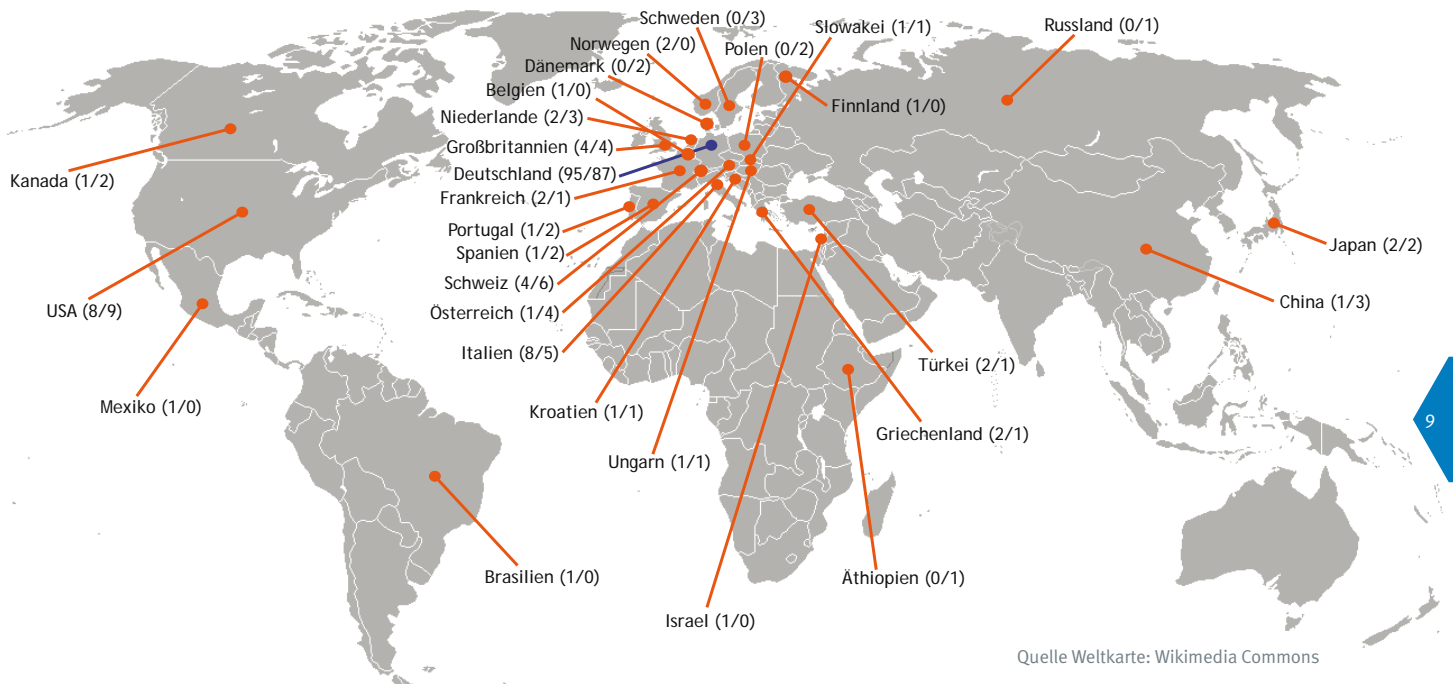


Posterpräsentation für den Wissenschaftlichen Beirat, 2011

## DRFZ-Beteiligung an Drittmittelprojekten und Verbänden

	2010	2011
DFG   SFB   SFB-TR	14   3   2	18   3   2
Bund /BMBF	11	19
EU	8	6
Advanced Grant ERC (EU)	0	1
DRFZ-Beteiligung an Exzellenzclustern	1 (NeuroCure)	1 (NeuroCure)

Übersicht der Länder, in denen DRFZ-Wissenschaftler auf Kongressen, Symposien oder Workshops ihre aktuelle wissenschaftliche Arbeit präsentierten (2010/2011).



## Publikationsleistungen

Publikationen im Detail	2010	2011
<b>Originalpublikationen<sup>1)</sup></b>	<b>132</b>	<b>140</b>
Erstautor	34	34
Letztautor	50	52
Koautor <sup>2)</sup>	73	79
Impact Factor >3	102	98
Impact Factor <3	27	40
<b>Übersichtsartikel (Reviews)<sup>3)</sup></b>	<b>46</b>	<b>29</b>
Erstautor	13	15
Letztautor	27	16
Koautor <sup>2)</sup>	13	7
Impact Factor >3	25	12
Impact Ffactor <3	21	17
<b>Bücher<sup>4)</sup></b>	<b>1</b>	<b>0</b>
Buchkapitel	9	5
<b>Weitere Publikationen<sup>5)</sup></b>	<b>18</b>	<b>25</b>
<b>Gesamt</b>	<b>206</b>	<b>199</b>

<sup>1)</sup> Begutachtete Artikel inkl. „Letters“ mit Originaldaten.

<sup>2)</sup> Koautoren: DRFZ Wissenschaftler und Liaisonsgruppen-Wissenschaftler, aber nicht Erst- oder Letztautoren.

<sup>3)</sup> Begutachtete und nicht begutachtete Artikel.

<sup>4)</sup> Herausgeber, Verfasser.

<sup>5)</sup> Inkl.: Editorials, Comments, Leserbriefe, Broschüren, Kongressberichte.

Kooperationsverteilung bei Publikationen	2010	2011
DRFZ Forschungsgruppen	11	6
DRFZ Forschungsgruppen & Charité	47	33
DRFZ Forschungsgruppen & Charité & externe Kollaborationen	109	118
DRFZ Forschungsgruppen & eine externe Kollaborationen	8	13
DRFZ Forschungsgruppen & mehrere externe Kollaborationen	29	27

Eingeladene Kongressvorträge	2010	2011
national	146	121
international	52	61
<b>Gesamt</b>	<b>198</b>	<b>182</b>
Poster, Abstracts, Kurzvorträge	2010	2011
national	40	40
international	81	70
<b>Gesamt</b>	<b>121</b>	<b>110</b>

Technologietransfer	2010	2011
Patentanmeldungen	11	13



## Wissenschaftliche Ausbildung

Qualifikation	2010	2011
Habilitation	0	0
Naturwissenschaftliche Doktorarbeit	8	11
Medizinische Doktorarbeit	5	5
Bachelor/Master/Diplomarbeiten	9	12

Lehre	2010		2011	
Lehrtätigkeit von DRFZ-Wissenschaftlern an Universitäten	SS	WS	SS	WS
	40	38	33	36



Vasiliki Lampropoulou nach ihrer Disputation

## Die Leibniz-Gemeinschaft



Sammlung für die Eröffnungsveranstaltung der Begutachtung im Foyer des Institutes. Alle Mitarbeiter des Hauses nahmen teil - die Architektur erlaubt hier auch eine Teilnahme auf den „Rängen“.

Mitglied der



Nach der Aufnahme in die Leibniz-Gemeinschaft im Jahr 2009 wurde das DRFZ am 10. und 11. November 2011 durch die Bewertungsgruppe des Referates für Evaluierung begutachtet. Die umfangreichen Maßnahmen für diese Begutachtung erforderten monatelange Sammlung und Auswertung diverser Institutsabläufe - am Ende haben wir überzeugt, so die vorläufige Bewertung der Gutachter. Mit dem endgültigen Ergebnis rechnen wir Mitte 2012.



Eröffnungsrede von Frau Traudl Herrhausen, Vorsitzende des Stiftungsrats

### Leibniz über Leibniz

Zur Leibniz-Gemeinschaft gehören 86 selbstständige Forschungseinrichtungen. Ihre Ausrichtung reicht von den Natur-, Ingenieur- und Umweltwissenschaften über die Wirtschafts- und Sozialwissenschaften bis zu den Geisteswissenschaften. Die Leibniz-Gemeinschaft setzt Schwerpunkte im Wissenstransfer in Richtung Politik, Wissenschaft, Wirtschaft und Öffentlichkeit. Ihre Einrichtungen unterliegen einem maßstabsetzenden transparenten und unabhängigen Begutachtungsverfahren. Jedes Leibniz-Institut ist in seiner gesamtstaatlichen Bedeutung anerkannt. Daher fördern Bund und Länder die Institute der Leibniz-Gemeinschaft gemeinsam.

## Alumni und neue Gesichter am DRFZ

### Diese Gruppenleiter verließen das DRFZ 2010



**Marc Ehlers**

Ruf auf eine W2-Professur an das Institut für Systemische Entzündungsforschung (ISEF) der Universität Lübeck, Oktober 2010



**Jens Geginat**

Wechselte zum „Istituto Nazionale di Genetica Molecolare“ (INGM), Mailand, Italien, seit Juli 2010



**Roland Lauster**

Leiter des Fachbereichs Med. Biotechnologie und Direktor des Inst. f. Biotechnologie der Technischen Universität Berlin, Oktober 2010

Foto: A. Sattler

### Neu: Gruppenleiter und Koordinatoren am DRFZ



**Alexander Scheffold**

Zelluläre Immunologie, Ruf auf eine W2-Professur an der Charité – Universitätsmedizin Berlin, seit Januar 2012 Liaison-Gruppe am DRFZ



**Katrin Moser**

Wissenschaftliche Koordinatorin mit Arbeitsschwerpunkt Technologietransfer, seit April 2011



**Eva-Juliane Kreiß**

Wissenschaftliche Koordinatorin mit Arbeitsschwerpunkt EU-Projekte, seit Mai 2011

## Verwaltung und technisches Personal

**Assistenz des Wissenschaftlichen**

**Direktors**

Christine Raulf  
Tanja Durez

**Assistenz der Kaufmännischen Direktorin**

Holger Schnurre

**Reisekostenstelle/Sekretariat**

Marion Nowak

**Personalstelle**

Angela Hahn

**Finanzbuchhaltung**

Brigitte Neuse (bis 11/2011)  
Elli Buchholz (bis 06/2012)  
Norbert Adametz  
Katrin Peter

**Drittmittelstelle**

Corinna Krüger  
Katharina Horn

**Einkauf**

Catja Wendt  
Anna Nowak (Studentin)

**Wissenschaftliche Koordinatorinnen**

Dr. Elke Luger, Leibniz-Beauftragte  
Dr. Eva-Juliane Kreiß, EU Projekte  
Dr. Katrin Moser, Technologietransfer

**Bibliothek**

Beate Löhr  
Hilmar Fünning

**Tierärzte**

Dr. med. vet. Kristina Ullmann  
Dr. med. vet. Anja Schulz

**Tierversorgung**

Maria Dobberstein  
Sabine Gruzcek  
Helmut Schäfer  
Manuela Ohde  
Auszubildende:  
Laura Prüfer  
Vivien Theißig

**Medienküche**

Birgit Füßel  
Angela Lindner  
Regina Schuck

**IT / EDV**

Falk Neumann  
Hilmar Frank  
Hilmar Fünning

**Öffentlichkeitsarbeit**

Jacqueline Hirscher  
Luise Fehlig (bis 10/2011)  
Studenten: Valentin Minchev,  
Vincent de Jong, Hinnerk Winck,  
Benedikt Lauer (ab 2/2012)

**Lager**

Carsten Tressin

**Empfang**

Lutz Hildebrandt

## Gremien des DRFZ

Bei der Stiftungsratssitzung im November 2011 verabschiedeten die Mitglieder die bisherige Vertreterin des Berliner Senates für Wissenschaft, Karola Hladky, ebenso wie Klaus Eichmann aus dem Stiftungsgremium. Neue Vorsitzende ist nun Traudl Herrhausen aus Bad Homburg. Neue Mitglieder des Stiftungsrats sind Erika Gromnica-Ihle, Elisabeth Märker-Hermann und Jörg Hacker. Als Vertreter der Immanuel-Krankenhaus GmbH löste Andreas Krause Elimar Brandt ab.



Stiftungsratssitzung, 17.11.2011. v.L.: A.Radbruch, T.Herrhausen, M.Burger, K.Eichmann, P.Starke, K.Hladky, R.Kurth, E.Gromnica-Ihle, E.Märker-Hermann, A.Krause

### Mitglieder des Stiftungsrates (Nov. 2011)

- Traudl Herrhausen**, Bad Homburg, Präsidentin  
**Prof. Dr. Andreas Krause**, Geschäftsführer der Immanuel-Krankenhaus GmbH, Berlin  
**Prof. Dr. Karl-Max Einhäupl**, Charité-Universitätsmedizin Berlin  
**Dr. Ute Rehwald**, Bundesministerium für Bildung und Forschung  
**Dr. Björn Maul**, Senatsverwaltung für Wirtschaft, Technologie und Forschung, Berlin  
**Hans-Karl Herr**, Karso Beteiligungen GmbH & Co KG, Berlin  
**Prof. Dr. Günter Stock**, Präsident der Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, Berlin  
**Prof. Dr. Josef Smolen**, Allgemeines Krankenhaus der Stadt Wien, Österreich  
**Prof. Dr. Max M. Burger**, Novartis International AG, Basel, Schweiz  
**Prof. Dr. Elisabeth Märker-Hermann**, Klinikdirektorin der Klinik Innere Medizin IV der Dr. Horst Schmidt Kliniken GmbH, Wiesbaden  
**Prof. Dr. Erika Gromnica-Ihle**, Präsidentin der Deutschen Rheuma-Liga  
**Prof. Dr. Jörg Hacker**, Präsident der Leopoldina

Der Wissenschaftliche Beirat besucht das DRFZ jährlich, um den Stiftungsrat und den Vorstand in wissenschaftlichen Fragen zu beraten. Ihm gehören international renommierte Wissenschaftler an.

### Mitglieder des Wissenschaftlichen Beirats

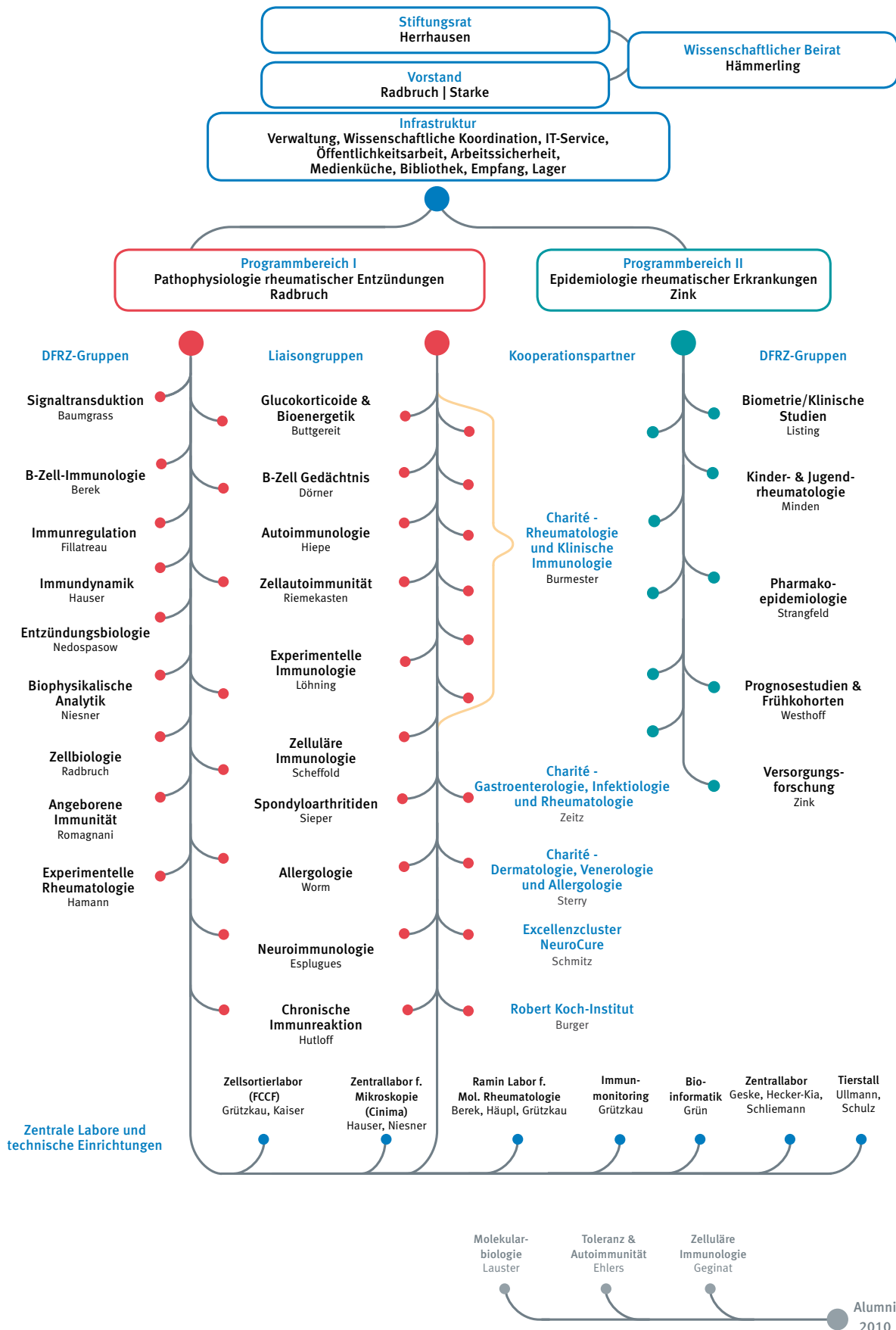
- Prof. Günter Hämmerling**, Abteilung Molekulare Immunologie, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg  
**Prof. Iain McInnes**, Institute of Infection, Immunity and Inflammation, University of Glasgow, UK  
**Prof. Lars Klareskog**, Dept. of Medicine, Karolinska Institute, Rheumatology Unit, Stockholm, Sweden  
**Prof. Michael S. Neuberger**, Laboratory of Molecular Biology, Medical Research Center (MRC), Cambridge, UK  
**Prof. Brigitta Stockinger**, Division of Molecular Immunology, MRC National Institute for Medical Research, London, UK  
**Prof. Deborah Symmons**, Professor of Rheumatology & Musculoskeletal Epidemiology, arc Epidemiology Unit, School of Translational Medicine, University of Manchester, UK  
**Prof. Andrea Vortkamp**, Dept. of Developmental Biology I, ZMB, Universität Duisburg-Essen



Begutachtung des DRFZ im Juni 2011. V.L.: G. Hämmerling, A. Vortkamp, B. Stockinger, I. McInnes, M. Neuberger, D. Symmons, L. Klareskog



# Struktur des DRFZ







Programmbereich 1

# Pathophysiologie Rheumatischer Entzündungen

Baumgrass, Signaltransduktion .....	16
Berek, B-Zell Immunologie.....	22
Fillatreau, Immune Regulation .....	26
Hauser, Immundynamik.....	32
Nedospasow, Inflammation Biology .....	38
Niesner, Biophysikalische Analytik .....	44
Radbruch, Zellbiologie .....	50
Romagnani, Innate Immunity .....	58
Buttgereit, Glucokortikoide & Bioenergetik.....	64
Dörner, B-Zell-Gedächtnis .....	70
Esplugues, Neuroimmunology .....	76
Hamann, Experimentelle Rheumatologie.....	80
Hiepe, Autoimmunologie .....	86
Hutloff, Chronische Immunreaktion.....	92
Löhning, Experimentelle Immunologie .....	98
Riemekasten, Zell-Autoimmunität.....	106
Scheffold, Zelluläre Immunologie .....	110
Sieper, Spondyloarthritis .....	112
Worm, Allergologie.....	120



PD Dr. habil.  
Ria Baumgrass

## Signaltransduktion

### Signalübertragung in T-Lymphozyten

#### STICHWORTE

Transkriptionelle Regulation,  
Zytokine, T Zelle,  
T-Zell-Rezeptor-Signalübertragung,  
Treg-Zell-Differenzierung

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
PD Dr. habil. Ria Baumgrass

Wissenschaftler  
Dr. Tobias Scheel,  
Dr. Astrid Menning

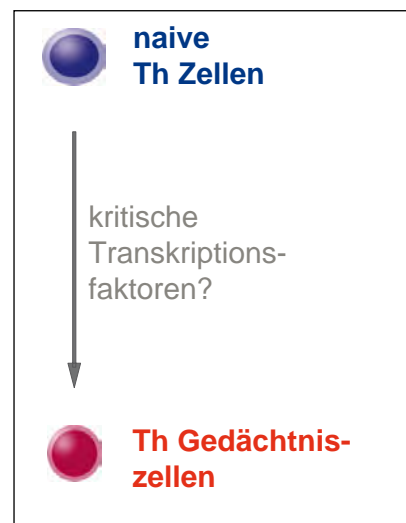
Doktoranden  
Anna Abajyan,  
Hanna Bendfeldt,  
Claudia Brandt,  
Stefan Frischbutter,  
Christian Gabriel,  
Manja Jargosch,  
Stefan Kröger,  
Melanie Krüger,  
Matthias Sieber

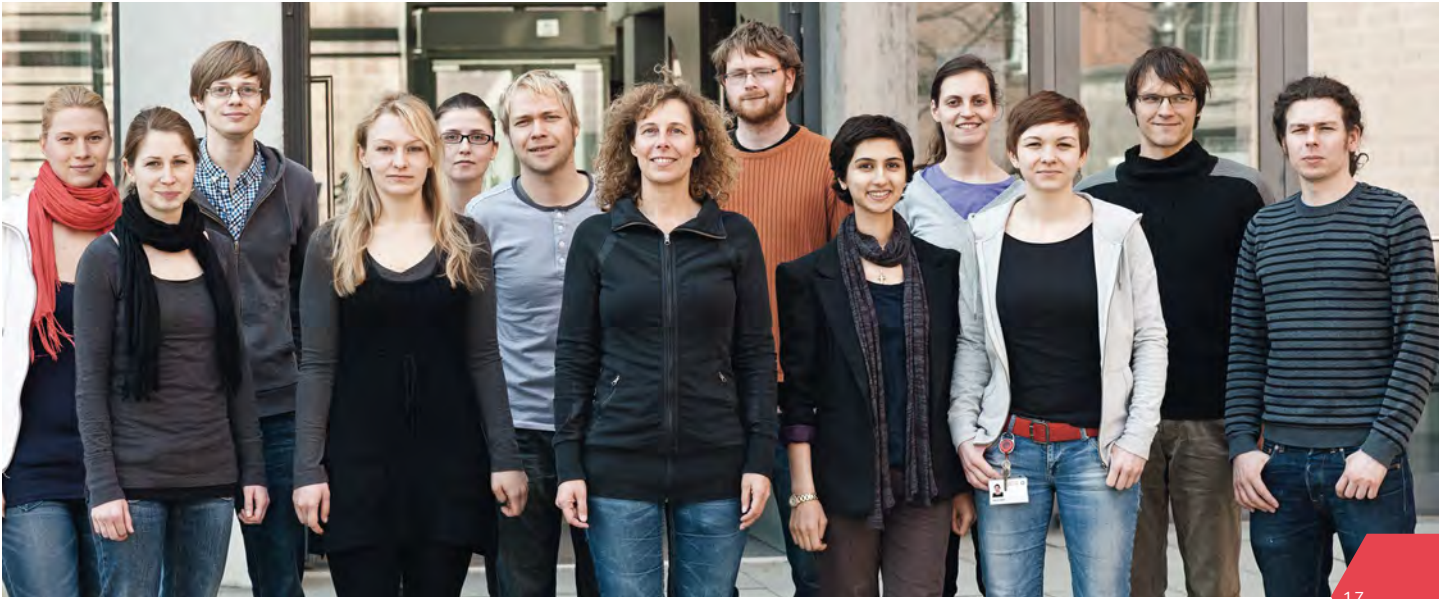
Diplomanden/Master Studenten  
Lina Burbat,  
Katharina Hecklau,  
Martin Karl, Joan Röhl,  
Claudia Schlundt,  
Katherine Sturm

Bachelor Studenten  
Theresa Bartossek,  
Enrico Fritsche,  
Maria Jäpel, Ivan Keel,  
Fanny Wegener

Die AG hat in den vergangenen Jahren grundlegende Erkenntnisse zur Regulation der T-Helfer(Th)-Zell-Aktivierung und -Differenzierung gewonnen. Teilweise konnten diese bereits in Behandlungsstrategien von Neurodermitis (Atopische Dermatitis)-Patienten einfließen. Dafür haben wir mit Hilfe biochemischer, zellbiologischer und globaler Methoden untersucht, wie die Aktivierungs- und Differenzierungssignale für humane und murine Th-Zellen intrazellulär weitergeleitet und prozessiert werden, wie sie integriert und vernetzt werden, wie analoge Signale in binäre intrazelluläre Entscheidungsprozesse umgewandelt und wie die Differenzierungsprozesse naiver Th-Zellen in Effektor- versus Regulatorzellen gesteuert werden. Dabei standen und stehen die Identifikation, Charakterisierung und Manipulation von kritischen Transkriptionsfaktoren im Mittelpunkt des Interesses.

Ziel ist es, entscheidende Schaltstellen in Th-Zellen therapeutisch so zu manipulieren, dass hyperreaktive Th-Zellen nicht nur gedämpft, sondern auch moduliert werden (z.B. Deletion, Th-Zell-Konversion oder Treg-Zell-Induktion), um chronische Entzündungen abzuschwächen oder zu beenden.





#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Christian Becker, Universität Mainz

Wei Chen, Andreas Gogol-Döring, Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin, Berlin

Gunter Fischer, Max-Planck-Forschungsstelle für Enzymologie der Proteinfaltung, Halle

Hanspeter Herzel, Manuela Benary, Humboldt-Universität, Institut für Theoretische Biologie, Berlin

Jochen Hühn, HZI, Braunschweig

Stephan König, Martin-Luther Universität, Halle

Ulf Leser, Humboldt-Universität, Institut für Informatik, Berlin

Michael Pätzelt, Humboldt-Universität, Strukturanalyse, Berlin

Edgar Serfling, Friederike Berberich-Siebelt, Universität Würzburg, Pathologie, Würzburg

Kerstin Steinbrink, Gutenberg-Universität Mainz, Hautklinik der Universität Mainz

Margitta Worm, Alf Hamann, Petra Reinke, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Angelika Schmidt, Nina Oberle, DKFZ, Heidelberg

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Baumgrass, R., C. Brandt, F. Wegner, M. Abdollahnia, and M. Worm. 2010. Low-dose, but not high-dose, cyclosporin A promotes regulatory T-cell induction, expansion, or both. *J Allergy Clin Immunol* 126:183-184.

2. Brandt, C., P. Liman, H. Bendfeldt, K. Mueller, P. Reinke, A. Radbruch, M. Worm, and R. Baumgrass. 2010. Whole blood flow cytometric measurement of NFATc1 and IL-2 expression to analyze cyclosporine A-mediated effects in T cells. *Cytometry A* 77:607-613.

3. Lee, Y.H., M. Benary, R. Baumgrass, and H. Herzel. 2010. Prediction of regulatory transcription factors in T helper cell differentiation and maintenance. *Genome Inform* 22:84-94.

4. Frischbutter, S., C. Gabriel, H. Bendfeldt, A. Radbruch, and R. Baumgrass. 2011. Dephosphorylation of Bcl-10 by calcineurin is essential for canonical NF-kappaB activation in Th cells. *Eur J Immunol* 41:2349-2357.

5. Bendfeldt, H., M. Benary, T. Scheel, S. Frischbutter, A. Abajyan, A. Radbruch, H. Herzel, and R. Baumgrass. 2012. Stable IL-2 decision making by endogenous c-fos amounts in peripheral memory Th cells. *J Biol Chem.* epub.



## WISSENSCHAFTLER

S. Frischbutter  
C. Gabriel  
R. Baumgrass

## PUBLIKATIONEN

Frischbutter, S., C. Gabriel, H. Bendfeldt, A. Radbruch, and R. Baumgrass. 2011. Dephosphorylation of Bcl-10 by calcineurin is essential for canonical NF-kappaB activation in Th cells. *Eur J Immunol* 41:2349-2357

Geldmeyer-Hilt, K., G. Heine, B. Hartmann, R. Baumgrass, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. 1,25-dihydroxyvitamin D3 impairs NF-kappaB activation in human naive B cells. *Biochem Biophys Res Commun* 407:699-702

## DRITTMITTEL

Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB/TR52)  
Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) innerhalb des FORSYS-Partner-Programms

## Die Abspaltung einer Phosphatgruppe am Adapterprotein Bcl-10 durch Calcineurin aktiviert den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B in T-Helferzellen

Trifft während einer Immunreaktion im menschlichen Körper ein Antigen auf eine T-Helferzelle, setzt sich eine Kaskade verschiedenster Reaktionen in Gang. Als entscheidendes Signal wird letztendlich ein Netzwerk von Transkriptionsfaktoren aktiv. NFATc2 und NF- $\kappa$ B p65 gehören dazu. Sie steuern viele verschiedene Funktionen von T-Zellen: um zum Beispiel Zytokine zu produzieren, sich zu differenzieren oder sich zu vermehren. Die Serin-Threonin-Phosphatase Calcineurin aktiviert nicht nur den Transkriptionsfaktor NFATc2, sondern auch NF- $\kappa$ B p65. Während dieser Aktivierungskaskade interagieren Calcineurin, das Adapterprotein Bcl-10 und das Gerüstprotein MALT1 miteinander. Schließlich dephosphoryliert Calcineurin das Bcl-10 und initiiert so die Aktivierung von NF- $\kappa$ B p65.

### Calcineurin aktiviert NF- $\kappa$ B p65

Aktivieren Antigene bei einer Immunstimulation T-Zell-Rezeptoren, werden nachfolgend unter anderem die Transkriptionsfaktoren NFATc2 und NF- $\kappa$ B p65 aktiv. Diese steuern die weitere Bestimmung der Zelle. NFATc2 wird aktiv, sobald es durch die Phosphatase Calcineurin dephosphoryliert wird, also eine Phosphatgruppe verliert. NF- $\kappa$ B p65 dagegen wird aktiv, indem es phosphoryliert wird. Auch dabei spielt Calcineurin eine Rolle.

### Calcineurin spaltet am Adapterprotein Bcl-10 eine Phosphatgruppe ab

Um die Rolle von Calcineurin in diesem Prozess genauer zu untersuchen, wurde es mit dem Immunsuppressivum Cyclosporin A inaktiviert. Die Phosphorylierung des Bcl-10-Proteins war dann stabiler (Abbildung 1). Durch Immunpräzipitation zeigte sich, dass Calcineurin mit dem Adapterprotein Bcl-10 und dem Gerüstprotein MALT-1 in Wechselwirkung tritt. An Position 138 der Aminosäure Serin im Protein Bcl-10 spaltet Calcineurin eine Phosphatgruppe ab (Abbildung 1B). Es deutet vieles darauf hin, dass für die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B p65 genau der Punkt innerhalb der Signalkaskade entscheidend ist, an dem die Phosphatase Calcineurin aktiv wird und die frühe Phosphorylierung von Bcl-10 rückgängig macht.

### Ausblick

Die Wechselwirkungen zwischen Calcineurin, MALT1 und Bcl-10 sind entscheidend, um T-Zellen zu aktivieren. Methodische Ansätze wie quantitative Massenspektrometrie und der Einsatz von stabilen Isotopen in Zellkulturen (SILAC) können Aufschluss darüber geben, wie genau die Komponenten zusammenspielen und ob eventuell weitere beteiligt sind. Wir hoffen dadurch, neue Ansatzpunkte zu finden, wie die verstärkte T-Zellaktivität bei Autoimmunerkrankungen verhindert werden kann.

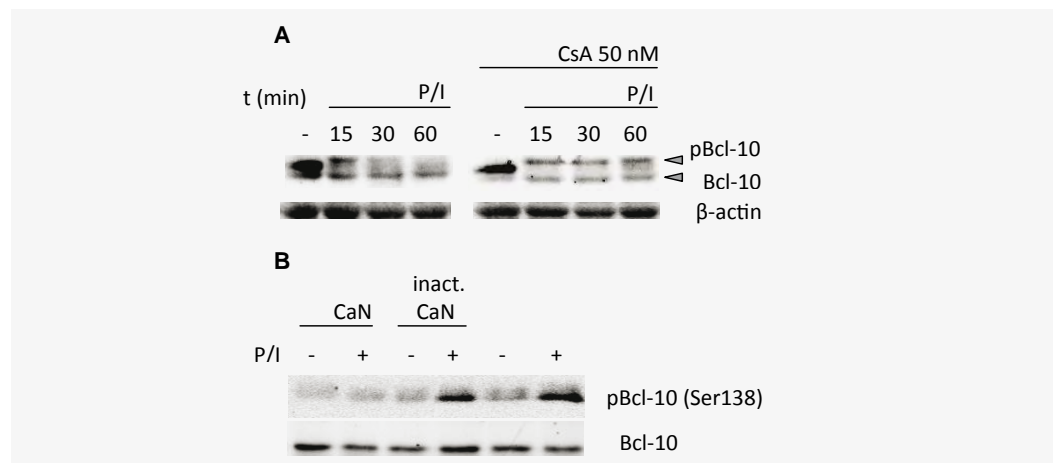


Abbildung 1: A: Menschliche CD4<sup>+</sup> Zellen wurden mit PMA/Ionomycin stimuliert, nachdem sie vorher mit oder ohne Cyclosporin A behandelt wurden. Cyclosporin A verlängert die Phosphorylierung von Bcl-10.

B: Calcineurin setzt das Substrat Bcl-10 um. Rekombinantes, aber durch Hitze nicht inaktiviertes Calcineurin verhindert, dass die Aminosäure Serin an Position 138 phosphoryliert wird, nachdem die Proben mit PMA/Ionomycin stimuliert wurden.

## Expression und Aktivierung von Transkriptionsfaktoren in Th-Zellen

Die Regulierung der Expression von Interleukin-2 (IL-2) in T-Helferzellen spielt eine zentrale Rolle für ein intaktes Immunsystem. T-Zell-Rezeptor-abhängige Transkriptionsfaktoren wie NFATc2, NF-κB und AP-1 sind in diese Regulierung involviert. Ob sich die Expressionshöhe und die Aktivierbarkeit dieser Transkriptionsfaktoren (TF) zwischen IL-2 produzierenden und nicht-produzierenden Zellen unterscheidet, ist unbekannt.

Wir haben auf Ebene einzelner T-Helfer-Gedächtniszellen bzw. ihrer Zellkerne untersucht, inwieweit Transkriptionsfaktoren die Produktion von IL-2 beeinflussen. Dazu nutzten wir Durchflusszytometrie, mathematische Analysen und Modellierungen. NFATc2 und c-Fos fanden sich in solchen T-Zellen höher konzentriert, die IL-2 produzieren. Geringe Konzentrationen an NFATc2 und c-Fos limitieren also die IL-2 Produktion. Für NF-κB und c-Jun gilt das nicht.

### Schlüsselrolle von Interleukin-2

T-Helferzellen produzieren kurz nach dem Kontakt mit einem Antigen den Wachstumsfaktor Interleukin-2 (IL-2). Dieses Signal führt zu gegensätzlichen Reaktionen im Immunsystem: Es sichert sowohl eine angemessene Immunantwort als auch die periphere Toleranz. Zum einen koordiniert IL-2, dass Th-Zellen differenzieren und expandieren. Zum anderen fördert es die Bildung und den Erhalt von regulatorischen T-Zellen und verhindert die Ausbildung von Th17-Zellen. Diese Feinabstimmung der Immunantwort durch IL-2 ist immens wichtig.

### Höhere Konzentration von NFATc2 und c-Fos in IL-2 produzierenden Gedächtnis-Th-Zellen

Sobald die Transkriptionsfaktoren NFATc2, NF-κB und AP-1 (ein Dimer aus c-Fos und c-Jun) als Antwort auf eine T-Zell-Stimulation aktiv sind, koordinieren sie die Bildung von IL-2. In 10 bis 50 Prozent der stimulierten Zellen entsteht jedoch kein IL-2. Vermutlich gibt es einen Schwellenwert für die Konzentration der Transkriptionsfaktoren innerhalb der Zelle, der darüber entscheidet, ob IL-2 entsteht oder nicht.

Wir haben mittels Durchflusszytometrie die Konzentrationsunterschiede der Transkriptionsfaktoren in IL-2 produzierenden und nichtproduzierenden Gedächtniszellen gemessen. NFATc2 und c-fos, nicht aber NF-κB und c-jun, sind in IL-2 produzierenden Gedächtnis-Th-Zellen höher konzentriert.

Die Transkriptionsfaktorermenge in den T-Helfer-Gedächtniszell-Populationen von 9 gesunden Probanden wurde in 11 Bereiche geteilt. In diesen Bereichen wurde der jeweilige Anteil an IL-2 Produzenten ermittelt (Abbildung 1). Sind NFATc2 und c-Fos sehr gering konzentriert, so bilden nur wenige Zellen IL-2. Die Konzentrationen von NF-κB und c-Jun spielen dagegen keine Rolle, denn die Menge der IL-2 produzierenden Zellen ist über alle Bereiche gleich verteilt. Variiert die Expression von c-Fos im physiologischen Bereich, so kann dies also zu einer substanzialen Diversität in der IL-2 Produktion führen. Gleiches gilt für NFATc2, nur in geringerem Ausmaß.

### c-fos Expressionsmengen bestimmen die IL-2 Produktion in einer ultrasensitiven Weise

Für c-Fos wurde dieser Zusammenhang mit dem Inhibitor U0126 überprüft, der die Proteinkinase MEK1/2 hemmt und somit die Neusynthese von c-Fos verhindert. Die dadurch geringere Konzentration von c-Fos hat einen direkten Effekt auf die Anzahl der IL-2 produzierenden Zellen. Sinkt die c-Fos Konzentration innerhalb einer Zelle unter einen Schwellenwert, entsteht kein IL-2. NF-κB und c-Jun sind keine limitierenden Faktoren.

### Ausblick

Mit den hier gewonnenen Erkenntnissen über Transkriptionsfaktorermengen und -verhältnisse soll ein mathematisches Modell entwickelt werden. Es soll mit Daten von Patienten mit der schweren Autoimmunerkrankung SLE (Systemischer Lupus Erythematoses) überprüft werden. Bei ihnen wird IL-2 nur vermindert gebildet. Expressionsprofile solcher Zellen können somit unser Modell vervollständigen.

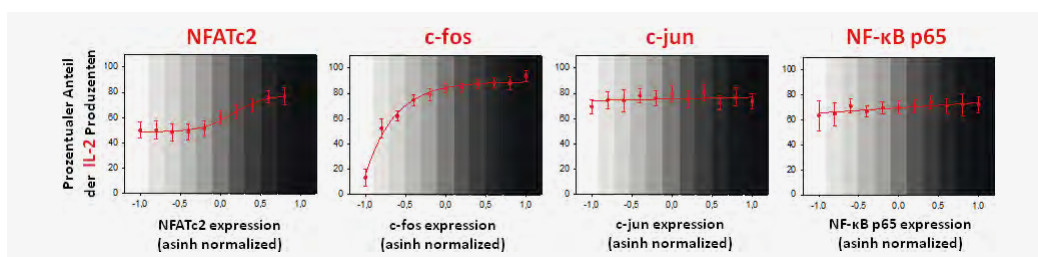


Abbildung 1: Die Mengen an NFATc2 und c-Fos, nicht aber an NF-κBp65 und c-Jun, limitieren in einer Th-Gedächtniszelle die IL-2 Bildung. Die Menge der Transkriptionsfaktoren innerhalb der Population der Th-Gedächtniszellen von 9 Spendern wurde in 11 Bereiche eingeteilt (Graustufen). Für jeden Bereich wurde der Anteil an IL-2 Produzenten ermittelt.

### WISSENSCHAFTLER

T. Scheel, H. Bendfeldt, A. Abajyan, L. Burtat, R. Baumgrass

### KOOPERATIONSPARTNER

M. Benary, H. Herzel, Institut für Theoretische Biologie, Humboldt Universität, Berlin

G. Drozdenko, M. Worm, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité-Universitätsmedizin, Berlin

G. Riemekasten, Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und klinische Immunologie, Charité-Universitätsmedizin, Berlin

T. Bopp, Institut für Immunologie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

C. Becker, Department of Dermatology, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

A. Valleriani, Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Abt. Theorie und Bio-Systeme, Potsdam

T. Kaiser, DRFZ, Flow Cytometry & Cell Sorting Core Facility, Berlin

F. Fuhrmann, A. Hutloff, DRFZ, Abt. Chronic Immune Reactions, Berlin

### PUBLIKATIONEN

Benary, M., H. Bendfeldt, R. Baumgrass, und H. Herzel. 2008. Modeling IL-2 gene expression in human regulatory T cells. *Genome Inform* 20:222-230.

Klein, M., M. Vaeth, T. Scheel, S. Grabbe, R. Baumgrass, F. Berberich-Siebelt, T. Bopp, E. Schmitt, and C. Becker. 2012. Repression of Cyclic Adenosine Monophosphate Upregulation Disarms and Expands Human Regulatory T Cells. *J Immunol* 188: 1091-1097.

Bendfeldt, H., M. Benary, T. Scheel, S. Frischbutter, A. Abajyan, A. Radbruch, H. Herzel, and R. Baumgrass. 2012. Stable IL-2 decision making by endogenous c-fos amounts in peripheral memory Th cells. *J Biol Chem.* epub.

### DRITTMITTEL

DFG, Transregio52  
BMBF, FORSYS-Partner Berlin

■  
WISSENSCHAFTLER

S. Kröger  
I. Kel  
R. Baumgrass

■  
KOOPERATIONSPARTNER

U. Leser, Wissensmanagement in der Bioinformatik, Institut für Informatik, Humboldt-Universität zu Berlin

■  
REFERENZEN

1. Eric W. Sayers, Tanya Barrett, Dennis A. Benson, et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucl. Acids Res. (2010) 38(suppl 1): D5-D16 first published online November 12, 2009 doi:10.1093/nar/gkp967

2. T. Barrett, D. B. Troup, S. E. Wilhite, P. Ledoux, et al. NCBI GEO: mining tens of millions of expression profiles—database and tools update. 35(suppl 1): D760-D765 first published online November 11, 2006 doi:10.1093/nar/gkl887

■  
DRITTMITTEL

BMBF  
FORSYS Partner Initiative Berlin

## Entwicklung eines Datenmanagementsystems für die FORSYS-Partner-Initiative Berlin

**Systembiologische Forschungsansätze liefern unzählige Datensätze und Ergebnisse. Diese gilt es zu sichern, zu systematisieren und für alle beteiligten Partner und Wissenschaftler jederzeit webbasiert verfügbar zu machen. Das von uns entwickelte Datenmanagementsystem (DMS) wird diesen Anforderungen gerecht und steht nun innerhalb der FORSYS-Partner-Initiative Berlin zur Verfügung.**

### Daten sichern, bündeln und für alle nutzbar machen

Systembiologische Forschungsansätze liefern neue, detaillierte Erkenntnisse über fundamentale biochemische Prozesse und Zusammenhänge. Die dafür angewendeten unterschiedlichen globalen Messmethoden im Hochdurchsatzverfahren liefern eine extreme Datenmenge. Mit einem DMS können Daten sowohl systematisch und dauerhaft gesichert als auch jederzeit ortsunabhängig wieder abgerufen werden. Jeder beteiligte Wissenschaftler und Projektpartner hat so jederzeit direkten Zugriff auf alle Daten. Das von uns entwickelte DMS unterstützt diesen Informationsfluss zwischen verschiedensten wissenschaftlichen Disziplinen der FORSYS-Partner-Initiative Berlin und fördert die Kooperation zwischen experimentellen und theoretischen Arbeitsgruppen. Unser DMS sieht ebenso die Wartung und Erweiterung der elektronischen Datenbank vor.

### Das System soll flexibel und erweiterbar sein

Als Grundlage für das DMS haben wir freie und quell-offene Software verwendet. Der Nutzer kann Daten aus verschiedenen Perspektiven betrachten. Unser Datenbankschema unterstützt den Zugriff auf verschiedene Entitäten und ihre Relation. Das klare „value centered“-Design der Web-oberfläche vereinfacht es dem Nutzer, weitere Datentypen und unterschiedliche Experimentansätze hinzuzufügen. In der Datenbank werden die Werte durch weitere Eigenschaften beschrieben, so dass einem Wert so viele Informationen wie möglich zugeordnet sind. Beschreibende Eigenschaften können z.B. die Art eines Wertes (Wahrscheinlichkeit, Signifikanz, Änderungsgrad, durchschnittliche Fluoreszenzintensität, Peakhöhe), das einzelne Experiment oder die verwendete Methode (z.B. Mikroarray, FACS, ChIP-seq) sein. Auch entsprechende Gen- oder Transkriptbezeichnungen, der Zelltyp, die Spezies und besondere experimentelle Bedingungen (z.B. Art der Stimulation) sind weitere

beschreibende Details. Die Integration von zusätzlichen Informationen aus externen Quellen wie Entrez Gene oder Pubmed ist ebenfalls Bestandteil des Systems.

Der Nachteil eines solchen flexiblen Datenbankschemas ist, dass die Daten aufwändig prozessiert werden müssen, um sie abzubilden. Bei der Eingabe einer neuen Art von experimentellen Daten ist ein neues Skript erforderlich. Bereits erstellte Skripte stehen zwar mittels einer Bibliothek zur Verfügung, trotzdem ist eine automatisierte, zeitsparende Lösung anzustreben.

Derzeit umfasst die Datenbank fünfzehn verschiedene Experimente aus Projekten der FORSYS-Partner-Initiative und aus öffentlich zugänglichen Quellen. Mehr als eine Million Werte zu verschiedenen Genen von Maus und Mensch sind gespeichert. Die Nutzer unseres DMS können auch auf die Rohdaten der Experimente zurückgreifen. So kann das System auch als Datenaustauschplattform zum Up- und Download dienen. Außerdem werden abgelegte Daten durch kontrollierte Zugriffsrechte geschützt.

### Potential und Perspektiven

Das DMS soll in Zukunft durch neue Versionen aktualisiert und verbessert werden. Der Hauptfokus liegt dabei auf Werkzeugen, um Werte schneller in das System einzupflegen, Daten besser darzustellen und auszuwerten. Auch Abbildungen und Diagramme von Experimenten sollen in das System einfließen.

FORSYSdbi - http://forsys.drzf.de/dbi/ - Windows Internet Explorer  
 http://forsys.drzf.de/dbi/index.php?table\_name=Experiment

File Edit View Favorites Tools Help

Web Slice Gallery

GMX - E-Mail, FreeMail, T... FCCF Cell Analyser & FAC... FORSYSdbi - http://fors... X

**FORSYS Partner Initiative Berlin**  
 - data management interface -

[Home](#) | [Insert](#) | [Search](#) | [Last search results](#) | [Show all](#) | [Logout](#) | [Top](#)

**20 records found** (Total records:20) Page 1 of 2 1 2

Experiment	Author(s)	ID	Method	Keywords	Species	PMID (link)	Date
Cell Experiment Gene Gene categories Gene chip types/ microarrays Probeset information table Gene region Method Integrated Oligos Species Stimulation / stimulation time Transcripts Values Types of values Upload form	Scheel T, Baumgrass R	23	flow cytometry (facs)	FACS, flow cytometry, CD4+, T cells, TF, TF costaining, PMA/IONO, Buffy	Homo sapiens		21 Apr 2011
stim, TF costaining - FACS staining CD45RA, NFAT, c-fos, c-jun, p65	Scheel T, Baumgrass R	20	flow cytometry (facs)	FACS, flow cytometry, CD4+, T cells, TF, TF costaining, PMA/IONO, Buffy	Homo sapiens		7 Apr 2011
0h, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 7.5h, 10h, 14h, 24h PMA/IONO stim, TF costaining IV - FACS staining CD45RA, NFAT, c-fos, c-jun, p65, IL-2, IFNg, TNFa	Scheel T, Baumgrass R	57	flow cytometry (facs)	FACS, flow cytometry, CD4+, T cells, TF, TF costaining, PMA/IONO, Buffy	Homo sapiens		10 Jun 2011
0h, 5h PMA/IONO stim, U0126 Titration VI - FACS staining CD45RA, CD45RO, NFAT, c-fos, c-jun, p65, IL-2, IFNg, CD40L	Scheel T, Baumgrass R	21	flow cytometry (facs)	FACS, flow cytometry, CD4+, T cells, TF, PMA/IONO, Buffy, Cytokines, U0126 Inhibition, Inhibitor	Homo sapiens		28 Jan 2011
0h,5h PMA/IONO stim, TF costaining - FACS staining CD45RA, NFAT, c-fos, c-jun, p65, IL-2, IFNg, CD40L	Scheel T, Baumgrass R	19	flow cytometry (facs)	FACS, flow cytometry, CD4+, T cells, TF, TF costaining, PMA/IONO, Buffy, Cytokines	Homo sapiens		18 Feb 2011

Datenbanksystem - schematischer Aufbau





PD Dr. rer. nat.  
Claudia Berek

## B-Zell Immunologie

### Analyse der Immunantwort bei Autoimmunerkrankungen

#### STICHWORTE

Rheumatoide Arthritis  
Keimzentrumsreaktion  
Plasmazellüberlebensnische  
Eosinophile  
Immunantwort im Darm

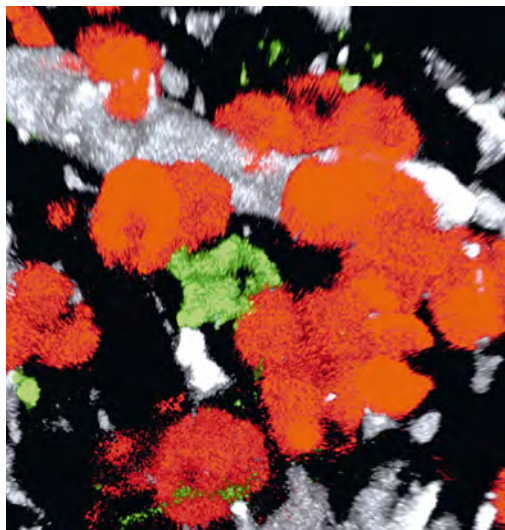
#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
PD Dr. Claudia Berek

Doktoranden  
Chu Van Trung  
Aleksandr Beller  
Thi To Nga Nguyen

Technische Assistenz  
Gudrun Steinhauser

Das immunologische Gedächtnis ist nicht nur für die erfolgreiche Abwehr von Krankheitserregern und die Möglichkeit gegen Krankheiten zu impfen essentiell. Es ist auch für unerwünschte Konsequenzen wie den anhaltenden Kampf gegen fälschlich als fremd eingestufte Körperstrukturen bei Autoimmunerkrankungen, z.B. bei entzündlichem Rheuma, verantwortlich. Daher wird es intensiv erforscht. Stromazellen des Knochenmarks bilden die Überlebensnische für Gedächtnis-Plasmazellen. Das Knochenmark ist somit quasi das „Haus des immunologischen Gedächtnisses“. Es bildet das schützende und nährnde Umfeld in dem die Gedächtniszellen für viele Jahre überleben und fortgesetzt Antikörper gegen als feindlich eingestufte Strukturen bilden.



Im Netzwerk der retikulären Stromazellen (weiß) findet man die Plasmazellen (grün) in enger Nachbarschaft zu Eosinophilen (rot)

Unsere Arbeit zeigt, dass es hauptsächlich Eosinophile sind, die Plasmazellen mit Überlebensfaktoren versorgen. Wir finden die langlebigen Plasmazellen eingebettet in eine Art von Nest, das Eosinophile formen (siehe Abbildung). Dieser Befund ist überraschend auch deshalb, weil Eosinophilen bisher fast ausschließlich eine Rolle in der Abwehr von Parasiten, beispielsweise Würmern, oder im Rahmen allergischer Reaktionen zugeschrieben wurde.

Eine vollkommen neue Erkenntnis, und damit ein entscheidender Schritt im Verständnis der Plasmazell-Überlebensnische im Knochenmark, ist, dass die Eosinophilen die Hauptquelle für den Proliferationsfaktor APRIL und für das Interleukin-6 ist. Zwei Faktoren, die Lebensnotwendig für Plasmazellen sind. Entfernt man die Eosinophilen aus dieser Nische, werden Plasmazellen in den Selbstmord getrieben (Apoptose). Gibt man dagegen wieder Eosinophile hinzu, nimmt die Zahl der Gedächtnis-Plasmazellen im Knochenmark sofort wieder zu. Erste Befunde weisen darauf hin, dass diese an Mäusen entschlüsselten Mechanismen auch im Menschen eine Rolle spielen. Für Autoimmunerkrankungen, allergische Entzündungsprozesse oder die Vermeidung von Transplantat-Abstoßungsreaktionen ergeben sich somit neue Therapiemöglichkeiten. Zunächst aber soll im Mausmodell überprüft werden, ob sich bei Mäusen mit spontan auftretenden Autoimmunerkrankungen durch Entfernen der Eosinophilen das Auftreten der Erkrankung hinauszögern bzw. der Krankheitsverlauf abmildern lässt. Ausschaltung durch gezieltes Entfernen der Eosinophilen könnte aber eine wichtige neue Therapiemöglichkeit sein, um ein überaktives Immunsystem zur Ruhe zu bringen.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

A Grützkau und J Grün,  
A Hauser und A Lemke,  
B Hoyer und F Hiepe,  
A Kruglov und S Nedespasov,  
M Löhning, M Munoz und A Fröhlich,  
S Zehentmeier und A Radbruch,  
DRFZ

O Arbach, Transfusionsmedizin,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

S Lacroix-Desmazes und JD Dimitrov, Centre de  
Recherche des Cordillieres, Paris

JJ Lee, Mayo Clinic, Scottsdale, Arizona, USA

R S Jack, Universität Greifswald

H-M Jäck, Fiebiger Zentrum, Universität Erlangen

R Manz, Universität Lübeck

M Zemplin, Zentrum für Kinderheilkunde und  
Jugendmedizin, Universitätsklinikum Marburg

M Zenker, Immanuel Diakonie Bernau

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Chu VT, Fröhlich A, Steinhauser G, Scheel T, Roch T,  
Fillatreau S, Lee JJ, Löhning M, Berek C. Eosinophils  
are required for the maintenance of plasma cells in  
the bone marrow. *Nat Immunol.* 2011 12: 151-9

Scheel T, Gursche A, Zacher J, Häupl T, Berek C.  
V-region gene analysis of locally defined synovial B  
and plasma cells reveals selected B cell expansion  
and accumulation of plasma cell clones in  
rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 63: 63-72

Wilke G, Steinhauser G, Grün J, Berek C. In silico  
subtraction approach reveals a close lineage  
relationship between follicular dendritic cells and  
BP3(hi) stromal cells isolated from SCID mice. *Eur J  
Immunol.* 2010 40:2165-73

## WISSENSCHAFTLER

Van Trung Chu  
Gudrun Steinhauser  
Thi To Nga Nguyen  
Claudia Berek

## KOOPERATIONSPARTNER

Anja Fröhlich, Rheumatology,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

Max Löhning, Rheumatology,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

Anja Hauser  
Andreas Radbruch  
Tobias Scheel

Toralf Roch, Helmholtz-  
Zentrum Geesthacht

Simon Fillatreau

James J. Lee, Mayo Clinic,  
Arizona, US

## REFERENZEN

Cassese G, Arce S, Hauser AE,  
Lehnert K, Moewes B, et al. 2003. J  
Immunol 171: 1684-90

Minges Wols HA, Underhill GH,  
Kansas GS, Witte PL. 2002. J Immu-  
nol 169: 4213-21

Tokoyoda K, Egawa T, Sugiyama T,  
Choi BI, Nagasawa T. 2004.  
Immunity 20: 707-18

## PUBLIKATIONEN

Chu VT, Enghard P, Schürer S,  
Steinhauser G, Rudolph B,  
Riemekasten G, Berek C. 2009.  
Systemic activation of the immune  
system induces aberrant BAFF and  
APRIL expression in B cells of SLE  
patients. Arthritis Rheum. 60:2083

Chu VT, Fröhlich, A, Steinhauser G,  
Scheel T, Roch T, Fillatreau S, Lee  
JJ, Löhning M, Berek C. 2011.  
Eosinophils are required for the  
maintenance of plasma cells in the  
bone marrow. Nat Immunol.  
12:151-9

Chu VT, Beller A, Nguyen TTN,  
Steinhauser G, Berek C. 2011. The  
long-term survival of plasma cells.  
Scand J Immunol. 73: 508.

Chu VT, and Berek C. 2012.  
Immunization induces activation  
of bone marrow eosinophils  
required for plasma cell survival.  
Eur J Immunol. 42: 130.

# Eosinophile sind für das Überleben von Plasmazellen im Knochenmark erforderlich

**Plasmazellen sind von entscheidender Bedeutung für den langfristigen Immunschutz. Man nimmt an, dass sich im Knochenmark eine Nische aus stromalen Retikulumzellen bildet, die das Langzeitüberleben von Plasmazellen ermöglicht. Diese Stromazellen sezernieren das Chemokin CXCL12, wodurch Plasmazellen angezogen und gleichzeitig das Überleben im Knochenmark unterstützt wird (Tokoyoda et al, 2004). Darüber hinaus sind Zytokine, wie der Proliferation-induzierende Ligand APRIL und Interleukin-6 (IL-6), für das Langzeitüberleben von Plasmazellen erforderlich (Cassese et al 2003, Minges-Wols, et al, 2002). Ziel dieses Projektes war es festzustellen, welche Zellen im Knochenmark für die Produktion von APRIL und IL-6 verantwortlich sind.**

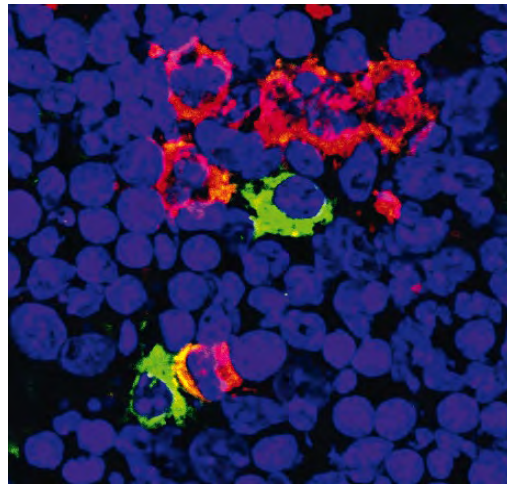


Abbildung: In Knochenmark, Eosinophilen kolokalisieren mit Plasmazellen. Knochenmark Schnitte wurden für Eosinophile (MBP, rot), Plasmazellen (IgG, grün) und Zellkerne (DAPI, blau) gefärbt.

Das Knochenmark wurde isoliert, die Zell-Suspensionen hergestellt und die verschiedenen Zellpopulationen auf Expression von APRIL und IL-6 untersucht. Überraschenderweise zeigte sich, dass im Knochenmark diese Zytokine hauptsächlich von Eosinophilen produziert werden. Um direkt zu zeigen, ob Eosinophile zum Überleben der Plasmazellen beitragen, wurden BALB/c Mäuse mit den T-Zell-abhängigen Antigen 2-phenyl Oxazolone (phox) immunisiert. 6 Tage nach der zweiten Immunisierung, wenn die neu entstehenden Plasmazellen in das Knochenmark einwandern, wurden Gewebeschnitte hergestellt und mit einem Antikörper spezifisch für das „Major Basic Protein“ (MBP), einem Marker für Eosinophile, gefärbt. Co-Lokalisation von Eosinophilen und Plasmazellen konnte durch Doppelfärbungen mit einem IgG spezifischen Antikörper nachgewiesen werden (Abbildung).

60 Tage nach der zweiten Immunisierung, zu einem Zeitpunkt, wenn nur noch langlebige Plasmazellen im Knochenmark nachzuweisen sind, finden wir im Parenchym des Knochenmarks große Gruppen von Plasmazellen, die im direkten Kontakt zu Eosinophilen stehen. Im Retikulum der Stromazellen bilden Eosinophile ein Nest, in dem die Plasmazellen eingebettet sind.

Zur Beantwortung der Frage, ob Eosinophile für das langfristige Überleben von Plasmazellen erforderlich sind, wurden wieder BALB/c Mäuse mit phox immunisiert. 60 Tage nach der zweiten Immunisierung wurden Eosinophilen durch Injektion von anti-Siglec-F-Antikörpern depletiert. Die Analyse ergab, dass Plasmazellen in Abwesenheit von Eosinophilen nicht überleben können, denn sobald Eosinophile depletiert werden, gehen Plasmazellen in Apoptose. Diese Daten zeigen, dass Eosinophile ein wesentlicher Bestandteil der Plasmazell-Überlebensnische im Knochenmark sind. Damit öffnen sich ganz neue therapeutische Möglichkeiten unerwünschte Plasmazellen, wie zum Beispiel bei Autoimmunerkrankungen, aus dem Knochenmark zu entfernen.

## Plasmazelldifferenzierung

B-Zellen können durch die Bindung eines Antigens aktiviert werden. Dabei differenzieren sie zu den Antikörper-generierenden Plasmazellen, welche im sekundären lymphatischen Gewebe bzw. Blutstrom für nur relativ kurze Zeit überleben und hauptsächlich niedrigaffine IgM-Antikörper sekretieren. Eine andere Möglichkeit besteht in der Aktivierung von B-Zellen durch ein Antigen und gleichzeitiger Aktivierung durch T-Helferzellen. In diesem Fall entwickelt sich in den peripheren lymphatischen Organen eine Keimzentrumsreaktion, im Laufe derer aus den aktivierten B-Zellen IgG-produzierende Plasmazellen entstehen. Ebenfalls während der Keimzentrumsreaktion entstehen die B-Gedächtniszellen. Beim wiederholten Kontakt mit dem Antigen werden diese Gedächtniszellen reaktiviert und entwickeln sich zu weiteren Plasmazellen. Vor allem diese im Laufe der sekundären Immunantwort entstandenen Plasmazellen wandern ins Knochenmark, wo sie lebenslang in spezifischen Nischen überleben können.

Ein wichtiger Teil der Plasmazell-Überlebensnischen sind die eosinophilen Granulozyten, welche fürs Verbleiben und Überleben der Plasmazellen im Knochenmark von Bedeutung sind. Die vorläufigen Ergebnisse

deuten darauf hin, dass Eosinophile nicht nur durch die Produktion von Zytokinen das Überleben von Plasmazellen unterstützen, sondern dass sie auch eine wichtige Rolle bei der Reifung und Entwicklung der Plasmazellen spielen. Um dies zu zeigen, soll die Immunantwort im Wildtypmausstamm BALB/c mit der in einem eosinophil-defizienten Mausstamm verglichen werden. Die Genexpression in unterschiedlichen Plasmablastpopulationen soll hierfür untersucht werden.

Zunächst werden Tiere der beiden Mausstämme mit dem T-Zell-abhängigen Antigen 2-Phenyl-Oxazolone intraperitoneal immunisiert. Sieben bzw. vierzehn Tage später werden Keimzentrums-B-Zellen, sowie Plasmablasten mittels Durchflusszytometrie isoliert. Zusätzlich werden Plasmazellen nach zweiter Immunisierung mit löslichem Antigen aus dem Knochenmark aufgereinigt. Aus den verschiedenen Zellpopulationen wird die RNA extrahiert und in cDNA umgeschrieben. Eine Quantifizierung der Expression von Transkriptionsfaktoren, welche für die Plasmazellentwicklung wichtig sind, soll Aufschluss über eine unterschiedliche Plasmazellentwicklung in den beiden Mausstämmen geben. Eine mögliche Rolle der Eosinophilen kann damit gezeigt werden.

### WISSENSCHAFTLER

Alexander Beller  
Van Trung Chu  
Claudia Berek

### KOOPERATIONSPARTNER

Joachim Grün, DRFZ  
Andreas Grützkau, DRFZ

### DRITTMITTEL

DFG

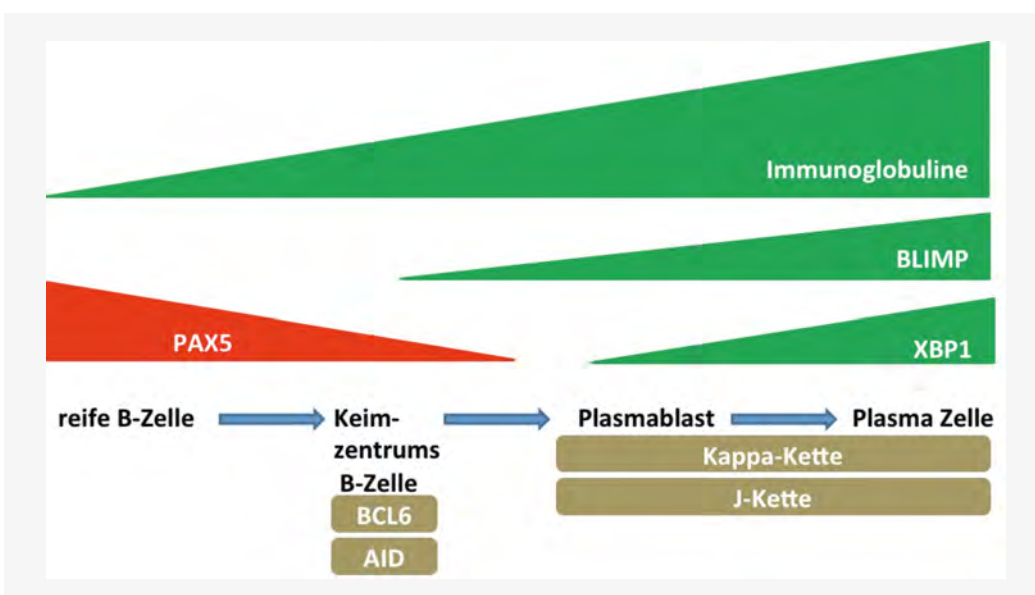


Abbildung 1: Einige Transkriptionsfaktoren, welche während der Plasmazellentwicklung von Bedeutung sind.





Simon Fillatreau, PhD

## Immune Regulation

### B lymphocytes - linkage between microbial recognition and protection against autoimmune disorders

#### ■ KEYWORDS

B cells,  
autoimmunity,  
vaccination,  
inflammation,  
cytokines

#### ■ GROUP MEMBERS

Group leader:  
Simon Fillatreau, PhD

Scientists:  
Vicky Lampropoulou, PhD  
Yarúa Jaimes, PhD

PhD students:  
Ping Shen  
Stefanie Ries  
Ellen Hilgenberg  
Duc Van Dang

Master student:  
Elisabeth Kristoffersen

Lymphocytes B contribute to the immune responses through several mechanisms as antibody production, antigenic presentation to T cells, and cytokine secretion. Activated B cells control cellular immunity via secretion of various cytokines acting either as stimulators or inhibitors. In the context of autoimmunity, the antibody-independent mechanisms provided by B cells revealed to be of crucial importance at exerting both pathogenic and protective effects. On the one hand, production of interleukin (IL)-10 by B cells controls the remission from experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a T cell-mediated pathology that is the primary animal model for multiple sclerosis (MS). On the other hand, recent studies showed that B cell depletion therapies (BCDT) can efficiently reduce disease progression in relapsing-remitting MS (RR-MS) and in EAE. Our group and others have documented the pathways controlling the suppressive functions of B cells. The antibody-independent mechanisms of pathogenesis are now starting to be elucidated. We have shown that BCDT alleviates central nervous system (CNS) autoimmunity through ablation of IL-6 secreting pathogenic B cells. B cells from mice with EAE secreted elevated levels of IL-6 compared to B cells

from naïve controls, and mice with a B cell-specific IL-6 deficiency showed a markedly less severe disease than mice with wild-type B cells. Moreover, BCDT ameliorated EAE only in mice with IL-6 sufficient B cells. It is very likely that this mechanism is taking place during MS progression, because B cells from diseased patients produced markedly higher levels of IL-6 compared to healthy individuals and the abnormality was corrected in B cells returning after Rituximab treatment, which is commonly used for depletion of B cells in the clinic. These data indicates that the IL-6 secretion by B cells represents a major mechanism of pathogenicity in autoimmune diseases. Remarkably, among B cell subsets marginal zone B cells secreted the higher amounts of both IL-10 and IL-6 although after different stimuli. This highlights the general contribution of activated B cells in immune regulation. Based on these results, we propose that a more comprehensive understanding of the B cells antibody-independent functions could contribute to the generation of novel approaches to selectively modulate cytokine production and hence, pathogenic inflammation in autoimmune diseases.



#### COOPERATIONS PARTNERS

Prof. S.M. Anderton, Institute of immunology and Infection research, Edinburgh, Scotland.

Dr. T Barr, The University of Edinburgh, Scotland, UK.

Dr. C. Berek, B Cell Immunology, DRFZ Berlin, Germany.

Dr. D.P. Calado, Harvard Medical School, Boston, USA.

Dr. P. Charnreau, Institute Pasteur, Paris, France.

Prof. D. Gray, The University of Edinburgh, Scotland, UK.

Prof. S. H. E. Kaufmann, Max Planck Institute for Infection Biology, Berlin, Germany.

Dr. A. A. Kühl, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany.

Prof. T. Dörner, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany.

Dr. P. Boudinot, Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, Jouy-en-Josas, France.

Prof. S. A. Nedospasow, Inflammation Biology, DRFZ Berlin.

Dr. O. Neyrolles, Institute of Pharmacology and Structural Biology, CNRS UMR5089, Department of Molecular mechanisms of Mycobacterial Infections, Toulouse, France.

Prof. A Bar-Or, Neuroimmunology Unit, Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.

#### SELECTED PUBLICATIONS (2010–2011)

1. Barr, T.A., P. Shen, S. Brown, V. Lampropoulou, T. Roch, S. Lawrie, B. Fan, R. O'Connor, S.M. Anderton, A. Bar-Or, S. Fillatreau\*, and D. Gray\*. B cell derived interleukin-6 drives pathogenesis in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Exp Med*. In press. \*these two authors contributed equally.

2. Hoehlig, K., P. Shen, V. Lampropoulou, T. Roch, B. Malissen, R. O'Connor, S. Ries, E. Hilgenberg, S.M. Anderton, and S. Fillatreau. Activation of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells occurs normally in absence of B cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. In press.

3. Kruglov, A.A., V. Lampropoulou, S. Fillatreau, and S.A. Nedospasov. 2011. Pathogenic and Protective Functions of TNF in Neuroinflammation Are Defined by Its Expression in T Lymphocytes and Myeloid Cells. *J Immunol* 187:5660-5670.

4. Calderon-Gomez, E., V. Lampropoulou, P. Shen, P. Neves, T. Roch, U. Stervbo, S. Rutz, A.A. Kuhl, F.L. Heppner, C. Loddenkemper, S.M. Anderton, J.M. Kanellopoulos, P. Charnreau, and S. Fillatreau. 2011. Reprogrammed quiescent B cells provide an effective cellular therapy against chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 41:1696-1708.

5. Fillatreau, S. 2011. Novel regulatory functions for Toll-like receptor-activated B cells during intracellular bacterial infection. *Immunol Rev* 240:52-71.

6. Chu, V.T., A. Frohlich, G. Steinhauser, T. Scheel, T. Roch, S. Fillatreau, J.J. Lee, M. Lohning, and C. Berek. 2011. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat Immunol* 12:151-159.

7. Neves, P., V. Lampropoulou, E. Calderon-Gomez, T. Roch, U. Stervbo, P. Shen, A.A. Kuhl, C. Loddenkemper, M. Haury, S.A. Nedospasov, S.H. Kaufmann, U. Steinhoff, D.P. Calado, and S. Fillatreau. 2010. Signaling via the MyD88 adaptor protein in B cells suppresses protective immunity during *Salmonella typhimurium* infection. *Immunity* 33:777-790.

8. Yoshida, T., H. Mei, T. Dorner, F. Hiepe, A. Radbruch, S. Fillatreau\*, and B.F. Hoyer\*. 2010. Memory B and memory plasma cells. *Immunol Rev* 237:117-139. \*these two authors contributed equally.

9. Lampropoulou, V., E. Calderon-Gomez, T. Roch, P. Neves, P. Shen, U. Stervbo, P. Boudinot, S.M. Anderton, and S. Fillatreau. 2010. Suppressive functions of activated B cells in autoimmune diseases reveal the dual roles of Toll-like receptors in immunity. *Immunol Rev* 233:146-161.

## SCIENTISTS

P. Shen, V. Lampropoulou, T. Roch

## COOPERATION PARTNERS

Tom A. Barr,  
University of Edinburgh,  
Edinburgh, EH9 3JT, Scotland, UK.Sheila Brown,  
University of Edinburgh,  
Edinburgh, EH9 3JT, Scotland, UK.Sarah Lawrie,  
McGill University, Montreal,  
Quebec, Canada.Boli Fan,  
McGill University,  
Montreal, Quebec,  
CanadaRichard O'Connor,  
University of Edinburgh,  
Edinburgh, EH16 4TJ, Scotland,  
UK.Stephen Anderton,  
University of Edinburgh,  
Edinburgh, EH16 4TJ, Scotland,  
UK.Amit Bar-Or,  
McGill University, Montreal,  
Quebec, Canada.David Gray,  
University of Edinburgh,  
Edinburgh, EH9 3JT, Scotland, UK.

## REFERENCES

1. Wekerle, H. 1999. Remembering MOG: autoantibody mediated demyelination in multiple sclerosis? *Nat Med.* 5:153-4.
2. Zhou, D., R. Srivastava, S. Nessler, V. Grummel, N. Sommer, W. Bruck, H.P. Hartung, C. Stadelmann, and B. Hemmer. 2006. Identification of a pathogenic antibody response to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103:19057-62.
3. Edwards, J.C., and G. Cambridge. 2006. B-cell targeting in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol.* 6:394-403.
4. O'Connor, B.P., V.S. Raman, L.D. Erickson, W.J. Cook, L.K. Weaver, C. Ahonen, L.L. Lin, G.T. Mantchev, R.J. Bram, and R.J. Noelle. 2004. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med.* 199:91-8.

## Depletion of IL-6 producing B cells as therapy to alleviate pathogenic inflammation in CNS autoimmunity

### B cells in autoimmunity

B cells have paradoxical roles in autoimmunity as they can exert both pathogenic and protective effects. B cell depletion therapies could halt progression of diseases such as relapsing-remitting multiple sclerosis (RR-MS) and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). B cells might promote tissue destruction in an autoantibody-dependent manner, as demonstrated by the presence of myelin-reactive autoantibodies in serum and central nervous system (CNS) of RR-MS patients<sup>1</sup>. Also, transfusion of autoantibody-containing serum can exacerbate demyelination and axonal loss in rats<sup>2</sup>. Nevertheless, clinical improvement in patients treated with Rituximab often precedes reduction in autoantibody levels<sup>3</sup>, and treatment with Atacept, which reduces numbers of short and long-lived plasma cells<sup>4</sup>, resulted in aggravation, not improvement, of RR-MS<sup>5</sup>. These observations concur to indicate that B cells propagate this autoimmune disease via antibody-independent mechanisms but the mechanisms of pathogenesis are still poorly understood. Rituximab treatment results in a noticeable decline of T cell numbers in CNS of treated patients<sup>6</sup>. We hypothesized that B cells facilitate RR-MS progression by sustaining pathogenic T cell responses, possibly through secretion of cytokines because (1) cytokine blockade is often an effective treatment for autoimmune disease and (2) cytokines can be elicited from B cells irrespective of

antigenic specificity<sup>7</sup>. Interleukin-6 (IL-6) is a cytokine essentially involved in the development of EAE<sup>8</sup> and can be secreted in large amounts by B cells as a response to polyclonal activating stimuli, subsequently enhancing T cell proliferation *in vitro*<sup>9</sup> and Th17 responses *in vivo*<sup>10</sup>. Here, we studied IL-6 secreting B cells as possible mediators of pathogenesis in autoimmunity.

### IL-6-secreting B cells are located in the marginal zone B cell compartment

In order to identify and characterize the IL-6 secreting B cells we sorted various B cell subsets by flow cytometry based on the expression of CD19, CD21, CD23 and CD1d. The B cells from the marginal zone (MZ, CD21hiCD23lo or CD1dhi) showed the strongest capacity to produce IL-6 in response to TLR4 stimulation with LPS and those levels were even higher upon co-stimulation with anti-CD40 antibody and LPS (Figure 1a). By assessing the composition of the B cell compartment during the EAE responses, we observed that the frequency of MZ B cells in EAE mice was elevated from day 14 onwards (Figure 1b).

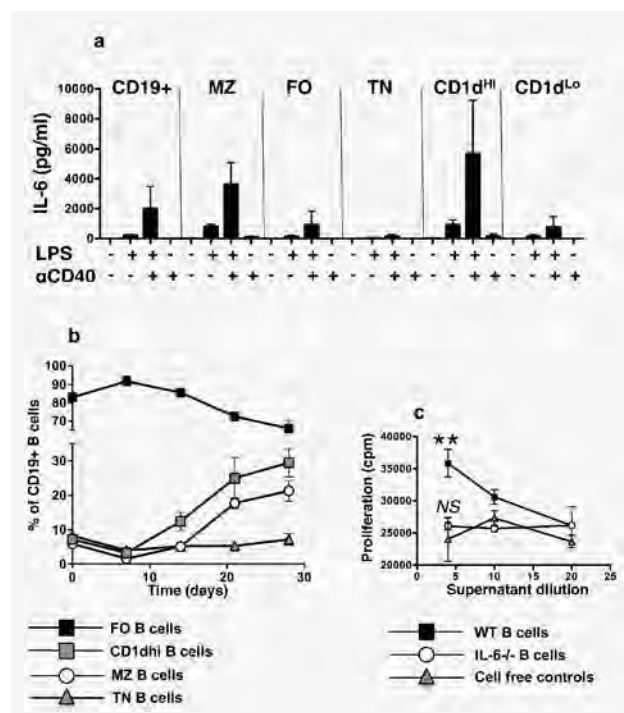


Figure 1: B cells from naive and EAE mice constitute a major source of IL-6 that stimulates T cells *in vitro*. (a) B cell subsets were isolated from spleens of naive mice. After stimulation with LPS and/or anti-CD40, IL-6 levels were quantified by Bioplex. (b) Kinetics of B cell subset expansion during EAE were assessed by flow cytometry. (c) Proliferation of CD4<sup>+</sup> T cells stimulated with anti-CD3, anti-CD8 and supernatants from either WT B cells, IL-6<sup>-/-</sup> B cells or cell-free controls plus LPS and anti-CD40.

### B cells modulate T cell responses via IL-6 production

Given that B cells might promote RR-MS via stimulation of pathogenic effects on T cells<sup>6</sup>, we tested whether B cells could modulate T cell responses through IL-6. Therefore, we established an *in vitro* system for stimulation of naïve T cells with supernatants from B cells activated with LPS and anti-CD40, which increased IL-6 production. Remarkably, T cell proliferation was significantly enhanced by supernatants from WT B cells (even though they were diluted at least 5-fold) but not from IL-6-deficient B cells (Figure 1c).

Taken together, our data show that B cells are an important source of IL-6 when cells from secondary lymphoid organs are exposed to stimuli controlling activation of immunity, and IL-6 from B cells can significantly increase T cell responses *in vitro*. Furthermore, IL-6 production by B cells is increased during EAE.

### Mice with a B cell-specific IL-6 deficiency develop an attenuated form of EAE

To study whether IL-6 production by B cells contributes to disease pathogenesis during EAE, we generated mixed bone marrow chimeric mice with a B cell-specific deficiency in IL-6 production (B-IL6<sup>-/-</sup>), together with control chimeras (B-WT). The B-IL6<sup>-/-</sup> mice contain a 20% IL-6 deficiency in all hematopoietic cells, besides the complete lack of IL-6 production by B cells. In order to have comparable controls for such deficiency, we generated IL-620% chimeras, which have 20% IL-6 deficiency in all hematopoietic compart-

ments, including in B cells. EAE was induced in the chimeric mice by immunization with MOG, and the pathogenic process was initiated in all mice groups without differences between B-IL6<sup>-/-</sup> mice and controls. The maximal disease score was markedly lower for B-IL6<sup>-/-</sup> mice, demonstrating that B cells contribute to disease exacerbation through production of IL-6. In addition, B-IL6<sup>-/-</sup> mice showed a better recovery from disease than the two control groups (Figure 2a).

### B cells from RR-MS patients secrete elevated levels of IL-6, which is normalized following B cell depletion therapy

To investigate the relevance of our findings on IL-6 production by B cells in RR-MS, we isolated B cells from healthy donors and RR-MS patients, and compared their production of IL-6 after stimulation. Levels of IL-6 secreted by B cells from RR-MS patients were 4-5 fold higher than those from healthy controls as revealed by ELISA (Figure 2b). Moreover, in a separate study where B cells were depleted from RR-MS patients using Rituximab, we found that B cells returning after depletion secreted levels of IL-6 comparable to the healthy control group (Figure 2c).

Taking these data together, we conclude that IL-6 secretion is a major mechanism of B cell-driven pathogenesis in T cell-mediated autoimmune diseases of the CNS. Novel approaches to selectively modulate cytokine production by activated B cells might provide interesting approaches to control pathogenic inflammation in autoimmune diseases.

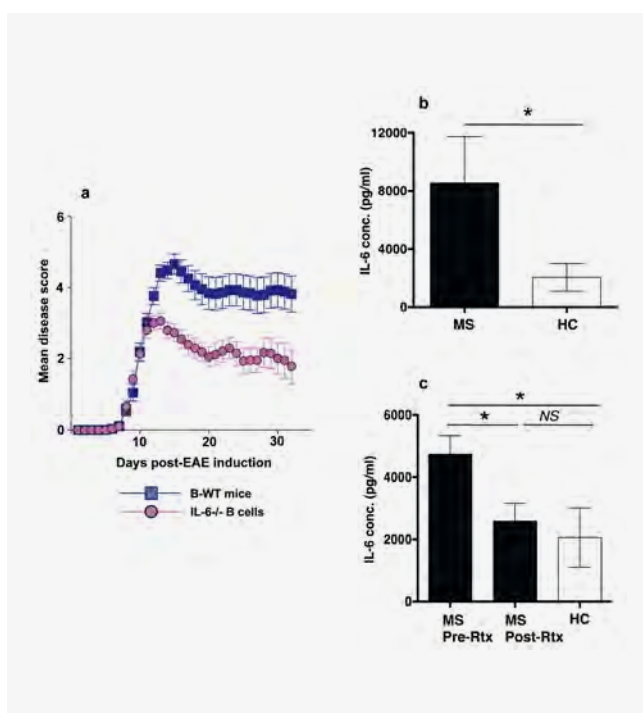


Figure 2: IL-6 producing B cells participate in EAE and MS progression. (a) EAE progression was monitored for 32 days after immunization with MOG in B-WT and B-IL6<sup>-/-</sup> chimeric mice. (b) IL-6 production by B cells isolated from MS patients and healthy controls. (c) Longitudinal study showing IL-6 production from B cells from MS patients pre- and post-Rituximab treatment. B cells were isolated *ex vivo* and stimulated by engagement of BCR and CD40 with or without addition of TLR9 ligand (CpG DNA) cytokine secretion was analyzed by ELISA.

5. Hartung, H.P., and B.C. Kieseier. 2010. Atacicept: targeting B cells in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 3:205-16.

6. Cross, A.H., J.L. Stark, J. Lauber, M.J. Ramsbottom, and J.A. Lyons. 2006. Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 180:63-70.

7. Bar-Or, A., L. Fawaz, B. Fan, P.J. Darlington, A. Rieger, C. Ghorayeb, P.A. Calabresi, E. Waubant, S.L. Hauser, J. Zhang, and C.H. Smith. 2010. Abnormal B-cell cytokine responses a trigger of T-cell-mediated disease in MS? *Ann Neurol.* 67:452-61.

8. Samoilova, E.B., J.L. Horton, B. Hilliard, T.S. Liu, and Y. Chen. 1998. IL-6-deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis: roles of IL-6 in the activation and differentiation of autoreactive T cells. *J Immunol.* 161:6480-6.

9. Lampropoulou, V., K. Hoehlig, T. Roch, P. Neves, E. Calderon Gomez, C.H. Sweeney, Y. Hao, A.A. Freitas, U. Steinhoff, S.M. Anderton, and S. Fillatreau. 2008. TLR-activated B cells suppress T cell-mediated autoimmunity. *J Immunol.* 180:4763-73.

10. Barr, T.A., S. Brown, P. Mastroeni, and D. Gray. 2010. TLR and B cell receptor signals to B cells differentially program primary and memory Th1 responses to *Salmonella enterica*. *J Immunol.* 185:2783-9.

### PUBLICATIONS

Barr, T.A., P. Shen, S. Brown, V. Lampropoulou, T. Roch, S. Lawrie, B. Fan, R. O'Connor, S.M. Anderton, A. Bar-Or, S. Fillatreau\*, and D. Gray\*. B cell derived interleukin-6 drives pathogenesis in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Exp Med.* In press. \*these two authors contributed equally.

### FUNDING

SFB-650, Hertie Stiftung



## SCIENTISTS

E. Calderon-Gomez,  
V. Lampropoulou, P. Shen,  
U. Stervbo

## COOPERATION PARTNERS

P. Charneau,  
Institut Pasteur, Paris, France

F.L. Heppner,  
Charité-Universitätsmedizin,  
Berlin, Germany

A. Kühl,  
Charité-Universitätsmedizin,  
Berlin, Germany

C. Loddenkemper,  
Technical University  
Munich, Munich,  
Germany

## REFERENCES

1. Eynon EE, Parker DC. Small B cells as antigen-presenting cells in the induction of tolerance to soluble protein antigens. *J Exp Med.* 1992 Jan 1;175(1):131-8.
2. Frommer F, Heinen TJ, Wunderlich FT, Yogev N, Buch T, Roers A, Bettelli E, Müller W, Anderton SM, Waisman A. Tolerance without clonal expansion: self-antigen-expressing B cells program self-reactive T cells for future deletion. *J Immunol.* 2008 Oct 15;181(8):5748-59.
3. Zambidis ET, Barth RK, Scott DW. Both resting and activated B lymphocytes expressing engineered peptide-Ig molecules serve as highly efficient tolerogenic vehicles in immunocompetent adult recipients. *J Immunol.* 1997 Mar 1;158(5):2174-82.
4. Skupsky J, Su Y, Lei TC, Scott DW. Tolerance induction by gene transfer to lymphocytes. *Curr Gene Ther.* 2007 Oct;7(5):369-80.
5. Ito O, Harada M, Takenoyama M, Tamada K, Li T, Abe K, Fujie H, Nomoto K. Vaccination with activated B cells pulsed with tumor-lysates can induce tumor-specific CD4+ T cells in vivo. *Immunobiology.* 1998 Jul;199(1):133-47.
6. Anderton SM, Fillatreau S. Activated B cells in autoimmune diseases: the case for a regulatory role. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008 Dec;4(12):657-66.

## Successful application of reprogrammed quiescent B cells as a cellular therapy to treat chronic experimental autoimmune encephalomyelitis

Recent studies have identified novel roles for B cells in the inhibition of immunity. The suppressive functions of B cells could be of interest to develop adoptive cell therapy to block unwanted immune responses. The optimization of such approach would certainly benefit from a precise identification of the features conferring B cells with the most effective suppressive functions. There is now evidence that activated B cells can be more suppressive than resting B cells. Indeed, B cells must be activated via Toll-like receptors (TLR), B cell receptor for antigen, and CD40 to suppress ongoing autoimmune diseases in mice. Even though both activated and resting B cells could induce tolerance in naïve animals, only activated B cells were able of inhibiting ongoing immunity upon adoptive transfer in recipient mice (1, 2, 3). The activation pathways involved in triggering suppressive functions in activated B cells might therefore be useful to produce “therapeutic regulatory B cells”. In keeping with this, B cells activated with selected TLR agonists in vitro effectively suppressed various autoimmune diseases upon adoptive transfer in recipient mice (4). However, the utilization of ex vivo activated human B cells may appear not safe enough for clinical application, because activated B cells can also exert stimulatory activities, and the mechanisms distinguishing their pro- from anti-inflammatory functions have not been fully identified (5, 6). We therefore reasoned that the ideal therapeutic B cell should combine the weak immunogenicity of resting B cells with the effective suppressive functions of

some activated B cells. In order to construct such “resting regulatory B cells”, we established a novel gene therapy protocol to genetically design the immunological properties of resting B cells while keeping them in a quiescent state.

### Effective engineering of unstimulated quiescent B cells by lentiviral transduction

We established a simple, rapid, and highly efficient protocol to genetically reprogram quiescent B cells: plain centrifugation of resting B cells with lentiviral particles was sufficient to obtain transduction of more than 80% of the B cells (Figure 3).

B cells express pathogen recognition receptors for viral components that may sense the viral particles, and whose triggering might lead to the up-regulation of costimulatory molecules, and acquisition of increased stimulatory properties by the transduced B cells. However, lentiviral transduction did not result in significant alteration of the expression levels of MHC-II, CD40, CD44, CD69, CD80, CD86, and IL-6 secretion by the genetically modified B cells (not shown). Thus, lentiviral vectors allow the genetic engineering of quiescent B cells while maintaining them in a resting state. Using this system, we could produce resting B cells that express IL-10 (using a vector coding for the IL-10 gene) and/or present myelin autoantigen to antigen-specific CD4+ T cells (using a vector coding for the myelin gene) (data not show).

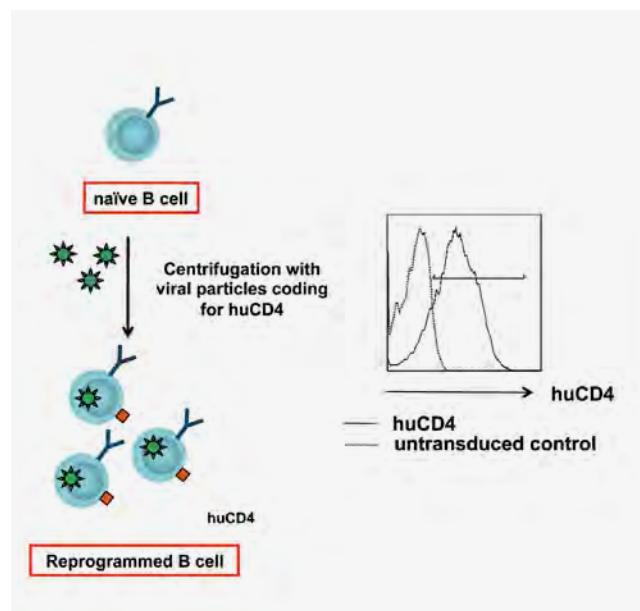


Figure 3: Effective transduction of resting mouse B cells with a HIV-based lentiviral vector. Isolated B cells were centrifuged for 75 minutes in medium containing lentiviral particles coding for the human Cd4 gene. After extensive washing, cells were incubated in normal medium for 18 hours, and analyzed by flow cytometry to determine surface expression of human CD4 (huCD4).

### Reprogrammed quiescent B cells provide protection from chronic EAE

We evaluated the suppressive capacity of reprogrammed quiescent B cells in EAE, an autoimmune disease that is associated with the development of inflammatory demyelinating lesions in the CNS, and mimics features of MS.

Administration of B-MOG-IL-10 cells, which express MOG and secrete IL-10, to recipient mice prior to EAE induction resulted in a milder disease course, and an improvement of recovery (Figure 4). Notably, B-MOG-IL-10 cells mediated this protection independently of IL-10 because B-MOG cells (expressing only MOG) were as effective at suppressing disease as B-MOG-IL-10 cells (not shown). Remarkably, adoptive therapy with B-MOG cells were also protective in mice lacking a functional natural regulatory T cell compartment, which normally develop a severe form of chronic EAE, indicating that B-MOG cells could replace Treg cells for disease resolution (Figure 4).

### Reprogrammed quiescent B cells suppress both T cell- and B cell-mediated immunity

To identify how B-MOG cells provide protection from EAE, we monitored the encephalitogenic T and B cell responses at different time points after EAE induction in mice treated or not with B-MOG cells.

The encephalitogenic function of autoreactive T cells is tightly linked to their secretion of inflammatory cytokines (7, 8). To enumerate cytokine-producing CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in treated and untreated mice during EAE, we re-stimulated their splenocytes with MOG antigen for 6 hours ex vivo, and performed intracellular cytokine staining. We found that B-MOG-treated mice had markedly fewer CD4<sup>+</sup> T cells producing IFN- $\gamma$ , IL-17, and TNF- $\alpha$  as well as CD8<sup>+</sup> T cells producing IFN- $\gamma$  than control mice (not shown). Antibodies can also play a pathogenic role in autoimmune diseases of the CNS (9). We therefore evaluated whether B-MOG cells influence the production of autoantibodies during EAE. Mice treated with B-MOG cells displayed markedly decreased levels of MOG-specific IgM, IgG, and IgG1 autoantibodies, compared to untreated mice, or to mice treated with B-mock cells (not shown).

Altogether, our data report a novel gene therapy approach for the suppression of unwanted immune responses, which is based on the genetic reprogramming of quiescent B cells into “resting suppressor B cells”, and allows suppression of the three arms of the adaptive immune system (CD4<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup> T cells, and B cells). We are now exploring the protective value of such B cells in different disease models, and develop novel approaches to increase the immunosuppressive properties of such resting regulatory B cells.

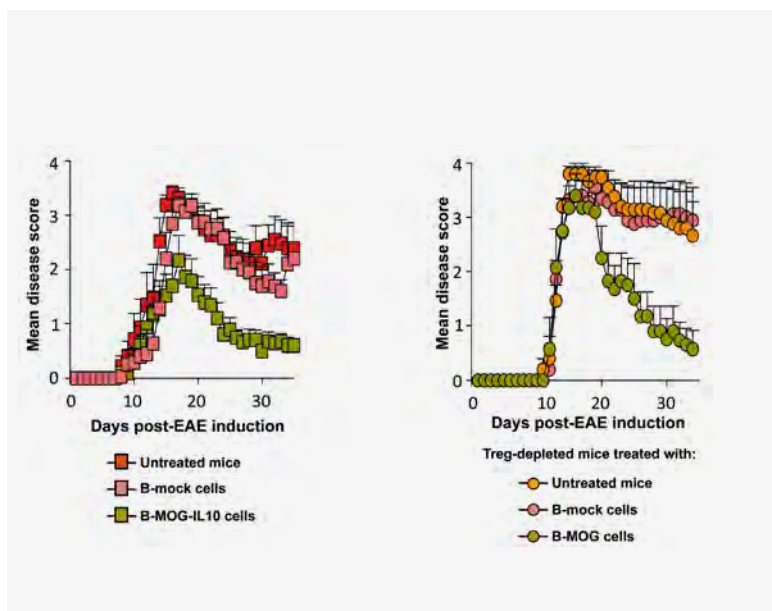


Figure 4: Engineered resting B cells provide protection from EAE. Left panel: mice were treated intravenously with B-MOG-IL-10 cells or control B-mock cells on days -6 and -2 before EAE induction. Right panel: Mice received an anti-CD25 antibody (PC61) intravenously to inactivate natural CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells on day -3. Mice were additionally treated with B-MOG cells or B-mock cells on days -6 and -2 before EAE induction.

7. Kuchroo VK, Martin CA, Greer JM, Ju ST, Sobel RA, Dorf ME. Cytokines and adhesion molecules contribute to the ability of myelin proteolipid protein-specific T cell clones to mediate experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol.* 1993 Oct 15;151(8):4371-82.

8. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.* 2005 Nov;6(11):1133-41.

9. Wekerle H. Remembering MOG: autoantibody mediated demyelination in multiple sclerosis? *Nat Med.* 1999 Feb;5(2):153-4.

#### PUBLICATIONS

1. Calderon-Gomez E, Lampropoulou V, Shen P, Neves P, Roch T, Stervbo U, Rutz S, Kühl AA, Heppner FL, Loddenkemper C, Charneau P, and Fillatreau S. Reprogrammed quiescent B cells provide an effective cellular therapy against chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.* Jun;41(6):1696-708

2. Anderton SM, Fillatreau S. Activated B cells in autoimmune diseases: the case for a regulatory role. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008 Dec;4(12):657-66.

#### FUNDING

SFB-650, Hertie Stiftung



Dr. med. vet.  
Anja Erika Hauser

## Immundynamik

### Zellen in Bewegung

#### STICHWORTE

Multiphotonen-Mikroskop  
Intravitale Mikroskopie  
B-Zell Biologie  
Plasmazellen  
Mukosale Immunologie

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Dr. med. vet. Anja Erika Hauser

Doktoranden:  
Tierärztin Anja Lemke,  
Diplom-Molekularmedizinerin  
Katrin Roth,  
Diplom-Biologin Laura Oehme,  
MSc Jannike Köhle

Studentische Mitarbeiterin:  
Sabrina Schüngel

Die Analyse von Einzelzellen *in vivo* hat in den letzten Jahren durch technische Entwicklungen in der Mikroskopie neue Impulse erhalten: Multiphoton-Intravitalmikroskopie erlaubt es, dynamische Prozesse wie zelluläre Interaktionen und Zellmigration im Körper lebender Organismen in Echtzeit zu verfolgen und zu analysieren. Diese Methode hat sich daher als hervorragend geeignet für die Analyse von immunologischen Vorgängen und Entzündungsreaktionen im Gewebekontext erwiesen, denn dynamische Prozesse stellen essentielle Eigenschaften des Immunsystems dar. Verschiedene Zellen des Immunsystems wandern durch den ganzen Körper, um ihn auf eingedrungene Pathogene zu untersuchen und die Immunzellen treten innerhalb von sekundären lymphatischen Organen (z.B. Milz, Lymphknoten und Peyer´s Patches) miteinander in Kontakt, um aktiviert zu werden. Bis vor kurzem waren die Methoden zur Analyse dieser dynamischen Prozesse darauf beschränkt, die Position einzelner Zellen innerhalb von fixierten Gewebeschnitten mittels histologischer Methoden zu analysieren. Diese konnten lediglich Momentaufnahmen der Situation im Gewebe wiedergeben und ließen nur im begrenzten Maße Schlüsse bezüglich der Motilität von einzelnen Zellen bzw. ihrer Interaktion mit anderen Zellen zu. Die Erfindung der Multiphoton Mikroskopie ermöglicht es dagegen, fluoreszente Zellen und Gewebestrukturen in lebenden, anästhesierten Versuchstieren über den Zeitraum von mehreren Stunden zu visualisieren. Im Gegensatz zur konfokalen Mikroskopie werden zur Anregung der Fluorochrome gepulste Laser im Nah-Infrarotbereich verwendet, was Ausbleichen und Phototoxizität minimiert. Je nach Gewebe lassen sich damit fluoreszenz-markierte Zellen in mehreren hundert Mikrometern Tiefe im Gewebe sichtbar machen.

Mit Hilfe von spezieller Software können wir die Zellen dreidimensional im Zeitraffer (in 4D) verfolgen und die Bewegung, Migration und Interaktionen dieser Zellen mittels spezieller Software analysieren.

Besonderes Interesse gilt dabei der Dynamik von B-Lymphozyten bzw. Antikörper sezernierenden Plasmazellen. Zum einen untersuchen wir die Migration von B-Zellen in Keimzentren, um Erkenntnisse über den Mechanismus der Affinitätsreifung zu erhalten. Nach Verlassen der Keimzentren können B-Zellen in Antikörper-sezernierende Plasmablasten differenzieren, die ins Knochenmark migrieren, wo sie in so genannten Überlebensnischen ein spezielles Mikromilieu vorfinden, das sie zu langlebigen Plasmazellen werden lässt. Wir erforschen die Plasmazell-Migration ins Knochenmark sowie die Natur dieser Überlebensnischen *in vivo*. Unser Fokus liegt dabei auf der Analyse von Stromazellen und deren Rolle für die Überlebensnischen. Weiterhin beschäftigen wir uns mit IgA sezernierenden Zellen in der Mukosa, die den weitaus größten Teil aller Plasmazellen im Körper ausmachen.

Weitere Schwerpunkte liegen bei der Analyse von Entzündung und deren Regulation. In den letzten Jahren mehren sich die Hinweise, dass der Darm eine entscheidende Rolle in der Regulation des Immunsystems besitzt. Wir haben eine Methode zur Intravitalmikroskopie des Darms bei Mäusen entwickelt, mit der wir diese regulatorischen Mechanismen untersuchen wollen. Dabei setzen wir Reportermäuse für verschiedene entzündliche und regulatorische Zellpopulationen ein. Auch in Mausmodellen der Neuroinflammation analysieren wir die Rolle verschiedener Immunzellen. Hierbei liegt der Fokus auf verschiedenen B-Zell-Populationen.





#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Marc-Thilo Figge, Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung, Jena

Prof. Dr. Matthias Gunzer, Universität Duisburg-Essen

Dr. rer. nat. Raluca Niesner, DRFZ Berlin

Dr. rer. nat. Harald Schulze, Institut für Molekulare Pädiatrie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dr. Kai-Michael Toellner, University of Birmingham, Birmingham, UK

Dr. Koji Tokoyoda, Chiba University Graduate School of Medicine, Dept. of Immunology, Chiba, Japan

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Niesner, R. A., and A. E. Hauser. 2011. Recent advances in dynamic intravital multi-photon microscopy. *Cytometry. Part A: the journal of the International Society for Analytical Cytology* 79: 789-79

2. Esplugues, E., S. Huber, N. Gagliani, A. E. Hauser, T. Town, Y. Y. Wan, W. O'Connor, Jr., A. Rongvaux, N. Van Rooijen, A. M. Haberman, Y. Iwakura, V. K. Kuchroo, J. K. Kolls, J. A. Bluestone, K. C. Herold, and R. A. Flavell. 2011. Control of TH17 cells occurs in the small intestine. *Nature* 475: 514-518.

3. Köhler A, De Filippo K, Hasenberg M, van den Brandt C, Nye E, Hosking MP, Lane TE, Männ L, Ransohoff RM, Hauser AE, Winter O, Schraven B, Geiger H, Hogg N, Gunzer M. G-CSF mediated thrombopoietin release triggers neutrophil motility and mobilization from bone marrow via induction of Cxcr2 ligands. *Blood*. 2011; 117(16):4349-57.

4. Hauser, A. E., S. M. Kerfoot, and A. M. Haberman. 2010. Cellular choreography in the germinal center: new visions from in vivo imaging. *Semin Immunopathol* 32: 239-255.

5. Herz, J., V. Siffrin, A. E. Hauser, A. U. Brandt, T. Leuenberger, H. Radbruch, F. Zipp, and R. A. Niesner. 2010. Expanding two-photon intravital microscopy to the infrared by means of optical parametric oscillator. *Biophys J* 98: 715-723.

6. Hauser, A.E., T. Junt, T.R. Mempel, M.W. Sneddon, S.H. Kleinstein, S.E. Henrickson, U.H. von Andrian, M.J. Shlomchik, and A.M. Haberman. 2007. Definition of germinal-center B cell migration in vivo reveals predominant intrazonal circulation patterns. *Immunity* 26:655-667.

7. Hauser, A.E., M.J. Shlomchik, and A.M. Haberman. 2007. In vivo imaging studies shed light on germinal-centre development. *Nat Rev Immunol* 7:499-504.



## WISSENSCHAFTLER

Anja Hauser, Anja Lemke

## REFERENZEN

1. Fagarasan, S. 2008. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Curr Opin Immunol* 20:170-177.
2. Mei, H.E., T. Yoshida, W. Sime, F. Hiepe, K. Thiele, R.A. Manz, A. Radbruch, and T. Dorner. 2008. Blood-borne human plasma cells in steady-state are derived from mucosal immune responses. *Blood*
3. Youngman, K.R., M.A. Franco, N.A. Kuklin, L.S. Rott, E.C. Butcher, and H.B. Greenberg. 2002. Correlation of tissue distribution, developmental phenotype, and intestinal homing receptor expression of antigen-specific B cells during the murine anti-rotavirus immune response. *J Immunol* 168:2173-2181.
4. Etchart, N., B. Baaten, S.R. Andersen, L. Hyland, S.Y. Wong, and S. Hou. 2006. Intranasal immunisation with inactivated RSV and bacterial adjuvants induces mucosal protection and abrogates eosinophilia upon challenge. *Eur J Immunol* 36:1136-1144.
5. Lycke, N., and J. Holmgren. 1986. Strong adjuvant properties of cholera toxin on gut mucosal immune responses to orally presented antigens. *Immunology* 59:301-308.

## DRITTMITTEL

DFG HA5354/1-4

## Lebensdauer und Migration von Plasmazellen in mukosalen Immunantworten

Ein großer Teil der im Körper vorhandenen Plasmazellen ist in der intestinalen Lamina propria lokalisiert. Im Gegensatz zu Plasmazellen in sekundären lymphatischen Organen und im Knochenmark weiß man bisher nichts über die Lebensdauer dieser in mukosalen Immunantworten generierten Plasmazellen. In diesem Projekt analysieren wir die Lebensdauer dieser Zellen im Darm und untersuchen, ob sie zum langlebigen Plasmazellkompartiment beitragen.

Langlebige Plasmazellen stellen einen wichtigen Teil des immunologischen Gedächtnisses dar: Im Verlauf von systemischen Immunantworten werden Plasmazellen in den sekundären lymphatischen Organen generiert und migrieren dann ins Knochenmark, wo sie in einem speziellen Mikromilieu, den sogenannten Überlebensnischen, über lange Zeiträume -beim Menschen über viele Jahre- persistieren können. Bisher ist nur wenig über die Lebensdauer von Plasmazellen, die im Verlauf von mukosalen Immunantworten generiert wurden bekannt. IgA+ B-Zellen entstehen durch Klassenwechsel in Peyer's Patches und auch in der diffusen Lamina propria. Sie migrieren dann über die Lymphe in mesenteriale Lymphknoten, treten ins Blut über

und wandern zurück in die Lamina propria. Ob mukosale Plasmazellen auch ins Knochenmark wandern und dort zum langlebigen Plasmazell-Pool beitragen können, ist bisher nicht bekannt. Unklar ist ebenfalls, ob auch im Darm Überlebensnischen für langlebige Plasmazellen existieren.

### Ergebnisse und Diskussion

Mittels ELISPOT konnten wir nach oraler Gabe von Cholera-toxin Antigen-spezifische Plasmazellen noch über ein Jahr nach der Immunisierung finden. Die Antikörper-sezernierenden Zellen waren sowohl in der Lamina propria als auch im Knochenmark zu detektieren.

Um herauszufinden, ob es sich bei diesen Antikörper-sezernierenden Zellen um langlebige Plasmazellen handelt, wurden Mäuse über den Zeitraum von 12 Tagen nach Immunisierung mit dem Thymidin-Analogen EdU gefüttert. EdU wird in die DNA proliferierender Zellen eingebaut und markiert damit alle im Fütterungszeitraum gebildeten Plasmazellen. Eine spätere Analyse mittels FACS oder Immunfluoreszenz erlaubt dann einen Rückschluss auf die Lebensdauer dieser EdU+ Zellen. Mit dieser Methode konnten wir

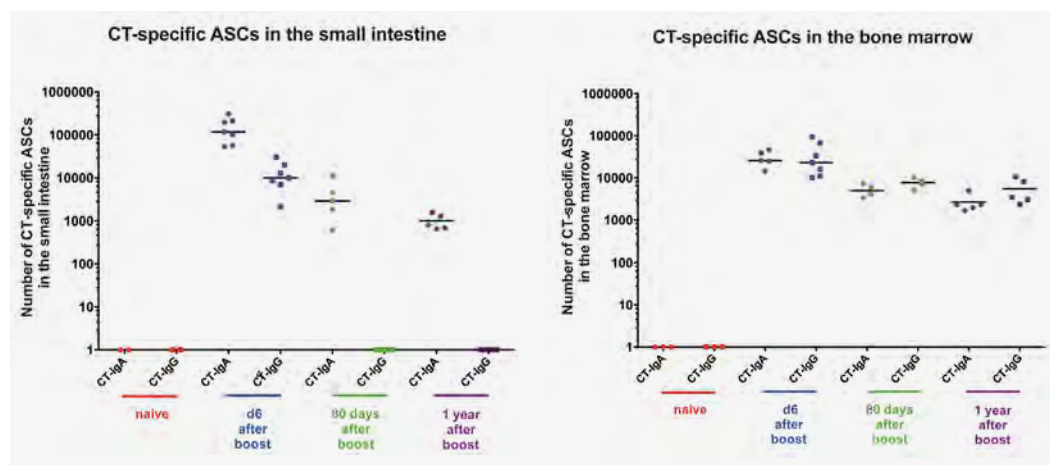
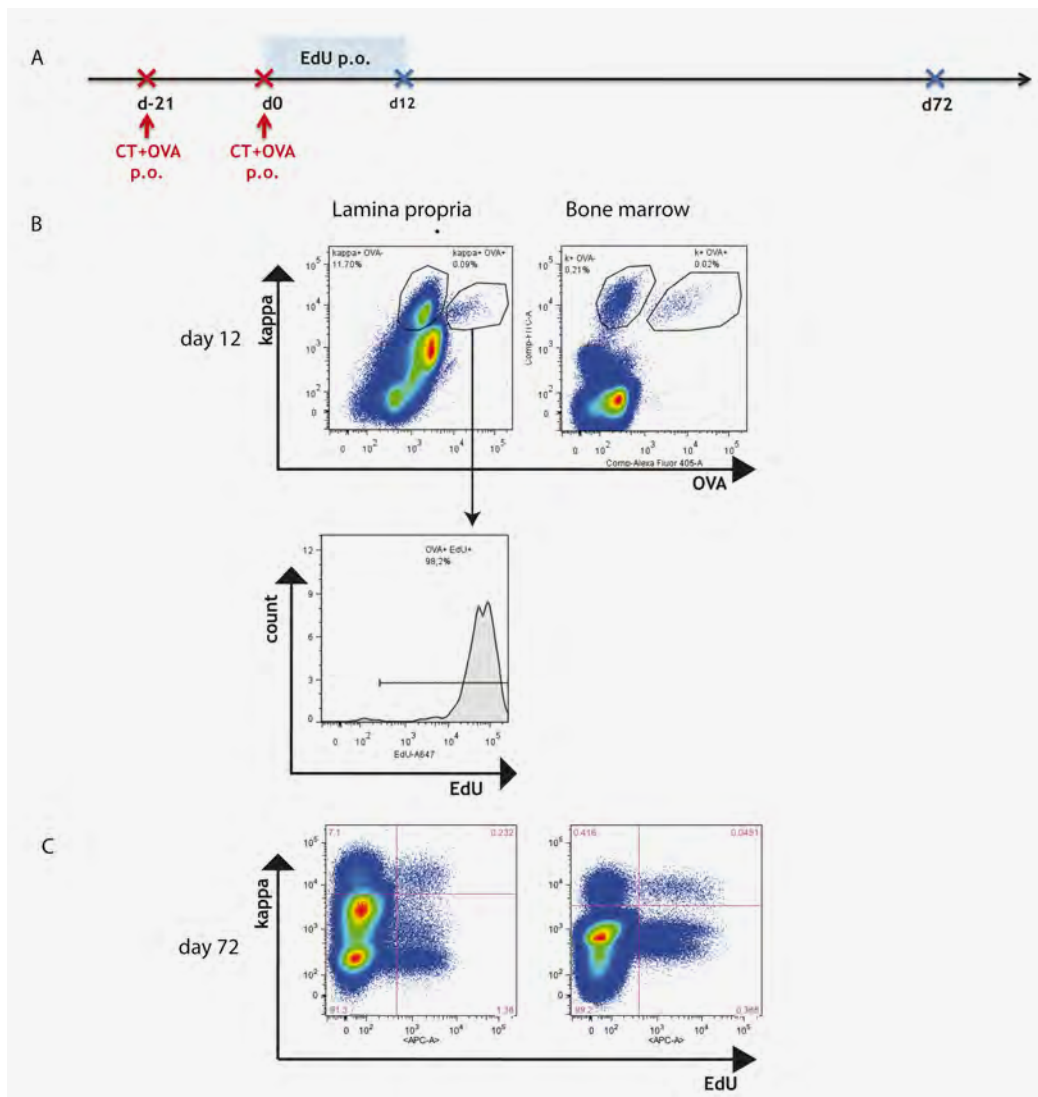


Abbildung 1: Detektion Cholera-toxin-spezifischer Plasmazellen mittels ELISPOT. (A) In der Lamina propria sind IgA<sup>+</sup> Cholera-toxin-spezifische Plasmazellen noch ein Jahr nach oraler Immunisierung detektierbar. (B) Im Knochenmark findet man ein Jahr nach oraler Immunisierung neben IgA<sup>+</sup> auch IgG<sup>+</sup> Cholera-toxin-spezifische Plasmazellen.

noch 60 Tage nach Ende der EdU-Fütterung einen Anteil EdU-markierter Plasmazellen detektieren. Dies deutet darauf hin, dass in mukosalen Immunantworten langlebige Plasmazellen entstehen. Interessanterweise konnten wir die Plasmazellen nicht nur in der Lamina propria, sondern auch im Knochenmark finden. Dies zeigt, dass Plasmazellen aus der Mukosa zum Pool langlebiger Knochenmarksplasmazellen beitragen können.

### Perspektiven

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass in der Lamina propria Überlebensnischen für langlebige Plasmazellen existieren. In Zukunft soll die molekulare Zusammensetzung dieser Nischen analysiert und mit den Nischen im Knochenmark verglichen werden.



**Abbildung 2:** (A) Langlebige Plasmazellen werden in mukosalen Immunantworten generiert. (A) Versuchsaufbau zur Ermittlung der Lebensdauer von Ovalbumin (OVA)-spezifischen Plasmazellen mit EdU-Markierung nach oraler Immunisierung. (B) OVA-spezifische Plasmazellen sind an Tag 12 nach Sekundärimmunisierung in Lamina propria und Knochenmark nachweisbar. Sie sind nahezu vollständig EdU+. (C) EdU+ Plasmazellen können noch 60 Tage nach Ende der EdU-Fütterung in Lamina propria und Knochenmark nachgewiesen werden.

## WISSENSCHAFTLER

Anja Hauser, Katrin Roth

## REFERENZEN

1. Tokoyoda, K., A. E. Hauser, T. Nakayama, and A. Radbruch. 2010. Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nature reviews. Immunology* 10: 193-200.
2. Hauser AE, Shlomchik MJ, Haberman AM. In vivo imaging studies shed light on germinal-centre development. *Nat Rev Immunol* 2007;7:499-504.
3. Radbruch A, Muehlinghaus G, Luger EO, et al. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol* 2006;6:741-50.
4. Hauser AE, Debes GF, Arce S, et al. Chemotactic responsiveness toward ligands for CXCR3 and CXCR4 is regulated on plasma blasts during the time course of a memory immune response. *J Immunol* 2002;169:1277-82.

## DRITTMITTEL

DFG HA5354/4-1

## Analyse der Dynamik von Plasmazellen im Knochenmark

**Plasmazellen finden im Knochenmark ein spezielles Mikromilieu vor, das sie über lange Zeiträume beim Menschen zum Teil über viele Jahre überleben lässt. Diese Überlebensnischen für Plasmazellen sind wichtig zur Aufrechterhaltung der protektiven Antikörpertiter über lange Zeiträume hinweg. Das Knochenmark reguliert somit die Homöostase des im Körper vorhandenen langlebigen Plasmazell-Pools. Kommt es zu Störungen in dieser Homöostase, so kann dies zu Autoimmunerkrankungen durch autoreaktive Antikörper führen. Verschiedene Signale, die das Überleben von Plasmazellen fördern, konnten bereits *in vitro* identifiziert werden. Über die Lokalisation der langlebigen Plasmazellen *in vivo* ist jedoch noch wenig bekannt. Wir untersuchen mit Konfokal- sowie Multiphoton-Mikroskopie die Plasmazellen im Gewebekontext und analysieren die zelluläre und molekulare Komposition der Überlebensnischen im Knochenmark.**

Im Verlauf von adaptiven Immunantworten differenzieren aktivierte B-Zellen in sekundären lymphatischen Organen zu Plasmablasten. Diese migrieren über das Blut ins Knochenmark, wo ein Teil von ihnen langlebig werden kann. Das Chemokin CXCL12 reguliert die Einwanderung dieser Zellen ins Knochenmark. Interessanterweise löst CXCL12 in Plasmablasten nur für einen begrenzten Zeitraum Chemotaxis aus: nachdem die Plasmablasten im Knochenmark angekommen sind, werden sie sessil und migrieren nicht mehr zu CXCL12, obwohl sie den entsprechenden Rezeptor CXCR4 weiterhin exprimieren. Die Voraussetzung für ihre Langlebigkeit ist, dass sie spezielle Überlebensnischen im Knochenmark erreichen. Sowohl Zell-Zellkontakte als auch Komponenten der extrazellulären Matrix und lösliche Faktoren (z. B. APRIL und IL-6, produziert von Eosinophilen und Megakaryozyten) spielen eine Rolle bei der Zusammensetzung dieser Nischen. Hierbei handelt es sich jedoch um dynamische Zellpopulationen, die somit keine räumlich und zeitlich stabile Nische bilden. Wir untersuchen, ob Stromazellen als stabile Organisatoren dieser Nischen agieren. Die Kolo-kalisation von Plasmazellen mit CXCL12-produzierenden Stromazellen konnte bereits gezeigt werden.

### Ergebnisse und Diskussion

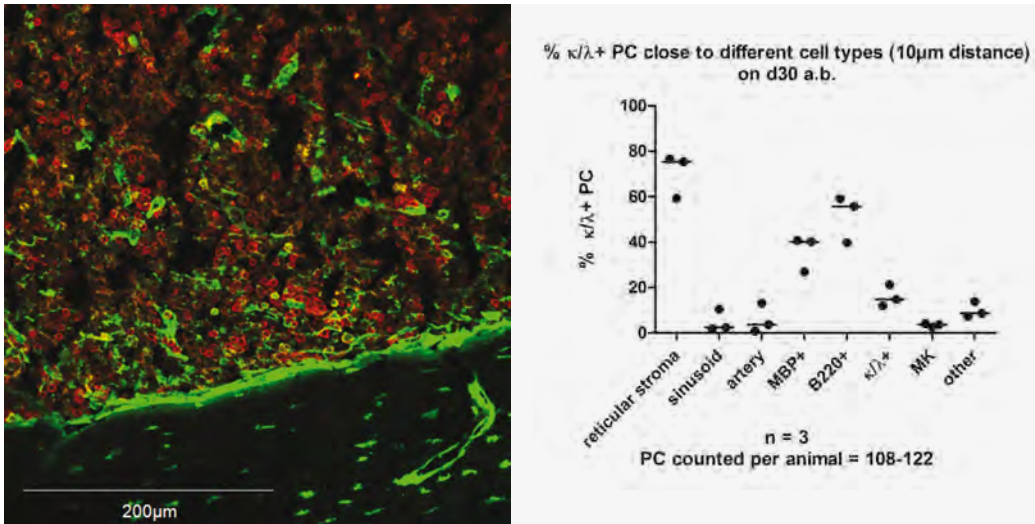
Um Plasmazellen im Knochenmark zu visualisieren nutzen wir Reporter-mäuse, die grün fluoreszierendes Protein (GFP) unter der Kontrolle des Transkriptionsfaktors Blimp-1 exprimieren. Alle Plasmazellen leuchten in diesen Mäusen grün und lassen sich somit eindeutig *in vivo* identifizieren. Histologisch kann man die Mehrheit der Plasmazellen 4 Tage nach Boost-Immunisierung in Kontakt mit Sinusoiden im Knochenmark finden. Später, 30 Tage nach Boost, sind die Plasmazellen im Parenchym, in Kontakt mit CXCL12-produzierenden Stromazellen zu finden.

Motile Plasmablasten lassen sich mittels Intravitalmikroskopie zwischen Tag 4 und Tag 8 nach Boost beobachten. Nach adoptivem Transfer werden die Plasmablasten innerhalb von wenigen Stunden sessil und treten in engen Kontakt mit Stromazellen.

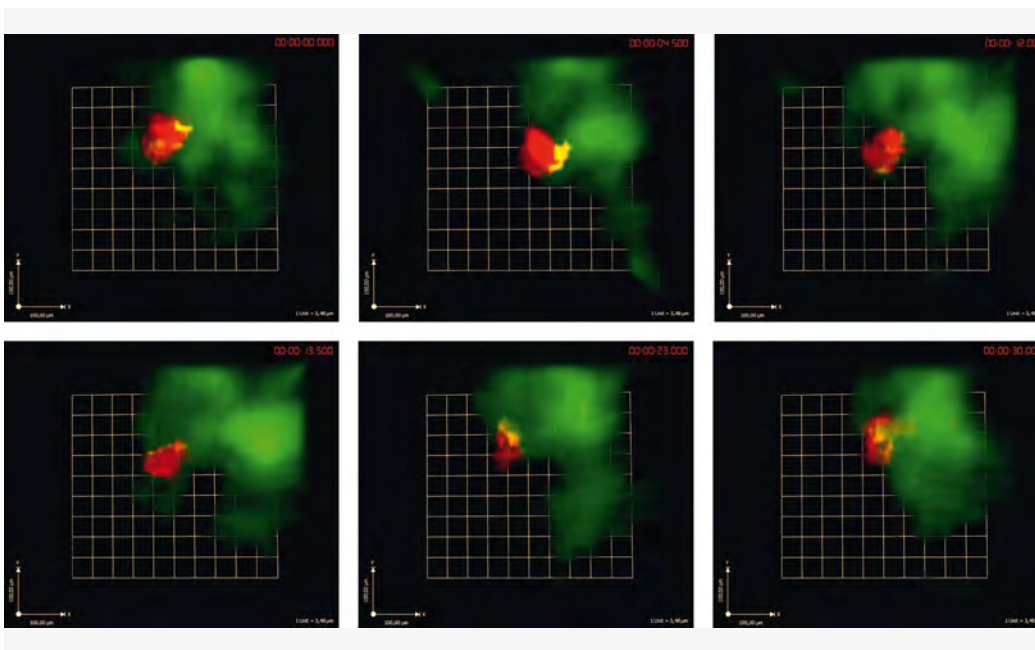
Plasmazellen treten über die medullären Sinusoide ins Knochenmark ein und migrieren dann ins Parenchym, wo sie mit CXCL12-produzierenden Stromazellen in Kontakt treten

### Perspektiven

Wir planen die Faktoren zu identifizieren, die für den Kontakt der Plasmazellen mit Stromazellen eine Rolle spielen. Weiterhin wollen wir den Einfluss von Immunreaktionen auf die Knochenmarksstromazellen untersuchen.



**Abbildung 1 (A):** Knochenmarksschlämchen mit fluoreszenten Stromazellen zur Analyse von Kontakten zwischen Plasmazellen und Stromazellen. Grün: Stromazellen Rot: CD45, ein Marker für hämatopoietische Zellen. (B) Die Quantifizierung von Kontakten zwischen Plasmazellen, Stromazellen und Zellen hämatopoietischen Ursprungs im Knochenmark zeigt, dass ein Großteil aller im Knochenmark vorhandenen Plasmazellen mit Stromazellen kolokalisiert. Kooperation mit S. Zehentmeier, AG Zellbiologie.



**Abbildung 2:** Intravitalmikroskopie im Knochenmark zeigt, dass Plasmazellen (rot) sessil sind und im engen Kontakt mit Stromazellen (grün) stehen. Dargestellt sind Ausschnitte verschiedener Zeitpunkte (Zeitangaben befinden sich am rechten oberen Rand jeder Aufnahme) eines 30-minütigen Zeitrafferfilms, die Kontaktzone ist gelb markiert.





Foto: A. Sattler

Sergei Nedospasow, PhD

## Inflammation Biology

### Basic research that may result in innovative clinical applications

#### KEYWORDS

TNF  
Lymphotoxin  
Autoimmunity  
Gene regulation  
Antibody engineering

#### GROUP MEMBERS

Group leader:  
Prof. Dr. Sergei Nedospasow

Scientists:  
Dr. Yuriy Shebzukhov,  
Dr. Andrei Kruglov

PhD student:  
Caroline Winsauer

Technical assistants:  
Sandra Prepens,  
Tharsana Tharmalingam  
Dirk Schlienz

For many years our research group is interested in the physiological functions of the cytokines of the tumor necrosis factor (TNF) superfamily: TNF- $\alpha$ , lymphotoxin (LT) $\alpha$  and LT $\beta$ . TNF blockade in human has emerged as an efficient treatment of autoimmune diseases, including rheumatoid arthritis (RA), and the therapeutic blockade of LT is under evaluation in cancer.

Using mouse models, we seek to better understand the immunological consequences of TNF ablation *in vivo*, as it occurs in patients on anti-TNF therapy. We also want to provide a rationale for better and safer anti-TNF therapies. Previous mouse studies have suggested that beneficial effects of the therapy may be accompanied by partial immunodeficiency and by the loss of TNF-mediated host-defense functions. The lymphotoxin signaling axis is known to be critical for immunity, but its blockade is also being considered for clinical applications. We have generated panels of useful mouse models to investigate the pathogenic mechanism mediated by TNF. In the “knock-in” mouse producing human TNF all clinically used TNF blockers can be studied and compared side-by-side in various disease models, such as septic shock, collagen-induced arthri-

tis, Concanavalin A-induced autoimmune hepatitis and experimental autoimmune encephalomyelitis. As outside collaborations we are also evaluating these mice for resistance to bacterial infections, in particular, to acute tuberculosis and *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG)

Additionally, we have generated a novel TNF reporter mouse, which allows tracking TNF-producing cells *in vivo* during various inflammatory conditions. Using mice with conditional ablation of either TNF or LT in specific cell types we are dissecting non-redundant functions of these cytokines in mucosal immunity. Finally, we are studying transcriptional regulation of mouse and human TNF/LT genes in various cell subsets, with specific focus on the epigenetic level of control. We are addressing the role of signalling pathways on the chromatin configuration of TNF and LT $\alpha$  promoters. Altogether, our studies will help to better understand the role of TNF and LT produced by various cell types and may lead to the development of new therapeutic approaches.



#### COOPERATION PARTNERS

Dr. S. Fillatreau, DRFZ Berlin

Dr. R. Niesner, DRFZ Berlin

Prof. Dr. S. Ehlers, Forschungszentrum Borstel, Germany

Prof. Dr. T. Blankenstein, Max-Delbrueck-Center, Berlin-Buch

Prof. Dr. D. Kuprash, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

Prof. Dr. M. Heikenwalder, University Hospital, Zurich, Switzerland and Helmholtz Center Technical University Munich, Germany

Prof. Dr. J. Scheller, Institute of Biochemistry, University of Dusseldorf, Germany

Prof. Dr. G. Trinchieri, National Cancer Institute, Frederick, MD, USA

Prof. Dr. M. Karin, University of California at San Diego, USA

Prof. Dr. A. Poltorak, Tufts University, Boston, USA

Dr. I. Garcia-Gabay, CMU, University of Geneva, Switzerland

Dr. V. Quesniaux, Institute Transgenose, CNRS, Orleans, France

Prof. Dr. J. Gommerman, University of Toronto, Canada

#### SELECTED PUBLICATIONS

1. Kruglov, A.A., Lampropoulou, V., Fillatreau, S. and Nedospasov, S.A. Pathogenic and protective functions of TNF in neuroinflammation are defined by its expression in T lymphocytes and myeloid cells. *J. Immunol.* 2011, 187: 5660-5670.

2. Kruglov, A.A., Tumanov, A.V., Grivennikov, S.I., Shebzukhov, Y.V., Kuchmiy, A.A., Efimov, G.A., Drutskaya, M.S., Scheller, J., Kuprash, D.V., and Nedospasov, S.A. Modalities of experimental TNF blockade in vivo: mouse models. *Adv.Exp.Med.Biol.* 2011, 691: 421-431.

3. Daller, B., Musch, W., Rohrl, J., Tumanov, A.V., Nedospasov, S.A., Mannel, D.N., Schneider-Braichert, W., and Hehlgans, T. Lymphotoxin b receptor activation by Lymphotoxin a1b2 and LIGHT promotes tumor growth in an NFkB-dependent manner. *Int. J. Cancer* 2011, 128: 1363-1370.

4. Conrad, U., Plagmann, I., Malchow, S., Sack, M., Floss, D.M., Kruglov, A.A., Nedospasov, S.A., Rose-John, S., and Scheller, J. EGPylated anti-human TNF-therapeutic single domain antibodies for prevention of lethal septic shock. *Plant Biotechnol. J.* 2011, 9: 22-31.

5. Kendall, G., Hirstova, M., Heuer, H., Dafou, D., Acosta-Saltos, A., Almolda, B., Zbarsky, V., Rumajogee, P., Horn, S., Castellano, B., Nedospasov, S., Pfeffer, K., Peebles, D., and Raivich, G. TNF gene cluster deletion abolishes lipopolysaccharide-mediated sensitisation of the neonatal brain to hypoxic ischemic insult. *Lab. Invest.* 2011, 91: 328-341.

6. Widenmeyer, M., Shebzukhov, Yu.V., Haen, S.P., Schmidt, D., Clasen, D., Kuprash, D.V., Nedospasov, S.A., Stenzl, A., Aebert, H., Wernet, D., Stevanovic,

S., Pereira, P.L., Rammensee, H.-G., and Gouttefangeas, C. Tumor antigen-specific T cells and antibodies in cancer patients treated with radiofrequency ablation. *Int. J. Cancer.* 2011, 128: 2653-2662.

7. Schioppa, T., Moore, R., Thompson, R.G., Rosser, E.C., Kulbe, H., Nedospasov, S., Mauri, C., Coussens, L.M., Balkwill, F.R. B regulatory cells and the tumor-promoting actions of TNF- $\alpha$  during squamous carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011, 108: 10662-10667.

8. Tumanov AV, Koroleva EP, Guo X, Wang Y, Kruglov A, Nedospasov S, Fu YX. Lymphotoxin controls the IL-22 protection pathway in gut innate lymphoid cells during mucosal pathogen challenge. *Cell Host Microbe.* 2011, 10: 44-53.

9. Maniati, E., Bossard, M., Cook, N., Candido, J.B., Emami-Shahri, N., Nedospasov, S.A., Balkwill, F.R., Tuveson, D.A., Hagemann, T. Crosstalk between the canonical NF- $\kappa$ B and Notch signaling pathways inhibits Pparg expression and promotes pancreatic cancer progression in mice. *J. Clin. Invest.* 2011, 121: 4685-4699.

10. Kuchmiy, A., Kruglov, A.A., Galimov, A.R., Shebzukhov, Yu.V., Chudakov, D.M., Lukyanov, S.A., Nedospasov, S.A. Novel transgenic reporter mouse for studying Tumor Necrosis Factor expression. *Russ. J. Immunol.* 2011, 5(14): 205-214

## SCIENTISTS

A. Kruglov, S. Prepens,  
C. Winsauer, L. Drutskaya  
and S. Nedospasow

## COOPERATION PARTNERS

L. Morawietz,  
Charité – Universitätsmedizin,  
Berlin, Germany

S. Fillatreau, DRFZ Berlin

T. Helgans, D. Maennel,  
Department of Pathology,  
Universität Regensburg,  
Germany

D. Kuprash, Engelhardt  
Institute of Molecular  
Biology, Moscow, Russia

M. Heikenwalder, University  
Hospital, Zurich, Switzerland

J. Gommerman, University of  
Toronto, Toronto, Canada

## REFERENCES

Kruglov AA, Kuchmiy A,  
Grivennikov SI, Tumanov AV,  
Kuprash DV, Nedospasow SA.  
Physiological functions of tumor  
necrosis factor and the  
consequences of its pathologic  
overexpression or blockade:  
mouse models. *Cytokine Growth  
Factor Rev.* 2008 Jun-Aug;  
19(3-4):231-44.

Kruglov AA, Lampropoulou V,  
Fillatreau S, Nedospasow SA.  
Pathogenic and protective  
functions of TNF in neuroinflamma-  
tion are defined by its expression  
in T lymphocytes and myeloid  
cells. *J Immunol.* 2011 Dec 1;  
187(11):5660-70.

Feldmann M. Many cytokines are  
very useful therapeutic targets in  
disease. *J Clin Invest.* 2008 Nov;  
118(11):3533-6.

Fagarasan S, Kawamoto S,  
Kanagawa O, Suzuki K. Adaptive  
immune regulation in the gut: T  
cell-dependent and T cell-indepen-  
dent IgA synthesis. *Annu Rev  
Immunol.* 2010 Mar;28:243-73

Mebius RE, Rennert P, Weissman  
IL. Developing lymph nodes collect  
CD4+CD3- LTb+ cells that can  
differentiate to APC, NK cells, and  
follicular cells but not T or B cells.  
*Immunity.* 1997 Oct;7(4):493-504.

## TNF and lymphotoxin expression by various cell types in autoimmunity and gut homeostasis

**Tumor necrosis factor (TNF), Lymphotoxin (LT)  $\alpha$  and LT $\beta$  are cytokines expressed by multiple cell types in the immune system. They have a broad range of physiological functions during development and maintenance of the immune system, as well as during inflammation (1). In the reporting period we studied the role of TNF/LT produced by various lymphocytes in autoimmune disease models and in gut immunity. We recently reported the critical role of TNF produced by various cell subsets in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis (2). Now we have extended our studies to collagen-induced arthritis (CIA). In the gut, we further dissected critical, non-redundant functions of TNF/LT produced by innate lymphoid cells (ILC) in the development of Peyer's patches (PP) and identified LT $\alpha$  (but not TNF or LT $\beta$ ) production by ILC as critical regulator of IgA production.**

### Pathogenic and protective functions of TNF during autoimmunity are defined by its cellular sources

Elevated TNF levels are associated with pathology in many autoimmune disorders. TNF blockade is beneficial in rheumatoid arthritis, autoimmune psoriasis and Crohn's disease (3).

We wanted to dissect the pathogenic and protective cellular sources of TNF during autoimmune arthritis. We found that TNF produced by macrophages and neutrophils played a pathogenic role in collagen-induced arthritis (Fig. 1A, B, C) while TNF from T cells provided protection possibly via the control of Th1 and Th17 development in this disease (Fig. 1A, B, C). Mice with TNF deletion in B cells, developed arthritis with significantly reduced severity correlating with reduced germinal center formation and diminished anti-collagen antibody titres, (Fig. 1D, E, F), implicating a critical role for TNF in autoantibody production and arthritis development. Thus, our data uncover non-redundant TNF functions in arthritis: direct pathogenic role of TNF derived from myeloid cells in arthritis induction, control of autoreactive T cell development by T-cell derived TNF, and regulation of autoantibody production via control of FDCs development and GC formation, presumably due to soluble TNF produced by B cells.

### How innate lymphoid cells may regulate IgA production in the gut?

Intestinal IgA production regulates gut microflora composition and may thereby control an autoimmune diseases development (3). Intestinal IgA production occurs in PP and requires T cell help, but could also occur in isolated lymphoid follicle and in lamina propria through a T cell-dependent mechanism. ILC are a specific cell subset which is critical for the development of PP and lymph nodes, as well as for regulation of T cell-independent IgA production (3, 4). Additionally, ILC express high levels of LT $\alpha$ , LT $\beta$  and TNF. Using mouse genetic approaches we addressed the role of TNF/LT produced by ILC in regulation of IgA production and found that soluble LT $\alpha$  (sLT $\alpha_3$ ), but neither TNF nor transmembrane LT $\alpha_1$ LT $\beta_2$  expressed by ILC, is critical for IgA production in the gut in the absence of PP and ILF (Fig. 2A). Our data suggest that ILC-derived sLT $\alpha_3$  regulates recruitment of B1 B cells to the gut (Fig. 2B, C) and identify a rare unique function of LT $\alpha$ , independent of TNF and LT $\beta$ , in mucosal immunity.

### Perspectives

Our data dissected pathogenic and protective functions of TNF expressed by various cell types during collagen-induced arthritis and EAE. Overall, our results argue for the benefits of cell-specific blockade of TNF as possible next generation anti-TNF therapy in autoimmune diseases. We are currently developing pharmacological reagents that may help to evaluate this idea in collagen-induced arthritis. Apart from this, our data revealed a critical role of LT $\alpha$  derived from ILC in B cell homing to the gut. Taking into account that one of the currently used TNF blockers, Etanercept (human TNFR2-Ig fusion protein) may also block soluble LT $\alpha$  *in vivo*, it will be interesting to analyze how such a blockade affects mucosal immunity in patients and whether blockade of LT $\alpha$  may explain the existing discrepancy between the efficacy of Infliximab, an anti-hTNF antibody, in inflammatory bowel disease (IBD) treatment and inefficiency of Etanercept in IBD.



Figure 1: Pathogenic and protective functions of TNF during autoimmunity are defined by its cellular sources.

A. Collagen-induced arthritis incidence in WT, T-TNF KO, MN-TNF KO and TNF KO animals. Data are representative of three independent experiments.

B. Disease severity in WT, T-TNF KO, MN-TNF KO and TNF KO animals. Data are representative of three independent experiments.

C. Cytokine-producing Th1 and Th17 CD4<sup>+</sup> T cells in spleen of WT, T-TNF KO, MN-TNF KO and TNF KO mice at day 14 after CIA induction. Data are representative of three independent experiments.

D. Arthritis incidence in WT, B-TNF KO and TNF KO mice. Data are representative of three independent experiments.

E. Disease severity in WT, B-TNF KO and TNF KO animals. Data are representative of two independent experiments.

F. Anti-collagen IgG antibody titres in WT, T-TNF KO, MN-TNF KO, B-TNF KO and TNF KO mice. Data are representative of two independent experiments.

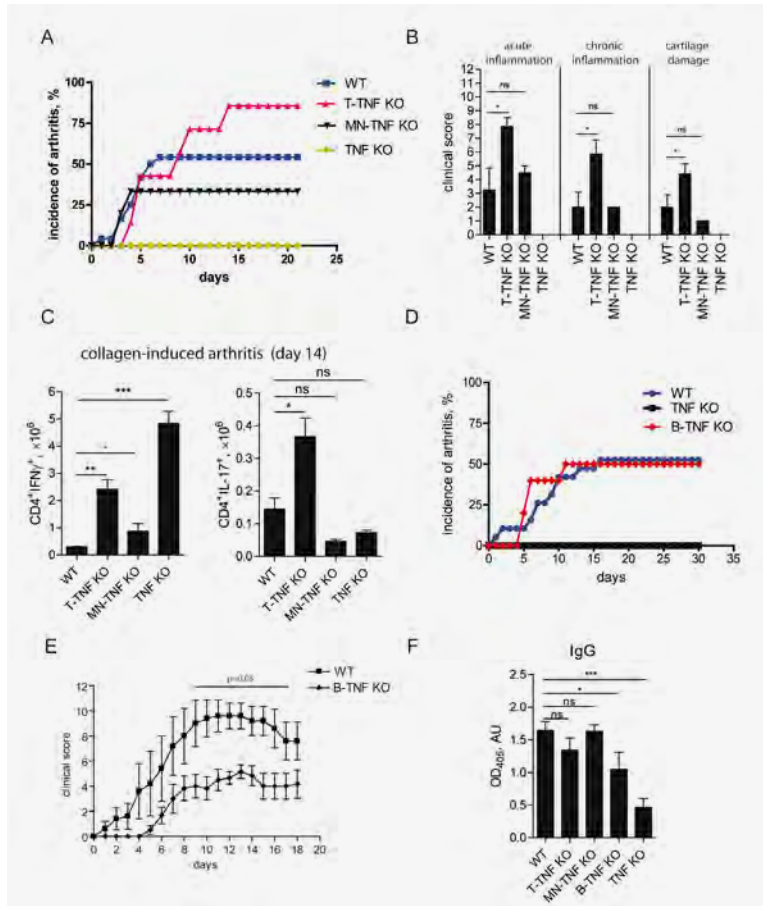
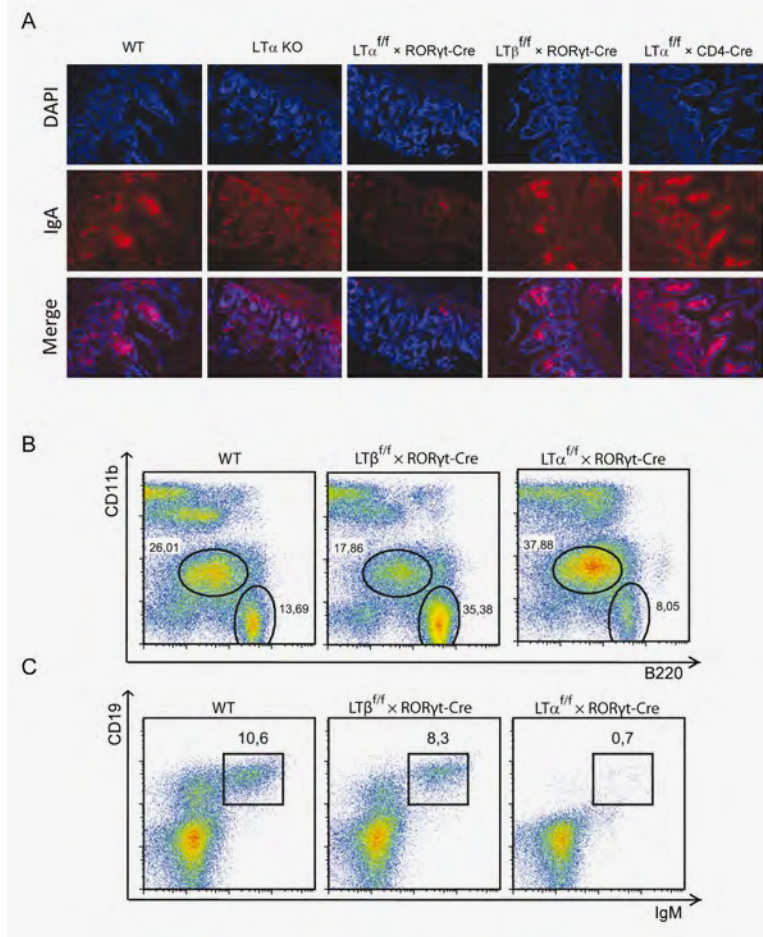


Figure 2: Critical role of soluble LT $\alpha$  produced by ILC in intestinal IgA production.

A. Immunofluorescence images of intestines stained for IgA and counterstained with DAPI. Data are representative of more than two independent experiments.

B. Increased B1 B cells in peritoneal cavity of LT $\alpha^{fl/fl}$ RORYt-Cre KO mice. Results of more than two independent experiments.

C. Reduced B cell numbers in LP of in LT $\alpha^{fl/fl}$ RORYt-Cre KO mice. Results are representative of more than two independent experiments.



**PUBLICATIONS**

1. Kruglov AA, Lampropoulou V, Fillatreau S, Nedospasow SA. Pathogenic and protective functions of TNF in neuroinflammation are defined by its expression in T lymphocytes and myeloid cells. *J Immunol.* 2011 Dec 1; 187(11):5660-70.

2. Tumanov AV, Grivennikov SI, Kruglov AA, Shebzukhov YV, Koroleva EP, Piao Y, Cui CY, Kuprash DV, Nedospasow SA. Cellular source and molecular form of TNF specify its distinct functions in organization of secondary lymphoid organs. *Blood.* 2010 Nov 4;116(18):3456-64.

3. Conrad U, Plagmann I, Malchow S, Sack M, Floss DM, Kruglov AA, Nedospasow SA, Rose-John S, Scheller J. ELPylated anti-human TNF therapeutic single-domain antibodies for prevention of lethal septic shock. *Plant Biotechnol J.* 2011 Jan;9(1):22-31

4. Wang Y, Koroleva EP, Kruglov AA, Kuprash DV, Nedospasow SA, Fu YX, Tumanov AV. Lymphotoxin beta receptor signaling in intestinal epithelial cells orchestrates innate immune responses against mucosal bacterial infection. *Immunity.* 2010 Mar 26;32(3):403-13. Epub 2010 Mar 11.

5. Tumanov AV, Koroleva EP, Guo X, Wang Y, Kruglov A, Nedospasow S, Fu YX. Lymphotoxin controls the IL-22 protection pathway in gut innate lymphoid cells during mucosal pathogen challenge. *Cell Host Microbe.* 2011, 10: 44-53.

**FUNDING**

DFG (SFB 633 and SFB/TR 52)



## SCIENTISTS

Y. Shebzukhov, K. Horn,  
A. Kuchmiy, L. Drutskaya,  
and S. Nedospasow

## COOPERATION PARTNERS

D. Kuprash, Engelhardt Institute of  
Molecular Biology, Oncoimmuno-  
logy Group, Moscow, Russia

## REFERENCES

Remouchamps C, Boutaffala L,  
Ganeff C, DeJardin E. Biology  
and signal transduction  
pathways of the  
Lymphotoxin- $\alpha$ /LT $\beta$ R  
system. Cytokine Growth  
Factor Rev.  
2011;22(5-6):301-10.

## PUBLICATIONS

1. Shebzukhov YV and Kuprash DV.  
Transcriptional regulation of TNF/  
LT locus in immune cells. Mol. Biol.  
2011;45(1):47-57.

2. Kruglov AA, Tumanov AV,  
Grivennikov SI, Shebzukhov YV,  
Kuchmiy AA, Efimov GA, Drutskaya  
MS, Scheller J, Kuprash DV,  
Nedospasow SA. Modalities of  
experimental TNF blockade in vivo:  
mouse models. Adv Exp Med Biol.  
2011;691:421-31.

3. Kuchmiy AA, Kruglov AA,  
Galimov AR, Shebzukhov YV,  
Chudakov DM, Lukyanov SA and  
Nedospasow SA. New TNF reporter  
mouse to study TNF expression.  
Russ J Immunol. 2011;5: 205-214.

## FUNDING

DFG (SFB 633 and SFB/TR 52)

## Indispensable role of transcriptional factor c-Jun in regulation of chromatin conformation and transcriptional activity of TNF gene in T cell subsets.

**TNF and soluble LT $\alpha$  are homologous cytokines sharing the same receptors and encoded by neighboring genes located in the compact TNF/Lymphotoxin locus (1). They are both expressed in CD4+ T cells, but demonstrate distinct patterns of chromatin/epigenetic regulation. We found that both the promoter and coding part of LT $\alpha$  gene have open chromatin conformation already in naïve CD4+ T cells. In contrast, as we demonstrated earlier, the promoter of TNF gene acquires open state only after activation of naïve cells, in resting memory cells or cells polarized under Th1 and Th17 conditions. We identified the transcription factors responsible for remodeling of TNF promoter and upstream signaling mechanisms providing different levels of TNF and LT $\alpha$  expression in T cell subsets.**

### Transcription factors c-Jun and NFATc2/NFAT1 are responsible for remodeling of TNF promoter.

We analyzed the nuclear fraction of quiescent and activated T cells and found that the transcription factors c-Jun and NFATc2/NFAT1 play the major role in regulation of chromatin configuration at the TNF promoter. Inhibitors of calcineurin (CsA) and of JNK (SP600125) decreased the amounts of active forms of NFATc2 and c-Jun, respectively, and inhibited the acquisition of the open chromatin conformation at the TNF proximal promoter/TSS upon activation (Fig. 1A).

The open state of the TNF promoter in Th1 and Th17 cells correlated with higher levels of expression and phosphorylation of transcription factor c-Jun, while NFATc2 in quiescent polarized T cells was found to be

in inactive phosphorylated form (Fig. 1B). Treatment with SP600125, but not with CsA facilitated restoration of closed chromatin conformation at the TNF promoter (Fig. 1C).

Overall we found that both active c-Jun and NFATc2 are needed for conformational opening of the TNF promoter in naïve T cells, while c-Jun is sufficient to maintain the open conformation of TNF promoter in Th1 and Th17 cells.

### Th0 and Th2 cell have defects in MAPK/AP1 signaling pathway.

Transcription factor c-Jun is involved in the regulation of both TNF and LT $\alpha$  genes. Low level of phosphorylation of c-Jun and c-Jun N-terminal kinases (JNKs) was found in Th0 and Th2 cells – the T cell subsets characterized by low level of TNF and LT $\alpha$  transcription (Fig. 2A).

The upstream Map3 kinase MEKK1 is represented in T cells predominantly by truncated 91 kDa protein - MEKK1(C) which is processed by Caspase 3. We found that activation-induced phosphorylation of MEKK1(C) is impaired in Th2, but not in Th0 cells. Interestingly, phosphorylation of minor unprocessed (full length) form of MEKK1 can be detected in all tested Th subsets, including Th2 (Fig. 2B).

Small GTPases of RAC family are acting upstream of MEKK1 in TCR signaling cascade and they are regulated (inhibited) by phosphorylation of Serine 71. We found similar levels of protein expression and pS71

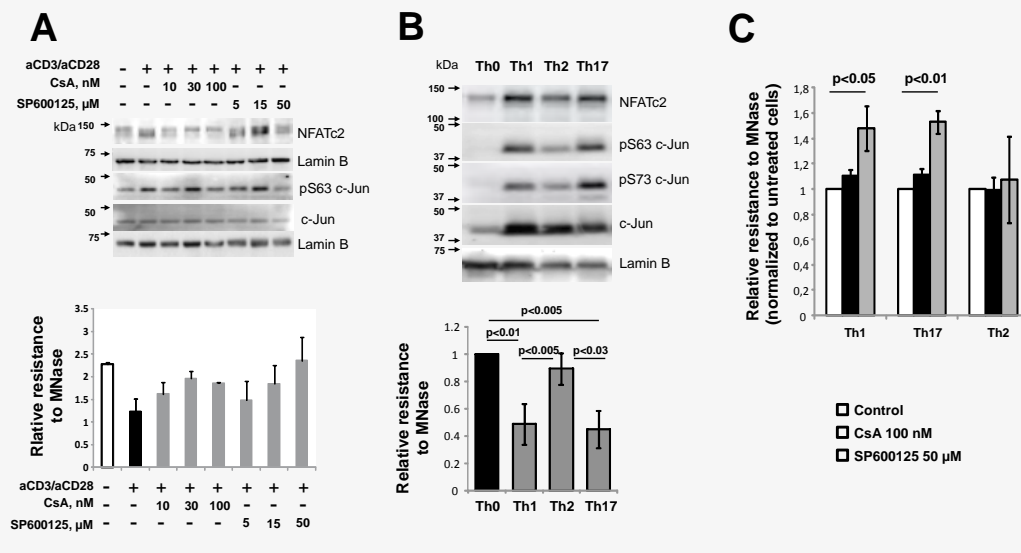


Figure 1: Transcription factors NFATc2 and c-Jun are responsible for remodeling of proximal TNF promoter.

A. Upper panels: Western blotting. CD4+ T cells from secondary lymphoid organs were pre-treated by inhibitors for 1 hour and treated for 1 hour with 4  $\mu$ g/ml of anti-CD3 and 1  $\mu$ g/ml of anti-CD28 antibodies. Lower panels: Relative resistance to MNase digestion at TNF proximal promoter/TSS in corresponding samples. Signals of amplicon -50+73 were normalized to average of signals of amplicons +67+189 and +121+240. Average of 2 experiments is shown.

B. Naïve CD4+ T cells from secondary lymphoid organs were polarized for 5 days. Upper panels: Western blotting. Lower panels: Relative resistance to MNase digestion at TNF proximal promoter/TSS in corresponding samples. Signals

>>

phosphorylation of Rac proteins in all tested Th subsets (Fig. 2C).

Overall, we conclude that activity of MAPK/AP1 signaling pathway in Th0 and Th2 cells is regulated at different levels: in Th0 cells activation signal is not transmitted from MEKK1 to JNK1/2, while in Th2 cells signaling appears to be blocked upstream of small GTPases of RAC family.

**Perspectives**

We will investigate the role of other components of MAPK/JNK cascade (MKK4/7, MEKK1/3) and proteins involved in proximal TCR signaling in the transcriptional regulation of TNF/LT $\alpha$  genes in T cell subsets, using inhibitors and siRNA.

>> Figure 1:

of amplicon -50+73 were normalized to have range of signals of amplicons +67+189 and +121+240. Average of 4 experiments is shown (normalized to Th0 cells).

C. Relative resistance to MNase digestion at TNF proximal promoter/TSS in polarized T cells treated with CsA and SP600125. Naïve CD4+ T cells from secondary lymphoid organs were polarized for 5 days separated from feeder on Lymphocyte Separation Medium, resuspended in culture medium without cytokines or antibodies and incubated 12 hours with indicated concentrations of inhibitors. Signals of amplicon -50+73 were normalized to average of signals of amplicons +67+189 and +121+240. Average of 2 (for Th2 cells) and 3 (for Th1 and Th17 cells) experiments is shown (normalized to cells without inhibitors).

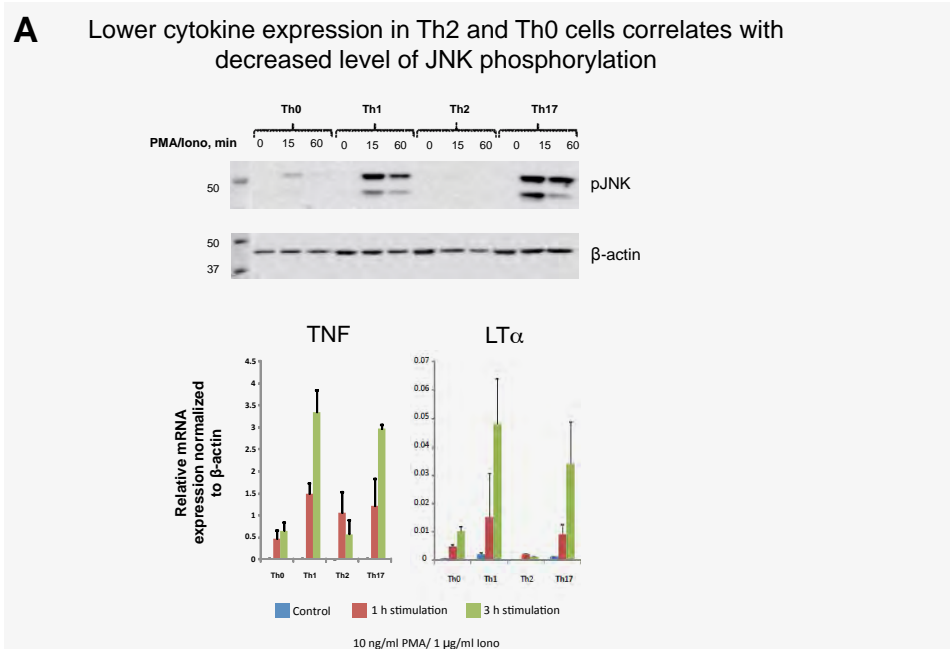
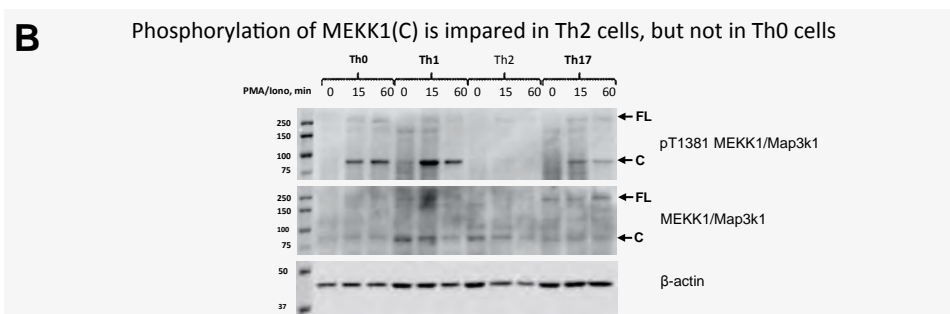
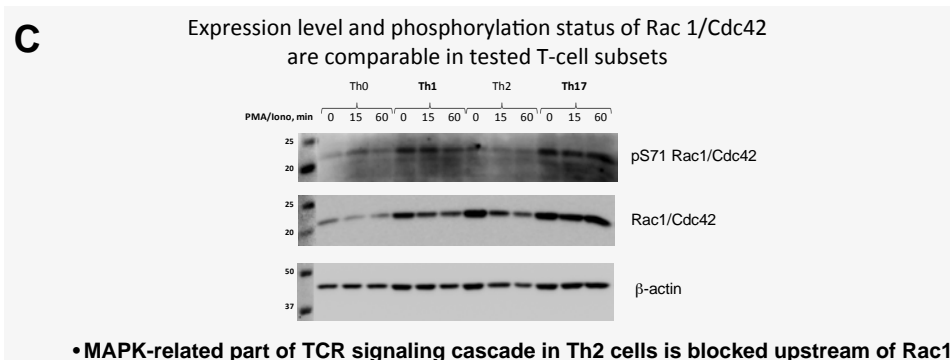


Figure 2: Defect of MAPK/JNK signaling in Th0 and Th2 cells.

A. Upper panel: Western blotting analysis of cytoplasmic fractions of polarized T cells for phosphorylated form of JNK1/2. Lower panel: Quantitative RT-PCR analysis of TNF and LT $\alpha$  mRNA in polarized T cells.



B and C. Western blotting analysis of total and phosphorylated forms of MEKK1/Map3k1 (B) and Rac1/Cdc42 (C).





Dr. rer. nat. Raluca Niesner

## Biophysikalische Analytik

### Dynamisches Imaging im lebenden Organismus: neue Entwicklungen

#### STICHWORTE

Intravitale  
Multi-Photonen-Mikroskopie,  
Fluoreszenz-Lebensdauer-Imaging,  
Multi-Photonen-Endoskopie,  
Methoden zur Verbesserung der  
räumlichen Auflösung im Gewebe

#### MITARBEITER

##### Gruppenleiter

Dr. rer. nat. Raluca Niesner

##### Doktoranden

Karolin Pollok-Trage

(Dipl.-Ing. Biotechnol.),

Agata-Anna Mossakowski

(med. Doktorandin)

##### Masterstudent

Jenny Gerhard (bis Nov. 2011)

##### Technischer Assistent

Robert Günther

Zelldynamik und zelluläre Wechselwirkungen in lymphatischen oder entzündeten Organen stellen grundlegende Mechanismen bei der Entstehung und Reifung von Immunantworten dar. Die Multi-Photonen-Laser-Raster-Mikroskopie (MPLSM) ist eine Technik, um diese Immunantworten minimal invasiv, mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung in lebenden Organismen zu untersuchen. Als Fluoreszenz-Technik bietet MPLSM außerdem die Möglichkeit, Zellfunktionen molekülspezifisch direkt im lebenden Gewebe zu analysieren. Allerdings gibt es noch Limitierungen dieser Technik in Bezug auf ihre optischen Eigenschaften und ihr Vermögen, Zellfunktionen quantitativ zu erfassen.

Ziel unserer Forschung ist es, MPLSM technologisch weiterzuentwickeln, um eine bessere Visualisierung und Quantifizierung von Immunantworten in lymphatischen Organen sowie in entzündeten Geweben, z.B. Gelenken, zu erreichen. Eine enge Zusammenarbeit mit anderen Gruppen am DRFZ ist dabei unerlässlich, um diese Entwicklung so zu gestalten, dass MPLSM den neuen Ansätzen in der transgenen Mausexpressionstechnologie und neuen Krankheitsmodellen entspricht.

Zwecks besserer Visualisierung mit MPLSM tief im Gewebe, entwickeln wir Techniken die, zum einen, ein schärferes drei-dimensionales Bild wiedergeben und, zum anderen, neue bisher mikroskopisch unzugängliche Organareale erschließen. Mit Hilfe der striped-illumination MPLSM (SI-MPLSM), einer Kamera-basierten Technik, werden der Kontrast und die Auflösung im intravitalem Imaging deutlich erhöht. Somit ist es uns zum ersten Mal gelungen die Dynamik

von CD21/35-Clustern auf der Oberfläche von folliculären dendritischen Zellen (FDCs) und ihre Wechselwirkung mit den B Zellen tief im Lymphknoten NP-CyG immunisierter Mäuse darzustellen. Dabei entsteht durch die Bewegung eines bekannten Anregungsmusters über die Probe eine Reihe von "gestreiften" Bildern. Mit Hilfe entsprechender Algorithmen wird daraus ein Bild verbesserter Auflösung gewonnen. Um die räumliche Auflösung in tieferen Schichten zu verbessern, die nicht mittels SI-MPLSM dargestellt werden können, wird ein U-Z-Interferometer entwickelt und im Detektionsstrahlengang des Mikroskops eingebaut. Der Einsatz eines Mach-Zahnder-Interferometers im Detektionsstrahlengang ermöglicht durch den Vergleich des emittierten Lichtes mit sich selbst eine genauere Lokalisierung der Objekte. Dadurch wird eine zwei Mal bessere laterale Auflösung in MPLSM basiert auf Punktdetektion erreicht.

Um neue Organareale der MPLSM zu erschließen, werden neben dem Einsatz von optisch-parametrischen Oszillatoren, die die Anregung im Infrarotbereich (1050-1600 nm) ermöglichen und damit die Lichtstreuung im Gewebe reduzieren, endomikroskopische Techniken entwickelt. Die Hauptlimitierung der existierenden Endoskopie ist die schlechte Auflösung und die Tatsache, dass die Bildgebung direkt am Ort des Eingriffs (beschädigte Stelle) erfolgt. Mit dem Einsatz neuer GRIN-Objektive (gradient refractive index) wird die optische Qualität von MPLSM in der Endoskopie ermöglicht und damit subzelluläre Auflösung im Gelenk der Maus im physiologischen und pathologischen Fall erreicht.



Mit zeitlich aufgelösten Imaging Techniken wie dem Fluoreszenz-Lebensdauer Imaging sind wir in der Lage tief im Gewebe Zellfunktionen mittels Indikatoren wie das zelluläre Calcium oder den Zellmetabolismus zu quantifizieren. Wir konnten zeigen, dass wir dynamisch, sub-zellulär und tief im Gewebe (150  $\mu\text{m}$  Tiefe) die neuronale Calcium-Konzentration darstellen können und damit erstmalig den neuronalen Schaden als Folge chronischer Neuroinflammation *in situ* quantifizieren. Unsere gegenwärtige Arbeit richtet sich auf eine Marker-freie Quantifizierung der Aktivierung NAD(P)H-abhängiger Enzyme im pathologischen Kontext, d.h. Arteriosklerose, Schlaganfall und Multiple Sklerose, sowohl im Mausmodell als auch im klinischen Fall.

Grundsätzlich wollen wir mit der Weiterentwicklungen mikroskopischer Verfahren eine bessere Darstellung der Biologie auf zellulärer und molekularer Ebene im Gewebekontext erreichen. Bezüglich eines erfolgreichen Einsatzes des Mikroendoskops in MPLSM, ist es denkbar, diese Technik für klinische Anwendungen weiterzuentwickeln.

#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Dr. med. vet. Anja Erika Hauser, Immundynamik, DRFZ, Berlin

Dr. rer. nat. Hyun-Dong Chang, Zellbiologie, DRFZ, Berlin

Dr. rer. nat. Jan-Leo Rinnenthal, Institut für Neuropathologie, Charité–Universitätsmedizin Berlin

PD Dr. med. Martin Behne, Institut für Dermatologie und Venerologie, Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg

Dr. med. Helena Radbruch, BSRT und Labor für molekulare Psychiatrie, Charité–Universitätsmedizin Berlin

Dr. Carmen Infante-Duarte, Experimentelle Neuroimmunologie, Charité–Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. Friedemann Paul, NCRC, Charité–Universitätsmedizin Berlin

Dr. Heinrich Spiecker, Volker Andresen, LaVision Biotec GmbH, Bielefeld

PD Dr. Uta Hoepken, Max-Delbrück Zentrum für molekulare Medizin, Berlin

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Niesner RA, Hauser AE. Recent advances in dynamic intravital multi-photon microscopy. *Cytometry A*. 2011; 70(10):789-98.

2. Herz J, Paterka M, Niesner RA, Brandt AU, Siffrin V, Leuenberger T, Birkenstock J, Mossakowski A, Glumm R, Zipp F, Radbruch H. *In vivo* imaging of lymphocytes in the CNS reveals different behaviour of naïve T cells in health and autoimmunity. *J Neuroinflammation*. 2011;8:131.

3. Herz J, Siffrin V, Hauser AE, Brandt AU, Leuenberger T, Radbruch H, Zipp F, Niesner RA. Expanding two-photon intravital microscopy to the infrared by means of optical parametric oscillator. *Biophys J*. 2010 ;98(4):715-23.

4. Siffrin V, Radbruch H, Glumm R, Niesner R, Paterka M, Herz J, Leuenberger T, Lehmann SM, Luenstedt S, Rinnenthal JL, Laube G, Luche H, Lehnardt S, Fehling HJ, Griesbeck O, Zipp F. *In vivo* imaging of partially reversible th17 cell-induced neuronal dysfunction in the course of encephalomyelitis. *Immunity*. 2010 ;33(3):424-36.



## WISSENSCHAFTLER

Agata-Anna Mossakowski,  
Jenny Gerhard,  
R. Niesner

## KOOPERATIONSPARTNER

H. Radbruch (BSRT, Labor für molekulare Psychiatrie, CC15, Charité – Universitätsmedizin Berlin, J.-L. Rinnenthal (Institut für Neuropathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin), M. Behne (Eppendorf Universitätsklinikum Hamburg); A.E. Hauser (Immunodynamics, DRFZ, Berlin)

## REFERENZEN

1. P. Provenzano, C. Rueden, S. Trier, L. Yan, S. Ponik, D. Inman, P. Keely, K. Eliceiri, J. Biomed. Opt., 2008, 13(3), 031220
2. P. Provenzano, K. Eliceiri, P. Keely, 2009, Clin. Exp. Metastasis, 26, 357-370
3. Q. Yu, A. Heikal, 2009, J. Photochem. Photobiol. B, 95, 46-57
4. M. Skala, K. Richtig, A. Gendron-Fitzpatrick, J. Eickhoff, K. Eliceiri, J. White, N. Ramanujam, 2007, PNAS, 104, 19494-19499
5. V. Ramanujam, J. Jo, G. Cantu, B. Herman, 2008, J. Microscopy, 230(3), 329-338
6. M. Block, 2008, BMC Neuroscience, 9:58
7. N. Heim, O. Garaschuk, M.W. Friedrich, M. Mank, R.I. Milos, Y. Kovalchuk, A. Konnerth, O. Griesbeck, 2007, Nat. Meth., 4(2), 127-129

## PUBLIKATIONEN

Selective Detection of NADPH Oxidase in Polymorphonuclear Cells by Means of NAD(P)H-Based Fluorescence Lifetime Imaging, R. Niesner, P. Narang, V. Andresen, H. Spiecker, K.-H. Gericke, M. Gunzer, J. Biophys., 602639, 2008

## DRITTMITTEL

DFG project NI1167/2-1

# Fluoreszenz-Lebensdauer Imaging in *in vivo* MPLSM: Zellfunktionen quantifizieren

**Die Fluoreszenzlebensdauer ist ein Molekül-spezifischer Parameter, der nur begrenzt und meistens bekannt von der unmittelbaren Umgebung des Moleküls beeinflusst wird. Somit erlaubt das Fluoreszenzlebensdauer-Imaging, im Gegensatz zu anderen Fluoreszenz-Techniken, die Quantifizierung der Zell- und Gewebefunktionen. Ein zentrales Interesse in den Biowissenschaften und in der Biomedizin wird der Erhaltung der ursprünglichen Umgebung wichtiger biologischer Prozesse gewidmet. Dadurch ergeben sich zwei Anforderungen an die Mikroskopie: Markerfreies Imaging durch Nutzung der Fluoreszenz endogener Chromophore wie der Koenzyme NADH und NADPH (zusammengefasst NAD(P)H), und intravitales Imaging, d.h. Imaging innerhalb der ursprünglichen Umgebung des Organismus. Wir beschäftigen uns mit diesen Themen angefangen von der Entwicklung neuer Technologien bis hin zu ihrer Anwendung zur Beantwortung biologischer Fragestellungen.**

## Intravitales FRET-FLIM

FRET (Förster Resonanter Energietransfer) ermöglicht die Untersuchung biochemischer Reaktionen, die mit Veränderungen im Bereich 10 bis 30 nm verbunden sind. Das große Potential dieses Phänomens liegt daran, dass es mit intravitalem Imaging kompatibel ist, welches durch neueste Entwicklungen der transgenen Maus-Technologie unterstützt wird. Diese Entwicklungen beziehen sich auf die Expression FRET-basierter Ionen-Biosensoren, Membranpotential-Biosensoren, Apoptose (Caspase3/6/8)-Biosensoren, usw. Intravitales FRET-Imaging wurde bereits als Messprinzip eingesetzt, allerdings, nur im Kontext der Zwei-Photonen-Fluorimetrie. Es ist bekannt, dass eine zuverlässige Quantifizierung von FRET im dynamischen intravitalem Imaging nur durch zeitlich-aufgelöste Methoden möglich ist, wobei die zuverlässigste Methode das Fluoreszenz-Lebensdauer-Imaging (FLIM) ist.

Wir haben zwei FLIM-Methoden im Zeit-Bereich verglichen die dynamisches Imaging erlauben: die „time-gated“ CCD-basierte, und eine neue parallelisierte TCSPC (time-correlated single-photon counting) Technik. Die Kriterien für diesen Vergleich sind die optischen Eigenschaften und die Messgenauigkeit im Kontext des *in vivo* Imaging. Mit Hilfe der parallelisierten TCSPC Technik sind wir in der Lage, intravitales MPLSM-basiertes FRET-FLIM zu demonstrieren und im Kontext der Autoimmunität anzuwenden. Wir konnten zeigen, dass intravitales FRET-FLIM dynamisch (1 Minute / 150x150x50  $\mu\text{m}^3$  3D-Bild, bis zu 120

Wiederholungen), sub-zellulär aufgelöst (bis 300 nm laterale Auflösung) und tief im Gewebe (bis 150  $\mu\text{m}$  tief in Hirnstamm) durchführbar ist.

Wir haben diese Methode benutzt um die durch CD4+ T-Zellen induzierte neuronale Calcium-Störung in der experimentellen autoimmunen Encephalomyelitis (EAE), ein murines Modell der Multiplen Sklerose, zu untersuchen (Abb. 1). Die Experimente wurden in CerTN L15 Tieren durchgeführt, die ein Calcium-Biosensor in den Neuronen exprimieren (Thy1 Expressionskassette). Der Biosensor basiert auf Troponin-C gebunden an Cerulean (CFP-Derivat) und Citrine (YFP-Derivat) als FRET-Paar.

## Enzym-selektives markerfreies FLIM

NAD(P)H-Fluorimetrie ist eine der etablierten Methoden für die Messung des zellulären Metabolismus. Allerdings impliziert die Methode einen Informationsverlust, da sie nicht erlaubt direkt zwischen den Koenzymmolekülen, die gerade an einem metabolischen Prozess beteiligt sind, (d.h. NADH/NADPH gebunden an eine spezifisches Enzym) und dem freien (ruhenden) Koenzym zu differenzieren. Zurzeit wird angenommen, dass das Fluoreszenz-Lebensdauer-Imaging die beste Methode ist, um zwischen freiem und Enzym-gebundenem NAD(P)H zu unterscheiden. Es wurde bereits gezeigt, dass die Lebensdauer der NAD(P)H-Fluoreszenz abhängig vom gebundenen Enzym ist. Wir haben gezeigt, dass NAD(P)H-FLIM eingesetzt werden kann, um selektiv und intrazellulär NAD(P)H-abhängige Enzyme nachzuweisen. Die Methode wurde verwendet, um die Rolle der NADPH-Oxidase in Zell-vermittelter Phagozytose und bei oxidativem Stress in Pflanzen (*Nicotiana Tabacum*) zu untersuchen.

Es gibt mehrere Hinweise, dass oxidativer Stress und die damit verbundene Aktivierung der NADPH Oxidase eine wichtige Rolle in verschiedenen neurologischen und neuroinflammatorischen Erkrankungen spielen. So wurde gezeigt, dass eine Hemmung von ROS (reactive oxygen species) die Neurodegeneration in EAE mildert, allerdings ist nicht bekannt, welche Zellen zu einer schädlichen ROS-Produktion beitragen. Es wird vermutet, dass dies hauptsächlich Makrophagen und Mikroglia sind. Die Rolle von Astrozyten oder gar Neuronen ist noch unklar. In diesem Kontext ist es wünschenswert die Aktivierung der NADPH Oxidase mittels NAD(P)H-FLIM *in vivo*, tief im Gewebe, zell-spezifisch nachzuweisen. Dies stellt eine technische Herausforderung dar, da das Fluoreszenz-

signal endogener Chromophore bis zu drei Größenordnungen schwächer als das Signal fluoreszierender Proteine oder Farbstoffe ist. Während der pTCSPC FLIM Aufbau zu guten Ergebnisse führt (Abb. 2), ist für einen zuverlässigen Enzymnachweis tief im Gewebe ein neues Hybrid-Detektor-basiertes FLIM-Gerät notwendig.

Weiterhin ist es unser Ziel, das Potenzial der Aktivierung der NADPH Oxidase mittels FLIM in Blutmakrophagen als prognostisches / diagnostisches Werkzeug für Schlaganfall zu erproben.

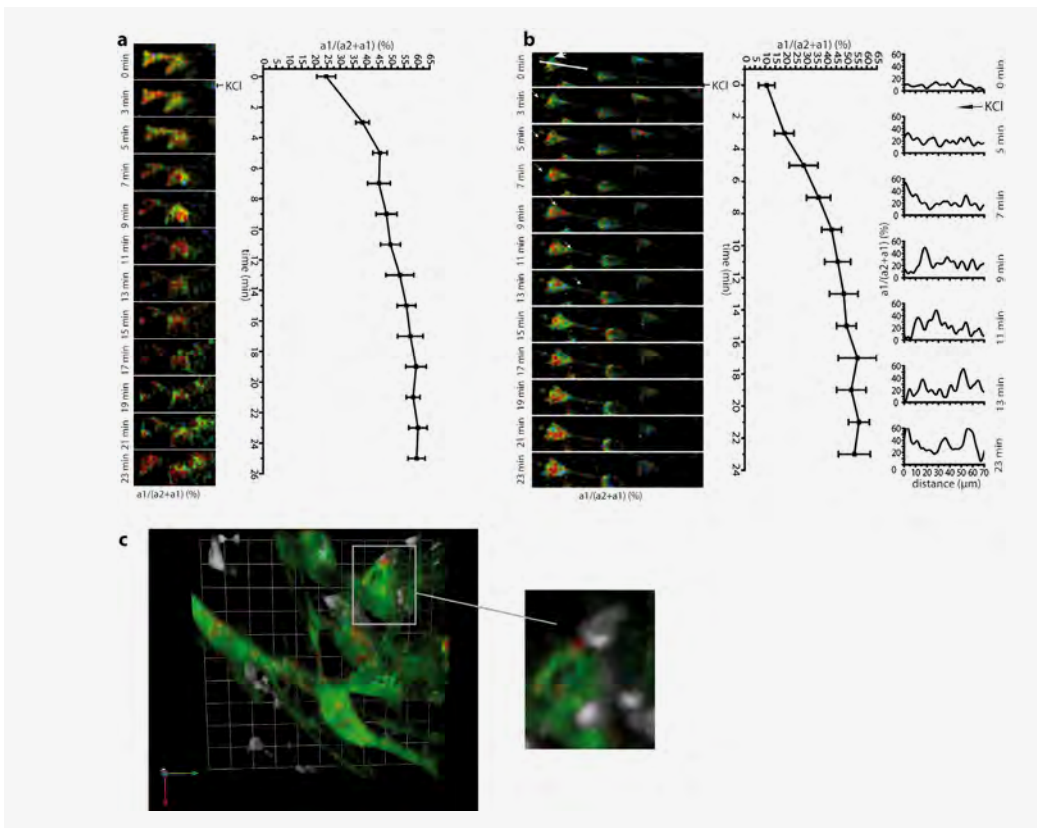


Abbildung 1: Das Verhältnis zwischen gequenchem und ungequenchem Cerulean in Neuronen eines Hypocampus-Schnittes von einer CerTn L15 Maus gemessen mit FRET-FLIM gibt in quantitativer Weise die lokale Calcium-Konzentration wieder. Zeit-Serien von FRET-FLIM Aufnahmen (300x300x20 µm³ pro Minute) zeigen den Calcium-Anstieg in Neuronen als Folge einer Erhöhung der K<sup>+</sup> Konzentration sowohl mit dem „time-gated“ Kamera-basierten (GOI) (a) als auch mit dem parallelisierten TCSPC (pTCSPC) FLIM Aufbau (b). Nur das intravitale p-TCSPC-basierte FRET-FLIM in Mäusen erkrankt an EAE ist in der Lage den dramatischen Anstieg des Calciums in den neuronalen Somata und Fortsätzen zu zeigen, die mit CD4<sup>+</sup> T Zellen wechselwirken (c).

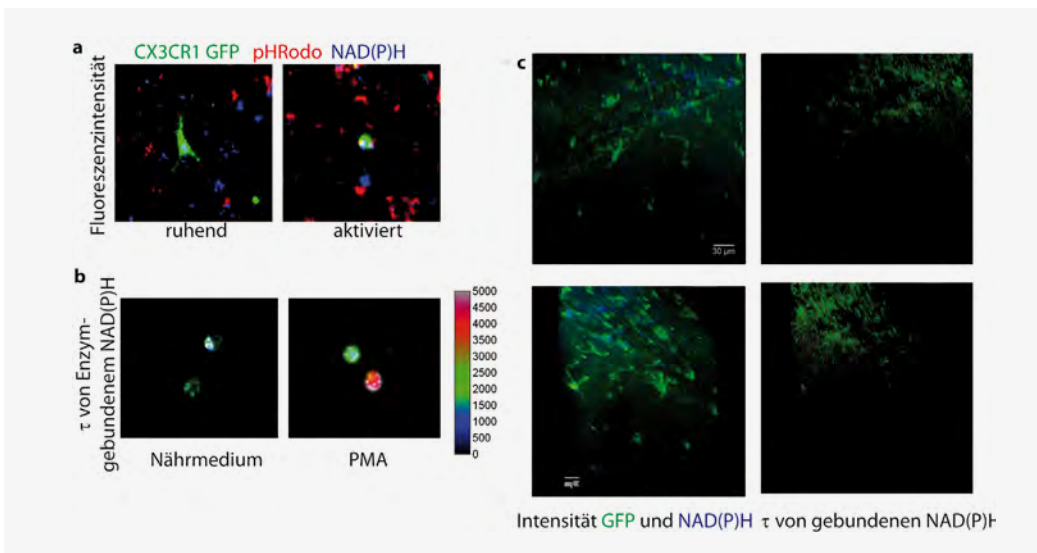


Abbildung 2: (a) NAD(P)H-Fluoreszenz-Intensitätsbilder von ruhenden (l.) und aktivierten (r.) GFP<sup>+</sup>-Mikroglia in einer Kokultivierung mit Staphylococcus aureus beschichteten Microbeads (pHrodo) (b) NAD(P)H-Fluoreszenz-Lebensdauer-Bilder von Mikroglia einer CX3CR1 GFP<sup>+</sup> Maus (Enzymgebundenes NAD(P)H) ohne und unter Aktivierung der NADPH Oxidase (ca. 3650 ps). (c) 3D-Fluoreszenz-Lebensdauer-Bilder des Enzymgebundenen NAD(P)H in einem Cerebellum-Schnitt einer CX3CR1 GFP<sup>+</sup> Maus.

## WISSENSCHAFTLER

K. Pollok-Trage  
R. Günther, R. Niesner

## KOOPERATIONSPARTNER

A.E. Hauser (Immunodynamics, DRFZ, Berlin); Hyun-Dong Chang (DRFZ, Berlin); Volker Andresen (LaVision Biotec, Bielefeld); H. Radbruch (BSRT, Labor für molekulare Psychiatrie, CC15, Charité-Universitätsmedizin Berlin), J.-L. Rinnenthal (Institut für Neuropathologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin)

## REFERENZEN

1. Denk, W., J.H. Strickler, and W.W. Webb. 1990. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248:73-76
2. Germain, R.N., M. Bajenoff, F. Castellino, M. Chieppa, J.G. Egen, A.Y. Huang, M. Ishii, L.Y. Koo, and H. Qi. 2008. Making friends in out-of-the-way places: how cells of the immune system get together and how they conduct their business as revealed by intravital imaging. *Immunol. Rev.* 221:163-181
3. Cahalan, M.D. and I. Parker. 2008. Choreography of cell motility and interaction dynamics imaged by two-photon microscopy in lymphoid organs. *Annu. Rev. Immunol.* 26:585-626
4. Alexander, S., G.E. Koehl, M. Hirschberg, E.K. Geissler, and P. Friedl. 2008. Dynamic imaging of cancer growth and invasion: a modified skin-fold chamber model. *Histochem. Cell Biol.* 130:1147-1154
5. Helmchen, F. and W. Denk. 2005. Deep tissue two-photon microscopy. *Nat. Methods* 2:932-940
6. Hell, S.W. 2009. Microscopy and its focal switch, *Nat. Methods* 6(1): 24-32

# Verbesserung der optischen Eigenschaften in intravitraler MPLSM: schärfer und tiefer sehen

**In den letzten 15 Jahren wurde die etablierte Meinung grundlegend verändert, dass die Fluoreszenz-Mikroskopie eine hohe molekulare Flexibilität, aber beugungsbegrenzte Auflösung und streuungsbegrenzte Eindringtiefe im Gewebe erlaubt. Neue nanoskopische Techniken wie STED, PALM, STORM oder "structured-illumination", haben die Beugungsgrenze in der Mikroskopie durchbrochen. Allerdings können diese Methoden für das Imaging im tiefen Gewebe nicht ohne Erweiterungen eingesetzt werden. Unser Ziel ist es nanoskopische Methoden für *in vivo* und intravitales dynamisches Imaging zu entwickeln. Außerdem werden zurzeit neue endoskopische Methoden entwickelt, die mit der Multi-Photonen-Anregung kompatibel sind. Diese Methoden sollen in der Untersuchung der Immundynamik und -wechselwirkung im entzündeten Gelenk angewendet werden.**

## Verbesserung der Auflösung in MPLSM

Die Immunantwort impliziert eine Wechselwirkung zwischen unterschiedlichen Typen von Immunzellen sowie zwischen Immunzellen und Zellen des entzündeten Organs. Um diese zelluläre Kommunikation und ihre Auswirkungen auf die Zellfunktionen zu quantifizieren, ist ein dynamisches, ultra hochauflösendes Imaging tief im Gewebe unverzichtbar. Wir entwickeln Methoden die sowohl in Kamera-basierter als auch in Punktdetektor-basierter MPLSM eine deutliche (bis zu 3 fache) Erhöhung der räumlichen Auflösung erlauben. Die "striped-illumination" Mehr-Strahl-Mehr-Photonen-Laser-Raster-Mikroskopie (SI-MB-TPLSM) verbessert die axiale Auflösung um das Dreifache und die laterale Auflösung bis zu 30% unter ähnlichen Messbedingungen wie etablierte MPLSM Methoden (Abb. 3). Die Technik basiert auf einem ähnlichen Prinzip wie das "structured-illumination" Imaging in der Epifluoreszenz-Mikroskopie, nutzt aber zur Generierung der Streifenmuster das gleichzeitige Abrastern der Probe mit mehreren Laserstrahlen. Für die Auswertung der Bilder werden schließlich ein Minimum-Maximum-Algorithmus und ein Fourier-Transformation-Algorithmus benutzt.

Mit Hilfe der SI-MB-MPLSM sind wir nun in der Lage dynamisch die Wechselwirkung zwischen Fortsätzen der follikulären dendritischen Zellen (FDC) und der B-Zellen im Keimzentrum zu visualisieren und zu quantifizieren, die sich an der klonalen Selektion hochaffiner B-Zellen beteiligen. Dabei werden B 1-8 GFP + Zellen in einen nicht-fluoreszierenden Rezipi-

enten transferiert, der einer NP-CyG -Immunisierung in der hinteren Pfote unterzogen wird. Die Immunantwort wird im poplitealen Lymphknoten ausgelöst. Die Anfärbung der FDCs wird 24 Stunden vor dem Imaging-Experiment durch die Injektion von CD21/CD35-Alexa586 oder CD21/CD35-ATTO590 in der Pfote durchgeführt.

Um die Nachteile einer Kamera-Detektion (z.Bsp. beugungsbegrenzte Eindringtiefe im Gewebe durch die starke Streuung emittierter Photonen) in MPLSM zu vermeiden, entwickeln wir alternativ zu SI-MB-MPLSM eine Nanoskopie-Methode, die auf Punktdetektion basiert. Um die laterale Auflösung bis um das Zweifache zu verbessern wird im Detektionsstrahlengang das Fluoreszenzsignal auf ähnliche Weise wie in einem Mach-Zahnder-Interferometer mit sich selbst verglichen. Nur wenn das Signal (die Photonen) direkt aus dem Fokus stammt, führt dies zu konstruktiver Interferenz. Ansonsten kann das Signal nicht mit sich selbst interferieren.

Die axiale Auflösung wird durch z-PSF Engineering bis um das Zweifache verbessert indem mehrere Aufnahmen entlang der optischen Achse aber innerhalb einer PSF (engl. Punkt-Ausbreitung-Funktion) verglichen werden. Die Fokusebene wird als die Ebene des maximalen Signals mit Hilfe eines Minimum-Maximum-Algorithmus identifiziert.

## Neue Organareale erschließen

Wir haben bereits die Vorteile der optischen parametrischen Oszillatoren als zusätzliche Anregungsquelle in MPLSM demonstriert: bis zu 80% höhere Eindringtiefe im Gewebe und eine reduzierte Verschlechterung der räumlichen Auflösung dank reduzierter Streuung längerer Anregungs- und Emissionswellenlängen.

Um mehr als einen Millimeter in das Gewebe einzudringen sind rein optische Lösungen physikalisch nicht möglich. Dafür bieten sich endoskopische und mikroendoskopische Techniken an. Die Endoskopie wird sowohl auf mehreren Forschungsgebieten als auch im klinischen Bereich angewendet. Sie ist aber dadurch limitiert, dass das Endoskop die Stelle im Gewebe darstellt, die durch sein Eindringen verletzt oder gar zerstört wurde. Somit wird nicht das reale Geschehen in einem Organ abgebildet sondern die Reaktion des Gewebes während der Verletzung. Zusätzlich kommt es bei den gegenwärtigen Endoskopen zu optischen Aberrationen verursacht durch optische Fasern, wodurch sich das Blickfeld verkleinert und sich die

räumliche Auflösung verringert. Die Entwicklung mikroendoskopischer Lösungen für die MPLSM ist daher wünschenswert, da es die nicht-lineare Optik prinzipiell erlaubt, hinter der akuten Narbe das Gewebe darzustellen. Neben Erweiterungen der Faseroptik zwecks Multi-Photonen-Anregung, d.h. Kompatibilität mit Femtosekunden-gepulster Anregung, spielt die Entwicklung von Glasstäben mit einem Brechungsindex-Gradienten (GRIN – gradient refractive index) eine wichtige Rolle. Die GRIN-Optik erlaubt eine hohe numerische Apertur des Mikroendoskops (bis 0.8), die eine mit dem MPLSM vergleichbare Auflösung, Eindringtiefe und Blickfeld der Mikroendoskopie ermög-

licht, wie wir es im Handgelenk zeigen konnten (Abb. 4). Wir arbeiten zudem an der Entwicklung einer anwendungsangepassten GRIN-Optik und an Vorrichtungen, die eine Drehung um die eigene Achse der GRIN-Stäbe ermöglicht, so dass ein Panoramablick gewonnen werden kann. Die neue Optik wird eingesetzt um in Mäusegelenken, welche an modellhafter rheumatischer Arthritis erkrankt sind, die charakteristische Dynamik verschiedener relevanter Immunzellsubtypen deren Wechselwirkung und die daraus resultierende Änderung der Zellfunktion, zu identifizieren.

## ■ PUBLIKATIONEN

„A new light source for multimodal multiphoton microscopy including CARS“ I. Riemke, V. Siffrin, R. Niesner, T. Leuenberger, F. Zipp, E. Büttner, G. Stilbenz, Proc. of SPIE, 7183, 718314, 2009

„Expanding two-photon intravital microscopy to the infrared by means of OPO“ J. Herz, V. Siffrin, A. Hauser, A.U. Brandt, T. Leuenberger, H. Radbruch, F. Zipp, R. Niesner, Biophys. J., 74(9), 715-723, 2010

## ■ DRITTMITTEL

Rahel-Hirsch, Habilitationsstipendium der Charité–Universitätsmedizin Berlin für R.N.; PhD Stipendium des „NeuroCure graduate program“ für K.P.

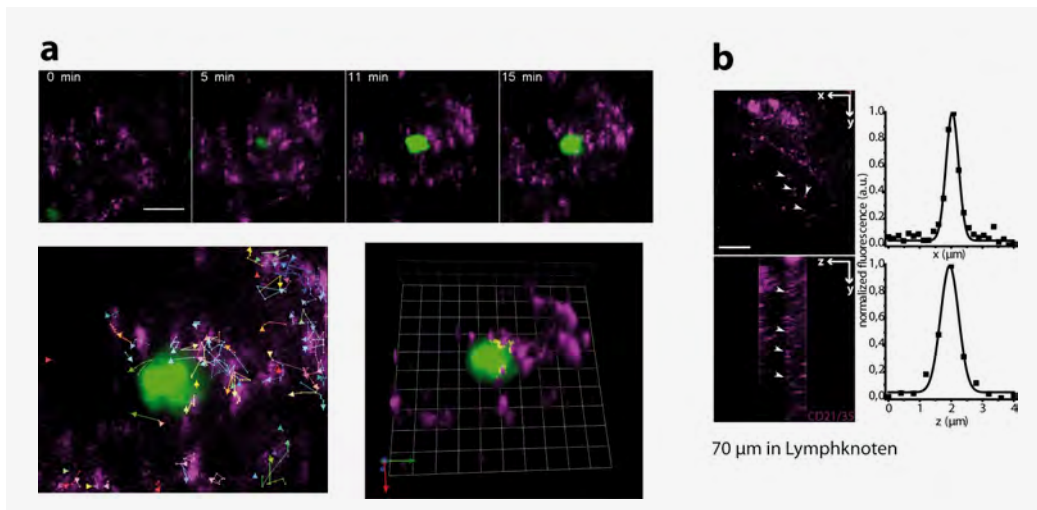


Abbildung 3: (a) Zeit-Serie von 3D-Fluoreszenzbildern aufgenommen mit SI-MB-MPLSM in einem Keimzentrum, im poplitealen Lymphknoten einer mit NP-CyG immunisierten Maus. In den unteren Bildern sind die Trajektorien der CD21/35 Cluster (magenta, ATTO590) auf der Oberfläche der folliculären dendritischen Zellen (FDCs) und die Kontaktbereiche (gelb) zwischen FDCs und B Zellen (B1-8 GFP+, grün) dargestellt. (b) Quantifizierung der CD21/35 Cluster-Dimensionen im Keimzentrum, im Lymphknotengewebe.

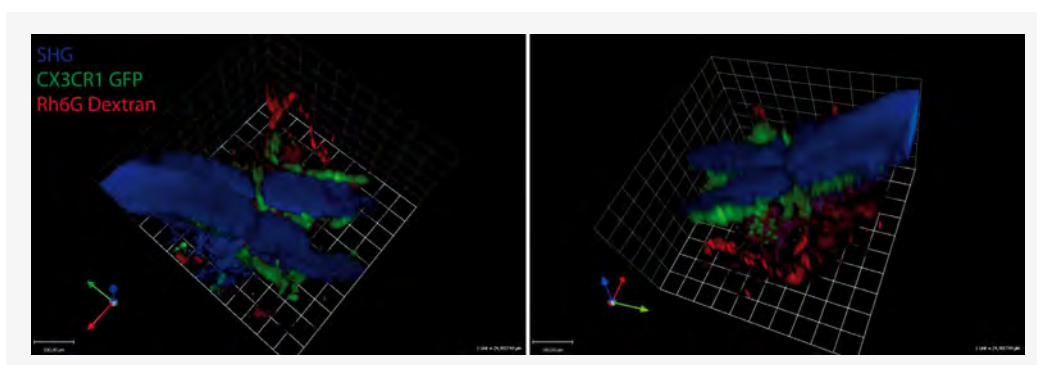


Abbildung 4: 3D-Fluoreszenz- und Frequenz-Verdopplung-Bild in dem Handgelenk einer gesunden B1-8 GFP+ Maus aufgenommen mit einem Multi-Photonen-Mikroendoskop (GRIN Stab: NA = 0.8, Stablänge 1 cm, Stabdurchmesser 1 mm). Die Frequenz-Verdopplung (SHG, blau) stammt von Kollagenfasern in den Sehnen, das GFP Signal ist in allen Zellen vorzufinden (grün), Rhodamin-Dextran färbt die Blutgefäße an (rot).





Foto: A. Sattler

Prof. Dr. rer. nat.  
Andreas Radbruch

## Zellbiologie

### Das immunologische Gedächtnis als Motor der rheumatischen Entzündung

#### STICHWORTE

Immunologisches Gedächtnis  
T Zelldifferenzierung  
Biomarker  
Zytokine  
microRNA

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Prof. Dr. rer. nat. Andreas Radbruch

Wissenschaftler  
Dr. rer. nat. Hyun-Dong Chang  
Dr. rer. nat. Mir-Farzin Mashreghi  
Dr. rer. nat. Anna-Barbara Stittrich

Alessandro Serra PhD  
Evridiki Sgouroudis PhD  
Özen Sercan PhD  
Mairi McGrath PhD  
Jun Dong MD, Adriano Taddeo PhD

Doktoranden  
Haider Abid, Markus Bardua,  
Claudia Haftmann, Kristyna  
Hradilkova, Anna Okhrimenko,  
René Riedel, Melanie Weber,  
Kerstin Westendorf, Sandra  
Zehentmeier, Jakob Zimmermann

Studentische Hilfskraft  
Jonathan Baum  
Konstantinos Papadakis

Technische Assistentin  
Farah Hatam

Ein wesentliches Merkmal entzündlich-rheumatischer Erkrankungen ist eine nicht mehr kontrollierbare Immunreaktion gegen den eigenen Körper. Die Entwicklung von modernen Therapien ermöglicht heutzutage die effektive Unterdrückung des Immunsystems, führt jedoch nicht zu einer Heilung. Wird die Behandlung beendet, kehrt die Entzündung zurück. Vieles deutet darauf hin, dass das Immunsystem der Rheumapatienten ein Gedächtnis für die rheumatische Entzündung aufgebaut hat, das durch die derzeitigen Therapien nicht gelöscht wird. Es ist deshalb unser Ziel, die Erstellung und die Aufrechterhaltung des immunologischen Gedächtnisses zu verstehen. Insbesondere untersuchen wir, wie sich ein „pathogenes“ Gedächtnis, das eine chronische Entzündung aufrecht erhält, von einem „protektiven“ Gedächtnis unterscheidet, das den Körper vor gelegentlich wiederkehrenden Krankheitserregern schützt.

Wir haben in den vergangenen Jahren in grundlegenden Arbeiten definiert, wie Teile des immunologischen Gedächtnisses aufgebaut sind. Wir konnten zeigen, dass Zellen, die Antikörper produzieren, als Gedächtnis-Plasmazellen im Knochenmark in definierten Nischen über lange Zeiträume überleben. In diesen Überlebensnischen, die von bestimmten Stromazellen organisiert werden, sind Plasmazellen geschützt vor modernen Therapien. Wir versuchen, in enger Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen Hauser und Hiepe besser zu verstehen, wie diese Nischen aufgebaut und welche Signale für das Überleben der Gedächtnis-Plasmazellen notwendig sind. Ziel ist die selektive Eliminierung von Plasmazellen, besser noch von autoantikörpersezernierenden Plasmazellen.

Gedächtnis Th Lymphozyten, die z.B. bei einer Impfung entstehen und die uns vor Krankheitserregern schützen, überleben in anderen Nischen im Knochenmark, wie wir vor kurzem zeigen konnten. Im Gegensatz dazu scheinen Gedächtnis Th Lymphozyten, die rheumatische Entzündungen betreiben und durch die körpereigenen Antigene immer wieder reaktiviert werden, direkt am Ort der Entzündung zu sein. Wir konnten zeigen, dass es durch zeitlich genau abgestimmte Signale zur entzündungsfördernden Prägung der Zellen kommt, wie ihre Vermehrung durch MikroRNAs gesteuert wird, und wir haben Gene identifiziert, die typisch für solche „pathogenen“ Zellen sind und für ihre Funktion und ihr Überleben notwendig. Schützende Gedächtnis-Th Zellen brauchen diese Gene offenbar nicht. Wir wollen diese Unterschiede nun nutzen, um Strategien zu entwickeln, die es uns ermöglichen, „pathogene“ Gedächtnis Th Lymphozyten gezielt therapeutisch anzugehen und so das „Rheuma-Gedächtnis“ zu löschen.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

- PD Dr. Ria Baumgrass, Signaltransduktion, DRFZ
- Dr. Andreas Bosio, Dr. Ute Bissels, Dr. Anne Richter Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach
- Prof. Dr. Gerd-Rüdiger Burmester, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Dr. Wei Chen, Human Molecular Genetics, Max Planck Institut für Molekulare Genetik, Berlin
- Prof. Dr. Thomas Dörner, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Dr. Zhou Fang, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin und Berlin Institute for Medical Systems Biology, Berlin
- Dr. Joachim Grün, Bioinformatik, DRFZ
- Dr. Andreas Grützkau, Immunmonitoring, DRFZ
- Prof. Dr. Alf Hamann, Experimentelle Rheumatologie, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Dr. Thomas Häupl, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Dr. Anja Hauser, Immundynamik, DRFZ
- Prof. Dr. Falk Hiepe, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Prof. Dr. Thomas Höfer, Research Group „Modeling of biological systems“, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg
- Prof. Dr. Thomas Kamradt, Institut für Immunologie, Universitätsklinikum, Friedrich-Schiller-Universität, Jena
- Prof. Dr. Christoph Loddenkemper, Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Prof. Dr. Max Löhning, Experimentelle Rheumatologie, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

- Prof. Dr. Fritz Melchers, Max Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin
- Prof. Dr. Matthias Merkenschlager, Division of Clinical Sciences, Imperial College, London, U.K.
- Prof. Dr. Toshinori Nakayama, Department of Immunology, Chiba University, Chiba, Japan
- Silvia Pade, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Prof. Dr. Nikolaus Rajewsky, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin und Berlin Institute for Medical Systems Biology, Berlin
- Prof. Dr. Alexander Scheffold, Zelluläre Immunologie, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach und Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Prof. Dr. Jochen Sieper, Medizinische Klinik I, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Prof. Dr. Koji Tokoyoda, Department of Immunology, Chiba University, Chiba, Japan
- Prof. Dr. Andreas Thiel, Berlin-Brandenburg Center for Regenerative Therapies BCRT, Berlin
- Prof. Dr. Ari Waisman, Institut für Molekulare Medizin, Johannes Gutenberg Universität Mainz
- Prof. Dr. Martin Zeitz, Medizinische Klinik I, Charité – Universitätsmedizin Berlin

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

- Haftmann C, Stittrich AB, Sgouroudis E, Matz M, Chang HD, Radbruch A, Mashreghi MF. 2012. Lymphocyte signaling: regulation of FoxO transcription factors by microRNAs. *Ann N Y Acad Sci.* 1247:46-55.
- Chang HD, Radbruch A. Targeting pathogenic T helper cell memory. 2011. *Ann Rheum Dis.* 70 Suppl 1:i85-7.
- Hiepe F, Dörner T, Hauser AE, Hoyer BF, Mei H, Radbruch A. 2011. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nat Rev Rheumatol.* 7(3):170-8.
- Lexberg MH, Taubner A, Albrecht I, Lepenies I, Richter A, Kamradt T, Radbruch A, Chang HD. 2010. IFN- $\gamma$  and IL-12 synergize to convert in vivo generated Th17 into Th1/Th17 cells. *Eur J Immunol.* 40(11):3017-27.
- Albrecht I, Niesner U, Janke M, Menning A, Loddenkemper C, Kühl AA, Lepenies I, Lexberg MH, Westendorf K, Hradilkova K, Grün J, Hamann A, Epstein JA, Chang HD, Tokoyoda K, Radbruch A. 2010. Persistence of effector memory Th1 cells is regulated by Hoxp. *Eur J Immunol.* 40(11):2993-3006.
- Stittrich AB, Haftmann C, Sgouroudis E, Kühl AA, Hegazy AN, Panse I, Riedel R, Flossdorf M, Dong J, Fuhrmann F, Heinz GA, Fang Z, Li N, Bissels U, Hatam F, Jahn A, Hammoud B, Matz M, Schulze FM, Baumgrass R, Bosio A, Mollenkopf HJ, Grün J, Thiel A, Chen W, Höfer T, Loddenkemper C, Löhning M, Chang HD, Rajewsky N, Radbruch A, Mashreghi MF. 2010. The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes. *Nat Immunol.* 11(11):1057-62.
- Tokoyoda K, Hauser AE, Nakayama T, Radbruch A. Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nat Rev Immunol.* 2010 ;10(3):193-200. Review
- Tokoyoda K., S. Zehentmeier, A.N. Hegazy, I. Albrecht, J.R. Grun, M. Lohning, and A. Radbruch. 2009. Professional memory CD4+ T lymphocytes preferentially reside and rest in the bone marrow. *Immunity* 30:721-730.
- Schulz, E.G., L. Mariani, A. Radbruch, and T. Hofer. 2009. Sequential polarization and imprinting of type 1 T helper lymphocytes by interferon-gamma and interleukin-12. *Immunity* 30:673-683.
- Alexander, T., A. Thiel, O. Rosen, G. Massenkeil, A. Sattler, S. Kohler, H. Mei, H. Radtke, E. Gromnica-Ihle, G.R. Burmester, R. Arnold, A. Radbruch, and F. Hiepe. 2009. Depletion of autoreactive immunologic memory followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory SLE induces long-term remission through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system. *Blood* 113:214-223.

## Organisation des immunologischen Gedächtnisses

### WISSENSCHAFTLER

S. Zehentmeier, Ö. Sercan,  
R. Riedel, A. Serra, E. Sgouroudis,  
H. D. Chang, A. Radbruch

### KOOPERATIONSPARTNER

F. Hiepe<sup>1</sup>, G.-R. Burmester<sup>1</sup>  
K. Tokoyoda  
A.-E. Hauser<sup>3</sup>  
M. Löhning<sup>4</sup>, A.N. Hegazy<sup>4</sup>,  
B. Hoyer<sup>5</sup>, C. Berek<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Klinische Immunologie, Charité,  
<sup>2</sup> Chiba University, Japan  
<sup>3</sup> Immundynamik, DRFZ  
<sup>4</sup> Experimentelle  
Immunologie, DRFZ  
<sup>5</sup> Charité – Universitäts-  
medizin Berlin  
<sup>6</sup> B-Zell Immunologie,  
DRFZ

### PUBLIKATIONEN

Tokoyoda, K., A.E. Hauser,  
T. Nakayama, and A. Radbruch.  
2010. Organization of immunological  
memory by bone marrow  
stroma. *Nature Reviews  
Immunology* 10:193-200.

Tokoyoda, K., S. Zehentmeier, A.N.  
Hegazy, I. Albrecht, J.R. Grun, M.  
Löhning, and A. Radbruch. 2009.  
Professional memory CD4+ T  
lymphocytes preferentially reside  
and rest in the bone marrow.  
*Immunity* 30:721-730.

Tokoyoda, K., S. Zehentmeier, H.D.  
Chang, and A. Radbruch. 2009.  
Organization and maintenance of  
immunological memory by stroma  
niches. *European Journal of  
Immunology* 39:2095-2099.

### DRITTMITTEL

Berlin-Brandenburg School of  
Regenerative Therapies (BSRT),  
ZIBI Graduate School, DFG Priority  
Programme 1486 „Immunobone“

**Eine wichtige Eigenschaft des adaptiven Immunsystems ist die Fähigkeit, ein Gedächtnis zu formen, das eine verstärkte Immunantwort gegen wiederkehrende Krankheitserreger ermöglicht. Wie das immunologische Gedächtnis über lange Zeiträume aufrechterhalten wird, ist bislang nicht vollständig geklärt. Im Allgemeinen wird angenommen, dass die Zellen des Immungedächtnisses auf der Suche nach ihrem Antigen durch den Körper wandern und sich ab und zu teilen, um ihre Zahlen stabil zu halten. Entgegen dieser Sichtweise konnten wir zeigen, dass Vorläufer bestimmter Gedächtniszellen, der Gedächtnis-Plasmazellen und der Gedächtnis-T-Helferzellen, ins Knochenmark wandern, aufhören zu proliferieren und zu langlebigen Gedächtniszellen differenzieren. Die Überlebensnische der immunologischen Gedächtniszellen wird durch spezialisierte Stromazellen gebildet. Die Erforschung der Biologie der Stromazellen des Knochenmarks und der Überlebensfaktoren, die sie produzieren, wird über ein verbessertes Verständnis der Organisationsprinzipien der Überlebensnischen des protektiven, aber auch des pathogenen Immungedächtnisses führen und helfen, Impfstrategien und neue therapeutische Ansätze zur Behandlung chronisch-entzündlicher Erkrankungen zu entwickeln.**

Immunität gegen Pathogene, gegen die bereits einmal eine Immunreaktion erfolgte, ist eine der Haupteigenschaften des adaptiven Immunsystems. Heute ist allgemein anerkannt, dass das immunologische Gedächtnis von spezialisierten Gedächtniszellen wie antikörperproduzierenden Gedächtnis-Plasmazellen oder Gedächtnis-T-Helferzellen aufrechterhalten wird. Dagegen ist die Frage umstritten, wie diese Zellen über lange Zeit am Leben gehalten werden. In den vergangenen Jahren konnten wir nachweisen, dass die Vorläufer der Plasmazellen in Abhängigkeit des Chemokins CXCL12 (Stromal cell-derived factor-1 alpha, SDF-1 $\alpha$ ) ins Knochenmark wandern. Im Knochenmark angekommen, docken Plasmazell-Vorläufer an CXCL12-produzierende Stroma-Zellen an und differenzieren zu antikörperproduzierenden Gedächtnis-Plasmazellen.

Das Prinzip der Organisation des Überlebens der Gedächtnis-Plasmazellen scheint auch für Gedächtnis-T-Helferzellen zu gelten. Bislang nahm man an, dass Gedächtnis-T-Helferzellen auf der ständigen Suche nach ihrem Antigen durch den Körper wandern. Wir konnten hingegen zeigen, dass Gedächtnis-T-Helferzellen ähnlich den Plasmazellen im Knochenmark als

ruhende Zellen überdauern und die nötigen Überlebenssignale durch spezielle IL-7-produzierende Stromazellen erhalten. Unsere Forschungsergebnisse deuten auf eine neue, bislang unbekannt Rolle der Stromazellen des Knochenmarks in der Organisation und Erhaltung des immunologischen Gedächtnisses hin.

### Gedächtnis-T-Helferzellen liegen neben IL-7 produzierenden Stromazellen

Um das Schicksal der Gedächtnis-T-Helferzellen in einer definierten Immunantwort zu untersuchen, haben wir antigenspezifische T-Helferzellen nach einer Immunisierung verfolgt und quantifiziert. In der frühen Phase der Immunantwort (an Tag 4 nach Immunisierung) fanden wir antigenspezifische T-Helferzellen hauptsächlich in den sekundären lymphatischen Organen Milz und Lymphknoten. Zu späteren Zeitpunkten, ab Tag 28 nach Immunisierung, verringerte sich jedoch die Zahl der antigenspezifischen T-Helferzellen in Milz und Lymphknoten, während gleichzeitig ihre Zahl im Knochenmark zunahm. An Tag 60 nach Immunisierung fanden sich mehr als 80 Prozent der antigenspezifischen T-Helferzellen im Knochenmark, wo ihre Zahl über Monate konstant blieb. Wir konnten das Oberflächenmolekül Ly6C als spezifischen Marker für die Gedächtnis-T-Helferzellen im Knochenmark identifizieren. Im Knochenmark ruhen die Gedächtnis-T-Helferzellen hinsichtlich der Proliferation und Genexpression. Mehr als 90 Prozent der Gedächtnis-T-Helferzellen des Knochenmarks befinden sich in direktem Kontakt mit IL-7-produzierenden Stromazellen. Offenbar bilden diese Stromazellen die Überlebensnische, in der für das Überleben der Gedächtniszellen im Knochenmark notwendige molekulare Signale bereitgestellt werden. Wir konnten weiterhin zeigen, dass die Ly6C-exprimierenden T-Helferzellen aus dem Knochenmark nach Reaktivierung mit Antigen schnell Zytokine und den Kostimulationsfaktor CD40L produzieren und B-Zell-Hilfe bereitstellen, also die Herstellung hochaffiner Antikörper unterstützen. Damit haben die neuidentifizierten Gedächtnis-T-Helferzellen des Knochenmarks die bekannten Eigenschaften von Gedächtnis-T-Helferzellen.

### Stromazellen des Knochenmarks organisieren das Immungedächtnis

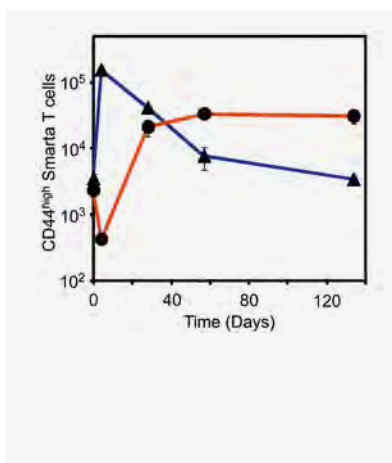
Gedächtnis-Plasmazellen wie auch Gedächtnis-T-Helferzellen werden über sehr lange Zeiträume aufrechterhalten. Es wurde aber auch gezeigt, dass diese Gedächtniszellen nicht von sich aus langlebig sind. Ihr

Überleben hängt von externen Überlebensfaktoren ab. Wir konnten zeigen, dass Gedächtniszellen im Knochenmark überdauern. Während Gedächtnis-T-Helferzellen in direktem Kontakt zu VCAM-1 exprimierenden Stromazellen liegen, die den Überlebensfaktor IL-7 produzieren, sitzen Gedächtnis-Plasmazellen neben VCAM-1+ Stromazellen, die das Chemokin CXCL12 produzieren. Neben der Bereitstellung von Überlebensfaktoren scheinen Stromazellen noch weitere Zellarten anzuziehen, die wichtige Überlebenssignale liefern. Unlängst zeigte die Gruppe von Claudia Berek, dass eosinophile Granulozyten an der Bildung der Überlebensnische von Plasmazellen durch die Produktion der Faktoren APRIL und IL-6 beteiligt sind. Auch Megakaryozyten scheinen in ähnlicher Weise für das Überleben von Gedächtnis-Plasmazellen im Knochenmark von Bedeutung zu sein.

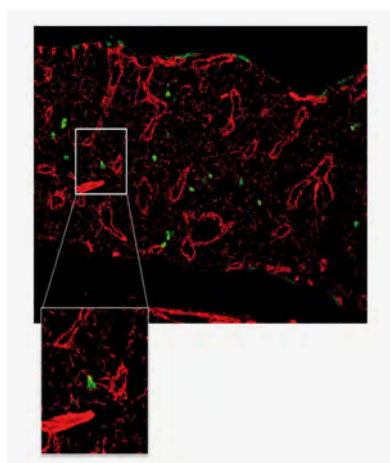
IL-7 und CXCL12 werden von unterschiedlichen Stromazellpopulationen produziert. Interessanterweise befinden sich in der Umgebung der Stromazellen jeweils nur einzelne Gedächtniszellen. Diese Beobachtung legt nahe, dass die Kapazität für Gedächtniszellen im Knochenmark begrenzt ist. Entsprechend müssten neue und ins Knochenmark einwandernde Gedächtniszellen mit den bereits dort befindlichen um die Plätze in der Überlebensnische konkurrieren.

Im Gegensatz zu verbreiteten Konzepten zeigen unsere Daten, dass nach einer Immunreaktion das immunologische Gedächtnis durch ruhende Zellen gebildet wird. Diese Überlebensnischen werden von spezialisierten Stromazellen organisiert. Anscheinend limitiert die Anzahl der vorhandenen Stromazellen die Anzahl der verfügbaren Nischen, in denen Gedächtniszellen überleben können. Wir sind nun in der Lage, das ruhende protektive Immungedächtnis zu untersuchen und seine Eigenschaften mit denen des pathologischen Immungedächtnisses in chronisch-entzündlichen Immunerkrankungen zu vergleichen. Dadurch wollen wir therapeutische Strategien entwerfen, die auf das pathologische Immungedächtnis zielen, während sie das protektive Immungedächtnis unbeeinflusst lassen. Weiter wollen wir untersuchen, ob das Überleben immunologischer Gedächtniszellen in zellulär definierten Nischen ein generelles Prinzip der Organisation des immunologischen Gedächtnis ist und ob es auch auf die Erhaltung von Gedächtnis-B-Zellen und zytotoxischen T-Zellen zutrifft. Wir gehen davon aus, dass auch das chronisch entzündete Gewebe bei rheumatischen Erkrankungen Überlebensnischen für pathogene Gedächtniszellen bildet. Die Untersuchung dieser „inflammatorischen“ Nischen könnte auch zu neuen Ansätzen führen, diese Nischen spezifisch zu eliminieren, um die chronische Entzündung aufzulösen.

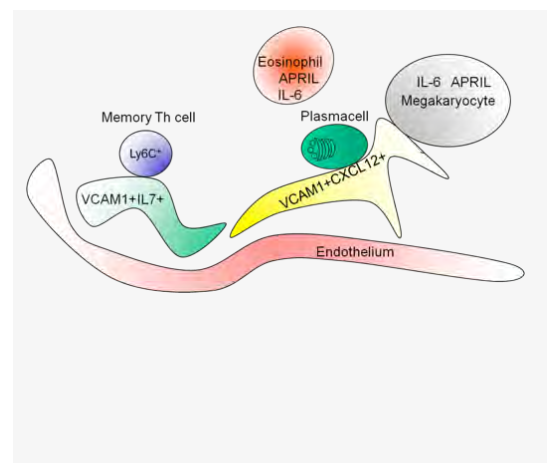
### Ausblick



**Abbildung 1:** In einer definierten Immunreaktion wurde die Anzahl und Lokalisierung antigenspezifischer T-Helferzellen untersucht. An Tag 60 werden mehr als 80 Prozent der antigenspezifischen T-Helferzellen im Knochenmark gefunden (rote Linie) und bleibt dann stabil, während die Zahl der Zellen in der Milz weiter abnimmt (blaue Linie).



**Abbildung 2:** An Tag 30 nach sekundärer Immunisierung von Blimp-1:GFP-Reporter-mäusen sind Blimp1+ Plasmazellen hauptsächlich im Parenchym des Knochenmarks in Kontakt mit dem Netzwerk retikulärer Stromazellen zu finden (Querschnitt Oberschenkelknochen einer Blimp1:GFP-Reportermaus, Färbung: GFP grün und Laminin rot).



**Abbildung 3:** Die Überlebensnischen der immunologischen Gedächtniszellen werden durch spezialisierte Stromazellen des Knochenmarks gebildet. Während IL-7-produzierende Stromazellen die Überlebensnische für Gedächtnis-CD4-Zellen organisieren, produzieren andere Stromazellen CXCL12, das für das Überleben von Plasmazellen nötig ist. Hämatopoetische Zellen wie eosinophile Granulozyten und Megakaryozyten sind an der Bildung der Überlebensnischen durch die Bereitstellung weiterer Faktoren wie IL-6 und APRIL beteiligt.



## WISSENSCHAFTLER

A.-B. Stittrich, C. Haftmann,  
M. Bardua, K. Hradlikova,  
K. Westendorf, C. Neumann,  
F. Heinrich, Joachim Grün,  
R. Niesner, A. Hauser, H.D. Chang,  
A. Radbruch, M.-F. Mashreghi

## KOOPERATIONSPARTNER

Andreas Bosio<sup>1</sup>, Ute Bissels<sup>1</sup>,  
Nikolaus Rajewsky<sup>2</sup>,  
Klaus Rajewsky<sup>3</sup>, Wei Chen<sup>2</sup>,  
Zhuo Fang<sup>2</sup>, Matthias Merken-  
schläger<sup>4</sup>, Hans-Martin Jäck<sup>5</sup>,  
Martina Porstner<sup>5</sup>,  
Jürgen Wittmann<sup>5</sup>,  
Alexander Scheffold<sup>1</sup>,  
Helena Radbruch<sup>6</sup>,  
Ulrich Dirnagl<sup>7</sup>, Anja Kühl<sup>8</sup>,  
Falk Hiepe<sup>9</sup>,  
Tobias Alexander<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Miltenyi Biotec, Bergisch  
Gladbach

<sup>2</sup>Max-Delbrück-Centrum für  
Molekulare Medizin und Berlin  
Institute for Medical Systems  
Biology, Berlin

<sup>3</sup>Immune Regulation and Cancer,  
Max Delbrück Center for Molecular  
Medicine, Berlin

<sup>4</sup>Imperial College, London, U.K.

<sup>5</sup>Nikolaus-Fiebiger-Center of  
Molecular Medicine, Friedrich-  
Alexander-University Erlangen-  
Nürnberg

<sup>6</sup>Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

<sup>7</sup>Labor für Molekulare Psychiatrie,  
Charité und Berlin-Brandenburg  
School for Regenerative Therapies  
(BSRT), Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

<sup>8</sup>Center for Stroke Research Berlin  
(CSB), Department of Neurology  
and Experimental Neurology,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

<sup>9</sup>Department of Internal Medicine,  
Rheumatology and Clinical  
Immunology/Research Center  
ImmunoSciences (RCIS), Charité  
– Universitätsmedizin Berlin

<sup>9</sup>Klinik für Rheumatologie und  
Klinische Immunologie, Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

## Kleine Ribonukleinsäuren (miRNAs) kontrollieren T Lymphozyten der Entzündung

**T Helfer (Th)-Lymphozyten kontrollieren das schützende immunologische Gedächtnis, aber auch chronische Entzündungen, so bei entzündlich-rheumatische Erkrankungen. Ihre Funktion und ihr Überleben hängen dabei von der Expression bestimmter Gene ab. Die Genexpression wird auf verschiedenen Ebenen reguliert, zunächst „transkriptionell“ auf der Ebene des Umschreibens des Gens in Boten-Ribonukleinsäure (mRNA), dann „posttranskriptionell“ auf der Ebene der Übersetzung der Information der mRNA in das kodierte Protein. Die Bedeutung der posttranskriptionellen Regulation wurde erst in jüngster Zeit erkannt. Eine wesentliche Rolle spielen hier kleine regulatorische Ribonukleinsäuren, die microRNAs (miRNAs), die selektiv bestimmte mRNAs ausschalten können. Wir haben alle miRNAs erfasst, die in Th Lymphozyten vorkommen, und darunter solche gefunden, die die Vermehrung und das Überleben von den Th Lymphozyten der chronischen Entzündung steuern. miRNAs können ihrerseits durch kurze, komplementäre Oligonukleotide (Antagomire) gehemmt oder durch synthetische siRNAs imitiert werden. Es ergeben sich völlig neue Möglichkeiten der therapeutischen Intervention zur selektiven Ausschaltung entzündungsfördernder T Lymphozyten.**

### Wie funktionieren miRNAs ?

miRNAs sind kurze Ribonukleinsäuren, die durch spezifische Bindung an eine kodierende Ribonukleinsäure (mRNA) die Translation dieser mRNA in das entsprechende Protein hemmen. Die Expression und Funktion der miRNAs ist streng geregelt. Aus dem Primärtranskript (pri-miRNA) entsteht in mehreren Schritten eine reife miRNA. Die reife miRNA wird in einen Proteinkomplex eingebaut und führt diesen Pro-

teinkomplex (RISC = RNA induced silencing complex) sequenzspezifisch an die Ziel-mRNA. Durch die Bindung des RISC an die Ziel-mRNA wird die Translation verhindert und die mRNA abgebaut (Abb. 1). Es sind über 1000 verschiedene miRNAs bekannt, die die Expression von mindestens 30 Prozent aller Gene regulieren.

### Welche miRNAs gibt es in Th Lymphozyten ?

In einem systematischen Ansatz haben wir alle miRNAs bestimmt, die in entzündungsfördernden Th Lymphozyten von Th1 oder Th17 Typ und in entzündungshemmenden Th Lymphozyten vom Th2 Typ vorkommen. Als Modell für die Th Lymphozyten der chronischen Entzündung haben wir die Zellen mehrfach stimuliert. Dann wurden durch Sequenzierung (Deep Sequencing) und Hybridisierung (Mikroarrays) die vorhandenen miRNAs erfasst (Abb. 2). Insgesamt fanden wir 300 verschiedene miRNAs. Rund 100 miRNAs wurden durch wiederholte Stimulation beeinflusst, davon 30 selektiv in Th1 Lymphozyten der Entzündung. Diese miRNAs werden jetzt einzeln genauer untersucht.

### miRNA-182 kontrolliert die Vermehrung von Th Lymphozyten

miRNA-182 wird von Th Lymphozyten exprimiert, wenn sie durch Antigen stimuliert werden. Eigentlich ist Induktor ist allerdings das Zytokin Interleukin-2, dessen Expression ebenfalls durch Antigen induziert wird (Abb. 3a). miRNA-182 blockiert die mRNA für den Transkriptionsfaktor Foxo1, der in ruhenden T Lymphozyten die Zellteilung verhindert, und ermöglicht so die Vermehrung der aktivierten Zellen (Stittrich et al., Nature Immunology 2010). miRNA-182 erlaubt die Vermehrung der Zellen auch in der späten, Interleukin-2 abhängigen Phase, wenn die Stimulation durch Antigen nachlässt. miR-182 kann durch spezifische Antagomire in Th Lymphozyten gehemmt werden. Dadurch wird auch die Vermehrung aktivierter Th Lymphozyten um bis zu 70 Prozent gehemmt (Abb. 4a). Und in einem Mausmodell für Arthritis führt die Hemmung der miRNA-182 in Th Lymphozyten zu einer drastischen Reduktion der Entzündung in den Kniegelenken (Abb. 4b).

### miRNA-148a kontrolliert das Überleben von Th1 Lymphozyten in der Entzündung

miRNA-148a wird selektiv von proinflammatorischen Th Lymphozyten exprimiert, die mehrfach stimuliert wurden. Bei der Induktion sind sowohl der Transkriptionsfaktor der Th1 Lymphozyten T-bet als auch der Transkriptionsfaktor Twist1 beteiligt, der von Th1

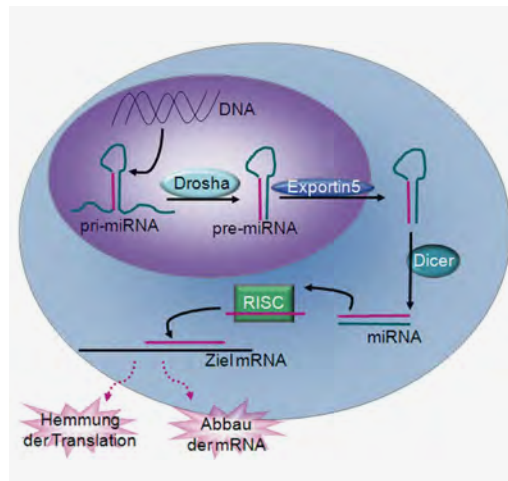


Abbildung 1: Generierung und Funktion von microRNAs

Lymphozyten der chronischen Entzündung exprimiert wird (Niesner et al., JEM 2008). miRNA-148a blockiert die Expression des Proteins Bim, das ein wichtiger Antagonist des Überlebensgens Bcl-2 ist. miRNA-148a sorgt so für das Überleben der pro-inflammatorischen Th1 Lymphozyten in der chronischen Entzündung. Die Hemmung von miRNA-148a

durch spezifische Antagomire führt schnell zum Absterben der Zellen (Abb. 5).

**Perspektive:**

Ausgehend von einer systematischen Erfassung aller miRNAs in Th Lymphozyten, zeigt bereits die Untersuchung der ersten differentiell exprimierten miRNAs, dass miRNAs ein wesentliches Element der Genregulation in Th Lymphozyten der chronischen Entzündung sind. Sie kontrollieren die Vermehrung und das Überleben der Zellen. Vorläufige Untersuchungen weiterer miRNAs zeigen, dass sie auch die Funktion und die Beweglichkeit regulieren können. miRNAs lassen sich durch kleine synthetische Oligonukleotide selektiv inhibieren oder auch imitieren. Solche Oligonukleotide eröffnen völlig neue therapeutische Möglichkeiten der gezielten Beeinflussung von chronischen Entzündungen.

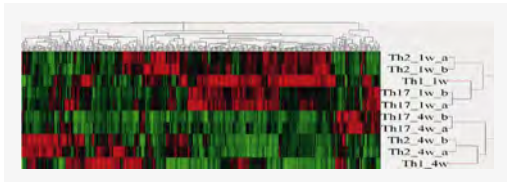


Abbildung 2: Umfassende miRNA Expressionsanalyse von akut (1w) und chronisch (4w, mehrfach stimuliert) aktivierten Th 1, Th2 und Th17 Zellen (Rot – induziert, Grün – reprimiert).

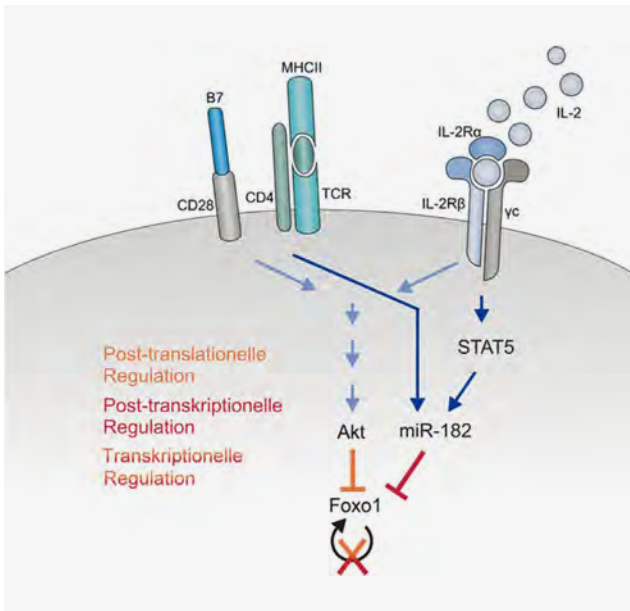


Abbildung 3: Dynamische Deaktivierung von Foxo1 durch Antigen, IL-2 und miR-182 ermöglicht die Vermehrung von aktivierten Th Lymphozyten. Während der frühen Phase der Vermehrung von Th Zellen wird Foxo1 durch Akt vermittelte posttranslationelle Phosphorylierung deaktiviert. In der späten Phase der Vermehrung erfolgt die Hemmung von Foxo1 auf post-transkriptioneller Ebene durch miR-182. Beide Mechanismen zerstören eine positive Feedback-Schleife, in der sich Foxo1 selbst induziert.

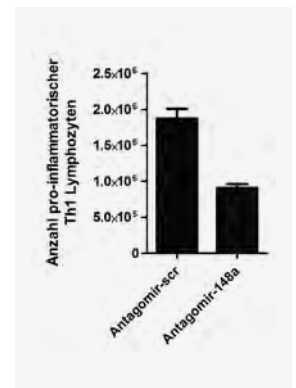
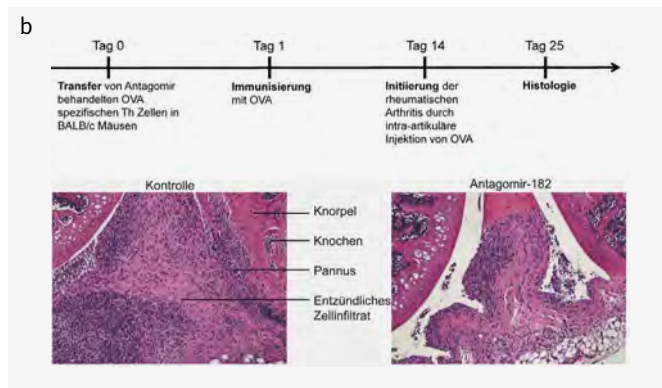
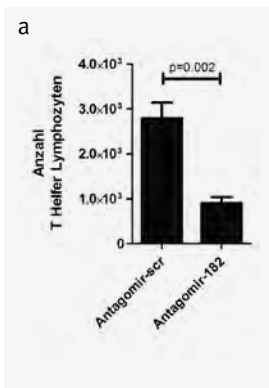


Abbildung 4: In einem Mausmodell für Arthritis führt die Hemmung von miR-182 zur einer drastischen Reduktion der Th Lymphozyten und der Entzündung in den Kniegelenken. (a) Anzahl lebender Th Zellen nach *in vivo* Aktivierung und Behandlung mit Antagomir-182 oder einem Kontroll-Antagomir (Antagomir-scr). (b) Versuchsaufbau der Ovalbumin (OVA) induzierten Arthritis und Histologische Untersuchung der entzündeten Kniegelenke nach intra-artikulärer Injektion von OVA und adoptiven Transfer von unbehandelten oder ,Antagomir-182 behandelt OVA-spezifischen Th Zellen.

Abbildung 5: Die Hemmung von miR-148a mittels Antagomir-148a vermindert die Anzahl pro-inflammatorischer Th1 Zellen (Antagomir-scr, Kontrolle) *in vitro*.

**PUBLIKATIONEN**

Stittrich, A.B., Haftmann, C., Sgouroudis, E., Kuhl, A.A., Hegazy, A.N., Panse, I., Riedel, R., Flossdorf, M., Dong, J., Fuhrmann, F., et al. (2010). The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes. *Nat Immunol* 11, 1057-1062.

Haftmann, C., Stittrich, A.B., Sgouroudis, E., Matz, M., Chang, H.D., Radbruch, A., and Mashreghi, M.F. (2012). Lymphocyte signaling: regulation of FoxO transcription factors by microRNAs. *Ann NY Acad Sci* 1247, 46-55.

Wittmann, J., Jack, H.M., and Mashreghi, M.F. (2011). [MicroRNAs in B-cells and T-cells as regulators of inflammation]. *Z Rheumatol* 70, 507-510.

**DRITTMITTEL**

BMBF FORSYS  
ZIBI Graduate School

## Pathogenes T-Zellgedächtnis

### WISSENSCHAFTLER

I. Albrecht, K. Westendorf,  
M.H. Lexberg, E. Schulz,  
K. Hradilkova, M. Weber,  
E. Sgouroudis, A. Radbruch,  
H.D. Chang

### KOOPERATIONSPARTNER

M. Löhning<sup>1</sup>, J. Grün<sup>2</sup>, A. Grützkau<sup>2</sup>,  
M. Janke<sup>3</sup>, A. Scheffold<sup>3</sup>, T. Häupl<sup>4</sup>,  
S. Pade<sup>4</sup>, A. Kühl<sup>4</sup>, F. Hiepe<sup>4</sup>, T.  
Dörner<sup>4</sup>, G.R. Burmester<sup>4</sup>, J.  
Sieper<sup>4</sup>, B. Siegmund<sup>4</sup>, M. Zeitz<sup>4</sup>, T.  
Höfer<sup>5</sup>, A. Richter<sup>6</sup>, T. Kamradt<sup>7</sup>

1 Experimentelle  
Immunologie, DRZF

2 Immunmonitoring,  
DRZF

3 Immunmodulation, DRZF

4 Charité Universitäts-  
medizin, Berlin

5 Deutsches Krebsforschungs-  
zentrum, Heidelberg

6 Miltenyi Biotec GmbH,  
Bergisch Gladbach

7 Friedrich Schiller Universität,  
Jena

### PUBLIKATIONEN

Lexberg M.H., Taubner A., Albrecht  
I., Lepenies I., Richter A., Kamradt  
T., Radbruch A., Chang H.D. 2010.  
IFN- $\gamma$  and IL-12 synergize to convert  
in vivo generated Th17 into Th1/  
Th17 cells. Eur J Immunol  
40:3017-27.

Albrecht I., Niesner U., Janke M.,  
Menning A., Loddenkemper C.,  
Kühl A.A., Lepenies I., Lexberg  
M.H., Westendorf K., Hradilkova K.,  
Grün J., Hamann A., Epstein J.A.,  
Chang H.D., Tokoyoda K., Radbruch  
A. 2010. Persistence of effector  
memory Th1 cells is regulated by  
Hopx. Eur J Immunol 40:2993-  
3006.

Alexander, T., A. Thiel, O. Rosen, G.  
Massenkeil, A. Sattler, S. Kohler, H.  
Mei, H. Radtke, E. Gromnica-Ihle,  
G.R. Burmester, R. Arnold, A.  
Radbruch, and F. Hiepe. 2009.  
Depletion of autoreactive  
immunologic memory followed by  
autologous hematopoietic stem  
cell transplantation in patients  
with refractory SLE induces  
long-term remission through de  
novo generation of a juvenile and  
tolerant immune system. Blood  
113:214-223.

Zur Zeit erfolgt die Behandlung rheumatischer Erkrankungen durch immunsuppressive Therapien. Hierdurch kann in der überwiegenden Zahl der Fälle ein Fortschreiten der Krankheit verhindert werden. Eine therapiefreie Remission wird allerdings nur selten erreicht und das Absetzen der Medikamente führt meistens zu einem Rückfall. Das Immunsystem der Patienten scheint ein Gedächtnis für die rheumatische Entzündung zu entwickeln, das den modernsten immunsuppressiven Therapieansätzen gegenüber unempfindlich ist. Vor allem chronisch aktivierte T-Helfer (Th) Lymphozyten stehen im Verdacht, eine entscheidende Rolle in der Pathogenese und Aufrechterhaltung der Entzündung zu spielen. Sie sind funktionell geprägt und unempfindlich für physiologische und therapeutische Regulation. Zellen des pathogenen immunologischen Gedächtnisses stellen daher einen neuen Ansatzpunkt bei der Behandlung rheumatischer Erkrankungen dar.

Die Behandlung chronisch-entzündlicher Erkrankungen stellt Wissenschaftlicher und Ärzte vor eine große Herausforderung. Obwohl immunsuppressive Medikamente zur Verfügung stehen, mit denen die akute Entzündung unterdrückt und eine Verbesserung der Symptomatik erreicht werden kann, wird eine langanhaltende therapiefreie Remission nur in den seltensten Fällen erreicht. Wir vermuten, dass die gängigen immunsuppressiven Therapien das pathogene immunologische Gedächtnis nicht erreichen. Ein Grund hierfür könnte darin liegen, dass die Zellen des immunologischen Gedächtnisses epigenetisch und funktionell geprägt sind und damit aktivierungsinhi-

bierenden Therapeutika gegenüber nicht die gleiche Sensitivität besitzen wie naive Zellen. Ein Argument für die prinzipielle Beteiligung des immunologischen Gedächtnisses an der Pathogenese und Aufrechterhaltung der rheumatischen Entzündung ergibt sich aus den klinischen Beobachtungen einer kompletten Immunablation. In Patienten mit juveniler Arthritis, systemischem Lupus erythematoses und Multipler Sklerose führt eine vollständige Zerstörung des Immunsystems, gefolgt von einem Wiederaufbau mit autologen hämatopoetischen Stammzellen, zu einer langfristigen therapiefreien Remission (Alexander et al. 2009). Diese therapeutische Strategie führt allerdings auch zu einem völligen Verlust der erworbenen, schützenden Immunität und zu einem erhöhten Krankheits- und Sterberisiko aufgrund von Infektionen. Unser Ziel ist es daher, das pathogene immunologische Gedächtnis gezielt zu eliminieren und so eine Heilung der chronischen Entzündung zu erreichen.

### Funktionaler Biomarker für pathogene Th Gedächtniszellen

Langlebige, antikörpersezernierende Plasmazellen sind gegenüber konventionellen immunsuppressiven Therapien resistent und stellen ein vielversprechendes neues therapeutisches Angriffsziel dar (siehe auch Arbeitsgruppe für Autoimmunität). Es ist jedoch umstritten, ob Autoantikörper für sich genommen ausreichend sind, um die rheumatische Entzündung aufrechtzuerhalten. Wahrscheinlich spielen auch Gedächtnis Th Lymphozyten eine wichtige Rolle, vor allem die entzündungsfördernden Th Typ 1 (Th1) und Typ 17 (Th17) Zellen. Unter der Annahme, dass proin-

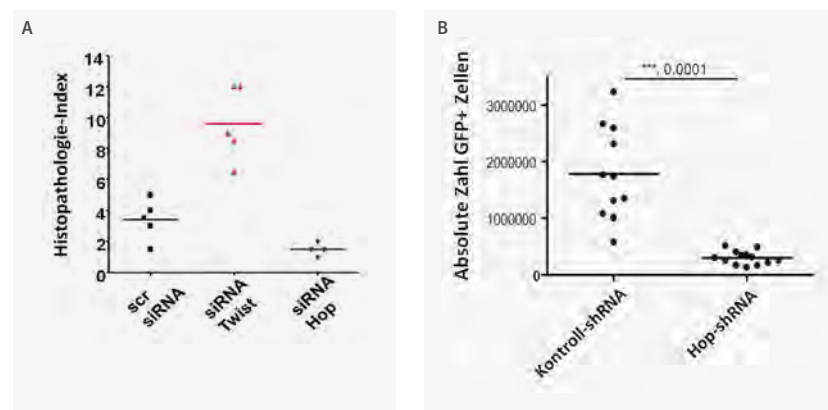


Abbildung 1: Twist1 und Hopx regulieren die Funktion von entzündungsfördernden Th1-Zellen. (A) Die Entzündungen im murinen Ovalbumin-induzierten Arthritismodell werden deutlich verschlimmert, wenn Th1 Zellen in denen twist1 Expression durch RNA-Interferenz herunterreguliert wurde, adoptiv transferiert werden. Eine Herunterregulation der hopx Expression in Th1 Zellen führt zu einer Verbesserung der arthritischen Entzündung. (B) Ein Knockdown der hopx Expression in Th1 Zellen resultiert in deren Unfähigkeit, in Folge von adoptiven Transfer in Wildtyppräzipienten *in vivo* zu persistieren.



flammatorische Gedächtnis Th Lymphozyten im Laufe der chronischen rheumatischen Entzündung ihrem Antigen viele Male begegnen, haben wir das Transkriptom, also die Gesamtheit aller exprimierten Gene, von mehrfach *in vitro* stimulierten Th Zellen untersucht. Wir haben zwei Gene, Twist1 und Hopx, identifiziert, deren Expression in mehrfach stimulierten, pro-inflammatorischen Th1 Zellen spezifisch hochreguliert wurde. CD4+ T Lymphozyten mit einer hohen Expression von Twist1 und Hopx konnte auch aus Entzündungsherden von Patienten isoliert werden, die an rheumatischen Erkrankungen oder chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen leiden. Um die Funktion von Twist1 zu bestimmen, haben wir die Expression von Twist1 in Th1 Zellen in einem Mausmodell für rheumatoide Arthritis durch „RNA-Interferenz“ herunterreguliert. Wir konnten zeigen, dass es bei einer Herunterregulierung der Twist1 Expression zu einer Verstärkung der Entzündung kommt. (Abb. 1A). Twist1 scheint also ein intrinsischer Entzündungsregulator zu sein. Eine Inhibition der Hopx Expression in Th1 Zellen führt zu einer Beeinträchtigung der Fähigkeit der Zellen, *in vivo* zu überleben (Abb. 1B). Th1 Zellen, denen die Hopx Expression fehlt, sind daher nicht in der Lage, in einem Mausmodell für rheumatoide Arthritis oder für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen eine Entzündung auszulösen. (Abb. 1A). Gedächtniszellen, die Twist1 und Hopx exprimieren, und Hopx selbst stellen somit interessante Ziele für neue Therapieansätze dar, die auf die Löschung des immunologischen Gedächtnisses für rheumatische Entzündung abzielen.

### Die Plastizität von entzündungsfördernden Th-Zellen

Sowohl Th1 als auch Th17 Zellen sind mit der Pathogenese chronischer Entzündungen in Verbindung gebracht worden. Th1 und Th17 Zellen haben einige Aufgaben bei der Kontrolle entzündlicher Immunreaktionen gemeinsam. Trotzdem werden sie als ge-

trennte Zweige von Effektor-/Gedächtniszellen angesehen, gekennzeichnet durch die Expression unterschiedlicher Haupttranskriptionsfaktoren, T-bet für Th1 Zellen und ROR $\gamma$ t für Th17 Zellen, und einer Prägung für die Reexpression von IFN- $\gamma$  bzw. IL-17. Allerdings konnten in *in vivo* Situationen Th Zellen gefunden werden, die sowohl IFN- $\gamma$  als auch IL-17 exprimieren. Ungeklärt bleibt, unter welchen Umständen diese Zellen entstehen und ob sie als ein distinkter Zelltyp angesehen werden können. Uns war es möglich, die IFN- $\gamma$  Expression in Th17 Zellen durch eine Kombination von IFN- $\gamma$  und IL-12 zu induzieren (Abb. 2). IFN- $\gamma$  wird für die Erhöhung der Expression der IL12R $\beta$ 2-Kette benötigt und IL-12 für die Polarisierung zum Th1 Phänotyp. Diese Th1/17 Zellen zeigen eine stabile Koexpression von T-bet und ROR $\gamma$ t auf der Einzelzellebene und sind vorgeprägt für die Expression von IFN- $\gamma$  und IL-17. Th1/17 Zellen vereinen in sich somit das entzündungsfördernde Potential von Th1 und Th17 Zellen, was sie zu einem attraktiven therapeutischen Angriffsziel macht. Über einen ähnlichen Pfad können auch Th2 Zellen das funktionelle Profil von Th1 Zellen erlangen (siehe auch Arbeitsgruppe für Experimentelle Immunologie).

### Perspektiven

Durch unseren experimentellen Ansatz ist es uns gelungen, Gene zu identifizieren, deren Expression spezifisch für chronisch aktivierte Th Lymphozyten ist. Twist1 und Hopx sind Biomarker für wiederholt aktivierte Th1 Zellen, die es uns erlauben, Th Zellen des pathogenen Gedächtnisses zu identifizieren. Unser Ziel ist es nun, Strategien zu entwickeln, die pathogene Gedächtnis-Th-Zellen selektiv eliminieren. Weiter wollen wir untersuchen, wie das Zytokingedächtnis von differenzierten entzündungsfördernden Th Zellen „gelöscht“ und die Expression von entzündungsfördernden Zytokinen unterbunden werden kann.

### DRITTMITTEL

DFG SFB 618, SFB 633, SFB 650, SFB TR 52, Berlin-Brandenburg School of Regenerative Therapies (BSRT), ZIBI Graduate School, BMBF IMPAM, BMBF Immunopain, EU IMI, BTCure, ERC Advanced Grant

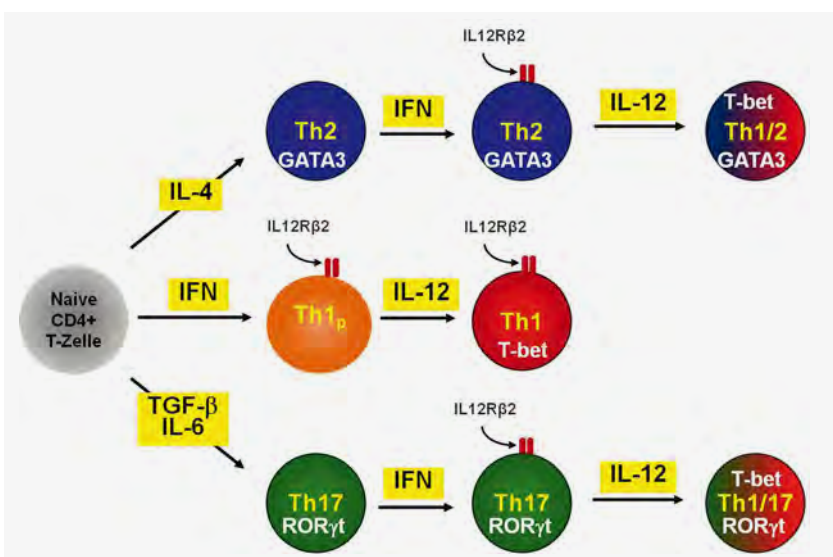


Abbildung 2: Die IFN- $\gamma$  /IL-12 Achse reguliert bei Th Lymphozyten die Aneignung von entzündlichen Th1 Funktionen. Vergleichbar zu dem Zwei-Schritt-Prozess, der für die Th1 Differenzierung in naiven T-Zellen nötig ist, führen Typ 1 und 2 Interferone zu einer erhöhten IL12R $\beta$ 2 Expression in differenzierten Th Zellen, wodurch Th2 und Th17 Zellen gegenüber IL-12-Signalen empfänglich werden. IL-12 kann dann zu einer stabilen Hochregulation von T-bet und dem Gewinn zusätzlicher Th1 Funktionen führen, wodurch qualitativ und funktionell distinkte entzündliche Th1/2- und Th1/17-Zellen entstehen.





Chiara Romagnani, MD

## Innate Immunity

### Understanding the role of innate lymphocytes in inflammation

#### KEYWORDS

Innate lymphoid cells (ILC),  
NK cells,  
IFN- $\gamma$ ,  
IL-22,  
Autoimmunity

#### GROUP MEMBERS

Group leader:  
Chiara Romagnani

Scientists:  
Daniela Paclik

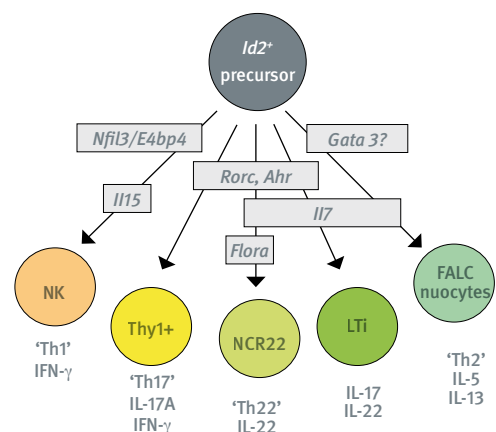
Ph.D. students:  
Monica Killig,  
Merlin Lütke-Eversloh,  
Timor Glatzer,  
Elisa Montaldo  
(EFIS grant-visiting PhD student)

Diploma and MD students:  
Basak Burcu Cicek,  
Marcus Ehrhardt

Students:  
Luiz Gustavo Teixeira Alves,  
Quirin Hammer

Our research interest mainly focuses on innate lymphoid cells (ILC), which include a number of “old” and “new” lymphocyte populations, sharing several phenotypic properties and developmental requirements. ILC are pretty heterogeneous concerning their cytokine profile and function in response to different pathogens. The emerging complexity of ILC family resembles that already described for CD4<sup>+</sup> helper T cell subsets, TH1, TH2 or TH17, whose cytokine profile and lineage-specifying transcription factors are tailored to their respective roles in host defence. The ILC family includes Natural Killer (NK) cells, natural helper (NH) cells, fetal and adult lymphoid tissue-inducer (LTi) as well as a population of LTi cells expressing several NK cell receptors, named NK-22 cells. NK cells produce IFN- $\gamma$  and play a role in the defence against intracellular pathogens, similar to TH1 cells. Natural Helper (NH) cells produce IL-5 and IL-13 and are involved in the protection against helminth infections, similar to TH2 cells. Adult LTi and NK-22 cells produce IL-22 and partially IL-17 and mediate resistance against extracellular pathogens, similar to TH17. Furthermore, ILC also contribute to homeostasis of mucosal tissues and regulation of adaptive immunity and inflammatory diseases. Although it is now clear that innate and adaptive cells share most of their effector molecules, activation requirements of ILC and T cells still largely differ. Therefore, ILC exquisite role and interplay with adaptive cells during infections and inflammatory diseases needs further investigation. In our lab, we are currently trying to dissect ILC heterogeneity and to identify the crucial signals leading to acquisition of their effector functions and “memory-like” properties. In our previous work, we have focused on NK cell differentiation and identified a new subset of polyfunc-

tional NK cells. Currently, we are investigating the molecular switches of IFN- $\gamma$  regulation in NK cells and in cooperation with our clinical partners, we are exploiting adoptive transfer of NK cells for the treatment of cancer and prevention of adverse autoimmune responses in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Moreover, we study ILC activation requirements and evaluate the role of these cells during inflammatory diseases. In parallel with our extensive work on human ILC derived from different compartments of healthy donors and patients, we are currently generating conditional knock-out mice, where different ILC populations are selectively depleted, in order to assess their contribution in acute and chronic inflammatory disease models, such as colitis and arthritis, as well as their role during secondary immune responses. Our final aim is to understand the role of ILC in acute and chronic inflammation and to develop new strategies for the treatment of autoimmune-mediated inflammatory diseases.





#### ■ COOPERATION PARTNERS

- Bluethgen N, Meisig J, Medical Systems Biology, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Ferlazzo G, University Messina, Italy
- Gröne J, Seifarth C, Chirurgische Klinik und Hochschulambulanz I, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Moretta A and L, Pende D, Pietra G, University of Genova, Italy
- Richter A, Scheffold A, Huppert V, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach
- Schüler T, Institut für Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Seidl R, HNO-Klinik, Unfallkrankenhaus, Berlin
- Stölzel K, Hals-Nasen-Ohrenklinik und Poliklinik, Charité – Universitätsmedizin Berlin, CBF
- Thiel A, Charité – Universitätsmedizin Berlin, BCRT
- Uharek L, Friederichs B, Hämatologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, CBF
- Vivier E, Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, France
- Volk H-D, Schmitt-Knosalla I, BCRT, Charité – Universitätsmedizin Berlin, CVK

#### ■ SELECTED PUBLICATIONS:

1. Juelke, K., Killig, M., Luetke-Eversloh, M., Parente, E., Gruen, J., Morandi, B., Ferlazzo, G., Thiel, A., Schmitt-Knosalla, I., and Romagnani, C. (2010). CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. *Blood* 116, 1299-1307.
2. Romagnani, C. (2010). Conference Scene: Autoimmunity and transplantation: basic science and clinic translation meet in Geneva. 9th International Conference on New Trends in Immunosuppression and Immunotherapy 4-6 February 2010, Geneva, Switzerland. *Immunotherapy* 2, 447-451.
3. Pietra, G., Romagnani, C., Manzini, C., Moretta, L., and Mingari, M.C. (2010). The emerging role of HLA-E-restricted CD8+ T lymphocytes in the adaptive immune response to pathogens and tumors. *J Biomed Biotechnol* 2010, 907092.

## SCIENTISTS

M. Killig,  
M. Lütke-Eversloh,  
K. Juelke

## COOPERATION PARTNERS

B. Friedrichs, L. Uharek,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

A. Grützkau, J. Gruen,  
DRFZ

B. Morandi, G. Ferlazzo,  
University of Messina, Italy

A. Thiel, Schmitt-Knosalla,  
H-D Volk, BCRT,  
Charité – Universitäts-  
medizin Berlin

## REFERENCES

Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. Trends Immunol 2001;22:633-40.

Romagnani C, Juelke K, Falco M, et al. CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup> killer Ig-like receptor- NK cells display longer telomeres and acquire features of CD56<sup>dim</sup> NK cells upon activation. J Immunol 2007;178:4947-55.

Chan A, Hong DL, Atzberger A, et al. CD56<sup>bright</sup> human NK cells differentiate into CD56<sup>dim</sup> cells: role of contact with peripheral fibroblasts. J Immunol 2007;179:89-94.

## PUBLICATIONS

Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Parente E, Gruen J, Morandi B, Ferlazzo G, Thiel A, Schmitt-Knosalla I, and Romagnani, C. CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56<sup>dim</sup> NK cells. Blood 2010;116:1299-1307.

## FUNDING

DFG-SFB 650  
DFG-SFB TR 36

## NK cell differentiation and acquisition of effector functions

Human Natural Killer (NK) cells comprise two main subsets, CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> cells, that differ in function, phenotype and tissue localization. To further dissect the heterogeneity of CD56<sup>dim</sup> cells, we have performed transcriptome analysis and functional ex vivo characterization of human NK cell subsets according to the expression of markers related to differentiation, migration or competence. We could show that expression of CD56 and CD62L enables the identification of three NK cell subsets. Ex vivo analysis of their function, phenotype, telomere length, frequencies during ageing as well as transfer experiments of NK cell subsets into immunodeficient mice showed that CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells represent an intermediate stage of NK cell maturation between CD56<sup>bright</sup> CD62L<sup>+</sup> and CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>-</sup> cells. Importantly, we could demonstrate that during this differentiation process, NK cells display progressively decreasing ability to respond to cytokines while gradually acquiring the capacity to display effector functions, in particular IFN- $\gamma$  expression, in response to activating receptors. This process is also accompanied by epigenetic remodelling at the IFNG locus. Only CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells combined the ability to produce interferon (IFN)- $\gamma$  after cytokines and proliferate *in vivo* during viral infection with the capacity to kill and produce cytokines upon engagement of activating receptors. Therefore, CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells represent a unique subset of polyfunctional NK cells. NK cell differentiation can be more precisely depicted, when other markers such as CD16, CD57, KIR and NKG2A were added to CD56 and CD62L. By the use of principal component analysis (PCA), we could show that NK cell differentiation appears as a continuum. According to this model, we have tracked NK cells in the course of a phase I/II clinical trial where patients were transplanted with CD34<sup>+</sup> cells followed by transfer of CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> NK cells derived from the same haplo-

identical donor. PCA analysis and clustering of donor NK cells according to multiple markers enabled tracking of adoptively transferred NK cells and reconstituting ones. *In vivo* NK cell differentiation during time recapitulate NK cell differentiation stages at steady state and led to a model in which 3 distinct phases can be distinguished during time. Importantly, adoptively transferred NK cells proliferate *in vivo* and mostly belong to the CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> polyfunctional NK cell subset.

In the course of the immune response against microbes, naïve T cells proliferate and generate varied classes of effector cells, as well as memory cells, with distinct properties and function. This program appears to be essential to achieve protection and immunological memory. In the last years, it became clear that Natural Killer (NK) cells do not represent a homogenous population of cells ready to kill, but they also undergo a differentiation program, which includes education, priming and even generation of memory during recall responses. This complexity implies the existence of distinct stages of NK cell differentiation, which can guarantee an efficient division of labour, as it has been shown for T cells. However, understanding NK cell increasing complexity is hampered by the lack of adequate markers that would enable us to distinguish defined steps of NK cell differentiation history. In humans, two NK cell subsets have been characterized, namely CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells (Cooper et al, 2001). Recent reports provided evidence that CD56<sup>dim</sup> NK cells may be derived directly from the CD56<sup>bright</sup> NK subset (Romagnani et al, 2007; Chan et al, 2007). However, CD56<sup>dim</sup> NK cells represent a heterogeneous population concerning the expression of several markers. The aim of this study was to dissect the heterogeneity of CD56<sup>dim</sup> NK cells in order to identify intermediate stages of NK cell maturation and to better define the differentiation history of human NK cells.

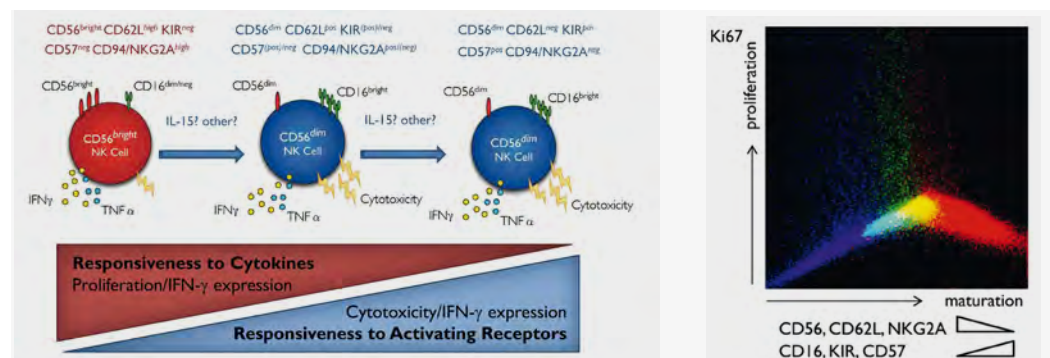


Figure 1: NK cell differentiation as a continuum. Model of NK cell differentiation (left) and principal component analysis of NK cells according to the indicated markers (right).

## Results and discussion:

In our study, we performed functional and transcriptome analysis of human NK cell subsets dissected according to KIR, NKG2A, CD27 and CD62L expression *ex vivo* or after stimulation with inflammatory cytokines or activating ligands. Our data show for the first time that CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells represent a new subset of human NK cells, displaying intermediate phenotype and functions between CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>-</sup> NK cell subsets. Indeed, we could demonstrate that CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> subset combines the high ability of CD56<sup>bright</sup> cells to proliferate and produce IFN- $\gamma$  after cytokine stimulation, with the capacity to kill and produce cytokines via activating receptors, typical of CD56<sup>dim</sup> cells. CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells are also mostly responsible for NK cell proliferation in an empty host as well as during viral infection. Moreover, transcriptome analysis, measurement of telomere length and frequencies during ageing as well as transfer experiments of the three human NK cell subsets into immunodeficient NOD/SCID/g $\gamma$ <sup>-/-</sup> mice indicated that CD56<sup>bright</sup>, CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> and CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>-</sup> correspond to sequential steps of differentiation and maturation (Figure 1, left). Importantly, our data show for the first time that the ability to proliferate and to produce IFN- $\gamma$  in response to cytokines is clearly dissociated from the ability to kill and to produce IFN- $\gamma$  after activating receptor stimulation in most NK cells with the exception of CD56<sup>dim</sup> CD62L<sup>+</sup> cells, which therefore represent a unique polyfunctional subset. In addition to CD56 and CD62L, the combination of different markers such as CD16, CD57, KIR and NKG2A enables a detailed dissection of NK cell maturation stages and, by the use of principal component analysis (PCA), we could show that distribution of these markers during NK cell differentiation appears as a continuum (Figure 1, right).

According to this model, we have tracked NK cells in the course of a phase I/II clinical trial where patients

were transplanted with CD34<sup>+</sup> cells followed by transfer of CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> NK cells derived from the same haploidentical donor. PCA analysis and clustering of donor NK cells according to multiple markers enabled tracking of adoptively transferred NK cells and reconstituting ones (Figure 2, left). In the first week after transplantation, we were able to track adoptively transferred donor NK cells, which could be distinguished from recipient NK cells as well as from those reconstituting from the donor CD34<sup>+</sup> graft. Transferred NK cells largely displayed a mature phenotype and their proliferative ability *in vivo* was restricted to the CD62L<sup>+</sup> subset (Figure 2, right). In the second week after transplantation, we detected a massive peak of highly proliferating immature NK cells, which progressively differentiated into mature NK cells, gradually losing the expression of CD62L, CD56 and NKG2A, while acquiring KIR, CD16, and CD57. Along with these molecules, we were also analyzing the dynamics of various other markers related to differentiation. Clustering of populations according to combination of several markers recapitulate NK cell differentiation stages at steady state and led to a model in which 3 distinct phases can be distinguished during time (Figure 2, left). Our data show that NK cells undergo a differentiation process *in vivo* which can be faithfully tracked by the combination of different markers. Due to their double responsiveness to cytokines and ActRec, polyfunctional NK cells combine the ability to proliferate and to display effector functions and therefore represent ideal candidates for adoptive NK cell transfer for the treatment of acute leukemias and possibly modulation of graft versus host disease.

## Perspectives

In our future studies, we aim to investigate genes and mechanisms crucial for NK cell differentiation and acquisition of effector functions and manipulate NK cells in order to preserve their polyfunctionality.

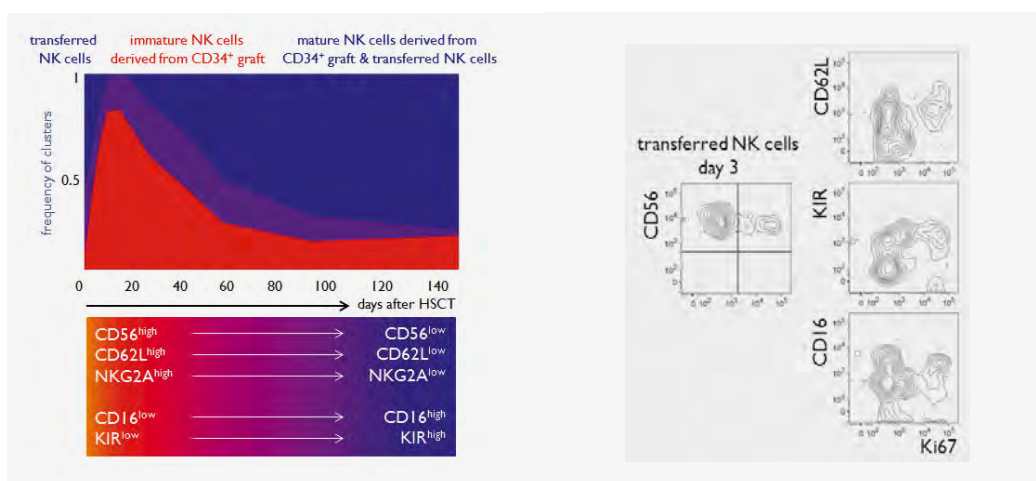


Figure 2: Tracking NK cells *in vivo*. PCA clustering of NK cells after HSCT (left) and Flow cytometric analysis of recipient PB 3 days after donor NK cell transfer (right).



## SCIENTISTS

T. Glatzer, M. Killig,  
M. Lütke-Eversloh,  
D. Paclik, L.G. Teixeira Alves

## COOPERATION PARTNERS

J. Meisig, N. Bluethgen,  
Medical Systems Biology,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin, Germany.

J. Gröne, C. Seifarth,  
Chirurgische Klinik und  
Hochschulambulanz I, Charité  
Universitätsmedizin Berlin

R. Seidl,  
HNO-Klinik, Unfallkran-  
kenhaus, Berlin

K. Stölzel,  
HNO-Klinik, Charité – Univer-  
sitätsmedizin Berlin

T. Schuler,  
Institut für Immunologie,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

E. Vivier,  
INSERM, Marseille, France

## REFERENCES

Spits H, Cupedo T. Innate  
Lymphoid Cells: Emerging Insights  
in Development, Lineage  
Relationships, and Function. *Annu  
Rev Immunol.* 2011 Mar 24

## FUNDING

DFG-SFB 633

## Role of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC in inflammation

ROR $\gamma$ <sup>+</sup> innate lymphoid cells (ILC) represent a major source of IL-22, which plays an important role in mucosal homeostasis. Human ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC have been mostly studied in the tonsils where they represent a heterogeneous population for phenotype and cytokine profile. Moreover, signal requirements for IL-22 and other cytokine expression in these cells have not been entirely elucidated. We could show for the first time that the activating receptors (ActRec) are functional in human ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC derived from tonsils and gut lamina propria (LP). Functional as well as transcriptome analysis of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC after ActRec or cytokine stimulation showed that ActRec engagement leads to only partially overlapping signature compared to cytokine stimulation. While NKp44 triggering leads to selective production of TNF as well as expression of other pro-inflammatory genes, cytokine stimulation induces selective IL-22 production as well as expression of several other anti-inflammatory genes. These data support the concept that ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC exhibit different properties depending on the contextual stimulus, and that selective engagement of activating or cytokine receptors can be instrumental to dissect anti-inflammatory or pro-inflammatory functions displayed by these cells.

ROR $\gamma$ <sup>+</sup> innate lymphoid cells (ILC) are a new population of lymphocytes mainly residing in mucosa associated tissues, such as gut LP and tonsils, and were shown to represent a major source of IL-22. These cells were able to modulate experimental colitis in mice and IL-22 appeared to play a major role. Indeed, IL-22 is a major player in mucosal immunity. IL-22 effects on epithelial cells (EC) appear to depend on the cytokine milieu of the inflamed tissue and can either be pro-inflammatory or protective, by promoting EC regeneration after damage. Identification of signals leading to selective IL-22 expression could be instrumental to promote epithelial wound healing, without inducing inflammation. In humans, two populations of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC were described, based on their expression of CD127 and CD56. Both Lin<sup>-</sup> CD127<sup>+</sup> CD56<sup>-</sup> (LTi-like cells) and Lin<sup>-</sup> CD127<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> (NK-22 cells) were previously shown to produce IL-22 as well as other cytokines, however the physiological signals leading to cytokine production in these cells have been only partially elucidated.

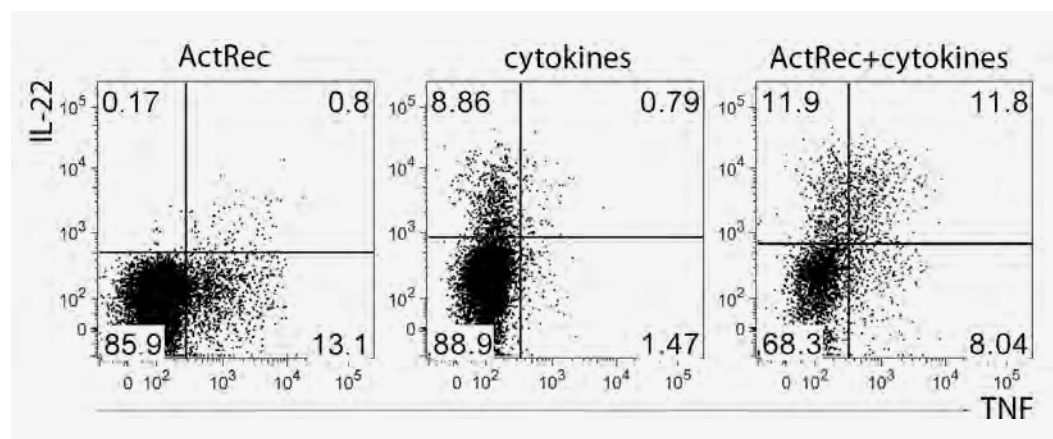


Figure 1: Stimulation of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC via ActRec or cytokines induces a divergent cytokine profile. Tonsil NK-22 cells were isolated and stimulated overnight via the indicated stimuli. Intracellular cytokines were detected by Flow Cytometry.

## Results and discussion

ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC were isolated from human tonsil as well as gut LP. Cells were characterized by Flow Cytometry for their phenotype and cytokine profile *ex vivo* or after stimulation with various cytokines and/or via different activating receptors (ActRec). Microarray analysis of differentially stimulated NK-22 cells was also performed and expression of selected genes was detected by quantitative PCR. With these approaches, we have identified for the first time stimuli which induce divergent cytokine profiles in ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC. We could show that ActRec are functional in ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC and its triggering induces selective TNF, while cytokine stimulation induces preferential IL-22 and GM-CSF expression. ActRec and cytokine stimulation worked in synergy to achieve optimal cytokine response (Figure 1).

Transcriptome analysis revealed that the two stimuli induced partially overlapping as well as specific signatures in NK-22 cells (Figure 2). Altogether, our data suggest that stimulation via ActRec might enhance pro-inflammatory features of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC, while cytokine activation preferentially induces molecules involved in tissue protection.

## Perspectives

We aim to further dissect pro-inflammatory and anti-inflammatory properties of ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC *in vivo* by studying cells derived from non inflamed and inflamed lamina propria of patients with Crohn's Disease. Moreover, we will study the role of different ILC subsets in the pathogenesis of experimental colitis and arthritis by selective depletion of different ILC populations.

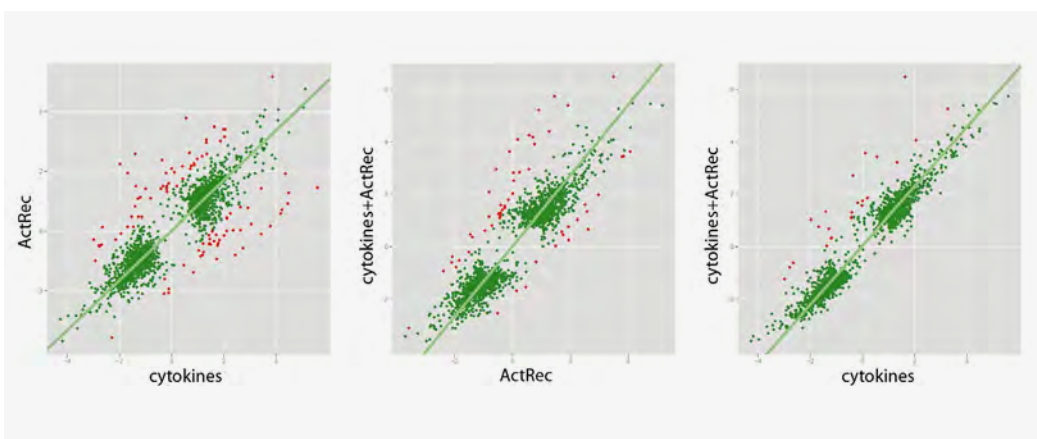


Figure 2: Analysis of co-regulated (green) or differentially regulated (red) genes in NK-22 after stimulation with cytokines, ActRec or both.

Prof. Dr.med.  
Frank Buttgerit



Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie  
an der Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Glucokortikoide & Bioenergetik

### Wie passen sich Immunzellen an Sauerstoff- und Nährstoffmangel im entzündeten Gewebe an?

#### STICHWORTE

Bioenergetik von Immunfunktionen  
Hypoxie und Angiogenese  
Glucocorticoide  
Autoimmunerkrankungen  
Frakturheilung

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Prof. Dr. med. Frank Buttgerit

Wissenschaftler  
Dr. rer. nat. Timo Gaber-Elsner,  
Dr. med. Paula Hoff,  
Dr. med. Cornelia Spies,  
Dr. rer. nat. Cindy Strehl,  
Dr. rer. nat. Monique Fangradt

Doktoranden  
Dipl.-Ing. Martin Hahne,  
Dipl.-Ing. Saskia Schellmann

Diplomanden  
Katharina Blankenstein,  
Natalia Soboleva, Roman Rauch

Technische Assistenz  
Manuela Jakstadt

MD Studenten  
Dennis Basel, Tobias Raue, Claudia  
Hülso, Edgar Wiebe,  
Uta Heinevetter, Katja Börnert

Studenten  
Matthias Mursell, Cam Loan Tran

Die bioenergetische Bilanz zellulärer Systeme entscheidet über deren Überleben und Funktionalität. In akuten und chronischen Entzündungen (z.B. bei Rheumatoider Arthritis) aber auch bei Verletzungen des Blutgefäßsystems (z.B. bei Frakturen) kann der Bedarf der zellulären Umgebung an Nähr- und Sauerstoff die Versorgung überschreiten. Lokaler Nährstoff- und Sauerstoffmangel (Hypoxie) sind die Folge. Zur Aufrechterhaltung ihrer Funktionen müssen Immunzellen, mesenchymale Stammzellen (MSC) und Endothelzellen, die sich im Entzündungsgebiet beziehungsweise im Hämatom anreichern, über entsprechende Anpassungsmechanismen verfügen. Bis heute sind diese Anpassungsmechanismen noch nicht vollends verstanden.

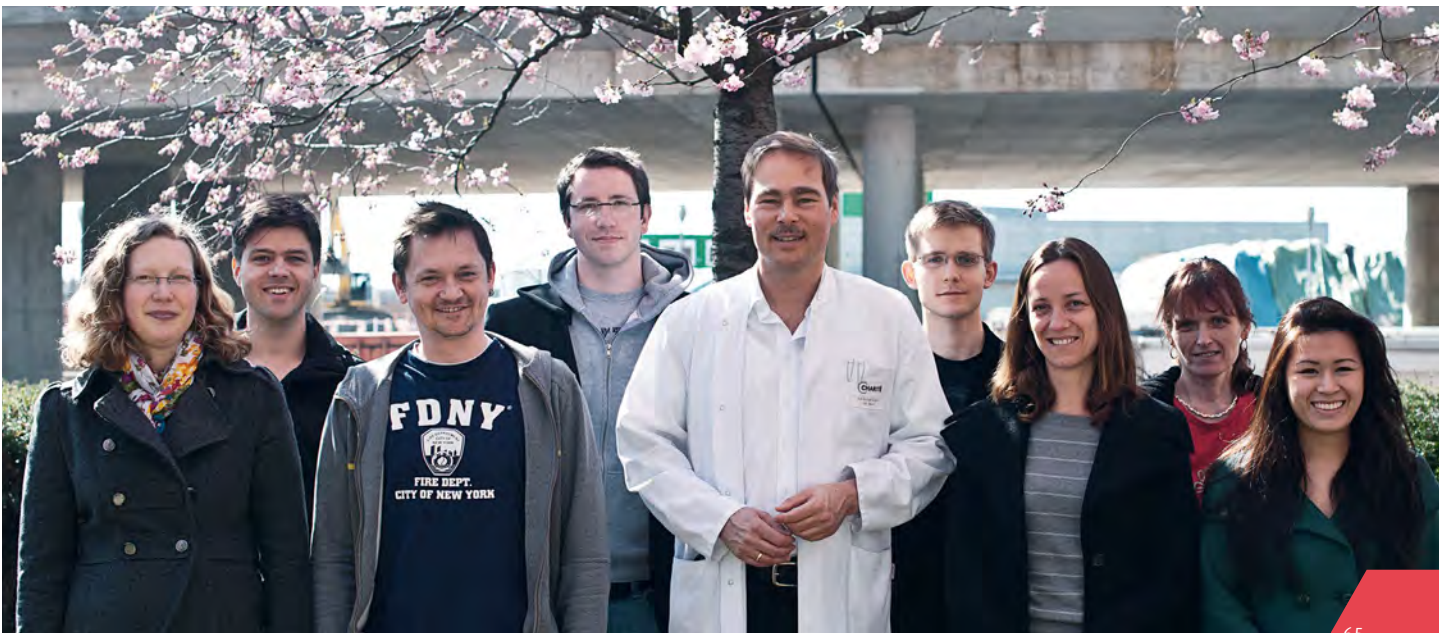
Ein wichtiger Faktor der zellulären Adaptation an Sauerstoffmangelbedingungen bildet der Hypoxie induzierbare Transkriptionsfaktor (HIF)-1 bzw. die zweite Isoform (HIF)-2. Die divergenten aber auch überlappenden Funktionen von HIF-1 und HIF-2, welche im Zusammenhang mit regenerativen Prozessen von klinischer Bedeutung sind, stehen im Fokus unserer Forschungsarbeiten.

Trotz der Verfügbarkeit von Biologika für spezielle Therapien im Bereich der Autoimmunerkrankungen, sind Glucocorticoide die am stärksten wirksamen antiinflammatorischen und immunmodulatorischen Medikamente, über die wir in der klinischen Anwendung verfügen. Es gibt allerdings ein Spannungsfeld zwischen der hohen klinischen Effektivität dieser Medikamente einerseits und den signifikanten, nur teilweise vermeidbaren Nebenwirkungen andererseits. Dies ist einer der Gründe, warum Glucocorticoide auch wei-

terhin Gegenstand sowohl der Grundlagenforschung als auch der angewandten klinischen Forschung sind, wobei unsere Arbeitsgruppe mit dem Nachweis der Funktionalität des membranständigen Glucocorticoidrezeptors neue therapeutische Ansatzpunkte aufzeigt. Weiterhin bleibt zu klären, inwieweit Glucocorticoide unter einer bioenergetisch restriktiven Umgebung in entzündlich verändertem Gewebe sowie in Regenerationsprozessen auf zellulärer Ebene wirken.

#### Unsere Aufmerksamkeit fokussiert sich aktuell auf folgende Schwerpunkte

- Klärung der zellulären Adaptationsmechanismen von humanen Immunzellen auf eine bioenergetisch restriktive Umgebung in entzündlich verändertem Gewebe aber auch in Regenerationsprozessen (z.B. Frakturheilung) unter dem Aspekt Sauerstoffmangel und Nährstoffmangel.
- Analyse der Rolle und der distinkten Funktionen des Hypoxie induzierbaren Faktors (HIF)-1 und (HIF)-2 bei der zellulären Adaptation von humanen Endothelzellen in Regenerationsprozessen mit Bezug zur Angiogenese.
- Analyse der Rolle des Hypoxie induzierbaren Faktors (HIF) bei der zellulären Adaptation und
- Differenzierung von humanen MSCs in Regenerationsprozessen.
- Erforschung der Mechanismen von Glucocorticoidwirkungen insbesondere deren genomische, nicht genomische und bioenergetische Effekte.
- Klinisch orientierte und laborbezogene Untersuchungen zu Glucocorticoidwirkung auf den Knochen.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. Gerd-Rüdiger Burmester, Dr. Thomas Häupl, Dr. Bruno Stuhlmüller,  
Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. G.N. Duda, Dr. G. Kasper,  
Berlin Brandenburg Center for Regenerative Therapies, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany

Dr. Stefan Kraus,  
Harvard University, Boston, USA

Prof. Dr. C. Perka, PD Dr. Schmidmaier, Dr. K. Schmidt-Bleek,  
Center for Musculoskeletal Surgery, Charité – Universitätsmedizin Berlin Germany

Prof. Dr. Roland Lauster,  
Medical Biotechnology, TU-Berlin, Germany

Prof. Dr. Andreas Radbruch, Dr. Alexander Scheffold,  
Deutsches Rheumaforschungszentrum, Berlin, Germany

Prof. Dr. M. Seibel, Dr Hong Zhou,  
ANZAC Institute, University of Sydney, Australia

Dr. John Yewdell,  
NIH, Bethesda, USA

Magarethe und Heinrich Hoffmann,  
École polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL), Switzerland

Dick Heinegard,  
University of Lund, Sweden

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Buttgerit F, Burmester GR, Straub RH, Seibel MJ, Zhou H (2011) Exogenous and endogenous glucocorticoids in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 63:1-9

2. Buttgerit F, Doering G, Schaeffler A, Witte S, Sierakowski S, Gromnica-Ihle E, Jeka S, Krueger K, Szechinski J, Alten R (2010) Targeting pathophysiological rhythms: prednisone chronotherapy shows sustained efficacy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 69:1275-1280

3. Gaber T, Schellmann S, Ereku KB, Fangradt M, Tykwinska K, Hahne M, Maschmeyer P, Wagegg M, Stahn C, Kolar P, Dziurla R, Lohning M, Burmester GR, Buttgerit F (2011) Macrophage migration inhibitory factor counterregulates dexamethasone-mediated suppression of hypoxia-inducible factor-1 alpha function and differentially influences human CD4+ T cell proliferation under hypoxia. *J Immunol* 186:764-774

4. Henneicke H, Herrmann M, Kalak R, Brennan-Speranza TC, Heinevetter U, Bertollo N, Day RE, Huscher D, Buttgerit F, Dunstan CR, Seibel MJ, Zhou H (2011) Corticosterone selectively targets endo-cortical surfaces by an osteoblast-dependent mechanism. *Bone* 49:733-742

5. Hoff P, Gaber T, Schmidt-Bleek K, Senturk U, Tran CL, Blankenstein K, Lutkecosmann S, Bredahl J, Schuler HJ, Simon P, Wassilew G, Unterhauser F, Burmester GR, Schmidmaier G, Perka C, Duda GN, Buttgerit F (2011) Immunologically restricted patients exhibit a pronounced inflammation and inadequate response to hypoxia in fracture hematomas. *Immunol Res* 51:116-122

6. Kolar P, Gaber T, Perka C, Duda GN, Buttgerit F (2011) Human early fracture hematoma is characterized by inflammation and hypoxia. *Clin Orthop Relat Res* 469:3118-3126

7. Kolar P, Schmidt-Bleek K, Schell H, Gaber T, Toben D, Schmidmaier G, Perka C, Buttgerit F, Duda GN (2010) The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tissue Eng Part B Rev* 16:427-434

8. Spies CM, Cutolo M, Straub RH, Burmester GR, Buttgerit F (2010) More night than day--circadian rhythms in polymyalgia rheumatica and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 37:894-899

9. Strehl C, Gaber T, Lowenberg M, Hommes DW, Verhaar AP, Schellmann S, Hahne M, Fangradt M, Wagegg M, Hoff P, Scheffold A, Spies CM, Burmester GR, Buttgerit F (2011) Origin and functional activity of the membrane-bound glucocorticoid receptor. *Arthritis Rheum* 63:3779-3788

10. Strehl C, Spies CM, Buttgerit F. Pharmacodynamics of glucocorticoids. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 ;29(5 Suppl 68):S13-8



## WISSENSCHAFTLER

M. Hahne, S. Luetkecosmann, C.L. Tran, C. Strehl, M. Fangradt, M. Jakstadt, P. Hoff, T. Gaber, G.-R. Burmester, F. Buttgereit

## KOOPERATIONSPARTNER

G. Duda

## REFERENZEN

Mole, D.R., et al., Genome-wide association of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha DNA binding with expression profiling of hypoxia-inducible transcripts. J Biol Chem, 2009. 284(25): p. 16767-75.

Carmeliet, P. & Jain, R.K., Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 2000

Gaber, T., et al., Hypoxia inducible factor (HIF) in rheumatology: low O2! See what HIF can do! Ann Rheum Dis, 2005. 64(7): p. 971-80.

Strand, V., R. Kimberly, and J.D. Isaacs, Biologic therapies in rheumatology: lessons learned, future directions. Nat Rev Drug Discov, 2007

## PUBLIKATIONEN

Hahne M, Luetkecosmann S, Tran CL, Strehl C, Fangradt M, Jakstadt M, Kasper G, Duda G, Hoff P, Gaber T, Burmester G.R., Buttgereit F. Angiogenic potential of HMECs – analysis of two HIFa isoforms and their overlapping functions. 39. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, München, 31 August - 03 September 2011. Abstract in Z Rheumatol 2011;70(Suppl1):26

Hahne M, Luetkecosmann S, Tran CL, Strehl C, Fangradt M, Jakstadt M, Kasper G, Duda G, Hoff P, Gaber T, Burmester G.R., Buttgereit F. Angiogenic potential of HMECs – analysis of two HIFa isoforms and their overlapping functions. 75. Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology, Chicago, USA, 4-9 November 2011. Abstract in Arthritis & Rheumatism 2011;Volume 63(10) Supplement:S10

## DRITTMITTEL

DFG Förderung durch BSRT GSC 203

## Das angiogene Potential humaner Endothelzellen (HMEC) – Analyse zweier HIF $\alpha$ Isoformen und ihrer überlappenden Funktionen

Ein Merkmal chronisch entzündeter Gelenke ist eine fehlgeleitete Angiogenese innerhalb des betroffenen Gelenks durch das Vorhandensein einer lokal verminderten Sauerstoffverfügbarkeit. Der Hypoxie induzierbare Faktor HIF mit seinen Isoformen HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$  gilt dabei als Hauptregulator dieser Prozesse. Bei Verminderung eines der beiden Faktoren ist auch die Induktion der Angiogenese von Endothelzellen reduziert. Wir zeigen hier, dass die beiden Isoformen sowohl überlappende Funktionen, z.B. im Bereich der VEGF-Sekretion, haben, aber auch distinkte Rollen, z.B. in Bezug auf die Bioenergetik und die Sekretion von IL8, einnehmen. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen geben einen neuen Einblick in grundlegende Prinzipien bei der Regulation der Angiogenese in entzündeten Geweben und zeigen so mögliche neue therapeutische Ansätze bei der Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen.

Ein Merkmal entzündeter Gewebe, wie sie z.B. bei der Rheumatoiden Arthritis auftreten, ist die Entstehung von Regionen im Entzündungsgebiet, in denen der Sauerstoffbedarf das Angebot übersteigt (Sauerstoffmangel; Hypoxie: pO<sub>2</sub><40 mmHg), welches dann unter anderem durch eine gesteigerte Gefäßneubildung (Angiogenese) charakterisiert wird. Für die Entwicklung des rheumatoiden Pannus mit darauffolgender chronischer Entzündung der Synovialmembran und Gelenkerstörung ist das Wachstum neuer Gefäße notwendig. Die lokale Inhibition der Angiogenese stellt einen möglichen therapeutischen Ansatz dar, um chronisch entzündlichen Erkrankungen zu begegnen. In Hinblick darauf spielen die Transkriptionsfaktoren Hypoxie induzierbarer Faktor (HIF)-1 und (HIF)-2 eine wichtige Rolle, indem sie die zelluläre Antwort auf eine verminderte Sauerstoffverfügbarkeit steuern und dabei auch die Angiogenese fördern. Obwohl HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$  strukturelle Ähnlichkeit haben, wird angenommen, dass sie unterschiedliche transkriptionelle

Ziele besitzen, welche im Zusammenhang mit der Pathogenese von RA stehen.

In dieser Studie untersuchen wir den Einfluss von HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$  auf die Angiogenese in humanen mikrovaskulären Endothelzellen. Dazu entwickelten wir ein lentiviral basiertes Knockdown-System für beide Faktoren um deren Einfluss auf die Angiogenese unter Hypoxie in Endothelzellen zu bestimmen.

### Ergebnisse und Diskussion

Durch die Verwendung eines lentiviral basierten Knockdown-Systems für HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$  wurde die Proteinmenge von HIF-1 $\alpha$  und HIF-2 $\alpha$  in humanen mikrovaskulären Endothelzellen erfolgreich vermindert (Abbildung 1 und 2). Die Durchführung eines Angiogenese-Assays zeigt ein deutlich reduziertes Potential der Endothelzellen, Angiogenese unter Hypoxie einzuleiten (Abbildung 3). So ist die Anzahl der gebildeten Verzweigungspunkte in Zellen mit vermindertem HIF-1 $\alpha$  Proteingehalt um das 1,6-fache vermindert (p=0.0067). Ein ähnlicher Effekt zeigt sich bei der Betrachtung der Länge der ausgebildeten Tubuli. Eine Verminderung der HIF-2 $\alpha$  Proteinmenge führt ebenso zu einer signifikant eingeschränkten Angiogenese, was vor allem anhand der geringeren Tubulilänge (1,7 fache Verminderung, p=0,0444) und einem ähnlichen Effekt auf die Anzahl der Verzweigungspunkte ersichtlich wird (Abbildung 3).

Betrachtet man nun die Funktion der beiden HIF-Isoformen, also z.B. die transkriptionelle Aktivierung von Genen, so muss man vorrangig die Faktoren in Betracht ziehen, die für die Einleitung der Angiogenese oder die Adaptation des Energiemetabolismus zuständig sind. So kann man bei Messung der proangiogenen Faktoren VEGF und IL8 mittels Multiplex Suspension Array feststellen, dass für den Faktor VEGF die Isoformen HIF1 und HIF2 scheinbar überlappende Funktionen besitzen, da die Menge an sekretiertem VEGF

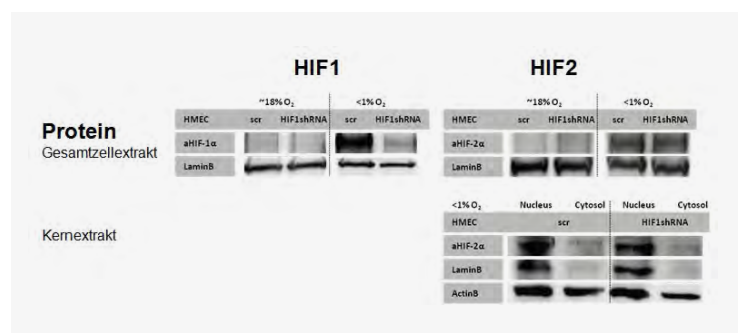


Abbildung 1: Das Einbringen einer anti-HIF1 $\alpha$ -shRNA führt zu einer verminderten Proteinmenge an HIF1, wobei die HIF2-Proteinmenge davon nicht beeinflusst wird und HIF-2 $\alpha$  im Kern nachweisbar ist (Western Blot, n=3).

zwar im Vergleich zu Kontrollzellen vermindert ist, sich aber in der Menge zwischen den beiden HIF-Isomeren nicht unterscheidet. Im Gegensatz dazu ist IL8 bei Zellen mit verminderter HIF-2a Proteinmenge ebenfalls nur deutlich reduziert im Überstand nachzuweisen, was für Zellen mit HIF-1a Knockdown nicht zutrifft.

Beleuchtet man die Bioenergetik der Zellen mittels Messung der Transkriptmenge der Glykolyse-relevanten Gene GAPDH und PGK, so erscheint es, als würde die Transkription dieser Gene vornehmlich durch HIF-1a gesteuert werden, während das Nicht-Vorhandensein von HIF-2a keinen negativen Einfluss auf die gebildete Transkriptmenge hat.

Zusammenfassend kann man anhand der hier gezeigten Ergebnisse feststellen, dass sowohl HIF-1a als auch HIF-2a das angiogene Potential humaner mikrovaskulärer Endothelzellen beeinflussen und ihr Nicht-Vorhandensein eine Verminderung der Angiogenese ver-

ursacht. Dabei scheinen diese Effekte im Falle von HIF-1a aufgrund einer verminderten Induktion der Glykolyse mittels GAPDH und PGK verursacht zu werden, während HIF-2a direkt eine verminderte Sekretion des proangiogenen Faktors IL8 bewirkt.

**Perspektiven**

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen den essentiellen aber auch überlappenden Einfluss der Faktoren HIF-1a und HIF-2a auf die Angiogenese von HMECs.

Die gemachten Beobachtungen geben dabei einen neuen Einblick in grundlegende Prinzipien bei der Regulation der Angiogenese in entzündeten Geweben und zeigen so mögliche neue therapeutische Ansätze bei der Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen.

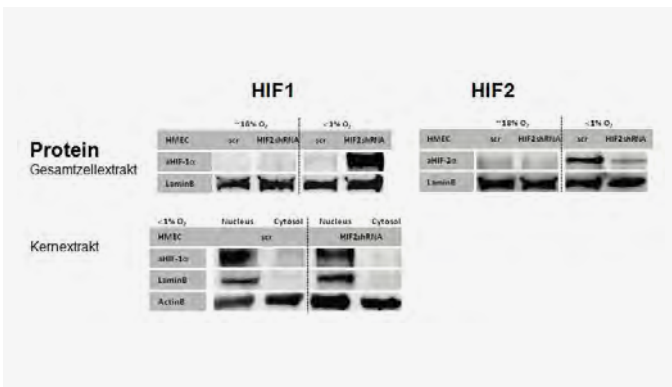


Abbildung 2: Das Einbringen einer anti-HIF2A-shRNA führt zu einer verminderten Proteinmenge an HIF2, wobei die HIF1-Proteinmenge davon nicht beeinflusst wird und HIF-1a im Kern nachweisbar ist (Western Blot, n=3).

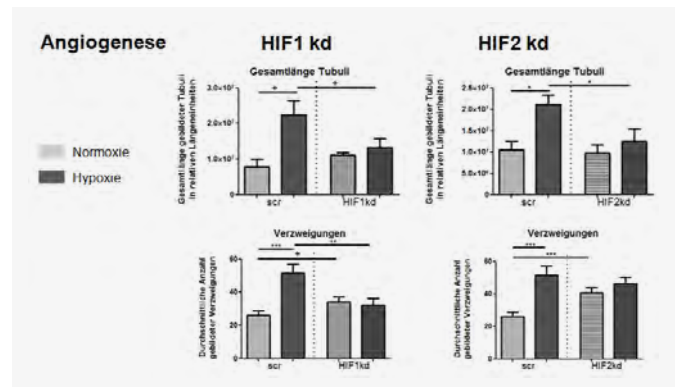


Abbildung 3: Die Verminderung der HIF1 bzw. HIF2-Proteinmenge führt zu einer signifikanten Verminderung der Fähigkeit von HMECs, eine Angiogenese unter Hypoxie einzuleiten (HIF1kd = knockdown, HIF2kd = knockdown, scr = scrambled Kontrollvektor, grau=Normoxie, schwarz=Hypoxie, n=4, One-way ANOVA). Sowohl die Länge der gebildeten Tubuli als auch die Anzahl der Verzweigungspunkte wird dabei beeinflusst.

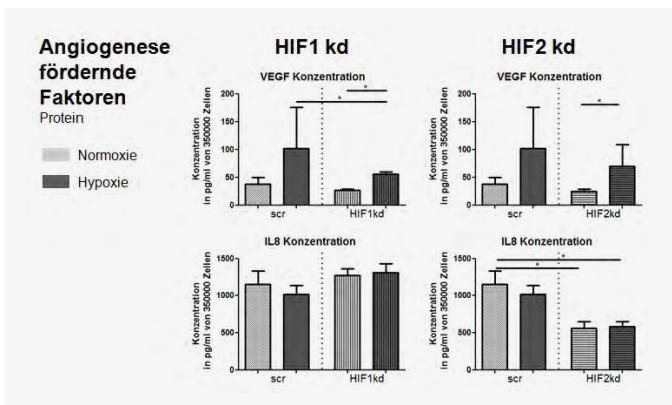


Abbildung 4: Das Einbringen einer anti-HIF1A-shRNA bzw. anti-HIF2A-shRNA führt in beiden Fällen zu einer vergleichbar verminderten Menge an VEGF im Überstand, wohingegen die Menge an proangiogenem IL8 im Überstand nur bei einem HIF-2a knockdown signifikant vermindert ist (HIF1kd = knockdown, HIF2kd = knockdown, scr = scrambled Kontrollvektor, One-Way ANOVA).

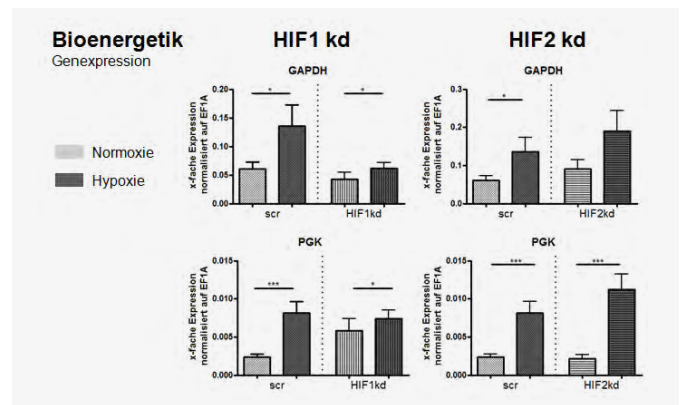


Abbildung 5: Das Einbringen einer anti-HIF1A-shRNA führt zu einer numerisch verminderten Menge an GAPDH- und PGK-Transkript wohingegen das Einbringen einer anti-HIF2A-shRNA keinen Einfluss auf die Transkriptmenge hat. (HIF1kd = knockdown, HIF2kd = knockdown, scr = scrambled Kontrollvektor, One-Way ANOVA).

## WISSENSCHAFTLER

Cindy Strehl, Manuela Jakstadt,  
Cornelia M. Spies, Timo Gaber,  
Frank Buttgereit

## KOOPERATIONSPARTNER

Mark Löwenberg; Department of  
Gastroenterology and Hepatology,  
Academic Medical Center,  
Meibergdreef 9, 1105 AZ  
Amsterdam, The Netherlands

## REFERENZEN

Bartholome, B., Spies, C.M.,  
Gaber, T., Schuchmann,  
S., Berki, T., Kunkel, D.,  
Bienert, M., Radbruch,  
A., Burmester, G.R.,  
Lauster, R., Scheffold, A.,  
Buttgereit, F. 2004. Membrane  
glucocorticoid receptors (mGCR)  
are expressed in normal human  
peripheral blood mononuclear  
cells and upregulated after in vitro  
stimulation and in patients with  
rheumatoid arthritis. *FASEB J.* 18,  
70–80.

Stahn C, Buttgereit F. Genomic and  
nongenomic effects of glucocorti-  
coids. *Nat Clin Pract Rheumatol.*  
2008 Oct;4(10):525-33. Epub  
2008 Sep 2. Review.

Löwenberg M, Stahn C,  
Hommel DW, Buttgereit F.

Novel insights into mechanisms of  
glucocorticoid action and the  
development of new glucocorticoid  
receptor ligands. *Steroids.* 2008  
Oct;73(9-10):1025-9. Epub 2007  
Dec 14. Review.

Stahn C, Löwenberg M, Hommes  
DW, Buttgereit F. Molecular  
mechanisms of glucocorticoid  
action and selective glucocorticoid  
receptor agonists. *Mol Cell  
Endocrinol.* 2007 Sep 15;275(1-  
2):71-8. Epub 2007 Jun 2. Review

## PUBLIKATIONEN

Strehl C, Spies CM, Buttgereit F.  
Pharmacodynamics of glucocorti-  
coids. *Clin Exp Rheumatol.* 2011  
Sep-Oct;29 (5 Suppl 68):S13-8.

Strehl C, Gaber T., Löwenberg M.,  
Hommel D.W., Verhaar A.P.,  
Schellmann S., Hahne M.,  
Fangradt M., Wagegg M., Hoff P.,  
Scheffold A., Spies C.M.,  
Burmester G.R., Buttgereit F.  
Membrane-bound glucocorticoid  
receptors. *Arthritis Rheum.* 2011  
Aug 26. doi: 10.1002/art.30637

## Analyse der Herkunft membranständiger Glucocorticoidrezeptoren

Glucocorticoide gehören zu den am häufigsten ein-  
gesetzten Medikamenten zur Behandlung einer  
Vielzahl von entzündlichen Erkrankungen. Sie ver-  
mitteln neben den klassischen genomischen, auch  
sehr schnelle Effekte, was zum Teil über den mem-  
branständigen Glucocorticoidrezeptor (mGR) erfolgt.  
Dieser wurde auf Monozyten von Patienten mit  
Rheumatoider Arthritis nachgewiesen und gezeigt,  
dass die Expressionsfrequenz mit der Krankheitsakti-  
vität positiv korreliert. Eine veränderte Expression  
des mGRs wurde im Vergleich zu Gesunden auch  
beim systemischen Lupus erythematoses, der an-  
kylosierenden Spondylitis oder nach Impfungen ge-  
zeigt. Der mGR spielt letztendlich bei der Pathoge-  
nese verschiedener entzündlicher Erkrankungen  
eine wichtige Rolle und könnte in Zukunft Ziel spezi-  
fischer, auf sehr schnelle Effekte abgestimmter Me-  
dikamente darstellen. Dafür ist die detaillierte Klä-  
rung der nicht genomischen, mGR vermittelten  
Mechanismen von Glucocorticoiden eine Grundvor-  
aussetzung.

Die antientzündliche und immunsuppressive Wirkung  
von Glucocorticoiden (GC) wie z.B. Dexamethason  
wird hauptsächlich über den klassischen genomischen  
Mechanismus vermittelt. Nach Bindung des GC's an  
seinen cytosolischen Rezeptor (cGR) kommt es zur  
Kernlokalisierung und zur Kopplung an die DNA  
über sogenannte Glucocorticoid-Response-Elements  
(GRE), was zur Folge hat, dass entweder die Expres-  
sion antientzündlicher Proteine gesteigert oder die  
Synthese entzündlicher Proteine gehemmt wird. Eine  
klinische Verbesserung nach Glucocorticoidbehand-  
lung ist erst nach mehreren Stunden bis Tagen zu be-  
obachten. Es treten jedoch auch schnelle Effekte auf  
welche nicht mittels genomischen Mechanismus er-  
klärbar sind. Diese Effekte entstehen neben einer In-  
teraktion der GC's mit Membranen und nicht-geno-  
mischer cGR Wirkung auch durch die Wechselwirkung  
mit einem membrangebundenen Glucocorticoidre-  
zeptor (mGR). Dieser spielt eine Rolle in der Pathoge-  
nese chronischer, entzündlicher Erkrankungen da die  
Anzahl an mGR positiven Monozyten bei Patienten  
mit verschiedenen entzündlichen Erkrankungen wie

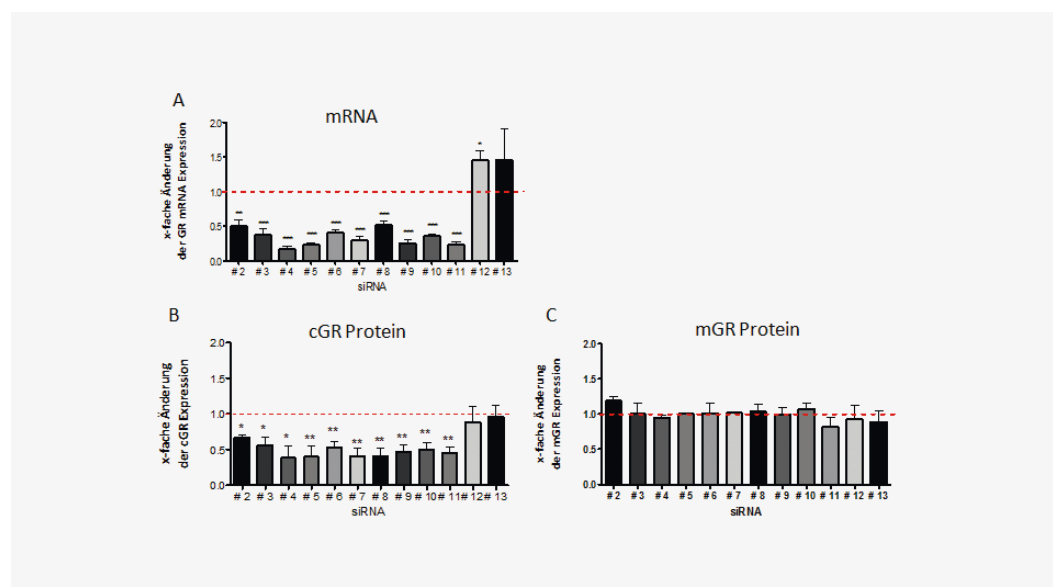


Abbildung 1: Einfluss eines transienten, small interfering RNA (siRNA)–vermittelten Glucocorticoidrezeptor (GR) Knockdown. Die Transfektion mit exonspezifischen synthetischen siRNAs führt zu einer signifikanten Reduktion der GR mRNA (A) und der cGR-Proteinexpression (B) in HEK 293T Zellen. Eine Reduktion der mGR-Proteinexpression konnte nicht nachgewiesen werden (C). Werte sind dargestellt als Median+IQR und wurden auf  $\beta$ -Actin (A, B) und eine Negativkontrolle (scrambled siRNA) (A-C) normalisiert. \* =  $p < 0.05$ ; \*\* =  $p < 0.01$ ; \*\*\* =  $p < 0.001$ , one-way analysis of variance.

z.B. RA, SLE oder AS gesteigert ist. Um diesen Rezeptor in Zukunft als Ziel für Medikamente nutzen zu können ist es notwendig seine Herkunft und Funktion zu klären. Ausgehend von der Ein-Gen-Hypothese soll in dieser Arbeit die Herkunft mittels RNA-Interferenz geklärt werden.

### Ergebnisse und Diskussion

Die Herkunft des mGRs wurde an der mGR positiven Zelllinie HEK293T mittels der RNA-Interferenz Technologie untersucht. Dafür wurde sowohl eine transiente (mittels synthetischer siRNAs) als auch eine stabile (über shRNA tragende Plasmide) Herabregulation der GR mRNA durchgeführt. Die Effektivität der RNAi-vermittelten GR-Reduktion wurde für beide Methoden auf mRNA Ebene mittels RT-qPCR überprüft und die Reduktion der cGR Proteinmenge über Immunoblot-Analyse nachgewiesen. Die Analyse der mGR Expression mittels hochsensitiver Immunfluoreszenz zeigte jedoch, dass eine transiente Reduktion der GR mRNA nicht zu einer Verminderung der mGR

Expression führt. Im Gegensatz dazu führte eine stabile Herabregulation der GR mRNA mittels shRNA Technologie zu einer signifikant verminderten mGR Expression. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass sowohl cGR als auch mGR von nur einem Gen, dem Gen für den humanen Glucocorticoidrezeptor NR3C1, codiert werden.

### Perspektiven

Nachdem wir zeigen konnten, dass der mGR und der cGR von nur einem Gen codiert werden, steht nun aus zu überprüfen, auf welche Art der Rezeptor modifiziert wird um die membranständige Variante zu erhalten.

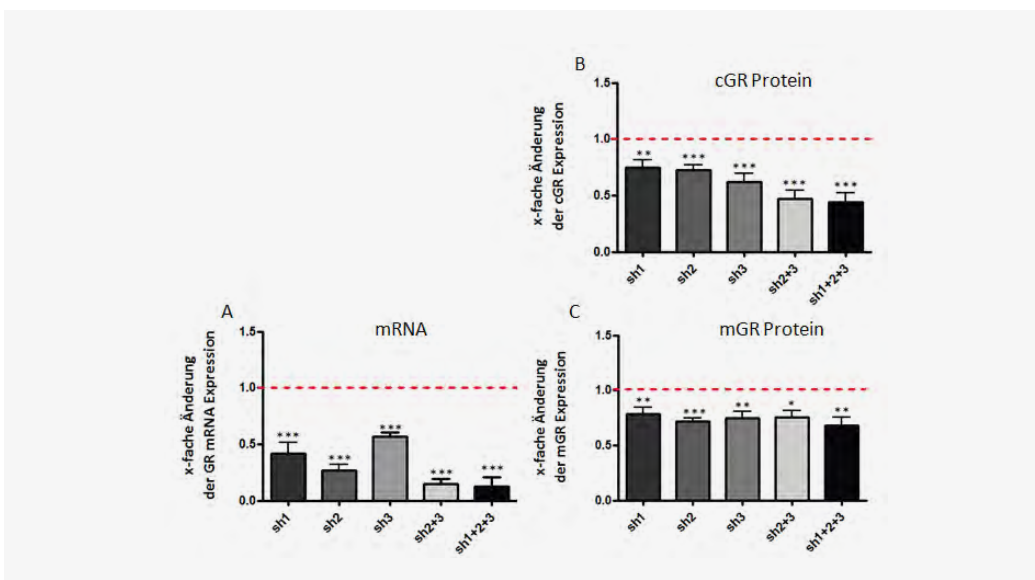


Abbildung 2: Einfluss eines stabilen, short hairpin RNA (shRNA)-vermittelten Glucocorticoidrezeptor (GR) Knockdown. Die Transfektion mit unterschiedlichen shRNAs führt zu einer signifikanten Reduktion der GR mRNA (A) der cGR-Protein (B) und der mGR Proteinexpression (C) in HEK 293T Zellen. Werte sind dargestellt als Median+IQR und wurden auf  $\beta$ -Actin (A, B) und eine Negativkontrolle (scrambled siRNA) (A-C) normalisiert. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ , one-way analysis of variance.





Prof. Dr. med.  
Thomas Dörner

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie  
und Klinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin

## B-Zell-Gedächtnis

### Welche Rolle spielen Gedächtnis-B-Zellen bei Autoimmunreaktionen und gelingt deren selektive therapeutische Blockade?

#### STICHWORTE

innovative Rheumatherapie  
antigen-spezifische B-Zellen  
B-Zell-gerichtete Therapie  
Immunhomöostase

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Prof. Dr. Thomas Dörner

Wissenschaftler  
Dr. rer. nat. Dipl.-Ing. Henrik Mei  
Dr. rer. nat. Capucine Daridon

Doktoranden  
Ina Wirries  
Claudia Giesecke  
Sarah Fleischer  
Nadine Sieger  
Daniela Blaßfeld

Diplomanden/Master theses  
Stefanie Schmidt  
Katarzyna Luda

Technische Assistenz  
Karin Reiter

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Rolle von B-Zellen mit speziellem Schwerpunkt auf Gedächtnis-B-Zellen als Vorläufer von Plasmablasten und Plasmazellen und ihrer Rolle als therapeutischer Angriffspunkt auf Grund ihrer Bedeutung in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen. Normalerweise spielt das B-Zell-Gedächtnis eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des globalen Immungedächtnisses, speziell jedoch bei der Immunabwehr gegenüber Krankheitserregern. Dieses Gedächtnis kann u. a. durch Impfungen erzeugt werden. Andererseits sind offensichtlich dieselben Mechanismen bei autoimmunen Erkrankungen involviert und werden fortgeschrieben, wobei „selbst“-reaktive B-Zellen und Antikörper körpereigenes Gewebe und Organsysteme angreifen und zerstören.

Im Mittelpunkt unseres Forschungsansatzes steht die Analyse antigenspezifischer Gedächtnis-B-Zellen, einschließlich ihrer Rolle bei Autoimmunerkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis, der autoimmunen Immunthrombopenie (ITP), dem Sjögren-Syndrom und systemischen Lupus erythematodes (SLE). Während Gedächtnis-B-Zellen u. a. in der Milz lokalisiert sind, lagern insbesondere langlebige Plasmazellen im Knochenmark. Folglich widmen sich verschiedene Projekte der Zusammensetzung und Homöostase der Plasmazellen im Knochenmark sowie der Rolle der Milz bei B-Zell-Antworten. Als Modell für die Immunaktivierung definiertem Antigen dient hierbei die Auffrischungsimpfung gegen Tetanus, bei der antigen-spezifischer B-Lymphozyten induziert werden und im Blut nachgewiesen und analysiert werden können. Hierbei verfolgen wir mittels eigens dafür entwickelter Nachweismethoden diejenigen B-Zellen, die spezi-

fisch bei der Impfreaktion entstanden sind. Die Ergebnisse dieser Studien bilden das Fundament für den detaillierten Einblick in die biologischen Mechanismen, die zur Ausprägung des B-Zell-Gedächtnisses im Gesunden als auch Autoimmunpatienten führen und zu dessen Regulation und Funktion beitragen. Durch die Analyse von Blut- und Gewebeprobe von solchen Patienten überprüfen wir unsere Konzepte. Neben hochentwickelter Durchflusszytometrie kommen dabei funktionellen Tests für Zellmigration oder Antikörpersekretion sowie gezielte molekularbiologische Analysen und Signalmoleküle auf Einzelzellebene zum Einsatz.

Ausgehend von unseren neuen Erkenntnissen über den Aufbau und die bestimmenden Faktoren des B-Zell-Gedächtnisses erforschen wir die Eignung bestimmter Moleküle als Ziele zukünftiger B-Zell-gerichteter Therapieansätze. Bei bereits entwickelten Therapien stehen die klinische Validierung und die Aufklärung der Wirkmechanismen im Vordergrund unserer Arbeiten, wie zum Beispiel unsere Studien zur Wirkung von anti-CD20, anti-CD22, anti-CD74 und anti-CD19.

Bei Therapien, die bereits im klinischen Alltag eingesetzt werden, leisten wir einen Beitrag zur Verbesserung der Patientenversorgung durch Biomarkerforschung in Hinblick auf die Personalisierung von antirheumatischen Therapiestrategien.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Andreas Radbruch,  
DRFZ Berlin, AG Zellbiologie, Berlin

Dr. Simon Fillatreau,  
DRFZ Berlin, AG Immunregulation, Berlin

Prof. Falk Hiepe,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Med Klinik mS  
Rheumatologie und Klinische Immunologie, Berlin

PD Eugen Feist,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Med Klinik mS  
Rheumatologie und Klinische Immunologie, Berlin

Prof. Carsten Perka,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Klinik für  
Unfallchirurgie und Orthopädie, Berlin

Prof. Christoph Loddenkemper,  
Institut für Pathologie, Berlin-Steglitz

Prof. Annett M. Jacobi,  
Rheumatologie, Universität Münster

PD Dr. Arne Hansen,  
Abt. Innere Medizin, Schlossparkklinik Berlin

Prof. Hans-Peter Tony,  
Universität Würzburg, Rheumatologie, Würzburg

Mikael Brisslert,  
Universität Göteborg, Rheumatologie, Göteborg,  
Schweden

Prof. Peter Lipsky,  
ehemals NIAMS/NIH, Autoimmunity Branch,  
Bethesda, USA

David M. Goldenberg,  
Immunomedics Inc., Morris Plains, USA

Prof. Rudolf A. Manz,  
ISEF, AG B-Lymphozyten, Lübeck

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Tony, H.P., G. Burmester, H. Schulze-Koops, M. Grunke, J. Henes, I. Kotter, J. Haas, L. Unger, S. Lovric, M. Haubitz, R. Fischer-Betz, G. Chehab, A. Rubbert-Roth, C. Specker, J. Weinerth, J. Holle, U. Muller-Ladner, R. Konig, C. Fiehn, P. Burgwinkel, K. Budde, H. Sorensen, M. Meurer, M. Aringer, B. Kieseier, C. Erfurt-Berge, M. Sticherling, R. Veelken, U. Ziemann, F. Strutz, P. von Wussow, F.M. Meier, N. Hunzelmann, E. Schmidt, R. Bergner, A. Schwarting, R. Eming, M. Hertl, R. Stadler, M. Schwarz-Eywill, S. Wassenberg, M. Fleck, C. Metzler, U. Zettl, J. Westphal, S. Heitmann, A.L. Herzog, H. Wiendl, W. Jakob, E. Schmidt, K. Freivogel, and T. Dörner. 2011. Safety and clinical outcomes of rituximab therapy in patients with different autoimmune diseases: experience from a national registry (GRAID). *Arthritis Res Ther* 13:R75.
2. Egerer, K., D. Roggenbuck, T. Buttner, B. Lehmann, A. Kohn, P. von Landenberg, R. Hiemann, E. Feist, G.R. Burmester, and T. Dörner. 2011. Single-step autoantibody profiling in antiphospholipid syndrome using a multi-line dot assay. *Arthritis Res Ther* 13:R118.
3. Emery, P., and T. Dörner. 2011. Optimising treatment in rheumatoid arthritis: a review of potential biological markers of response. *Ann Rheum Dis* 70:2063-2070.
4. Dörner, T., C. Giesecke, and P.E. Lipsky. 2011. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE. *Arthritis Res Ther* 13:243.
5. Hiepe, F., T. Dörner, A.E. Hauser, B.F. Hoyer, H. Mei, and A. Radbruch. 2011. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nature reviews. Rheumatology* 7:170-178.

6. Daridon, C., D. Blassfeld, K. Reiter, H.E. Mei, C. Giesecke, D.M. Goldenberg, A. Hansen, A. Hostmann, D. Frolich, and T. Dörner. 2010. Epratuzumab targeting of CD22 affects adhesion molecule expression and migration of B-cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 12:R204.

7. Mei HE, Frölich D, Giesecke C, Loddenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T. Steady state generation of mucosal IgA+ plasmablasts is not abrogated by B cell depletion therapy with rituximab. *Blood*. 2010;116(24):5181-90.

8. Yoshida, T., H. Mei, T. Dörner, F. Hiepe, A. Radbruch, S. Fillatreau, and B.F. Hoyer. 2010. Memory B and memory plasma cells. *Immunol Rev* 237:117-139.

9. Frölich, D., C. Giesecke, H.E. Mei, K. Reiter, C. Daridon, P.E. Lipsky, and T. Dörner. 2010. Secondary immunization generates clonally related antigen-specific plasma cells and memory B cells. *J Immunol* 185:3103-3110.

10. Dörner, T., A.M. Jacobi, J. Lee, and P.E. Lipsky. 2011. Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods* 363:187-197.

## WISSENSCHAFTLER

St.Schmidt, K.Luda,  
H. Mei, Th. Dörner

## KOOPERATIONSPARTNER

Charité – Universitätsmedizin  
Berlin, Klinik m.S. Rheumatologie  
u. klinische Immunologie: Bimba  
Hoyer, Tobias Alexander, Eugen  
Feist, Lorena Martinez-Gamboa,  
Falk Hiepe

Charité – Universitätsmedizin  
Berlin, Med. Klinik für  
Gastroenterologie,  
Infektiologie und  
Rheumatologie: Ahmed  
Hegazy, Martin Zeitz

## REFERENZEN

1. Annett M. Jacobi et al. Arthritis &  
Rheumatism 2003 48: 1332-1342

2. Mei et al.  
Blood 2009 113: 2461-2469

3. Mei et al.  
Blood 2010 116: 5181-5190

4. Annett M Jacobiet al. Ann  
Rheum Dis 2010 69(1): 305-308

5. Scher JU, SB. Abramson.  
Nature Reviews Rheumatology 7  
(10): 569-578

## PUBLIKATIONEN

Mei HE, Yoshida T, Sime W, Hiepe  
F, Thiele K, Manz RA, Radbruch A,  
Dörner T, Blood-borne human  
plasma cells in steady state are  
derived from mucosal immune  
responses. Blood 2009 113:  
2461-2469

Mei HE, Frölich D, Giesecke C,  
Loddenkemper C, Reiter K,  
Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony  
HP, Radbruch A, Dörner T,  
Steady-state generation of  
mucosal IgA+ plasmablasts is not  
abrogated by B-cell depletion  
therapy with rituximab. Blood  
2010 116: 5181-5190

Mei H\*, Yoshida T\*, Dörner T,  
Hiepe F, Radbruch A, Fillatreau S,  
Hoyer BF. Memory B and memory  
plasma cells. (\* equal contributi-  
on) Immunol Rev. 2010  
Sep;237(1):117-39.

## DRITTMITTEL

SFB421/B13, DGRh start-up, DFG  
SPP Immunobone, Berliner Senat

## IgA+ Plasmablasten bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen

**Sowohl die rheumatoide Arthritis (RA) als auch der systemische Lupus erythematodes (SLE) sind durch die Produktion von Autoantikörpern sowohl des IgG- als auch des IgA- Isotyps charakterisiert. Diese Autoantikörper werden, wie „normale“, schützende Antikörper von Plasmazellen produziert, deren Vorläufer im Blut als sog. Plasmablasten nachweisbar sind. Die Frequenz dieser Plasmablasten ist bei Patienten mit SLE erhöht und als Biomarker für die Krankheitsaktivität und Autoantikörperproduktion etabliert (1), während dies bei Patienten mit RA bisher nicht bestätigt werden konnte. Bei Gesunden produzieren solche Plasmablasten mehrheitlich IgA Antikörper und besitzen mit CCR10 und  $\beta 7$  Integrin zwei wichtige Rezeptoren für mukosale Zellmigration (2,3).**

Vor diesem Hintergrund stellte sich die Frage, ob solche „mukosalen“ Plasmablasten auch bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen zu finden und für das Krankheitsgeschehen von Bedeutung sind. Dabei soll perspektivisch insbesondere auf eine potentielle Rolle dieser IgA+ Plasmablasten als Biomarkerkandidat für die Produktion von IgA-Autoantikörpern eingegangen werden.

Die hier untersuchten Patienten mit SLE bzw. RA zeigten erhöhte bzw. verringerte Plasmablastenfrequenzen im Blut und bestätigten somit frühere Untersuchungen (3,4). Bei allen Patienten wurden, wie bei Gesunden, IgA+ Plasmablasten nachgewiesen, wobei deren

Anzahl ähnlich der Plasmablastenfrequenz bei Patienten mit SLE höher als die der Gesunden lag, während sie bei RA Patienten signifikant verringert war (Abb. 1). Auch IgA+ Plasmablasten von Autoimmunpatienten besitzen Rezeptoren für mukosale Zellmigration, wenn auch in abweichenden Mustern (Abb. 2, Schmidt et al., Manuskript in Vorbereitung).

Eine weitere interessante Beobachtung betrifft die Analyse Rituximab-resistenter IgA+ Plasmablasten bei Patienten mit RA (3). Unter diesen RTX-resistenten Plasmablasten stellten IgA2-produzierende Plasmablasten, ein Subtyp, der vor allem im Dickdarmgewebe lokalisiert ist, einen überdurchschnittlich großen Anteil dar (Luda, Frölich et al., Manuskript in Vorbereitung).

Insgesamt dokumentieren unsere Ergebnisse einen hohen Grad der quantitativer und qualitativer Dynamik von IgA+ Plasmablasten bei Autoimmunpatienten und der Therapie mit Rituximab. Dies weist auf einen möglichen Zusammenhang zwischen dem mukosalen Immunsystem und systemischer Autoimmunität hin, wobei die Produktion pro-entzündlicher Zytokine als Folge einer spezifisch veränderten Darmflora als ein möglicher Mechanismus gilt (5).

Im weiteren Projektverlauf soll die Eignung der verschiedenen Plasmablasten-Subpopulationen als Biomarker anhand der zusammenhängenden Analyse mit klinischen und serologischen Daten getestet werden.

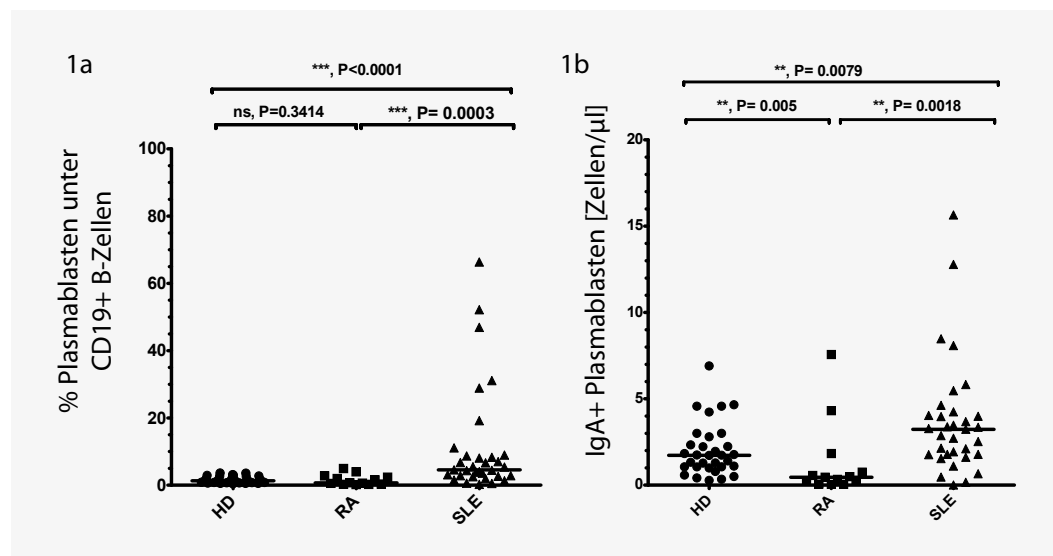


Abbildung 1: Peripheres Blut von Patienten mit RA oder SLE und gesunden Kontrollen wurden durchflusszytometrisch auf ihren Gehalt an Plasmablasten (A) und IgA+ Plasmablasten (B) hin untersucht. Patienten mit SLE zeigten eine erhöhte Frequenz von Plasmablasten und eine höhere Anzahl von IgA+ Plasmablasten als Patienten mit RA und Gesunde (HD).

## Untersuchung von Plasmazell-Subpopulationen im humanen Knochenmark

Die Hauptfunktion von Plasmazellen liegt in der Bereitstellung humoraler Immunität durch die kontinuierliche Sekretion von Antikörpern. Vermutlich können Plasmazellen insbesondere im Knochenmark jahrelang überleben und somit zum Immungedächtnis beitragen. Autoreaktive Plasmazellen können jedoch auch Anteil an der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen haben und sind gleichzeitig resistent gegen alle gängigen antirheumatischen Therapien. Trotz ihrer Rolle bei der Autoimmunpathogenese und als vielversprechender Angriffspunkt für Therapien ist die Biologie der Plasmazellen bislang nur unzureichend aufgeklärt worden. Dahingehend haben wir im menschlichen Knochenmark eine erstaunliche Vielfalt verschiedener Plasmazell-Populationen nachgewiesen, deren Funktionen und differentieller Beitrag zur (Auto-)antikörperproduktion sowie zugrundeliegenden Differenzierungswege noch unklar sind und in diesem Projekt erforscht werden sollen.

### CD19-negative Plasmazellen sind im Knochenmark angereichert

Zu Beginn des Projekts wurden Plasmazellen des Knochenmarks per Durchflusszytometrie phänotypisch charakterisiert. Dabei wurde die differentielle Expression von u.a. CD95, HLA-DR, CD56 und CD19 festgestellt. Da CD19 als Marker der B-Zell-Differenzierungslinie gilt, weist dessen gradueller Verlust bei Plasmazellen auf die Existenz verschieden weit gereif-

ter Plasmazell-Subpopulationen hin. Daher wurden zunächst Eigenschaften CD19-exprimierender gegenüber CD19-nicht-exprimierender Plasmazellen analysiert. Durchschnittlich 60% der Plasmazellen im Knochenmark exprimierten CD19 (Abb. 1), gegenüber 85% bzw. 95% in Tonsillen bzw. im Blut. Somit ist das Knochenmark das größte Reservoir von CD19-negativen Plasmazellen. Transkriptomanalysen (Abb. 2) wiesen auf eine höhere Reife der CD19-negativen Plasmazellen gegenüber CD19+ Plasmazellen hin. Einzelne Unterschiede, wie z.B. die verstärkte Expression von CD28 und CD56 und die verminderte Expression von MHCII und CD95 bei CD19-negativen Plasmazellen konnten per FACS bestätigt werden. Außerdem bestanden Gemeinsamkeiten hinsichtlich der Expression von CD138 sowie der Abwesenheit von pax5 mRNA und des Proliferationsmarkers Ki67. Die vermehrte Expression des antiapoptotischen Faktors Bcl-2 in CD19-negativen Plasmazellen unterstützt unsere Idee, dass diese Zellen gegenüber CD19+ Plasmazellen eine möglicherweise eher statische Population bilden.

Im weiteren Projektverlauf soll die Lokalisation der Plasmazell-Subpopulationen im Knochenmark histologisch untersucht und das Überlebenspotential der CD19-negativen vs. CD19+ Plasmazellen *in vitro* getestet werden. Außerdem sollen Moleküle identifiziert werden, die sich als therapeutische Angriffspunkte für eine plasmazell-gerichtete Therapie eignen könnten.

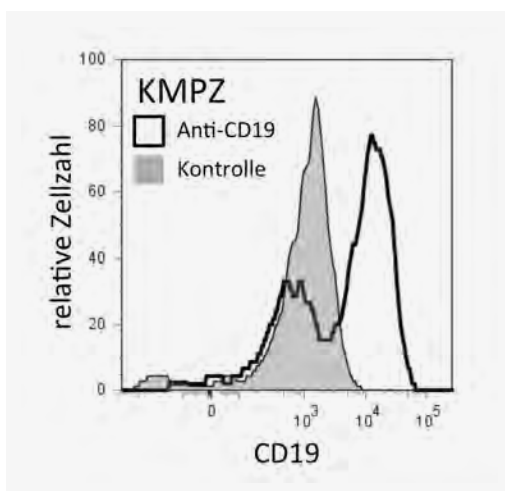


Abbildung 1: Die durchflusszytometrische Analyse humanen Knochenmarks belegt die verschieden starke Expression von CD19 bei Plasmazellen (schwarze Linie). Plasmazellen wurden als CD38stark, CD20-, CD3-, CD14- definiert und ko-exprimierten CD138 und zytoplasmatisches Immunglobulin.

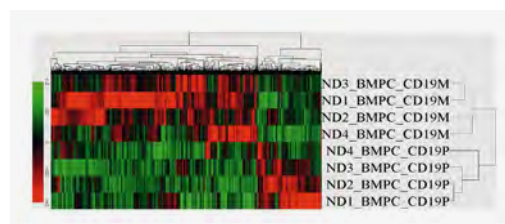


Abbildung 2: Clusteranalyse von mRNA-Expressionsprofilen von CD19+ und CD19-negativen Plasmazellen aus humanem Knochenmark von vier verschiedenen Spendern in der 'heatmap'-Darstellung. 859 Gene wurden differentiell exprimiert. Grüne Felder stehen für verminderte, rote für erhöhte Expression eines Gens.

### WISSENSCHAFTLER

H. Mei, I. Wirries, D. Frölich, Th. Dörner

### KOOPERATIONSPARTNER

DRFZ, Abt. Zellbiologie:  
A. Radbruch

Sahlgrenska Akademie, Universität  
Göteborg: M. Brisslert

Abteilung für Molekulare  
Immunologie, Nikolaus-Fiebiger-  
Zentrum für Molekulare Medizin,  
Friedrich-Alexander-Universi-  
tät Erlangen-Nürnberg:  
H.-M. Jäck

Universität Rostock:  
Robby Engelmann

Charité – Universitäts-  
medizin Berlin, Klinik für  
Orthopädie: K. Thiele, J.-B. Seeger,  
C. Perka

BCRT Berlin, core unit "cell  
harvesting": S. Reinke

### REFERENZEN

Radbruch A et al. Nat Rev  
Immunol. 2006 Oct;6(10):741-50.

Amanna IJ et al. N Engl J Med. 2007  
Nov 8;357(19):1903-15.

### PUBLIKATIONEN

Mei H, Schmidt S, Dörner T.  
Rationales of anti-CD19  
immunotherapy – an option to  
target autoreactive plasma cells in  
autoimmunity. (manuscript  
submitted)

Hiepe F, Dörner T, Hauser AE, Hoyer  
BF, Mei H, Radbruch A. Long-lived  
autoreactive plasma cells drive  
persistent autoimmune  
inflammation. Nat Rev Rheumatol.  
2011 Mar; 7(3):170-8

Mei H\*, Yoshida T\*, Dörner T,  
Hiepe F, Radbruch A, Fillatreau S,  
Hoyer BF. Memory B and memory  
plasma cells. (\* equal contributi-  
on) Immunol Rev. 2010  
Sep;237(1):117-39.

### DRITTMITTEL

Schwerpunktprogramm  
ImmunoBone (DFG)



## WISSENSCHAFTLER

S. Fleischer, N. Sieger, H.E. Mei,  
G.R. Burmester, C. Daridon,  
Th. Dörner

## KOOPERATIONSPARTNER

Lars Nitschke, Universität Erlangen  
Anthony Shock, UCB, Slough,  
United Kingdom

## REFERENZEN

1. Dörner T et al. J Immunol Methods. 2011 Jan 5;363(2):187-97.
2. Jin Let al. J Exp Med. 2002;195:1199-1205.
3. Geahlen RL. et al. Biochim Biophys Acta. 2009;1793:1115-1127.
4. Tamir let al. Curr Opin Immunol. 2000;12:307-315.

## PUBLIKATIONEN

Sieger N, Fleischer S, Mei HM, Shock A, Burmester GR, Daridon C and Dörner T. CD22 ligation inhibits downstream B-cell receptor signaling and Ca<sup>2+</sup> flux upon activation. (Manuskript eingereicht)

Daridon C, Blassfeld D, Reiter K, Mei HE, Giesecke C, Goldenberg DM, Hansen A, Hostmann A, Frolich D, Dörner T. Epratuzumab targeting of CD22 affects adhesion molecule expression and migration of B-cells in systemic lupus erythematosus. Arthritis Res Ther. 2010 Nov 4;12(6):R204.

Jacobi AM, Goldenberg DM, Hiepe F, Radbruch A, Burmester GR, Dörner T. Differential effects of epratuzumab on peripheral blood B-cells of patients with systemic lupus erythematosus versus normal controls. Ann Rheum Dis 2008;67:450-7.

## DRITTMITTEL

SFB 650 TP16, DFG491/7-2,  
UCB Pharma Inc.

## Inhibition der B-Zellaktivierung durch den humanisierten anti-CD22 Antikörper Epratuzumab

**Der monoklonale Antikörper Epratuzumab, welcher gegen das ausschließlich auf B-Zellen exprimierte Oberflächenmolekül CD22 gerichtet ist, wurde in Pilotstudien an der Charité bereits erfolgreich zur Therapie des SLE analysiert. Seine Wirksamkeit wird derzeit weiter in einer Phase III Studie bei SLE Patienten untersucht. Unser Projekt behandelt den molekularen Wirkmechanismus von Epratuzumab, der bislang nur ansatzweise erforscht ist.**

Der systemische Lupus erythematosus (SLE) ist eine systemische Autoimmunerkrankung, deren Pathogenese eng mit der Dysregulation von B-Lymphozyten verbunden ist. Dahingehend wurden sowohl gestörte Toleranzmechanismen als auch die generelle Überaktivierung von B-Zellen beschrieben, die mit einer erhöhten Anzahl von Plasmazellen und der Produktion von Autoantikörpern (z.B. Anti-dsDNA) einhergehen. CD22 wird ausschließlich und entwicklungsabhängig auf B-Zellen exprimiert und gehört zu der Familie der Sialinsäurebindenden Lektine. Neuere Studien zeigen, dass die Interaktion von CD22 mit solchen Sialinsäureresten essentiell für dessen inhibitorische Wirkung bei der B-Zell-Aktivierung sind. (1,2)

Im Rahmen der B-Zell-Aktivierung durch Kreuzvernetzung des B-Zellrezeptors (BZR) inhibiert CD22 diese Aktivierung durch die Rekrutierung und Phosphorylierung einer Vielzahl von Signalmolekülen. Ein Schlüsselmolekül ist hierbei die Tyrosinphosphatase

SHP-1, welche Syk (spleen tyrosine phosphatase) dephosphoryliert und dadurch die B-Zellaktivierung reduziert. (3,4)

### Reduzierte B-Zellaktivierung durch Vorbehandlung mit Epratuzumab

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Bindung von CD22 durch Epratuzumab zu einer signifikanten Reduzierung phosphorylierter Syk Moleküle bei CD27+ als auch CD27- B-Zellen infolge ihrer *in vitro* Aktivierung durch BZR-Kreuzvernetzung führt. Bemerkenswert ist der Effekt auf CD27+ 'Gedächtnis'-B-Zellen, da frühere Studien zum Einfluss von Epratuzumab auf die Zellmotilität von B-Zellen vor allem eine Wirkung auf naive CD27-B-Zellen dokumentierten.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass der inhibitorische Effekt von Epratuzumab zum Teil von sialinsäurespezifischen Interaktionen des Korezeptors CD22 abhängig ist. Die Entfernung der Sialinsäurereste von den getesteten Lymphozyten durch Neuraminidase führte zu einer Reduktion des inhibitorischen Effekts von Epratuzumab.

Zusammenfassend zeigen unsere Analysen, dass eine Aktivierung von CD22 durch Epratuzumab das Ausmaß der B-Zellaktivierung durch verminderte Syk-Phosphorylierung wesentlich reduziert und Sialinsäurereste als natürliche CD22 Liganden an diesem inhibitorischen Effekt beteiligt sind.

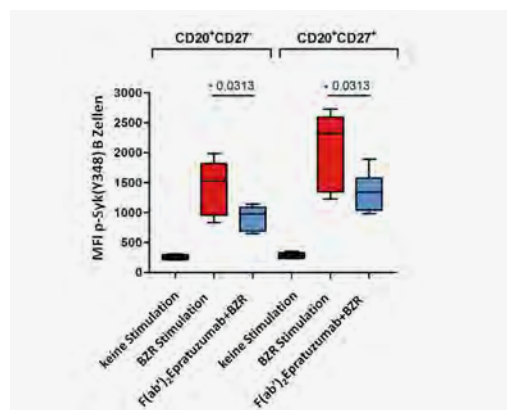


Abbildung 1: Epratuzumab inhibiert die Phosphorylierung der Tyrosinkinase Syk nach *in vitro* Kreuzvernetzung des B-Zellrezeptors  
Lymphozyten des peripheren Blutes wurden mit dem F(ab)<sub>2</sub> Epratuzumab Fragment inkubiert und anschließend mit anti-IgG/IgM stimuliert. Per FACS wurde phosphoryliertes Syk (pSyk) nachgewiesen und durch die mittlere Fluoreszenz Intensität (MFI) quantifiziert. Bei insgesamt 9 Probanden bewirkte die Vorbehandlung mit Epratuzumab eine signifikante Reduzierung von pSyk in CD27+ als auch CD27- B-Zellen (Mann-Whitney-Test, \*p < 0.05).

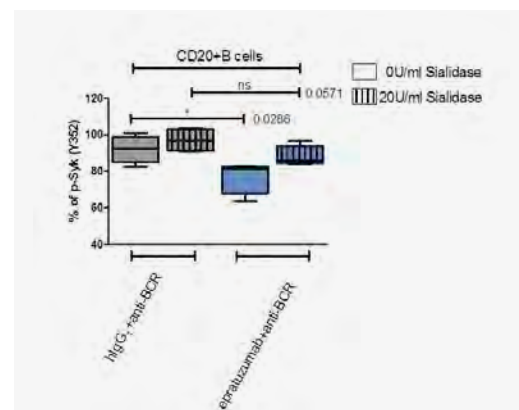


Abbildung 2: CD22-Sialinsäure Interaktionen sind am inhibitorischen Effekt von Epratuzumab beteiligt  
Mononukleäre Zellen des Blutes wurden mit Neuraminidase behandelt, dann mit Epratuzumab oder humanem IgG1 (Kontrolle) inkubiert und anschließend mit anti-IgG/IgM stimuliert. In den B-Zellen wurde phosphoryliertes Syk mittels FACS erfasst (4 Versuche). Die behandelten Zellen zeigen einen reduzierten inhibitorischen Effekt von Epratuzumab (Mann-Whitney-Test, \*p < 0.05).

## Die Rolle der Milz bei der Differenzierung humaner Gedächtnis-B-Zellen

Gedächtnis-B-Zellen und die aus ihnen hervorgehenden langlebigen Plasmazellen bilden zusammen das B-Zell-Gedächtnis aus. Neuere Forschungsergebnisse implizieren, dass die humane Milz eine zentrale Rolle für die Differenzierung und das Überleben von Gedächtnis-B-Zellen spielt. Wir untersuchen Eigenschaften humaner antigen-spezifischer Plasmazellen und Gedächtnis-B-Zellen in gesunden Probanden und splenektomierten Patienten. Als Modell einer Immunantwort analysieren wir dies im Rahmen einer Tetanus-Auffrischimpfung. Während die Kinetiken der tetanus-spezifischen Plasmazellen und Gedächtnis-B-Zellen nach Impfung die gleichen waren, fanden sich bei letzteren auf molekularer Ebene der VH Gen-Rearrangements Unterschiede. Die humane Milz scheint demnach vor allem eine Rolle für die Qualität der antigen-spezifischen Gedächtnis-B-Zellen nach Reaktivierung zu spielen.

### Einleitung

In unseren bisherigen Studien konnten wir zeigen, dass nach einer Impfung die neu entstehenden tetanus-spezifischen (TT+) Plasmazellen und Gedächtnis-B-Zellen hochmutierte VH Gen-Rearrangements sowie klonale Verwandtschaftsbeziehungen aufweisen. Beide Zellpopulationen scheinen somit von bereits existierenden TT+ Gedächtnis-B-Zellen abzustammen. Zugleich zeigen andere Forschungsergebnisse, dass die humane Milz eine fundamentale Rolle für das Überleben von Gedächtnis-B-Zellen spielt. Daher wollen wir in diesem Projekt auf

molekularer und phänotypischer Ebene untersuchen, ob und wie sich die Gedächtnis-B-Zellantwort nach einer Tetanus-Auffrischimpfung bei Abwesenheit der Milz verhält.

### Resultate and Diskussion

Mittels Einzelzell-PCR und Multiparameter-Durchflusszytometrie analysierten wir TT+ B Zellen an verschiedenen Zeitpunkten nach Impfung bei drei Gesunden und zwei Splenektomierten. Bei allen Probanden erreichte die Anzahl der TT+ Plasmazellen zwischen Tag 6-7 und die der TT+ Gedächtnis-B-Zellen zwischen Tag 12-14 ihr Maximum. Auf molekularer Ebene der VH Gene fanden wir Differenzen. Während in den Gesunden nur IgG oder IgA TT+ Gedächtnis-B-Zellen vorlagen, konnten in den Splenektomierten rund 50% IgM+ TT+ Gedächtnis-B-Zellen detektiert werden (Abb. 1), deren VH Gen-Rearrangements weniger hoch mutiert waren.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die humane Milz eine Rolle beim Klassenwechsel der Gedächtnis-B-Zellen sowie entweder bei der somatischen Hypermutation selbst oder der Selektion spezifisch mutierter Gedächtnis-B-Zellen spielt.

### Perspektiven

Unsere vorläufigen Ergebnisse müssen durch Untersuchung weiterer Splenektomierter bestätigt und erweitert werden, z.B. durch phänotypische Untersuchungen der reaktivierten Gedächtnis-B-Zellen in Gesunden verglichen mit denen in Splenektomierten.

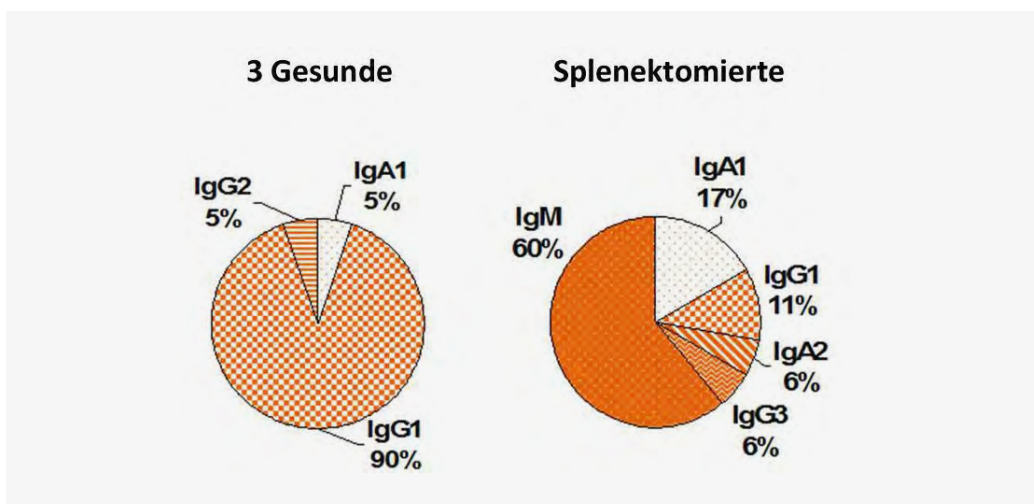


Abbildung 1: Immunoglobulinklassenverteilung bei TT+ Gedächtnis-B-Zellen im Blut Gesunder (links) und Splenektomierter (rechts) 14 Tage nach einer Tetanus-Auffrischimpfung.

### WISSENSCHAFTLER

C. Giesecke, D. Frölich, H. Mei, K. Reiter, Th. Dörner

### KOOPERATIONSPARTNER

Prof. A. Salama, MD, Institut für Transfusionsmedizin, Charité-Universitätsmedizin Berlin

Prof. P. Neuhaus, MD, W. Schöning, MD, J. Bundesen, MD, Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie, Charité-Universitätsmedizin Berlin

R. Kuhly, MD, Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Charité-Universitätsmedizin Berlin

### REFERENZEN

Mamani-Matsuda M et al. Blood 111: 4653-9 (2008).

Odendahl M et al. Blood 105: 1614-1621 (2005).

### PUBLIKATIONEN

Frölich D\*, Giesecke C\*, Mei H, Reiter K, Daridon C, Lipsky PE, Dörner T. Secondary immunization generates clonally related antigen specific plasma cells and memory B cells. J Immunol 185: 3103-3110 (2010).

Dörner T, Giesecke C, Lipsky PE. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE. Arthritis Res Ther. 2011 Oct 27; 13(5):243

Martinez-Gamboa L, Mei H, Loddenkemper C, Ballmer B, Hansen A, Lipsky PE, Emmerich F, Radbruch A, Salama A, Dörner T. Role of the spleen in peripheral memory B-cell homeostasis in patients with autoimmune thrombocytopenia purpura. Clin Immunol. 130:199-212 (2009).

### DRITTMITTEL

DFG Do 491  
SFB 633/A14/7-2



Enric Esplugues, PhD

Exzellenzcluster NeuroCure, Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Neuroimmunology

### Understanding Neuroimmunological disorders: the crosstalk between the Immune and the Central Nervous System

#### KEYWORDS

TH17 cells,  
autoimmunity,  
tolerance,  
citokines,  
chemokines.

#### GROUP MEMBERS

Group leader:  
Enric Esplugues, PhD

Scientists:  
Caterina Curato, PhD

Ph.D. students:  
Daniel Cirera and Anna Pascual

Inflammation is a very important component of the host response to infections and tumors. However, excessive inflammation may lead to a variety of pathological states, including different autoimmune disorders. The main interest of our lab is focused on understanding the cellular and molecular basis that lead to the induction, development and resolution of inflammatory disorders that are caused by the dysfunctions of the innate and/or the adaptive immune system. In particular, we are interested in the study of the TH17 cells, a recently identified CD4+ T cell subset distinct from T helper type 1 (TH1) and T helper type 2 (TH2) cells. TH17 cells can drive antigen specific autoimmune diseases and are considered the main population of pathogenic T cells driving experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), the mouse model for multiple sclerosis. The factors that are needed for the generation of TH17 cells have been well characterized. However, where and how the immune system controls TH17 cells *in vivo* is one of our major interests.

To address these questions, our laboratory employs a wide range of experimental techniques to get insight from epigenetics (FISH, 3C, ChIP, EMSA, DHA, genome wide gene expression analyses...) to the whole animal level (genetic approaches including conditional targeting and generation of different reporter mice).



#### ■ COOPERATION PARTNERS

Anja Hauser, Immunodynamics, DRFZ, Berlin

Barbara Steiner, Neuronal Regeneration and Plasticity, Klinik für Neurologie, Charité -Universitätsmedizin Berlin

Carlos Fernandez-Hernando, Division of Cardiology, New York University (NYU), USA

#### ■ SELECTED PUBLICATIONS

1. Belle TL van, Esplugues E, Liao J, Juntti T, Flavell RA, von Herrath MG. Development of autoimmune diabetes in the absence of detectable IL-17A in a CD8-driven virally induced model. *J Immunol.* 2011 ;187(6):2915-22.

2. Esplugues E, Huber S, Gagliani N, Hauser AE, Town T, Wan YY, O'Connor W Jr, Rongvaux A, Van Rooijen N, Haberman AM, Iwakura Y, Kuchroo VK, Kolls JK, Bluestone JA, Herold KC, Flavell RA. Control of TH17 cells occurs in the small intestine. *Nature.* 2011 ;475(7357):514-8.

3. Dávalos A, Goedeke L, Smibert P, Ramírez CM, Warriar NP, Andreo U, Cirera-Salinas D, Rayner K, Suresh U, Pastor-Pareja JC, Esplugues E, Fisher EA, Penalva LO, Moore KJ, Suárez Y, Lai EC, Fernández-Hernando C. miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(22):9232-7.

4. Huber S, Gagliani N, Esplugues E, O'Connor W Jr, Huber FJ, Chaudhry A, Kamanaka M, Kobayashi Y, Booth CJ, Rudensky AY, Roncarolo MG, Battaglia M, Flavell RA. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3<sup>+</sup> and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity.* 2011;34(4):554-65.



## SCIENTISTS

A. Pascual, D. Cirera and C. Curato

## COOPERATION PARTNERS

R. Flavell, A.E. Hauser

## REFERENCES

Development of autoimmune diabetes in the absence of detectable IL-17A in a CD8-driven virally induced model. Van Belle TL\*, Esplugues E\*, Liao J, Juntti T, Flavell RA, von Herrath MG. J Immunol. 2011 Sep 15;187(6):2915-22 (\*co-first authors)

Control of TH17 cells occurs in the Small Intestine. Esplugues E\*#, Huber S\*, Gagliani N, Hauser AE, Town T, Wan YY, O'Connor Jr. W, Rongvaux A, Van Rooijen N, Haberman AM, Iwakura Y, Kuchroo VK, Kolls JK, Bluestone JA, Herold KC, Flavell RA#. Nature. 2011 Jul 17;475(7357):514-8. (\*co-first authors, #co-directed the project) F1000 Article Factor: 16

miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. Dávalos A, Goedeke L, Smibert P, Ramírez CM, Warriar NP, Andreo U, Cirera-Salinas D, Rayner K, Suresh U, Pastor-Pareja JC, Esplugues E, Fisher EA, Penalva LO, Moore KJ, Suárez Y, Lai EC, Fernández-Hernando C. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 May 31;108(22):9232-7

TH17 Cells Express Interleukin-10 Receptor and Are Controlled by Foxp3(-) and Foxp3(+) Regulatory CD4(+) T Cells in an Interleukin-10-Dependent Manner. Huber S\*, Gagliani N\*, Esplugues E\*, O'Connor W Jr, Huber FJ, Chaudhry A, Kamanaka M, Kobayashi Y, Booth CJ, Rudensky AY, Roncarolo MG, Battaglia M, Flavell RA. Immunity. 2011 Apr 22;34(4):554-65. (\*co-first authors) F1000 Article Factor: 8

CD69 limits early inflammatory diseases associated with immune response to Listeria monocytogenes infection. Vega-Ramos J, Alari-Pahissa E, Valle JD, Carrasco-Marín E, Esplugues E, Borràs M, Martínez-A C, Lauzurica P. Immunol Cell Biol. 2010 Oct;88(7):707-15.

Control of TH17 cells *in vivo*

**Interleukin (IL)-17-producing T helper cells (TH17) are a recently identified CD4+ T cell subset distinct from T helper type 1 (TH1) and T helper type 2 (TH2) cells. TH17 cells can drive antigen specific autoimmune diseases and are considered the main population of pathogenic T cells driving experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), the mouse model for multiple sclerosis. The factors that are needed for the generation of TH17 cells have been well characterized. However, where and how the immune system controls TH17 cells *in vivo* remains unclear.**

Here, by using a model of tolerance induced by CD3-specific antibody, a model of sepsis and influenza A viral infection (H1N1), we show that pro-inflammatory TH17 cells can be redirected to and controlled in the small intestine. TH17-specific IL-17A secretion induced expression of the chemokine CCL20 in the small intestine, facilitating the migration of these cells specifically to the small intestine via the CCR6/CCL20 axis. Moreover, we found that TH17 cells are controlled by two different mechanisms in the small intestine: first, they are eliminated via the intestinal lumen and simultaneously pro-inflammatory TH17 cells acquire a regulatory phenotype with *in vitro* and *in vivo* immune-suppressive properties (rTH17). These results identify mechanisms limiting TH17 cell pathogenicity and implicate the gastrointestinal tract as a site for control of TH17 cells.

After polyclonal T cell activation via TCR, apoptotic T cells will be engulfed by phagocytes. IL-6 and TGF- $\beta$  are going to be produced by APCs and consequently IL-17A+CCR6+CD4+ T cells (TH17) are generated in the periphery. TH17-mediated production of IL17 will induce upregulation of CCL20 in the small intestine attracting and trapping the pro-inflammatory TH17 cells. In the Small Intestine, part of the TH17 cells are going to be eliminated in the lumen and others will be reprogrammed in rTH17 cells with immuno-suppressor functions.

## Perspectives:

A critical goal of current research is to understand the mechanisms that lead to immune-tolerance and hence alleviate symptoms on a long term basis in patients with autoimmune disorders like Rheumatoid Arthritis. TH17 cells are strongly implicated in the pathogenesis of numerous autoimmune diseases. The factors that are needed for the generation and expansion of TH17 cells have been well characterized. However, mechanisms controlling TH17 cells *in vivo* remain unclear.

Recently we have reported different cellular mechanisms controlling the fate of the TH17 cells *in vivo* (Esplugues et al. Nature. 2011) and our work will have a great impact in the design of new therapeutic approaches in many different immune related pathologies like Multiple Sclerosis or Rheumatoid Arthritis.

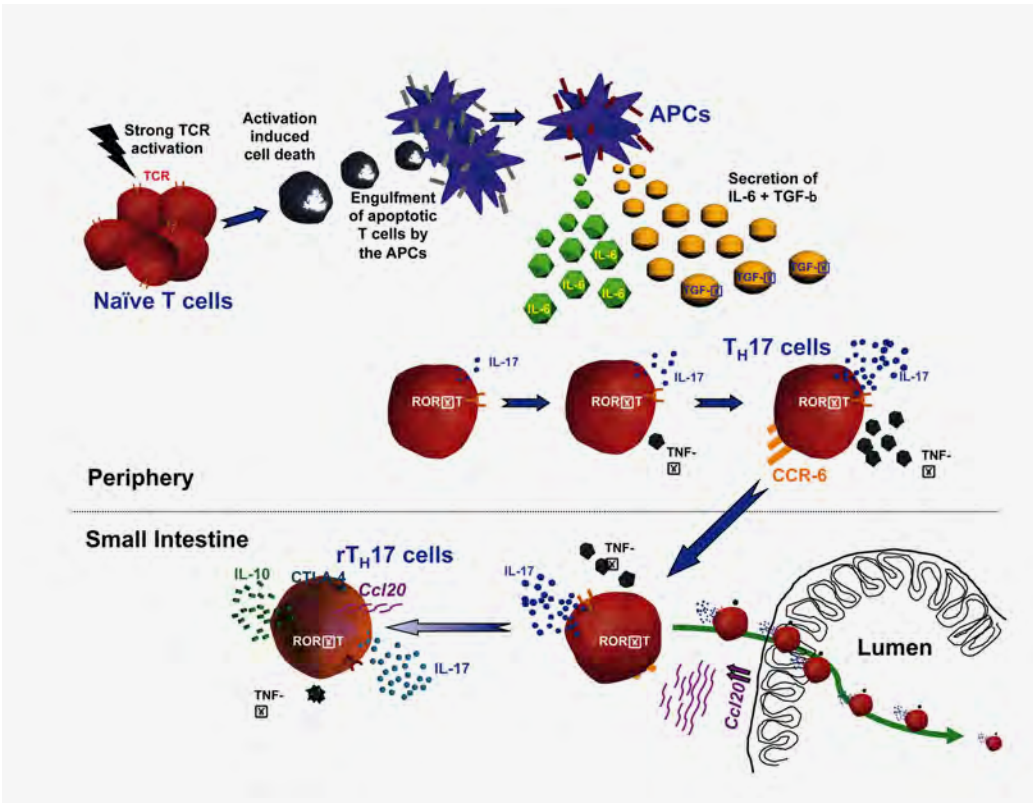


Figure 1: Fate of TH17 cells during tolerance induction after a polyclonal T cell activation *in vivo*.

**PUBLICATIONS**

Esplugues E<sup>\*\*</sup>, Huber S<sup>\*</sup>, Gagliani N, Hauser AE, Town T, Wan YY, O'Connor Jr. W, Rongvaux A, Van Rooijen N, Haberman AM, Iwakura Y, Kuchroo VK, Kolls JK, Bluestone JA, Herold KC, Flavell RA#. *Nature*. 2011 Jul 17; 475(7357):514-8. (\*co-first authors, \*co-directed the project)

TH17 Cells Express Interleukin-10 Receptor and Are Controlled by Foxp3(-) and Foxp3(+) Regulatory CD4(+) T Cells in an Interleukin-10-Dependent Manner. Huber S\*, Gagliani N\*, Esplugues E\*, O'Connor W Jr, Huber FJ, Chaudhry A, Kamanaka M, Kobayashi Y, Booth CJ, Rudensky AY, Roncarolo MG, Battaglia M, Flavell RA. *Immunity*. 2011 Apr 22;34(4):554-65. (\*co-first authors)

**FUNDING**

NeuroCure, SFB633



Prof. Dr. rer. nat.  
Alf Hamann

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie  
und Klinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Experimentelle Rheumatologie

### Toleranz ist lebenswichtig – auch im Immunsystem

#### STICHWORTE

Immunregulation, Therapie,  
Regulatorische T-Zellen,  
wEpigenetik, Homing

#### MITARBEITER

##### Gruppenleiter

Prof. Dr. Alf Hamann

##### Wissenschaftler

Dr. Dirk Engelbert , Dr. Stefan  
Frischbutter, Dr. Barbara Häring,  
Dr. Ute Hoffmann, Dr. Anne Rigby,  
Dr. Uta Syrbe\*

\* Med. Klinik m. S. Gastroenterologie,  
Infektiologie und Rheumatologie  
Charité – Universitätsmedizin Berlin  
– CBF

##### Doktoranden

Dipl. Biol. Elisabeth Kenngott, Dipl.  
Biol. Matthias Kröger, Master of  
Biochem. Francesca D. Liu , Dipl. Biol.  
Jennifer Pfeil , Dipl. Biol. Matthias  
Pink , Dipl. Biochem. Micha Schröter ,  
Dipl. Biol. Balint Szilagyí (Promotion  
2011), Dipl. Biochem. Julia Triebus

##### Diplomanden

Claudia Leichsenring (Dipl. 2010)  
Ralf Willebrand (Dipl. 2011)

Technische Assistenten  
Uta Lauer , Kerstin Schlawe

##### Studenten

Jeanette Lehmann, Leif Si-Hun  
Ludwig, Christina Poulsen

##### Andere

Manuela Giese, Kirsten Kindler,  
Esa Özacar

Unsere Arbeitsgruppe hat zwei Themenschwerpunkte: I die Epigenetik von Zellen des Immunsystems, insbesondere wie ein Imprinting von Homing-Eigenschaften zu einem „topografischen Gedächtnis“ in T-Zellen führt und II. Immunregulation und Toleranz, insbesondere Rolle und Eigenschaften von regulatorischen T-Zellen (Treg). Fokus für die Zukunft werden vor allem anwendungsnahe Fragestellungen der Immunregulation sein: wie lassen sich (stabile) Tregs *in vivo* induzieren, welche Kombinationstherapien erlauben eine Induktion antigenspezifischer Toleranz auch bei schon bestehender Autoimmunerkrankung, lassen sich immunsuppressive Cytokine in der Therapie einsetzen.

#### Wissenschaftlicher Ansatz

I. Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass epigenetische Mechanismen in der Lage sind die dauerhafte Fixierung von erworbenen Differenzierungszuständen zu ermöglichen. Dies konnten wir für Foxp3, den Master-Transkriptionsfaktor von regulatorischen T Zellen, für den Chemokinrezeptor CCR6, und, in bislang noch unvollendeten Arbeiten, für weitere Homingrezeptoren zeigen. In weiteren Arbeiten werden wir, gemeinsam mit anderen Gruppen des DRFZ, die Rolle epigenetischer Regulationsmechanismen für die Differenzierung inflammatorischer Gedächtnis-Zellen untersuchen, um herauszufinden, welche Differenzierungsschalter in inflammatorischen T- und B-Zellen irreversibel umgelegt werden und damit einer physiologischen oder therapeutischen Gegenregulation im Wege stehen.

II. Das Immunsystem besitzt eine Reihe von Mechanismen der Immunregulation um Autoimmunität zu verhindern und inflammatorische Prozesse zu limitieren. Dazu gehören regulatorische T-Zellen und andere

immunsuppressive Komponenten. Wir verfolgen verschiedene Ansätze, um diese Mechanismen für die Therapie unerwünschter Immunreaktionen nutzbar zu machen:

- Suche nach synthetischen oder natürlichen Immunmodulatoren, die eine Induktion oder Expansion von Tregs *in vivo* bewirken, und nicht primär Effektorzellen supprimieren wie derzeitige Immunsuppressiva.
- Einsatz von immunsuppressiven Cytokinen, insbesondere IL-27, zur Kontrolle inflammatorischer Erkrankungen.
- Induktion von antigen-spezifischer Toleranz durch neuartige Peptidvakzine: a) Kopplung an synthetische Carrier, die eine effizientere Induktion von Tregs zur Folge hat; b) Kopplung an Carriermoleküle, die über tolerogene Signale Antigen-präsentierende Zellen so modulieren, dass bevorzugt Tregs induziert werden; c) Induktion oraler/mukosaler Toleranz durch Kopplung von Peptiden an Signalsequenzen, die einen transmukosalen Transport ermöglichen.

Insbesondere in der Kombination mit Ansätzen zur gleichzeitigen Elimination von pathogenen Effektor/Gedächtnis-Zellen sehen wir attraktive Perspektiven für die Therapie.

#### Rheumatologische Perspektive

Bisherige Therapieansätze, einschließlich moderner Biologika, beruhen auf unspezifischer Immunsuppression, mit allen damit verbundenen Nachteilen. Die Vision, die selektiven Mechanismen immunologischer Toleranz für die Therapie unerwünschter Immunreaktionen einzusetzen, ist alt, aber immer noch attraktiv. Ein erfolgreiches „Resetting“ des Immunsystems wird allerdings erfordern:



- eine Erhöhung der Effizienz der tolerogenen Vakzinierung (Kenntnis der involvierten Autoantigene vorausgesetzt);
- gleichzeitige Neutralisierung von Effektor/Memoryzellen (Kombinationstherapie), die die größte Hürde bei einer Toleranzinduktion darstellen dürften.

#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Dr. Stefan Bereswill, Dr. Markus Heimesaat, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Inst. f. Mikrobiologie

Prof. Gudrun Debes und Prof. Chris Hunter, University of Pennsylvania, Department of Pathobiology, Philadelphia, U.S.A

Prof. Jens Geginat, RCIS, Berlin (jetzt: Istituto Nazionale Genetica Molecolare Via Francesco Sforza, Milano)

Prof. Rainer Haag, Freie Universität, Inst. f. Chemie und Biochemie, Berlin

Prof. Susanne Hartmann, Prof. Richard Lucius, Dr. Svenja Steinfeld, Humboldt Universität, Inst. f. Molekulare Parasitologie, Berlin

Dr. Jochen Hecht, MPI for Molecular Genetics Research und BCRT, Berlin

Prof. Jochen Hühn, Dr. Julia Polansky, Dr. Stefan Flöß, Dr. Sascha Cording, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig

Prof. Thilo Jacob, Prof. Stefan Martin, Universität Freiburg, Inst. f. Dermatologie, Freiburg

Dr. Anja Kühl, Charité – Universitätsmedizin Berlin, RCIS

Prof. Max Löhning, Charite, Medizinische Klinik f. Rheumatologie, Berlin

Dr. Sven Olek, Udo Baron, Fa. Epiontis, Berlin

Dr. Antony Permethner, Massey University, New Zealand

Prof. Andreas Radbruch, Dr. Ria Baumgrass, Dr. S. Fillatreau, Dr. Astrid Menning, DRFZ, Berlin

Prof. Peter Robinson, BCRT, Berlin

Prof. Alexander Scheffold, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach

Prof. Edgar Serfling, Dr. Stefan Klein-Heßling, Universität Würzburg, Inst. f. Pathologie, Würzburg

Prof. Tim Sparwasser, Twin Core, Inst. f. Infektionsimmunologie, Hannover

Prof. Hans-Dieter Volk, Charité – Universitätsmedizin Berlin, BCRT

Dr. Rudolf Volkmer, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Inst. f. Medizinische Immunologie und RCIS

Prof. J. Walter, Universität des Saarlandes, FB Genetik, Saarbrücken

Dr. Thorsten Wolff, RKI, Berlin

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. De Kleer, I., Y. Vercoulen, M. Klein, J. Meerding, S. Albani, R. van der Zee, B. Sawitzki, A. Hamann, W. Kuis, and B. Prakken. 2010. CD30 discriminates heat shock protein 60-induced FOXP3+ CD4+ T cells with a regulatory phenotype. *J Immunol* 185: 2071-2079.

2. Hamann, A. 2010. How T cells find their way around. *Methods Mol Biol* 616: 3-13.

3. Janke, M., M. Peine, A. Nass, L. Morawietz, A. Hamann, and A. Scheffold. 2010. In-vitro-induced Th17 cells fail to induce inflammation in vivo and show an impaired migration into inflamed sites. *Eur J Immunol* 40: 1089-1098.

4. Klages, K., C. T. Mayer, K. Lahl, C. Loddenkemper, M. W. Teng, S. F. Ngiow, M. J. Smyth, A. Hamann, J. Huehn, and T. Sparwasser. 2010. Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells improves effective therapeutic vaccination against established melanoma. *Cancer Res* 70: 7788-7799.

5. Menning, A., C. Loddenkemper, A. M. Westendorf, B. Szilagy, J. Buer, C. Siewert, A. Hamann, and J. Huehn. 2010. Retinoic acid-induced gut tropism improves the protective capacity of Treg in acute but not in chronic gut inflammation. *Eur J Immunol* 40: 2539-2548.6.

6. Polansky, J. K., L. Schreiber, C. Thelemann, L. Ludwig, M. Krüger, R. Baumgrass, S. Cording, S. Floess, A. Hamann, and J. Huehn. 2010. Methylation matters: Binding of Ets-1 to the demethylated Foxp3 gene contributes to the stabilization of Foxp3 expression in regulatory T cells. *J Mol Med* 88: 1029-1040.

7. Doebis, C., A. Menning, K. Neumann, S. Ghani, K. Schlawe, U. Lauer, A. Hamann, J. Huehn, and U. Syrbe. 2011. Accumulation and local proliferation of antigen-specific CD4(+) T cells in antigen-bearing tissue. *Immunol Cell Biol* 89: 566-572.

8. Neumann K, Kruse N, Szilagy B, Erben U, Rudolph C, Flach A, Zeitz M, Hamann A, Klugewitz K. Connecting liver and gut: Murine liver sinusoidal endothelium induces gut tropism of CD4(+) T cells via retinoic acid. *Hepatology*. 2011 Nov 23;doi: 10.1002/hep.24816. [Epub ahead of print]

9. Steinfeld, S., S. Floess, D. Engelbert, B. Haeringer, U. Baron, L. Rivino, B. Steckel, A. Gruetzkau, S. Olek, J. Geginat, J. Huehn, and A. Hamann. 2011. Epigenetic modification of the human CCR6 gene is associated with stable CCR6 expression in T cells. *Blood* 117: 2839-2846.



## Topografische Prägung von Effektorzellen

### WISSENSCHAFTLER

D. Engelbert, C. Doebis,  
J. Lehmann, C. Leichsenring,  
M. Pink, M. Schröter, B. Szilagy,  
K. Schlawe, J. Triebus, A. Hamann,  
U. Syrbe

### KOOPERATIONSPARTNER

A. Radbruch,  
R. Baumgrass,  
A. Menning  
DRFZ, Berlin

E. Serfling, S. Klein-Heßling  
Universität Würzburg, Inst. f.  
Pathologie, Würzburg

S. Olek, U. Baron  
Fa. Epiontis, Berlin

J. Hühn, S. Flöss  
Helmholtz-Zentrum f.  
Infektionsforschung, Braun-  
schweig

J. Hecht  
MPI for Molecular Genetics  
Research und BCRT, Berlin

P. Robinson  
BCRT, Berlin

J. Walter  
Universität des Saarlandes,  
Saarbrücken

S. Steinfelder  
Molekulare Parasitologie,  
Humboldt-Universität Berlin

J. Geginat  
INGM, Mailand, Italien

### PUBLIKATIONEN

1. Doebis C, Menning A, Neumann K, Ghani S, Schlawe K, Lauer U, Hamann A, Huehn J, Syrbe U. 2011. Accumulation and local proliferation of antigen-specific CD4(+) T cells in antigen-bearing tissue. *Immunol Cell Biol.* May; 89(4):566-72. Epub 2010 Nov 9.

2. Hamann, A. 2010. How T cells find their way around. *Methods Mol Biol* 616: 3-13.

3. Steinfelder, S., S. Floess, D. Engelbert, B. Haeringer, U. Baron, L. Rivino, B. Steckel, A. Gruetzkau, S. Olek, J. Geginat, J. Huehn, and A. Hamann. 2011. Epigenetic modification of the human CCR6 gene is associated with stable CCR6 expression in T cells. *Blood* 117: 2839-2846

### DRITTMITTEL

SFB633, TR 52

**Das Ziel dieses Projektes ist es, Faktoren zu identifizieren, die die Induktion organspezifischer Homing-Rezeptoren kontrollieren. Daneben wollen wir die molekularen Mechanismen, die zur Stabilisierung der Homingrezeptorexpression und damit zur Etablierung eines topografischen Gedächtnisses beitragen, charakterisieren.**

### Einleitung

CD4+Effektor-T-Zellen rezirkulieren präferenziell durch die Gewebe, in denen sie erstmals Kontakt zu ihrem spezifischen Antigen hatten. Das heißt, dass CD4+Effektor-Zellen ein topografisches Gedächtnis entwickeln. Dieses basiert auf der selektiven Expression bestimmter Homingrezeptoren: E- und P-Selektin-Liganden sind wichtig für die Einwanderung von T-Effektorzellen in die Haut, vor allem P-Selektin reguliert aber auch die Einwanderung in entzündliche Gewebe. Integrine, insbesondere das Integrin  $\alpha 4\beta 7$ , kontrollieren die Einwanderung in mukosale Gewebe. Diese Homingrezeptoren werden während der Differenzierung von naiven T-Zellen in Effektor/Memory-T-Zellen durch Gewebe-spezifische dendritische und Stromazellen induziert. Während Retinolsäure als Hauptinduktor der Darm-Homingrezeptoren  $\alpha 4\beta 7$  und CCR9 identifiziert wurde, sind die Faktoren, die das haut- und entzündungsspezifische Homing regulieren, wenig charakterisiert.

Da die effiziente Lokalisierung der CD4+T-Zellen essentiell für ihre Funktion *in vivo* ist, nahmen wir an, dass Homingrezeptoren langfristig, d.h. stabil auf T-Effektorzellen exprimiert sind. Unsere eigenen Daten unterstützen diese Annahme für den Haut- und entzündungsspezifischen Homingrezeptor P-Selektin-Ligand. Neuere Daten bestätigen dies auch für die Expression von  $\alpha 4\beta 7$  auf Darm-spezifischen CD4+Effektorzellen. Indirekte Hinweise deuten auf eine epigenetische Fixierung der topografischen Prägung der T-Zellen.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Regulation von haut- und entzündungsspezifischen Homingmolekülen

Die kritischen Bindungsepitope der Selektinliganden sind spezifische Oligosaccharide, an deren Synthese Enzyme wie die Fucosyltransferase (FucT-VII) und Core-2-Glycosaminyltransferase-1 (C-2GlcNAcT) beteiligt sind. Unsere Daten zeigen eine differentielle Regulation von FucT-VII und C-2GlcNAcT-I. FucT-VII und der korrespondierende E-Selektin-Ligand (E-Lig), werden am stärksten in Abwesenheit polarisierender

Zytokine induziert. Mittels Blockade-Experimenten konnten wir zeigen, dass IL-2 ein wesentlicher Induktor von E-Lig und FucT-VII ist (s. Abbildung 1). Im Gegensatz dazu kontrollieren polarisierende Zytokine die Induktion von P-Lig und C-2GlcNAcT-I. Interessanterweise moduliert Retinolsäure, welches die Induktion von FucT-VII unter allen polarisierenden Bedingungen hemmt, auch den Effekt der polarisierenden Zytokine auf die C-2GlcNAcT-I-Expression. Insbesondere unter Th2-Bedingungen fanden wir eine Induktion von C-2GlcNAcT-I nur in Abwesenheit von Retinolsäure. Weiterhin konnten wir zeigen, dass DNA-Methylierung im Fucosyltransferase 7-Gen und reprimierende Histon-Modifikationen im Core-2-Glycosaminyltransferase-1-Gen mit der Expression des jeweiligen Genes korrelieren.

#### Regulation des Darm-spezifischen Homingrezeptors $\alpha 4\beta 7$

Der funktionelle  $\alpha 4\beta 7$  Rezeptor tritt als ein Integrin-Heterodimer auf, welches aus einer  $\alpha$ - und einer  $\beta$ -Kette besteht. Das Vitamin A-Derivat Retinolsäure (RA) erwies sich als Schlüsselmolekül zur Induktion der Expression des funktionellen Rezeptors an der Zelloberfläche. RA löst eine transkriptionelle Aktivierung der  $\alpha 4$ -Kette aus. Die  $\beta 7$ -Kette wird hingegen in Abhängigkeit von TGF $\beta$  exprimiert. Zusätzlich wird die Oberflächenexpression von  $\alpha 4\beta 7$  durch kompetitive Paarung der  $\alpha 4$ -Kette mit dem Integrin  $\beta 1$  gesteuert. Wir konnten zeigen, dass die  $\alpha 4\beta 7$ -Expression auf Gedächtnis-T-Zellen *in vivo* stabil aufrecht erhalten wird, und dass hierzu repetitive Stimulation in Anwesenheit von Retinolsäure erforderlich/hinreichend ist. Zur Überprüfung, ob sich diese Stabilität auf Ebene der Genloci ausdrückt, wurde mittels eines Nimblegen DNA-Microarray ein epigenetisches Profil für die beiden Integrine erstellt. Die Kombination aus aktivierenden und reprimierenden Histonmodifikationen mit DNA-Methylierung führte zur Identifizierung mehrerer regulatorischer Regionen, die möglicherweise auch mit Stabilität zusammenhängen. Insbesondere findet sich im  $\alpha 4$ -Lokus eine intragenische Region, die Retinolsäure-abhängig demethyliert wird (s. Abbildung 2), und Enhancerfunktion besitzt, wie sich in Luciferase-assays herausstellte. Weiterhin konnten wir für einen konservierten nicht-kodierenden Sequenzbereich im  $\beta 7$ -Lokus Enhanceraktivität nachweisen.

## Epigenetische Kontrolle des Chemokinrezeptors CCR6

Ein weiteres Oberflächenmolekül, das das Migrationsverhalten insbesondere von Th17- und von regulatorischen T-Zellen steuert, wird durch den Chemokinrezeptor CCR6 repräsentiert. Dieser lenkt die Zellen durch Interaktion mit seinem Liganden CCL20 in inflammatorische Regionen. Im CCR6-Genlocus konnten wir eine Region identifizieren, die differentiell methyliert in CCR6<sup>+</sup> und CCR6<sup>-</sup> sortierten Populationen vorliegt, und methylierungsabhängige transkriptionelle Aktivität besitzt. Da diese Region in transient exprimierenden Zellen keine Modifizierung erfährt, ist

davon auszugehen, dass sie funktionell mit Stabilität in Zusammenhang steht, und somit zu einem topografischen Gedächtnis von Gedächtnis-Zellen beiträgt.

## Perspektiven

In der Zukunft wollen wir weiter die Bedeutung von Retinolsäure und Zytokinen für die Induktion der Homingrezeptoren analysieren. Außerdem wollen wir die funktionelle Bedeutung der epigenetischen Modifikationen in den für die Expression der Homingrezeptoren wesentlichen Genen weiter untersuchen und klären, über welche Signalkaskaden die beobachteten Modifikationen vermittelt werden.

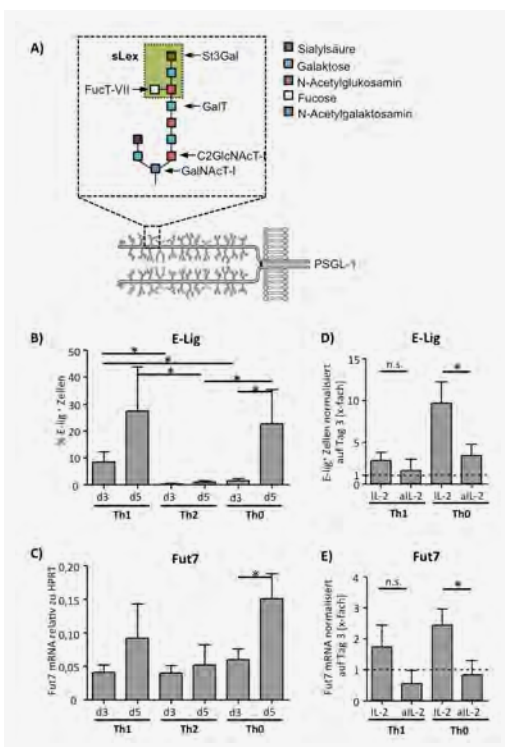


Abbildung 1: IL-2 ist wesentlich für die E-Lig- und Fut7-Induktion in CD4<sup>+</sup> T-Zellen

(A) Übersicht über die posttranslationelle Modifikation des Selektin-Liganden (nach Ley & Kansas, Nat. Rev. Immunol., 2004). FucT-VII spielt dabei eine entscheidende Rolle bei der Generierung der essentiellen sLex-Gruppe. Murine, naive T-Zellen wurden für 3 Tage unter Th1 (+IL-12+IFN $\gamma$ +aIL-4), Th2 (+IL-4+aIL-12+aIFN $\gamma$ ) oder Th0 (+aIL-12+aIFN $\gamma$ +aIL-4)-Bedingungen durch immobilisiertes aCD3/aCD28 + IL-2 aktiviert und dann für 2 weitere Tage ohne TCR-Stimulus kultiviert. An Tag 3 und 5 erfolgte die Messung von E-Selektin-Liganden (E-Lig) und Fucosyltransferase 7 (Fut7) mRNA (B,C). Murine, naive T-Zellen wurden für 3 Tage unter Th1 oder Th0-Bedingungen durch immobilisiertes aCD3/aCD28 aktiviert. Nach Abnahme vom Stimulus am Tag 3 wurden die Zellen entweder in An- (IL-2) oder Abwesenheit (aIL-2) von IL-2 weiterkultiviert. Die E-Lig- und Fut7-Induktion von Tag 3 auf Tag 4 wurde bestimmt (D,E).

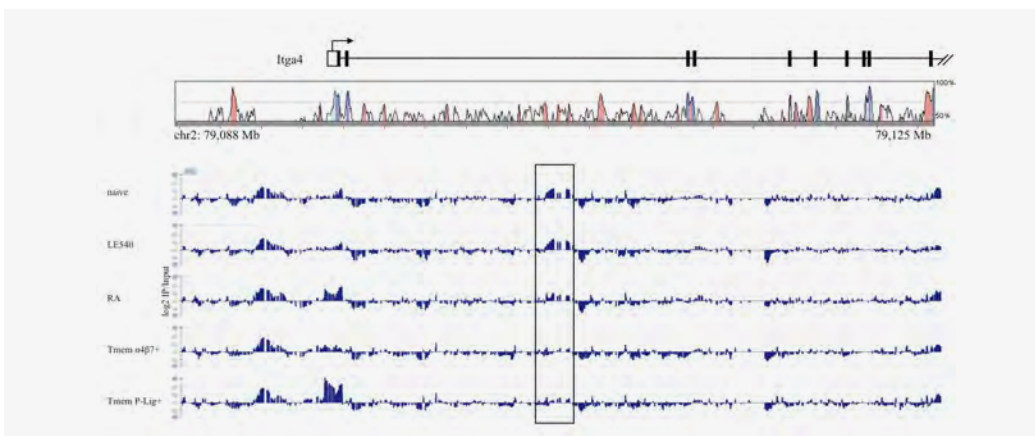


Abbildung 2: Identifizierung einer durch Retinolsäure-aktivierten Enhancerregion im ITGA4-Lokus

Dargestellt ist das mittels MeDIP-ChIP gewonnene 5-Methylcytosinprofil verschiedener muriner CD4<sup>+</sup> T-Zellpopulationen relativ zur evolutionären Konserviertheit (Maus-Mensch) und Exon-/Intronstruktur. Eine Intronregion, die in CD3/28-aktivierten Zellen in Abhängigkeit von Retinolsäure (RA) verglichen mit naiven und LE540-behandelten Zellen, sowie den ex vivo-Gedächtniszellen (Tmem) demethyliert wird, ist hervorgehoben.

## WISSENSCHAFTLER

S. Frischbutter, B. Haeringer, U. Hoffmann, E. Kenngott, M. Kröger, U. Lauer, F.D. Liu, J. Pfeil, C. Poulsen, A. Rigby, M. Schroeter, A. Hamann, K. Schlawe

## KOOPERATIONSPARTNER

G. Debes und C. Hunter - University of Pennsylvania, Department of Pathobiology, Philadelphia, U.S.A

R. Haag - Freie Universität, Inst. f. Chemie und Biochemie, Berlin

S. Hartmann, R. Lucius – Humboldt Universität, Inst. f. Molekulare Parasitologie, Berlin

J. Hühn, J. Polansky, S. Flöß, S. Cording – Helmholtz-Zentrum f. Infektionsforschung, Braunschweig

T. Jacob, S. Martin – Universität Freiburg, Inst. f. Dermatologie, Freiburg

A. Kühl – Charité – Universitätsmedizin Berlin, RCIS

M. Löhning - Charité, Medizinische Klinik f. Rheumatologie, Berlin

S. Olek, U. Baron – Fa. Epiontis, Berlin

A. Pernthaler - Massey University, New Zealand

A. Radbruch, R. Baumgrass, S. Fillatreau, A. Menning - DRFZ, Berlin

A. Scheffold - Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch-Gladbach

T. Sparwasser - Twin Core, Inst. f. Infektionsimmunologie, Hannover

H.-D. Volk, Charité, BCRT, Berlin

R. Volkmer, Charité, Inst. f. Medizinische Immunologie und RCIS, Berlin

T. Wolff, RKI Berlin

Cleares GmbH, Berlin

## PUBLIKATIONEN

Menning A, Lodenkemper C, Westendorf AM, Szilagyi B, Buer J, Siewert C, Hamann A, Huehn J. Retinoic acid-induced gut tropism improves the protective capacity of Treg in acute but not in chronic gut inflammation. *Eur J Immunol.* 2010 Sep;40(9):2539-48.

# Immunregulation, Toleranz und Immuntherapie

**Wir untersuchen verschiedene Mechanismen der Immunregulation, insbesondere die Balance zwischen Immunabwehr und Selbsttoleranz. Diese Erkenntnisse sind von großem Nutzen für die Entwicklung neuer Therapiestrategien gegen ungewollte Immunreaktionen. So erforschen wir am Modell der Influenza-Infektion wie ein Überschießen der Immunreaktion und die damit verbundene Gewebszerstörung verhindert werden, jedoch eine gleichzeitige effektive Entfernung der Viren gewährleistet wird. Wir konnten zeigen, dass IL-27 dabei eine Schlüsselrolle spielt.**

**Foxp3+ regulatorische T-Zellen (Tregs) sind essentiell zum Schutz vor unerwünschten Immunantworten. Um Tregs gezielt in erkrankte Darmgewebe zu bringen, etablierten wir Methoden zur Induktion von Homingrezeptoren und untersuchten deren Auswirkung auf die protektive Funktion. Für den therapeutischen Einsatz von Tregs ist deren Stabilität entscheidend. Dazu analysieren wir nicht nur die Rolle von Transkriptionsfaktoren wie Ets-1, welche die Expression von Foxp3 regulieren, sondern entwickeln auch ein Hochdurchsatz-Screening-System basierend auf durchflusszytometrischer Analyse, um Substanzen zu finden, die stabile Tregs induzieren.**

**Weiterhin erproben wir neue Ansätze zur *in vivo* Induktion von Tregs zur antigenspezifischen tolerogenen Vakzinierung, in dem wir T-Zell-Epitope an Trägermoleküle koppeln und so deren tolerogene Wirksamkeit verstärken. Diese Ansätze stellen eine attraktive Strategie zur Behandlung von Autoimmunität und entzündlichen Erkrankungen dar.**

Das Immunsystem muss ein Gleichgewicht zwischen Schutz vor Selbstzerstörung und Bekämpfung von Pathogenen aufrechterhalten. Dieses Gleichgewicht spielt eine besondere Rolle, sowohl bei den Mechanismen der Autoimmunität, als auch bei der Abwehr von Infektionen. Die Regulation pro- und antiinflammatorischer Zytokine ist dabei entscheidend um einerseits die Gewebsintegrität aufrecht zu erhalten und andererseits die Entstehung einer chronischen Infektion zu verhindern. Inwiefern sich diese Zytokine gegenseitig beeinflussen bzw. Immunmodulation möglich ist, untersuchen wir im Influenzamodel.

Chronische Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis und Allergien werden durch eine Auto- oder Hyperreaktivität des Immunsystems verursacht.

Herkömmliche Therapieansätze sind teilweise ineffizient, unspezifisch, mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden und die Heilung ist nicht dauerhaft. Unser Ziel ist es tolerogene Impfstoffe zu entwickeln, die das Immunsystem antigenspezifisch modulieren, Tregs induzieren und so die körpereigenen Toleranzmechanismen aktivieren, ohne die Abwehr von Pathogenen zu beeinflussen.

## Ergebnisse und Diskussion

### Immunregulation viraler Erkrankungen

Wir konnten nachweisen, dass das Zytokin IL-27 essentiell für die Limitierung der Immunpathologie während einer Influenza-Infektion ist. IL-27 reguliert die Expression der proinflammatorischen Zytokine IFN $\gamma$  und IL-17. Während IFN $\gamma$  direkt durch IL-27 unterdrückt wird, scheint die Suppression von IL-17 über das antiinflammatorische IL-10, das durch IL-27 induziert wird, vermittelt zu sein. Infolge dessen verursacht ein Fehlen des IL-27 Rezeptors die Zerstörung von Lungengewebe und es kommt zu einer erhöhten Mortalität der infizierten Mäuse. Offensichtlich ist IL-27 wichtig, um das Ausmaß einer Lungenschädigung bei Infektion zu begrenzen. Dies könnte auch unter therapeutischen Gesichtspunkten von Interesse sein.

### Modulation von Homingeigenschaften und Stabilität von Foxp3+ Tregs

Retinsäure induziert den Darmhomingrezeptor  $\alpha 4\beta 7$  auf *in vitro* expandierten Tregs, wodurch diese Zellen verstärkt in den entzündeten Darm einwandern. Während sie bei einer chronischen Darmentzündung zwar keine erhöhte Suppressivität gegenüber herkömmlichen Tregs aufweisen, unterdrücken sie die akute Immunantwort effizient (Menning et al.).

Ein entscheidender Faktor für die Wirksamkeit von Tregs ist deren Stabilität. Wir konnten zeigen, dass der Transkriptionsfaktor Ets-1 als Teil eines größeren Proteinkomplexes an die Foxp3 stabilisierende TSDR-Region nur dann bindet, wenn diese unmethyliert ist. Damit wird eine stabile Foxp3-Expression erreicht (Polansky et al.).

Um weitere natürliche oder synthetische Substanzen zu identifizieren, die in der Lage sind, stabile Foxp3+ Tregs zu induzieren, etablierten wir ein Hochdurchsatz-Screening-System basierend auf durchflusszytometrischer Zellanalyse. Dabei verwenden wir ein Foxp3-Reportersystem, bei dem murine T-Zellen das grüne Fluoreszenzprotein (GFP) unter Kontrolle des Foxp3-Promotors exprimieren. Vorteile dieses Sys-

tems sind unter anderem das geringe Probenvolumen (384-Well-System) sowie die Nutzung eines Autosamplers (Hypercyte), der an ein Durchflusszytometer (Accuri-6) gekoppelt ist. Dadurch können Tausende von Proben innerhalb einer Woche gemessen werden und das System ist auf jedes beliebige Reporter-System übertragbar.

### Modifikation von T-Zellepitopen zur antigen-spezifischen tolerogenen Vakzinierung

#### a) Konjugation von T-Zell-Epitopen an ein inertes Trägermolekül

Frühere Versuche, durch Vakzinierung mit Peptiden Autoimmunität zu therapieren, sind weitgehend erfolglos geblieben, da zum einen die Wirksamkeit kleiner Peptide begrenzt ist, zum anderen gefährliche Immunaktivierungen durch die Peptide im Tiermodell beobachtet wurden. Durch die Kopplung von Autoantigenen an synthetische makromolekulare Trägermoleküle sollen beide Nachteile einfacher Peptidpräparate vermieden werden. Wir konnten bereits zeigen, dass sich mit unseren Peptid-Konjugaten im Mausmodell der Multiplen Sklerose eine effiziente Protektion erreichen lässt, die auf der Induktion regulatorischer T-Zellen (Treg) und der Reduktion antigenspezifischer Effektor-T-Zellen beruht. Weiterhin wollen wir neue Ansätze etablieren, bei denen Autoantigen-Konstrukte an Liganden gekoppelt werden, die in tolerogene Signalwege involviert sind. Kopplung von Antigenen an „Bridging-Moleküle“, die an Rezeptoren tolerogener Antigen-präsentierender Zellen binden, könnte so zur Induktion von Toleranz führen.

#### b) Modifikation von Proteinen oder Peptiden zur Verbesserung des transepithelialen Transportes

Durch *in vivo* „Phage display screening“ von Peptidbibliotheken konnten von unserem Kooperationspartner T. Pernthaner, Neuseeland, Peptidsequenzen identifiziert werden, die eine erhöhte Aufnahme durch die Mukosa des Darmes bewirken. Diese „Mucosa-targeting-peptides“ (Muc) sind damit sowohl zur verbesserten mukosalen Aufnahme von Autoantigen-Peptiden von Interesse, als auch um einen erleichterten Transport von klinisch eingesetzten Polypeptiden, wie z.B. Hormonen, Zytokinen oder Antikörpern zu ermöglichen. Durch Laser-Scanning-Mikroskopie konnten wir bereits nachweisen, dass Muc-gekoppeltes Streptavidin von den Villi des Dünndarmes aufgenommen wird, während mit Kontrollpeptid gekoppeltes Streptavidin im Lumen des Darms verbleibt (s. Abbildung 1). Außerdem führte intrarektale Applikation von Muc-konjugiertem OVA-Peptid zu einer verstärkten Proliferation OVA-spezifischer T-Zellen im Vergleich zu freiem OVA-Peptid. Nun soll das Konzept in relevanten Tiermodellen validiert werden.

#### Perspektiven

Unser Ziel ist es, die Protokolle zur Induktion und Expansion stabiler Foxp3+ Tregs *in vitro* und *in vivo* zu optimieren. Im Hochdurchsatz-Screening-System sollen große Substanzbibliotheken getestet werden, aber auch Komponenten parasitären oder bakteriellen Ursprungs. Außerdem soll das System auf andere Zellsysteme ausgeweitet werden. Die Studien zur Wirksamkeit und Sicherheit unserer Ansätze zur tolerogenen Vakzinierung mit modifizierten Autoantigenen werden wir weiterführen, um diese Therapiestrategien in die Phase klinischer Prüfung zu überführen.

Polansky, J K, Schreiber L, Thelemann C, Ludwig L, Krüger M, Baumgrass R, Cording S, Floess S, Hamann A, and Huehn J. 2010. Methylation matters: Binding of Ets-1 to the demethylated Foxp3 gene contributes to the stabilization of Foxp3 expression in regulatory T cells. *J Mol Med* 88:1029-1040.

Hamann, A., J. Pfeil, U. Hoffmann, and Celares-GmbH. 2011. Patent application: Carrier-conjugated Peptides for Immunotherapy. European Patent Office EP11177110

De Kleer, I., Y. Vercoulen, M. Klein, J. Meerding, S. Albani, R. van der Zee, B. Sawitzki, A. Hamann, W. Kuis, and B. Prakken. 2010. CD30 discriminates heat shock protein 60-induced FOXP3+ CD4+ T cells with a regulatory phenotype. *J Immunol* 185:2071-2079.

Klages, K., C.T. Mayer, K. Lahl, C. Loddenkemper, M.W. Teng, S.F. Ngiow, M.J. Smyth, A. Hamann, J. Huehn, and T. Sparwasser. 2010. Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells improves effective therapeutic vaccination against established melanoma. *Cancer Res* 70:7788-7799.

#### DRITTMITTEL

SFB650, SFB633, BMBF  
“Innovative Therapien: BIOTIA”,  
ZIBI Graduate School 1121

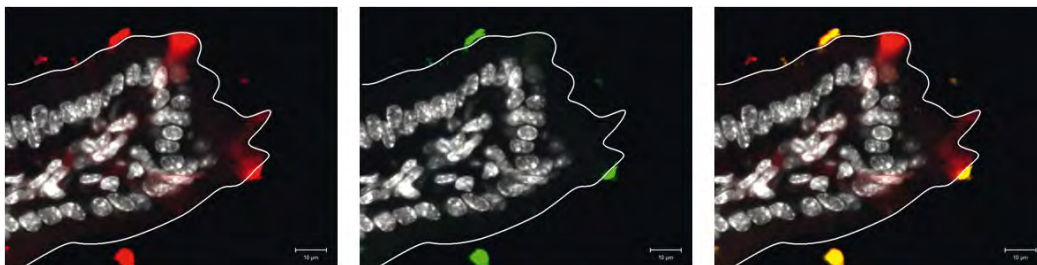


Abbildung 1: Muc-Peptide erleichtern die mukosale Aufnahme: Muc-gekoppeltes Streptavidin wird von den Villi des Dünndarmes aufgenommen, während mit Kontrollpeptid gekoppeltes Streptavidin im Lumen des Darms verbleibt. Rot: Muc-gekoppeltes Streptavidin, Grün: Kontrollpeptid gekoppeltes Streptavidin, Gelb: Overlay, Weiß: Zellkerne





Prof. Dr. med.  
Falk Hiepe

Leitender Oberarzt an der  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie  
der Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Autoimmunologie

### Entwicklung neuer Strategien für die Therapie von Autoimmunerkrankungen

#### STICHWORTE

Gedächtnis-Plasmazellen,  
Autoantikörper, Biomarker,  
Systemischer Lupus Erythemato-  
des, Zellgerichtete Therapien,  
Autologe Stammzelltransplantati-  
on

#### MITARBEITER

Gruppenleiter:  
Falk Hiepe

#### Wissenschaftler:

Tobias Alexander, Robert Biesen,  
Anne Bruns, Velia Gerl, Bimba  
Hoyer, Sandra Schneider, Adriano  
Taddeo

#### Doktoranden:

Qingyu Cheng, Julia-Carmen von  
Glischinski, Laleh Khodadadi,  
Katrin Kozeck, Franziska Rauhut,  
Thomas Rose, Veronika Scholz,  
Lars Templin, Aderajew Waka,  
Nadja Zemke, Romy Strauß,  
Alexandra Richartz

#### Sekretärin:

Sabine Weber-Friese

Unsere Arbeitsgruppe verfügt über langjährige Erfahrungen bei der Diagnose von pathogenen Autoantikörpern und deren Eliminierung durch gezielte Therapieverfahren.

Darauf basierend untersuchen wir die Rolle von Autoantikörper-sezernierenden Plasmazellen bei Autoimmunprozessen und konnten erstmals zeigen, dass sowohl kurzlebige Plasmablasten als auch langlebige Gedächtnis-Plasmazellen zur Produktion pathogener Autoantikörper beitragen.

Zudem konnten wir nachweisen, dass sich Gedächtnis-Plasmazellen nicht mit herkömmlichen immun-suppressiven Therapien beeinflussen lassen. Durch Immunablation („Löschung“) des immunologischen

Gedächtnisses bei Patienten mit einem Systemische Lupus Erythematoses (SLE) mittels Antithymozytenglobulin in Kombination mit autologer Stammzelltransplantation konnten wir jedoch sowohl Langzeitremissionen als auch die Regenerierung eines „jugendlichen“ und toleranten Immunsystems erreichen.

Der Fokus unserer Gruppe ist daher auf die gezielte Entfernung von autoreaktiven Gedächtnis-Plasmazellen und die Verhinderung ihrer erneuten Generierung gerichtet.



#### KOOPERATIONSPARTNER

Renate Arnold,  
Med. Klinik mit Schw. Hämatologie und Onkologie  
der Charité – Universitätsmedizin Berlin, CVK

Thomas Dörner, Alf Hamann, Henrik Mei, Gabriela  
Riemekasten,  
Medizinische Klinik m.S. Rheumatologie und Klin.  
Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Peter M. Kloetzel,  
Institut für Biochemie der Charité – Universitätsme-  
dizin Berlin, CCM

Michael Reth,  
Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg

Reinhard E. Voll,  
Med. Klinik, Abteilung Rheumatologie und Klinische  
Immunologie, Universitätsklinikum Freiburg

Margitta Worm,  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und  
Allergologie der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin, CCM

Klemenz Budde, Michael Dürr,  
Med. Klinik m.S. Nephrologie der Charité – Universi-  
tätsmedizin Berlin, CCM

Rudolf Manz,  
Institut für Systemische Entzündungsforschung ISEF,  
Universität zu Lübeck

Simon Fillatreau, Andreas Grützkau, Anja Hauser,  
Andreas Radbruch,  
DRFZ Berlin

Hedda Wardemann,  
Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin

Andreas Thiel, Arne Sattler, Nina Babel,  
Berlin-Brandenburg Center for Regenerative  
Therapies

Michael Mahler,  
INOVA Diagnostics, San Diego

Thomas Porstmann,  
Seramun Diagnostica GmbH, Heidesee

Wolfgang Schlumberger,  
EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG,  
Lübeck

David Tarlinton,  
Walter und Eliza-Hall-Institut für Medizinische  
Forschung, Australien

Marie Wahren-Herlenius,  
Karolinska-Institut, Rheumatologische Einheit,  
Abteilung Medizin, Schweden

Richard Burt,  
Division of Immunotherapy, Department of  
Medicine, Northwestern University, Chicago, USA

Igor Lisukov,  
Institute of Hematology and Bone Marrow  
Transplantation in St-Petersburg State Pavlov  
Medical University, Russland

Jürgen Schmitz, Andrzej Dzionek, Barbara Behle,  
Miltenyi Biotech, Bergisch Gladbach

#### AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Biesen, R., C. Dähnrich, A. Rosemann, F. Barkhudarova, T. Rose, O. Jakob, A. Bruns, M. Backhaus, W. Stöcker, G.R. Burmester, W. Schlumberger, K. Egerer, and F. Hiepe. 2011. Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 13:R26.

2. Burt, R.K., M. Abinun, D. Farge-Bancel, A. Fassas, F. Hiepe, E. Havrdova, S. Ikehara, Y. Loh, A. Marmont du Haut Champ, J.C. Voltarelli, J. Snowden, and S. Slavin. 2010. Risks of immune system treatments. *Science* 328:825-826.

3. Gerl, V., A. Lischka, D. Panne, P. Grossmann, R. Berthold, B.F. Hoyer, R. Biesen, A. Bruns, T. Alexander, A. Jacobi, T. Dörner, G.R. Burmester, A. Radbruch, and F. Hiepe. 2010. Blood dendritic cells in systemic lupus erythematosus exhibit altered activation state and chemokine receptor function. *Ann Rheum Dis* 69:1370-1377.

4. Hiepe, F., T. Dörner, A.E. Hauser, B.F. Hoyer, H. Mei, and A. Radbruch. 2011. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nature Rev Rheumatol* 7:170-178.

5. Hoyer, B.F., I.M. Mumtaz, K. Lodenkemper, A. Bruns, C. Sengler, K.G. Hermann, S. Maza, R. Keitzer, G.R. Burmester, F. Buttgerit, A. Radbruch, and F. Hiepe. 2012. Takayasu arteritis is characterised by disturbances of B cell homeostasis and responds to B cell depletion therapy with rituximab. *Ann Rheum Dis* 71:75-79.

6. Illei, G.G., R. Cervera, R.K. Burt, A. Doria, F. Hiepe, D. Jayne, S. Pavletic, T. Martin, A. Marmont, R. Saccardi, A.E. Voskuyl, and D. Farge. 2011. Current state and future directions of autologous hematopoietic stem cell transplantation in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 70:2071-2074.

7. Yoshida, T., H. Mei, T. Dörner, F. Hiepe, A. Radbruch, S. Fillatreau, and B.F. Hoyer. 2010. Memory B and memory plasma cells. *Immunol Rev* 237:117-139.

## WISSENSCHAFTLER

Tobias Alexander, Adriano Taddeo,  
Bimba Hoyer, Andreas Radbruch  
und Falk Hiepe

## KOOPERATIONSPARTNER

Reinhard Voll, Klinik für  
Rheumatologie und klinische  
Immunologie, Universitätsklinik  
Freiburg

## REFERENZEN

- (1) Paramore A, Frantz S. Bortezomib. *Nat Rev Drug Discov* 2003;2(8):611-612
- (2) Neubert K, Meister S, Moser K et al. The proteasome inhibitor bortezomib depletes plasma cells and protects mice with lupus-like disease from nephritis. *Nat Med* 2008;14(7):748-755.
- (3) Maseda D, Meister S, Neubert K, Herrmann M, Voll RE. Proteasome inhibition drastically but reversibly impairs murine lymphocyte development. *Cell Death Differ* 2008;15(3):600-612
- (4) Lang VR, Mielenz D, Neubert K et al. The early marginal zone B cell-initiated T-independent type 2 response resists the proteasome inhibitor bortezomib. *J Immunol* 2010;185(9):5637-5647.

## Plasmazelldepletion durch Proteasominhibition im murinen und humanen Lupus

**Die Sekretion pathogener Autoantikörper durch langlebige, gegenüber konventionellen Therapien resistente Plasmazellen kann zu therapierefraktären Verläufen des systemischen Lupus erythematoses (SLE) beitragen. Der Proteasominhibitor Bortezomib, zugelassen zur Myelomtherapie, depletiert kurz- und langlebige Plasmazellen und bessert die Lupusnephritis im Mausmodell.**

Basierend auf den vielversprechenden präklinischen Daten wurde Bortezomib (Velcade®) bei 6 Patienten mit therapierefraktärem SLE eingesetzt. Bei allen Patienten konnte hierunter eine signifikante Reduktion der Krankheitsaktivität erzielt werden, verbunden mit einem Abfall von pathogenen und protektiven Antikörpern (Impftiter) im Serum und einer Reduktion zirkulierender Plasmazellen. Die Neuentwicklung von autoreaktiven Plasmazellen konnte durch Proteasominhibition allerdings nicht verhindert werden. Daten aus dem murinen Lupus zeigen, dass der Plasmazell-Pool in Knochenmark und Milz bereits 7 Tage nach Bortezomib-assoziiierter Depletion vollständig regeneriert war.

Die klinische Wirksamkeit der Proteasominhibition bei SLE unterstreicht die therapeutische Relevanz des „Targetings“ autoreaktiver Plasmazellen. Zukünftig kann diese Strategie die Therapiemöglichkeiten bei SLE und anderen Autoantikörper-vermittelten Krankheiten bereichern, insbesondere wenn es durch kombinierte B-Zell-gerichtete Therapien (z.B. Rituximab, Belimumab) gelingt, die Neuentwicklung autoreaktiver Plasmazellen zu verhindern, um so dauerhafte Remissionen zu erzielen.

Langlebigen Plasmazellen sind durch die kontinuierliche Sekretion pathogener Autoantikörper an der Entstehung und Aufrechterhaltung chronischer Autoimmunprozesse beteiligt. Ein „Targeting“ dieser Zellen stellt eine therapeutische Herausforderung dar, da sich diese Zellen einer Behandlung mit herkömmlicher Immunsuppression oder B-Zell-Depletion entziehen. Ein neuer, vielversprechender Therapieansatz ist die Anwendung des Proteasominhibitors Bortezomib, der für die Myelomtherapie zugelassen ist und via NFκB-Inhibition und die „Unfolded Protein-Response“ kurz- und langlebige Plasmazellen depletiert.

Im Mausmodell des SLE (NZB/W) konnte bereits gezeigt werden, dass die Bortezomib-assoziierte Plasmazelldepletion mit einer signifikanten Reduktion von Autoantikörper-Titern und einer Verbesserung des Überlebens verbunden ist.

Pat.	Anzahl der BTZ-Zyklen	SLEDAI vor BTZ-Therapie	SLEDAI nach BTZ-Therapie
p#1	4	20	4
p#2	2	20	4
p#3	4	13	4
p#4	4	10	2
p#5	1	10	4
p#6	1	14	4

Tabelle 1: Klinische Ergebnisse der Bortezomib-Therapie bei therapierefraktären SLE-Patienten. SLEDAI = Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, BTZ=Bortezomib.

### Ergebnisse und Diskussion

Basierend auf den vielversprechenden präklinischen Daten wurde Bortezomib (Velcade®) bei 6 SLE-Patienten eingesetzt, die nicht ausreichend auf herkömmliche Therapien (inklusive Cyclophosphamid) ansprechen. Die Dosierung erfolgte auf Grundlage des Myelomprotokolls, wobei pro Zyklus 1.3 mg/m<sup>2</sup> Bortezomib an den Tagen 1, 4, 8, 11 jeweils zusammen mit 20mg i.v. Dexamethason verabreicht wurde, gefolgt von einer 10-tägigen Pause.

Bei allen Patienten konnte unter Bortezomib-Therapie eine Verbesserung der Krankheitsaktivität erzielt werden (Tabelle 1), verbunden mit einem signifikanten Abfall von Lupus-spezifischen Autoantikörpern. Dabei kam es nicht nur zu einer Reduktion von Anti-dsDNA-Antikörpern sondern auch zu einem Abfall von anderen ANA (antinukleäre Antikörper)-Spezifitäten wie Anti-Ro/SSA, Anti-La/SSB, Anti-Sm und AntiU1RNP. Gleichzeitig kam es zu einer Reduktion der Gesamt-Immunglobulinspiegel (IgG, IgA, IgM) und der protektiven Antikörper (Impftiter) im Serum, was für eine Depletion von langlebigen Plasmazellen im Knochenmark spricht, die diese Antikörper sezernieren (Abb.1). Unter Bortezomib-Therapie war ein drastischer Abfall zirkulierender Plasmablasten und Plasmazellen zu verzeichnen. Allerdings war die Plasmazelldepletion nicht dauerhaft: im Intervall nach Bortezomib-Therapie war ein Wiederauftauchen

kurzlebiger Plasmazellen/ Plasmablasten in der Zirkulation zu beobachten.

Um die Dynamik der Plasmazellentwicklung nach Bortezomib-Therapie genauer zu charakterisieren wurde das Bortezomib-Protokoll in ein murines Lupus-Modell (NZB/W) übertragen. Hierbei zeigte sich, dass der Pool an Plasmazellen in Milz und Knochenmark bereits 7 Tage nach Bortezomib-assoziiierter Depletion wieder vollständig regeneriert war (Abb. 2). Diese Daten deuten darauf hin, dass die Neuentwicklung autoreaktiver Plasmazellen aus aktivierten Gedächtnis-B-Zellen durch Proteasominhibition nicht verhindert werden kann, was die Notwendigkeit einer zusätzlichen B-Zell-gerichteten Therapie unterstreicht um längerfristige Remissionen zu erzielen.

## Perspektiven

Wir konnten erstmalig zeigen, dass die Proteasominhibition mit einer Verbesserung der Krankheitsaktivität bei SLE verbunden ist. Die klinische Effizienz der Proteasominhibition bei SLE unterstreicht die therapeutische Relevanz des „Targetings“ autoreaktiver Plasmazellen bei systemischen Autoimmunerkrankungen. Zukünftig kann diese Strategie die Therapiemöglichkeiten bei SLE und anderen antikörpervermittelten Krankheiten bereichern, insbesondere wenn es gelingt, durch eine kombinierte Behandlung mit B-Zell-gerichteten Therapien (z.B. Rituximab, Epratuzumab, Belimumab) den Nachschub autoreaktiver Plasmazellen zu verhindern, um somit bei hoch aktiven Patienten langanhaltende Remissionen zu erzielen.

## PUBLIKATIONEN

- (1) Voll R, Hiepe F. [Depletion of plasma cells - a novel strategy in the therapy of systemic lupus erythematosus in mice and man]. *Z Rheumatol* 2009;68(2):150-153
- (2) Yoshida T, Mei H, Dörner T et al. Memory B and memory plasma cells. *Immunological Reviews* 2010;237:117-139
- (3) Hiepe F, Dörner T, Hauser AE, Hoyer BF, Mei H, Radbruch A. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nature Reviews Rheumatology* 2011;7(3):170-178

## DRITTMITTEL

This project was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 650).

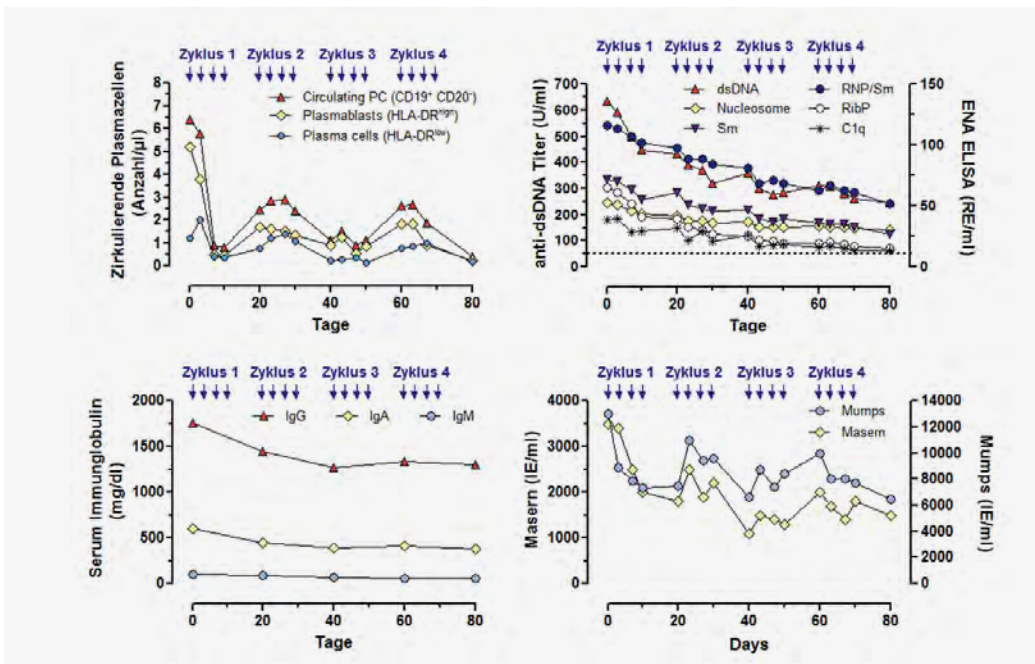


Abbildung 1: Depletion zirkulierender Plasmazellen und Abfall pathogener und protektiver Antikörper unter Bortezomib-Therapie bei SLE#3. A) Absolute Anzahl zirkulierender Plasmazellen basierend auf durchflusszytometrischen Analysen am FACS-Canto. B) Verlauf der Autoantikörper-Titer gemessen mittels ELISA, Euroimmun Labordiagnostika. C) Immunglobulinspiegel im Serum. D) Impftiter für Masern, Mumps.

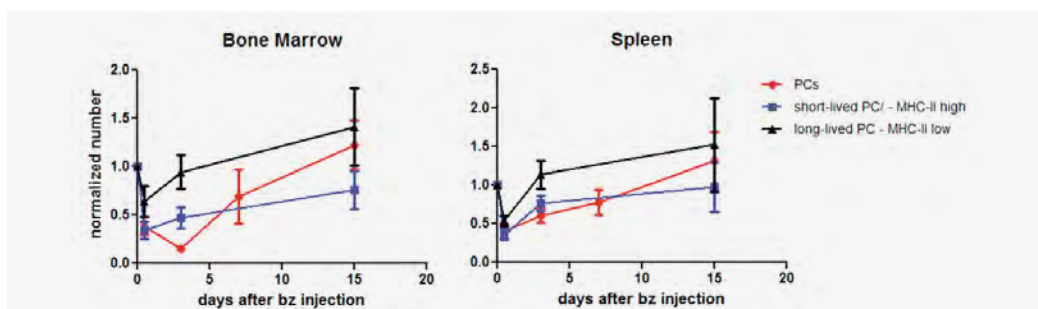


Abbildung 2: Analyse der Plasmazellen im murinen Lupus-Modell (NZB/W) nach Bortezomib-Gabe (0.75mg/kg zum Zeitpunkt 0h und +36h).



**WISSENSCHAFTLER**  
 Velia Gerl, Alexandra Lischka,  
 Adriano Taddeo, Sandra Schneider,  
 Robert Biesen, Tobias Alexander,  
 Bimba Hoyer, Falk Hiepe

**KOOPERATIONSPARTNER**  
 Andrzej Dzionek und Jürgen Schmitz  
 (Miltenyi Biotec, Bergisch-Glad-  
 bach)

- REFERENZEN**
1. Dzionek et al., Journal of Immunology 2000
  2. Biesen et al., Arthritis and Rheumatism 2008
  3. Comeau et al., Journal of Immunology 2002
  4. Kondo et al., Nature 2000
  5. Manz et al., Blood 1997

**PUBLIKATIONEN**  
 Velia Gerl, Alexandra Lischka et al.,  
 Ann Rheum Dis 2010; 69:  
 1370-1377

## Identifizierung einer Subpopulation von zirkulierenden plasmacytoid dendritischen Zellen (pDCs) mit myeloiden Eigenschaften bei SLE

Plasmazytoide dendritische Zellen (pDCs) spielen vermutlich eine regulative Rolle in der Pathogenese des SLE, da sie 1) als Hauptquelle des SLE-relevanten Zytokins IFN-alpha gelten, 2) in SLE Hautläsionen auftreten und 3) im Blut von SLE-Patienten, abhängig von der Krankheitsaktivität, im Vergleich zu gesunden Spendern deutlich verringert sind. pDCs werden allgemein als lin-/CD11c-/CD123+ /CD4+ von CD11c+ myeloiden dendritischen Zellen (mDCs) unterschieden. BDCA-2 ist ein weiterer spezifischer Marker für unreife pDCs im peripheren Blut, der bei Reifung der pDCs herunterreguliert wird (Dzionek et al., Journal of Immunology 2000 (1)). Das Makrophagen-spezifische Adhäsionsmolekül Sialoadhäsion (Siglec-1) ist auf Monozyten im Blut von SLE-Patienten krankheitsspezifisch erhöht, wobei seine Expression durch IFN-alpha induziert wird (Biesen et al., Arthritis and Rheumatism 2008 (2)). Wir haben pDCs im Blut von SLE und Normalspendern untersucht, um mögliche krankheitsspezifische Differenzierungsmuster zu identifizieren.

pDCs, die in SLE-Patienten sehr stark ausgeprägt ist (Abb. 1). Eine weitere Charakterisierung offenbarte, dass diese CD11c+/BDCA-2+ pDCs größtenteils Siglec-1+/CD56+/BDCA-2low sind (Abb. 2). Da in pDCs im Zuge einer Aktivierung BDCA-2 herunterreguliert wird (Dzionek et al. (1)), könnte man vermuten, dass es sich hier um eine aktivierte Subpopulation von pDCs handelt. In ähnlicher Weise beschreibt bereits Comeau et al., JI 2002 (3), im Blut von gesunden Spendern eine Subpopulation von CD123+ pDCs mit myeloiden Eigenschaften, die durch eine subkutane Gabe von Flt3l, einem Aktivator von immunologischen Vorläuferzellen, zunehmen und eine hohe T-Zell-stimulatorische Potenz aufweisen. In der beschriebenen Arbeit wird vermutet, dass pDCs eine Konvertierung zu einem myeloiden Zelltyp durchlaufen können. Eine solche Konvertierung könnte auch durch Störungen in der Zytokin-Homöostase hervorgerufen werden (Kondo et al., Nature 2000 (4), Manz et al., Blood 1997 (5)) und damit möglicherweise eine Rolle in der Pathogenese des SLE spielen. Weitere Untersuchungen sollen zeigen, welche Rolle die myeloid-ähnlichen pDCs und insbesondere die Siglec-1-Expression, im Verlauf einer Autoimmunantwort bei SLE spielen und wie sie reguliert werden.

### Ergebnisse und Diskussion

Bei der durchflusszytometrischen Identifizierung der pDCs mit Hilfe ihrer klassischen Marker fanden wir im peripheren Blut eine CD11c-positive Subpopulation innerhalb der BDCA-2+/CD123+/HLA-DR+

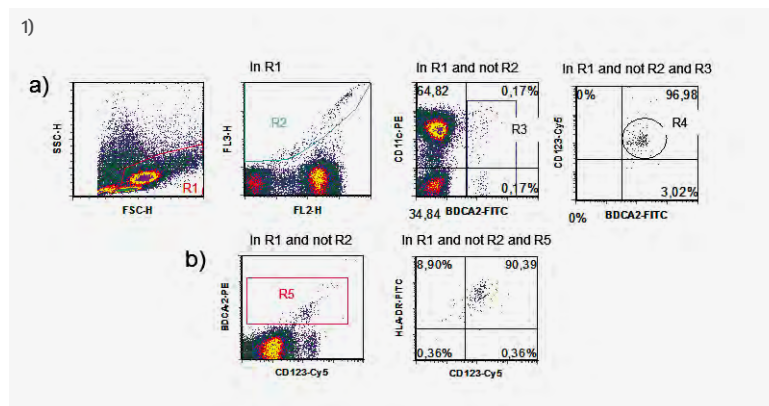


Abb. 1: a) Im Blut von SLE-Patienten findet man eine ausgeprägte CD11c-positive Subpopulation innerhalb der pDCs: alle BDCA-2-positiven Zellen (R3 bzw. R5) exprimieren CD123 (R4) und MHCII (b). Untersucht wurden die dendritischen Marker innerhalb der lebenden Zellfraktion (R1 and not R2).

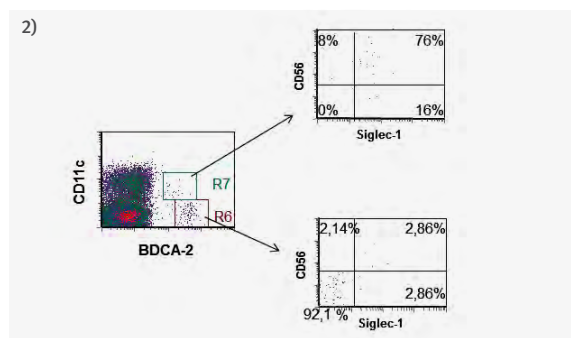


Abb. 2: CD11c+/BDCA-2+ Zellen (in R7) exprimieren CD56 und Siglec-1. CD11c-/BDCA-2+ pDCs (in R6) sind größtenteils negativ für CD56 und Siglec-1. Auffällig ist die geringere Expression von BDCA-2 in den CD11c+/BDCA-2+ Zellen.

## Die Rolle der B-Zellen in der Pathogenese und als Biomarker bei Riesenzellvaskulitis

Riesenzellvaskulitiden sind Entzündungen der großen Arterien, die charakterisiert sind durch die pathologische Beobachtung von „Riesenzellen“ in den entzündlichen Gefäßwandinfiltraten. Sie können in jedem Alter auftreten, wobei sie sich je nach Alter klinisch unterschiedlich manifestieren. Bei jungen Menschen manifestieren sie sich als Takayasu-Arteriitis (TA) und beim älteren Menschen eher als Riesenzellerteriitis (RZA), Arteriitis temporalis (AT) oder Polymyalgia rheumatica (PMR). Bisher ging man bei all diesen Krankheitsbildern von einer pathogenetisch herausragenden Rolle der T-Zellen aus (1). Wir zeigen hier zum ersten Mal, dass bei allen Krankheitsbildern (TA, RZA, PMR) Verschiebungen im B-Zell-Kompartiment sind - wie bereits für Erkrankungen wie z. B. den systemischen Lupus erythematoses (SLE) beschrieben - des peripheren Blutes vorhanden sind (2, 3) und zum Teil mit der Krankheitsaktivität korrelieren, wobei die Verteilung der T-Zellen nicht verändert ist.

### Methodik

Analysiert wurde Blut von 14 Patienten mit aktiver Takayasu Arteriitis, 16 Patienten mit Nicht-Takayasu-Riesenzellerteriitis (RZA, AT oder PMR) und 12 Gesunde. Blut-Leukozyten wurden durchflusszytometrisch auf die Expression von CD27, CD19, CD20, MHCII, CD3, CD8 und CD4 analysiert.

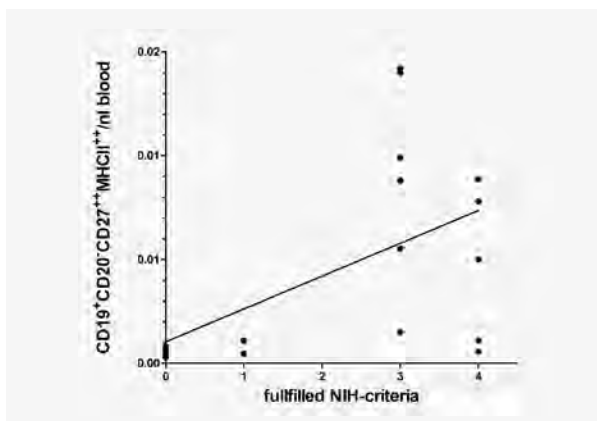


Abbildung: 1: Bei Patienten mit Takayasu-Arteriitis korreliert die Krankheitsaktivität gemessen mit den NIH-Kriterien nach Kerr signifikant mit der Frequenz der Plasmablasten im peripheren Blut.

### Ergebnisse

Patienten mit aktiver Erkrankung hatten eine signifikant höhere Frequenz von Plasmazellen im peripheren Blut als Patienten mit inaktiver Erkrankung oder Gesunde. Dies ließ sich sowohl bei Patienten mit Takayasu-Arteriitis als auch bei Patienten mit RZA beobachten. Bezüglich der absoluten Zahlen zeigte sich der Unterschied zu Gesunden nur bei Patienten mit Takayasu-Arteriitis, nicht bei Patienten mit RZA. Die Frequenz der Plasmazellen bei TA korreliert signifikant mit der Höhe der BSG sowie der Krankheitsaktivität gemäß der NIH-Kriterien ( $r=0,73$ ;  $p=0,069$ ).

### Schlussfolgerung

Die Verschiebungen im B-Zell-Status des peripheren Blutes sind Hinweise, dass Veränderungen der B-Zell-Homöostase bei Riesenzellvaskulitiden pathogenetisch eine bedeutende Rolle spielen. B-Zellen sollten als Ziel für neue therapeutische Ansätze Beachtung finden. Bei Takayasu-Arteriitis konnten wir bereits in drei Fällen den positiven Effekt einer B-Zell-depletierenden Therapie zeigen. Zusätzlich scheinen Plasmazellen und andere B-Zell-Subpopulationen des Blutes Bedeutung als Biomarker für die Krankheitsaktivität zu haben (4).

### WISSENSCHAFTLER

B.Hoyer, A. Taddeo, L.Khodadadi, M. Rothkegel, F. Hiepe

### KOOPERATIONSPARTNER

K. Stengl, Klinik für Neurologie, CCM, Bergholz, Klinik für Augenheilkunde, CVK, Berlin, C. Schöbel, Klinik für Kardiologie, CCM, Berlin

### REFERENZEN

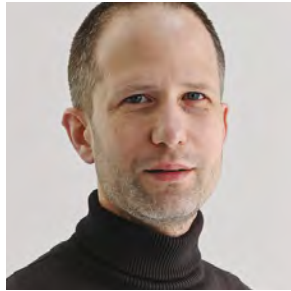
- Martinez-Taboada, V., A. Brack, G.G. Hunder, J.J. Goronzy, and C.M. Weyand. 1996. The inflammatory infiltrate in giant cell arteritis selects against B lymphocytes. *The Journal of rheumatology* 23:1011-1014.
- Jacobi, A.M., H. Mei, B.F. Hoyer, I.M. Mumtaz, K. Thiele, A. Radbruch, G.R. Burmester, F. Hiepe, and T. Dörner. HLA-DRhigh/CD27high plasmablasts indicate active disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 69:305-308.
- Jacobi, A.M., M. Odendahl, K. Reiter, A. Bruns, G.R. Burmester, A. Radbruch, G. Valet, P.E. Lipsky, and T. Dörner. 2003. Correlation between circulating CD27high plasma cells and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 48:1332-1342.
- Hoyer, B.F., I.M. Mumtaz, K. Lodenkemper, A. Bruns, C. Sengler, K.G. Hermann, S. Maza, R. Keitzer, G.R. Burmester, F. Buttgerit, A. Radbruch, and F. Hiepe. Takayasu arteritis is characterised by disturbances of B cell homeostasis and responds to B cell depletion therapy with rituximab. *Ann Rheum Dis* 71:75-79.

### PUBLIKATIONEN

Hoyer, B.F., I.M. Mumtaz, K. Lodenkemper, A. Bruns, C. Sengler, K.G. Hermann, S. Maza, R. Keitzer, G.R. Burmester, F. Buttgerit, A. Radbruch, and F. Hiepe. Takayasu arteritis is characterised by disturbances of B cell homeostasis and responds to B cell depletion therapy with rituximab. *Ann Rheum Dis* 71:75-79.

### DRITTMITTEL

Förderung durch ein Rahel-Hirsch-Habilitations-Stipendium für B. Hoyer



Dr. rer. nat. Andreas Hutloff

Robert-Koch-Institut

## Chronische Immunreaktion

### T-Zell-Kostimulation und Interaktion mit B-Zellen

#### STICHWORTE

T-Zell-Kostimulation  
T/B Kooperation  
Follikuläre T-Helfer-Zellen  
ICOS  
Chronische Entzündungen

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Dr. Andreas Hutloff

Doktoranden  
Randi K. Franke  
Franziska Fuhrmann  
Dana Vu Van  
Jan P. Weber

Diplomanden  
Maysun Sonja Al-Baz

Die Arbeitsgruppe untersucht grundlegende Mechanismen der Interaktion antigenspezifischer T- und B-Zellen in sekundärlymphatischen Organen und chronisch entzündeten Geweben. Autoreaktive T- und B-Zellen spielen bei der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen eine zentrale Rolle. T- und B-Zellen stehen hierbei in einem engen Wechselspiel. T-Zellen fördern die Gewebszerstörung nicht nur durch die Produktion proinflammatorischer Zytokine, sondern vermitteln den B-Zellen auch die entscheidenden Signale zur Produktion von Autoantikörpern. Umgekehrt können B-Zellen in ihrer Funktion als antigenpräsentierende Zellen maßgeblich die Differenzierung von T-Zellen beeinflussen. Um die Interaktion von T- und B-Zellen *in vivo* verfolgen zu können, haben wir ein spezielles Mausmodell entwickelt, das auf dem adoptiven Transfer antigenspezifischer T- und B-Zellen beruht.

Als eine wichtige Fragestellung in diesem Modell untersuchen wir, wie kostimulatorische Moleküle die Differenzierung der beiden Partner beeinflussen. Mit dem induzierbaren Kostimulator ICOS haben wir einen zentralen Regulator der humoralen Immunantwort identifiziert. Das Fehlen von ICOS resultiert in einer schweren Immundefizienz wohingegen eine Überexpression von ICOS mit Autoimmunität assoziiert ist. ICOS ist somit auch ein vielversprechender Kandidat für eine therapeutische Intervention bei Autoimmunerkrankungen.

Unser besonderes Interesse gilt der speziellen Subpopulation der Follikulären T-Helferzellen (TFH). Diese spielen eine entscheidende Rolle in der Keimzentrumsreaktion, indem sie Hilfe für antigenspezifische B-Zellen vermitteln. Ohne TFH-Zellen können B-Zellen nicht in langlebige Plasma- oder Gedächtniszellen differenzieren. Wir untersuchen, wie verschiedene Kostimulatoren die Entwicklung und Stabilität von TFH-Zellen beeinflussen. Eine interessante Frage ist außerdem, ob TFH-Zellen nach Beendigung der Keimzentrumsreaktion sterben oder als langlebige Gedächtniszellen überleben.

Ein weiteres Projekt betrifft Immunreaktionen im entzündeten Gewebe. In Bezug auf die Rolle von T- und B-Zellen ist hierzu noch vergleichsweise wenig bekannt. Unter den Bedingungen chronischer Entzündung und limitierender Antigenmengen können B-Zellen im Vergleich zu dendritischen Zellen sogar einen Vorteil als antigenpräsentierende Zellen erlangen. Auch hierbei kommt unser *in vivo* T/B Kooperationsmodell zum Einsatz. Eine wiederholte intranasale Gabe des Antigens resultiert in einer chronischen Lungeninflammation. Dieses Modell eignet sich hervorragend, um antigenspezifische T- und B-Zellen aus dem Gewebe zu re-isolieren. In einem Arthritis-Modell wird kationisiertes Antigen in die Kniespalte gespritzt. In Zusammenarbeit mit AG Niesner und Hauser wollen wir in diesem Modell insbesondere die Interaktion von T- und B-Zellen mittels 2-Photonenmikroskopie untersuchen.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Dr. Birgit Ahrens, Dr. Katja C. Beier, Dr. Kerstin Gerhold  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Pädiatrie m.S. Pneumologie/Immunologie, Berlin

Dr. Michael Baier, Dr. Sandra Gültner  
Robert Koch-Institut, Neurodegenerative Erkrankungen, Berlin

Prof. Dr. Joanna Cichy  
Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakau, Polen

Prof. Dr. Bernhard Fleischer, Dr. Anke Osterloh, Dr. Birte Kretschmar  
Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Immunologie, Hamburg

Prof. Dr. Eckard Hamelmann  
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Ruhr-Universität Bochum, Bochum

Dr. Anja Hauser, Laura Oehme  
DRFZ, Immundynamik, Berlin

Prof. Dr. Thomas Kamradt, Dr. Oliver Frey  
Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Immunologie, Jena

Prof. Dr. Richard Kroczek, Dr. Hans-Werner Mages  
Robert Koch-Institut, Immunologische Abwehrmechanismen, Berlin

Prof. Dr. Tanja Kuhlmann  
Universitätsklinikum Münster, Institut für Neuropathologie, Münster

Prof. Dr. Max Löhning  
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie, Berlin

Dr. Mir-Farzin Mashreghi  
DRFZ, Zellbiologie, Berlin

Dr. Raluca Niesner  
Biophysikalische Analytik, DRFZ, Berlin

Geraldine Nouailles  
Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin

Dr. Carola Vinuesa  
Australian National University, John Curtin School of Medical Research, Immunology and Genetics, Canberra

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Frey O, Meisel J, Hutloff A, Bonhagen K, Bruns L, Kroczek RA, Morawietz L, Kamradt T: Inducible costimulator (icos) blockade inhibits accumulation of polyfunctional t helper 1/t helper 17 cells and mitigates autoimmune arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1495-1501.

2. Gültner S, Kuhlmann T, Hesse A, Weber JP, Riemer C, Baier M, Hutloff A: Reduced treg frequency in lfa-1-deficient mice allows enhanced t effector differentiation and pathology in eae. *Eur J Immunol* 2010;40:3403-3412.

3. Kassner N, Krueger M, Yagita H, Dzionek A, Hutloff A, Kroczek R, Scheffold A, Rutz S: Cutting edge: Plasmacytoid dendritic cells induce il-10 production in t cells via the delta-like-4/notch axis. *J Immunol* 2010;184:550-554.

4. Nouailles G, Day TA, Kuhlmann S, Loewe D, Dorhoi A, Gamradt P, Hurwitz R, Jorg S, Pradl L, Hutloff A, Koch M, Kursar M, Kaufmann SH: Impact of inducible co-stimulatory molecule (icos) on t-cell responses and protection against mycobacterium tuberculosis infection. *Eur J Immunol* 2011;41:981-991.

5. Gerhold K, Avagyan A, Reichert E, Seib C, Vu Van D, Luger EO, Hutloff A, Hamelmann E: Prenatal allergen exposures prevent allergen-induced sensitization and airway inflammation in young mice. *Allergy* 2012; 67(3):353-61.



## WISSENSCHAFTLER

Maysun Al-Baz, Randi K. Franke,  
Franziska Fuhrmann, Andreas  
Hutloff, Dana Vu Van, Jan P. Weber

## REFERENZEN

1. Kroczeck RA, Mages HW, Hutloff A: Emerging paradigms of t-cell co-stimulation. *Curr Opin Immunol* 2004;16:321-327.

2. Simpson TR, Quezada SA, Allison JP: Regulation of cd4 t cell activation and effector function by inducible costimulator (icos). *Curr Opin Immunol* 2010;22:326-332.

## PUBLIKATIONEN

3. Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, Eljaschewitsch B, Kraft R, Anagnostopoulos I, Kroczeck RA: Icos is an inducible t-cell co-stimulator structurally and functionally related to cd28. *Nature* 1999;397:263-266.

4. Khayyamian S, Hutloff A, Büchner K, Gräfe M, Henn V, Kroczeck RA, Mages HW: Icos-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates th1 and th2 cytokine secretion by memory cd4+ t cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:6198-6203.

5. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, Glocker E, Warnatz K, Dräger R, Eibel H, Fischer B, Schaffer AA, Mages HW, Kroczeck RA, Peter HH: Homozygous loss of icos is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol* 2003;4:261-268.

6. Hutloff A, Büchner K, Reiter K, Baelde HJ, Odendahl M, Jacobi A, Dörner T, Kroczeck RA: Involvement of inducible costimulator in the exaggerated memory b cell and plasma cell generation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50:3211-3220.

7. Yu D, Tan AH, Hu X, Athanassopoulos V, Simpson N, Silva DG, Hutloff A, Giles KM, Leedman PJ, Lam KP, Goodnow CC, Vinuesa CG: Roquin represses autoimmunity by limiting inducible t-cell co-stimulator messenger rna. *Nature* 2007;450:299-303.

## DRITTMITTEL

DFG HU 1294/3-1, HU 1294/4-1

## T-Zell-Kostimulation und Regulation der Immunantwort

**Kostimulatorische Rezeptoren regulieren die T-Zell-Aktivierung und Differenzierung in verschiedenen Phasen einer Immunantwort. Unterdessen ist eine Vielzahl von Kostimulatoren bekannt, die sich hinsichtlich ihres Expressionsmusters unterscheiden. Noch immer sind jedoch die spezifischen Funktionen dieser einzelnen Moleküle weitgehend unbekannt.**

Die Erkennung des Antigens über den T-Zellrezeptor allein ist nicht ausreichend, um eine T-Zelle vollständig zu aktivieren. Vielmehr sind zusätzliche, sogenannte kostimulatorische Signale erforderlich. Diese regulieren die T-Zellantwort auf unterschiedlichen Ebenen (1):

- 1) Initiale Aktivierung. Bereits beim ersten Kontakt einer naiven T-Zelle mit ihrem Antigen entscheiden kostimulatorische Rezeptoren über die erfolgreiche Aktivierung. Dieses „2-Signal“-System hilft, unerwünschte Immunreaktionen, z.B. gegen harmlose Umweltallergene oder Autoantigene, zu verhindern.
- 2) Differenzierung der T-Zelle. In den späteren Phasen der Immunreaktion sind kostimulatorische Signale an der Entstehung bestimmter T-Zell-Subtypen beteiligt.
- 3) T-Zell-Effektorfunktion. Kostimulatorische Rezeptoren regulieren vielfältige Effektorfunktionen, wie z.B. die Sekretion von Zytokinen.
- 4) T-Zellgedächtnis: Kostimulatoren können das Langzeit-Überleben von Gedächtnis-T-Zellen fördern.

Neben dem wohl bekanntesten und am besten charakterisierten kostimulatorischen Rezeptor CD28 wurden in den letzten Jahren weitere Moleküle identifiziert, die an der Interaktion von T-Zelle und antigenpräsentierender Zelle beteiligt sind (1). Diese gehören wie CD28 zur Immunoglobulin-Superfamilie oder zur TNF-Superfamilie und können sowohl (positive) kostimulatorische als auch koinhibitorische Signale in die T-Zelle weiterleiten (Abb. 1).

Der induzierbare Kostimulator ICOS wurde 1999 als ein zu CD28 strukturell und funktionell verwandtes Molekül identifiziert (3). Anders als CD28 wird ICOS nicht konstitutiv, sondern ausschließlich auf aktivierten T-Zellen exprimiert. Hingegen ist der Ligand für ICOS (ICOS-L) sehr breit auf nahezu allen Immunzellen exprimiert, wobei sich die höchste Expression auf B-Zellen und dendritischen Zellen findet. Unter inflammatorischen Bedingungen können jedoch auch nicht hämatopoetische Zellen ICOS-L exprimieren, was für Immunreaktionen im Gewebe von Bedeutung sein könnte (4). Die starke Expression von ICOS auf follikulären T-Helferzellen gab schon sehr früh einen

Hinweis auf die wichtige Rolle von ICOS für die T-Zellvermittelte Hilfe für B-Zellen (3).

Am Beispiel von ICOS lässt sich die wichtige Rolle von Kostimulatoren für das Gleichgewicht der normalen Immunantwort aufzeigen. Das Fehlen von ICOS resultiert in einer schweren Immundefizienz. Beim Menschen führt ICOS-Defizienz zum klinischen Bild einer Common Variable Immunodeficiency (CVID). Diese Patienten haben eine stark verminderte Zahl von B-Zellen und praktisch keine Gedächtnis-B-Zellen. Sie sind daher sehr anfällig für Infektionskrankheiten (5). ICOS Knock-out Mäuse haben einen vergleichbaren Phänotyp. Insbesondere ist in diesen Mäusen die Keimzentrumsreaktion auf ein spezifisches Antigen gestört, was zu einer verminderten Produktion von antigenspezifischen Immunglobulinen führt.

Auf der anderen Seite ist eine Überexpression von ICOS oft mit Autoimmunität assoziiert. Patienten mit Systemischen Lupus Erythematosus haben eine stark erhöhte Frequenz von ICOS exprimierenden T-Zellen im Blut, die sich darüber hinaus auch als Infiltrate in den betroffenen Organen finden (6). In einem Mausmodell konnten wir zeigen, dass diese ICOS Überexpression ursächlich für den Autoimmun-Phänotyp ist (7).

Ihre wichtige Rolle für die Feinregulation der Immunantwort macht Kostimulatoren zu einem attraktiven Ziel für die therapeutische Intervention. Reagenzien zur Blockade des CD28 Signalweges befinden sich bereits in der klinischen Anwendung (Abatacept). Fehlende Kostimulation über CD28 resultiert jedoch in einer sehr generellen Immunsuppression. Reagenzien gegen Kostimulatoren, die eher selektiv in der Effektor- oder Gedächtnisphase wirken und chronische Immunreaktionen am Laufen halten, geben die Hoffnung auf eine spezifischere Therapie.

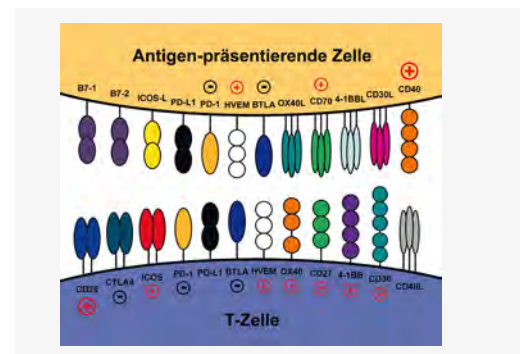


Abbildung 1: Wichtige Kostimulatoren in der Interaktion von T-Zelle und Antigen-präsentierender Zelle

## Interaktion antigenspezifischer T- und B-Zellen *in vivo*

Um die Interaktion von T- und B-Zellen *in vivo* zu untersuchen, haben wir ein Mausmodell entwickelt, das es erlaubt einzelne antigenspezifische T- und B-Zellen in jeder Phase der Immunreaktion zu verfolgen. Dieses beruht auf dem Kotransfer von transgenen T- und B-Zellen in syngene, immunkompetente Rezipienten. Entsprechende Marker erlauben es, die antigenspezifischen T- und B-Zellen nicht nur in der Durchflusszytometrie und Histologie zu verfolgen, sondern auch *ex vivo* zu re-isolieren, was eine Analyse des gesamten Transkriptom ermöglicht. Mit Hilfe der 2-Photonen-Intravital-mikroskopie können wir die Interaktion antigenspezifischer T- und B-Zellen im Lymphknoten in Echtzeit verfolgen. Insbesondere interessiert uns hierbei die spezielle Subpopulation der Follikulären T-Helferzellen, die eine entscheidende Rolle für die B-Zellhilfe spielen.

T/B-Kooperation ist eine bidirektionale Interaktion, in der beide Zelltypen wichtige Signale für ihre weitere Differenzierung erhalten. Antigenspezifische T- und B-Zellen können in verschiedenen Phasen einer Immunreaktion interagieren (1). Ein erster Kontakt zwischen beiden Zelltypen findet im Lymphknoten bereits 24-48 h nach Antigenerkennung an der Grenze zwischen T- und B-Zellzone statt. Nachdem sich nach 5-6 Tagen erste Keimzentren ausgebildet haben, liefert die spezielle Subpopulation der Follikulären T-Helferzellen (TFH) entscheidende Signale für die weitere B-Zelldifferenzierung (2). Schließlich findet man bei chronischen Entzündungen auch im Gewebe Infiltrate von T- und B-Zellen, die miteinander in Kontakt stehen (Abb. 1).

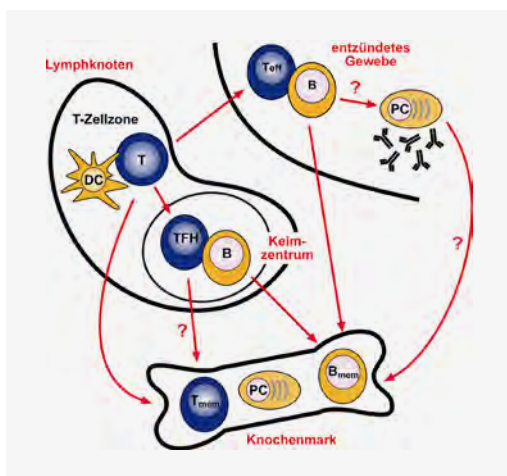


Abbildung 1: Interaktion antigenspezifischer T- und B-Zellen in verschiedenen Stadien der Immunantwort.

Die Untersuchung von Immunreaktionen *in vivo* wird durch die sehr geringe Frequenz antigenspezifischer Zellen erschwert, dies betrifft insbesondere die frühen Phasen. Durch den adoptiven Transfer transgener T- und B-Zellen können wir die Frequenz antigenspezifischer T- und B-Zellen so weit erhöhen, dass eine Analyse auch in den frühen Phasen der T/B-Interaktion möglich wird. Unser System beruht auf dem Kotransfer von LCMV Glycoprotein-spezifischen T-Zellen aus Smarta Mäusen (3) und B-Zellen aus B1-8i Mäusen (4), die einen B-Zellrezeptor Knock-in für das Hapten Nitrophenol (NP) besitzen. Rezipienten-Mäuse werden anschließend mit einem entsprechenden Modelantigen (NP-Smarta-Konjugat) immunisiert (Abb. 2). Über kongene Marker können die transferierten Zellen nicht nur mittels Durchflusszytometrie und Histologie verfolgt werden, sondern auch ohne Quervernetzung der Antigenrezeptoren re-isoliert werden. Fluoreszierende Reportergene ermöglichen die Echtzeit-Analyse der T/B-Interaktion mittels 2-Photonenmikroskopie.

Die spezifische Funktion einzelner Moleküle kann in diesem System auf unterschiedliche Weise analysiert werden: 1) Knock-out Mäuse auf dem T-Zell- bzw. B-Zell-Rezeptor transgenen Hintergrund 2) Blockierende Antikörper 3) shRNA-vermittelte Ausschaltung oder Überexpression in einem retroviralen System.

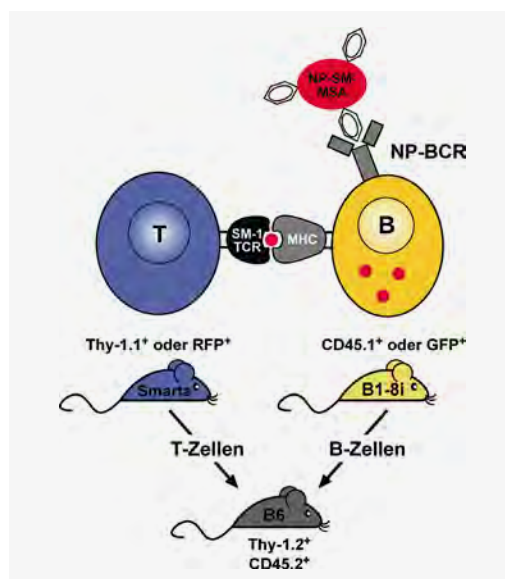


Abbildung 2: *In vivo* T/B-Kooperationssystem  
T-Zellen aus Smarta-TCR transgenen Mäusen (LCMV GP reaktiv) werden zusammen mit Nitrophenol-spezifischen B-Zellen aus B1-8i Mäusen in C57BL/6 Mäuse transferiert. Die Rezipienten werden subkutan mit NP-Smarta-Protein immunisiert und die drainierenden Lymphknoten analysiert.

### WISSENSCHAFTLER

Maysun Al-Baz, Randi K. Franke, Franziska Fuhrmann, Andreas Hutloff, Dana Vu Van, Jan P. Weber

### KOOPERATIONSPARTNER

Anja Hauser, Laura Oehme - Immunodynamik, DRFZ, Berlin  
Mir-Farzin Mashregi - Zellbiologie, DRFZ, Berlin

### REFERENZEN

- Vinuesa, C.G., I. Sanz, and M.C. Cook. 2009. Dysregulation of germinal centres in autoimmune disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9:845-857.
- Crotty S: Follicular helper cd4 t cells (tfh). *Annu Rev Immunol* 2011;29:621-663.
- Oxenius A, Bachmann MF, Zinkernagel RM, Hengartner H: Virus-specific mhc-class ii-restricted tcr-transgenic mice: Effects on humoral and cellular immune responses after viral infection. *Eur J Immunol* 1998;28:390-400.
- Sonoda, E., Y. Pevzner-Jung, S. Schwers, S. Taki, S. Jung, D. Eilat, and K. Rajewsky. 1997. B cell development under the condition of allelic inclusion. *Immunity*. 6:225-233.

### PUBLIKATIONEN

- Burmeister, Y., T. Lischke, A. C. Dahler, H. W. Mages, K. P. Lam, A. J. Coyle, R. A. Kroccek, and A. Hutloff. 2008. ICOS controls the pool size of effector-memory and regulatory T cells. *J. Immunol.* 180:774-782.

### DRITTMITTEL

DFG HU 1294/3-1, HU 1294/4-1

## WISSENSCHAFTLER

Maysun Al-Baz, Andreas Hutloff,  
Dana Vu Van, Jan P. Weber

## KOOPERATIONSPARTNER

Katja Beier, Kerstin Gerhold  
Charité–Universitätsmedizin  
Berlin,  
Eckard Hamelmann  
Klinikum der Ruhr Universität  
Bochum

Michael Baier, Sandra Gültner  
Robert Koch-Institut, Berlin

Tanja Kuhlmann  
Klinikum der Universität  
Münster

Oliver Frey, Thomas  
Kamradt  
Universität Jena

## REFERENZEN

- Hutloff A, Büchner K, Reiter K, Baelde HJ, Odendahl M, Jacobi A, Dorner T, Kroczeck RA: Involvement of inducible costimulator in the exaggerated memory b cell and plasma cell generation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50:3211-3220.
- Beier KC, Hutloff A, Löhning M, Kallinich T, Kroczeck RA, Hamelmann E: Inducible costimulator-positive t cells are required for allergen-induced local b-cell infiltration and antigen-specific ige production in lung tissue. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:775-782.
- Burmeister Y, Lischke T, Dahler AC, Mages HW, Lam KP, Coyle AJ, Kroczeck RA, Hutloff A: Icos controls the pool size of effector-memory and regulatory t cells. *J Immunol* 2008;180:774-782.

# Immunreaktionen im entzündeten Gewebe

**Entzündungsreaktionen im Gewebe stellen ein komplexes immunologisches Geschehen dar, an dem eine Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen beteiligt ist. Neben den Zellen des lokalen Gewebes sowie Zellen des angeborenen Immunsystems finden sich regelmäßig auch infiltrierende T- und B-Zellen (1,2). Im Vergleich zur Immunreaktion im Lymphknoten ist über diese T/B-Interaktion im entzündeten Gewebe noch relativ wenig bekannt. Wir interessieren uns hierbei zum einen für die Rolle von kostimulatorischen Molekülen. Eine weitere Frage ist, inwieweit B-Zellen als lokale antigenpräsentierende Zellen die Aktivierung und Differenzierung der T-Zellen beeinflussen. Durch ihren hochaffinen Antigenrezeptor haben B-Zellen insbesondere unter limitierenden Antigenmengen einen Vorteil in der Antigenpräsentation gegenüber dendritischen Zellen. Um diese Fragen zu beantworten, arbeiten wir mit drei verschiedenen Mausmodellen: 1) Einem Atemwegs-Inflammationsmodell. 2) Einem Neuroinflammationsmodell, der Experimentellen Autoimmun-Encephalomyelitis (EAE). 3) Einem Maus-Arthritis-Modell.**

## Atemwegs-Inflammationsmodell

Wir arbeiten bereits seit vielen Jahren mit dem Modell einer antigeninduzierten Atemwegsinfektion, wobei wir unser bewährtes Ko-Transfersystem mit antigenspezifischen T- und B-Zellen verwenden (siehe vorherige Seite). Das Antigen wird jedoch in diesem Fall nicht subkutan sondern intranasal verabreicht. Antigen-spezifische T- und B-Zellen werden zunächst in den Lungen-assoziierten Lymphknoten aktiviert, von wo aus sie in das Lungengewebe auswandern. Nach wiederholter Antigengabe findet man prominente Infiltrate in der Lunge, die antigenspezifische T- und B-Zellen enthalten (Abb. 1). Das Modell ist somit ideal geeignet, um Immunreaktionen im drainierenden Lymphknoten und dem entzündeten Gewebe parallel zu verfolgen.

Der induzierbare Kostimulator ICOS wird von antigenspezifischen T-Zellen sowohl im Lymphknoten als auch in der Lunge stark exprimiert. Wir konnten zeigen, dass ICOS/ICOS-L Interaktion die Atemwegsinfektion auf mehreren Ebenen beeinflusst: 1) ICOS-Kostimulation reguliert die Zahl der Effektor-T-Zellen und wirkt darüber auch auf die Expansion der antigenspezifischen B-Zellen. 2) Im Lymphknoten spielt ICOS eine besondere Rolle für die Aufrechterhaltung des TFH-Phänotyps und beeinflusst hierüber

die Zahl der Keimzentrums-B-Zellen. 3) In der Lunge reguliert ICOS die Produktion von IL-5 und IL-13 und beeinflusst hierüber die Infiltration mit Eosinophilen und die Mucus-Produktion. 4) ICOS Kostimulation fördert die Generierung von IgA Plasmazellen einschließlich langlebiger Plasmazellen im Knochenmark.

Aktuell arbeiten wir daran, die Rolle der ICOS-L exprimierenden B-Zellen im Lungengewebe näher zu definieren.

## Experimentelle Autoimmun-Encephalomyelitis (EAE)

Durch Immunisierung von Mäusen mit dem Autoantigen MOG kann ein Krankheitsbild induziert werden, das in vieler Hinsicht der humanen Multiplen Sklerose ähnelt. In diesem Mausmodell haben wir die Rolle des Integrins LFA-1 näher untersucht (4). LFA-1 ist wichtig für die T-Zellaktivierung und Migration. Überraschenderweise entwickelten LFA-1 Knock-out (KO) Mäuse jedoch eine schwerere EAE mit verstärkter Demyelinisierung und erhöhter Zahl autoreaktiver T-Zellen im Rückenmark (Abb. 2 und 3). Die Produktion der proinflammatorischen Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-17 war jedoch auf Ebene der antigenspezifischen T-Zellen unverändert. Interessanterweise war jedoch in LFA-1 KO Mäusen die Zahl der FoxP3+ regulatorischen T-Zellen nicht nur in Rückenmark und Milz, sondern bereits im Thymus verringert (Abb. 4). Somit reguliert LFA-1 über die Generierung von regulatorischen T-Zellen im Thymus die Expansion von Effektor-T-Zellen im entzündeten Gewebe.

## Arthritis-Modell

In unserem *in vivo* T/B-Kooperationssystem konnten wir zeigen, dass ICOS die Pool-Größe der Effektor-Memory Zellen steuert (3). Ein blockierender Antikörper gegen ICOS-L wäre somit geeignet, die Zahl proinflammatorischer Effektorzellen zu reduzieren. Um dieses Konzept in einem relevanten Autoimmunmodell zu untersuchen, haben wir in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Thomas Kamradt eine ICOS-L Blockade in einem Arthritis Mausmodell durchgeführt (5). Mäuse, die den blockierenden Antikörper über die gesamte Experimentdauer erhalten hatten, entwickelten eine deutlich reduzierte Arthritis (Abb. 5). Mit Hilfe des CD40L Systems zur Detektion antigenspezifischer Zellen konnten wir zeigen, dass ICOS-L Blockade die Zahl der proinflammatorischen Effektorzellen deutlich verringerte.



Ein Arthritis-Mausmodell ist auch hervorragend geeignet, die Rolle von B-Zellen als antigenpräsentierende Zellen näher zu untersuchen. Immerhin vermutet man, dass der therapeutische Erfolg einer B-Zelldepletion bei Arthritis-Patienten zumindest teilweise auf die antigenpräsentierende Funktion der B-Zellen und ihre Beeinflussung der T-Zellaktivierung und Differenzierung zurückzuführen ist. Wir arbeiten daher daran, unser *in vivo* T/B-Kooperationsmodell auf ein Mausmodell einer antigeninduzierten Arthritis zu adaptieren.

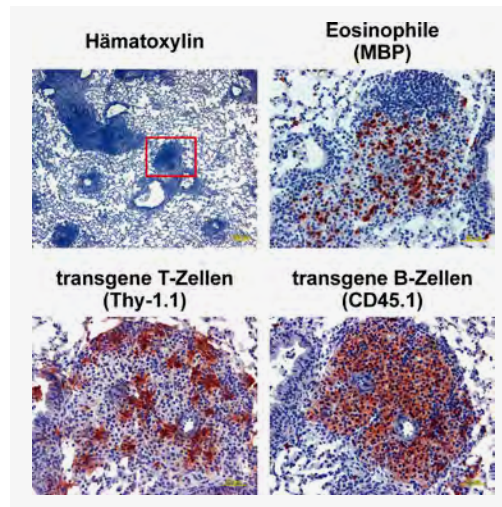


Abbildung 1: Infiltrate antigenspezifischer T- und B-Zellen in der Lunge

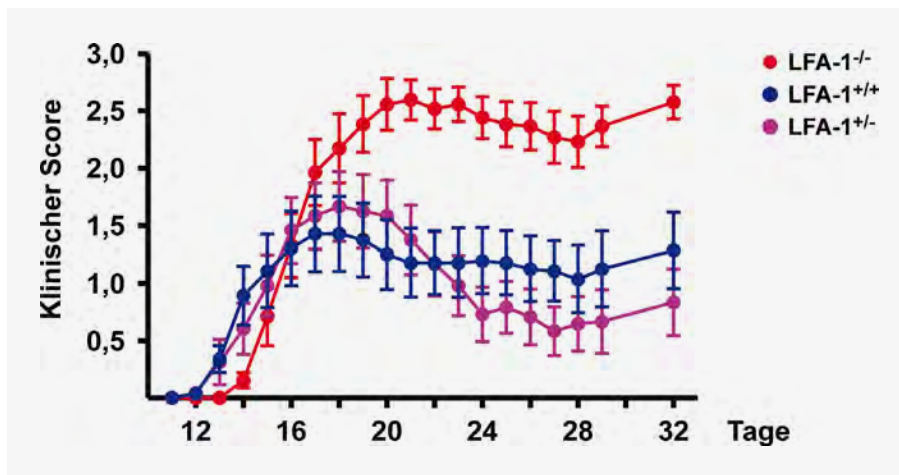


Abbildung 2: Klinischer Verlauf einer EAE in LFA-1 Knock-out Mäusen.

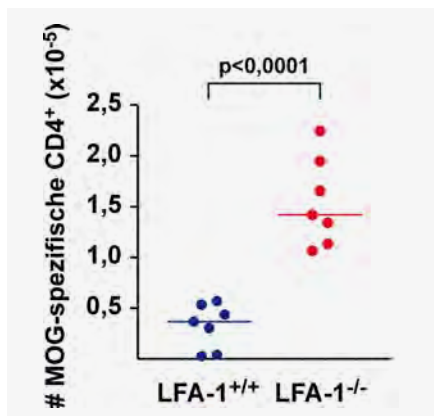


Abbildung 3: Analyse MOG-spezifischer CD4<sup>+</sup> T-Zellen im Zentralen Nervensystem (CNS). Zellen wurden aus dem Rückenmark erkrankter Mäuse isoliert. Die Zahl MOG-spezifischer T-Zellen wurde nach antigenspezifischer Restimulation und intrazellulärer CD40L-Färbung in der Durchflusszytometrie bestimmt.

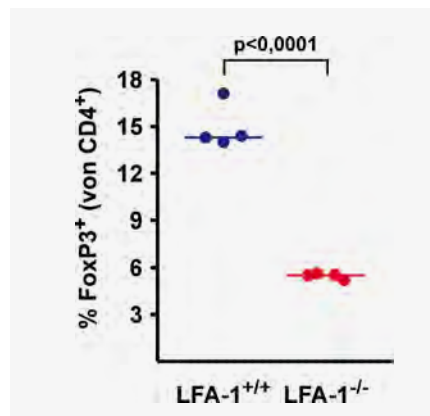


Abbildung 4: Analyse regulatorischer T-Zellen in der Milz.

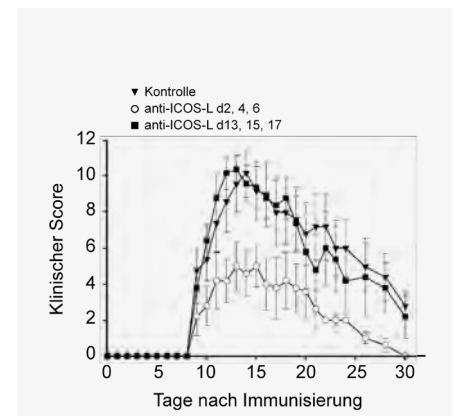


Abbildung 5: Klinischer Arthritis-Verlauf in Mäusen, die mit blockierenden Antikörpern gegen ICOS-L behandelt wurden.

**PUBLIKATIONEN**

4. Gültner S, Kuhlmann T, Hesse A, Weber JP, Riemer C, Baier M, Hutloff A: Reduced treg frequency in lfa-1 deficient mice allows enhanced t effector differentiation and pathology in eae. Eur J Immunol 2010;40:3403-3412.

5. Frey O, Meisel J, Hutloff A, Bonhagen K, Bruns L, Krocsek RA, Morawietz L, Kamradt T: Inducible costimulator (icos) blockade inhibits accumulation of polyfunctional t helper 1/t helper 17 cells and mitigates autoimmune arthritis. Ann Rheum Dis 2010;69:1495-1501.

6. Gerhold K, Avagyan A, Reichert E, Seib C, Vu Van D, Luger EO, Hutloff A, Hamelmann E: Prenatal allergen exposures prevent allergen-induced sensitization and airway inflammation in young mice. Allergy 2012

**DRITTMITTEL**

DFG HU 1294/3-1





Prof. Dr. rer. nat.  
Max Löhning

Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie  
und Klinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

## Experimentelle Immunologie

### Wie kann man gezielt ein immunologisches Gedächtnis erzeugen und umprogrammieren?

#### STICHWORTE

Immunologisches Gedächtnis,  
Chronische Entzündung, Virus-  
infektion, T-Zell-Differenzierung,  
Zytokine

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Max Löhning, Prof. Dr. rer. nat.

Wissenschaftler  
Anja Fröhlich, Dr. sc. ETH  
Ahmed N. Hegazy, Dr. med.  
Philippe Saikali, Ph.D.

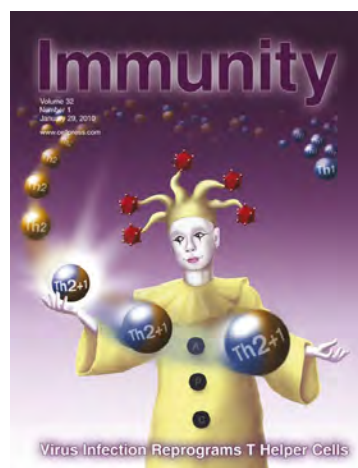
Doktoranden | Ph.D. students:  
Claudia Baumann, MSc Biomed.  
Caroline Helmstetter,  
Dipl.-Humanbiol.  
Michael Peine, Dipl.-Biochem.  
Elsa Pellet, MA Life Sciences  
Julia Siede, MSc Mol. Med.  
David Zimmel, Dipl.-Biol.

Technische Assistenz  
Sabine Ebel, MTA, Vet.-Ing.  
Vivien Holescka, BTA  
Isabel Panse, BTA

Studenten:  
Ada Drobiaziewicz

Das immunologische Gedächtnis kann den Organismus durch eine schnellere und effizientere Immunantwort vor Krankheiten schützen, die er zuvor schon einmal überstanden hat. Allerdings birgt es auch das Risiko, zu Immunpathologie und Autoimmunerkrankungen zu führen. Langlebige Gedächtnis-Lymphozyten sind Grundlage des immunologischen Gedächtnisses. Sie zeichnen sich aus durch eine verstärkte Reaktivität gegenüber Antigenen sowie durch die „erlernte“ Fähigkeit zur Produktion ausgewählter Effektormoleküle, die die nachfolgende Immunreaktion steuern. Ein grundlegendes Verständnis des immunologischen Gedächtnisses ist von zentraler Bedeutung für die Entwicklung effizienter Impfstrategien sowie für kurative Therapien chronischer Immunpathologien und Autoimmunerkrankungen.

Ziel der Lichtenberg-Arbeitsgruppe ist daher eine molekulare Entschlüsselung der Entstehung, Beibehaltung und funktionellen Plastizität des immunologischen Gedächtnisses gegen intrazelluläre, insbesondere virale Pathogene und Autoantigene. Wir untersuchen die zellulären Differenzierungswege und induktiven Signale bei der Entstehung von Gedächtniszellen, d.h. den Zusammenhang zwischen der Bildung von Effektorzellen und Gedächtniszellen sowie die Frage, ob und wie diese Differenzierungsstadien ineinander überführt werden können. Auch wird die Rolle von Antigenen sowie von Interaktionen von B-Zellen, CD4<sup>+</sup> Helfer-T-Zellen und CD8<sup>+</sup> zytotoxischen T-Zellen bei der Entstehung und Beibehaltung dieses Gedächtnisses analysiert. Zudem untersuchen wir die molekularen Faktoren, die die Langlebigkeit der Gedächtniszellen regulieren und die Stabilität oder Plastizität ihrer Effektormechanismen kontrollieren.



Titelbild „Immunity“, 29. Januar 2010

Illustration der Umprogrammierung von Th2-Gedächtnis-Zellen durch virusinduzierte Signale: Eine virusinfizierte antigen-präsentierende Zelle (APC), als Harlekin dargestellt, programmiert Th2-Zellen um in eine stabile hybride „Th2+1“ Zellpopulation mit kombinierten Th2- und Th1-Zellfunktionen.

Durch adoptiven Zelltransfer aufgereinigter virus-spezifischer T-Effektorzellen in nicht infizierte Mäuse konnten wir zeigen, dass aus Effektoren langlebige Gedächtnis-T-Zellen hervorgehen (Löhning et al., *J. Exp. Med.* 2008). Dieses Ergebnis unterstützt das Konzept der linearen Differenzierung von T-Gedächtniszellen aus naiven Vorläufern über ein zwischengeschaltetes Effektorstadium. Es spricht somit für das Design von Immunzell-Therapien, die auf differenzierten Effektor-T-Zellen basieren. Mittels T-Helfer-1 (Th1)-Zell-differenzierung begünstigender viraler Infektionen haben wir zudem die Umprogrammierung von T-Helfer-2 (Th2)-Gedächtniszellen zu einem stabilen „Th2+1“-Phänotyp beobachtet, der funktionelle Eigenschaften von Th2- und Th1-Zellen verbindet (Hegazy et al., *Immunity* 2010). Zudem konnten wir



Typ I-Interferone als den molekularen Schlüssel zur gezielten Umprogrammierung von Th2-Zellen identifizieren. Die Umprogrammierung von Th2-Zellen war entscheidend, um Viruspersistenz und letale Immunpathologie zu verhindern. Derzeit untersuchen wir die funktionellen Kapazitäten der verschiedenen Gedächtniszellpopulationen – Immunität oder Immunpathologie oder Autoimmunität – *in vitro* und *in vivo* bei akuten und chronischen Infektionen und Entzündungsreaktionen.

#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. Rolf Zinkernagel, Prof. Dr. Hans Hengartner  
PD Dr. Mathias Heikenwälder, PD Dr. Mike Recher,  
Universitätsspital Zürich, Zürich, Schweiz

Prof. Dr. Daniel Pinschewer, Prof. Dr. Doron Merkler,  
Universität Genf, Schweiz

Dr. Lukas Flatz, Universität Lausanne, Schweiz

Dr. Andreas Bergthaler, Universität Wien, Österreich

Prof. Dr. Karl Lang, Universität Essen

Dr. med. Philipp Lang, Universität Düsseldorf

Prof. Dr. Thomas Höfer, Michael Floßdorf, Dr. Luca Mariani, Elsa Pellet, DKFZ, Heidelberg

PD Dr. Susanne Hartmann, Dr. Sebastian Rausch,  
HU, Berlin, Parasitologie

Prof. Dr. Andreas Radbruch, PD Dr. Claudia Berek,  
Dr. Hyun-Dong Chang, Dr. Andreas Hutloff,  
Dr. Farzin Mashreghi, Dr. Koji Tokoyoda, DRFZ, Berlin

Prof. Dr. Gerd-Rüdiger Burmester, Prof. Dr. Alf Hamann, Dr. Ute Hoffmann, Prof. Dr. Frank Buttgerit, Dr. Timo Gaber, Prof. Dr. Marcus Maurer, Dr. Martin Metz, PD Dr. Andreas Thiel, Dr. Marco Frensch, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dr. Mario Assenmacher, Dr. Anne Richter,  
Dr. Alexander Scheffold, Miltenyi Biotec, Gergisch Gladbach

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Hegazy, A.N., M. Peine, C. Helmstetter, I. Panse, A. Fröhlich, A. Bergthaler, L. Flatz, D.D. Pinschewer, A. Radbruch, and M. Löhning. 2010. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3+T-bet+ cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity* 32, 116-128.

2. Flatz, L., A.N. Hegazy, A. Bergthaler, A. Verschoor, C. Claus, M. Fernandez, L. Gattinoni, S. Johnson, F. Kreppel, S. Kochanek, M. van den Broek, A. Radbruch, F. Lévy, P.-H. Lambert, C.-A. Siegrist, N.P. Restifo, M. Löhning, A. Ochsenbein, G.J. Nabel, and D.D. Pinschewer. 2010. Development of replication-defective lymphocytic choriomeningitis virus vectors for induction of potent CD8+ T cell immunity. *Nature Med.* 16, 339-345.

3. Pinschewer, D.D., M. Schedensack, A. Bergthaler, E. Horvath, W. Brück, M. Löhning, and D. Merkler. 2010. T cells can mediate viral clearance from ependyma but not from brain parenchyma in a major histocompatibility class I- and perforin-independent manner. *Brain* 133, 1054-1066.

4. Mariani, L., E.G. Schulz, M.H. Lexberg, C. Helmstetter, A. Radbruch, M. Löhning, and T. Höfer. 2010. Short-term memory in gene induction reveals the regulatory principle behind stochastic IL-4 expression. *Mol. Syst. Biol.* 6, 359.

5. Stittrich, A.-B., C. Haftmann, E. Sgouroudis, A.A.

Kühl, A.N. Hegazy, I. Panse, R. Riedel, M. Flossdorf, J. Dong, F. Fuhrmann, G.A. Heinz, Z. Fang, N. Li, U. Bissels, F. Hatam, A. Jahn, B. Hammoud, M. Matz, F.-M. Schulze, R. Baumgrass, A. Bosio, H.-J. Mollenkopf, J. Grün, A. Thiel, W. Chen, T. Höfer, C. 6. Loddenkemper, M. Löhning, H.-D. Chang, N. Rajewsky, A. Radbruch, and M.-F. Mashreghi. 2010. The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes. *Nature Immunol.* 11, 1057-1062.

7. Bergthaler, A., L. Flatz, A.N. Hegazy, S. Johnson, E. Horvath, M. Löhning, and D.D. Pinschewer. 2010. Viral replicative capacity is the primary determinant of lymphocytic choriomeningitis virus persistence and immunosuppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107, 21641-21646.

8. Gaber, T., S. Schellmann, K.B. Erekul, M. Fangradt, K. Tykwinska, M. Hahne, P. Maschmeyer, M. Wagegg, C. Stahn, P. Kolar, R. Dziurla, M. Löhning, G.-R. Burmester, and F. Buttgerit. 2011. MIF counter-regulates dexamethasone-mediated suppression of HIF-1 $\alpha$  function and differentially influences human CD4+ T cell proliferation under hypoxia. *J. Immunol.* 186, 764-774.

9. Chu, V.T., A. Fröhlich, G. Steinhauser, T. Scheel, T. Roch, S. Fillatreau, J.J. Lee, M. Löhning, and C. Berek. 2011. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nature Immunol.* 12, 151-159.

10. Honke, N., N. Shaabani, G. Cadeddu, U.R. Sorg, D.E. Zhang, M. Trilling, K. Klingel, M. Sauter, R. Kandolf, N. Gailus, N. van Rooijen, C. Burkart, S.E. Baldus, M. Grusdat, M. Löhning, H. Hengel, K. Pfeffer, M. Tanaka, D. Häussinger, M. Recher, P.A. Lang, and K.S. Lang. 2011. Enforced viral replication activates adaptive immunity and is essential for the control of a cytopathic virus. *Nature Immunol.* 13, 51-57.

## WISSENSCHAFTLER

Elsa Pellet, Michael Peine,  
Max Löhning

## KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. Thomas Höfer, DKFZ  
Heidelberg

## REFERENZEN

Hegazy A., Peine M., Helmstetter C., Panse I., Fröhlich A., Bergthaler A., Flatz L., Pinschewer D., Radbruch A., Löhning M. "Interferon direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3(+)T-bet(+) cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions." *Immunity* (2010)

Höfer T., Nathansen H., Löhning M., Radbruch A., Heinrich R. "GATA-3 transcriptional imprinting in Th2 lymphocytes: a mathematical model." *PNAS* (2002)

Ouyang W., Löhning M., Gao Z., Assenmacher M., Ranganath S., Radbruch A., Murphy K. "Stat6-independent GATA-3 autoactivation directs IL-4-independent Th2 development and commitment." *Immunity* (2000)

Mullen A., High F., Hutchins A., Lee H., Villarino A., Livingston D., Kung A., Cereb N., Yao T., Yang S., Reiner S. "Role of T-bet in commitment of TH1 cells before IL-12-dependent selection." *Science* (2001)

Szabo S., Kim S., Costa G., Zhang X., Fathman C., Glimcher L. "A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment." *Cell* (2000)

Zheng W., Flavell R. "The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells." *Cell* (1997)

## DRITTMITTEL

VolkswagenStiftung (Lichtenberg-Programm), DFG (GRK 1121, SFB 618, SFB 650), MPG (IMPRS-ID), BMBF (FORSSYS partner)

## Dynamik und Stabilität der Expression von T-bet und GATA-3 in T-Helferzellen *in vitro* und *in vivo*

Naive T-Helferzellen können im Rahmen unterschiedlicher Differenzierungsprogramme die Fähigkeit erwerben, spezifische Kombinationen von Effektorzytokinen zu produzieren. Mit ihnen werden verschiedene Typen von Immunantworten orchestriert. Die Differenzierungsprogramme werden abhängig von T-Zell-Rezeptorsignalen und der gleichzeitigen Anwesenheit polarisierender Zytokine initialisiert und werden von spezifischen Schlüsseltranskriptionsfaktoren gesteuert.

In diesem Projekt untersuchen wir, wie exklusiv die verschiedenen Differenzierungsprogramme in T-Helferzellen angenommen und beibehalten werden. Konkret untersuchen wir den Einfluss verschiedener Expressionsstärken von Schlüsseltranskriptionsfaktoren oder auch der Koexpression adverser Faktoren auf die Effektorfunktionen der Zellen. Unsere Ergebnisse integrieren wir in mathematische Modelle der T-Helferzellendifferenzierung.

Die Th1- und Th2-Programme werden von den Transkriptionsfaktoren T-bet und GATA-3 reguliert und führen zur Fähigkeit der Zellen, die Effektorzytokine IFN- $\gamma$  bzw. IL-4, IL-13 und IL-5 auszuschütten (Ref. 5, 6). Die Induktion von T-bet erfolgt durch IFN- $\gamma$ - und IL-12-Signale, während die Expression von GATA-3 durch IL-4-Signale hochreguliert wird. Aufgrund beobachteter Mechanismen wie Autoaktivierung und gegenseitiger Inhibition im Zytokin- und Transkriptionsfaktornetzwerk von T-Helferzellen ging man bisher davon aus, dass die Expression von T-bet und GATA-3 in ein und derselben Zelle wechselseitig exklusiv ist. Außerdem legen Daten zur jeweiligen direkten und/oder indirekten Autoaktivierung von T-bet und GATA-3 nahe, daß deren Expression in einer bimodalen Weise erfolgt (2-4).

Unsere Arbeitsgruppe konnte jedoch kürzlich zeigen, daß Th2-Zellen durch Zytokinsignale in einer Th1-Differenzierung begünstigenden viralen Infektion in eine

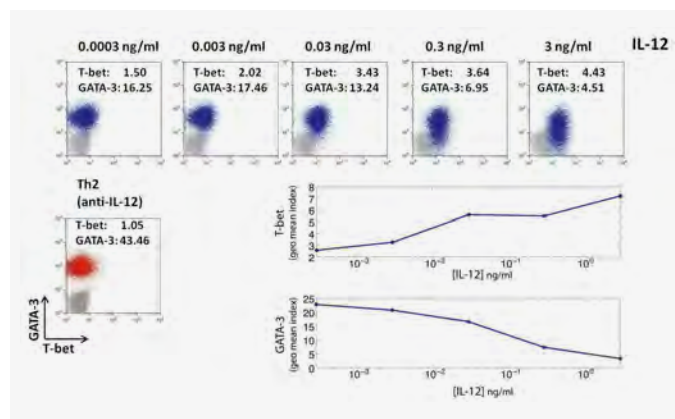


Abbildung 1: Steigende IL-12-Konzentrationen während der Th1-Differenzierung führen zu steigenden T-bet- und sinkenden GATA-3-Proteinmengen pro Zelle. Ovalbumin (OVA)-spezifische naive CD4+CD62L+ T-Zellen aus DO11.10-Mäusen wurden mit OVA-Peptid und antigenpräsentierenden Zellen in Anwesenheit von anti-IL-4 und verschiedenen Konzentrationen von IL-12 kultiviert, um Th1-Zellen zu generieren, oder in Anwesenheit von IL-4, anti-IL-12 und anti-IFN- $\gamma$  aktiviert, um Th2-Zellen zu generieren. An Tag 5 der Kultur wurden T-bet- und GATA-3-Proteinmengen durchflußzytometrisch gemessen.

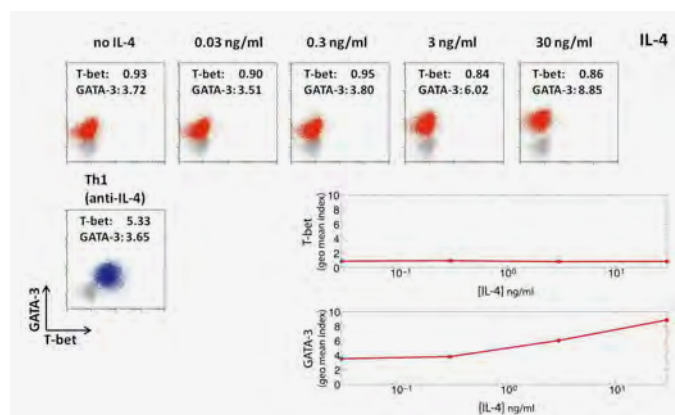


Abbildung 2: Steigende IL-4-Konzentrationen während der Th2-Differenzierung führen zu steigenden GATA-3-Proteinmengen pro Zelle. Naive CD4+CD62L+ T-Zellen aus Balb/c-Mäusen wurden mit anti-CD3 und anti-CD28 in Anwesenheit von anti-IL-12, anti-IFN- $\gamma$  und verschiedenen Konzentrationen von IL-4 kultiviert, um Th2-Zellen zu generieren, oder in Anwesenheit von IL-12 und anti-IL-4 stimuliert, um Th1-Zellen zu generieren. An Tag 5 der Kultur wurden T-bet- und GATA-3-Proteinmengen durchflußzytometrisch gemessen.



Population von GATA-3- und T-bet-koexprimierenden Zellen, sogenannte „Th2+1“ Zellen, umprogrammiert werden können. Diese Zellen konnten auch IFN- $\gamma$  und IL-4 gleichzeitig produzieren (1).

Mit Hilfe unterschiedlicher Konzentrationen an spezifischen polarisierenden Zytokinen haben wir begonnen zu testen, ob wir eine multistabile Expression von T-bet und GATA-3 in Th1- bzw. Th2-Zellen erreichen können und wie sich dies auf die Effektorfunktionen der T-Helferzellen auswirken würde.

**Ergebnisse und Ausblick**

Steigende IL-12 Konzentrationen während der Th1-Differenzierung führten zu höheren T-bet- und sinkenden GATA-3-Proteinmengen pro Zelle (Abb. 1). Dies korrelierte mit steigenden Frequenzen an IFN- $\gamma$ -produzierenden Zellen (nicht dargestellt). Analog beobachteten wir unter bestimmten Stimulationsbedingungen steigende GATA-3-Proteinmengen, wenn wir die Konzentration von IL-4 während der Th2-Diffe-

renzierung erhöhten (Abb. 2), was mit höheren Frequenzen an IL-4-Produzenten einherging (nicht dargestellt).

Mit Hilfe adoptiver T-Zelltransfers in normale Wildtypmäuse werden wir untersuchen, ob Th1- und Th2-Zellen über längere Zeit abgestufte Proteinmengen ihrer jeweiligen Schlüsseltranskriptionsfaktoren in An- oder Abwesenheit perturbierender Signale beibehalten können (Abb. 3). In einem weiteren experimentellen Ansatz werden wir Th2-Zellen in GATA-3+T-bet+ T-Helferzellen umprogrammieren und durch RNA-Interferenz die Expression von T-bet oder GATA-3 vermindern (Abb. 4). Damit untersuchen wir, ob die transiente Reduktion der Expression eines Schlüsseltranskriptionsfaktors in Gegenwart seines molekularen Gegenspielers ausreicht, um seine Expression langfristig zu destabilisieren und womöglich das entsprechende Differenzierungsprogramm wieder auszulöschen.

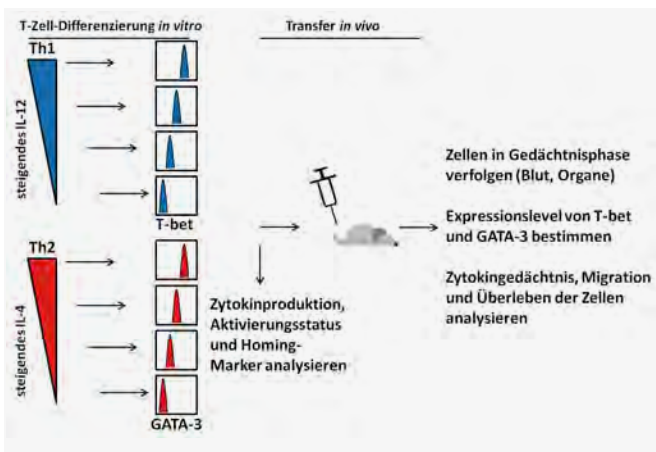


Abbildung 3: Können T-Helferzellen abgestufte Proteinmengen ihrer Schlüsseltranskriptionsfaktoren in der Gedächtnisphase beibehalten? Naive T-Helferzellen werden in Th1- oder Th2-Zellen, die unterschiedliche Mengen an T-bet bzw. GATA-3 exprimieren, differenziert. Diese Zellen werden in Wildtypmäuse transferiert und über die Zeit verfolgt, um T-bet- und GATA-3-Protein sowie funktionelle Eigenschaften zu analysieren.

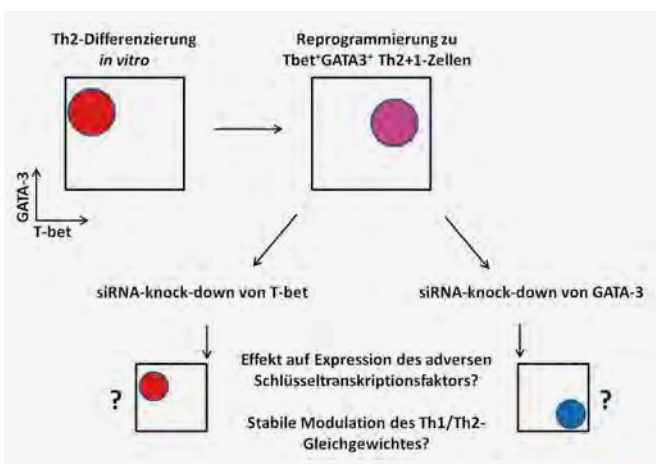


Abbildung 4: Können GATA-3+T-bet+ T-Helferzellen durch Interferenz mit der T-bet-Expression in Th2-Zellen zurückverwandelt werden? Kann Interferenz mit der GATA-3-Expression GATA-3+T-bet+ T-Helferzellen in Th1-Zellen weiterverwandeln? Naive T-Helferzellen werden zu Th2-Zellen differenziert und in vitro oder in vivo zu GATA-3+T-bet+ T-Helferzellen umprogrammiert. T-bet- oder GATA-3-Expression wird durch RNA-Interferenz reduziert. Dann werden das Transkriptionsfaktorprofil der Zellen und deren funktionelle Eigenschaften wie Zytokinproduktion untersucht.



## WISSENSCHAFTLER

Ahmed N. Hegazy, Michael Peine, Caroline Helmstetter, Isabel Panse, Anja Fröhlich, Andreas Bergthaler, Lukas Flatz, Daniel D. Pinschewer, Andreas Radbruch, Max Löhning, Philippe Saikali

## KOOPERATIONSPARTNER

1. Prof. Dr. Andreas Radbruch, Zellbiologie, DRFZ, Berlin
2. Prof. Dr. Rolf Zinkernagel and Prof. Dr. Hans Hengartner, Experimental Immunology, University of Zürich, Switzerland
3. Prof. Dr. Daniel Pinschewer, University of Geneva, Switzerland
4. Prof. Dr. Thomas Höfer, Research Group Modeling of Biological Systems, German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg
5. Dr. Lukas Flatz, Department of Dermatology, University Hospital CHUV, Lausanne, Switzerland
6. Dr. Andreas Bergthaler, CeMM, Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences

## REFERENZEN

- <sup>1</sup>Murphy, K.M., and Reiner, S.L. (2002). The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2, 933-944.
- <sup>2</sup>Glimcher, L.H., and Murphy, K.M. (2000). Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 14, 1693-1711.
- <sup>3</sup>Murphy E, Shibuya K, Hosken N, Openshaw P, Maino V, Davis K, Murphy K, O'Garra A. (1996). Reversibility of T helper 1 and 2 populations is lost after long-term stimulation. *J. Exp. Med.* 183, 901-13.
- <sup>4</sup>Zhou L, Chong MM, Littman DR. (2009) Plasticity of CD4+ T cell lineage differentiation. *Immunity* 30(5), 646-55.
- <sup>5</sup>O'shea, J.J. and Paul, W.E. (2010). Mechanisms Underlying Lineage Commitment and Plasticity of Helper CD4+ T Cells. *Science* 327 (5969), 1098-1102

# Interferone und der Transkriptionsfaktor T-bet steuern die Umprogrammierung von Th2-Zellen zugunsten einer protektiven antiviralen Immunantwort

**T-Helferzellen sind die zentralen Organisationseinheiten des Immunsystems. Sie haben die besondere Fähigkeit, sich nach Aktivierung in stark unterschiedliche, hochspezialisierte Untergruppen zu entwickeln, je nachdem, welche Arten von Krankheitserregern bekämpft werden sollen (1,2). Zytokinsignale induzieren die Expression von Schlüsseltranskriptionsfaktoren, wie GATA-3 und T-bet, welche die Differenzierung der T-Zellen in Untergruppen, wie T-Helfer-2 (Th2)- und Th1-Zellen, festlegen. Bislang ging man davon aus, dass diese Prägung von T-Zellen wechselseitig exklusiv und unumkehrbar ist (3-5). Wir konnten nun zeigen, dass GATA-3+ Th2-Gedächtnis-Zellen mittels definierter Zytokinsignale, die auch bei viralen Infektionen ausgelöst werden, zu einem stabilen „Th2+1“-Phänotyp umprogrammiert werden können. Die Th2+1-Zellen koproduzieren dauerhaft die Schlüsseltranskriptionsfaktoren von Th2- und Th1-Zellen, GATA-3 und T-bet, und verbinden funktionelle Eigenschaften von Th2- und Th1-Zellen. Die Umprogrammierung adoptiv transferierter virusspezifischer Th2-Zellen war essentiell, um Persistenz einer Virusinfektion und letale Immunpathologie zu verhindern. Die Umprogrammierung fehlgeleiteter T-Zelldifferenzierung kann vielfältige neue therapeutische Interventionsmöglichkeiten unter anderem bei Autoimmunerkrankungen, Allergien und Asthma eröffnen.**

## Ergebnisse und Diskussion

Um die Stabilität und Plastizität der CD4 T-Zell-Differenzierungsprogramme zu untersuchen, haben wir transgene Mäuse (Smarta) verwendet, deren T-Zell-Rezeptor (TCR) gegen das Virus der lymphozytären Choriomeningitis (LCMV) reagiert. Naive CD4+ T-Zellen wurden *in vitro* zu Th1- oder Th2-Zellen differenziert. Um die Stabilität und Plastizität der differenzierten CD4+ T-Zellen *in vivo* zu untersuchen, haben wir ein System zum adoptiven Transfer von T-Zellen etabliert. Mit diesem System können die adoptiv transferierten CD4+ Thy1.1+ LCMV-spezifischen Smarta-Zellen *in vivo* in naiven, immunkompetenten C57BL/6 Empfängermäusen verfolgt werden.

Um die Stabilität der virusspezifischen Th2-Zellen sowie ihre funktionelle Relevanz *in vivo* untersuchen zu können, haben wir das LCMV-Infektionsmodell verwendet, welches für seine starke Induktion von Typ I und Typ II Interferonen und seine starke Th1-polarisierenden Effekte bekannt ist. Mäuse mit kurz- oder langfristig differenzierten LCMV-spezifischen Th1 oder Th2-Zellen wurden der LCMV-Infektion ausgesetzt.

## Die virusinduzierte Umprogrammierung von Th2-Zellen benötigt T-bet-Induktion.

Um die molekularen Ereignisse der Umprogrammierung von Th2-Zellen nach Virusinfektion zu verstehen, wurden Wildtyp (wt) LCMV-spezifische Th2-Zellen oder LCMV-spezifische Th2-Zellen, die ein Defizit im T-bet-kodierenden Tbx21-Gen haben, in Wildtyp-Mäuse transferiert. Die Empfängertiere wurden anschließend mit LCMV infiziert.

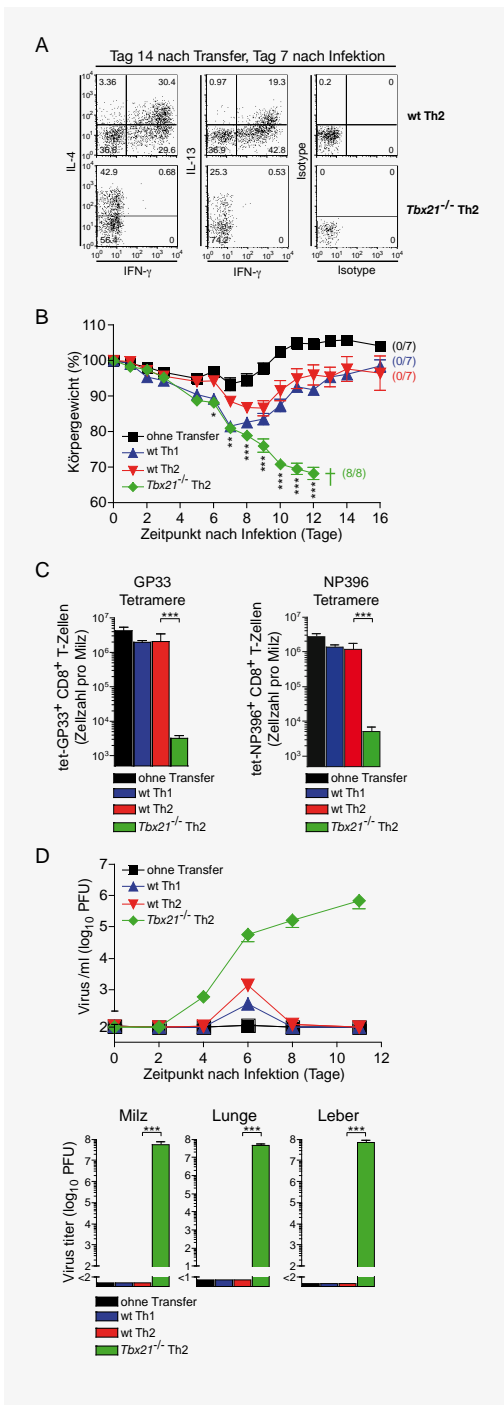
Bereits 7 Tage nach Infektion hatten >50% der Th2-Zellen die Fähigkeit erworben, IFN- $\gamma$  zu produzieren (Abbildung 1A). Zur gleichen Zeit behielten >20% der ehemaligen Th2-Zellen die Produktion der Th2-Zytokine, IL-4 und IL-13, bei. Im Gegensatz zu den Wildtyp Th2-Zellen, konnten LCMV-spezifische Th2-Zellen, die ein Defizit des T-bet-kodierenden Tbx21-Gens aufwiesen, nach einer LCMV-Infektion die Produktion von IFN- $\gamma$  nicht erwerben (Abbildung 1A). Dies zeigt die entscheidende Rolle von T-bet in der Umprogrammierung der Th2-Zellen unter viraler Infektion.

## T-bet-Induktion in virusspezifischen Th2-Zellen verhindert letale Immunpathologie.

Um die funktionelle Bedeutung von Th2-Zellplastizität *in vivo* zu bewerten, wurden LCMV-spezifische Wildtyp Th1- oder Th2-Zellen oder T-bet-defiziente Tbx21-/- Th2-Zellen in Thy1.1-kongene C57BL/6 Mäusen transferiert. Anschließend wurden die Rezipienten mit LCMV infiziert. Mäuse, die zuvor LCMV-spezifische Wildtyp-Th1- oder Th2-Zellen erhalten hatten, zeigten einen geringfügigen, vorübergehenden Gewichtsverlust (Abbildung 1B). Ab Tag 7 nach Infektion erholten sich die Tiere beider Gruppen und kehrten am Tag 14 fast zu ihrem Ausgangsgewicht zurück. Im Gegensatz dazu entwickelten alle Empfängertiere von Tbx21-/- Th2-Zellen ein Wasting-Syndrom mit beständigem Gewichtsverlust ohne Anzeichen einer Erholung, was die Beendigung des Experiments am Tag 12 erforderte.

## Umprogrammierung von Th2-Zellen ermöglicht eine starke antivirale CD8+ T-Zellantwort.

In Tieren, die LCMV-spezifische Wildtyp (wt)-Th1- oder Th2-Zellen erhalten hatten, wurde nach LCMV-Infektion eine starke endogene zytotoxische CD8+ T-Zell-Antwort gegen die dominanten Epitope im LCMV-Glykoprotein und -Nukleoprotein (GP33 und NP396) gebildet. Dagegen waren die absoluten Zahlen der endogenen LCMV-spezifischen CD8+ T-Zellen in der Milz und den nicht-lymphoiden Organen der



**Abbildung 1:** T-bet Induktion in virusspezifischen Th2-Zellen ist entscheidend für die Prävention von viraler Persistenz und letaler Immunpathologie.

Naive Wildtyp und T-bet<sup>-/-</sup> LCMV-spezifische CD4<sup>+</sup> Zellen wurden über zwei Wochen *in vitro* zu Th2- oder Th1-Zellen differenziert. Dann wurden die Th2- und Th1-Zellen in naive, unbehandelte Thy1.1-kongene C57BL/6 Mäuse transferiert. 7 Tage nach Transfer wurden die Empfängertiere mit LCMV infiziert. (A) Zytokinproduktion der LCMV-spezifischen CD4<sup>+</sup> Thy1.2<sup>+</sup> Zellen wurde nach Restimulation der Milzzellen mit PMA/Ionomycin durch intrazelluläre Zytokinfärbung am Durchflusszytometer gemessen. (B) Körpergewicht und Gesundheitszustand wurden täglich überwacht. (C) Endogene LCMV-spezifische CD8<sup>+</sup> T-Zellantwort in der Milz wurden am Tag 12 nach Infektion gemessen. (D) Virus-Titer im Blut (oben) und in der nicht lymphoiden Organe (unten, Tag 12 nach der Infektion) wurden gemessen.

Empfängertiere von Tbx21<sup>-/-</sup> Th2-Zellen stark reduziert (Abbildung 1C).

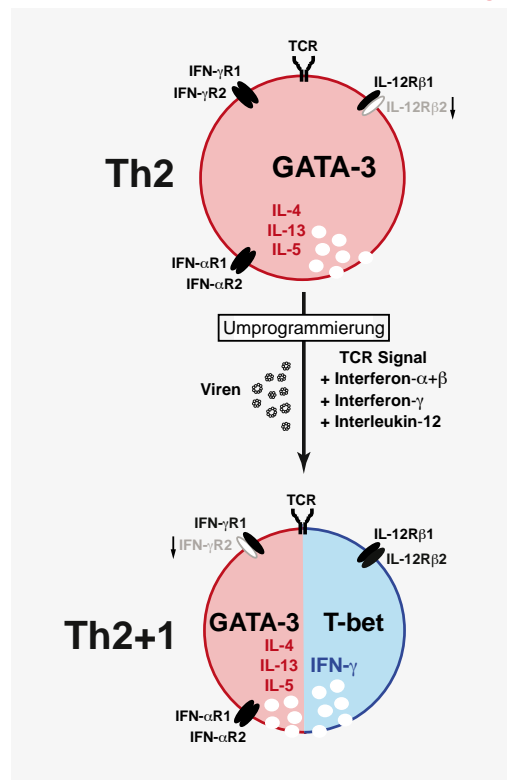
**Umprogrammierung von Th2-Zellen erzielt eine effektive Kontrolle der Virusinfektion.**

Im Einklang mit der stark reduzierten LCMV-spezifische CD8<sup>+</sup> T-Zellantwort in den Empfängertieren von LCMV-spezifischen Tbx21<sup>-/-</sup> Th2-Zellen zeigten diese Tiere auch einen Verlust der Kontrolle der Virusvermehrung. Dagegen konnten die Empfängertiere von LCMV-spezifischen wt-Th2- oder Th1-Zellen die Virusinfektion rasch und effizient kontrollieren (Abbildung 1D).

**Schlussfolgerung/ Fazit**

Durch eine virale Infektion konnten GATA-3<sup>+</sup> Th2-Zellen zu einem langzeitstabilen GATA-3<sup>+</sup>T-bet<sup>+</sup> und IL-4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> Th2+1-Phänotyp umprogrammiert werden. Die Umprogrammierung der Th2-Zellen erforderte eine Stimulation des T-Zell-Rezeptors (TCR) in Kombination mit Typ I- und Typ II-Interferon- und IL-12-Signalen sowie T-bet-Expression (Abbildung 2). Die virusinduzierte T-bet-Induktion in den virusspezifischen Th2-Zellen war entscheidend, um Viruspersistenz sowie letale Immunpathologie zu verhindern. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse die gleichzeitige Stabilität und Plastizität von Differenzierungsprogrammen in Th-Zellen, im Besonderen bei langzeitdifferenzierten Th2-Zellen.

Fortsetzung >>



**Abbildung 2:** Schematische Illustration der Umprogrammierung von Th2-Zellen zu Th2+1-Zellen.

**PUBLIKATIONEN**

Ahmed N. Hegazy, Michael Peine, Caroline Helmstetter, Isabel Panse, Anja Fröhlich, Andreas Bergthaler, Lukas Flatz, Daniel D. Pinschewer, Andreas Radbruch, and Max Löhning. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3<sup>+</sup>T-bet<sup>+</sup> cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity*. 2010;32:116-28.

Löhning, M., A.N. Hegazy, D.D. Pinschewer, D. Busse, T. Höfer, A. Radbruch, R.M. Zinkernagel, and H. Hengartner. Long-lived virus-reactive CD4 memory T cells generated from purified cytokine-secreting T-helper-1 and T-helper-2 effectors. *J. Exp. Med.* 2008; 205:53-61.

Löhning, M., A. Richter, T. Stamm, J. Hu-Li, M. Assenmacher, W.E. Paul, and A. Radbruch. Establishment of memory for IL-10 expression in developing T helper 2 cells requires repetitive IL-4 costimulation and does not impair proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100:12307-12.

**DRITTMITTEL**

Volkswagen Foundation (Lichtenberg Programm), DFG (GRK 1121, SFB 618, SFB 650), MPG (IMPRS-IDI), BMBF (FORSYS partner)

Alexander von Humboldt (Forschungsstipendium für Postdoktoranden)

## Fortsetzung &gt;&gt;

In Rahmen dieses Projektes weiten wir die oben genannten Fragestellungen auf humane CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus. Es wurde bereits beschrieben, daß humane CD4<sup>+</sup> T-Zellen IFN- $\gamma$  und IL-4 koexprimieren können, jedoch ist wenig über den Mechanismus der Entstehung solcher Zellen, deren Transkriptionsfaktorprofil sowie deren Relevanz in Immunantworten des Menschen bekannt. Ziel dieses Projektes ist es, die molekularen Schalter und die der Plastizität humaner CD4<sup>+</sup> T-Zellen zugrunde liegenden Mechanismen aufzuklären. Ein Schwerpunkt liegt dabei auf der Plastizität von Th2-Zellen.

Wie in Abbildung 3 gezeigt, generieren wir humane Th1- und Th2-Zellen zur Zeit auf zwei unterschiedlichen Wegen. Routinemäßig analysieren wir auf Proteinebene die Expression der Schlüsseltranskriptionsfaktoren T-bet und GATA-3 sowie der Effektorzytokine IFN- $\gamma$  und IL-4 um Th1- bzw. Th2-Zellen zu charakterisieren. Um die Plastizität von Th2-Zellen und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen zu untersuchen, werden die Zellen mit unterschiedlichen Stimuli kultiviert, um dann die Expression Th1- und Th2-charakteristischer Transkriptionsfaktoren, Zytokine und Oberflächenmoleküle zu analysieren.

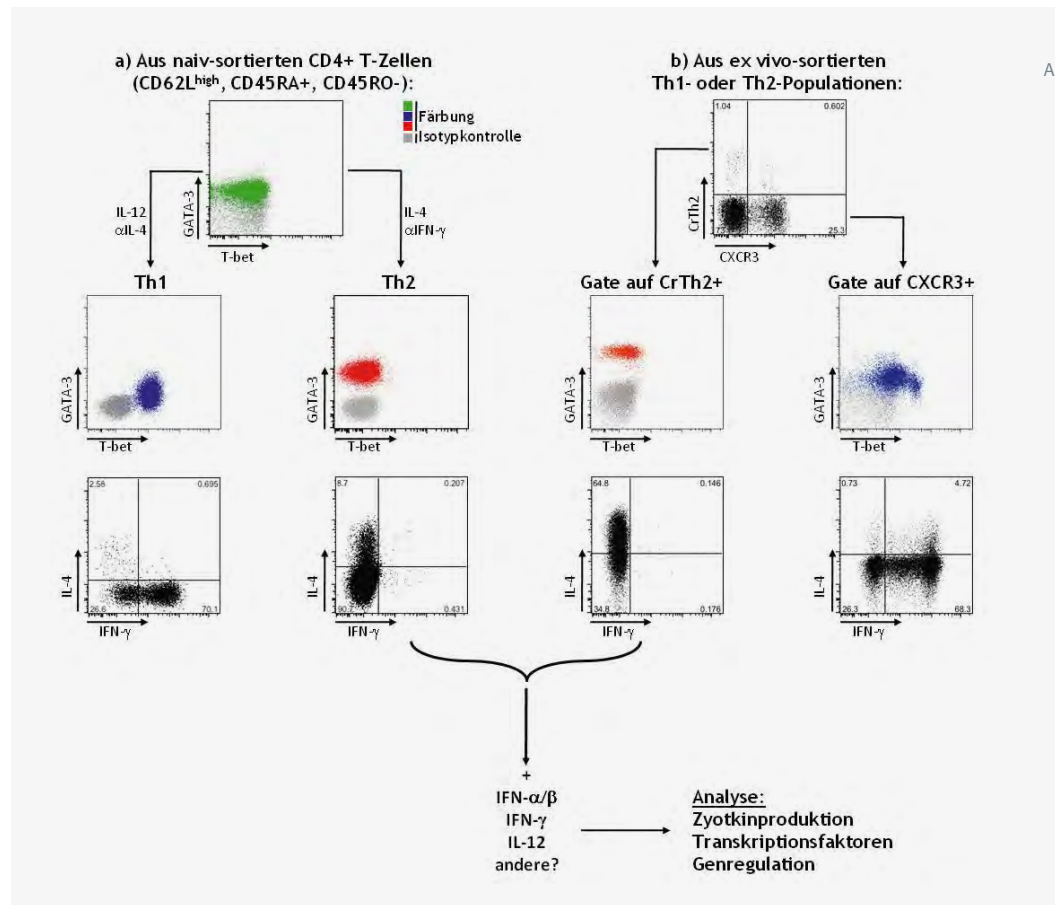


Abbildung 3: Humane Th1- und Th2-Zellen können *in vitro* generiert oder *ex vivo* gewonnen werden.

(a) Naiv-sortierte CD4<sup>+</sup> T-Zellen wurden mit anti-CD3 und anti-CD28 in Anwesenheit von IL-12 und anti-IL-4 (Th1-Zellen) oder IL-4, anti-IL-12 und anti-IFN- $\gamma$  (Th2-Zellen) kultiviert.

(b) CD4<sup>+</sup> T-Zellen, die CXCR3 oder CrTh2 exprimieren (zwei Moleküle, die bevorzugt auf der Oberfläche von Th1- bzw. Th2-Zellen zu finden sind), wurden aus peripherem Blut gesunder Spender sortiert.

Die Expression von T-bet und GATA-3 wurde ohne weitere Stimulation gemessen (mittlere Reihe). Die Produktion von IFN- $\gamma$  und IL-4 wurde nach 4h Restimulation mit PMA/Ionomycin in Anwesenheit von Brefeldin A gemessen (untere Reihe).

## IFN- $\gamma$ -Gedächtnis von CD4+ T-Helferzellen

Ein wesentliches Charakteristikum von T-Helfer (Th)-Zellen ist die Sekretion von spezifischen Botenstoffen, den sogenannten Zytokinen, als Folge einer Aktivierung. Die Art der sezernierten Zytokine hängt davon ab, in welchem Kontext die T-Zelle aktiviert wird, z.B. ist IFN- $\gamma$  ein wichtiges Zytokin der besonders gegen intrazelluläre Erreger gerichteten Th-Typ 1 (Th1)-Zellen. Bisher zielten viele Studien darauf ab, die Differenzierung der T-Helferzellen und die Wirkung der entsprechenden Zytokine genauer zu untersuchen, allerdings ist wenig über die Kinetik der Zytokinsekretion und das Zytokinproduktionsverhalten einzelner Zellen bekannt (2-5). Unser Hauptinteresse ist das zelluläre Gedächtnis, welches die Entscheidung zur Expression des Zytokins während einer Aktivierung oder auch in der Folgeaktivierung prägt.

Als Folge einer Aktivierung produziert immer nur ein Anteil der Th-Zellen innerhalb einer Population bestimmte Effektorzytokine. Zudem gibt es eine große Bandbreite an Expressionsunterschieden pro Zelle, d.h. dass manche Zellen viel Zytokin produzieren und andere wenig. Daher stellt sich die Frage, inwiefern sich Zytokinproduzenten von Nichtproduzenten unterscheiden und ob die einzelne Zelle ein Gedächtnis für die erneute Produktion des jeweiligen Zytokins bei einer Folgeaktivierung besitzt.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Individuelle Th1-Zellen produzieren IFN- $\gamma$ kontinuierlich während einer Aktivierungsphase

Wir benutzten den Zytokinsekretionsassay (1), um das IFN- $\gamma$ -Produktionsverhalten individueller Zellen im Zeitverlauf zu verfolgen (schematische Übersicht, 1A). Dazu markierten wir IFN- $\gamma$ -produzierende Zellen und analysierten die IFN- $\gamma$ -Produktion zu späteren Zeitpunkten in den gleichen Zellen mittels einer intrazellulären Gegenfärbung. Die Mehrheit der Zellen, welche anfangs IFN- $\gamma$  produziert hatten, zeigten auch zu späteren Zeitpunkten eine positive Färbung (1B), was darauf hindeutet, dass die meisten Th1-Zellen IFN- $\gamma$  kontinuierlich während der gesamten Aktivierungszeit produzieren.

Weiterhin fanden wir eine erstaunliche Stabilität in der Menge an produziertem IFN- $\gamma$  pro Zelle, d.h. die meisten Zellen, die zu Beginn der Aktivierung sehr viel IFN- $\gamma$  produziert hatten, exprimierten auch zu späteren Zeitpunkten große Mengen an IFN- $\gamma$ .

#### Th1-Zellen besitzen ein Gedächtnis für IFN- $\gamma$ -Produktionswahrscheinlichkeit und -menge

Nun versuchten wir zu klären, ob die Menge an produziertem IFN- $\gamma$  prädiktiv für die Wahrscheinlichkeit einer einzelnen Zelle ist, in einer folgenden Aktivierung

wieder IFN- $\gamma$  zu produzieren und ob die Mengen an IFN- $\gamma$  in einem direkten Zusammenhang stehen. Hierzu generierten wir Th1-Zellen *in vitro* und sortierten sie mittels Durchflusszytometrie anhand der Stärke ihrer IFN- $\gamma$ -Produktion in Fraktionen mit hoher oder niedriger Produktion sowie keiner Produktion (2A). Die so gewonnenen Fraktionen wurden kultiviert und ein Teil von ihnen in Tagesabständen erneut aktiviert, um die IFN- $\gamma$ -Produktion zu bestimmen. Wir fanden heraus, dass Zellen, die zu Beginn eine hohe IFN- $\gamma$ -Produktion zeigten, in der Folgeaktivierung sowohl eine höhere Wahrscheinlichkeit hatten, IFN- $\gamma$  zu produzieren, als auch größere Mengen des Zytokins produzierten (2B).

Daraus schließen wir, dass individuelle Th1-Zellen ein Gedächtnis für die IFN- $\gamma$ -Produktionswahrscheinlichkeit und -menge besitzen und dies zumindest für einige Tage nach der Aktivierung stabil ist.

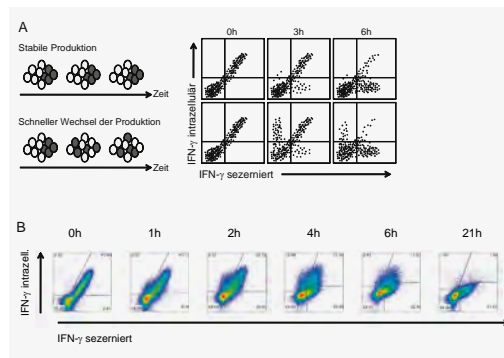


Abbildung 1: (A) Schematische Übersicht der verschiedenen Hypothesen zur Zytokinproduktion: stabile Produktion einzelner Zellen oder schneller Wechsel aller Zellen (B) Naive CD4+ CD62L+ T-Zellen wurden eine Woche unter Th1-Bedingungen kultiviert. Die Zellen wurden für 2,5h aktiviert, und IFN- $\gamma$ -Produzenten wurden mit dem Zytokinsekretionsassay markiert. Die lebend markierten Zellen wurden weiterhin mit Stimulus (PMA/Ionomycin) kultiviert und in zeitlichen Abständen intrazellulär gefärbt. Die Durchflusszytometrie-Bilder zeigen die Färbung von sezerniertem IFN- $\gamma$  (Lebendmarkierung) gegen intrazelluläres IFN- $\gamma$ .

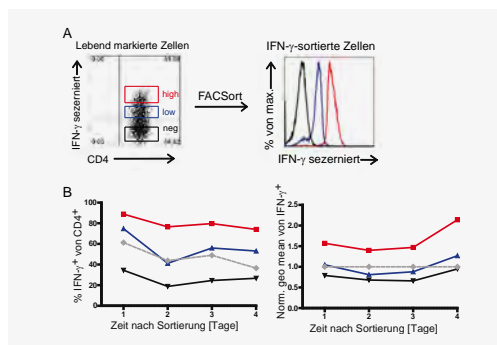


Abbildung 2: (A) Sortierung der Th1-Zellen anhand ihrer IFN- $\gamma$ -Produktion mittels Durchflusszytometrie. (B) Frequenz der IFN- $\gamma$ -Produzenten in den verschiedenen Fraktionen nach erneuter täglicher Aktivierung (links). Menge an IFN- $\gamma$ -Produktion pro Zelle nach erneuter Aktivierung (normalisiert auf grau dargestellte unsortierte Zellen, rechts).

### WISSENSCHAFTLER

Caroline Helmstetter, Michael Peine, Max Löhning

### KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. T. Höfer, M. Floßdorf; Abt. Modellierung biologischer Systeme, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg

Dr. A. Richter; Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach

### REFERENZEN

Assenmacher, M., Löhning, M., Radbruch, A. (2002). „Detection and isolation of cytokine secreting cells using the cytometric cytokine secretion assay.“ *Curr Protoc Immunol* Chapter 6: Unit 6 27.

Badovinac, V. P., Corbin G. A., Harty J. T. (2000). „Cutting edge: OFF cycling of TNF production by antigen-specific CD8+ T cells is antigen independent.“ *J Immunol* 165(10): 5387-5391.

Corbin, G. A., Harty, J. T. (2005). „T cells undergo rapid ON/OFF but not ON/OFF/ON cycling of cytokine production in response to antigen.“ *J Immunol* 174(2): 718-726.

Mariani, L., Schulz, E. G., Lexberg, M. H., Helmstetter, C., Radbruch, A., Löhning, M., Höfer, T. (2010). „Short-term memory in gene induction reveals the regulatory principle behind stochastic IL-4 expression.“ *Molecular Systems Biology*, 6:359

Slifka, M. K., Rodriguez, F., Whitton J. L. (1999). „Rapid on/off cycling of cytokine production by virus-specific CD8+ T cells.“ *Nature* 401(6748): 76-79.

### DRITTMITTEL

VolkswagenStiftung (Lichtenberg-Programm), DFG (GRK 1121, SFB 618, SFB 650), MPG (IMPRS-IDI), BMBF (FORSYS partner)





Prof. Dr. med.  
Gabriela Riemekasten

Leiterin der rheumatologischen Tagesklinik an der  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Rheumatologie und Klinische Immunologie der  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

## Zell-Autoimmunität

### Spezifischere Therapieverfahren zur Behandlung des Lupus erforschen und entwickeln

#### STICHWORTE

Lupus, Regulatory T cells,  
Immunotherapy, Funktionale  
Autoantikörper, Vaskulopathien

#### MITARBEITER

##### Gruppenleiter

Prof. Dr. med. Gabriela  
Riemekasten

##### Wissenschaftler

Dr. med. Jens Humrich,  
Dr. med. Phillip Enghard,  
Dr. med. Mike Becker,  
MSc Jeannine Günther

##### Doktoranden

Dipl.Biochem. Reinmar  
Undeutsch,  
Dipl. Biol. Caroline von Spee,  
Dipl. Biol. Angelika Rose,  
Dipl. Ing. (FH) Angela Kill

##### Medizinische Doktoranden

Katharina Kopetschke,  
Olivia Weigert,  
Stefan Rosenberger,  
Nora Wassermann,  
Jan Broder Engler

##### Technische Assistenz

BTA Anika Klaus

Der Fokus unserer Forschungsgruppe liegt auf der Untersuchung der Pathogenese von Bindegewebserkrankungen, wie dem Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) und der Systemischen Sklerose (SSc).

Natürlich vorkommende regulatorische T-Zellen (Treg) sind essentiell für die Aufrechterhaltung der Selbst-Toleranz im Organismus. SLE ist durch einen Verlust dieser Selbst-Toleranz gekennzeichnet, wodurch es zu immunologischer Hyperaktivität und zu schweren Organschädigungen kommt. Die Ursachen und Konsequenzen einer solchen Erkrankung mit einer Treg-Störung sind bisher wenig untersucht, weshalb wir an einem besseren Verständnis und besseren Behandlungsmöglichkeiten arbeiten.

Die SSc ist eine schwere rheumatische Erkrankung, charakterisiert durch Vaskulopathien, Autoimmunität und Fibrose, die für die hohe Morbidität und Mortalität der Erkrankung verantwortlich sind. Vor kurzem haben wir kreuzreaktive Autoantikörper gegen den Angiotensin-Rezeptor Typ 1 (AT1R) und Endothelin-Rezeptor Typ A (ETAR) (Anti-AT1R/ETAR Ak) entdeckt. Die Angiotensin- und Endothelin-Rezeptoren spielen eine Schlüsselrolle bei Vaskulopathien und Fibrose dieser Erkrankung. Hier erforschen wir besonders die Rolle von Anti-AT1R/ETAR Ak. Der genaue Zusammenhang zwischen den Autoantikörpern, der Entwicklung von Vaskulopathie und Fibrose ist noch ungenügend erforscht und wird in unserer Arbeitsgruppe *in vitro* untersucht.

#### Ergebnisse

SLE: In einem Lupus-Mausmodell haben wir herausgefunden, dass ein Ungleichgewicht zwischen Treg und konventionellen T-Zellen (Tcon) vorliegt. Die Treg weisen Veränderungen auf, die auf einen Interleukin-2 (IL-2)-Mangel beruhen, so dass der Anteil der krankheitsfördernden Tcon zunimmt. Eine systemische Gabe von IL-2 gleicht das Ungleichgewicht zwischen den Treg und Tcon aus, so dass es zu einer deutlichen Besserung der Erkrankung kommt.

SSc: Das Chemokin IL-8 ist ein Hauptmediator von entzündlichen Prozessen. Stimuliert man periphere Blutzellen (PBMCs) *in vitro* mit Immunglobulin G (IgG) von SSc-Patienten, produzieren diese mehr IL-8. Eine Blockade des AT1R und des ETAR ändert dies, was auf eine spezifische Aktivierung durch Anti-AT1R/ETAR Ak hinweist. Anti-AT(1)R und Anti-ET(A)R-Autoantikörper aus SSc-Patienten aktivieren Endothelzellen und führen zu einer erhöhten Expression des vaskulären Zelladhäsionsmoleküls-1 (VCAM-1) *in vitro*. Weitere Analysen in Tiermodellen sollen Aufschluss geben, ob Anti-AT(1)R und Anti-ET(A)R Ak eine pro-adhäsive Wirkung auf Endothelzellen auch *in vivo* vermitteln können.



### Rheumatologische Perspektive

SLE: Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass eine spontan entstehende, sich selbstverstärkende Störung der Treg-IL-2-Achse wesentlich zu der Tcon-Hyperaktivität und dem schweren Krankheitsverlauf in den Lupus-Mäusen beiträgt. Die Tatsache, dass diese Störung durch entsprechende Behandlung reversibel ist, eröffnet neue, vielversprechende Perspektiven für eine bessere Behandlung des SLE.

SSc: Unsere Resultate können helfen aufzuklären, welche Rolle AT- und ET-Rezeptoren und ihre Aktivierung durch funktionale Autoantikörper in der SSc-Pathogenese spielen. Eine Blockierung von AT- und ET-Rezeptoren bereits in der frühen Phase der Erkrankung könnte sich als ein neuer effektiver Ansatz für die Behandlung der SSc erweisen.

### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. Andreas Radbruch, Prof. Dr. Alf Hamann, Prof. Dr. Jochen Hühn, Dr. Claudia Berek, Dr. Ria Baumgrass, Dr. Andreas Grützkau, DRFZ Berlin

Prof. Dr. Andreas Schwarting, Universität Mainz

Prof. Dr. Marco-Mattucci-C, Universität Florenz, Italien

Prof. Dr. Hans-Jürgen Thiessen, Universität Rostock

Prof. Dr. Margitta Worm, Prof. Dr. Falk Hiepe, Prof. Dr. Gerd-Rüdiger Burmester, Dr. Susanne Hartmann, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. Duska Dragun, Klinik für Nephrologie und Transplantation Charité – Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. Wolfgang Kübler, Physiology Institute, Charité – Universitätsmedizin Berlin

PD Dr. Martin Witznath, Department of Infectiology and Pneumology, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dr. Johan Van der Vlag, Univ. Nijmegen, Niederlande

Dr. Timothy Radstake, Universität Nijmegen, Niederlande

Dr. Axel Roers, Universität zu Köln

Dr. Tim Sparwasser, Technische Universität München

Dr. Peter Klein Weigel, DRK-Kliniken Mark-Brandenb.

Dr. Hedda Wardemann, Max Planck Institut Berlin

Dr. Olaf Röttschke, Dr. Kirsten Falk, Max-Delbrück-Centrum Berlin

Dr. Harald Heidecke, CellTrend GmbH Luckenwalde

Dr. Wolfgang Schlumberger, EUROIMMUN AG Lübeck

Dr. Christian Probst, EUROIMMUN AG Lübeck

### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Humrich JY, Morbach H, Undeutsch R, Enghard P, Rosenberger S, Weigert O, Kloke L, Heimann J, Gaber T, Brandenburg S, Scheffold A, Huehn J, Radbruch A, Burmester GR, Riemekasten G. Homeostatic imbalance of regulatory and effector T cells due to L-2 deprivation amplifies murine lupus. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107:204-9.

2. Engler JB, Undeutsch R, Kloke L, Rosenberger S, Backhaus M, Schneider U, Egerer K, Dragun D, Hofmann J, Huscher D, Burmester GR, Humrich JY, Enghard P, Riemekasten G. Unmasking of autoreactive CD4 T cells by depletion of CD25 regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(12):2176-83.

3. Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, Matucci-Cerinic M, Czirják L, Lukitsch I, Becker M, Kill A, van Laar JM, Catar R, Luft FC, Burmester GR, Hegner B, Dragun D. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Mar;70(3):530-6.

4. Becker MO, Brückner C, Scherer HU, Wassermann N, Humrich JY, Hanitsch LG, Schneider U, Kawald A, Hanke K, Burmester GR, Riemekasten G. The monoclonal anti-CD25 antibody basiliximab for the treatment of progressive systemic sclerosis: an open-label study. *Ann Rheum Dis*. 2011 Jul;70(7):1340-1.

## WISSENSCHAFTLER

J. Humrich, C. von Spee, A. Rose, A. Klaus, L. Kloke, R. Undeutsch, P.p Enghard, J. B. Engler, O. Weigert, N. Wassermann

## KOOPERATIONSPARTNER

A. Radbruch, A. Hamann, A. Scheffold, AiCuris, F. Hiepe, A. Roers, A. Thiel, R. Baumgrass

## REFERENZEN

Humrich JY, Morbach H, Undeutsch R, Enghard P, Rosenberger S, Weigert O, Kloke L, Heimann J, Gaber T, Brandenburg S, Scheffold A, Huehn J, Radbruch A, Burmester GR, Riemekasten G. Homeostatic imbalance of regulatory and effector T cells due to L-2 deprivation amplifies murine lupus. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107:204-9.

Engler JB, Undeutsch R, Kloke L, Rosenberger S, Backhaus M, Schneider U, Egerer K, Dragun D, Hofmann J, Huscher D, Burmester GR, Humrich JY, Enghard P, Riemekasten G. Unmasking of autoreactive CD4 T cells by depletion of CD25 regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2011 Sep 16.

## PUBLIKATIONEN

Humrich JY, Morbach H, Undeutsch R, Enghard P, Rosenberger S, Weigert O, Kloke L, Heimann J, Gaber T, Brandenburg S, Scheffold A, Huehn J, Radbruch A, Burmester GR, Riemekasten G. Homeostatic imbalance of regulatory and effector T cells due to L-2 deprivation amplifies murine lupus. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107:204-9.

Engler JB, Undeutsch R, Kloke L, Rosenberger S, Backhaus M, Schneider U, Egerer K, Dragun D, Hofmann J, Huscher D, Burmester GR, Humrich JY, Enghard P, Riemekasten G. Unmasking of autoreactive CD4 T cells by depletion of CD25 regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2011 Sep 16.

## DRITTMITTEL

SFB650/DFG, AiCuris, Charité - Universitäre Forschungsförderung

## Rolle von Treg und der Treg/IL-2-Achse in der Pathogenese des SLE

Die besondere Bedeutung von CD4+Foxp3+ Treg als physiologisch bedeutsame Inhibitoren des Lupus konnte auf verschiedene Weise im NZB/W F1 Lupus-Maus-Modell gezeigt werden. Reduktion der Treg-Anzahl in klinisch gesunden NZB/W F1 durch CD25+ Depletion hatte eine erhöhte Generierung von CD4+CD44+ Gedächtnis-Tcon und eine beschleunigte Erkrankung zur Folge (Humrich et al. 2010). Komplementär dazu hat eine kombinierte *in vivo* und *in vitro* Depletion von CD25+ Treg eine erhöhte Frequenz von Autoantigenspezifischen Th1-Zellen zur Folge (Rosenberger S & Undeutsch R et al., Manuskript eingereicht). Im Gegensatz dazu wirkt ein adoptiver Transfer von CD4+Foxp3+CD25+ Treg in schon erkrankte NZB/W F1-Mäuse eine Verzögerung der weiteren Krankheitsentwicklung und eine Verbesserung der Überlebensrate. Zudem konnten wir nachweisen, dass die regulatorische Funktion von Treg von jungen, gesunden aber auch alten, kranken NZB/W F1 Lupus-Mäusen *in vitro* normal war, so dass ein intrinsischer Treg-Defekt ausgeschlossen werden kann (Humrich et al. 2010).

NZB/W F1 Lupus-Mäuse werden als gängiges Modell für den SLE verwendet. In dem vorliegenden Forschungsvorhaben haben wir anhand dieses Lupus-Mausmodells untersucht, inwieweit Treg den Lupus positiv beeinflussen können und sich für eine erfolgreiche Therapie verwenden lassen.

### Ergebnisse und Diskussion

Unter Berücksichtigung der klinischen Umsetzbarkeit hat ein Treg-basierter Therapieansatz in Kombination mit gängiger Immunsuppressiver Behandlung Vorteile: Die Inhibition der Aktivierung und Expansion pathogener Zellen durch übliche Immunsuppressiva vor der Behandlung mit autologen Treg erhöht die Wirksamkeit der Treg. Deshalb haben wir die Wirksamkeit einer Treg-Therapie nach voriger Remissionsinduktion durch Immunsuppressiva in NZB/W F1 Lupus-Mäusen untersucht. Dabei zeigte sich, dass Treg nach voriger Immunsuppressiva-Behandlung den Re-

missionszeitraum verlängerten (Weigert O et al., Manuskript eingereicht).

Weiterhin konnten wir nachweisen, dass aufgrund einer Störung in der Wirkung der Treg in den peripheren lymphoiden Organen ein Ungleichgewicht zwischen den CD4+Foxp3+ Treg und konventionellen CD4+FoxP3- T-Zellen (Tcon) vorliegt. Zusätzlich weisen die CD4+FoxP3+ Treg phänotypische Veränderungen auf, die auf einem Interleukin-2 (IL-2)-Mangel beruhen, so dass der Anteil der IL-2-produzierenden CD4+FoxP3- Tcon abnimmt und der Anteil der krankheitsfördernden aktivierten, Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) produzierenden Effektor-Tcon zunimmt. Eine systemische Verringerung der IL-2 Level früh in der Erkrankung begünstigt die Tcon Hyperaktivität, induziert ein Ungleichgewicht zwischen den Treg und Effektor-Tcon und bedingt eine schnelle, starke Krankheitsentwicklung. Eine systemische Gabe von IL-2 gleicht das Ungleichgewicht zwischen den Treg und Effektor-Tcon dagegen aus, indem es die homöostatische Proliferation der endogenen Treg fördert, wodurch es zu einer deutlichen Besserung der Erkrankung kommt (siehe Abbildung 1A und 1B).

In weiteren Untersuchungen konnten wir zeigen, dass Treg autoreaktive Th1-Zellen unter Kontrolle halten – dies konnten wir zuerst in NZB/W F1 Lupus-Mäusen nachweisen (Rosenberger S & Undeutsch R et al., Manuskript eingereicht), woraufhin wir diese bedeutende Rolle von Treg auch bei SLE-Patienten in Abhängigkeit vom Krankheitsstatus gefunden haben (Engler B et al., 2011).

### Perspektiven

Insgesamt lässt sich festhalten, dass Treg und IL-2 eine wesentliche Rolle bei der Beeinflussung des Krankheitsgeschehens im Lupus spielen und daher ein therapeutischer Ansatz hier besonders erfolgversprechend scheint und wir daher dies in weiteren Untersuchungen für eine erfolgreiche Therapie von SLE-Patienten validieren werden.

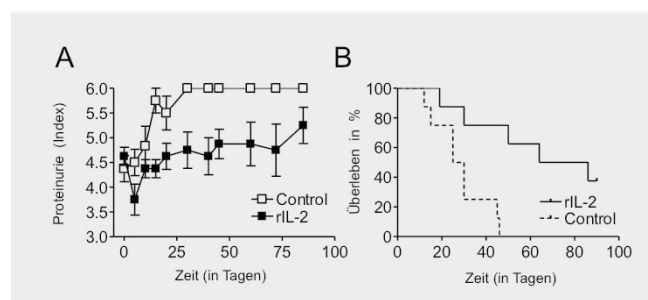


Abbildung 1. IL-2 bessert eine bestehende Lupus-Erkrankung. In (A) ist die Nierenentzündungsentwicklung, dargestellt als durchschnittlicher Proteinurie-Wert, und in (B) das Überleben, dargestellt als Kaplan-Meier-Kurven ( $p=0,0035$ ), nach wiederholter IL-2-Behandlung von 6,3 Monate alten, erkrankten NZB/W F1-Mäusen im Vergleich zu gleichaltrigen Kochsalz-behandelten Kontroll-Mäusen (Control).

## Autoantikörper-vermittelte Aktivierung von Angiotensin- (AT) und Endothelin- (ET) Rezeptoren in Endothelzellen und Beteiligung an entzündlichen Mechanismen

Das Vorkommen von Anti-AT1R/ETAR Ak steht im Zusammenhang mit vaskulopathischen und fibrotischen Komplikationen in der SSc. Wir untersuchen den Einfluss der chronischen AT1R- und ETAR-Aktivierung durch Anti-AT1R/ETAR Ak und den daraus resultierenden Effekten. Ziel dabei ist es herauszufinden, ob die Autoantikörper-vermittelte Rezeptoraktivierung an entzündlichen und fibrotischen Reaktionen dieser Erkrankung beteiligt ist, als auch die Rolle der anti-AT1R/ETAR Ak bei der Entstehung und Aufrechterhaltung der Pathogenese der SSc zu untersuchen.

Aktivierung von AT1R und ETAR spielt eine Schlüsselrolle bei vaskulären Entzündungen und Fibrose in der SSc. Die pharmakologische Blockade der AT- und ET-Rezeptoren verzeichnete bereits Erfolge in der Therapie, allerdings zeigen diese Rezeptorblockaden oft nur Teilerfolge und werden häufig nicht gemeinsam eingesetzt. Wir untersuchen die Beteiligung von Anti-AT1R/ETAR Ak an entzündlichen und fibrotischen Mechanismen *in vitro* unter Einsatz von AT- und ET-Rezeptorblockern.

### Ergebnisse und Diskussion

Wir konnten zeigen, dass die chronische Aktivierung der Angiotensin- und Endothelin-Rezeptoren durch Anti-AT1R/ETAR Ak *in vitro* auf humanen Endothelzellen zur Expression von mehreren Entzündungsfaktoren führt. So zeigen z.B. mit Anti-AT1R/ETAR Ak-haltigem IgG (SSc-IgG) behandelte Endothelzellen erhöhte mRNA Expressionen von VCAM-1, das eine Schlüsselrolle bei der Rekrutierung von Lymphozyten

in entzündliche Stellen spielt. Erhöhte Spiegel vom löslichen VCAM-1 wurden bereits durch andere Gruppen in Seren von SSc Patienten gefunden, wo sie in Zusammenhang mit der SSc Pathogenese gebracht wurden. Unsere Untersuchungen an VCAM-1 als auch an anderen Faktoren ergaben, dass häufig nur die gleichzeitige Blockierung der AT- und ET-Rezeptoren die pathogenen Wirkungen der Anti-AT1R/ETAR Ak vorbeugen kann. Dies könnte u. U. die bisherigen fehlgeschlagenen klinischen Studien zur Therapie der SSc erklären, die nur einzelne Rezeptorblockaden untersucht haben. Die Immigration von Lymphozyten durch Gefäßzellwände ist ein kritischer Schritt bei der Entstehung und Aufrechterhaltung von entzündlichen Reaktionen, daher ist Regulierung von VCAM-1 vermittelt durch Anti-AT1R/ETAR Ak ein wichtiger Hinweis auf die Rolle als auch auf die Wirkungsweise von Anti-AT1R/ETAR Ak bei entzündlichen Reaktionen in der Pathogenese der SSc.

### Perspektiven

Ein zukünftiger Schwerpunkt wird neben der *in vitro*, die *in vivo* Erforschung der Rolle von Anti-AT1R/ETAR Ak in Tiermodellen darstellen. Der Fokus wird dabei auf der Autoantikörper-vermittelten Pathogenese in der SSc liegen, u. a. unter Einsatz von Angiotensin- und Endothelin- Rezeptorblockern. Hierbei soll eine therapeutische AT- und ET-Rezeptorblockade auf Anti-AT1R/ETAR Ak-vermittelte Effekte im Gesamtorganismus untersucht, und langfristig Wissen über *in vivo* Autoantikörper-Funktionen in der SSc Pathogenese gewonnen werden.

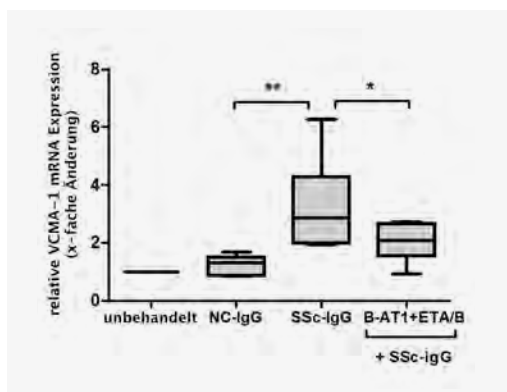


Abbildung 1: IgG aus SSc- Patienten erhöht Bildung von VCAM-1 auf humanen Endothelzellen.

Die Behandlung von Endothelzellen mit anti-AT1R/ETAR Ak-haltigem SSc-IgG führt zur erhöhten Expression von pro-adhäsiven Molekülen wie z.B. VCAM-1. Expression von VCAM-1 wurde auf mRNA-Ebene untersucht und ist blockierbar unter Verwendung von klinisch eingesetzten Inhibitoren des AT(1)R und ET(A/B)R. Mann-Whitney-Test mit  $**p < 0,01$  und Wilcoxon signed rank Test mit  $*p < 0,05$ .

### WISSENSCHAFTLER

J. Günter, A. Kill, M. O. Becker

### KOOPERATIONSPARTNER

D. Dragun, M. Witzernath, M. Worm, H. Heidecke

### REFERENZEN

Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest*. 2007 Mar;117:557-67.

Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S. Soluble adhesion molecules (sVCAM-1, sE-selectin), vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelin-1 in patients with systemic sclerosis: relationship to organ systemic involvement. *Clin Rheumatol*. 2005 Apr;24:111-6.

### PUBLIKATIONEN

Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, Matucci-Cerinic M, Czirják L, Lukitsch I, Becker M, Kill A, van Laar JM, Catar R, Luft FC, Burmester GR, Hegner B, Dragun D. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Mar;70:5306

### DRITTMITTEL

Charité PhD Scholarship, Actelion Pharmaceuticals GmbH, Germany



Prof. Dr. rer. nat.  
Alexander Scheffold



Medizinische Klinik mit Schwerpunkt  
Rheumatologie und Klinische Immunologie der  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

## Zelluläre Immunologie

### Von Unterdrückung bis Selbstkontrolle: wie T-Zellen uns vor unserem Immunsystem schützen

#### STICHWORTE

Notch, Interleukin-10,  
Immunregulation, regulatorische  
T-Zellen, Zelltherapie

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Prof. Dr. rer. nat.  
Alexander Scheffold

Doktoranden  
Frederik Heinrich  
Christian Neumann  
Andreij Mantei

Master  
Jonas Ahlers

Die neuformierte Liaisonarbeitsgruppe "Zelluläre Immunologie" beschäftigt sich mit der Kontrollfunktion von T-Zellen bei Autoimmunität und Entzündung. Wir untersuchen, welche Mechanismen T-Zellen besitzen, um unerwünschte Immunreaktionen, wie Allergien oder Autoimmunität zu verhindern, und wie Schäden, die durch zu starke oder chronische Entzündungsreaktionen hervorgerufen werden, begrenzt werden. Die Aufklärung der molekularen Grundlagen solcher physiologischen Kontrollmechanismen soll es ermöglichen, Krankheits-assoziierte Defekte oder therapeutische Angriffspunkte zu identifizieren. Wir untersuchen zum einen, wie spezialisierte "regulatorische T-Zellen (Treg)" gezielt vermehrt und ihre suppressorische Funktion für Therapiezwecke aktiviert werden kann. Wir analysieren aber auch die Zell-intrinsischen Mechanismen, die es sogenannten Th1 und Th17-Zellen ermöglichen, ihre entzündungsfördernde Aktivität, die für die Pathogenabwehr notwendig ist, zu kon-

trollieren und so "Kollateralschäden" zu begrenzen. Beispielsweise produzieren sowohl Th1 als auch Th17 Zellen unter bestimmten Bedingungen das anti-entzündliche Zytokin IL-10 und Th17 Zellen auch IL-22, das zum Beispiel die Geweberegeneration unterstützen kann. Wir haben einen molekularen Schalter ("Notch") identifiziert, der für die IL-10 Induktion in Th1 Zellen verantwortlich ist und mit dessen Hilfe pro-entzündliche in anti-entzündliche T-Zellen umgewandelt werden können. Der gleiche Schalter induziert auch die IL-22 Produktion in Th17 Zellen.

Die therapeutische Modulation entzündungsfördernder T-Zellen ist vor allem bei T-Zellen von Interesse, die an pathologischen Immunreaktionen beteiligt sind. Daher ist ein weiterer Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe die Identifizierung von T-Zellen, die für unerwünschte Immunreaktionen, wie Autoimmunität oder Allergien verantwortlich sind. Wir haben eine sensitive Methode entwickelt, die es erstmals ermöglicht diese Zellen direkt aus dem Blut nachzuweisen und zu isolieren. Damit haben wir die Möglichkeit, selektiv pathologische T-Zellpopulationen zu identifizieren und *in vitro* zu manipulieren und diese für diagnostische und/oder therapeutische Zwecke zu nutzen.

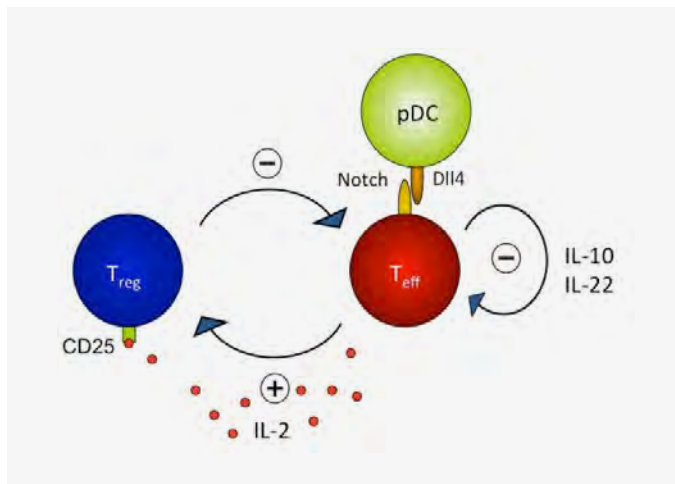


Abbildung 1: Mechanismen der T-Zellregulation:

Spezialisierte regulatorische T-Zellen (Treg) supprimieren unerwünschte Immunreaktionen. Ihre Aktivität wird durch Interleukin-2 (IL-2) verstärkt, das von inflammatorischen T-Zellen (Teff) produziert wird. Aber auch die inflammatorischen T-Zellen selbst verfügen über die Fähigkeit anti-inflammatorische (IL-10) oder Gewebe-protektive (IL-22) Zytokine zu produzieren. Diese Fähigkeit zur Selbstregulation wird durch den Notch-Signalweg angeschaltet bzw. verstärkt.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Mir-Farzin Mashreghi, Rene Riedel, Andreas Radbruch, Simon Fillatreau, DRFZ Berlin

Charlotte Esser, Leibniz-Inst.für umweltmedizinische Forschung, Universität Düsseldorf

Melba Munoz, Stephan Bereswil, Markus Heimesaat, Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Kathryn Calame, Institute of Medicine, Columbia University, Washington D.C.

Sascha Rutz, Genentech, San Francisco

Petra Bacher, Mario Assenmacher, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach

Oliver Cornely und Angela Steinbach, Universität zu Köln

Axel Brakhage und Olaf Kniemeyer, Hans Knöll, Institut Jena

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Kassner N, Krueger M, Yagita H, Dzionek A, Hutloff A, Kroczek R, Scheffold A, Rutz S Cutting edge: Plasmacytoid dendritic cells induce IL-10 production in T cells via the Delta-like-4/Notch axis. 2010 J Immunol. 184(2):550-4.

Busse D, de la Rosa M, Hobiger K, Thurley K, Flossdorf M, Scheffold A, Höfer T. Competing feedback loops shape IL-2 signaling between helper and regulatory T lymphocytes in cellular microenvironments. 2010 Proc Natl Acad Sci U S A. 16;107(7):3058-63.

Janke M, Peine M, Nass A, Morawietz L, Hamann A, Scheffold A. In-vitro-induced Th17 cells fail to induce inflammation in vivo and show an impaired migration into inflamed sites. 2010 Eur J Immunol. 40(4):1089-98.

Humrich JY, Morbach H, Undeutsch R, Enghard P, Rosenberger S, Weigert O, Kloke L, Heimann J, Gaber T, Brandenburg S, Scheffold A, Huehn J, Radbruch A, Burmester GR, Riemekasten G. Homeostatic imbalance of regulatory and effector T cells due to IL-2 deprivation amplifies murine lupus. 2010 Proc Natl Acad Sci U S A. 5;107(1):204-9.

Strehl C, Gaber T, Löwenberg M, Hommes DW, Verhaar AP, Schellmann S, Hahne M, Fangradt M, Wagegg M, Hoff P, Scheffold A, Spies CM, Burmester GR, Buttgereit F. Origin and functional activity of the membrane-bound glucocorticoid receptor. Arthritis Rheum. 2011, 63(12):3779-88.

Campbell JD, Foerster A, Lasmanowicz V, Niemöller M, Scheffold A, Fahrendorff M, Rauscher G, Assenmacher M, Richter A. Rapid detection, enrichment and propagation of specific T cell subsets based on cytokine secretion. Clin Exp Immunol. 2011 Jan;163(1):1-10.



Prof. Dr. med.  
Joachim Sieper

Leiter der Rheumatologie in der  
Medizinischen Klinik I Gastroenterologie/Infektiologie/Rheumatologie der  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Spondyloarthritis

Durch neue Erkenntnisse entzündliche Wirbelsäulenerkrankungen früher diagnostizieren und effektiver behandeln

### STICHWORTE

T Zell Antwort,  
Antigen-spezifische Antigene,  
Immunhistologie,  
Neue diagnostische Ansätze,  
Targeted therapy

### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Prof. Dr. Joachim Sieper  
Dr. Uta Syrbe  
Dr. Hiltrun Haibel  
Inge Spiller  
Dr. Sandra Hermann  
Dr. Henning Brandt  
Dr. In-Ho Song  
Dr. Dennis Poddubny

Doktoranden  
Janine Bleil  
Christopher Sichau  
Kristina Conrads

Technische Assistenz  
Peihua Wu  
Rene Maier  
Beate Buss  
Renate Lies  
Renate Pauli  
Annegret Langdon  
Petra Tietz

Studenden  
Esther Abt  
Sebastian Leidig

Weitere  
Gast-Ärztin  
Inna Gaydukova

Unsere Gruppe konzentriert sich in ihrer Forschungsarbeit auf die Epidemiologie, Pathogenese, Diagnose und Behandlung von Patienten mit Spondyloarthritis. Hierbei konzentrieren wir uns zum jetzigen Zeitpunkt vor allen Dingen auf die axialen Spondyloarthritis, die die Patienten mit einer ankylosierenden Spondylitis (=Morbus Bechterew) enthalten, aber auch frühere Formen bevor Röntgenveränderungen nachweisbar sind. Hier haben wir in den letzten Jahren entscheidende Fortschritte auf den verschiedenen Ebenen erreichen können:

1. Bezüglich der Pathogenese haben wir wichtige Zusammenhänge zwischen einer Antigen-spezifischen T-Zellantwort bei Patienten mit einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung und bei Patienten mit einer ankylosierenden Spondylitis darstellen können. Weiterhin konnten wir zeigen, dass regulatorische T-Zellen in den peripheren Gelenken von Patienten mit Spondyloarthritis in einer erhöhten Anzahl nachweisbar sind im Vergleich zu einer rheumatoiden Arthritis, was erklären könnte, dass diese Patienten eher in Spontanremission gehen. Darüber hinaus haben wir ein umfangreiches Forschungsprogramm begonnen, um den Zusammenhang zwischen Entzündung und Knochenneubildung aufzudecken. Hierbei führen wir immunhistologische Untersuchungen vom Knochenmaterial von AS-Patienten durch und schauen nach Biomarkern des Knochenstoffwechsels im Serum vom Patienten in Relation mit Röntgen und/oder MRT der Wirbelsäule und des Beckens.

2. Bei Fortführung unserer Analysen der German Spondyloarthritis Inception Cohort (GESPIC) konnten wir wichtige Daten zur Geschwindigkeit der radio-

logischen Progression erheben und konnten zeigen, dass der Entzündungsmarker C-reaktives Protein ein ganz wichtiger Vorhersagemarker für die radiologische Progression ist.

3. Durch die weitere Analyse unseres Investigator-trials mit Etanercept versus Sulfasalazin bei Patienten mit einer axialen Spondyloarthritis mit einer Krankheitsdauer von <5 Jahren konnten wir wichtige Ergebnisse bezüglich des klinischen und des MRT-Ansprechens bei Patienten mit früher SpA erheben und konnten aber auch interessante Analysen bezüglich der Interaktion von Entzündung und chronischen Veränderungen bei dieser Patientengruppe durchführen. Weiterhin konnten wir in weiteren „Investigator initiated trials“ zeigen, dass die Biologika Abatacept und Rituximab bei Patienten mit einer ankylosierenden Spondylitis nicht effektiv sind.

4. Innerhalb der ASAS-Gruppe waren wir führend daran beteiligt, die neuen Klassifikationskriterien für die axiale und die periphere Spondyloarthritis zu entwickeln, insbesondere auch hier unter Einschluss der frühen Form, um diese Kriterien auch zu implementieren.

Zusammenfassend konzentrieren sich unsere Forschungsarbeiten darauf, die Patientenversorgung zu verbessern und letztlich eine Heilung für diese chronisch-entzündliche Erkrankung zu finden.





#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

- J. Braun, Rheumazentrum Ruhrgebiet, Herne,  
G.-R. Burmester, Med. Klinik mit S Rheuma,  
Charité – Universitätsmedizin Berlin
- J. Listing, A. Zink, Klinische Forschung, Klinische  
Epidemiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- A. Grützkau, A. Radbruch, P. Wu, Immunologie, DRFZ
- A. Thiel, Immunologie im BCRT, Charité –  
Universitätsmedizin Berlin, CVK
- R. Lories, Universität Leuven, Belgien
- G. Schett, Universität Erlangen
- D. van der Heijde, Leiden, Niederlande

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

1. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J, Rudwaleit M: Baseline radiographic damage, elevated acute phase reactants and cigarette smoking status predict radiographic progression in the spine in early axial spondyloarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 Nov 29. doi: 10.1002/art.33465
2. Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, Sieper J: High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2012; 71(4):572-4
3. Sieper J, van der Heijde D, Dougados M, Brown LS, Lavie F, Pangan AL: Early response to adalimumab predicts long-term remission through 5 years of treatment in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2011 Nov 29
4. Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Loddenkemper C, Sieper J: Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther.* 2011 Jun 20;13(3):R95
5. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J: Rates and predictors of radiographic sacroiliitis progression over 2 years in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1369-1374.
6. Song IH, Hermann KG, Haibel H, Althoff CE, Poddubnyy D, Listing J, Weiß A, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J: Relationship between active inflammatory lesions in the spine and sacroiliac joints and new development of chronic lesions on whole-body MRI in early axial spondyloarthritis: results of the ESTHER trial at week 48. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1257-1263.
7. Song IH, Hermann K, Haibel H, Althoff C, Listing J, Burmester G, Krause A, Bohl-Bühler M, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J: Effects of etanercept versus sulfasalazine in early axial spondyloarthritis on active inflammatory lesions as detected by whole-body MRI (ESTHER): a 48-week randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:590-6
8. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y, Van den Bosch F, Olivieri I, Roussou E, Scarpato S, Sørensen IJ, Valle-Oñate R, Weber U, Wei J, Sieper J: The Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:25-31.
9. Song IH, Heldmann F, Rudwaleit M, Listing J, Appel H, Braun J, Sieper J: Different response to rituximab in tumor necrosis factor blocker-naïve patients with active ankylosing spondylitis and in patients in whom tumor necrosis factor blockers have failed: a twenty-four-week clinical trial. *Arthritis Rheum.* 2010;62:1290-7.
10. Sieper J, Koenig A, Baumgartner S, Wishneski C, Foehl J, Vlahos B, Freundlich B: Analysis of uveitis rates across all etanercept ankylosing spondylitis clinical trials. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:226-9



## WISSENSCHAFTLER

C. Konrad, D. Poddubnyy, H. Appel,  
R. Scheer, P. Wu, H. Haibel, M.  
Rudwaleit, U. Syrbe, J. Sieper

## KOOPERATIONSPARTNER

G. Ruiz-Highland, G. Schett,  
Universität Erlangen  
E. Neumann, Ulf Müller-Ladner,  
Universität Giessen

## REFERENZEN

Appel H, Ruiz-Heiland G,  
Listing J, Zwerina J,  
Herrmann M, Mueller R,  
Haibel H, Baraliakos X,  
Hempfling A, Rudwaleit  
M, Sieper J, Schett G.  
2009. Altered skeletal  
expression of sclerostin and  
its link to radiographic progression  
in ankylosing spondylitis. *Arthritis  
Rheum. Nov;60(11):3257-62.*

## PUBLIKATIONEN

Heiland GR, Appel H, Poddubnyy  
D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H,  
Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit  
M, Schett G, Sieper J. 2011. High  
level of functional dickkopf-1  
predicts protection from  
syndesmophyte formation in  
patients with ankylosing  
spondylitis. *Ann Rheum Dis. Dec  
20. [Epub ahead of print]*

## DRITTMITTEL

BMBF: Arthromark  
BMBF: ANCYLOSS

## Biomarker in der Ankylosierenden Spondylitis.

**Das Ziel dieses Projektes ist es, Biomarker oder eine Kombination aus Biomarkern zu finden, die mit Entzündung, Knorpel- bzw. Knochendestruktion oder Knochenaufbau korrelieren. Dies soll die Identifikation von Patienten mit hohem Risiko für die Entwicklung struktureller Veränderungen erleichtern und eine Risiko-adaptierte Therapie ermöglichen.**

Hauptmerkmale der ankylosierenden Spondylitis ist die Entzündung im Bereich der Sakroiliakgelenke und/oder der Wirbelsäule. Im weiteren Verlauf kommt es zur überschießenden Knochenneubildung, die zur Ankylose, z. B. der Sakroiliakgelenke, und im Bereich der Wirbelsäule zur Ausbildung von Knochenspannen (Syndesmophyten) zwischen den Wirbelkörpern führt. Wir wollen Biomarker identifizieren, die aktive Entzündung im Sakroiliakgelenk anzeigen, sowie Marker, anhand deren Patienten mit hohem Risiko für spätere Knochenneubildung identifiziert werden können.

## Ergebnisse und Diskussion

**Biomarker des Knorpel- und Knochenstoffwechsels**  
Um zu prüfen, ob Biomarker des Knorpel- und Knochenstoffwechsels Progression der strukturellen Schäden in der Wirbelsäule vorhersagen können, haben wir eine Reihe von Funktionsparametern des Knorpel- und Knochenstoffwechsels (Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3), C-reactives Protein, Sclerostin, Dickkopf-1 (DKK1), Periostin, C-terminales cross-linked Telozeptid von Typ II Kollagen (CTX-II), knochen-spezifische alkalische Phosphatase, sRANKL, Osteoprotegerin, N-terminales Telozeptid von Typ I Kollagen, Procollagen Typ I and II N-Propeptid (PINP and PIINP), bone sialoprotein und cartilage oligomeric matrix protein) bei 97 Patienten mit ankylosierender Spondylitis aus der GESPIC-Kohorte im Serum getestet. Die Patienten wurden abhängig vom Baseline-Status struktureller Veränderungen in der Wirbelsäule

und der weiteren radiographischen Progression über 2 Jahre in 3 Gruppen aufgeteilt: Gruppe I - Patienten mit Syndesmophyten zu Baseline und mit Progression (Syndesmophytenneubildung) nach 2 Jahren; Gruppe II - Patienten mit Syndesmophyten zu Baseline und keine Progression nach 2 Jahren; Gruppe III - keine Syndesmophyten zu Baseline und keine Progression. Es wurden sowohl prädiktive als auch protektive Biomarker identifiziert (Tabelle).

Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass der Knorpel- und Knochenstoffwechsel eng mit der entzündlichen Aktivität korreliert und eine wesentliche Rolle bei der Progression der strukturellen Schäden in der Wirbelsäule bei ankylosierender Spondylitis spielt.

## Serum-Adipokinspiegel als Prädiktoren radiographischer Progression in der Wirbelsäule

Adipokine sind Moleküle, die vorwiegend von Adipozyten produziert werden. Sie können Entzündungsvorgänge modifizieren aber auch den Knochenmetabolismus beeinflussen. Um zu prüfen, ob Adipokine als Biomarker der Entzündung oder der Knochenprogression bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis fungieren können, haben wir die Adipokine Adiponektin, Resistin und Visfatin im Serum von 86 Patienten mit ankylosierender Spondylitis aus der GESPIC-Kohorte gemessen. Die Patienten wurden anhand der radiographischen Progression über 2 Jahre in eine Gruppe von Patienten mit radiographischer Progression und in eine Gruppe ohne radiographische Progression eingeteilt. Wir fanden signifikant niedrigere Adiponektin-Spiegel in Patienten mit radiographischer Progression im Vergleich zu Patienten ohne radiographische Progression. Da geschlechtsspezifische Unterschiede für verschiedene Adipokine beschrieben sind, erfolgte eine weitere Subanalyse für männliche und weibliche Patienten. Hier zeigte sich, dass nur bei weiblichen Patienten ein signifikanter Unterschied be-

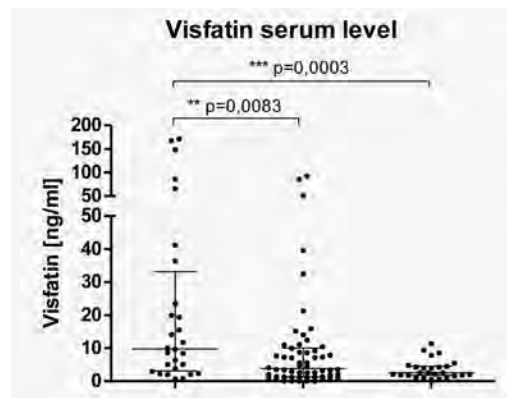


Abbildung 1: Erhöhte Visfatin-Serumspiegel bei AS-Patienten mit radiographischer Progression

Visfatin wurde im Serum von 86 AS-Patienten aus der GESPIC-Kohorte sowie 26 Kontrollen (Ctr) mittels ELISA gemessen. Die Patienten wurden anhand der radiographischen Progression in der Wirbelsäule, bestimmt durch Veränderungen im modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS), in Patienten mit Progression (P) und Patienten ohne Progression (NP) unterteilt.

Biomarker	Gruppe I: Syndesmophyten zu Baseline, Progression	Gruppe II: Syndesmophyten zu Baseline, keine Progression	Gruppe III: keine Syndesmophyten zu Baseline, keine Progression
MMP-3, ng/ml	30.3±25.9*	14.4±19.7	25.5±34.2
CRP, mg/l	17.1±17.1*	8.7±9.9	11.7±22.8
PIINP, ng/ml	175.4±81.6*	133.5±82.5	233.3±237.7
CTX-II, ng/ml	1259±1082	2464±3078	7170±11097* §
Sclerostin, ng/ml	0.15±0.4	0.8±2.4	3.5±6.3* §
DKK-1, ng/ml	4.7±2.1	5.4±5.3	9.8±6.9* §
Periostin, ng/ml	46.3±78.5	106.8±151.8	243.7±201.2* §

Tabelle: Serumspiegel von Biomarkern in drei Gruppen von Patienten mit ankylosierender Spondylitis aufgeteilt nach dem Vorhandensein von Syndesmophyten zu Baseline und deren Progression nach 2 Jahren. | \* p<0.05 vs. Gruppe II; § p<0.05 vs. Gruppe I.

stand in den Adiponektin-Spiegeln zwischen Patienten mit und ohne radiografischer Progression. Die Resistin-Spiegel waren tendenziell höher in Patienten mit radiografischer Progression, deutlichere Unterschiede fanden sich jedoch für Visfatin. Hohe Spiegel von Visfatin waren unabhängig vom CRP und vom Geschlecht mit radiografischer Progression assoziiert (Abb. 1). Somit scheint insbesondere Visfatin ein, von Entzündung unabhängiger Prädiktor radiografischer Progression bei AS zu sein.

### Perspektiven

In der Zukunft wollen wir vor allem Biomarker mit prädiktivem Wert für Entzündung im Sakroiliakgelenk bei Patienten mit AS identifizieren und überprüfen, ob Veränderungen dieser Marker auch therapeutisches Ansprechen signalisieren.

## Pathophysiologie der Ankylosierenden Spondylitis.

**Das Ziel dieses Projektes ist es, die pathophysiologischen Zusammenhänge der ankylosierenden Spondylitis aufzuklären. So sind wir insbesondere interessiert, einerseits die Trigger und Mechanismen der Entzündung zu identifizieren und andererseits die Mechanismen aufzuklären, die zur Knochenneubildung, einem Hauptmerkmal der ankylosierenden Spondylitis, führen. Wir hoffen damit neue krankheitsspezifische therapeutische Ansätze zu entwickeln.**

Die Gruppe der Spondyloarthritiden (SpA) umfasst Erkrankungen, die durch die hohe Assoziation mit dem Vorhandensein von HLA-B27 sowie ähnliche klinische Symptome, wie Arthritis, Enthesitis und mukosale Entzündung gekennzeichnet sind [Braun, 2007 #1]. Die ankylosierende Spondylitis ist der Prototyp der SpA und durch eine, vorwiegend im Achsenskelett auftretende Entzündung gekennzeichnet. Initial sind die Sakroiliakgelenke entzündet, im Weiteren treten Entzündungen auch im Bereich der Wirbelkörper auf. Dabei kann es zu Zeichen der Knochendestruktion im Bereich der betroffenen Gelenke kommen; dominanter und auch bedeutsamer für die Krankheitslast der Patienten ist die besonders nach Resolution der Entzündung auftretende Knochenneubildung. Diese kann

bis hin zu Ankylose, d.h. knöchernen Überbrückung, von Gelenken führen. Die Auslöser der Erkrankung sind bisher nicht bekannt. Es besteht jedoch eine hohe Assoziation zwischen intestinaler Entzündung und AS. So entwickeln ca. 10% der Patienten eine chronisch-entzündliche Darmerkrankung und auch bei ca. 60-70% der AS-Patienten ohne klinische Darmerkrankung finden sich intestinale, zelluläre Infiltrate. Dieser Zusammenhang suggeriert, dass mukosale Antigene pathogenetisch bedeutsam sein könnten.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Trigger und Mechanismen der Entzündung bei AS

Um zu überprüfen, ob intestinale Antigene tatsächlich eine Bedeutung für die Pathogenese der AS haben können, bestimmten wir die Th1-Antwort gegen Escherichia coli (E. coli), einem klassischen Vertreter der kommensalen Darmflora, im Blut und im entzündeten Gelenk bei Patienten mit AS. Sowohl im Blut als auch im Gelenk zeigten Patienten mit AS eine höhere Frequenz von E.coli-spezifischen Th1-Zellen als Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) (Abb. 1). Die Frequenz von Th1-Zellen auf polyklonale Stimulation oder Stimulation mit rekombinanten CMV-Proteinen war jedoch vergleichbar in beiden Patientengruppen (Syrbe et al., eingereicht). Vor allem die selektive Ak-

### WISSENSCHAFTLER

J. Bleil, C. Sichau, H. Appel, R. Scheer, P. Wu, R. Maier, U. Syrbe, J. Sieper

### KOOPERATIONSPARTNER

Andreas Radbruch, DRFZ Berlin  
Andreas Thiel, BCRT, Berlin  
Christoph Loddenkemper, Thomas Adam, Birgit Sawitzki, Charité, Berlin  
Alexander Scheffold, Miltenyi, Bergisch-Gladbach,  
Veale DJ, Dublin Academic Healthcare

### PUBLIKATIONEN

Appel H, Wu P, Scheer R, Kedor C, Sawitzki B, Thiel A, Radbruch A, Sieper J, Syrbe U. 2011. Synovial and peripheral blood CD4+FoxP3+ T cells in spondyloarthritis. J Rheumatol. Nov;38(11):2445-51. Epub 2011 Sep 15.

Ergin A, Syrbe U, Scheer R, Thiel A, Adam T, Büssow K, Duchmann R, Zeit M, Sieper J. 2011. Impaired peripheral Th1 CD4+ T cell response to Escherichia coli proteins in patients with crohn's disease and ankylosing Spondylitis. J Clin Immunol. ec;31(6):998-1009. Epub 2011 Sep 8.

Moran EM, Heydrich R, Ng CT, Saber TP, McCormick J, Sieper J, Appel H, Fearon U, Veale DJ. 2011. IL-17A expression is localised to both mononuclear and polymorphonuclear synovial cell infiltrates. *PLoS One*. 6(8):e24048. Epub 2011 Aug 24.

Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Loddenkemper C, Sieper J. 2011. Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther*. 2011 Jun 20;13(3):R95.

#### DRITTMITTEL

SFB633, DFG-Schwerpunktprogramm 1468 Osteoimmunology - IMMUNOBONE

116

kumulation *E. coli*-reaktiver Th1-Zellen im Gelenk von AS-Patienten nehmen wir als Hinweis, dass muskale Antigene tatsächlich an der Auslösung oder Unterhaltung der Immunantwort in Entzündungsregionen bei AS beteiligt sein können.

Weitere Unterschiede konnten wir hinsichtlich der Akkumulation von Foxp3<sup>+</sup> Treg's im Gelenk bei entzündlich-rheumatischen-Erkrankungen zeigen (Appel et al. *J Rheumatol* 2011). Präliminäre Daten deuten außerdem auf Unterschiede im Aktivierungszustand und der Homingmolekül-Expression von CD4<sup>+</sup> T-Zellen bei Patienten mit AS und RA hin.

#### Mechanismen der Knochenneubildung

Um die Mechanismen der Knochenneubildung aufzuklären, haben wir Facettengelenke von AS-Patienten, die sich einer Aufrichtungsoperation unterzogen haben, histologisch untersucht. Anhand morphologischer Veränderungen des Gelenkknorpels konnten wir sequentielle Stadien der Ankylosierung definieren (Abb.2). Die Korrelation weiterer histomorphologischer Parameter zeigte, dass insbesondere das Ausmaß von Durchbrüchen der Knochen-Knorpelgrenze mit dem Progress der Ankylose korreliert (Abb.3 a und b). Die Durchbrüche werden in Frühstadien durch ein

Granulationsgewebe geschaffen, welches sich bei den AS-Patienten in Arealen des subchondralen Knochenmarkes befindet. Die Invasion des Granulationsgewebes scheint durch in Richtung der Knochen-Knorpelgrenze ausgerichtete Osteoklasten vermittelt zu sein (Abb. 3a). Wir sehen das als Hinweis, dass das Granulationsgewebe eine Schlüsselrolle für die folgende Knochenneubildung einnimmt. Da Ankylosierung vor allem in Bereichen abgeklungener Entzündung auftritt, gehen wir davon aus, dass sich das Granulationsgewebe als Ersatzgewebe für Knochenmarksgewebe i. S. einer Gewebereparatur bildet. Unabhängig von diesen histomorphologischen Arbeiten konnten wir zeigen, dass IL-17 stärker in AS-Patienten als bei Pat. mit Spondylose im angrenzenden Knochenmark der Facettengelenke exprimiert wird (Appel et al. *Arthritis Res Ther* 2011). Die IL-17-Expression fand sich dabei vorwiegend in myeloiden Zellen.

#### Perspektiven

In der Zukunft wollen wir weiter die Bedeutung muskaler Antigene für die Entzündung bei AS sowie die Mechanismen der Knochenneubildung und die Interaktion von inflammatorischen Mediatoren mit den Zellen des Knochenmarkes, sowie Knochen- und Knorpelzellen weiter untersuchen.

Abb. 1

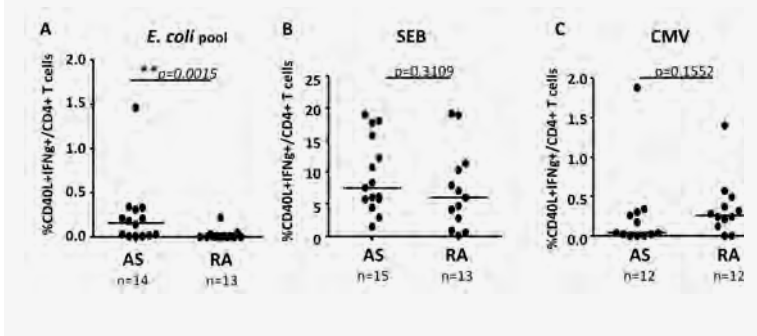


Abbildung 1: Erhöhte Frequenz *E. coli*-spezifischer Th1-Zellen im Gelenk von AS-Patienten

Mononukleäre Zellen aus der Synovialflüssigkeit von AS- und RA-Patienten wurden *in vitro* mit rekombinanten *E. coli*-Proteinen, mit SEB oder rekombinantem CMV-pp65-Protein für 6h stimuliert. Brefeldin A wurde für die letzten 4h zugesetzt. Die Frequenz Antigen-reaktiver Th1-Zellen wurde mittels FACS anhand der CD40L und IFN $\gamma$ -Expression innerhalb der CD4<sup>+</sup> T-Zellen bestimmt.

Abb. 2

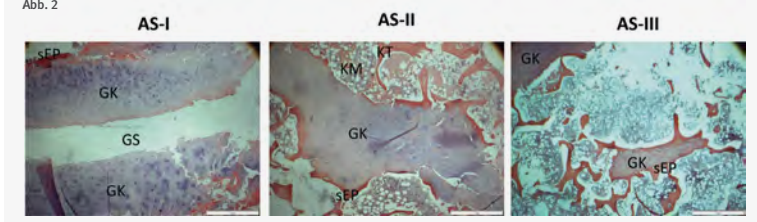


Abbildung 2: Stadien der Gelenkankylosierung bei AS: HE-Färbung der Facettengelenke von AS-Patienten. Die Gelenke wurden anhand der Morphologie des Gelenkknorpels in 3 Stadien eingeteilt: AS I: Gelenkspalt offen, AS-II – Gelenkspalt geschlossen und AS III: Reste des Gelenkes in Form von Knorpelinseln. Facettengelenke der Gruppe AS-I zeigen zwei voneinander getrennte Gelenkknorpel (GK)-Flächen, dazwischen befindet sich der Gelenkspalt (GS). Das Knochenmark wird durch die subchondrale Endplatte (sEP) vom Knorpel getrennt. Bei AS-II-Gelenken besteht eine Synchondrose der Gelenke, d.h. beide Gelenkflächen sind über das Knorpelgewebe miteinander verwachsen. (Mittels der Alcianblau-Färbung wird zusätzlich in AS-IIA und AS-IIB unterteilt.) AS-III-Facettengelenke zeigen nur noch vereinzelte Knorpelinseln, die zumeist komplett von einer subchondralen Endplatte begrenzt werden. Zwischen den Knorpelinseln befinden sich bereits wieder Knochentrabekel (KT) und Knochenmark (KM).

Abb. 3

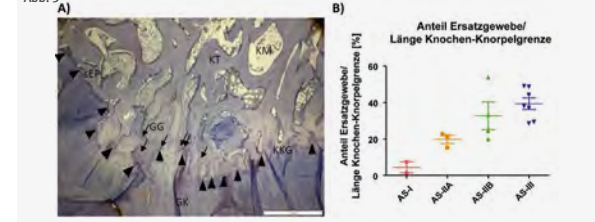


Abbildung 3: Aus dem Knochenmark einwachsendes Granulationsgewebe zerstört die Knochen-Knorpelgrenze.

A) In Abhängigkeit vom Stadium wird die Knorpel-Knochen-Grenze (KKG) in Facetten von AS-Patienten durch Reparaturgewebe ersetzt. Die subchondrale Endplatte (sEP) wird in frühen Stadien (AS I und II) zunehmend durch ein aus dem Knochenmark einwachsendes Granulationsgewebe (GG) aufgebraucht (i). Innerhalb des Granulationsgewebes sind Osteoklasten in Richtung der Gelenkfläche ausgerichtet (d). In späteren Stadien wird das Granulationsgewebe durch Knochenmark und Knochentrabekel ersetzt. B) Quantifizierung des Anteils der KKG, die durch Reparaturgewebe ersetzt ist, in Abhängigkeit vom Ankylose-Stadium des Gelenkes.

## German SPondyloarthritis Inception Cohort (GESPIC)

**GESPIC ist ein langfristiges Projekt mit dem Ziel, eine Kohorte von Patienten mit Frühformen der Spondyloarthritis aufzubauen, um zu Aussagen über Verlauf und Outcome dieser Erkrankung zu kommen. Die ersten von über 800 eingeschlossenen Patienten werden zurzeit 10 Jahre beobachtet. In 2011 wurden Daten zu Prädiktoren der röntgenologischen Progression bei Patienten mit axialer SpA veröffentlicht.**

Spondyloarthritis (SpA) wird heutzutage als Sammelbegriff für eine Erkrankungsfamilie mit ähnlichen klinischen Merkmalen verwendet. Trotz der Häufigkeit dieser Erkrankungen (ca. 1-2% der gesamten Bevölkerung) gibt es erhebliche Defizite in der Frühdiagnostik und Frühbetreuung, ebenso Wissenslücken hinsichtlich des Verlaufes, prognostischer Faktoren und sozioökonomischer Auswirkungen. Um die Frühdiagnostik und Frühbetreuung zu verbessern, haben wir im Jahr 2000 eine Kohorte von SpA-Patienten mit Frühformen der Erkrankung ( $\leq 10$  Jahre für ankylosierende Spondylitis und  $\leq 5$  Jahre für nicht-röntgenologische axiale SpA) aufgebaut.

### Ergebnisse und Diskussion

Im letzten Jahr wurden Daten zu röntgenologischer Progression in der Wirbelsäule bei axialer SpA berichtet. Es wurden insgesamt 210 Patienten (115 mit AS und 95 mit nicht-röntgenologischer axialer SpA) für diese Analyse ausgewählt, basierend auf der Verfügbarkeit der Röntgenbilder (Sacroiliakgelenke, Lenden- und Halswirbelsäule) zu Untersuchungsbeginn und nach 2-jährigem Follow-up. Alle Röntgen-

nahmen wurden zentral gesammelt, digitalisiert, verblindet und von zwei qualifizierten Readern gescort. Die Wirbelsäulenaufnahmen wurden nach dem modifizierten Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score (mSASSS) ausgewertet. Grundsätzlich weisen mehr AS Patienten im Vergleich zu nicht-röntgenologischer axialer SpA eine röntgenologische Progression nach 2 Jahren auf (Abbildung 1).

Als unabhängige mit einer röntgenologischen Progression in der Wirbelsäule (Verschlechterung des mittleren mSASSS-Scores um  $\geq 2$  Einheiten über zwei Jahre) assoziierte prädiktive Faktoren wurden das Vorliegen von Syndesmophyten zu Baseline, erhöhte Marker der systemischen Inflammation (Blutsenkungsgeschwindigkeit bzw. CRP) und Rauchen identifiziert, was durch eine multivariate logistische Regressionsanalyse bestätigt wurde. Basierend auf den erhaltenen Daten wurden zwei Matrixmodelle für die Prädiktion der Progression der strukturellen Schäden in der Wirbelsäule entwickelt (Abbildung 2).

### Perspektiven

Das Projekt ist fortlaufend, langfristige Daten zum Erkrankungsverlauf werden weiterhin gesammelt. Wir planen es, bei einer ausgewählten Patientengruppe eine Magnetresonanztomographie der Wirbelsäule und Sakroiliakgelenken durchzuführen, um den Link zwischen Entzündung und Knochenneubildung bei axialer SpA besser zu charakterisieren. Eine Analyse der 4-Jahresdaten zur röntgenologischen Progression, sowie die Analyse der klinischen Daten werden zurzeit durchgeführt.

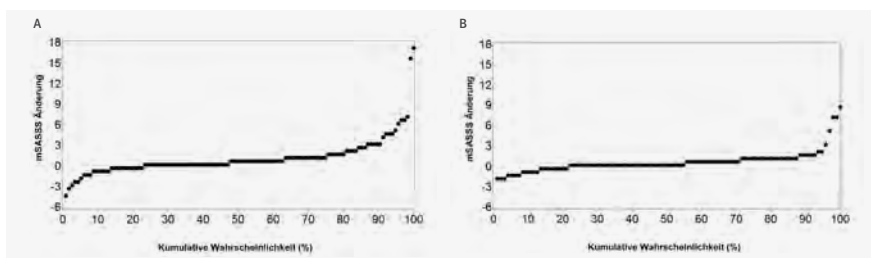


Abbildung 1: Änderung des mSASSS-Scores über 2 Jahre bei Patienten mit AS (A) und nicht-röntgenologischer axialer SpA (B)

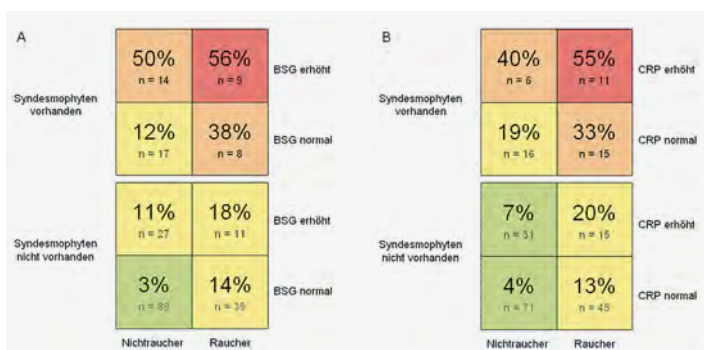


Abbildung 2: Matrixmodelle für die Prädiktion der Progression der strukturellen Schäden in der Wirbelsäule bei Patienten mit axialer SpA (A – BSG-Modelle, B – CRP-Modelle).

### WISSENSCHAFTLER

D. Poddubnyy, J. Listing, H. Haibel, I. Spiller, B. Buss, M. Rudwaleit, J. Sieper

### KOOPERATIONSPARTNER

J. Listing, A. Zink, DRFZ

### PUBLIKATIONEN

1. Rudwaleit M, Haibel H, Baraliakos X, et al. The early disease stage in axial spondylarthritis: Results from the German spondyloarthritis inception cohort. *Arthritis Rheum.* 2009;60:717-27.

2. Poddubnyy DA, Rudwaleit M, Listing J, et al. Comparison of a high sensitivity and standard C-reactive protein measurement in patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1338-41.

3. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, et al. Rates and predictors of radiographic sacroiliitis progression over 2 years in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1369-74.

4. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, et al. Baseline radiographic damage, elevated acute phase reactants and cigarette smoking status predict radiographic progression in the spine in early axial spondyloarthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 Nov 29. [Epub ahead of print].

### DRITTMITTEL

2000-2004: BMBF  
2004-2009: Amgen, Centocor, Schering-Plough, Wyeth  
Seit 2009: Abbott und BMBF durch ArthroMark und Ancyloss-Projekte



## WISSENSCHAFTLER

In-Ho Song<sup>1</sup>  
 Kay-Geert Hermann<sup>2</sup>  
 Hiltrun Haibel<sup>1</sup>  
 Christian Althoff<sup>2</sup>  
 Denis Poddubny<sup>1</sup>  
 Joachim Listing<sup>3</sup>  
 Anja Weiß<sup>3</sup>  
 Martin Rudwaleit<sup>1</sup>  
 Frank Heldmann<sup>4</sup>  
 Jürgen Braun<sup>4</sup>  
 Joachim Sieper<sup>1,3</sup>

- (1) Charité Campus Benjamin Franklin, Rheumatologie  
 (2) Charité Campus Mitte, Radiologie  
 (3) Deutsches Rheumaforschungszentrum Berlin  
 (4) Rheumazentrum Ruhrgebiet Herne

## KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. med. G.-R. Burmester, Charité Campus Mitte, PD Dr. Jan Brandt, Dr. Kirsten Karberg, Rheumatologische Praxis, Berlin.  
 Dr. S. Zinke, Rheumatologische Praxis, Berlin.  
 Dr. F. Mielke, Rheumatologische Praxis, Berlin.  
 Martin Bohl-Bühler, Rheumatologische Praxis, Potsdam.  
 Prof. Dr. A. Krause, Immanuel Krankenhaus, Berlin Wannsee und Buch

## REFERENZEN

1. van der Heijde, D., et al., 2010 Update of the international ASAS recommendations for the use of anti-TNF agents in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*, 2011. 70(6): p. 905-8.
2. Appel, H., et al., Correlation of histopathological findings and magnetic resonance imaging in the spine of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther*, 2006. 8(5): p. R143.
3. Song, I.H., et al., Treatment of active ankylosing spondylitis with abatacept: an open-label, 24-week pilot study. *Ann Rheum Dis*, 2011. 70(6): p. 1108-1110.
4. Song, I.H., et al., Different response to rituximab in tumor necrosis factor blocker-naïve patients with active ankylosing spondylitis and in patients in whom tumor necrosis factor blockers have failed: a twenty-four-

## Klinische Studien

**Bei der Therapie der axialen Symptome bei Patienten mit etablierter Ankyloisierender Spondylitis (AS) stehen neben nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR) seit einigen Jahren Tumor Nekrose Faktor alpha (TNF $\alpha$ )-Inhibitoren zur Verfügung [1]. NSAR stellen die Therapie der ersten Wahl bei der axialen Beteiligung der AS dar. Gemäß der neuen ASAS/EULAR-Empfehlungen (ASAS= Assessment of SpondyloArthritis international Society; EULAR= European League Against Rheumatism) kann nach Versagen von zwei NSAR, die jeweils für insgesamt vier Wochen gegeben wurden, auf einen TNFa-Inhibitor gewechselt werden (1). Bisher gibt es keine effektiven Therapiealternativen nach Versagen von TNFa-Inhibitoren.**

In histologischen Untersuchungen aus Facettengelenken von AS-Patienten fanden sich neben B-Zell-Clustern auch T-Zell-Cluster (2). Unter anderem basierend auf diesen Ergebnissen führten wir eine offene prospektive Investigator-initiierte Studie bei Patienten mit AS durch, wobei alle Patienten den T-Zell-Modulator Abatacept (10mg/KG intravenös, zugelassen für Behandlung der Rheumatoiden Arthritis (RA)) erhielten [3]. In dieser 24-wöchigen Studie zeigte sich insgesamt kein gutes Ansprechen auf Abatacept (3), so dass eine weiterführende größere Placebo-kontrollierte Studie nicht zu empfehlen ist.

Weiterhin untersuchten wir in einer weiteren prospektiven Investigator-initiierten Studie die Effektivität des CD20-Antikörpers Rituximab (auch zugelassen für die Behandlung der RA). 20 Patienten mit langjähriger aktiver AS erhielten jeweils 1000mg Rituximab im Abstand von 2 Wochen (1. Zyklus) zusammen mit einer Prämedikation, die u.a. 100mg Methylprednisolon umfasste (4). Von den 20 Patienten waren 10 Patienten noch nie mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren behandelt worden (TNF-Blocker-naiv), während 10 Patienten im Vorfeld mit TNF $\alpha$ -Inhibitoren behandelt worden waren (sog. TNF-Versager-Gruppe). Im Gegensatz zur TNF-Ver-

sager-Gruppe, wo kein Signal für ein klinisches Ansprechen zu sehen war, zeigte sich in der TNF-naiven Gruppe ein klinisches Ansprechen, das durchaus mit dem Ansprechen auf TNFa-Inhibitoren zu vergleichen war (50% BASDAI50-Ansprechen).

In einer Verlängerung der Rituximab-AS-Studie erhielten schließlich 5 weitere AS-Patienten, die nach dem ersten Zyklus gut angesprochen hatten, nach erneutem rheumatischem Schub, 2 weitere Infusionen Rituximab (2. Zyklus) (5). Nach Verabreichung des 2. Zyklus Rituximab zeigte sich erneut ein gutes und anhaltendes Ansprechen, wobei das Ansprechen nach dem 2. Zyklus interessanterweise sogar besser war als nach dem ersten Zyklus (Tabelle 1).

Neben der Erforschung von Therapiealternativen bei der etablierten AS, wurden zuletzt zunehmend auch die Frühformen der axialen Spondyloarthritis (SpA) untersucht. Die 2009 publizierten Klassifikationskriterien für die axiale SpA schließen Patienten mit klassischer AS ein, die im Röntgen des Beckens eine chronische Sakroiliitis gemäß der modifizierten New York-Kriterien aufweisen (6); auf der anderen Seite werden auch Patienten erfasst, bei denen eine sogenannte nicht-röntgenologische axiale SpA noch ohne chronische Sakroiliitis vorliegt (7).

Wir untersuchten in einer weiteren Investigator-initiierten multizentrischen Studie 76 Patienten mit früher axialer SpA mit einer Krankheitsdauer von weniger als 5 Jahren (8). Alle Patienten erhielten zu Baseline, zu Woche 24 und zu Woche 48 Ganzkörper-Magnetresonanztomographie (MRT)-Untersuchungen. Alle Patienten wiesen dabei aktive entzündliche Veränderungen an der Wirbelsäule und/oder an den Sakroiliakalgelenken auf. 40 Patienten erhielten den TNF $\alpha$ -Inhibitor Etanercept (2 x 25mg s.c. wöchentlich) untersucht. Die Kontrollgruppe (n = 36) erhielt Sulfasalazin (2-3 Gram peroral). Nach einem Jahr Therapie wurde der primäre Endpunkt (Reduktion aktiver ent-

Parameter bei Patienten, die einen zweiten Zyklus Rituximab erhalten haben	R-Baseline (n= 5)	R-Woche 24 (n= 5)	R-Woche 48 (n= 4)
BASDAI	4,2 (SD 1,6)	3,1 (SD 1,3)	1,7 (SD 1,5)
Globales Patientenurteil	4,6 (SD 0,9)	3,0 (SD 1,0)	2,0 (SD 2,0)
CRP (ref. 6 mg/l)	12,2 (SD 3,3)	13,1 (SD 12,1)	3,5 (SD 1,2)
CD 19 (pro micro-liter)	56,3 (SD 46,1)	7,4 (SD 5,3)	64,8 (SD 74,3)

Tabelle 1:

Abkürzungen: SD: Standard Deviation; n= Anzahl der Patienten; R= retreatment phase (nach Gabe des zweiten Zyklus von Rituximab);

zündlicher Veränderungen an der Wirbelsäule, an den SIG sowie an Enthesen) signifikant häufiger von Etanercept-behandelten Patienten im Vergleich zu Sulfasalazin-behandelten Patienten erreicht [8]. Klinisch zeigte sich ein hervorragendes Ansprechen mit einer 50%igen Remissionsrate.

Es gelang uns zudem chronische entzündliche Veränderungen im Ganzkörper-MRT zu untersuchen. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Auflösung aktiver entzündlicher Veränderungen in MRT-STIR-Sequenzen und der Neuentwicklung von Verfettung in T1-gewichteten MRT-Sequenzen in der Studienpopulation mit früher axialer SpA untersucht (9). Im Falle einer frühen Behandlung könnte es möglich sein, die Entstehung von Verfettung und demnach die Entstehung von Syndesmophytenwachstum zu verhindern.

Zuletzt untersuchten wir in dieser Kohorte von Patienten mit früher axialer SpA die Frage der Medikamenten-freien Remission nach Erreichen einer Remission. Remission war hierbei als Erreichen einer klinischen

Remission sowie zugleich einer MRT-Remission definiert. Patienten, die zu Woche 48 dieses strenge Remissionskriterium erfüllten, wurden ohne aktive Therapie nachverfolgt. ASAS- plus MRT-Remission zu Woche 48 wurde signifikant häufiger in der ETA-Gruppe im Vergleich zur SSZ-Gruppe erreicht (33% vs. 11%, p=0,03). Allerdings war die Flare-Rate nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen: 69% in der ETA- vs. 75% in der SSZ-Gruppe. Nur 8% der initial mit ETA behandelten Patienten versus 3% der initial mit SSZ behandelten Patienten erreichten eine Medikamenten-freie Remission (kein signifikanter Unterschied) (Abbildung 1). Nach Beginn von ETA im Jahr 2 zeigten alle Flare-Patienten ein signifikantes Ansprechen (Tabelle 2). Patienten mit früher axialer SpA, die für ein Jahr mit ETA behandelt wurden, erreichten eine Medikamenten-freie Remission also nicht häufiger im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, die mit Sulfasalazin behandelt wurde.

week clinical trial. Arthritis Rheum, 2010. 62(5): p. 1290-7.

5. Song, I.H., et al., Patients with active ankylosing spondylitis show clinical response to a second cycle of rituximab – follow-up of an open label clinical trial. Ann Rheum Dis, 2011. 70(Suppl3): p. 130.

6. van der Linden, S., H.A. Valkenburg, and A. Cats, Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. Arthritis Rheum, 1984. 27(4): p. 361-8.

7. Rudwaleit, M., et al., The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. Ann Rheum Dis, 2009. 68(6): p. 777-83.

8. Song, I.H., et al., Effects of etanercept versus sulfasalazine in early axial spondyloarthritis on active inflammatory lesions as detected by whole-body MRI (ESTHER): a 48-week randomised controlled trial. Ann Rheum Dis, 2011. 70(4): p. 590-6.

9. Song, I.H., et al., Relationship between active inflammatory lesions in the spine and sacroiliac joints and new development of chronic lesions on whole-body MRI in early axial spondyloarthritis: results of the ESTHER trial at week 48. Ann Rheum Dis, 2011. 70(7): p. 1257-63.

**DRITTMITTEL**

Pfizer / Wyeth, Roche-Parma GmbH

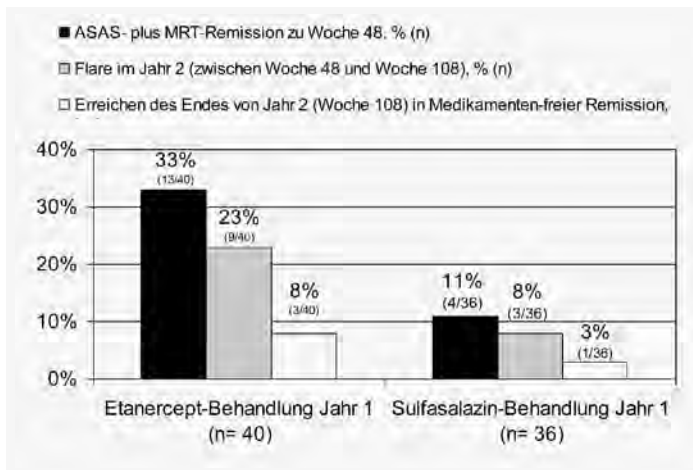


Abbildung 1: Dargestellt ist die Prozentzahl (Anzahl) der Patienten, die ASAS- plus MRT-Remission zu Woche 40 in der Etanercept-Gruppe (n= 40) versus Sulfasalazin-Gruppe (n= 36) erreichten; die Prozentzahl (Anzahl) der Patienten, die einen Flare im Jahr 2 hatten oder die Patienten, die in Medikamenten-freier Remission bis ans Ende von Jahr 2 blieben.

Parameter	Studien-Zeitpunkt	Remissions-Flare-Gruppe		Nicht-Remissions-Gruppe	
		ETA Jahr 1- ETA Jahr 2 (n= 9)	SSZ Jahr 1- ETA Jahr 2 (n= 3)	ETA Jahr 1- ETA Jahr 2 (n= 22)	SSZ Jahr 1- ETA Jahr 2 (n= 26)
BASDAI	Baseline	5,7 (1,8)	5,9 (1,6)	5,4 (1,1)	5,9 (1,2)
BASDAI	Woche 48	1,1 (0,6)	2,0 (0,1)	2,6 (1,7)	4,7 (2,3)
BASDAI	Flare-Visite	5,0 (1,5)	4,5 (0,4)	Not applicable	Not applicable
BASDAI	Woche 108	1,5 (1,4)	1,7 (1,6)	2,7 (2,3)	3,2 (2,6)
MRT SIG	Baseline	12,0 (6,4)	3,2 (3,9)	8,6 (7,3)	6,5 (5,8)
MRT SIG	Woche 48	1,1 (1,4)	0 (0)	2,4 (3,3)	2,7 (3,2)
MRT SIG	Woche 108	0,4 (0,5)	0 (0)	2,9 (3,7)	1,6 (2,0)

Tabelle 2: Klinisches und MRT-Ansprechen in den verschiedenen Subgruppen, Parameter angegeben als Mittelwerte (Standardabweichungen) Abkürzungen: ETA= Etanercept; SSZ= Sulfasalazin; n= Anzahl der Patienten; BASDAI= Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; MRT= Magnetresonanztomographie; SIG= Sakroilialgelenke;

Prof. Dr.med.  
Margitta Worm



Allergie-Centrum-Charité,  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der  
Charité–Universitätsmedizin Berlin

## Allergologie

### Neue Ansätze in der anti-allergischen Therapie mit Liganden von Hormonrezeptoren

#### STICHWORTE

Allergie  
IgE  
Vitamin D  
Fettsäuren  
Plasmazellen

#### MITARBEITER

##### Gruppenleiter

Prof. Dr. med. Margitta Worm  
(Allergie-Centrum-Charité, Klinik  
für Dermatologie, Venerologie und  
Allergologie),  
Prof. Dr. rer. nat. Andreas Radbruch  
(DRFZ)

##### Wissenschaftler

Dr. med. Guido Heine  
Dr. rer. nat. Magda Babina  
Dr. rer. nat. Christin Weise

##### PhD. Students

Dipl. nutr. Sabine Dölle  
Dipl. biol. Genndiy Drozdenko  
Dipl. biol. Friederike Thiele  
Dipl. biol. Juliane Lindner  
Kiran Kumar, M.Sc.  
Vandana Kumari, M.Sc.

##### Technische Assistenz

Dennis Ernst (MTA)  
Ariane Lungwitz (Study Nurse)

Die Gruppe "Allergology" beschäftigt sich mit der Immunmodulation von IgE-abhängigen Allergien. Schwerpunkte sind die zellulären und molekularen Schlüsselprozesse dieser Krankheiten zu bestimmen sowie die Ergebnisse in die klinische Anwendung zu übertragen. Die Prävalenz IgE-vermittelter Krankheiten wie Heuschnupfen, allergischem Asthma, aber auch atopischer Dermatitis (Neurodermitis), beträgt bis zu 20% der deutschen Bevölkerung. Gegenwärtig ist als kausale Behandlung die spezifische Immuntherapie verfügbar, die jedoch durch die lange Therapie-dauer und begrenzte Wirkdauer limitiert ist. Wir denken, dass es möglich ist durch eine gezielte Immunmodulation, bzw. durch eine Elimination von spezifischen B-Zellen, nachhaltige therapeutische Erfolge zu erzielen.

Eigene Daten belegen die profunde tolerogene Wirkung bestimmter immunmodulatorischer Signale auf die Aktivierung von humanen und murinen B-Zellen. Wir haben einen Mechanismus aufgedeckt, wie der IgE-Isotypenklassenwechsel spezifisch blockiert werden kann. Derzeit entwickeln wir ex vivo Analysen, um die physiologische Bedeutung verschiedener Immunmodulatoren für die Allergieregulation besser zu verstehen. Im Mausmodell konnten wir aktuell zeigen, dass nukleäre Hormonrezeptoren IgE-abhängige Allergien kontrollieren können. Wir führen diese Untersuchungen fort, mit besonderem Augenmerk auf die Funktion endogener Immunmodulator-Synthese durch Immunzellen. In bereits begonnenen klinischen Pilotstudien untersuchen wir zelluläre und molekulare Veränderungen während der allergenspezifischen Immuntherapie, bei kontrollierter, gleichzeitiger Immunmodulator Gabe. Ziel ist es den Wirkungseintritt und

die Langzeitwirkung der zugrundeliegenden Mechanismen zu beschreiben.

In einem zweiten Schwerpunkt untersuchen wir das immunmodulatorische Potenzial von mehrfach ungesättigten Fettsäuren. In einer eigenen kontrollierten Studie fanden wir Hinweise auf eine anti-entzündliche Wirkung dieser Fettsäuren, die den Neurodermitis Schweregrad günstig beeinflussten. Gegenwärtig untersuchen wir den zugrundeliegenden Wirkmechanismus in Immunzellen, z.B. durch Interaktion mit spezifischen Bindungspartnern.

Ein weiteres Ziel unserer Arbeiten ist die Bedeutung langlebiger Plasmazellen im Allergiemodell zu untersuchen. Hier konnten wir erstmals zeigen, dass nach wiederholter Allergenexposition langlebige Plasmazellen entstehen und im Knochenmark nachweisbar sind. Aktuelle Untersuchungen zielen auf die funktionelle Relevanz dieser Zellen in unterschiedlichen Allergiemodellen.

Zusammenfassend wollen wir mit unseren Forschungsarbeiten eine lang anhaltende immunologische Toleranz gegenüber Allergenen erzeugen. Dazu werden die experimentell gewonnenen Daten, aus Zellkulturen *in vitro* sowie Mausmodellen *in vivo*, direkt in klinische Protokolle übertragen. Somit können wir unsere Hypothesen, die aus wissenschaftlichen Untersuchungen generiert wurden, klinisch überprüfen.



#### KOOPERATIONSPARTNER

Prof. René St. Arnaud, Shriners Hospital for Children, Genetics Unit, Montréal, Kanada

PD Dr. rer. nat. Ria Baumgrass, Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin, Signaltransduktion, Berlin

Prof. Dr. med. Thomas Dörner, Med. Klinik mit Schw. Rheumatologie und Klinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. vet. Reinhold Erben, Universität für Tiermedizin, Institut für Pathophysiologie, Wien, Österreich

PD Dr. rer. nat. Lutz Hamann, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Mikrobiologie und Hygiene CCM

Prof. Dr. rer. nat. Susanne Hartmann, Humboldt–University Berlin, Dept Molecular Parasitology, Berlin

Prof. Dr. med. Bastian Opitz, PD Dr. med. Martin Witzentz, Christoph Tabeling, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Med. Klinik mit Schw. Infektiologie und Pneumologie CVK

Prof. Dr. med. Harald Renz, Philipps-University of Marburg, Dept of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Marburg

Prof. Dr. med. Gabriele Riemekasten, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Med. Klinik mit Schw. Rheumatologie und Klinische Immunologie

Dr. rer. nat. R. Rühl, University of Debrecen, Medical and Health Science Centre, Dept. Biochemistry and Molecular Biology, Debrecen, Ungarn

Prof. Dr. med. Birgit Sawitzki, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Medizinische Immunologie

Prof. Dr. med. Ralf Schumann, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Mikrobiologie und Hygiene

Prof. Dr. med. Hans-Dieter Volk, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Medizinische Immunologie

#### AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Ausgewählte Publikationen der letzten zwei Jahre / Selected publications: Please, list up to ten of the most important publications published within the last two years.

Baumgrass, R., C. Brandt, F. Wegner, M. Abdollahnia, and M. Worm. 2010. Low-dose, but not high-dose, cyclosporin A promotes regulatory T-cell induction, expansion, or both. *J Allergy Clin Immunol* 126:183-184; author reply 184.

Brandt, C., V. Pavlovic, A. Radbruch, M. Worm, and R. Baumgrass. 2009. Low-dose cyclosporine A therapy increases the regulatory T cell population in patients with atopic dermatitis. *Allergy* 64:1588-1596.

Geldmeyer-Hilt, K., G. Heine, B. Hartmann, R. Baumgrass, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. 1,25-dihydroxyvitamin D impairs NF-kappa B in human naive B cells. *Biochem Biophys Res Commun* 407:669-702.

Hartmann, S., C. Schnoeller, A. Dahten, A. Avagyan, S. Rausch, M. Lendner, C. Bocian, S. Pillai, C. Loddenkemper, R. Lucius, M. Worm, and E. Hamelmann. 2009. Gastrointestinal nematode infection interferes with experimental allergic airway inflammation but not atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy* 39:1585-1596.

Hartmann, B., G. Heine, M. Babina, A. Steinmeyer, U. Zugel, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. Targeting the vitamin D receptor inhibits the B cell-dependent allergic immune response. *Allergy* 66:540-548.

Hartmann, B., R. Riedel, K. Jorss, C. Loddenkemper, A. Steinmeyer, U. Zugel, M. Babina, A. Radbruch, and M. Worm. 2012. Vitamin D Receptor Activation Improves Allergen-Triggered Eczema in Mice. *J Invest Dermatol.* 132(2):330-6.

Heine, G., A. Dahten, K. Hilt, D. Ernst, M. Milovanovic, B. Hartmann, and M. Worm. 2009. Liver X receptors control IgE expression in B cells. *J Immunol* 182:5276-5282.

Heine, G., A. Lahl, C. Muller, and M. Worm. 2010. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol* 163:863-865.

Heine, G., G. Drozdenko, A. Lahl, N. Unterwalder, H. Mei, H.-D. Volk, T. Dörner, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. Efficient tetanus toxoid immunization on vitamin D supplementation. *Eur J Clin Nutr* 65:329-334.

Luger EO, Wegmann M, Achatz G, Worm M, Renz H, Radbruch A. Allergy for a lifetime? 2010. *Allergol Int* 59(1):1-8.

Milovanovic, M., G. Heine, W. Hallatschek, B. Opitz, A. Radbruch, and M. Worm. 2010b. Vitamin D receptor binds to the epsilon germline gene promoter and exhibits transrepressive activity. *J Allergy Clin Immunol* 126:1016-1023.

Milovanovic M, Drozdenko G, Weise C, Babina M, Worm M. Interleukin-17A promotes IgE production in human B cells. *J Invest Dermatol.* 2010. 130(11):2621-8.

Oh, DY, Schumann, RR, Neumann, K., Hamann, L., Worm, M and Heine, G. Association of the toll-like receptor 2 A-16934T promoter polymorphism with severe atopic dermatitis. *Allergy.* 2009. 64(11):1608-15.

Weise C, Hilt K, Milovanovic M, Ernst D, Rühl R, Worm M. Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by direct interference with STAT6 and NFkappaB pathway in human B cells. *J Nutr Biochem.* 2010. 22(3):269-75

Weise C, Heunemann C, Loddenkemper C, Herz U, van Tol EA, Worm M. Dietary docosahexaenoic acid in combination with arachidonic acid ameliorates allergen-induced dermatitis in mice. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011. 22(5):497-504.



## WISSENSCHAFTLER

G. Heine, G. Drozdenko, F. Thiele,  
J. Lindner, S. Dölle

## KOOPERATIONSPARTNER

R. St. Arnaud (Shriners Hospital for  
Children, Genetics Unit, Montreal,  
CA), R.G. Erben (Universität für  
Tiermedizin, Institut für  
Pathophysiologie, Wien, A), T.  
Dörner (Med. Klinik m. Schw.  
Rheumatologie und Klin.  
Immunologie, Charité), L.  
Sawitzki und H.D. Volk (Klinik Med.  
Immunologie, Charité), L.  
Hamann und RR.  
Schumann (Charité –  
Universitätsmedizin  
Berlin, Institut für  
Mikrobiologie und Hygiene  
CCM, Charité), B. Opitz d M.  
Witzenrath (Med. Klinik mit Schw.  
Infektiologie und Pneumologie,  
Charité)

## REFERENZEN

1. Searing, D. A., and D. Y. Leung.  
2010. Vitamin D in atopic  
dermatitis, asthma and allergic  
diseases. *Immunol Allergy Clin  
North Am* 30:397-409.
2. Heine, G., K. Anton, B. M. Henz,  
and M. Worm. 2002. 1 $\alpha$ ,25-  
dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits  
anti-CD40 plus IL-4-mediated IgE  
production in vitro. *Eur J Immunol*  
32:3395-3404.
3. Heine, G., U. Niesner, H. D.  
Chang, A. Steinmeyer, U. Zugel, T.  
Zuberbier, A. Radbruch, and M.  
Worm. 2008. 1,25-dihydroxyvita-  
min D(3) promotes IL-10  
production in human B cells. *Eur  
J Immunol* 38:2210-2218.
4. Milovanovic, M., G. Heine, W.  
Hallatschek, B. Opitz, A. Radbruch,  
and M. Worm. 2010. Vitamin D  
receptor binds to the epsilon  
germline gene promoter and  
exhibits transrepressive activity. *J  
Allergy Clin Immunol* 126:1016-  
1023, 1023 e1011-1014.
5. Hartmann, B., G. Heine, M.  
Babina, A. Steinmeyer, U. Zugel, A.  
Radbruch, and M. Worm. 2011.  
Targeting the vitamin D receptor  
inhibits the B cell-dependent  
allergic immune response. *Allergy*  
66:540-548.

## Modulation der B-Zellaktivierung durch Vitamin D Rezeptoren

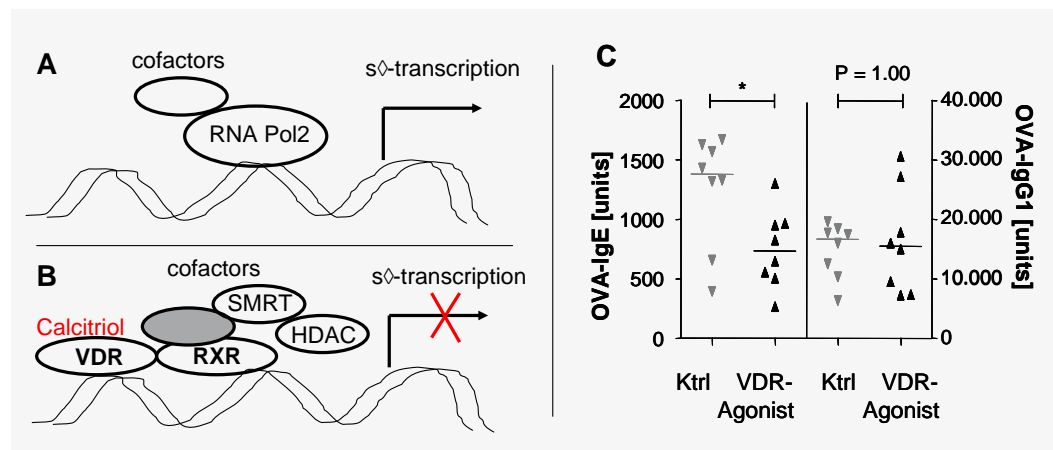
**Vitamin D vermittelt tolerogene Funktionen der erworbenen Immunantwort die für Typ-I Allergien relevant sind. Wir konnten profunde, nachhaltige Wirkungen in B-Zellen durch Vitamin D nachweisen, insbesondere die Blockierung der IgE-Expression, wie auch die Induktion des tolerogenen Zytokins IL-10. Aktuell untersuchen wir molekulare und zelluläre Grundlagen für die Entwicklung allergenspezifischer Toleranz und der funktionellen Verifizierung in präklinischen Modellen. Wir initiierten kontrollierte Pilotstudien und konnten nachweisen, dass durch Vitamin D Einnahme die peripher messbare Funktion von B- und T-Zellen modulierbar ist. Ziel unserer Forschung ist die Etablierung innovativer Therapieprotokolle von IgE-vermittelten Allergien durch Vitamin D und die direkte Translation der experimentellen Daten in klinische Anwendungen.**

Der aktive Metabolit von Vitamin D, Calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) und wirkt sich hemmend auf Typ-I allergische Immunreaktionen aus. Die meisten Calcitriol-vermittelten Wirkungen werden nach Bindung an den nukleären Rezeptor durch transkriptionelle Regulation von Zielgenen übertragen. Unsere Daten zeigen, dass der Vitamin D Rezeptor in humanen und murinen B-Zellen durch Stimulation induzierbar ist. Ferner können Lymphozyten selbst aus der inerten Vorstufe biologisch aktives Calcitriol zu synthetisieren (1). Nach Calcitriol-Bindung läuft ein ge-

netisches Programm ab, das u.a. in verminderter IgE-Synthese und verstärkter IL-10 Produktion resultiert und auch *in vivo* funktionell ist. In eigenen klinischen Pilotstudien konnten wir Protokolle etablieren, um Vitamin D-abhängige Prozesse in Immunzellen zu messen. Forschungsgegenstand des Projekts ist die Identifikation weiterer molekularer und zellulärer Mechanismen mit dem Ziel der klinischen Translation.

### Genomische Interaktion des Vitamin D Rezeptors

Unsere Daten zeigen eine Hemmung der ex vivo induzierten IgE-Expression durch Vitamin D Rezeptoraktivierung; durch den natürlichen Ligand, wie auch mittels synthetischer Derivate (2, 3). Dies ist durch Bindung des Vitamin D Rezeptors in der Schlüsselpromoterregion des IgE-Isotypenklassenwechsels vermittelt. Wir konnten mittels Chromatinimmunpräzipitation (ChIP) zeigen, dass ein Komplex aus transrepressiven Kofaktoren, wie SMRT sowie HDACs rekrutiert wird (Abb.1A) (4). Ferner zeigen weiterführende Untersuchungen, dass parallel der für den Klassenwechsel essentielle Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ Bp50 durch Interferenz mit einer autoregulatorischen Feedbackschleife gehemmt wird (5). Entsprechend war in einem proof-of-principle Experiment die induzierte allergen-IgE-Antwort in Mäusen durch ein niedrigkalzämisches Vitamin D-Derivat stark vermindert (2). Klinisch war das verwendete Vitamin D-Derivat sehr



**Abbildung 1:** Vitamin D-abhängige Hemmung der IgE Expression. (A) Die Transkription von s initiiert den IgE-Isotypenklassenwechsel. (B) Biologisch aktives Vitamin D (Calcitriol) rekrutiert einen transrepressiven Komplex in der s-Region, der diese Transkription hemmt. (C) Ein synthetischer Vitamin D Rezeptoragonist hemmt die humorale OVA-spezifische IgE, nicht aber IgG1-Antwort in BALB/c Mäusen.

gut verträglich, insbesondere trat keine Veränderung des Serumkalziumspiegels auf. Allerdings ist die Verwendung von Vitamin D Derivaten für die Langzeit-Therapie allergischer Erkrankungen wenig geeignet; limitierend sind die enge therapeutische Breite sowie die kurze Halbwertszeit von 2 Stunden.

In vorangegangenen Untersuchungen fanden wir die Fähigkeit von aktivierten B-Zellen, selbst biologisch aktives Calcitriol, aus der inerten Vorstufe Provitamin D herzustellen (1); was in der Zwischenzeit auch von anderen bestätigt wurde. Analog können auch aktivierte T-Zellen endogen aktives Calcitriol herstellen. Dies ermöglicht durch Angebot des inerten Provitamin D die Beeinflussung von aktivierten Immunzellen, z.B. im Rahmen Typ-I allergischer Immunantworten. In eigenen Voruntersuchungen war Provitamin D Mangel häufig im Winter feststellbar, s. Fig.2A (6), da das meiste Provitamin D im Menschen durch UV-Biosynthese entsteht. In einer kleinen Pilotstudie konnten wir messen, dass durch kontrollierte Provitamin D Einnahme der Vitamin D Status korrigiert werden kann (7). Ferner war das Protokoll gut verträglich und die humorale und zelluläre Immunantwort gegen Re-

call-Antigene intakt (7). Jedoch blieb die genaue Schwellenkonzentration von Provitamin D für die immunologische Modulation von Vitamin D unklar.

### Monitoring von Vitamin D-abhängigen Immunwirkungen

Um künftig Vitamin D-abhängige Wirkungen auf menschliche Immunzellen untersuchen zu können, initiierten wir eigene kontrollierte Pilotuntersuchungen um zunächst die benötigte Schwellenkonzentration für die Modulation von Immunzellen zu bestimmen. Dazu wurden im UV-armen Winter Probanden mit Vitamin D Mangel rekrutiert. Im Verlauf einer Provitamin D Dosis-Eskalation waren Provitamin D Zielkonzentrationen messbar, die mit physiologischen Werten im Sommer vergleichbar waren, Abb.2B. Vitamin D vermittelt seine Eigenschaften nach Bindung an den Vitamin D Rezeptor, der in vielen Zelltypen des Immunsystems exprimiert wird und durch transkriptionelle Regulation von Zielgenen wirkt. Mittels globaler Transkriptomanalyse Calcitriol-behandelter B-Zellen identifizierten die Induktion von CD38 (Daten nicht gezeigt). Dieses Oberflächenmolekül auf B-Zellen könnte sich in Kombination mit weiteren als

Fortsetzung >>

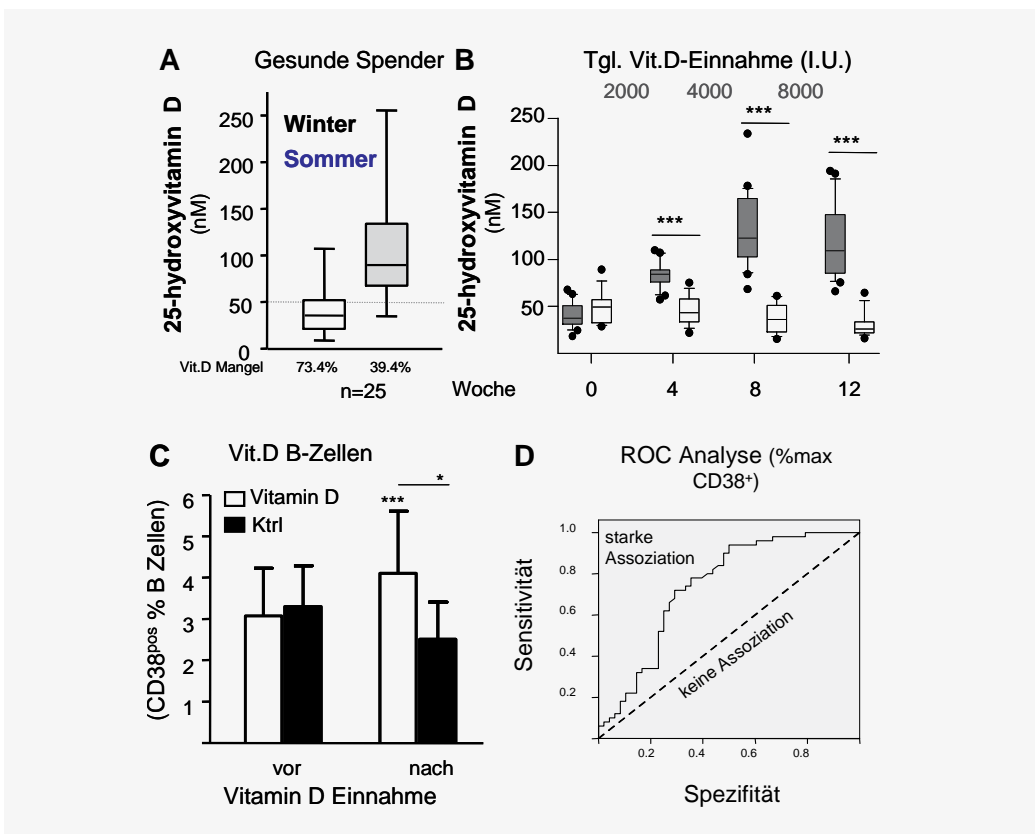


Abbildung 2: Immunzellen können durch Vitamin D gezielt moduliert werden.. (A) Vitamin D Mangel ist häufig in Berlin, insbesondere im Winter. (B) Durch Vitamin D Einnahme kann der Vitamin D Status ausgeglichen werden. (C) Während der Vitamin D Einnahme steigt die Frequenz von „CD38<sup>pos</sup> Vitamin D-B-Zellen“, nicht aber in der Kontrollgruppe. (D) Berechnung des Vitamin D-Vorstufen-Schwellenwertes für die Modulation von B-Zellen mittels ROC-Analyse.

### PUBLIKATIONEN

- Milovanovic, M., G. Heine, W. Hallatschek, B. Opitz, A. Radbruch, and M. Worm. 2010b. Vitamin D receptor binds to the epsilon germline gene promoter and exhibits transrepressive activity. *J Allergy Clin Immunol* 126:1016-1023.
- Hartmann, B., R. Riedel, K. Jorss, C. Loddenkemper, A. Steinmeyer, U. Zugel, M. Babina, A. Radbruch, and M. Worm. 2011b. Vitamin D Receptor Activation Improves Allergen-Triggered Eczema in Mice. *J Invest Dermatol*.
- Heine, G., A. Lahl, C. Muller, and M. Worm. 2010. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol* 163:863-865.
- Heine, G., G. Drozdenko., A. Lahl, N. Unterwalder, H. Mei, H.-D. Volk, T. Dömer, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. Efficient tetanus toxoid immunization on vitamin D supplementation. *Eur J Clin Nutr* 65:329-334.
- Geldmeyer-Hilt, K., G. Heine, B. Hartmann, R. Baumgrass, A. Radbruch, and M. Worm. 2011. 1,25-dihydroxyvitamin D impairs NF-kappa B in human naive B cells. *Biochem Biophys Res Commun* 407:669-702.
- Hartmann, B., G. Heine, M. Babina, A. Steinmeyer, U. Zugel, A. Radbruch, and M. Worm. 2011a. Targeting the vitamin D receptor inhibits the B cell-dependent allergic immune response. *Allergy* 66:540-548.
- Heine, G., U. Niesner, H. D. Chang, A. Steinmeyer, U. Zugel, T. Zuberbier, A. Radbruch, and M. Worm. 2008. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) promotes IL-10 production in human B cells. *Eur J Immunol* 38:2210-2218.
- Oh, DY, Schumann, RR, Neumann, K., Hamann, L., Worm, M and Heine, G. Association of the toll-like receptor 2 A-16934T promoter polymorphism with severe atopic dermatitis. *Allergy*. 2009. 64(11):1608-15.

### DRITTMITTEL

SFB 650

## Fortsetzung »

biologischer Marker für die Identifizierung Vitamin D vorbehandelter B Zellen eignen. Im Verlauf der Provitamin D-Dosis Eskalation waren erhöhte Frequenzen von CD38pos B-Zellen unter Vitamin D Einnahme, nicht aber in der Kontrollgruppe ohne Vitamin D Einnahme feststellbar, Abb.2C. Mittels mathematischer Berechnung (Grenzwertoptimierungskurve oder ROC Analyse) konnten wir den Schwellenwert der Provitamin D Vorstufe für die B-Lymphozyten bestimmen, Abb. 2D Analoge Untersuchungen von T-Zellfunktionen zeigten ähnliche Ergebnisse, die gut mit zuvor *in vitro* gewonnenen Daten übereinstimmen (nicht gezeigt). In gegenwärtigen Untersuchungen analysieren wir den Einfluss von Vitamin D auf Typ-I allergische Immunreaktionen. Dazu haben wir eine klinische Pilotstudie initiiert. Dort werden unter Placebo-kontrollierter Vitamin D Einnahme (ProGIT) Grasspollenallergiker mit allergenspezifischer Immuntherapie behandelt.

#### Funktion von autokriner Calcitriol-Synthese in B- und T-Lymphozyten in der Typ-I Allergie

Zur Bestimmung der zellulären Wirkungen von Vitamin D auf allergische Immunreaktionen nutzen wir spezifische Mäuse, in denen ein essentielles Gen zur Aktivierung von Vitamin D fehlt.

Das „sunshine vitamin“ D wird durch UV-B-Bestrahlung in der Haut gebildet oder mit der Nahrung (Lebertran, Fischöl) aufgenommen und als biologisch inertes Provitamin D (chem. 25-hydroxyvitamin D) gespeichert. Die biologische Aktivierung zu Calcitriol

(chem. 1,25-Hydroxyvitamin D) erfolgt durch das Enzym CYP27B1, Abb. 3A. Die Wirkungen von Calcitriol werden nach dessen Bindung an den Vitamin D-Rezeptor (VDR) an Zielgenerkennungssequenzen vermittelt. Da aktivierte Immunzellen nicht nur VDR exprimieren, sondern aktiv Calcitriol aus der inerten Vorstufe synthetisieren können untersuchten wir die IgE-vermittelte Immunreaktion in Mäusen die kein CYP27B1 exprimieren können.

Unsere Daten zeigen, dass die humorale Ovalbumin (OVA)-spezifische Typ-I Immunantwort in diesen Mäusen, wie auch derer C57Bl6/wildtyp Kontrollen auslösbar ist. Die Daten deuten an, dass die humorale Immunantwort in CYP27B1 Mäusen möglicherweise betont ausfallen, gemessen an spezifischem sowie globalen IgE Serumkonzentrationen, s. Abb.3B. Perspektivisch untersuchen wir die funktionelle Relevanz der endogenen Calcitriolsynthese von Immunzellen für die Ausprägung unterschiedlicher, Vitamin D-responsiver Mausmodelle von immunologisch bedingten Erkrankungen.

Ziel unserer Arbeiten ist das immunmodulatorische Potential aktiver Vitamin D Rezeptoren auf die Typ-I-allergische Immunantwort zu bestimmen, zu verstehen und schließlich therapeutisch zu nutzen. Perspektivisch möchten wir durch gezielte Aktivierung des Vitamin D Rezeptors die Entwicklung allergenspezifischer Toleranz beschleunigen und somit die Therapie von Typ-I-Allergien nachhaltig zu verbessern.

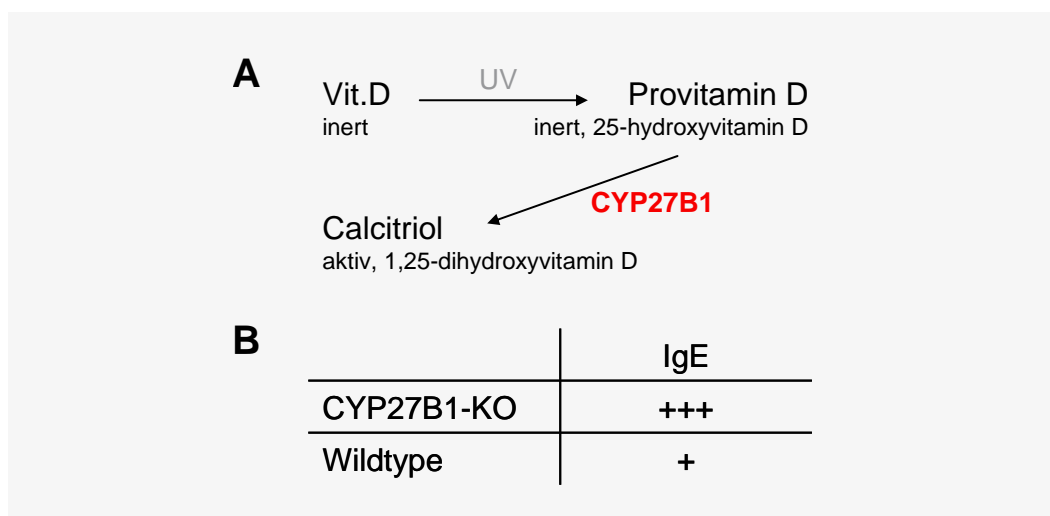


Abbildung 3: Aktives Vitamin D kontrolliert die Typ-I allergische Immunantwort. (A) CYP27B1 ist ein kritisches und einzigartiges Enzym zur Synthese von biologisch aktivem Vitamin D (Calcitriol). (B) Die OVA-spezifische humorale IgE-Antwort findet in CYP27B1-KO-Mäusen stärker als in deren Wildtyptieren statt.

## Relevanz IgE sezernierender Plasmazellen in Typ-I-Allergien

Allergen-spezifisches IgE ist das Schlüsselmolekül Typ-I-allergischer Immunreaktionen und wird von terminal differenzierten B-Zellen, also Plasmablasten und Plasmazellen sezerniert. Plasmablasten differenzieren nach Antigen-spezifischer Stimulation aus B-Lymphozyten und sind meist kurzlebig. Wir konnten erstmalig zeigen, dass die für die Erhaltung von Typ-I-Allergien wichtigen langlebigen Plasmazellen durch langfristige Inhalation erzeugbar sind. Diese Zellen sind therapieresistent.

Ziel dieses Projektes ist es, durch Entwicklung innovativer Strategien diese Zellen zu eliminieren um somit den „Motor“ allergischer Erkrankungen, die anhaltende Produktion Allergen-spezifischer IgE-Antikörper, langfristig abzustellen und in Typ-I allergischen Mausmodellen funktionell zu überprüfen.

### Einleitung

Das Schlüsselmolekül Typ-I-allergischer Erkrankungen, Immunglobulin der Klasse E (IgE), entsteht nach Interaktion von Allergen-spezifischen Th2-Zellen mit B-Zellen und deren Isotypenklassenwechsel zu IgE. Nach weiterer Differenzierung zu Antikörper-sezernierenden Plasmablasten werden diese IgE Moleküle ins Serum abgegeben und binden an Effektorzellen Typ-I-allergischer Reaktionen, z.B. die Mastzellen oder basophile Granulozyten. Während verstärkter Allergenexposition, z.B. in der Pollensaison ist die spezifische IgE-Konzentration im Serum oft transient erhöht. Dies ist wahrscheinlich auf die Bildung von Antigen-abhängigen und kurzlebigen Antikörper-sezernierenden Zellen zurückzuführen, da die Halbwertszeit von IgE im Serum nur 12 Stunden beträgt und die Menge des sezernierten Antikörpers pro Zelle stabil ist. Somit sind in der Allergen-freien Zeit andere Zellen, die von Antigen-unabhängig sind, für den Erhalt der IgE Antikörperspiegel und somit der Typ-I-

Allergie verantwortlich, wie z.B. langlebige Plasmazellen.

Langlebige IgE Plasmazellen wurden 1983 erstmals beschrieben und gelten bis heute als resistent gegenüber konventionellen Therapien. Dazu zählen die allergen-spezifische Immuntherapie, Glukokortikoide, Cyclophosphamid, Cyclosporin oder die B-Zell-depletierende CD20 Antikörperbehandlung. Zu den möglichen Ursachen der Therapieresistenz zählen fehlende Proliferation und Migration dieser Plasmazellen sowie Herunterregulation von B-Zell-typischen Oberflächenantigenen wie CD20. Man geht davon aus, dass sich langlebige Plasmazellen über Jahre stationär in hochspezialisierten Nischen befinden, die von bestimmten Zellen und Botenstoffen gebildet werden.

In eigenen Daten konnten wir zeigen, dass bei Typ-I-sensibilisierten Mäusen durch wiederholte mukosale Allergenexposition, also über die Inhalation von vernebeltem Allergen, langlebige, therapieresistente allergenspezifische IgE Plasmazellen entstehen, die im Knochenmark und in der Milz langfristig überleben (11). Dieses Projekt hat das Ziel, Konzepte zu entwickeln, um allergenspezifische Plasmazellen direkt aufgrund intrinsischer oder extrinsischer Eigenschaften zu eliminieren, z.B. durch Interferenz mit deren Stoffwechsel oder essentiellen Überlebensfaktoren. Gegenwärtig untersuchen wir die funktionelle Relevanz in Typ-I-allergischen Mausmodellen.

### Perspektive

Ziel dieses Projektes ist es, durch innovative Strategien langlebige IgE-Plasmazellen zu eliminieren, die Auswirkungen auf den Verlauf von Allergien zu bestimmen, um perspektivisch die antiallergische Therapie zu verbessern.

### WISSENSCHAFTLER

A. Radbruch, EO. Luger; M. Worm

### KOOPERATIONSPARTNER

H. Renz (Marburg)

### REFERENZEN

11. Luger, E. O., V. Fokuhl, M. Wegmann, M. Abram, K. Tillack, G. Achatz, R. A. Manz, M. Worm, A. Radbruch, and H. Renz. 2009. Induction of long-lived allergen-specific plasma cells by mucosal allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 124:819-826 e814.

### PUBLIKATIONEN

EO Luger, A Radbruch, M Worm. B cells in allergy. Bookchapter in: *Immunology of Ocular Allergy*, Editors: M Zierhut, T Biedermann, S Ono, Publisher: Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, India, in press

EO Luger, M Wegmann, G Achatz, M Worm, H Renz, A Radbruch. Allergy for a Lifetime? *Allergology International*. 59(1):1-8 (2010)

EO Luger, V Fokuhl, M Abram, M Wegmann, M Worm, H Renz, A Radbruch. Induction of long-lived allergen-specific plasma cells by mucosal allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 124, 819-26 (2009)

M Abram, M Wegmann, V Fokuhl, S Sonar, EO Luger, S Kerzel, A Radbruch, H Renz, M Zemlin. Nerve growth factor and neurotrophin-3 mediate survival of pulmonary plasma cells during the allergic airway inflammation. *J Immunol* 182(8):4705-12 (2009)

G Achatz-Straussberger, N Zaborsky, S Königsberger, EO Luger, M Lamers, R Cramer, G Achatz. Migration of antibody secreting cells towards CXCL12 depends on the isotype that forms the BCR. *Eur J Immunol* 38(11):3167-77 (2009)

EO Luger, V Fokuhl, M Wegmann, M Abram, H Renz, A Radbruch and M Worm. Different lifespans of allergen-specific IgE plasma cells? *ICI National Proceedings Division, International Proceedings*, 25-29 (2007)

A Radbruch, G Muehlinghaus, EO Luger, A Inamine, KG Smith, T Dorner, and F Hiepe. Competence and competition: the challenge of becoming a long-lived plasma cell. *Nat Rev Immunol* 6:741-750 (2006)

### DRITTMITTEL

DFG (Ra426/4-1).



■  
WISSENSCHAFTLER

C. Weise, S. Dölle, A. Radbruch,  
M. Worm

■  
KOOPERATIONSPARTNER

Dr. rer. nat. R. Rühl, Dept.  
Biochemistry and Molecular  
Biology, University of Debrecen,  
Hungary

■  
REFERENZEN

8. Koch, C., S. Dölle, M. Metzger, C. Rasche, H. Jungclas, R. Rühl, H. Renz, and M. Worm. 2008. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in atopic eczema: a randomized, double-blind, controlled trial. *Br J Dermatol* 158:786-792.

9. Weise, C., K. Hilt, M. Milovanovic, D. Ernst, R. Rühl, and M. Worm. 2010. Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by direct interference with STAT6 and NFkappaB pathway in human B cells. *J Nutr Biochem* 22:269-275.

10. Weise C, Heunemann C, Lodenkemper C, Herz U, van Tol EAF and Worm M. 2011. Dietary docosahexaenoic acid in combination with arachidonic acid ameliorates allergen-induced dermatitis in mice. *Pediatr Allergy Immunol* 22(5): 497-504.

■  
PUBLIKATIONEN

1. Rühl R, Koch C, Marosvölgyi T, Mihály J, Schweigert FJ, Worm M and Decsi T. 2008. Fatty acid composition of serum lipid classes in mice following allergic sensitisation with or without dietary docosahexaenoic acid-enriched fish oil substitution. *Br J Nutr* 99(6): 1239-46.

2. Koch C, Dölle S, Metzger M, Rasche C, Jungclas H, Rühl R, Renz H and Worm M. 2008. Docosahexaenoic acid (DHA) supplementation in atopic eczema – a randomised, double-blind, controlled trial. *Br J Dermatol*; 158(4): 786–792.

3. Dahten A, Koch C, Ernst D, Schnöller C, Hartmann S and Worm M. 2008. Systemic PPARγ-ligation inhibits the allergic immune response in the skin. *J Invest Dermatol* 128(9): 2211-8.

## DHA und Allergie

**Der westliche Lebensstil und damit bestimmte Ernährungsgewohnheiten werden mit dem weltweiten Prävalenzanstieg von Allergien assoziiert. Der gesteigerte Konsum von Pflanzenölen mit einem hohen Anteil an omega-6 (n-6) mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) sowie der verminderte Verzehr an n-3-PUFA-reichen Fischprodukten ist dafür charakteristisch. Beide PUFA-Klassen sowie deren Metabolite sind an verschiedenen biologischen Prozessen essentiell beteiligt. Das erhöhte n-6:n-3-PUFA-Verhältnis begünstigt allergische Erkrankungen, wie Neurodermitis (atopisches Ekzem), durch die verstärkte Bildung der entzündlichen n-6-Mediatoren. In diesem Projekt untersuchen wir die Mechanismen von bioaktiven Fettsäuren mit dem Ziel neue Konzepte zur Prävention und Therapie allergischer Erkrankungen zu entwickeln.**

### Einleitung

Das atopische Ekzem (Neurodermitis) ist eine meist im frühen Kindesalter beginnende chronisch entzündliche Hauterkrankung, dessen Pathogenese durch eine komplexe Kombination von genetischen, immunologischen und Umweltfaktoren bedingt ist. Die Ernährung im Säuglingsalter ist dabei von wesentlicher Bedeutung, wobei das rückläufige Stillverhalten scheinbar die Manifestation begünstigt. Die Muttermilch liefert dem Säugling die optimale Kombination von Nährstoffen, wie Arachidonsäure (AA; C20:4n-6) und Docosahexaensäure (DHA; C22:6n-3), die auch für die Reifung des Immunsystems wesentlich sind. Interessanterweise geht das atopische Ekzem mit einer Störung des PUFA-Stoffwechsels einher, dessen Ausprägungsstärke mit dem Krankheitsrisiko korreliert. Der in diesem Zusammenhang beschriebene verminderte

n-6-Metabolismus widerspricht einer alleinigen Verabreichung der als anti-entzündlich geltenden n-3-PUFA, sondern favorisiert eine kombinierte Gabe mit langkettigen n-6-PUFA.

Eigene Daten deuten an, dass DHA-Einnahme in einer kontrollierten eigen-initiierten Studie den Hautbefund bei Neurodermitikern verbessert (8). Ferner ist die ex vivo induzierte IgE Antwort durch DHA reduziert (9). Kürzlich konnten wir die Verbesserung der allergischen Entzündung der Haut durch DHA/AA zeigen, die mit erhöhter IL-10 und verminderter TSLP-Produktion der Keratinozyten einhergeht (10).

### Perspektive

Diese Daten verdeutlichen das immunmodulatorische Potenzial von langkettigen PUFA und die Abhängigkeit der Wirkung von Zeitpunkt, Dosis und Zusammensetzung der Supplementation. Gegenstand aktueller Forschung ist es, weitere beteiligte *in vivo* relevante PUFA und Mediatoren zu identifizieren, mit dem Ziel neue Präventions- und Therapiekonzepte für die Klinik zu entwickeln.

■  
DRITTMITTEL

Charité – Universitätsmedizin Berlin

4. Milovanovic M, Drozdenko G, Weise C, Babina M and Worm M. 2010. Interleukin-17A promotes IgE production in human B cells. *J Invest Dermatol* 130(11): 2621-8.

5. Weise C, Hilt K, Milovanovic M, Ernst D, Rühl R and Worm M. 2011. Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by direct interference with STAT6 and NFkappaB pathway in human B cells. *J Nutr Biochem* 22(3): 269-75.

6. Weise C, Heunemann C, Lodenkemper C, Herz U, van Tol EAF and Worm M. 2011. Dietary docosahexaenoic acid in combination with arachidonic acid ameliorates allergen-induced dermatitis in mice. *Pediatr Allergy Immunol* 22(5): 497-504.

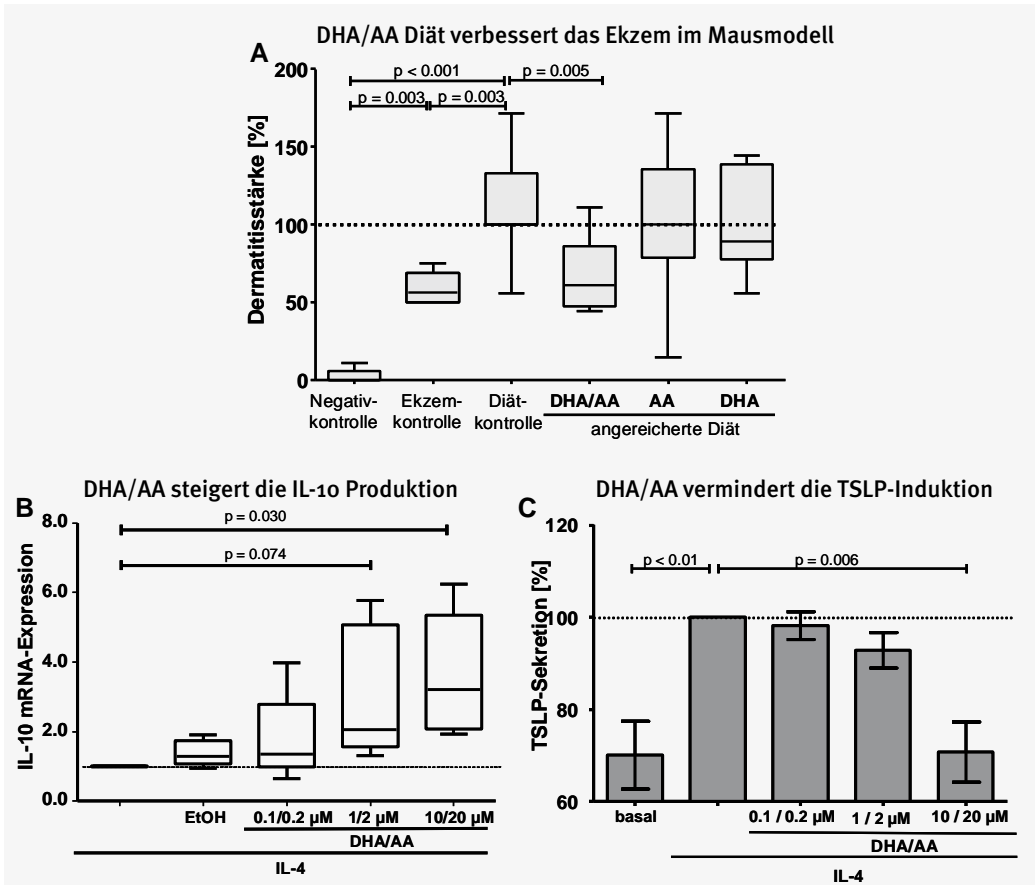


Abbildung 1:

A) DHA/AA–angereichertes Futter reduziert die Ausprägung der Allergen-induzierten Dermatitis in Balb/c-Mäusen (Diätkontrolle=100%). DHA/AA induzieren die B) IL-10-Expression und C) vermindert die TSLP-Produktion in Keratinozyten (PUFA-unbehandelte Probe=100%).



Programmbereich 2

# Epidemiologie rheumatischer Erkrankungen

Listing, Biometrie / Klinische Studien .....	130
Minden, Kinder- und Jugendrheumatologie .....	134
Strangfeld, Pharmakoepidemiologie.....	138
Westhoff, Prognosestudien & Frühkohorten .....	142
Zink, Versorgungsforschung und Qualitätssicherung .....	146





Dr. Joachim Listing

## Biometrie / Klinische Studien

### Rechnen allein genügt nicht

#### STICHWORTE

Klinische Studien  
Statistische Methoden

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Dr. Joachim Listing

Statistikerinnen  
Johanna Callhoff  
Dörte Huscher  
Anja Weiß

Medizinische Dokumentarin  
Claudia Fritz

Forschungsassistentin  
Sabine Achtelstetter

Studentische Hilfskraft  
Christoph Thomann

Biometrie ist eine angewandte Wissenschaft. Das Ziel, biologische Prozesse zu messen und zufällige von systematischen Einflüssen zu trennen, gab ihr den Namen. Wie zu ihren Anfängen vor 200 oder als eigenständige Wissenschaft vor ca. 80 Jahren erfordert sie auch heute sowohl ein tiefes Verständnis mathematischer Grundlagen als auch ein Verständnis der medizinischen oder biologischen Hintergründe einer konkreten Fragestellung. Oder wie es R.A. Fisher vor 80 Jahren feststellte, der Statistiker sei kein „alchemist expected to produce gold from any worthless material offered to him. He is more like a chemist capable of assaying exactly how much of value it contains“.

Biometrie beginnt für uns mit der gemeinsam mit dem Mediziner, Epidemiologen oder Immunologen durchgeführten Versuchsplanung und der gemeinsamen Antragstellung zur Finanzierung des Projektes. Die engste Einbindung unserer Arbeitsgruppe besteht erwartungsgemäß in Projekte, die am Programmbereich Epidemiologie durchgeführt werden. Darüber hinaus übernehmen wir die biometrische Verantwortung von klinischen Studien, die von Rheumatologen der Charité initiiert werden, von Projekten des Programmbereichs I sowie von internationalen Projekten.

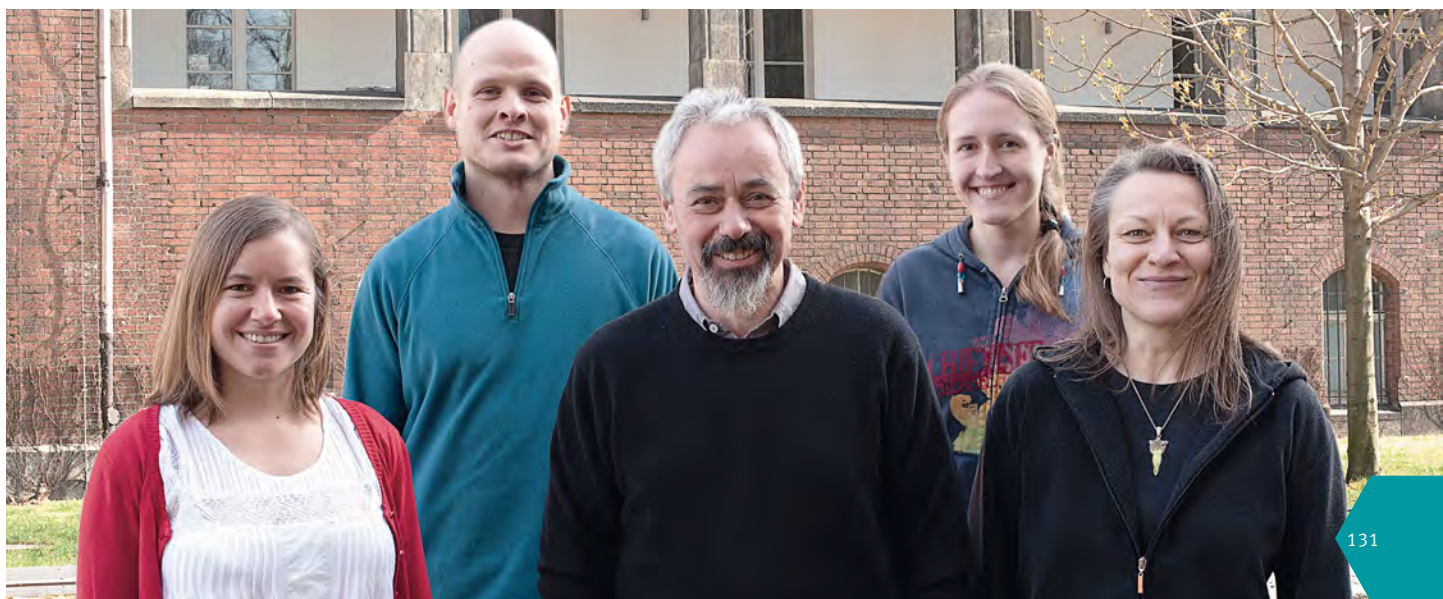
#### Schwerpunkte unserer Arbeit sind:

- Prüfung von Wirksamkeit und Sicherheit neuer Substanzen
- Evaluierung von Therapiestrategien
- Untersuchung der prognostischen Wertigkeit von Biomarkern, von Risikofaktoren für das Auftreten schwerwiegender unerwünschter Ereignisse
- Diagnosestudien

- Biometrische Verantwortung von Tierversuchs- und Ethikanträgen, die von Wissenschaftlern des Programmbereichs I gestellt werden, als gemeinsame Aufgabe der 7 Statistiker des Programmbereichs II.
- Supervision aller Statistiker des Programmbereichs II.

Ein wichtiger Teil unserer Arbeit resultiert aus der Tatsache, dass Messreihen von klinischen, epidemiologischen oder immunologischen Daten fast immer unvollständig sind. Es ist ethisch nicht tolerierbar, einen Patienten unter einer Therapie zu belassen, die nicht wirkt oder die bei ihr/ihm zu einer schweren Nebenwirkung geführt hat. Darüber hinaus haben Patienten natürlich das Recht, jederzeit eine Studie ohne Angabe von Gründen zu beenden.

Stellt die Unvollständigkeit von Daten ein Problem dar? Die Antwort lautet: ja. Messwerte fehlen nicht zufällig, sondern weil bestimmte Ursachen eingetreten sind. Das führt dazu, dass sich Patienten mit vollständigen Daten (sog. Completer) in ihren Eigenschaften von Patienten mit unvollständigen Daten unterscheiden. Diese Tatsache kann zu erheblichen Verzerrungen in den Ergebnissen führen. Die Prüfung, welche Verzerrungen durch die fehlenden Werte aufgetreten sind und die Anwendung von Methoden, die geeignet sind, diese Verzerrungen wieder „herauszurechnen“, stellt deshalb einen wichtigen Teil unserer Arbeit dar. Ein Beispiel dafür ist in dem Artikel von Anja Strangfeld (A. Strangfeld und Mitarbeiter, Ann Rheum Dis 2011; 1914-20.), ein weiteres auf der folgenden Seite dargestellt.



#### KOOPERATIONSPARTNER

Joachim Sieper, Gerd-Rüdiger Burmester, Frank Buttgeriet, Jaqueline Detert, Hildrun Haibel, Denis Poddubnyy, Gabriela Riemekasten, Martin Rudwaleit, In-Ho Song; Charité - Universitätsmedizin Berlin

Jürgen Braun, Xenofon Baraliakos; Rheumazentrum Ruhrgebiet Herne

Georg Schett, Jörg H.W. Distler; Universität Erlangen-Nürnberg

Oliver Distler; Universitäts-Spital Zürich, Schweiz

Markus.J. Seibel; ANZAC Research Institute, Sidney, Australia

#### AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

- 1) Distler JH, Strapatsas T, Huscher D, Dees C, Akhmetshina A, Kiener HP, Tamer IH, Maurer B, Walder M, Michel B, Gay S, Smolen JS, Muller-Ladner U, Schett G, Distler O. Dysbalance of angiogenic and angiostatic mediators in patients with mixed connective tissue disease. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1197-1202.
- 2) Engler JB, Undeutsch R, Kloke L, Rosenberger S, Backhaus M, Schneider U, Egerer K, Dragun D, Hofmann J, Huscher D, Burmester GR, Humrich JY, Enghard P, Riemekasten G. Unmasking of autoreactive CD4 T cells by depletion of CD25 regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2011;70:2176-2183.
- 3) Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J; Listing J, Zink A et al. American College of Rheumatology/European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(3):404-13.
- 4) Henneicke H, Herrmann M, Kalak R, Brennan-Speranza TC, Heinevetter U, Bertollo N, Day RE, Huscher D, Buttgeriet F, Dunstan C R, Seibel MJ, Zhou H. Corticosterone selectively targets endo-cortical surfaces by an osteoblast-dependent mechanism. *Bone* 2011;49:733-742.
- 5) Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, Sieper J. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2011.
- 6) Strangfeld A, Eveslage M, Schneider M, Bergerhausen HJ, Klopsch T, Zink A, Listing J. Treatment benefit or survival of the fittest: what drives the time-dependent decrease in serious infection rates under TNF inhibition and what does this imply for the individual patient? *Ann Rheum Dis* 2011; 70 (11): 1914-20.
- 7) Song IH, Hermann K, Haibel H, Althoff C, Listing J, Burmester G, Krause A, Bohl-Buhler M, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J: Effects of etanercept versus sulfasalazine in early axial spondyloarthritis on active inflammatory lesions as detected by whole-body MRI (ESTHER): a 48-week randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(4):590-6.
- 8) Song IH, Hermann KG, Haibel H, Althoff CE, Poddubnyy D, Listing J, Weiss A, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J. Relationship between active inflammatory lesions in the spine and sacroiliac joints and new development of chronic lesions on whole-body MRI in early axial spondyloarthritis: results of the ESTHER trial at week 48. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(7):1257-63.
- 9) Song IH, Heldmann F, Rudwaleit M, Haibel H, Weiss A, Braun J, Sieper J: Treatment of active ankylosing spondylitis with abatacept: an open-label, 24-week pilot study. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(6):1108-10.
- 10) Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J. Rates and predictors of radiographic sacroiliitis progression over 2 years in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(8):1369-74.

## WISSENSCHAFTLER

Anja Weiß,  
Joachim Listing

## KOOPERATIONSPARTNER

Gerdr-Rüdiger Burmester, Frank  
Buttgereit, Jaqueline Detert  
Universitätsmedizin Berlin

## PUBLIKATIONEN

Literatur zum Projekt ist bislang  
nur eingereicht:

132

Detert, J., Bastian, H.,  
Listing, J., Weiß, A.,  
Wassenberg, S.,  
Liebhaber, A., Rockwitz,  
K., Alten, R.H.-E., Krüger,  
K., Rau, R., Simon, C.,  
Gremmelsbacher, E., Braun,  
T., Marsmann, B., Höhne-Zimmer,  
V., Egerer, K., Buttgereit, F.,  
Burmester, G. - R.

Induction therapy with adalimumab plus methotrexate for 24 weeks followed by methotrexate monotherapy up to week 48 versus methotrexate therapy alone for DMARD-naive patients with early rheumatoid arthritis – HIT HARD, an investigator initiated study (AnnRheumDis 2012 eingereicht)

## DRITTMITTEL

BMBF

## Induktionstherapie mit Adalimumab und Methotrexat bei DMARD naiven Patienten mit rheumatoider Arthritis – eine Prüfarzt initiierte doppelblinde randomisierte klinische Prüfung

### Zusammenfassung

Bei noch nicht mit krankheitsmodifizierenden Basistherapeutika vorbehandelten Patienten mit früher Rheumatoider Arthritis (RA, Krankheitsdauer < 12 Monate) wurde untersucht, ob eine wirksame Erstbehandlung mit Adalimumab und Methotrexat über ein halbes Jahr auch nach 12 Monaten noch einer Standardtherapie mit Methotrexat überlegen ist. Unsere Arbeitsgruppe hat die biometrische Verantwortung für diese von G.-R. Burmester initiierte randomisierte Plazebo kontrollierte klinische Prüfung übernommen. Um zu vermeiden, dass Studienabbrüche zu Verzerrungen in den Ergebnissen führen, wurden multiple Imputationstechniken und direkte Maximum-Likelihood-Methoden angewandt. Beide Methoden führten zu einem übereinstimmenden Ergebnis: Innerhalb der plazebokontrollierten Phase des ersten halben Jahres gab es eine signifikante und klinisch relevante Überlegenheit der Kombinationstherapie mit Adalimumab und MTX. In den Wochen danach verringerte sich der Unterschied zwischen beiden Therapiearmen und war am Ende von Jahr eins nicht mehr signifikant.

### Einleitung

Die Verfügbarkeit von Biologika hat die therapeutischen Möglichkeiten zur wirksamen Behandlung von Patienten mit Rheumatoider Arthritis (RA) sehr deutlich verbessert. Wegen ihres hohen Preises sind u.a. TNF $\alpha$  Blocker jedoch nicht zur Erstbehandlung einer RA zugelassen, sondern ihr Einsatz ist auf Patienten mit schweren Krankheitsverläufen beschränkt. Sie kommen damit häufig erst dann zum Einsatz, wenn bereits irreversible Schäden eingetreten sind.

Andererseits ist bekannt, dass gerade am Anfang der Erkrankung effektive Therapien wirksam den Entzündungsprozess und damit auch spätere irreversible Schäden an den Gelenken aufhalten können. Nicht geklärt ist die Frage, ob eine sehr wirksame Ersttherapie (Kombination eines TNF $\alpha$  Blockers mit MTX), wenn sie nur über ein halbes Jahr durchgeführt wird, mittelfristig, nach einem Jahr, noch einer MTX Standardbehandlung überlegen ist. Um diese Frage zu klären wurde eine randomisierte doppelblinde klinische Prüfung einer Induktionstherapie von Adalimumab (ADA) und MTX versus Plazebo und MTX bei Patienten mit aktiver RA durchgeführt. Die RA durfte erst seit weniger als 12 Monaten bestehen und noch nicht mit Basistherapeutika behandelt worden sein.

### Ergebnisse

172 Patienten wurden zufällig zwei Therapiearmen zugeordnet und wurden entweder mit ADA und MTX (n=87) oder Plazebo und MTX (n=85) über 24 Wochen behandelt. Danach erfolgte eine Weiterbehandlung mit MTX Monotherapie über weitere 24 Wochen. Das Ziel bestand darin zu prüfen, ob am Ende der 48 wöchigen Behandlungszeit die ADA/MTX Behandlung der Plazebo/MTX Behandlung hinsichtlich der mittleren Krankheitsaktivität (gemessen mit dem disease activity score DAS28) noch überlegen war.

Zu Studienbeginn wiesen die Patienten beider Therapiearme eine vergleichbar hohe Krankheitsaktivität auf.

	ADA/MTX	PLZ/MTX
n	87	85
Krankheitsdauer in Monaten	1,8 (2,1)	1,6 (1,7)
Anzahl geschwollener Gelenke	10,2 (5,0)	10,7 (4,5)
Anzahl schmerzhafter Gelenke	13,0 (6,5)	13,1 (5,9)
DAS28	6,2(0,8)	6,3 (0,9)

Tab. 1: Mittlere Krankheitsdauer und mittlere Krankheitsaktivität der randomisierten Patienten (in Klammern: Standardabweichungen).

76/87 (87,4%) der in die ADA/MTX-Gruppe randomisierten Patienten und 57/85 (67,1%) der Plazebo/MTX Patienten beendeten die Studie protokollgemäß. 39 Patienten schieden vorzeitig aus der klinischen Prüfung aus (Abb. 1). Erwartungsgemäß unterschieden sich die Completer, die die Studie protokollgemäß beendet hatten, von den Studienabbrechern. Die Dropouts der Plazebo/MTX-Gruppe hatten zu ihrer letzten Visite - im Vergleich zu den Completern der Plazebo / MTX- Gruppe zu dieser Visite - einen im Mittel um 0,90 [95 % Konfidenzintervall (KI): 0,4 – 1,4] Punkte signifikant erhöhten DAS28. Der entsprechende Unterschied war für Dropouts der ADA/MTX Gruppe geringer 0,67 [95% KI: 0,0 – 1,3] und nicht mehr signifikant. Um zu vermeiden, dass durch die Studienabbrüche die Ergebnisse verzerrt werden, war im Studienprotokoll festgelegt, dass erstens alle randomisierten Patienten in die statistische Auswertung einzubeziehen sind (sog. Intention-to-treat Analyse) und zweitens fehlende Werte durch statistische Methoden (Regressionstechniken) zu ersetzen sind.



Aufgrund der erhöhten Dropoutzahl in der Plazebo/MTX-Gruppe wurde eine 10-fache Ersetzung fehlender Werte und zusätzlich eine Berechnung des primären Zielparameters nach dem Maximum-Likelihood-Ansatz vorgenommen. Mittels der multiplen Imputation (MI) werden fehlende Daten aus den vorhandenen Daten der Patienten unter Einrechnung des Trends der entsprechenden Behandlungsgruppe mehrfach (hier 10-fach) ersetzt, d.h. ein Set aus mehreren ersetzten Werten für jeden fehlenden Wert erstellt. Damit wird die Unsicherheit über die richtige Ersetzung des fehlenden Wertes indirekt berücksichtigt und eine Überschätzung der Präzision der Ergebnisse vermieden. Das Verfahren erlaubt anschließend eine valide Bewertung, ob Unterschiede zufällig oder statistisch signifikant sind. Der Maximum-Likelihood-Ansatz, hier konkret die Anwendung gemischter linearer Modelle, erlaubt darüber hinaus die verzerrungsfreie Schätzung und Testung von Behandlungseffekten im Falle von Dropouts, die gewisse wenig einschränkende Kriterien erfüllen. Dieses Verfahren wurde zusätzlich angewandt.

Als Ergebnis der multiplen Imputation entstanden 10 vervollständigte Datensätze, die anschließend mithilfe einer Kovarianzanalyse, bei der die Ausgangswerte des DAS28 berücksichtigt wurden, ausgewertet wurden. Dabei ergaben sich, wie in Abb. 2 dargestellt, signifikante Unterschiede im DAS28 zu Woche 8, 16 und 24 aber nicht zu Woche 32, 40 und 48. Hinsichtlich der Hauptfragestellung konnte also kein signifikanter Unterschied zwischen den Therapiearmen im DAS28 zu Woche 48 festgestellt werden. Mittels MI erhielten wir eine mittlere Differenz der DAS28 Werte zwischen beiden Gruppen von 0,21 ([95 %KI: -0,3; 0,7];  $p = 0,41$ ). Das Ergebnis stimmte sehr gut mit demjenigen des Maximum-Likelihood Ansatzes überein: 0,17 ([-0,3; 0,7];  $p = 0,50$ ) (siehe Abb. 2).

Auch der Funktionsstatus der Patienten in der ADA/MTX-Gruppe, gemessen am Health Assessment Questionnaire (HAQ), verbesserte sich deutlich stärker als in der PLZ/MTX-Gruppe, aber dieser Unterschied war nur bis Woche 24 signifikant und ab Woche 32 nicht mehr (siehe Abb. 3).

### Perspektiven

Mit der klinischen Studie sind mehrere grundlagenwissenschaftliche Satellitenprojekte assoziiert. Diese Projekte sind bereits angelaufen und werden von uns biometrisch mitbetreut.

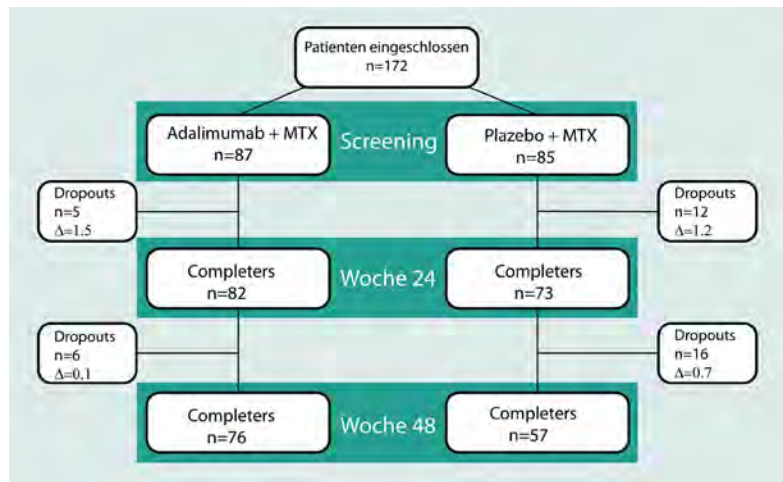


Abbildung 1: Flussbild des Studienverlaufs (Δ: mittlere Differenz der DAS28-Werte der Dropouts im Vergleich zu den Completern).

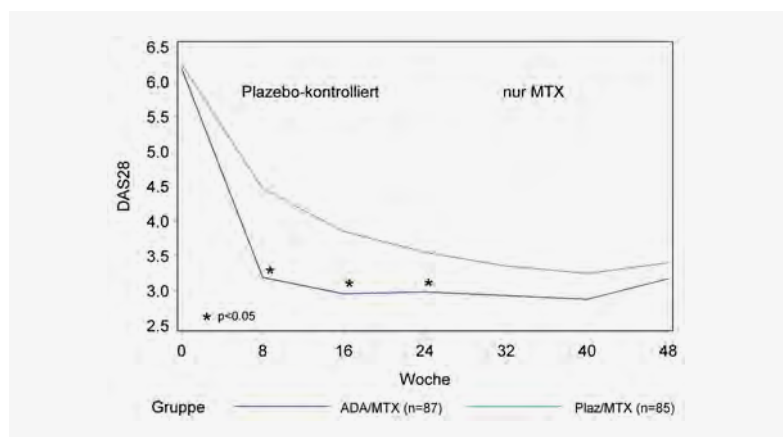


Abbildung 2: Verlauf des DAS28

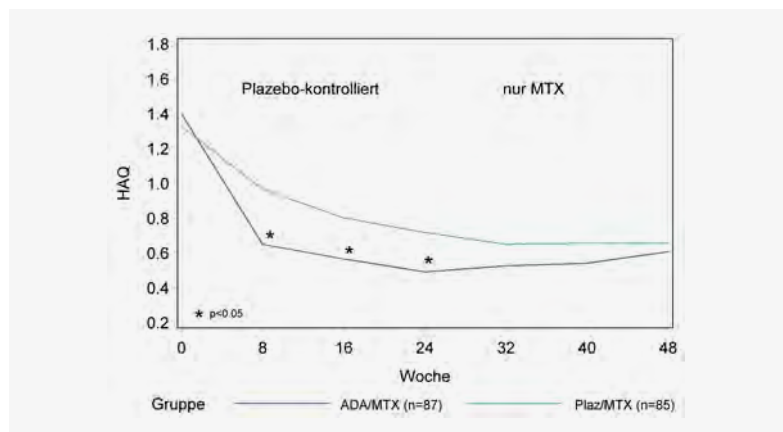


Abbildung 3: Verlauf des HAQ





Dr. med. Kirsten Minden

## Kinder- und Jugendrheumatologie

### Rheumatische Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen - Was ist? Was wird?

#### STICHWORTE

Juvenile idiopathische Arthritis, Krankheitslast, Prognose, Versorgungssituation, Pharmakovigilanz

#### MITARBEITER

Gruppenleiter  
Dr. med. Kirsten Minden

Wissenschaftler  
Dr. rer. nat. Jens Klotsche  
Martina Niewerth (MPH)  
Dr. med. Anna Raab  
Dr. med. Claudia Sengler

Medizinische Dokumentare  
Ina Liedmann, Karin Weber

Doktoranden  
Anja Fröhlich, Katrin Stüdemann

Studenten  
Stephanie Everts, Nils Geisemeyer  
Céline Heinermann  
Jana Hörstermann, Anke Leder  
Yamina Saran

Rheumatische Erkrankungen gehören zu den häufigsten chronischen Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Etwa jedes tausendste Kind ist hiervon betroffen. Hauptvertreter der chronischen, entzündlich-rheumatischen Erkrankungen im Kindesalter ist die juvenile idiopathische Arthritis (JIA). Die JIA umfasst eine sehr heterogene Patientenklientel. Gemeinsames Merkmal der aktuell voneinander abzugrenzenden sieben JIA-Subtypen ist die chronische Gelenkentzündung unklarer Ursache. Gemeinsam ist allen Erkrankungsformen der JIA auch, dass sie das Wachstum und die Entwicklung des betroffenen Kindes beeinflussen und es langfristig in seinen Alltagsaktivitäten sowie in seiner Lebensqualität einschränken können.

Die Gruppe Kindes- und Jugendrheumatologie untersucht die Krankheitslast und Prognose der rheumatischen Erkrankungen mit Beginn im Kindesalter und erfasst Strukturen, Prozesse und Ergebnisse der Versorgung dieser Patienten.

*JuMBO stellt die Fortsetzung des Biologikaregisters in der Kinderreumatologie (BiKer) dar und untersucht die Langzeitsicherheit und -wirksamkeit von biologischen Medikamenten bei Patienten mit JIA. Bisher werden über 600 jungen Erwachsenen mit JIA halbjährlich befragt und untersucht.*

Im Rahmen von vier Beobachtungsstudien (siehe Abbildung) beschäftigen wir uns mit folgenden Fragen:

- Wie werden rheumakranke Kinder, Jugendliche und junge Erwachsene versorgt?
- Welche Auswirkungen haben juvenile rheumatische Erkrankungen für die Betroffenen und ihre Familien?
- Wie wirksam, verträglich und kosteneffizient sind die neuen biologischen Therapien bei Einsatz im Kindesalter?
- Welche Faktoren bestimmen Verlauf und Outcome der juvenilen rheumatischen Erkrankungen?

Diese Untersuchungen werden in enger Zusammenarbeit mit mehr als 100 pädiatrischen & internistischen Rheumatologen und Augenärzten in Deutschland sowie in Vernetzung mit experimentell arbeitenden Gruppen durchgeführt.

*Fokus Transition ist ein Add-on Projekt der Kerndokumentation. Es untersucht, wie gut der Wechsel in die internistische Rheumatologie funktioniert. Knapp 250 junge Erwachsene werden nach Abschluss der kinderrheumatologischen Betreuung über drei Jahre befragt.*



*Mit der Kerndokumentation für rheumakranke Kinder und Jugendliche werden jährlich epidemiologische Daten von über 8.000 rheumakranken Kindern und Jugendlichen an mehr als 65 pädiatrischen Einrichtungen erhoben. Es werden Standards und Trends in der Versorgung aufgezeigt, Versorgungsdefizite identifiziert und die Krankheitslast verdeutlicht.*

*Derzeit sind etwa 700 neu an JIA erkrankte Patienten in die noch im Aufbau befindliche JIA-Kohorte ICON eingeschlossen. Von diesen werden z.B. klinische, genetische und psychosoziale Parameter erfasst und hinsichtlich der Prognose der Erkrankung (u.a. Persistenz der Erkrankung, Entwicklung von Folgeschäden, Einschränkung der Lebensqualität) untersucht.*



#### KOOPERATIONSPARTNER

Dr. Ivan Foeldvari, Kinderreumatologische Praxis am AK Eilbek, Hamburg

Prof. Dr. Dirk Foell, Universitätskinderklinik Münster

Dr. Gerd Ganser, St. Joseph-Stift, Sendenhorst

Prof. Dr. Johannes-Peter Haas, Deutsches Zentrum für Kinder- und Jugendrheumatologie, Garmisch Partenkirchen

Prof. Dr. Gerd Horneff, Asklepios Kinderklinik Sankt Augustin

Dr. Anton Hospach, Olgahospital Stuttgart

Frank Weller, Prof.-Hess-Kinderklinik, Bremen

PD Dr. Tilmann Kallinich, Kinderklinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin

PD Dr. Jasmin Kümmerle-Deschner, Universitätskinderklinik Tübingen

PD Dr. Min Ae Lee-Kirsch, Universität Dresden

Dr. Heinrike Schmeling, Universität Calgary, Kanada

Dr. Kirsten Mönkemöller, Kinderkrankenhaus der Stadt Köln

Dr. Angelika Thon, Medizinische Hochschule Hannover

Dr. Nikolay Tzaribachev, Rheumaklinik Bad Bramstedt

Prof. Dr. Nico Wulfraat, Pediatric Immunology and Rheumatology, Wilhelmina Kinderziekenhuis, Utrecht, NL

und 50 weitere kinder- und jugendrheumatologische Einrichtungen

sowie mehr als 100 internistisch-rheumatologische Einrichtungen

Prof. Dr. Arnd Heiligenhaus | Augenabteilung am St. Franziskus Hospital, Münster

und weitere 100 augenärztliche Einrichtungen

UCAN, Pharmachild

#### AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, Kopp I, Neudorf U, Niehues T, Baus H, Becker M, Bertram B, Dannecker G, Deuter C, Foeldvari I, Frosch M, Ganser G, Gaubitz M, Gerdes G, Horneff G, Illhardt A, Mackensen F, Minden K, Pleyer U, Schneider M, Wagner N, Zierhut M. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2012;32 (5):1121-33

Heijstek MW, Ott de Bruin LM, Borrow R, van der Klis F, Koné-Paut I, Fasth A, Minden K, Ravelli A, Abinun M, Pileggi G, Borte M, Bijl M, Wulfraat NM. Vaccination in paediatric patients with auto-immune rheumatic diseases: A systemic literature review for the European League against Rheumatism evidence-based recommendations. *Autoimmun Rev* 2011; 11(2):112-122

Heijstek MW, Ott de Bruin LM, Bijl M, Borrow R, van der Klis F, Koné-Paut I, Fasth A, Minden K, Ravelli A, Abinun M, Pileggi GS, Borte M, Wulfraat NM. EULAR recommendations for vaccination in paediatric patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1704-12.

Horneff G, Foeldvari I, Minden K, Moebius D, Hospach T. Report on malignancies in the German juvenile arthritis registry. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50:230-6.

van Dijken TD, Vastert SJ, Gerloni VM, Pontikaki I, Linnemann K, Girschick H, Armbrust W, Minden K,

Prince FH, Kokke FT, Nieuwenhuis EE, Horneff G, Wulfraat NM. Development of inflammatory bowel disease in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol* 2011;38:1441-6.

Nedjai B, Hitman GA, Church LD, Minden K, Whiteford ML, McKee S, Stjernberg S, Pettersson T, Ranki A, Hawkins PN, Arkwright PD, McDermott MF, Turner MD. Differential cytokine secretion results from p65 and c-Rel NF-κB subunit signaling in peripheral blood mononuclear cells of TNF receptor-associated periodic syndrome patients. *Cell Immunol.* 2011;268(2):55-9.

Saad-Magalhaes C, Pistorio A, Ravelli A, Filocomo G, Viola S, Brik R, Mihaylova D, Cate RT, Andersson-Gare B, Ferriani V, Minden K, Hashkes P, Rygg M, Sauvain MJ, Venning H, Martini A, Ruperto N Does removal of aids/devices and help make a difference in the Childhood Health Assessment Questionnaire disability index? *Ann Rheum Dis* 2010; 69(1):82-7

Ruperto N, Lovell DJ, Quartier P, Paz E, Rubio-Pérez N, Silva CA, Abud-Mendoza C, Burgos-Vargas R, Gerloni V, Melo-Gomes JA, Saad-Magalhães C, Chavez-Corales J, Huemer C, Kivitz A, Blanco FJ, Foeldvari I, Hofer M, Horneff G, Huppertz HI, Job-Deslandre C, Loy A, Minden K, Punaro M, Nunez AF, Sigal LH, Block AJ, Nys M, Martini A, Giannini EH Paediatric Rheumatology International Trials Organization and the Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. Long-term safety and efficacy of abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2010 Jun;62(6):1792-802.

Minden K, Niewerth M. Entzündlich-rheumatische Erkrankungen. *Berichterstattung des Bundes 2010; Heft 49*, Herausgeber Robert-Koch-Institut.

## Krankheitslast und Morbidität der juvenilen idiopathischen Arthritis

### MITARBEITER

M. Niewerth, J. Klotsche, A. Raab, I. Liedmann, K. Weber, K. Stüdemann, K. Minden

### KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Dr. Dirk Foell, Universitätskinderklinik Münster

Dr. Kirsten Mönkemöller, Kinderkrankenhaus der Stadt Köln

Prof. Dr. Arnd Heiligenhaus, Augenabteilung am St. Franziskus Hospital, Münster

Prof. Dr. Gerd Horneff, Asklepios Kinderklinik Sankt Augustin

und 15 weitere kinder- und jugendrheumatologische Einrichtungen sowie mehr als 100 internistisch-rheumatologische Einrichtungen

### PUBLIKATIONEN

Minden K, Niewerth M. Kerndokumentation und Prognose. Monatsschr Kinderheilk 2012;2: im Druck.

Minden K, Niewerth M, Zink A, Seipelt E, Foeldvari I, Girschick H, Ganser G, Horneff G. Long-term outcome of patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA) treated with etanercept, results of the biologic register JuMBO. Rheumatology, im Druck.

### DRITTMITTEL

ICON: BMBF im Rahmen des Programms „Gesundheitsforschung: Forschung für den Menschen“, FKZ: 01ER0812

JuMBO: Firma Pfizer Deutschland GmbH durch unconditional grant

**Chronische rheumatische Erkrankungen wirken sich auf alle Lebensbereiche aus. Die von den Patienten direkt empfundenen körperlichen Folgen der Krankheit, wie Erschöpfung (Fatigue), Schmerz, Morgensteifigkeit und Funktionseinbußen können die Betroffenen in ihren Alltagsaktivitäten und in ihrer Lebensqualität einschränken. Gelenkschmerzen sind das dominierende Symptom zu Erkrankungsbeginn, während Fatigue bei der späten JIA mit im Vordergrund der Beschwerden steht. Auf die subjektiv empfundene Lebensqualität dieser Patienten wirken sich Begleiterkrankungen bedeutsam aus.**

### Einführung:

Die Auswirkungen einer chronischen Erkrankung können nur unter Einbindung der Patientenperspektive angemessen abgebildet werden. Sie spiegelt das individuelle Krankheitserleben wider und ist bei Therapieentscheidungen zu berücksichtigen. Unsere Beobachtungsstudien erfassen deshalb neben den klassischen klinischen Krankheitsparametern auch die Selbsteinschätzung der Krankheitslast durch die Patienten bzw. deren Eltern.

Subjektiv empfundene Symptome und Belastungen zu Beginn der JIA werden im Rahmen der JIA-Frühkohorte ICON dokumentiert. Das Biologika-Register JuMBO hingegen liefert Informationen zu den subjektiv erlebten Auswirkungen der JIA mehr als zehn Jahre nach Krankheitsbeginn. Anhand ausgewählter Ergebnisse aus diesen beiden Beobachtungsstudien werden nachfolgend die Konsequenzen der JIA im frühen und späten Krankheitsstadium aus Sicht der Patienten dargestellt.

### Ergebnisse und Diskussion:

#### 1) Symptome und Krankheitslast zu Beginn der JIA

Die JIA äußert sich zu Beginn mit Schwellungen und/oder Schmerzen der Gelenke sowie Gangauffälligkeiten (Abbildung 1). Erst ab dem Schulalter wird der Schmerz zum führenden Krankheitssymptom.

Etwa 2/3 der neu erkrankten Kinder leiden unter täglichen Schmerzen. Jedes dritte Kind empfindet mäßige bis starke Schmerzen, was diese Kinder deutlich von einer gesunden Kontrollgruppe gleichen Alters abgrenzt (Abbildung 2).

Die Schmerzen werden von den Kindern und Jugendlichen mit JIA erstaunlich gut im Alltag kompensiert. Nur 35% der Kinder und Jugendlichen fühlen sich bei Alltagsaktivitäten eingeschränkt. Allerdings bestehen signifikante Unterschiede in der Funktionsfähigkeit von Kindern mit verschiedenen Gelenkrheumaformen (Abbildung 3).

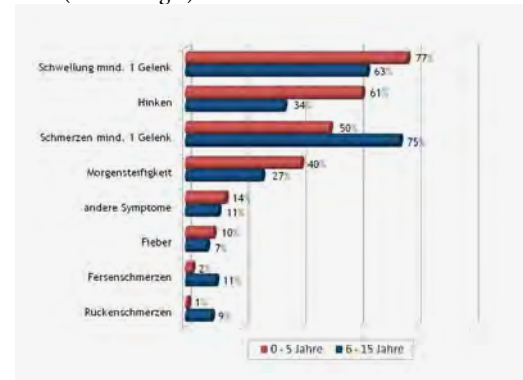


Abbildung 1: Symptome zu Krankheitsbeginn, Angaben von 609 in ICON erfassten Patienten bzw. deren Eltern

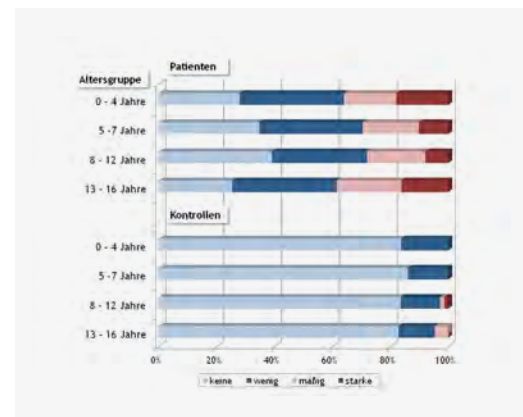


Abbildung 2: Angaben zur Schmerzstärke von 609 neu an JIA erkrankten Kindern und 243 Kontrollkindern

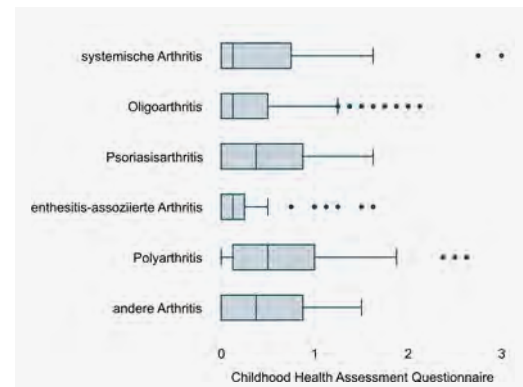


Abbildung 3: Funktionsfähigkeit im Alltag (gemessen mit dem Childhood Health Assessment Questionnaire, Score 0-3) in Abhängigkeit von der JIA-Subgruppe (0=keine Einschränkung)

## 2) Symptome und Begleiterkrankungen 10 Jahre nach Beginn der JIA

Auch im jungen Erwachsenenalter, d.h. etwa 10 Jahre nach Krankheitsbeginn, muss sich noch ein Drittel der Patienten mit Fatigue, Schmerzen und Funktionsminderungen im Alltag auseinandersetzen. Diese Kennziffern gelten allerdings für die im JuMBO-Register erfassten, d.h. schwer betroffenen und in der Regel noch behandlungsbedürftigen Patienten. Sie sind nicht auf das Gesamtkollektiv an JIA Erkrankter übertragbar.

Das Wohlbefinden der Patienten wird durch (neben der chronischen Arthritis bestehende) Begleiterkrankungen relevant beeinflusst. Patienten mit mindestens einer Begleiterkrankung leiden signifikant häufiger unter Fatigue und Schmerzen als Patienten ohne Begleiterkrankung (Tabelle 1). Zudem bewerten sie ihre körperliche Gesundheit, nicht jedoch ihre psychosoziale Gesundheit, signifikant schlechter.

Tabelle 1: Zusammenhang zwischen Komorbidität und aktuellem Gesundheitszustand.

	Patienten		MD** [p Wert]
	ohne Begleiterkrankung	mit Begleiterkrankung	
	Mittelwert [SD]*	Mittelwert [SD]	
N	105	173	
Schmerzen (NRS 0-10)	2,1 [2,1]	3,4 [2,4]	<0,001
Fatigue (NRS 0-10)	2,2 [2,3]	3,4 [2,8]	<0,001
HAQ (Score 0-3)	0,3 [0,5]	0,5 [0,7]	<0,001
SF36 – körperlicher Summenscore	48,3 [9,3]	42,4 [11,5]	<0,001
SF36 – psychischer Summenscore	51,2 [8,0]	49,0 [10,7]	0,074

\* SD = Standardabweichung

\*\* MD = mittlere Differenz zwischen Patienten mit und ohne Komorbidität.

Tabelle 2: Häufigste Komorbiditäten in Prozent bei 278 jungen Erwachsenen mit JIA.

Komorbidität	Prozent
Irgendeine Komorbidität	62,2
Uveitis	19,3
Allergische Rhinitis	14,0
Migräne	8,6
Atopische Dermatitis	7,9
Hypertension	7,6
Asthma	7,6
Psoriasis	6,8
Depression	5,8

Die acht häufigsten von jungen Erwachsenen mit JIA angegebenen Komorbiditäten (Prävalenz >5%) sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Uveitis und Psoriasis sind im Zusammenhang mit der rheumatischen Erkrankung zu sehen. Vergleichsdaten aus einer alters- und geschlechtsgemachten Bevölkerungskontrollgruppe stehen für drei der häufigsten Komorbiditäten zur Verfügung. Bezogen darauf weisen die JIA-Patienten nicht häufiger einen arteriellen Hypertonus oder Asthma auf, eine Depression aber signifikant seltener (5,8 vs. 9,6%, p=0,014).

Patienten mit systemischer Form der JIA zeigen, trotz fehlender extraartikulärer Manifestationen im Sinne von Uveitis oder Psoriasis, am häufigsten Komorbiditäten. Kardiovaskuläre Erkrankungen dominieren und finden sich bei diesen Patienten sehr viel häufiger als in der Kontrollgruppe (Tabelle 3).

### Perspektiven

Daten zu Begleiterkrankungen bei Patienten mit JIA sind bislang kaum vorhanden. Das Jumbo Register liefert erste Daten über das Spektrum von Komorbiditäten bei der späten JIA. Ergänzen werden wir diese mit Angaben zu Begleiterkrankungen bei der frühen JIA, die derzeit mittels ICON erhoben werden. Daneben werden in ICON krankheitsmodifizierende Faktoren untersucht mit dem Ziel, Folgekomplikationen bzw. Begleiterkrankungen zu verhindern.

Tabelle 3: Häufigkeit von Komorbiditäten im Allgemeinen und kardiovaskulären Erkrankungen im Speziellen bei verschiedenen JIA Subgruppen.

	Irgendeine Komorbidität (n=173)	Kardiovask. Erkrankungen (n=30)
	N (%)	N (%)
Systemische Arthritis	11 (78,6)	6 (42,9)
Persistierende Oligoarthritis	4 (57,1)	1 (14,3)
Erweiterte Oligoarthritis	30 (69,8)	6 (14,0)
RF*-negative Polyarthritis	43 (53,1)	5 (6,2)
RF-positive Polyarthritis	23 (63,9)	2 (5,6)
Enthesitis-assoziierte Arthritis	36 (59,0)	7 (11,5)
Psoriasis Arthritis	20 (74,1)	2 (7,4)
Andere Arthritis	6 (66,7)	1 (11,1)

\*RF = Rheumafaktor





Dr. med. Anja Strangfeld

## Pharmakoepidemiologie

### Wie sicher sind neue Medikamente?

#### STICHWORTE

Arzneimittelsicherheit  
 Unerwünschte Arzneimittelwirkung  
 Therapiewirksamkeit  
 Langzeitkohorte  
 Biologika

#### MITARBEITER

Gruppenleitung  
 Dr. med. Anja Strangfeld

Wissenschaftler  
 Dr. rer. nat. Joachim Listing  
 Dr. PH Dagmar Pattloch  
 Dipl. Wi. Ing Dörthe Kühl-Habich  
 Dipl.-Stat. Adrian Richter

Doktoranden  
 Katharina Höhne,  
 Madlen Spilka, Yvette Meißner

Medizinische Dokumentare  
 Ulrike Kamenz, Susanna Zernicke,  
 Steffen Meixner, Katja Willenberg,  
 Claudia Fritz, Bettina Marsmann

Studenten  
 Doreen Bontke, Peter Britz,  
 Irina Dammenhain,  
 Ursula Hemetek, Juliana Hoffmann,  
 Friederike Liepold, Kristina Müller,  
 Juliane Reinke, Anne Weichelt,  
 Carina Wittkopp

Pharmakoepidemiologie befasst sich mit dem Arzneimittelgebrauch in der Bevölkerung sowie der Sicherheit und Wirksamkeit von Medikamenten beim Einsatz im therapeutischen Alltag. Unsere Forschungsgruppe am DRFZ befasst sich konkret mit den in der Rheumatologie neu zugelassenen Therapien.

Zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis werden seit mehr als 10 Jahren zunehmend Therapien eingesetzt, die ganz gezielt in das inflammatorische Geschehen der Erkrankung eingreifen. Dies geschieht durch Hemmung einzelner Zytokine wie z.B. TNF alpha (z.B. Infliximab, Etanercept, Adalimumab, Golimumab und Certolizumab), IL-1 (Anakinra) oder IL-6 (z.B. Tocilizumab), durch die Depletion ganzer (B-)Zelllinien (beispielsweise durch Rituximab) oder durch die Modulation der (T-)Zellantwort (z.B. durch Abatacept).

Die Sicherheit und Wirksamkeit dieser Therapien wird zwar vor der Zulassung im Rahmen klinischer Studien überprüft, dennoch fehlen häufig Daten über deren Anwendung im täglichen Leben und bei Patienten, die z.B. die Voraussetzungen für eine Teilnahme an einer klinischen Studie nicht erfüllt hätten beispielsweise aufgrund ihres höheren Alters, ihrer Krankheitsaktivität oder der bestehenden starken Funktionseinschränkung. Des Weiteren können keine Aussagen über die Sicherheit der Therapien bei langjähriger Anwendung gemacht werden, da die Laufzeit klinischer Studien meist sehr begrenzt ist und 6 Monate bis ein Jahr selten überschreitet.

Eines unserer Ziele ist, die Sicherheit und Effektivität von Biologika im Vergleich mit den konventionellen Basistherapeutika beim Einsatz in der klinischen Rou-

tine zu untersuchen. Hierzu führen wir eine prospektive Kohortenstudie durch - das deutsche Biologika-Register RABBIT. Deutschlandweit wurden bislang aus über 300 teilnehmenden rheumatologischen Einrichtungen mehr als 10.000 Patienten eingeschlossen, die mindestens fünf und bis zu zehn Jahre lang beobachtet werden.

RABBIT ist eines der größten Register weltweit. Seit Bestehen konnte die Kooperation mit anderen Biologika-Registern weiter ausgebaut und verfestigt werden. Eine erste gemeinsame Analyse mit dem schwedischen und dem britischen Register zur Überprüfung eines in unserem Register entdeckten Sicherheitssignals (hinsichtlich des Auftretens von Pankreaskarzinomen) wurde publiziert.

Zunehmend werden auch in anderen klinischen Bereichen Register nach unserem Vorbild eingerichtet oder sind in Planung (z.B. Dermatologie, Neurologie). Hierbei liefern wir Unterstützung und Hilfestellung.

Mitarbeiter des RABBIT Teams sind aktiv an der von der EULAR (European League against Rheumatism) eingerichteten Arbeitsgruppe zu Registern beteiligt und auch im ENCePP-Projekt (European Network of Centers of Pharmacovigilance and Pharmacoepidemiology) vertreten. Dieses europäische Netzwerk wurde durch die europäische Arzneimittelbehörde EMA gegründet, um im Falle dringlicher Sicherheitsanfragen auf eine bereits bestehende Infrastruktur pharmakoepidemiologischer Studien zurückgreifen zu können.



Bisher konnten wir wichtige Ergebnisse über die Sicherheit der Einzelsubstanzen publizieren, beispielsweise zum Infektionsrisiko, über die Entwicklung einer Herzinsuffizienz unter TNF-Inhibitoren oder dem Auftreten von inzidenten oder rekurrenten Malignomen. Auch über die Wirksamkeit der Therapien (alleine oder in Kombination) in verschiedenen Patientengruppen konnten wir Ergebnisse zeigen.

Nur mit Registern wie dem unseren, in denen alle Therapien und eine Kontrollgruppe in gleichem Maße beobachtet werden, ist es möglich, die einzelnen Substanzen hinsichtlich ihrer unterschiedlichen Sicherheits- oder Wirksamkeitsprofile zu vergleichen. Dieser Aufgabe werden wir uns in Zukunft verstärkt zuwenden.

Unsere Ergebnisse haben eine hohe klinische Relevanz. Die Analyse von prognostischen Faktoren im Zusammenhang mit dem Ansprechen auf die unterschiedlichen Therapien, aber auch die der Risikofaktoren bezüglich bestimmter unerwünschter Ereignisse ermöglicht eine Individualisierung der medikamentösen Behandlung. Wir hoffen, dass damit in Zukunft unwirksame Therapieversuche oder solche mit einem hohen Nebenwirkungsrisiko vermieden werden können.

#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Ca. 300 rheumatologische Praxen und Kliniken in ganz Deutschland  
 International: BSRBR (GB), ARTIS (S), DANBIO (DK), BIOBADASER (E)  
 Research Networks: Working Group of European Biologics Registers, ENCePP

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Strangfeld A, Eveslage M, Schneider M, Bergerhausen HJ, Klopsch T, Zink A, Listing J. Treatment benefit or survival of the fittest: what drives the time-dependent decrease in serious infection rates under TNF inhibition and what does this imply for the individual patient? *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 1914-1920.

Gäwert L, Hiersie F, Zink A, Strangfeld A. How well do patient reports reflect adverse drug reactions reported by rheumatologists? Agreement of physician- and patient-reported adverse events in patients with rheumatoid arthritis observed in the German biologics register. *Rheumatology* (2011); 50(1):152-160.

Strangfeld A, Hiersie F, Rau R, Burmester GR, Krummel-Lorenz B, Demary W, Listing J, Zink A. Risk of incident or recurrent malignancies among patients with rheumatoid arthritis exposed to biologic therapy in the German biologics register RABBIT. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(1): R5. Epub 2010, Jan 8.

Strangfeld A, Hyrich K, Askling J, Arkema E, Davies R, Listing J, Neovius M, Simard J, Symmons D, Watson K, Zink A. Detection and evaluation of a drug safety signal concerning pancreatic cancer: lessons from a

joint approach of three European biologics registers. *Rheumatology* (2011); 50 (1): 146-151.

Strangfeld A, Listing J, Herzer P, Liebhaber A, Rockwitz K, Richter C, Zink A. Risk of Herpes Zoster in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNFalpha agents. *JAMA* 2009; 301(7): 737-744.

Gäwert L, Hiersie F, Zink A, Strangfeld A. Die Bedeutung der Patientensicht bei der Erfassung der Sicherheit neuer Medikamente. *Z Rheumatol* 2010 69(9):795-802.

Strangfeld A, Zink A. Are we playing it safe? Tumor necrosis factor alpha inhibition and the risk of solid malignancies. *Rheumatologist*, 2010; 4(10):34-38.

## MITARBEITER

A. Strangfeld, J. Listing,  
D. Pattloch, D. Kühl-Habich,  
A. Richter, U. Kamenz, S. Zernicke,  
S. Meixner, K. Willenberg, C. Fritz,  
B. Marsmann, L. Gäwert, K. Höhne,  
M. Spilka, Y. Meißner, D. Bontke,  
P. Britz, J. Hoffmann,  
U. Hemetek, F. Liepold,  
K. Müller, J. Reinke,  
A. Weichelt, C. Wittkopp, I.  
Dammenhayn

## KOOPERATIONSPARTNER

P. Herzer, München;  
J. Kekow, Magdeburg;  
B. Manger, Erlangen,  
R. Rau, Ratingen;  
M. Schneider, Düsseldorf;  
BSRBR British Society of  
Rheumatology Biologics  
Register, SRR Swedish  
Rheumatology Register,  
sowie über 300 Rheumatologen in  
Deutschland

140

## Risiko für schwerwiegende Infektionen unter anti-TNF Therapie

**Das deutsche Biologika-Register ist eine prospektive Kohortenstudie, deren vorrangiges Ziel die Untersuchung der Langzeitsicherheit und -wirksamkeit von Biologika bei der Behandlung von Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis (RA) in der täglichen Routine ist.**

In RABBIT können Patienten mit einer gesicherten RA eingeschlossen werden, denen ein in Deutschland zugelassenes Biologikum neu verordnet wird. Als Kontrollgruppe dienen Patienten unter einer konventionellen Basistherapie, die nach Versagen mindestens einer Basistherapie eine neue oder zusätzliche Basistherapie erhalten.

Alle in das Register eingeschlossenen Patienten werden in gleicher Weise dokumentiert und über mindestens 5-10 Jahre beobachtet. Dabei werden in festgelegten Zeitabständen (zu Beginn, nach 3, 6 und danach alle 6 Monate) unter anderem der Krankheitsverlauf und die verabreichten Medikamente (Substanz, Dosierung, Beginn, Ende sowie Absetzgrund) dokumentiert, sowie alle unerwünschten Ereignisse, die seit der letzten Dokumentation aufgetreten sind, ungeachtet, ob ein kausaler Zusammenhang zur verabreichten Therapie vermutet wird oder nicht.

### Hintergrund

Übereinstimmend zeigen alle Biologika-Register ein mit zunehmender Beobachtungsdauer sinkendes relatives Risiko für schwerwiegende Infektionen unter anti-TNF Therapie. Daraus wurde auf ein insgesamt sinkendes Infektionsrisiko unter anti-TNF Therapie geschlossen.

Wir vermuteten, dass dieser Beobachtung nicht ein allgemein absinkendes Risiko unter anti-TNF Therapie zugrunde liegt, sondern dass sowohl methodische Aspekte, wie der Verlust von Risikopatienten, als auch klinische Veränderungen, wie z.B. Änderungen in der Begleittherapie, eine Rolle spielen. Wir haben diese klinisch wichtige Frage daher näher untersucht.

### Patienten und Methoden

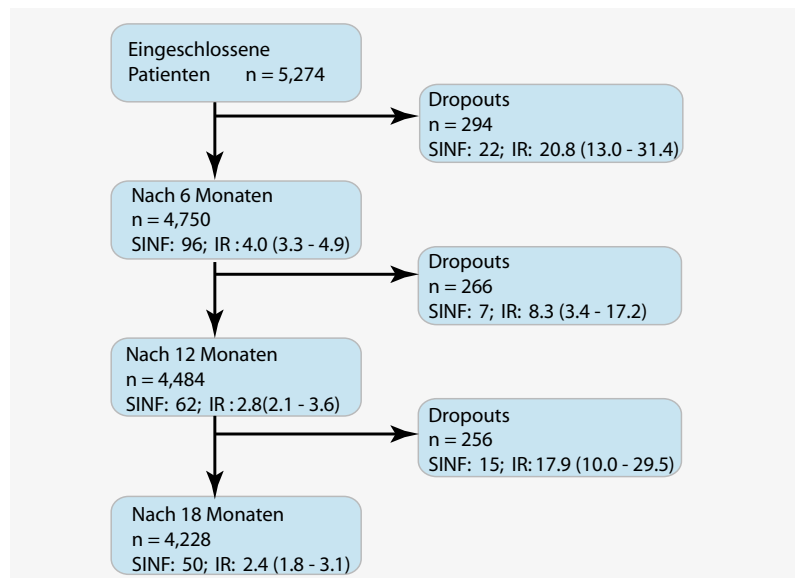
5044 Patienten aus der RABBIT-Kohorte wurden in die Analyse eingeschlossen. Zwischen 01.05.2001 und 31.12.2006 hatten 3271 von ihnen eine Therapie mit einem TNF Inhibitor begonnen und 1773 eine (weitere) konventionelle DMARD Therapie nach einem DMARD Versagen. Einmal in die Kohorte eingeschlossen, wurden die Patienten über mindestens 5 Jahre beobachtet, ungeachtet der Fortführung ihrer Einschluss-therapie. Die mittlere Beobachtungszeit der in die Analyse eingeschlossenen Patienten lag bei 2,6 Jahren.

### Ergebnisse

#### Trends der rohen Raten schwerwiegender Infektionen

Beim Vergleich der rohen Raten schwerwiegender Infektionen in den beiden Behandlungsgruppen fiel auf, dass die Raten in der DMARD-Gruppe über die ersten drei Beobachtungsjahre konstant blieben, während sie in der Gruppe der anti-TNF behandelten Patienten stark abnahmen. Dadurch wurden auch die relativen Raten (Risiko unter anti-TNF vs. unter konventioneller DMARD-Therapie) mit zunehmender Beobachtungszeit immer niedriger.

Abbildung 1: Raten schwerwiegender Infektionen (IR) bei Completern und Patienten, die die Therapie oder die Teilnahme am Register abbrechen (= dropouts)



### Veränderungen des Patientenmix in den einzelnen Therapiegruppen: Dropout der Patienten mit höherem Risiko für schwerwiegende Infektionen

Insgesamt 1893 Patienten wechselten innerhalb der ersten drei Beobachtungsjahre zu einem anderen Therapieprinzip (IL-1 Blockade oder B-Zell Depletion) oder waren lost-to-follow-up (zusammengefasst als ‚dropouts‘).

Die Raten schwerwiegender Infektionen waren bei den dropouts signifikant höher als bei denjenigen Patienten, die unter ihrer Ursprungstherapie blieben (Abbildung 1). Auch wenn für andere Risikofaktoren wie männliches Geschlecht, höhere Krankheitsaktivität und schlechtem Funktionsstatus adjustiert wurde, hatten Patienten nach einer schwerwiegenden Infektion ein bis zu 4,7-fach höheres Risiko (95% CI 2,5-8,8), aus der Beobachtung auszuschneiden bzw. die Therapiegruppe zu wechseln.

Über den Selektionsprozess verloren wir zunehmend auch Patienten mit chronischen Nieren- und Lungenerkrankungen, also Begleiterkrankungen, die mit einem höheren Infektionsrisiko assoziiert sind, aus den anti-TNF behandelten Therapiegruppen.

Ein weiterer Aspekt, der zur Veränderung des Patientenmix führt, ist mit der klinischen Verbesserung der Patienten unter der Therapie assoziiert. Vor allem in der mit anti-TNF therapierten Gruppe ging der Prozentsatz der Patienten mit höher dosierten Glukokortikoiden im Lauf der Beobachtung sehr stark zurück.

Alle genannten Faktoren führten über die Zeit zu einer Patientenpopulation unter anti-TNF Therapie, die ein deutlich geringeres Risiko für schwerwiegende Infektionen aufwies, als die ursprünglich unter dieser Therapie eingeschlossenen Patienten.

Um das Risiko schwerwiegender Infektionen unter anti-TNF Therapie über die Zeit adäquat beurteilen zu können, war es erforderlich, die oben genannten Prozesse in die Analyse mit einzubeziehen, da die sonst übliche reine Adjustierung um die Verhältnisse zu Beobachtungsbeginn zu einer falschen Schlussfolgerung führen würde. Mit Hilfe von generalisierten Schätzgleichungen (GEE), angewandt an gewichteten Patientengruppen, konnten wir sowohl für die Unterschiede zu Beginn als auch für klinische Veränderungen im Verlauf (vor allem bezüglich der Glukokortikoide und Verbesserung der Funktionsfähigkeit) adjustieren. Gleichzeitig war es möglich, auch die stattfindenden dropout-Prozesse zu berücksichtigen.

Hierdurch konnten wir zeigen, dass das Risiko schwerwiegender Infektionen unter einer anti-TNF Therapie keineswegs im Laufe der Beobachtungszeit sinkt, sondern, verglichen mit der konventionellen DMARD Therapie, konstant um den Faktor 1,8 erhöht ist. Das Risiko ist geringer, wenn die Therapie erfolgreich ist, also die Krankheitsaktivität gesenkt und die Funktionsfähigkeit verbessert werden kann. Eine Therapie mit Glukokortikoiden verdoppelt das Risiko für schwerwiegende Infektionen ab einer Dosis von 7,5 mg/Tag, ab 15 mg/Tag ist es sogar um das 4,7-fache erhöht. Chronische Lungen- oder Nierenerkrankungen oder ein Alter über 60 Jahre erhöhen das Risiko für schwerwiegende Infektionen jeweils um das 1,6-fache.

Aus den gewonnenen Ergebnissen konnte erstmalig für individuelle Risikoprofile von Patienten das Risiko für schwerwiegende Infektionen unter verschiedenen Therapiekombinationen berechnet werden (Abbildung 2).

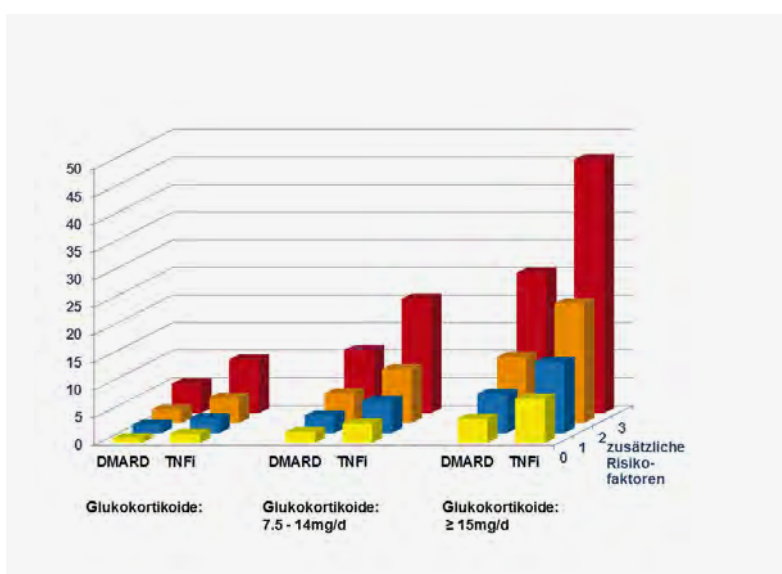


Abbildung 2: Raten schwerwiegender Infektionen (pro 100 PJ) für Patienten mit unterschiedlichem Risikoprofil nach Therapie

### PUBLIKATIONEN

Gäwert L, Hiersche F, Zink A, Strangfeld A. How well do patient reports reflect adverse drug reactions reported by rheumatologists? Agreement of physician- and patient-reported adverse events in patients with rheumatoid arthritis observed in the German biologics register. *Rheumatology* (2011); 50(1):152-160.

Strangfeld A, Eveslage M, Schneider M, Bergerhausen HJ, Klopsch T, Zink A, Listing J. Treatment benefit or survival of the fittest: what drives the time-dependent decrease in serious infection rates under TNF inhibition and what does this imply for the individual patient? *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 1914-1920.

Strangfeld A, Hiersche F, Rau R, Burmester GR, Krümmel-Lorenz B, Demary W, Listing J, Zink A. Risk of incident or recurrent malignancies among patients with rheumatoid arthritis exposed to biologic therapy in the German biologics register RABBIT. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(1): R5. Epub 2010, Jan 8.

Strangfeld A, Hyrich K, Askling J, Arkema E, Davies R, Listing J, Neovius M, Simard J, Symmons D, Watson K, Zink A. Detection and evaluation of a drug safety signal concerning pancreatic cancer: lessons from a joint approach of three European biologics registers. *Rheumatology* (2011); 50 (1): 146-151.

### DRITTMITTEL

RABBIT wird durch einen gemeinsamen „unconditional grant“ von allen Herstellern der zugelassenen Biologika gefördert.





Dipl.-Psych. Gisela Westhoff

## Prognosestudien & Frühkohorten

### Biomarker, klinisches Bild und Interventionsbeginn – Kohortenstudien identifizieren Prädiktoren des Krankheitsverlaufs

#### STICHWORTE

Rheumatoide Arthritis  
Sjögren Syndrom  
Mundgesundheit  
Parodontitis  
Komorbidität  
Versorgungsforschung  
Prognosestudien  
Bevölkerungssurvey

#### MITARBEITER

Gruppenleitung  
Dipl.-Psych. Gisela Westhoff

Studenten  
Katja Molina  
Kathrin Cobarrubias

Die Beschreibung vielgestaltiger Krankheiten erfordert die systematische Beobachtung vieler Patienten mit definierten Merkmalen im Rahmen von Kohortenstudien. Krankheitsausprägungen wie z. B. das Gelenkbefallsmuster, extra-artikuläre oder extra-glanduläre Manifestationen werden in Beziehung gesetzt zur Progression der Krankheit, der mit ihr einhergehenden Morbidität und Mortalität sowie dem Ansprechen auf therapeutische Interventionen. Daraus erschließen sich subtypenspezifische Risiken, der Versorgungsbedarf, mögliche Versorgungsdefizite und gegebenenfalls strukturelle Mängel des Versorgungssystems.

Die Gruppe „Kohorten und Prognosestudien“ untersucht versorgungsepidemiologische und pathogenetische Fragestellungen, die nicht anhand der Daten der Kerndokumentation beantwortet werden können, wie beispielsweise

- die Versorgungsqualität von RA Kranken in der Normalbevölkerung im Rahmen eines mehrstufigen Bevölkerungssurveys,
- Diagnosespektrum, Symptombdauer und Transitions-Prädiktoren von Erstzuweisungen zum Rheumatologen mittels Querschnittsanalyse,
- die interindividuelle Variabilität von Krankheitsverläufen von Patienten mit früher Arthritis unter Berücksichtigung eines breiten Spektrums potenzieller Prädiktoren, wie z.B. eines semi-quantitativen Synovitis-Scores, einer Vielzahl von Biomarkern oder der Mundgesundheit,
- den vielgestaltigen Krankheitsverlauf von Patienten mit primärem Sjögren-Syndrom. Im Rahmen der Beobachtung werden Outcome-Instrumente evaluiert, Frühzeichen der Erkrankung identifiziert, oder

die Sicherheit von Zahnimplantat-Behandlungen untersucht.

In jüngerer Zeit haben Studien gezeigt, dass RA Patienten deutlich häufiger Parodontitis (PD) haben als gesunde Kontrollen. Daten der eigenen Früharthritis-Kohorte CAPEA belegen, dass es einen Zusammenhang zwischen prämorbidem Zahnverlust, RA-Krankheitsaktivität und Therapie-Response gibt. Die entzündliche Infiltration von Parodont bzw. Gelenken mit Zerstörung von Bindegewebe und Knochenmatrix weisen auf pathophysiologische Gemeinsamkeiten hin, wie hohe Anteile entzündungsfördernder Zytokine (u.a. IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ) oder hohe Konzentrationen von Prostaglandin E<sub>2</sub> und Matrix Metalloproteinasen.

Die Gruppe hat daher im 2. Halbjahr 2011 begonnen, in der Sjögren- sowie der Früharthritis-Kohorte CAPEA eine differenzierte Erfassung der Mundgesundheit einzuleiten. So soll die Bedeutung der chronischen PD auf Krankheitsverlauf und Therapie-Response untersucht werden. Neben der Entwicklung eines Mundgesundheits-Moduls für pSS und SLE Kranke wird derzeit in Zusammenarbeit mit der School of Dentistry, Universität Birmingham, ein illustriertes PD-Modul für Patienten entwickelt. Nach mehrstufiger Validierung anhand zahnärztlicher Befunde, Röntgenbildern und Autoantikörpersignaturen, soll das PD-Modul für alle epidemiologischen Studien geeignet sein. Von vergleichenden Untersuchungen werden Erkenntnisse über Erkrankungsrisiken und die Beeinflussung von Krankheitsverläufen durch PD erwartet.



#### ■ KOOPERATIONSPARTNER

Prof. Thomas Dietrich, The School of Dentistry  
University of Birmingham, Birmingham, UK;

Prof. Thomas Dörner, Charité - Universitätsmedizin  
Berlin;

Dr. Edmund Edelmann,  
Rheumapraxis Bad Aibling;

Prof. Georg Schett, Medizinische Klinik 3 - Immuno-  
logie und Rheumatologie, Erlangen;

Prof. Matthias Schneider, Klinikum H.-Heine-Univer-  
sität Düsseldorf und ca. 150 Rheumatologen  
bundesweit.

Technische Kooperation: Auftragsforschungs-  
Institut Winicker Norimed, Nürnberg

#### ■ AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Westhoff G, Zink A. Epidemiologie des primären  
Sjögren-Syndroms. *Z Rheumatol.* Januar 2009.

Westhoff G, Edelmann E, Zink A. Das Zuweiser-  
Projekt - Symptombdauer bis zur Erstvorstellung beim  
internistischen Rheumatologen. *Rheuma-Management* 2009;1(2):13-15.

Westhoff G, Schneider M, Raspe H, Zeidler H, Runge  
C, Volmer T, Zink A. Advance and unmet need of  
health care for patients with RA in the German  
population - The German RA Population Survey.  
*Rheumatology.* 2009; 48(6):650-7.

Westhoff G, Edelmann E, Kekow J, Simianer S, Meng  
T, Zink A. Symptombdauer bis zur rheumatologischen  
Erstvorstellung nach Diagnosen, Spezialisierung der  
Zuweiser und durchschnittlicher Wartezeit der  
Rheumatologen. 37. Kongress der DGRh 2009. *Z  
Rheumatol* 68[Suppl 1], 35. 2009

Westhoff G. Bericht aus der RA-Frühfallkohorte im  
KN-Rheuma: Was geschieht während acht Jahren  
RA? *MedReview* 2009(11): 10-11.

Westhoff G et al. Diagnostic spectrum, treatment  
indication and symptom duration in initial referrals  
to the rheumatologist. *Z Rheumatol*  
2010;69(10):910-918.

Westhoff G et al. Fatigue and depression predict  
physician visits and work disability in women with  
primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*  
2011.

## MITARBEITER

## Gruppenleitung

Dipl.-Psych. Gisela Westhoff

## Doktorandin

Dipl. Soz. Kathrin Cobarrubias

## Studenten

Katja Molina

## DRITTMITTEL

2010: Früharthritis-Kohorte, Pfizer;  
Sjögren-Kohorte, Stiftung W.  
Schulze, Rheuma-Liga Berlin

2011: Implantatversorgung  
beim primären Sjögren-  
Syndrom; Forschungsför-  
derung der Deutschen  
Rheuma-Liga Bundesver-  
band.

144

## Wechselwirkung zwischen Parodontalerkrankung und Früharthritis

**Zahnverlust als Surrogatmarker für Parodontitis ist bei Patienten mit Früharthritis mit signifikant höherer Krankheitsaktivität und schlechterem Therapieansprechen assoziiert.**

### Einführung:

Über 80% der Bevölkerung leiden nach Ergebnissen der 3. Deutschen Mundgesundheitsstudie an einer Gingivitis, jeder Dritte an einer mindestens mittel-schweren Parodontitis (1). Damit gehören entzündliche Parodontalerkrankungen zu den häufigsten chronischen Krankheiten. In jüngster Zeit mehren sich Erkenntnisse, die auf pathogenetische Zusammenhänge zwischen Parodontitis (PD) und RA hinweisen (2;4). Noch ist aber nicht geklärt, ob die zumeist lebenszeitlich früher beginnende PD die Entwicklung einer RA begünstigt oder ob beiden Krankheiten ein gemeinsames Risiko zugrunde liegt.

### Methodik:

Parodontitis ist die Hauptursache für Zahnverlust; die Zahl der Zähne ist entsprechend ein ungefährender Indikator für Parodontitis. In bi- und multivariaten Analysen wurde untersucht, ob Zahnverlust mit der Aktivität der Arthritis oder dem Therapieansprechen assoziiert ist. Dafür wurden die Patienten nach der Zahl der Zähne kategorisiert (0-10, 11-26 und 27-28 Zähne). In einem weiteren Ansatz wurde untersucht, ob Zahnlosigkeit gegenüber erheblichem Zahnverlust bei noch unbehandelten Arthritis-Patienten (n = 802) von niedrigerer Krankheitsaktivität begleitet ist (kein Zahn vs. 1-19, 20-27, 28 Zähne). Dies wäre zu erwarten, wenn es eine Wechselwirkung zwischen akuter Parodontitis und Arthritis gäbe.

### Ergebnisse:

Von den 802 unbehandelten Früharthritis-Patienten (56 ± 14 Jahre) hatten bei Studieneintritt 21% maximal 10 verbliebene Zähne, 47% hatten 11-26 und 32% noch mindestens 27 Zähne. Patienten mit maximal 10 Zähnen erfüllten die neuen ACR-EULAR RA Klassifi-

kationskriterien deutlich häufiger als Patienten mit mindestens 27 Zähnen (75 vs. 60%, P < 0,001). Dies entspricht einem um Alter, Geschlecht, Rauchen und BMI adjustiertem OR von 1,7 (95% CI 1,2-2,4; P = 0,009).

Die n = 172 noch unbehandelten Früharthritis-Patienten mit maximal 10 Zähnen hatten nach Adjustierung um Alter, Geschlecht und Rauchen deutlich höhere Krankheitsaktivität (DAS28) als Patienten mit (fast) allen Zähnen.

Tabelle 1: Krankheitsaktivität bei Studieneintritt nach Zahl der Zähne

Zahnzahl	n	DAS28 TO $\mu^*$	95% CI	P
0-10	172	5,4	5,2 – 5,6	0-10 versus
11-26	377	5,0	4,8 – 5,1	<0,001
27-28	253	4,6	4,4 – 4,7	<0,001
	802			

\*ANCOVA adjustiert um Alter, Geschlecht und Rauchen

Schließlich hatten Patienten mit hohem Zahnverlust nach 6 Monaten einen deutlich schlechteren Therapie-Response. Am seltensten guten Response hatten rauchende Patienten mit maximal 10 Zähnen (Abb. 2). Sie hatten gegenüber Patienten mit  $\geq 27$  Zähnen ein fast 4-fach erhöhtes Risiko, zu den schlechten Respondern zu gehören (adj. OR 3,8, 95% CI 2,0-7,1; P = <0,001). Raucher vs. Nichtraucher hatten ein fast doppelt so hohes Risiko (adj. OR 1,7, CI 1,1-2,4; P = 0,009).

Der Verlust des letzten Zahns hob die Wechselwirkung zwischen Parodontalerkrankung und Arthritis nicht auf. Zahnlose Patienten hatten vergleichbar hohe Krankheitsaktivität wie Patienten mit erheblichem Zahnverlust – aber deutlich höhere als Patienten mit allen Zähnen.

### Diskussion und Perspektiven:

In unserer Untersuchung war die Zahnzahl neben Rauchen der einzige signifikante Prädiktor für den Verlauf der Arthritis und deren Ausbildung zum Vollbild einer RA. Der Verlust des letzten Zahns ändert daran nichts. Es scheint daher naheliegend, dass die höhere Aktivität der Arthritis bei Patienten mit Parodontalerkrankung nicht kausal durch akute Parodontitis erklärt werden kann, sondern vermutlich eher durch gemeinsame pathogenetische Risiken.

Tabelle 2: Zahnlosigkeit geht mit vergleichbar hoher Krankheitsaktivität einher wie Zahnverlust

\*ANCOVA adjustiert um Alter, Geschlecht und Rauchen

Zahnzahl	n	DAS28 TO $\mu^*$	95% CI	P zahnlos vs.
zahnlos	55	5,1	4,7 - 5,3	
1-19	224	5,2	5,0 - 5,4	0,429
20-27	325	4,8	4,6 - 4,9	0,037
alle Zähne	198	4,6	4,4 - 4,7	0,006
	802			

## Mundgesundheit und Implantatversorgung beim primären Sjögren Syndrom

### Einführung:

Neben Xerostomie und Xerophthalmie leiden Sjögren Patienten an einer Vielzahl extra-glandulärer Manifestationen, die teilweise noch nicht systematisch beschrieben sind. Der durch den Speichelmangel bedingte rapide kariöse Zahnverfall wurde von der Rheumatologie bisher allenfalls randständig behandelt. Gleichzeitig haben die Betroffenen wegen der Mundtrockenheit erhebliche Probleme, Zahnprothesen zu tragen. Zahnimplantate wären eine Lösung. Bisher wurde – von Einzelfällen abgesehen – jedoch noch nie untersucht, ob Zahnimplantate in dem hoch risikobehafteten Mundmilieu gewagt werden können. Es wurde deshalb untersucht, welche Erfahrungen pSS Patientinnen mit Zahnimplantaten haben.

### Methodik:

185 Patientinnen der pSS Kohorte und 70 Kontrollen beantworteten ein umfassendes Mundmodul mit Fokus auf Zahnimplantaten sowie Begleitkrankheiten oder Therapien, die den Knochenstoffwechsel beeinflütigen können.

### Ergebnisse:

Patientinnen und Kontrollen waren hinsichtlich Alter (58  $\pm$  12 Jahre) und Schulbildung vergleichbar. Die Patientinnen berichteten häufiger Zahnschmerzen (48 vs. 15%), Zahnfleischbluten (72 vs. 35%), weniger Zähne (21 vs. 23) und häufiger Zahnimplantate (13 vs. 8%). Patientinnen mit Zahnimplantaten waren älter (64 vs. 57 Jahre) und hatten annähernd so häufig Knochenstoffwechsel-Risiken wie Patientinnen ohne Implantate (Osteoporose 15 vs. 26%, Diabetes 5 vs. 7%, Hyperthyreose 5 vs. 12%, Krebs/Strahlentherapie 15 vs. 12%, Glukokortikoide 75 vs. 65%, Bisphosphonate 5 vs. 12%, Antikoagulantien 15 vs. 14% und Antikon-

vulsiva 10 vs. 8%). Die 28 Patientinnen mit Implantaten hatten insgesamt 93 Implantate mit einer mittleren maximalen Tragezeit von 5  $\pm$  6 Jahren. Nur 4 Implantate mussten wegen Periimplantitis entfernt bzw. erneuert werden (4,3%) (Tabelle 1). Ausgenommen der 3 Patientinnen mit Implantatverlust, waren alle Implantatträgerinnen sehr zufrieden mit dieser zahnmedizinischen Lösung.

Tabelle 1. Zahnimplantate bei Patientinnen und Kontrollen

Implantat-Versorgung	Sjögren Patientinnen	Kontrollen
n	185	67
Implantatträger, %	28 (15,1%)	6 (9,0%)
Implantate jemals, n	93	14
Alter der Implantatträger; $\mu$ Jahre	64 vs. 57	63 vs. 56
Implantate jemals pro Implantatträger; $\mu$	3,3 $\pm$ 2,1 (1-8)	2,3 $\pm$ 1,9 (1-6)
entfernte o. ersetzte Implantate, n (%)	4 / 93 (4,3%)	0 / 14 (0%)
Implantate derzeit pro Implantatträger, $\mu$	3,2 $\pm$ 2,1	2,3 $\pm$ 1,9

### Diskussion und Perspektiven:

Unsere Untersuchung an einer größeren Gruppe pSS Patientinnen zeigt erstmals, dass Zahnimplantate bei Xerostomie und weiteren Risiken eine hinlänglich sichere und sehr geschätzte Option sind. Rheumatologen können ihren pSS Patientinnen empfehlen, mit ihren Zahnärzten diese Behandlung zu erwägen.

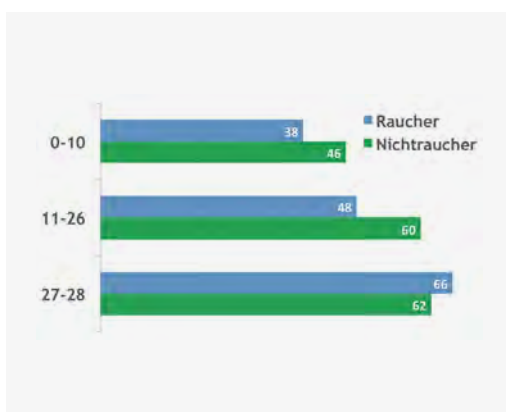


Abbildung 2: EULAR 'good' Response nach Zahl der Zähne und Rauchen bei Arthritis-Beginn (%)

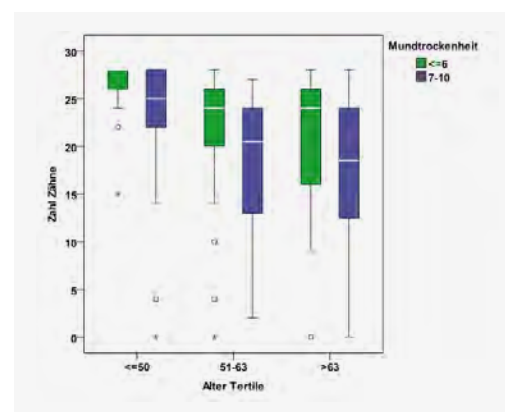


Abbildung 1: Zahnzahl nach Alter und Mundtrockenheit (NRS 0-10)

### MITARBEITER

#### Gruppenleitung

Dipl.-Psych. Gisela Westhoff

#### Studenten

Katja Molina

Kathrin Cobarrubias

### REFERENZEN

Brauckhoff G, Kocher T, Holtfreter B, Bernhardt O, Splieth C, Biffar R, Saß A-C. Mundgesundheit. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 2009; 47 Berlin, Robert Koch-Institut.

de Smit MJ, Brouwer E, Vissink A, van Winkelhoff AJ.

Rheumatoid arthritis and periodontitis; a possible link via citrullination.

Anaerobe 2011; 17(4): 196-200.

Di PR, Mazzon E, Muia C, Crisafulli C, Terrana D, Greco S, Britti D, Santori D, Oteri G, Cordasco G, Cuzzocrea S. Effects of etanercept, a tumour necrosis factor-alpha antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. Br J Pharmacol 2007; 150(3): 286-297.

Joseph R, Rajappan S, Nath SG, Paul BJ. Association between chronic periodontitis and rheumatoid arthritis: a hospital-based case-control study. Rheumatol Int 2012;





Foto: G. Rothmann

Prof. Dr. Angela Zink

## Versorgungsforschung und Qualitätssicherung

### Verbesserung der Versorgung durch kontinuierliches Monitoring

#### STICHWORTE

Versorgungsforschung  
Behandlungstrends  
Krankheitsverlauf  
Kostenentwicklung  
Qualitätsindikatoren

#### MITARBEITER

##### Gruppenleiter

Prof. Dr. Angela Zink

##### Wissenschaftler

Dr.med. Claudia Sengler,  
Rheumatologin (bis 04/2010)

Dörte Huscher,  
Dipl.-Math. (FH), Statistik

Stefanie Ziegler,  
Dipl.-Demografin,  
Demografie (bis 02/2010)

##### Datenmanagement & Dokumentation

Sascha Bischoff, B.A.,  
Katja Thiele,  
Medizinische Dokumentarin

##### Studentischer Mitarbeiter

Gregor Förster,  
Andrea Pfäfflin

Für die Behandlung von Patienten mit entzündlich-rheumatischen Krankheiten steht seit gut einem Jahrzehnt eine Vielzahl neuer therapeutischer Optionen zur Verfügung. Strategische klinische Studien haben die große Bedeutung von früher Intervention und kontinuierlicher Kontrolle der Krankheitsaktivität eindringlich belegt. Dies ermöglicht es, heute Therapieergebnisse zu erzielen, die noch vor wenigen Jahren unerreichbar erschienen. Konsequenterweise haben sich die Erwartungen von Ärzten und Patienten an den Behandlungserfolg von Symptombekämpfung in Richtung auf Remission, zumindest aber gute Krankheitskontrolle, verschoben. Diesen gewachsenen therapeutischen Möglichkeiten steht ein Versorgungsdefizit gegenüber, das durch unzureichende Strukturen (Mangel an internistischen Rheumatologen in der Regelversorgung) und daraus resultierenden unbefriedigenden Prozessen (z.B. zu späte Erkennung und Behandlung) ergibt.

Die Arbeitsgruppe Versorgungsforschung stellt durch systematische Beobachtung des Versorgungsalltags Daten zur Verfügung, die eine Bewertung von Unter-, Über- und Fehlversorgung ermöglichen. Die wichtigste Grundlage ist hierbei die seit 1993 etablierte Kerndokumentation der Kooperativen Rheumazentren. Jährlich werden Daten von etwa 17.000 Patienten mit entzündlich-rheumatischen Krankheiten standardisiert erfasst. Dies ermöglicht die Beobachtung von

Trends in der Routineversorgung, die Identifikation von zielgruppenspezifischen Versorgungsdefiziten sowie die Analyse von Unterschieden in der Versorgung zwischen Einrichtungen (Praxisvariation). Der internen Qualitätssicherung der dokumentierenden Einrichtungen dienen Auswertungen ihrer eigenen Versorgungsdaten im Vergleich zu strukturell vergleichbaren Einrichtungen und allen dokumentierenden Zentren. Versorgungsunterschieden, die sich nicht auf Differenzen in der klinischen Präsentation der Patienten zurückführen lassen, kann so im Rahmen der internen Qualitätssicherung der einzelnen Einrichtungen nachgegangen werden.

Die Gruppe ist zudem an nationalen und internationalen Projekten beteiligt, die sich der Entwicklung von Instrumenten der Krankheitsbewertung und patientenorientierter Messung von Behandlungserfolgen, der Einführung neuer Behandlungsempfehlungen, und der Bewertung von Biomarkern im Krankheitsverlauf widmen.



#### KOOPERATIONSPARTNER

R Alten, Schlossparkklinik Berlin;  
 M Aringer, Universitätsklinik Dresden;  
 M Backhaus, Charité - Universitätsmedizin Berlin;  
 H Burckhardt, Universitätsklinikum Frankfurt;  
 F Buttgerit, Charité - Universitätsmedizin Berlin;  
 R de la Camp, Erlangen;  
 K Fischer, Greifswald;  
 E Gromnica-Ihle, Berlin;  
 G Hein, Rheumazentrum Jena;  
 U von Hinüber und W Demary, Hildesheim;  
 G Hoese, Stadthagen;  
 K Karberg, Berlin;  
 I Kötter, Universitätsklinikum Tübingen;  
 A Krause, Immanuel-Krankenhaus Berlin;  
 U Müller-Ladner, Universitätsklinikum Gießen;  
 W Ochs, Bayreuth;  
 HH Peter, Universitätsklinikum Freiburg;  
 G Riemekasten, Charité - Universitätsmedizin Berlin;  
 M Schneider, Universitätsklinikum Düsseldorf;  
 S Späthling-Mestekemper, München;  
 S Wassenberg, Evangelisches Fachkrankenhaus Ratingen

#### AUSGEWÄHLTE PUBLIKATIONEN

Denton CP, Avouac J, Behrens F, Furst DE, Foeldvari I, Humbert M, Huscher D, Kowal-Bielecka O, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Pittrow D, Rubin LJ, Seibold JR, Distler O. Systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension: why disease-specific composite end-points are needed. *Arthritis Res Ther* 2011;13:114.

Deuschle K, Weinert K, Becker MO, Backhaus M, Huscher D, Riemekasten G. Six-minute walk distance as a marker for disability and complaints in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:S53-S59.

Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, Aletaha D, Allaart CF, Bathon J, Bombardieri S, Brooks P, Brown A, Matucci-Cerinic M, Choi H, Combe B, de WM, Dougados M, Emery P, Furst D, Gomez-Reino J, Hawker G, Keystone E, Khanna D, Kirwan J, Kvien TK, Landewe R, Listing J, Michaud K, Martin-Mola E, Montie P, Pincus T, Richards P, Siegel JN, Simon LS, Sokka T, Strand V, Tugwell P, Tyndall A, van der Heijde D, Verstappen S, White B, Wolfe F, Zink A, Boers M. American College of Rheumatology/European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(3):404-13.

Gossec L, Smolen JS, Gaujoux-Viala C, Ash Z, Marzo-Ortega H, van der Heijde D, Fitzgerald O, Aletaha D, Balint P, Boumpas D, Braun J, Breedveld FC, Burmester G, Canete JD, de WM, Dagfinrud H, de VK, Dougados M, Helliwell P, Kavanaugh A, Kvien TK, Landewe R, Luger T, Maccarone M, McGonagle D, McHugh N, McInnes IB, Ritchlin C, Sieper J, Tak PP, Valesini G, Vencovsky J, Winthrop KL, Zink A, Emery P. European League Against Rheumatism recommendations for the management of psoriatic arthritis with pharmacological therapies. *Ann Rheum Dis* 2011.

Heberlein I, Demary W, Bloching H, Braun J, Buttgerit F, Dreher R, Kuhn C, Lange U, Zink A, Zeidler H, Häntzschel H, Raspe H. Diagnostik und Behandlung der Osteoporose bei rheumatoider Arthritis vor dem Hintergrund der Leitliniennutzung : Ergebnisse einer Befragung von Patienten, Hausärzten und Rheumatologen (ORA-Studie). [Diagnosis and treatment of osteoporosis and rheumatoid arthritis in accordance with German guidelines : Results of a survey of patients, primary care physicians and rheumatologists]. *Z Rheumatol* 2011; 70(7):592-601.

Heberlein I, Demary W, Bloching H, Braun J, Buttgerit F, Dreher R, Kuhn C, Lange U, Pollahne W, Zink A, Zeidler H, Häntzschel H, Raspe H. Medikamentöse Osteoporoseprophylaxe und -therapie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (ORA-Studie). [Prophylaxis and treatment of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis (ORA study)]. *Z Rheumatol* 2011; 70(9):793-802.

Huscher D, Sengler C, Thiele K, Bischoff S, Pfäfflin A, Gromnica-Ihle E. Geschlechtsspezifische Aspekte der Rheumatoiden Arthritis. [Gender-Specific Characteristics of Rheumatoid Arthritis]. *Aktuell Rheumatol* 2011;36:352-360.

Kowal-Bielecka O, Avouac J, Pittrow D, Huscher D, Behrens F, Denton CP, Foeldvari I, Humbert M, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Rubin LJ, Seibold JR, Strand V, Furst DE, Distler O. Analysis of the Validation Status of Quality of Life and Functional Disability Measures in Pulmonary Arterial Hypertension Related to Systemic Sclerosis: Results of a Systematic Literature Analysis by the Expert Panel on Outcomes Measures in Pulmonary Arterial Hypertension Related to Systemic Sclerosis (EPOSS). *J Rheumatol* 2011;38:2419-2427.

Reinhold-Keller E, Zink A. Morbidität und Mortalität bei entzündlich-rheumatischen Krankheiten: Wie haben sie sich verändert? [Morbidity and mortality in systemic rheumatoid diseases: how did they change?]. *Z Rheumatol* 2011; 70(6):462-3.

Sporbeck B, Mathiske-Schmidt K, Jahr, S, Huscher D, Becker M, Riemekasten G, Taufmann I, Burmester GR, Pogel S, Reisschauer A. Effect of biofeedback and deep oscillation on Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis: results of a controlled prospective randomized clinical trial. *Rheumatol Int* 2011 Apr 8 [Epub ahead of print]. DOI: 10.1007/s00296-011-1882-2.

## MITARBEITER

S. Bischoff, G. Förster, D. Huscher,  
A. Pfäfflin, K. Thiele, A. Zink

## KOOPERATIONSPARTNER

R Alten, Schlossparkklinik Berlin;  
M Aringer, Universitätsklinik  
Dresden; M Backhaus, Charité  
Universitätsmedizin Berlin;  
H Burckhardt, Universitätsklinikum  
Frankfurt; R de la Camp, Erlangen;  
K Fischer, Greifswald; G Hein,  
Rheumazentrum Jena;  
U von Hinüber und W Demary,  
Hildesheim; G Hoese,  
Stadthagen; K Karberg,  
Berlin; I Kötter,  
Universitätsklinikum  
Tübingen, A Krause,  
Immanuel-Krankenhaus  
Berlin, U Müller-Ladner,  
Universitätsklinikum Gießen,  
W Ochs, Bayreuth, HH Peter,  
Universitätsklinikum Freiburg,  
M Schneider, Universitätsklinikum  
Düsseldorf, S Späthling-  
Mestekemper, München;  
S Wassenberg, Evangelisches  
Fachkrankenhaus Ratingen

## REFERENZEN

1) Schmidt CO, Raspe, H,  
Pfungsten, M, Kohlmann T et al.  
Back Pain in the German Adult  
Population. Prevalence, Severity,  
and Sociodemographic Correlates  
in a Multiregional Survey. Spine  
2007;32:2005-11

Huscher D, Sengler C, Thiele K,  
Bischoff S, Pfäfflin A, Gromnica-  
Ihle E. Geschlechtsspezifische  
Aspekte der Rheumatoiden  
Arthritis. [Gender-Specific  
Characteristics of Rheumatoid  
Arthritis]. *Aktuel Rheumatol*  
2011;36:352-360

Reinhold-Keller E, Zink A.  
Morbidität und Mortalität bei  
entzündlich-rheumatischen  
Krankheiten: Wie haben sie sich  
verändert? [Morbidity and  
mortality in systemic rheumatoid  
diseases: how did they change?].  
*Z Rheumatol* 2011; 70(6):462-3.

## DRITTMITTEL

Arbeitskreis korporativer  
Mitglieder der DGRh

Arbeitsgemeinschaft der  
regionalen kooperativen  
Rheumazentren

## Vergleich der neuen ACR/EULAR Remissionskriterien mit der DAS28-Remission bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis

**Die im Rahmen der Kerndokumentation erhobenen Daten spiegeln die Krankheits- und Versorgungssituation unausgelesener Patienten in der Routineversorgung wider. Sie sind daher geeignet, die Übertragbarkeit von Kriterien, die an hoch selektierten Patienten aus klinischen Studien entwickelt wurden, in den Alltag zu überprüfen.**

### Hintergrund:

Im Jahr 2010 publizierten das American College of Rheumatology (ACR) und die European League Against Rheumatism (EULAR) gemeinsam neue Kriterien für die Definition einer Remission bei rheumatoider Arthritis (RA). Diese wurden an Daten aus klinischen Studien entwickelt und evaluiert. Zwei gleichberechtigte Definitionen wurden festgelegt: Das erste Kriterium basiert auf einer Booleschen Definition (B) bei der 4 Bedingungen zugleich erfüllt sein müssen: Anzahl geschwollener und druckschmerzhafter Gelenke jeweils  $\leq 1$ , CRP  $\leq 1$  mg/dl sowie globale Patienten-Selbsteinschätzung [NRS 0-10]  $\leq 1$ . Die zweite Definition basiert auf einem vorhandenen Krankheitsaktivitätsindex, dem Simplified Disease Ac-

tivity Index (SDAI), bei dem ein Score  $\leq 3,3$  festgelegt wurde (S). Wir haben diese neu definierten Kriterien dem etablierten EULAR-Kriterium, bei dem ein Patient mit einem Disease Activity Score (DAS28) unter 2,6 (D) eine Remission erreicht, gegenübergestellt.

### Patienten und Methoden:

Mit den gepoolten Daten der Kerndokumentation 2007-2009 konnten für 6.864 RA-Patienten alle drei Remissionskriterien zu einem Untersuchungszeitpunkt bestimmt werden. Die Patientenpopulationen, die die verschiedenen Remissionskriterien erfüllen, wurden miteinander verglichen. Dann wurden Subgruppen mit Übereinstimmung bzw. Widerspruch zwischen dem alten und den zwei neuen Remissionskriterien gebildet. Für in DAS28-Remission befindliche Patienten wurde anhand der paarweisen Übereinstimmung des alten DAS28-Kriteriums mit der Booleschen Definition und dem SDAI-Kriterium untersucht, welche Parameter zur Ablehnung der Patienten bei der Remissionszuordnung durch die neuen Kriterien führen.

Tabelle 1: Vergleich der Remissionskriterien (Kriterium erfüllt +, nicht erfüllt -)

	D+	B+	S+	D-/B-/S-
N	1.931 (28%)	476 (7%)	740 (11%)	4.821 (70%)
Männlich	32%	26%	30%	22%
Alter ( $\mu$ )	59,7	57,0	58,3	62,1
Krankheitsdauer (Median)	7,3	6,2	6,3	10,0
FFbH ( $\mu$ )	84,3	92,4	91,8	71,0
Geschwollene Gelenke	0	88,5%	91,2%	95,9%
	1	6,6%	8,8%	3,8%
	>1	4,9%	-	0,3%
Druckschmerzhafter Gelenke	0	89,9%	91,2%	95,5%
	1	6,4%	8,8%	3,9%
	>1	3,7%	-	0,5%
BSG (mm/h)	10,1	16,4	15,2	27,1
CRP (mg/dl)	0,5	0,3	0,3	1,7
Krankheitsaktivität, Arzt* ( $\mu$ )	1,2	0,7	0,3	3,1
Globales Patientenurteil* ( $\mu$ )	2,9	0,9	1,4	5,1

\*Numerische Ratingskala von 0-10

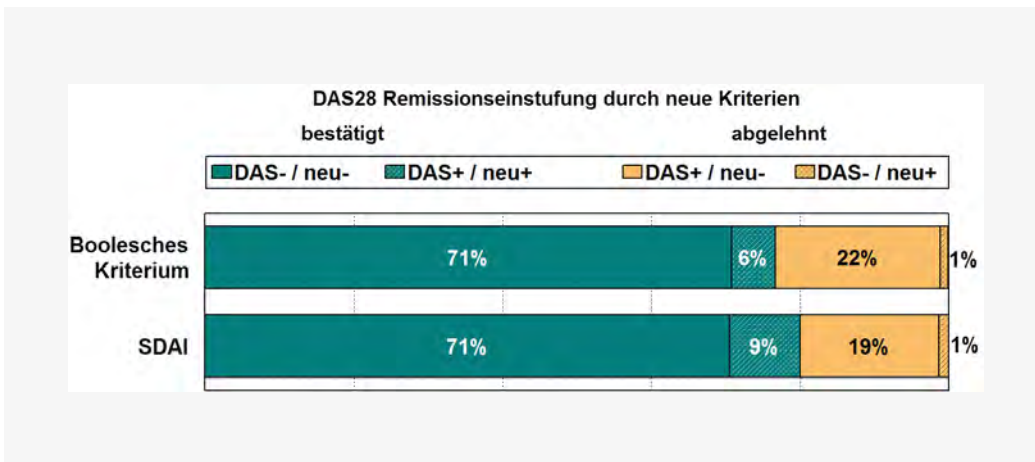


Abbildung 1: Übereinstimmung und Widerspruch bei der Einstufung zwischen dem alten und den neuen Remissionskriterien

### Ergebnisse:

Von den insgesamt 6.864 Patienten waren 28% in DAS28-Remission, 7% erfüllten das neue Boolesche und 11% das SDAI-Kriterium (Tab. 1). 70% befanden sich nach keinem der drei Kriterien in Remission. Nach den neuen Kriterien in Remission befindliche Patienten waren tendenziell jünger und kürzer krank, hatten einen besseren FFbH und eine positivere Patientenselbsteinschätzung. Sie wiesen per Definition weniger geschwollene und druckschmerzhafte Gelenke auf, aber auch eine höhere mittlere BSG als Patienten in DAS28-Remission.

Eine Übereinstimmung der Einstufung hinsichtlich des Fehlens einer Remission bestand jeweils bei 71% der Patienten zwischen DAS28- und Booleschem Kriterium sowie zwischen DAS28- und SDAI-Kriterium (Abbildung 1). 6% wurden von DAS28- und Booleschem Kriterium und 9% von DAS28- und SDAI-Kriterium als in Remission klassifiziert. Nur 2% der Patienten erfüllten die neuen, aber nicht das alte DAS28-Kriterium. Bei diesen Patienten führte vor allem die erhöhte BSG zum Überschreiten der DAS28-Remissionsgrenze. Etwa ein Fünftel der Patienten war nach dem alten DAS28-Kriterium in Remission, nicht aber nach einem der neuen Kriterien. Wir gingen der Frage nach, welche Aspekte der neuen Kriterien zu einer konträren Einstufung von Patienten in DAS28-Remission führen.

Von den in DAS28-Remission befindlichen Patienten waren nach dem Booleschen Kriterium 79% nicht in Remission (Tab. 2). Von diesen hatten 6% der Patienten mehr als ein geschwollenes bzw. 5% mehr als ein druckschmerzhaftes Gelenk, 12% wiesen einen CRP >1 mg/dl auf. Die große Mehrheit dieser Patienten verfehlte jedoch aufgrund einer schlechten Selbsteinschätzung die Boolesche Remission: 96% der Patienten gaben bei der Beurteilung ihres Gesundheitszustandes einen Score >1 an.

Die SDAI-Grenze überschritten 66% der Patienten in DAS28 Remission. Durch die Summenbildung beim SDAI über mehrere Parameter ist eine Analyse, welche Größen die Verletzung des Remissionskriteriums verursacht haben, nicht so einfach durchzuführen wie beim Booleschen Kriterium. Jedoch fällt auch hier die Patientenselbsteinschätzung auf, die mit im Mittel 3,6 für sich allein gestellt bereits die Remissionsgrenze von 3,3 für den SDAI-Summscore überschreitet.

Es ist also vor allem die Patientenselbsteinschätzung dafür verantwortlich, dass Patienten in DAS28-Remission nach den neuen Kriterien die Remission verfehlen.

Tabelle 2: Vergleich der Patienten in DAS28-Remission bei Erfüllung und Nichterfüllung der neuen Remissionskriterien (Kriterium erfüllt +, nicht erfüllt -)

Fortsetzung >>

	Patienten in DAS28-Remission			
	Boolean		SDAI	
	ja	nein	ja	nein
N (% von D+)	406 (21%)	1.525 (79%)	649 (34%)	1.282 (66%)
Geschwollene Gelenke	0	94%	87%	97%
	1	6%	7%	3%
	>1	-	6%	0%
Druckschmerzhafte Gelenke	0	94%	89%	97%
	1	6%	7%	3%
	>1	-	5%	1%
CRP (mg/dl)	>1	-	12%	4%
Patientenselbsteinschätzung*1	0	96%	38%	95%
CRP in mg/dl (μ)	0,3	0,6	0,3	0,7
Krankheitsaktivität, Arzt* (μ)	0,6	1,4	0,3	1,6
Patientenselbsteinschätzung* (μ)	0,8	3,4	1,4	3,6

\*Numerische Ratingskala von 0-10



## Fortsetzung &gt;&gt;

Um die Klassifizierung durch die Remissionskriterien auch anhand von Parametern zu beurteilen, die nicht in die spezifischen Kriterien einfließen, wurden die Verteilungen von Schmerz, Fatigue und Funktion (FFbH) in den Subgruppen mit übereinstimmender oder widersprüchlicher Remissionseinstufung verglichen (Abbildung 2). Während für die 71% der Patienten, die sich übereinstimmend nach alten und neuen Kriterien nicht in Remission befanden (D-/B- bzw. D-/S-), der Schmerzscore im Median 5 betrug, war für Patienten, die übereinstimmend in Remission waren (D+/B+ bzw. D+/S+), der mediane Schmerzscore 1. Patienten, die nicht in DAS28-Remission waren, aber nach den neuen Kriterien als in Remission eingestuft wurden (D-/B+ bzw. D-/S+), wiesen eine fast identisch gute Verteilung auf. Dagegen hatten Patienten in DAS28-Remission, die durch die neuen Kriterien abgelehnt wurden (D+/B- bzw. D+/S-), mit im Median 3 und Wertebereichen bis 8 auf einer Skala von 0-10 deutlich höhere Schmerzscore. Vergleichbare Verteilungsmuster zeigen sich auch für Fatigue und FFbH. Insgesamt haben Patienten in Remission nach den neuen Kriterien niedrige Schmerzscore, wenig bis moderate Fatigue und nahezu keine funktionelle Einschränkung.

Aus einem Bevölkerungssurvey wurden uns Daten zum FFbH aus der Normalbevölkerung zur Verfügung gestellt (Ref. 1). Für Patienten in Remission nach dem jeweiligen Remissionskriterium wurden alters- und geschlechts-gleiche Referenzpersonen ausgewählt, und es wurde ein Vergleich der FFbH-Werte vorgenommen (Abbildung 3).

Während für Patienten in DAS28-Remission die FFbH-Verteilung fast identisch mit der Referenzgruppe aus der Bevölkerung war, wiesen sowohl Patienten in Boolescher als auch diejenigen in SDAI-Remission deutlich bessere Funktionswerte auf als alters- und geschlechts-gemachte Vergleichspersonen aus der Normalbevölkerung. Dies ist ein Hinweis auf eine mögliche Schwäche der neuen Kriterien: Aufgrund der sehr hohen Anforderungen an die Selbsteinstufung des Gesundheitszustandes besteht die Gefahr, dass Patienten mit limitierenden Funktionseinschränkungen auch bei inaktiver RA keine Remission erreichen können. Es kann für Betroffene schwierig sein, die Beschwerden, die aus der RA resultieren, vollständig von denjenigen durch andere chronische Krankheiten abzugrenzen.

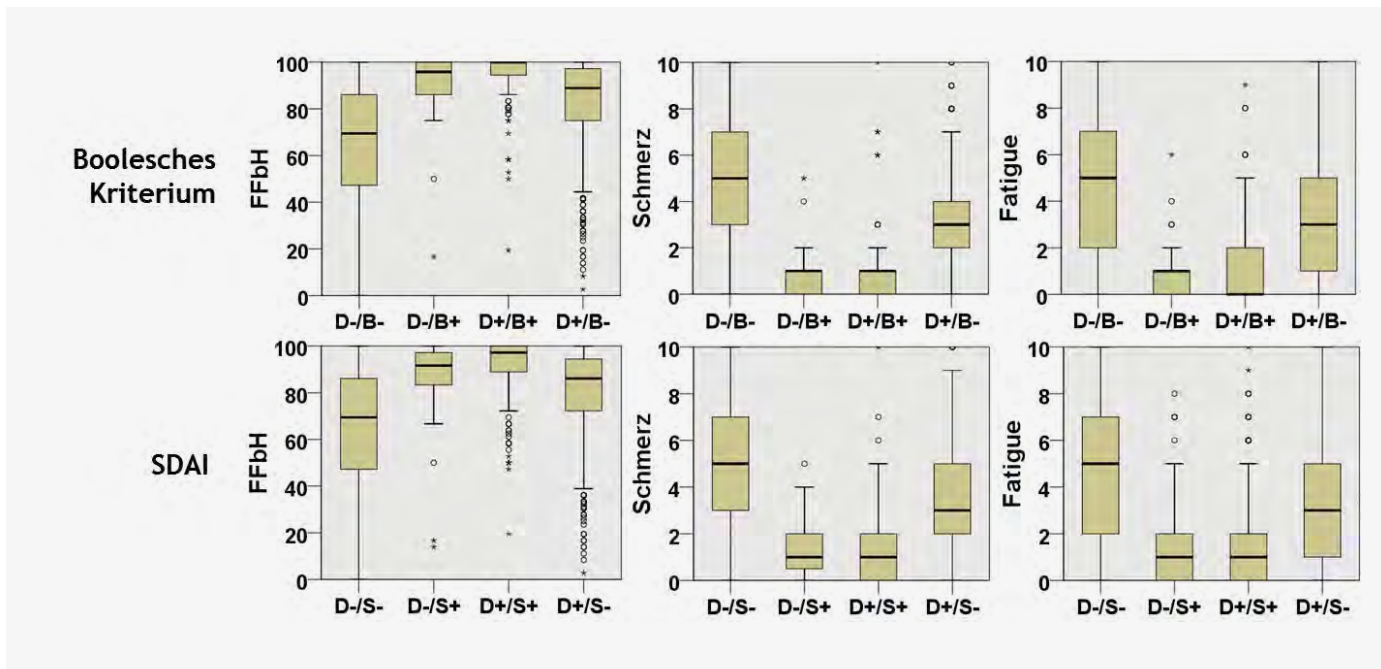


Abbildung 2: FFbH, Schmerz und Fatigue in den Gruppen mit übereinstimmender und widersprüchlicher Remissionseinstufung

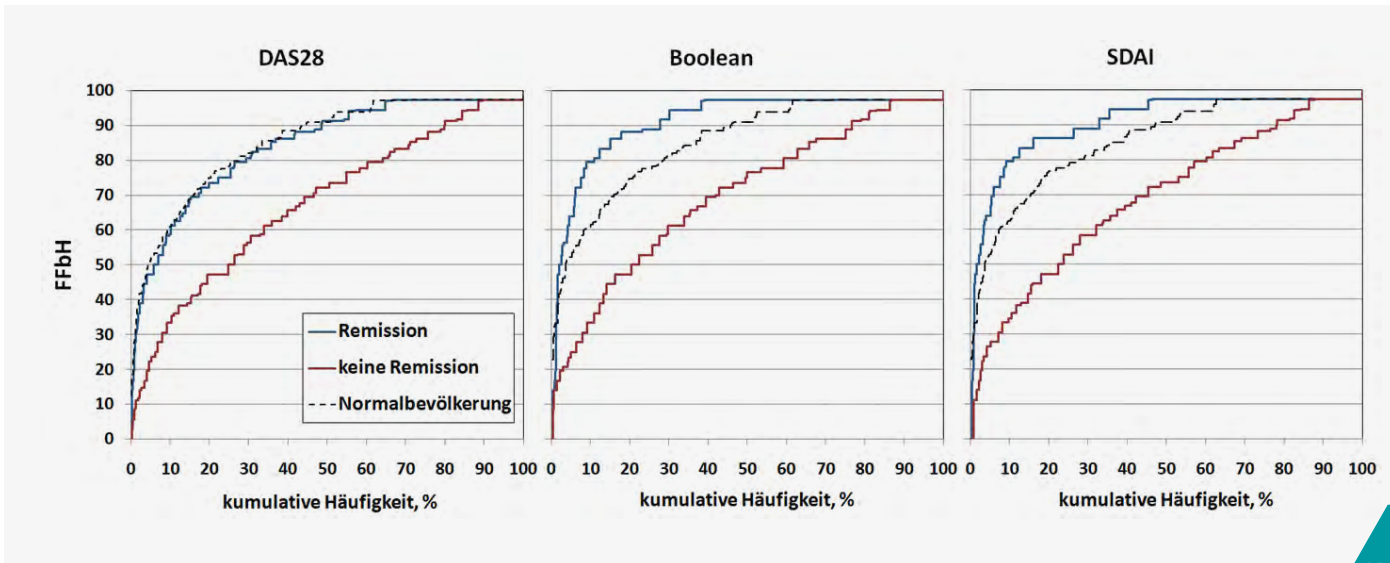


Abbildung 3: FFBH-Verteilung innerhalb der 3 Remissionsgruppen im Vergleich zur alters- und geschlechts-gematchten Normalbevölkerung

### Zusammenfassung

Wie beabsichtigt, klassifizieren die neuen Kriterien deutlich weniger Patienten in Remission als das DAS28-Kriterium. Dabei selektiert das SDAI-Kriterium moderater als das Boolesche Kriterium. Den größten Einfluss auf die Nichterfüllung der neuen Kriterien hat die Patientenselbsteinschätzung. Remissionspatienten unter den neuen Kriterien haben nahezu keine funktionellen Einschränkungen, niedrige Schmerzscores und wenig bis moderate Fatigue. Der Funktionsstatus fällt sogar besser aus als in der vergleichbaren Normalbevölkerung. Die strenge Selektion der neuen Kriterien könnte sich als Schwachpunkt erweisen, da die Gefahr besteht, dass Patienten mit limitierender Funktionseinschränkung trotz inaktiver RA keine Remission erreichen.

### Ausblick:

Die Auswertungen zu den neuen Remissionskriterien haben die Frage aufgeworfen, ob möglicherweise andere einschränkende Erkrankungen die Selbsteinschätzung beeinflussen, auch wenn Patienten explizit nach ihrer RA befragt werden. Ab 2012 erfassen wir auf dem Patientenbogen sowohl die Einschätzung des derzeitigen allgemeinen Gesundheitszustandes als auch die Beurteilung der Krankheitsaktivität der rheumatischen Erkrankung, um einen umfassenden Vergleich beider Bewertungen vornehmen zu können.

Es besteht außerdem weiterer Forschungsbedarf, um den Einfluss von Komorbidität auf die Selbsteinschätzung und die damit verbundenen Konsequenzen für die Definition von Remission beurteilen zu können.



# Zentrale Labore und technische Einrichtungen

Bioinformatik.....	154
Zentrallabor für Mikroskopie .....	158
Immunmonitoring .....	160
Regine von Ramin-Labor für Molekulare Rheumatologie .....	164
Zentrallabor für Zytometrie & Zellsortierung.....	166
Zentrallabor .....	168





Dr. Joachim R. Grün

## Bioinformatik

### STICHWORTE

Bioinformatik, High Performance Chip Data Analysis (HPCDA), HPCDA-Score, Gene List Significance Index (GLSI), Multi-Color FACS Analyse, Datenbank-Programmierung

### GRUPPENLEITER

Dr. Joachim R. Grün

### REFERENZEN

Lindstedt M, Lundberg K, Borrebaeck CAK. Gene family clustering identifies functionally associated subsets of human in vivo blood and tonsillar dendritic cells. *J Immunol* 2005; 175:4839–4846

Glaab E, Garibaldi J, Krasnogor N. ArrayMining: a modular web-application for microarray analysis combining ensemble and consensus methods with cross-study normalization. *BMC Bioinformatics* 2009, 10/1:358.

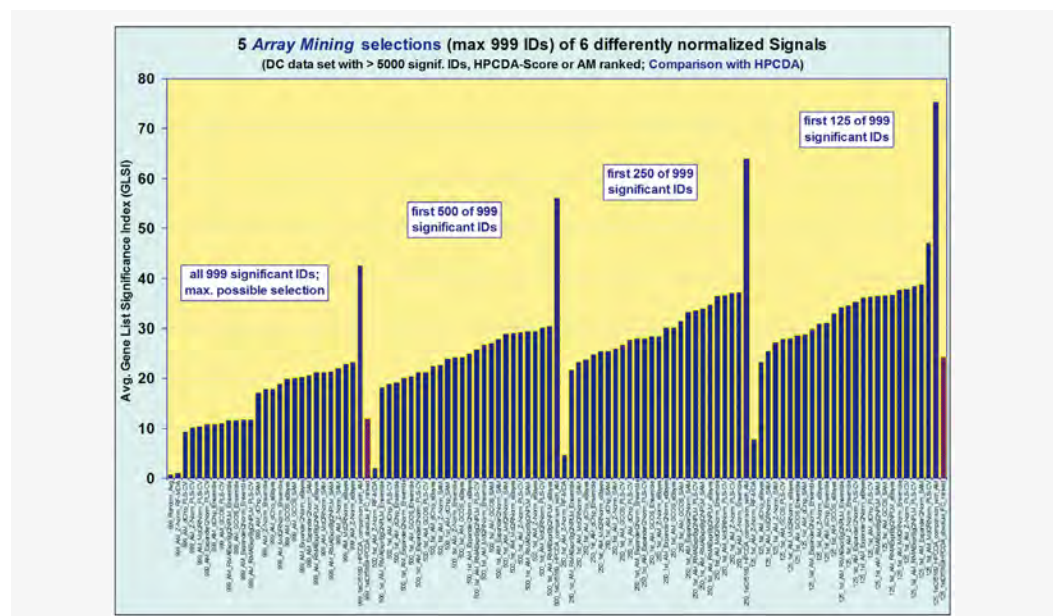
### DRITTMITTEL

1.1.2010 – 31.08.2010: AutoCure, LSHM-CT-2005-018661;

1.9.2010 – 31.12.2011: Deutsches Rheuma-Forschungszentrum (DRFZ)

Die Arbeitsgruppe Bioinformatik arbeitet intensiv mit der Immune-Monitoring Arbeitsgruppe von Andreas Grützkau zusammen. Da bei dieser Multi-Color FACS Analyse fast so viele Parameter untersucht werden wie in der Chipdaten-Analyse, werden hier analoge Techniken angewandt. Hauptforschungsgebiet ist zurzeit die Chipdaten-Analyse. In intensiver Zusammenarbeit mit dem Ramin-Labor, in dem die Chips hybridisiert werden, und der BioRetis Datenbank von Thomas

Häupl (Charité CCM) werden Chipdaten von vielen Kooperationspartnern und DRFZ-Arbeitsgruppen ausgewertet. Um die am DRFZ entwickelte High Performance Chip Data Analysis (HPCDA) weiter zu verbessern, wurde ein Index entwickelt, der die Signifikanz einer Liste von Genen relativ zu anderen Listen bewerten kann. Dieser Gene List Significance Index (GLSI) ist ein einzelner Wert für eine Genliste, der sich erhöht mit einer verbesserten Normalisierung der Ge-



**Abbildung 1:** Gene List Significance Index (GLSI) von 25 der 30 erhaltenen ArrayMining (AM) Genlisten im Vergleich mit der HPCDA. Mit dem Webtool AM können maximal 999 signifikante Gene für jeden hochgeladenen Datensatz erhalten werden, die HPCDA fand 5169 signifikante Gene in diesem Datensatz. Der GLSI der ersten 999 mit HPCDA-Score 11 sortierten von diesen 5169 wurde hier mit allen GLSIs der 999 von 25 verschiedenen AM-Auswertungen (Gen-Selektionsmethode RF-MDA ist nur mit der besten Normalisierung vertreten), sowie mit den ersten 500, 250 und 125 nach AM- (dunkel) oder HPCDA-Score-Sortierung (hellblau) verglichen. Rot-blau gestreift sind die GLSIs der 999 oder 125 mit dem absolut höchsten Fold Change (FC) von allen 5169 HPCDA IDs. Der GLSI (Mittelwert aus 8 Werten) wurde hier zur Beurteilung der Genlisten-Qualität verwendet. Deutlich ist, dass keine der 999-er oder reduzierten Genlisten von besserer Qualität ist als die mit HPCDA-Score sortierten ersten 999, 500, 250 oder 125 mit HPCDA gefundenen IDs (hellblau) und die nach FC sortierten Listen noch nicht einmal die Qualität der meisten AM Listen erreichen. Deutlich ist aber auch, dass beim Download der 999 signifikanten IDs von AM ein Ranking nach der Signifikanz der differentiellen Expression vorgenommen wird (und der GLSI das hier anzeigt): so haben die ersten der von AM gerankten 125 IDs deutlich höhere GLSIs als alle 999 zusammen.

nexpressions-Signale, ebenso mit steigendem Anteil an signifikanten Genen, an Genen mit niedrigem p-Wert und an Genen mit hohem Fold Change (FC). Trotzdem ist interessanterweise ein Ranking verschiedener Genlisten mit GLSIs, berechnet aus unterschiedlich normalisierten Signalen, im Mittel gleich. Der GLSI wurde z.B. dafür eingesetzt, einen Score (HPCDA-Score) zur Sortierung einer Liste von signifikanten Genen nach Relevanz zu etablieren, indem die Sortierungsparameter empirisch soweit optimiert wurden, dass die ersten 50, 100, 250, 500 usw. Gene aus einer Liste von signifikanten Genen die jeweils höchsten GLSIs ergeben. Dieser Optimierungsprozess ist mittlerweile auf der 12. Stufe, im Folgenden werden aber Ergebnisse mit dem HPCDA-Score 11 gezeigt.

Da der HPCDA-Score inzwischen für alle High Performance Chip Data Analysen am DRFZ verwendet wird, zeigt das folgende Beispiel den Vorteil dieser Sortierung. Benutzt wurde dazu ein Chipdatensatz mit zwei Gruppen à 3 Chips von dendritischen Zellen (Lindstedt, 2005; Bioretis offener Datensatz SPL103: mehr als 5000 signifikante Gene mit z.T. sehr hohen FCs). Verglichen wurden die HPCDA-Ergebnisse mit signifikanten Genen, die mit dem Webtool ArrayMining (AM; Glaab, 2009) erhalten wurden. Der GLSI (der Mittelwert aus 8 GLSIs wurde hier verwendet) als Qualitätskriterium einer Genliste wurde dabei mit allen normalisierten Signalen errechnet, die auch mit AM analysiert wurden, der HPCDA-Score (nur mit den GCOS-Daten zu errechnen) wurde für alle 54675

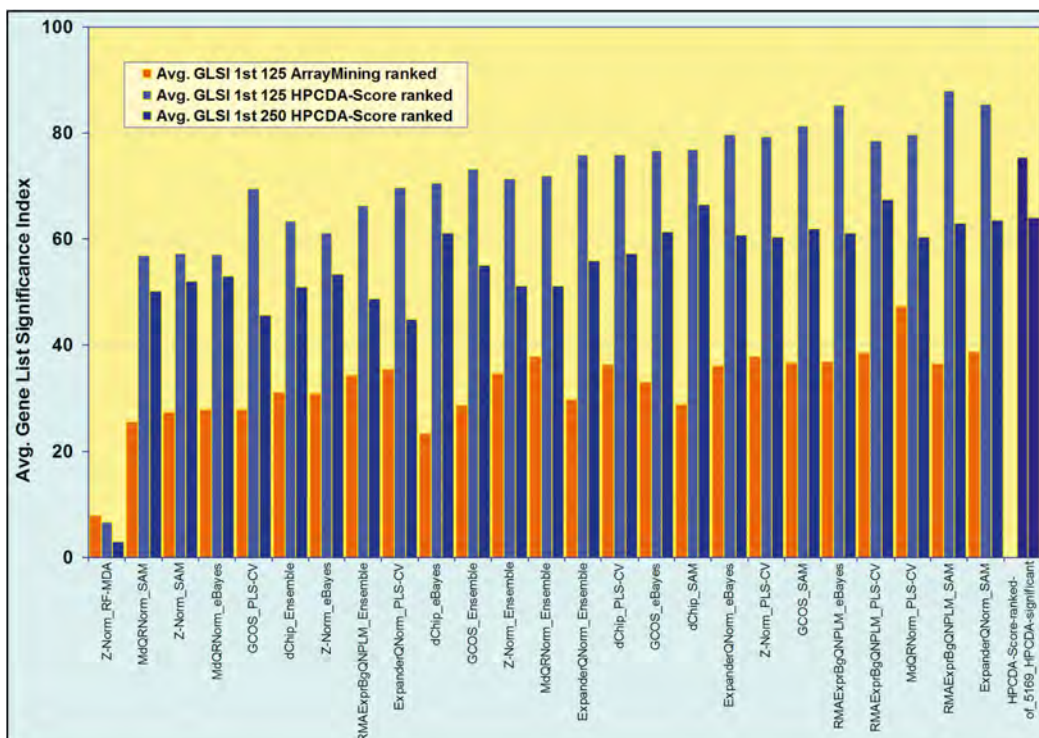


Abbildung2: Vergleich des Rankings nach HPCDA-Score mit dem von ArrayMining. Orange dargestellt wurden hier die GLSI-Werte der Genlisten (gemittelt aus 8 verschiedenen GLSIs) der ersten 125 signifikanten Gene, die nach der ArrayMining (AM) Sortierung erhalten wurden (s. Abb. 1). Alle sind sehr viel niedriger als die ersten 125 der HPCDA (ganz rechts in leuchtend blau, linker Balken). Sortiert man die AM Listen aber ebenfalls nach dem HPCDA-Score, ist zu sehen, dass alle Listen für die ersten 125 Gene sehr viel höhere Werte als nach dem AM-Ranking ergeben (hellblau). In 12 Fällen sind die GLSIs dann sogar höher als für die ersten 125 in der HPCDA. In den 999 von AM heruntergeladenen Genen sind also höher signifikante Gene, als es für die ersten 125 nach der Sortierung durch AM und die entsprechende Methode erscheint. Vergleicht man die ersten 250 nach HPCDA-Score sortierten AM-Genen (dunkelblau), sind nur noch zwei Genlisten besser als die ersten 250 Gene der High Performance Chip Data Analysis (ganz rechts), aber alle sind immer noch besser als die ersten 125 nach AM-Ranking. Bereits bei 400 verglichenen Genen ist keine AM-Liste besser als die 400 ersten der HPCDA (hier nicht gezeigt).

## ■ KOOPERATIONSPARTNER

AG Baumgraß, AG Berek, AG Fillatreau, AG Geginat, AG Grützkau, AG Hutloff, AG Radbruch, AG Romagnani, AG Scheffold, AG Shebzukhov, Heidi Schliemann DRFZ Berlin.

Dr. R. Biesen, Prof. G.-R. Burmester, AG Dörner, Dr. G. Heine (AG Worms), Dr. T. Häupl, AG Hamann, AG Prof. Hiepe Charité CCM Berlin.

Dr. C. Dang-Heine, Prof. J. Sieper, M. Steinbrich-Zöllner Charité CCBF Berlin.

PD Dr. K. Pels, PD Dr. Schott, Charité CVK Berlin.

Prof. F. Melchers, Dr. H. J. Mollenkopf, Dr. M. Tsuneto Max Planck Institut für Infektionsbiologie Berlin.

Dr. S. Beetz, Prof. D. Kabelitz Universität Kiel.

Prof. W. Maslinski, Rheumatologisches Institut Warschau, Poland.

Prof. C. L. Verweij VU Universität Medical Center Amsterdam, The Netherlands.

Dr. F. Apparailly INSERM, Montpellier, Frankreich.

Prof. D. Boumpas Universität Kreta, Heraklion, Greece.

Prof. A. Tarnok Klinik für Kinderkardiologie, Leipzig.

Dr. H. Yssel Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, Frankreich.

## PUBLIKATIONEN

Wilke G, Steinhauser G, Grün J, Berek C. In silico subtraction approach reveals a close lineage relationship between follicular dendritic cells and BP3hi stromal cells isolated from SCID mice. *Eur J Immunol* 2010;40:2165–2173

Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Parente E, Gruen J, Morandi B, Ferlazzo G, Thiel A, Schmitt-Knosalla I, Romagnani C. CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. *BLOOD* 2010;116/8:1299-1307

Smiljanovic B, Grün JR, Steinbrich-Zöllner M, Stuhlmüller B, Häupl T, Burmester GR, Radbruch A, Grützkau A, Baumgrass R. Defining TNF- $\alpha$ - and LPS-induced gene signatures in monocytes to unravel the complexity of peripheral blood transcriptomes in health and disease. *J Mol Med* 2010;88:1065–1079

Albrecht I, Niesner U, Janke M, Menning A, Loddenkemper C, Kühl AA, Lepenies I, Lexberg MH, Westendorf K, Hradilkova K, Grün J, Hamann A, Epstein JA, Chang H-D, Tokoyoda K, Radbruch A. Persistence of effector memory Th1 cells is regulated by Hopx. *Eur J Immunol* 2010;40:2993–3006

Stittrich A-B, Haftmann C, Sgouroudis E, Kühl AA, Hegazy AN, Panse I, Riedel R, Flossdorf M, Dong J, Fuhrmann F, Heinz GA, Fang Z, Li N, Bissels U, Hatam F, Jahn A, Hammoud B, Matz M, Schulze F-M, Baumgrass R, Bosio A, Mollenkopf H-J, Grün J, Thiel A, Chen W, Höfer T, Loddenkemper C, Löhning M, Chang H-D, Rajewsky N, Radbruch A, Mashreghi M-F. The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes. *Nature Immunology* 2010;11/11:1057-1064

Grün JR, Grützkau A, Smiljanovic B, Häupl T, Burmester GR, Radbruch A. Is it possible to quantify and rank the quality of several lists of significant genes found with gene expression profiling by different methods? The online Journal of scientific posters, ePosters.net 2011, ID 3692, www.ePosters.net/index.aspx?id=3692

IDs errechnet, so dass er für alle AM-signifikanten Gene ebenfalls zur Verfügung stand. Hochgeladen zu AM wurden alle 6 x 54675 Signale, die zuvor mit sechs unterschiedlichen Methoden normalisiert wurden. Von jeder dieser Normalisierungen (darunter dChip und RMA, das nur die Perfect-Match-Signale verwendet) wurde mit fünf etablierten und veröffentlichten Gen-Selektionsmethoden, die man bei AM auswählen kann (u.a. die am häufigsten zitierte/verwendete Methode SAM), die maximal möglichen 999 signifikanten Gene heruntergeladen. Parameter müssen dabei nicht eingestellt werden, man wählt nur die gewünschte Anzahl an signifikanten Genen. Insgesamt wurden also 30 verschiedene Kombinationen aus Normalisierungen und Gen-Selektionsmethoden, durch Genlisten mit jeweils 999 IDs mit der HPCDA verglichen. Abbildung 1 zeigt alle GLSI-Werte von 25 dieser 999-er und die ersten 999 der mit HPCDA-Score sortierten Genlisten. Zusätzlich wurden die mittleren GLSIs der ersten 500, 250, 125 nach AM oder HPCDA-Score sortierten Listen errechnet. Zu sehen

sind auch die GLSIs der ersten 999 und 125 von 5169 nach dem Fold Change sortierten Genlisten; die FC-Sortierung signifikanter IDs der HPCDA erreicht z.T. nicht einmal die Qualität der Genlisten der AM-Methoden. Abbildung 2 zeigt die Unterschiede für die ersten 125 nach AM sortierten Gene mit den nach HPCDA-Score 11 sortierten ersten 125 und 250 Gene. Hier wird deutlich, dass die in AM angebotenen Methoden nicht die Fähigkeit haben, die wichtigsten Gene in die ersten 125 Positionen zu sortieren, sogar die ersten 250 IDs haben nach HPCDA-Score Sortierung einen höheren GLSI als die ersten 125 mit AM sortierten Gene. Eine Sortierung nach dem HPCDA-Score steht aber normalerweise für andere Chipdaten-Auswerteprogramme nicht zur Verfügung. In Abbildung 3 werden die unterschiedlichen Qualitäten aller Genlisten mit dem HPCDA-Score für jedes einzelne Gen der 30 verschiedenen 999-er AM Listen und die ersten 999 der High Performance Chip Data Analysis sehr deutlich. Von den 5241 (GLSI-Mittelwert 6,64) verschiedenen IDs, die die besten 24 Gen-Selektionen

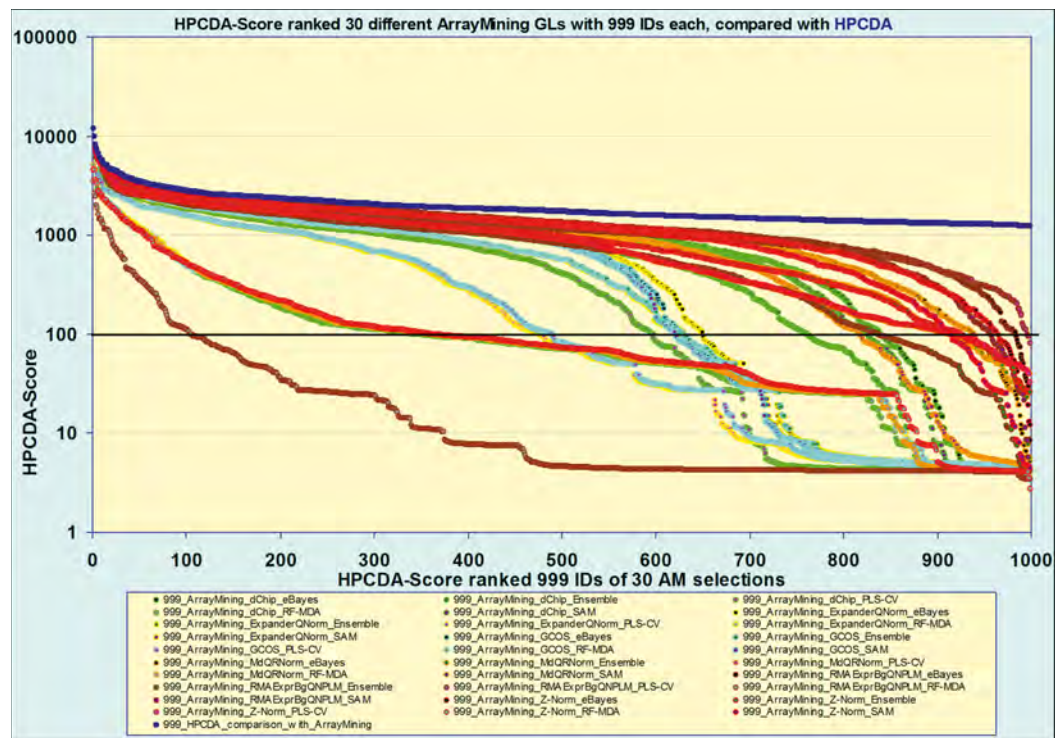


Abbildung 3: HPCDA-Score 11 Ranking aller 999 IDs, die mit jedem der 30 verschiedenen Up- und Downloads mit dem Webtool Array-Mining gefunden wurden. Ein HPCDA-Score von 100 ist etwa die Grenze, unter der gefundene Gene nicht mehr als wirklich relevant angesehen werden können. Die Gen-Selektionsmethode RF-MDA verlässt diesen Bereich schon nach ca. 100, 380 oder 500 Genen, mit originalen GCOS-Signalen (die aber auch bei der HPCDA verwendet werden!) nach 500 oder 650 IDs. Ein HPCDA-Score von unter 10 bedeutet, dass Gene absolut nicht mehr relevant sind, z.T. sogar auf allen Chips als Absent detektiert werden. Es ist auch nicht richtig, dass die am stärksten veränderten Gene von allen Methoden gefunden werden: nur die ersten beiden Gene (HPCDA-Score 11 > 10000) werden von allen Methoden gefunden (außer mit RF-MDA, deren beste signifikante Gene haben einen Score von 3000-4000). Schon das dritte Gen ist unterschiedlich für viele Gen-Selektionsmethoden, wird also nicht immer gefunden. Im Gegensatz dazu haben die ersten 999 von 5169 mit HPCDA gefundenen IDs (dunkleres Blau, oberste Kurve) alle einen Score über 1000, schon ab Gen Nr. 400 zeigen sich größer werdende Differenzen zu allen anderen Methoden.



mit AM ergeben, haben nur 3414 (GLSI 9,10) einen HPCDA-Score von über 70. In den 5169 (GLSI 8,26) HPCDA-signifikanten und den 5241 AM-Genen sind 2656 in beiden Listen vorhanden (GLSI 11,61; niedrigster HPCDA-Score 126,3). Die durchschnittliche Überlappung zwischen je zwei 999-er Genlisten ist nur 36,1% (10,7 – 98,4%; ohne RF-MDA). Es gibt nur eine AM-Methode, die in 999 IDs kein Gen mit einem Score unter 70 hat. Die nach HPCDA-Score sortierten ersten 999 IDs der HPCDA haben alle einen Score von über 1000 (s. Abb. 3), kein Gen in der 5169-er HPCDA Liste hat einen Score unter 100. In Abbildung 4 sind die hierarchischen Clusterbilder von vier 999-er Listen jeweils einer der verschiedenen Normalisierungen (ohne die Ergebnisse der nicht akzeptablen Methode RF-MDA) kombiniert dargestellt. An den Zahlen von über 2000 signifikanten Genen für jede der Normalisierungen ist zu erkennen, dass ein Download von 999

signifikanten Genen für viele Datensätze nicht ausreichend ist. Deutlich wird hier, wie schwierig es ist, anhand von Clusterbildern die Qualität einer Liste von signifikanten Genen zu beurteilen: alle Genlisten erscheinen von ähnlich guter Qualität. Die Informationen über Absence oder Presence eines Gens sind nur in den GCOS-Daten enthalten. Kann man – wie in AM – nur die Signale auswerten, sind andere Chipdaten-Auswerteprogramme nicht in der Lage, Gene mit sehr niedrigen Signalen (HPCDA-Scores unter 10; s. Abb. 3) auszusortieren. Das gleiche gilt für die Change calls, die Aussage darüber, ob ein Gen signifikant hoch- oder herunter reguliert ist. Diese Informationen sind nur mit den GCOS Daten zu erhalten und das wichtigste Kriterium um die Signifikanz der differentiellen Expression eines Gens zu beurteilen.

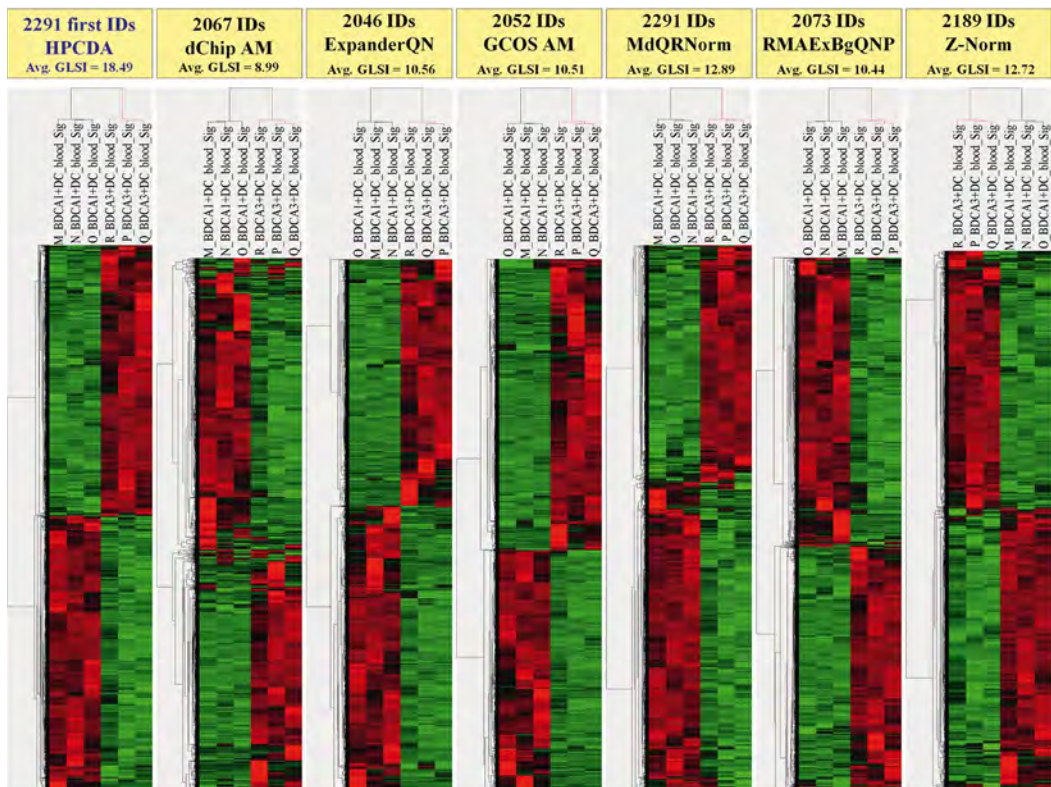


Abbildung 4: Clusterbilder sind nur bedingt für eine Differenzierung von Genlisten-Qualitäten geeignet. Hierarchische Clusterbilder (GCOS-Signale) der kombinierten Genlisten der sechs Normalisierungsmethoden dChip (PM-MM), Expander mit Quantile-Normalisierung der GCOS-Signale, originale GCOS-Signale, MdQR Normalisierung der GCOS-Signale, RMA-Express (nur Perfect Matches) mit Quantile Normalisierung und Background-Korrektur, Z-Normalisierung der GCOS-Signale werden hier verglichen mit den ersten 2291 IDs der HPCDA (entsprechend dem Maximum der anderen Normalisierungen). Alle 4 von 5 Ergebnissen der Gen-Selektionsmethoden, die von ArrayMining (AM) angeboten werden, wurden für jede der 6 Normalisierungsmethoden hier zusammengefasst. Da RF-MDA sehr schlechte Resultate ergab, wurden die IDs dieser Methode bei allen Clusterbildern ausgeschlossen. Wie deutlich zu sehen ist, sind hierarchische Clusterbilder nur sehr bedingt geeignet, die unterschiedliche Qualität gefundener Genlisten zu beurteilen (alle bis auf dChip sehen schon mit den GCOS-Signalen recht gut aus). Es ist in vielen Fällen nicht ausreichend, die Parameter so einzustellen, dass man weniger als 1000 Gene erhält (oft gelesene Empfehlung und offensichtlich auch bei ArrayMining realisiert), denn schon 4 unterschiedliche AM Gen-Selektionsmethoden ergeben für diesen Datensatz mehr als 2000 signifikante Gene für jede der sechs Normalisierungen. Fasst man alle hier gezeigten AM signifikanten Gene zusammen, erhält man eine Liste von 5241 IDs, davon sind 2585 IDs (Avg. GLSI 1.20) nicht in der HPCDA-Liste von 5169 enthalten.





Dr. Anja Erika Hauser  
Dr. Raluca Niesner



## Zentrallabor für Mikroskopie Cinima - Core facility for Innovative Imaging and Microscopy Approaches

### Fluoreszenzmikroskopie: von der Zelle zum Organismus

#### GRUPPENLEITER

Dr. med. vet. Anja E. Hauser  
Dr. rer. nat. Raluca Niesner

#### KOOPERATIONSPARTNER

JIMI (Joint Intravital Microscopy  
and Imaging Network)

Dank der Kombination von molekularer Spezifität mit hoher räumlicher Auflösung hat sich die Fluoreszenz-Mikroskopie, welche bereits in den dreißiger Jahren eingeführt wurde, als zuverlässige Routine- und high-end-Methode in Biowissenschaften und Biomedizin etabliert. Zurzeit kommt die Fluoreszenz-Mikroskopie bei Untersuchungen von fixierten Biopsien, der Analyse von Zellkulturen, bei der Bildgebung in vitalen Organmodellen und in lebenden anästhesierten Kleintieren zum Einsatz. Dabei sind mittlerweile Auflösungen möglich, die bis in den Bereich der Elektronen-Mikroskopie reichen, z.Bsp. Nanoskopietechniken wie STED Mikroskopie, PALM, STORM oder SSIM/SPEM. Im Bereich der mikroskopischen Bildgebung am DRFZ besteht große Expertise bei etablierten Fluoreszenz-Methoden wie der Epi- und konfokalen Fluoreszenzmikroskopie aber auch in neusten Entwicklungen der *in vivo*, *ex vivo* und intravitalem Mikroskopie.

#### Konfokale Laser-Raster Mikroskopie und Epifluoreszenz-Mikroskopie

Das am DRFZ vorhandene Epifluoreszenz-Mikroskop (Olympus) wird hauptsächlich zur schnellen Analyse von histologischen Proben verschiedener Organe wie Knochenmark, Darm, Lymphknoten oder Zentralnervensystem benutzt. Um dreidimensionale Bilder mit bis zu sechs unterschiedlichen Farben (spektralen Bereichen) zu erreichen, d.h. die Unterscheidung von bis zu sechs Zell- oder Struktursubtypen, wird das hochauflösende konfokale Mikroskop LSM710 der Firma Zeiss AG verwendet. Damit können wir zum einen große Probenbereiche bis zu wenigen mm<sup>2</sup> unter Benutzung des 20x Objektivs analysieren. Zum anderen können wir aber auch Zell-Zell Wechselwirkungen auf subzellulärem Niveau hochauflösend darstellen und

untersuchen. Hierfür verwenden wir ein 63x oder 100x Öl-Immersion Objektiv das eine Auflösung von 229 nm lateral und 577 nm axial bei 488 nm erlaubt.

Durch die Möglichkeit der Temperierung der Messkammer des konfokalen Mikroskops auf 37° C und der Begasung mit Carbogen (CO<sub>2</sub> 5% + O<sub>2</sub> 95%) können sogar lebende Proben, z.B. Zellkulturen oder gar Organmodelle untersucht werden. Die Abbildung 1 zeigt beispielhaft Anwendungen des konfokalen Fluoreszenz-Mikroskops am DRFZ.

#### Multi-Photonen-Laser-Raster-Mikroskopie für *in vivo* Imaging

Während die bereits beschriebenen, etablierten Fluoreszenz-Mikroskopie-Techniken auf Ein-Photonen-Anregung basieren, d.h. der Anregung im UV/sichtbaren Bereich, und somit intrinsisch eine hohe räumliche Auflösung erlauben, können sie aus demselben Grund nicht zur Bildgebung tief im Gewebe eingesetzt werden. Dank der Vorteile der ultra-kurz gepulsten, nahinfraroten (NIR) und infraroten (IR) Bestrahlung überwindet die Multi-Photonen-Mikroskopie gerade diese Limitierung der etablierten Mikroskopie-Techniken. Die intrinsische 3D-Auflösung und die Möglichkeit der Anregung im optischen Fenster des Gewebes, d.h. bei Wellenlängen, bei denen weder Hämoglobin noch Wasser oder Proteine Licht absorbieren können, macht die Multi-Photonen-Mikroskopie zum idealen Werkzeug bei der Bildgebung zellulärer Dynamik und Wechselwirkungen tief in Organmodellen, explantierten Organen oder Organismen.

Am DRFZ gibt es viel Erfahrung im Bereich der Multi-Photonen-Mikroskopie bei der Analyse von explan-

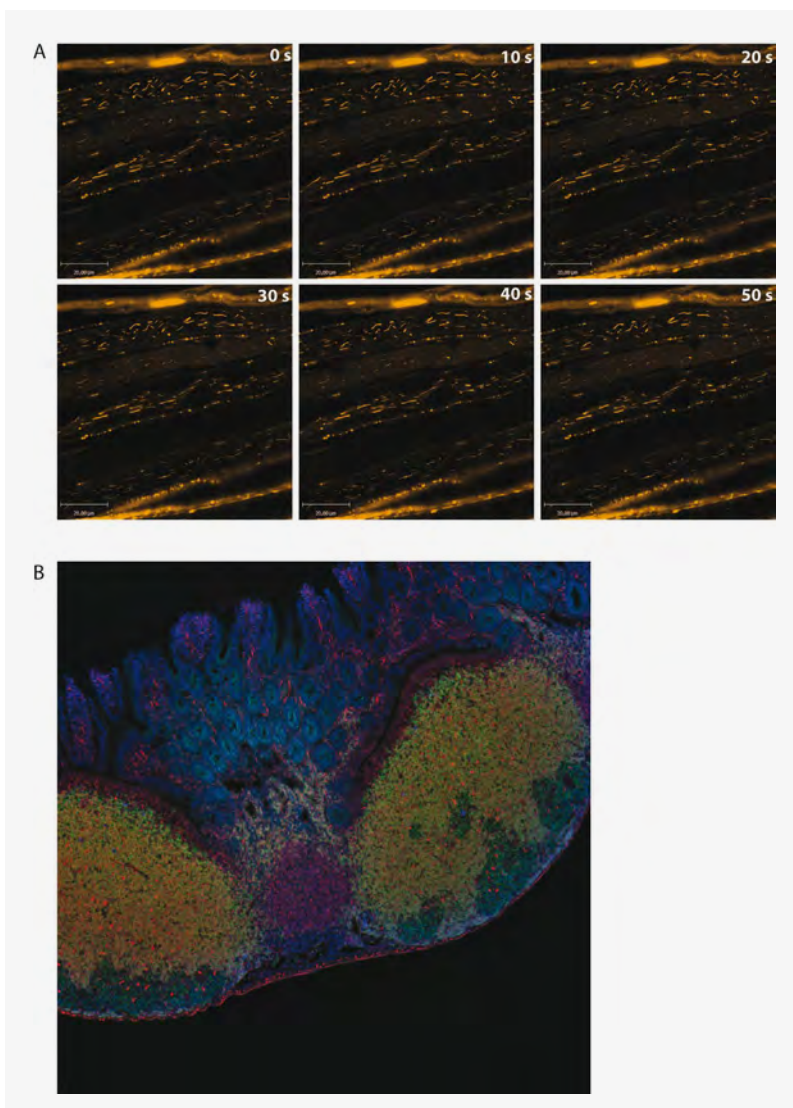
tierten Organen wie hippocampalen Hirnschnitten, Milzschnitten und von Organen lebender Kleintiere (z.B. Darm, Lymphknoten, Knochenmark und Organen des Zentralnervensystems, d.h. Hirnstamm und Cortex. Die Abbildung 2 zeigt typische Bewegungsmuster von Keimzentrum-B-Zellen im Lymphknoten einer anästhesierten Maus.

2011 gründeten wir JIMI (Joint Network for Intravital Microscopy), ein Netzwerk für Intravitalmikroskopie wodurch wir die vorhandenen Expertisen im Bereich der *in vivo* Multi-Photonen-Mikroskopie (DRFZ), dem Management von Imaging-Gerätezentren (Dr. A. Sporbert, Dr. Z. Cseresnyes; Max-Delbrück-Zentrum für molekulare Medizin (MDC, Berlin)), und der Sys-

tembiologie (Prof. Dr. Thilo Figge ;Hans-Knöll-Institut, Jena) bündeln wollen. Das Ziel ist es die *in vivo* und intravitale Mikroskopie für mehrere Biowissenschaftler zugänglich zu machen und in diesem Sinne eine projektbezogene Betreuung zu gewährleisten.

Weiterhin kooperieren wir eng mit Experten im Bereich der Super-Resolution Technik (Dr. L. Kastrup und Prof. Dr. S.W. Hell (Bionanophotonik) am MPI für Biophysikalische Chemie in Göttingen), um den Wissenschaftlern am DRFZ auch den Zugang zu diesem Bereich zu ermöglichen.

Dieses Projekt wird ab 2012 bis 2015 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) gefördert.



**Abbildung 1:** Fig. 1a. Zeitserie von Konfokalbildern eines explantierten peripheren Nerven (512x512 pixel), in der man die Bewegung von axonalen Mitochondrien (markiert mit MitoTracker Orange, excitation 532 nm, emission 590 nm) beobachten kann. Die Bilder wurden in einem Zeitabstand von 2 Sekunden gemacht. Man kann mit dieser Methode axonale Degeneration im Verlauf von Entzündungen analysieren

**Fig 1b:** Konfokale Mikroskopieaufnahme von Lymphozyten im Dünndarm einer Maus.

Verschiedenste Publikationen haben bereits gezeigt, dass der Darm eine bedeutende Rolle bei der Regulation von Immunantworten hat. In den letzten Jahren gibt es in Mausmodellen zunehmend Hinweise darauf, dass die Zusammensetzung der Darmflora einen Einfluss auf die Entstehung von Autoimmunkrankheiten wie z.B. Rheumatoide Arthritis oder Multiple Sklerose haben kann. Rot: Zellen in aktiver Zellteilung, Grün: B Zellen, Blau: Zellkerne

Foto: J. Hirscher



## Immunmonitoring

### MITARBEITER

#### Gruppenleitung

Dr. rer. nat. Andreas Grützka

#### Doktoranden

Biljana Smiljanovic,  
Ursula Schulte-Wrede,  
Thomas Rose

#### Technische Assistenz

Heike Hirseland

#### Bachelor

Anna Smorodchenko

### KOOPERATIONSPARTNER

Dipl. Ing. Toralf Kaiser, Dr. rer. nat.  
Joachim Grün, DRFZ

PD Dr. med. Thomas Häupl,  
Till Sörensen, Dr. rer. nat. Bruno  
Stuhlmüller, Dr. med. Robert  
Biesen, Sylvia Pade, PD Dr. med.  
Berit Rosche

PD Dr. med. Gabriela Riemekasten,  
Prof. Dr. med. Thomas Dörner, Dr.  
rer. nat. Henrik Mei, Prof. Dr. med.  
Falk Hiepe, Charité – Universitäts-  
medizin Berlin, Campus Charité  
Mitte

Prof. Dr. med. Jochen Sieper, Marta  
Steinbrich-Zöllner,  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin, Campus Benjamin Franklin

Prof. Dr. Cor Verweij, VUmc  
Amsterdam, Niederlande

Prof. Dr. Wlodzimierz Maslinski,  
Institute of Rheumatology,  
Warschau, Polen

Dr. rer. nat. Sven Olek,  
Epiontis GmbH

Unter Immunmonitoring versteht man im Allgemeinen die Zusammenfassung verschiedener Diagnoseverfahren, die Aufschluss über den Immunstatus eines Patienten geben sollen. Je nach klinischem Einsatzgebiet, können humorale Faktoren, wie Zytokine, Antikörpertiter oder Komplementbestandteile, die zelluläre Zusammensetzung des Blutes, funktionell-zelluläre Parameter oder auch die Kombination aus diesen bestimmt werden. Für zahlreiche klinische Fragestellungen sind bereits begleitende Immunmonitoring-Programme etabliert, wie beispielsweise in der Transplantationsmedizin, bei Sepsis, bei immunmodulatorischen Therapien und bei Impfstrategien zur Verfolgung spezifischer Immunantworten.

Die Idee zur Etablierung eines umfangreichen Immunmonitorings im Bereich entzündlich-rheumatischer Erkrankungen beruht auf der Erkenntnis, dass auf Einzelmolekülen basierende Biomarker mit wenigen Ausnahmen nur eine geringe Aussagekraft im Hinblick auf eine verbesserte Diagnose und Prognose besitzen. Ausnahmen sind die Messung von Autoantikörpern gegen citrullinierte Peptide/Proteine (sog. ACPAs) bei RA, die Messung von Plasmablasten (Odendahl et al., 2000; Jacobi et al., 2010) oder von Siglec-1 exprimierenden Monozyten beim SLE (Biesen et al., 2008) - zwei Parameter, die sehr gut mit der Krankheitsaktivität von Lupus Patienten korrelieren. Aufgrund der mit globalen Transkriptomanalysen erzielten Ergebnisse, erscheint es viel versprechend, dass durch die gleichzeitige Messung möglichst vieler immunologisch relevanter Parameter und die dadurch mögliche Identifizierung von Biomarker-Signaturen der Weg für neue Diagnoseverfahren bereitet wird, die vor allem dringend zur Therapieprognose benötigt werden. Derzeit ist es leider nicht möglich, bereits vor Therapiebeginn vorherzusagen, ob ein Patient auf eine bestimmte Therapie ansprechen wird oder nicht. Dies ist aber genau das Ziel der sogenannten personalisier-

ten Medizin, um die bestmögliche Therapie auf den einzelnen Patienten abstimmen zu können. So lässt sich das Risiko schädlicher Nebenwirkungen minimieren, und es lassen sich enorme Kosten für das Gesundheitssystem einsparen, da in der Regel nur 50-60% der mit teuren Biologika behandelten Rheumapatienten von einer spürbaren Verbesserung ihrer Krankheits-symptome profitieren.

Aufgrund der technischen Möglichkeiten, die die analytischen Durchflußzytometer der neuesten Gerätegeneration bieten, lassen sich derzeit bis zu 17 verschiedene Fluorochrome gleichzeitig bestimmen und somit die Expression entsprechend vieler Antigene in einer Messung qualitativ und quantitativ bestimmen. Ausgehend von diesen Möglichkeiten wird im Folgenden ein „State of the Art“ Immunmonitoringverfahren vorgestellt, das 50 verschiedene Oberflächenmoleküle umfasst und durch deren Kombinationsmöglichkeiten auf verschiedenen Zellpopulationen Informationen für annähernd 900 phänotypische Parameter liefert. Nachdem mit Hilfe dieses experimentellen Ansatzes gezeigt werden konnte, dass bereits 38 immunphänotypische Parameter ausreichend sind, um das Blut von Morbus Bechterew im Vergleich zu dem von gesunden Spendern zu klassifizieren, wird derzeit untersucht, ob sich Parameter identifizieren lassen, die das erfolgreiche Ansprechen auf eine anti-TNF- $\alpha$  Therapie vorherzusagen vermögen.

Das Immunmonitoring umfasst derzeit 10 feststehende Färbeprotokolle, die in erster Linie zellspezifische und Aktivierungs-abhängige Antigene beinhalten. Dieses Set an Färbungen kann je nach Anforderung noch um weitere Färbensätze erweitert werden. In Abb. 1 sind beispielhaft die Parameter zusammengefasst, die Aufschluss über die zelluläre Zusammensetzung des Blutes geben („Zytometrisches Differential-Blutbild“).



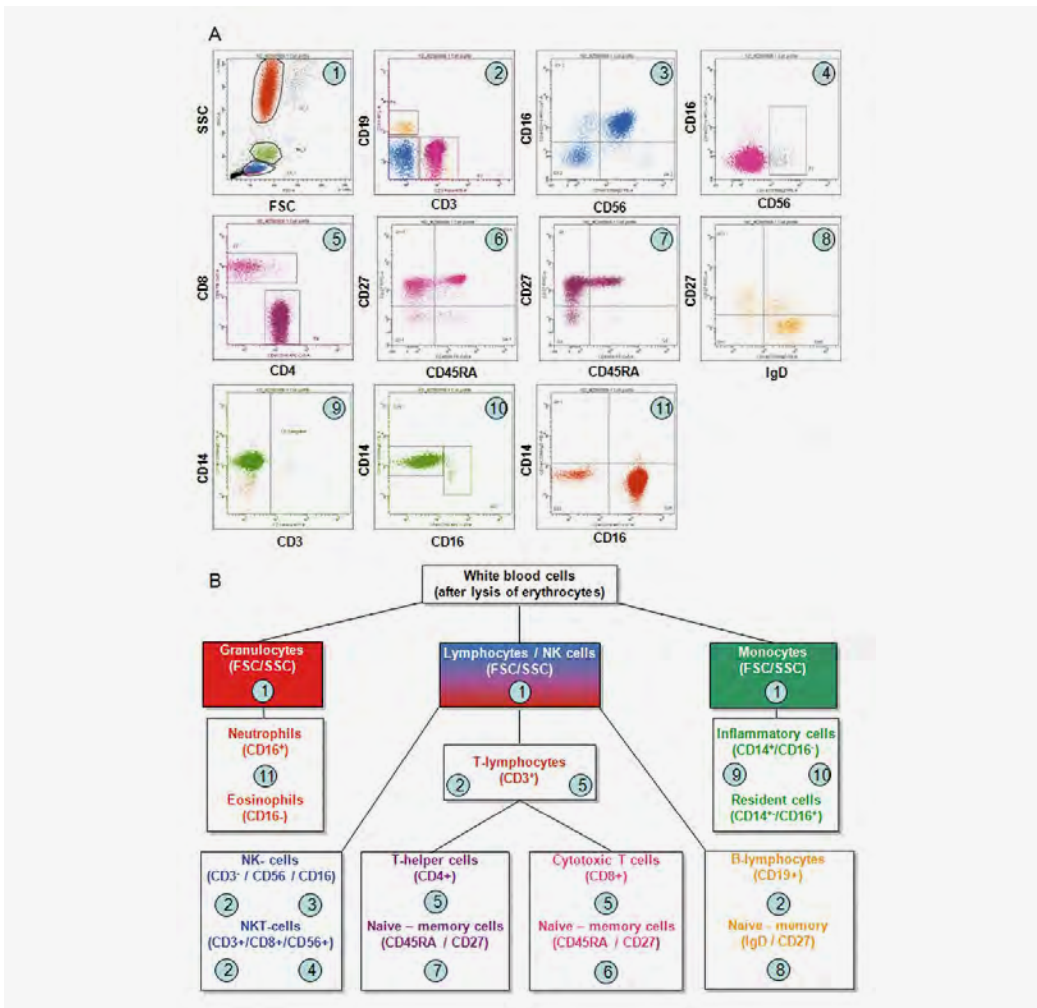


Abbildung 1: „Zytometrisches Differential-Blutbild“ eines gesunden Blutspenders, das durch Kombination von 10 verschiedenen, gegen Oberflächenproteine gerichteten Antikörpern erstellt worden ist. (A) zeigt die Gating-Strategie zur Erfassung der verschiedenen Leukozytenpopulationen im peripheren Blut und in (B) sind die aus A hervorgehenden Zellpopulationen namentlich und die sie charakterisierenden Oberflächenantigene schematisch zusammengefasst.

Die anderen Protokolle dienen der weitergehenden Feinanalyse von Lymphozytenpopulationen (Plasmablasten/Plasmazellen, regulatorischen T Lymphozyten, Central Memory und Central Effektor Memory-T Lymphozyten), Dendritischen Zellen (plasmazytoiden und myeloiden DC's), Monozyten, Granulozyten und NK-Zellen. Die Stärke dieses umfangreichen „zytometrischen Blutbildes“ liegt darin, dass auch seltene Zellpopulationen erfasst werden, die prozentual zwar nur in sehr geringer Anzahl vorkommen, wie beispielsweise die regulatorischen T Lymphozyten, aber aufgrund ihrer spezialisierten, immunmodulatorischen Funktion erheblich eine Entzündungsreaktion und damit auch einen Therapieverlauf beeinflussen können.

Für das Immunmonitoring werden in der Regel 5-10 ml Vollblut benötigt. Das Blut wird zunächst mit einem Lysepuffer behandelt, um die roten Blutkörperchen zu eliminieren. Nach der Färbung der Zellen mit den entsprechenden Antikörper-Cocktails, werden diese am LSR II analysiert.

Die enorme Vielzahl an phänotypischen Parametern, die von einer Blutprobe gewonnen werden kann, machte die Entwicklung einer spezifisch angepassten Access-Datenbank erforderlich. Diese ermöglicht es, aus einer Gruppe von Blutproben diejenigen Parameter zu extrahieren, die im Vergleich zu einer Referenzkohorte krankheits- oder Therapie-spezifisch sind. Zusätzlich ist es notwendig Algorithmen zu entwickeln, die eine vollautomatische Analyse der Blutproben erlaubt. Hierzu wird in enger Kooperation mit der medizinischen Bioinformatik der Charité und unter Leitung von Thomas Häupl an der Entwicklung von automatischen Clustertools gearbeitet, die im nachfolgenden Absatz kurz beschrieben werden.

**Bioinformatik**

Neben den von Joachim Grün (Bioinformatik; DRFZ) entwickelten Analysestrategien, die zunächst eine manuelle Aufbereitung der zytometrischen Daten bedarf, arbeitet Till Sörensen (AG Thomas Häupl; Charité) an Algorithmen, die eine vollautomatische Auswertung von multidimensionalen Datensätzen ermöglichen soll.

■ **DRITTMITTEL**  
 EU-FP 7: Autocure  
 EU: IMI JU BTCure  
 Technologiestiftung Berlin/  
 Brandenburg



Eine komplett automatische Analyse der Flow-Cytometrie Daten von der Messung bis Ergebnissen und Tests in Forschung und Diagnostik benötigt die Lösung verschiedener Teilschritte: geeignete Transformation der Fluoreszenz-Parameter, Erkennung von Zellgruppen innerhalb eines Messdatensatzes, Identifizierung von Zellpopulationen zwischen verschiedenen Datensätzen sowie die Extraktion geeigneter Merkmale für die Zellpopulationen für weitergehende Untersuchungen und Tests.

Für die Gruppierung der Zellwerte in den einzelnen Messungen wurde ein Algorithmus entwickelt, der nicht überwacht diese Aufgabe auch für große Datensätze (> 1.Mio. Zellen und bis zu 10 Messparametern) erfüllt. Er basiert auf einer "Expectation Maximization"- (EM) Iteration für ein mehrdimensionales t-mixture Modell. Zwischen den Iterationsschritten werden geeignete Transformationsparameter geschätzt, um die Verteilung der Zellgruppen möglichst gut in eine symmetrische Form zu bringen. Weiterhin wird die Anzahl der Zellgruppen iterativ ermittelt. Damit ist der Algorithmus ohne Vorbehandlung der Daten oder weitere Eingriffe eines Operators direkt auf die Messdaten anwendbar. Da jeder Schritt für die Gruppierung der Zellen alle Parameter berücksichtigt, können auch unkompenzierte Daten direkt verarbeitet werden (Abb. 2).

Nachdem die Zellgruppen in einzelnen Experimenten ermittelt sind, müssen diese über die verschiedenen Messungen hinweg einander zugeordnet werden. Hierfür wurde ein Meta-Cluster-Algorithmus entwickelt, der die Position und Ausdehnung der Zellgruppen einzelner Experimente im mehrdimensionalen Raum berücksichtigt (Abb. 3). Mittels "Generalisierte Prokrustes Analyse" (GPA) werden unterschiedliche Skalierungen zwischen den Experimenten ausgeglichen und dadurch eine Identifizierung übergreifender Zellpopulationen möglich.

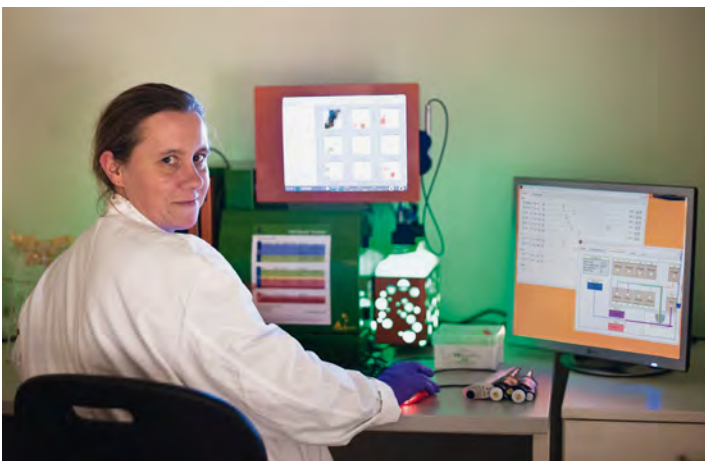


Abbildung 2: Immunmonitoring am MACSQuant-Zytometer, mit dem sich bis zu 9 zelluläre Parameter je Einzelzelle quantitativ erfassen lassen und so Informationen über den Immunstatus eines Patienten gewonnen werden können

## Ergebnisse & Diskussion

### Immunmonitoring bei Morbus Bechterew und Multiple Sklerose Patienten

Im Rahmen einer Pilotstudie wurde in Kooperation mit der Rheumatologie des Klinikums Benjamin Franklin Blut von 12 unbehandelten Morbus Bechterew Patienten (Ankylosierende Spondylitis) im Vergleich zu 12 gesunden Vergleichspersonen analysiert. Nach einer primären Analyse der Rohdaten mittels FacsDIVA-Software (Becton Dickinson) wurden die Daten in eine speziell adaptierte Access-Datenbank (Joachim Grün) importiert und dort die Parameter bzw. Parameterkombinationen identifiziert, die beim Vergleich der Patienten zu den gesunden Kontrollen signifikant unterschiedlich reguliert waren. In Kooperation mit Dr. Grün wurde durch Anwendung von Software-Programmen, die ursprünglich für die Analyse von Microarray-Daten entwickelt worden sind, wie z.B. Genes@Work, mit diesen Kandidaten Cluster- oder auch Klassifizierungsanalysen durchgeführt werden. In Abbildung 4 ist das Ergebnis einer solchen Clusteranalyse gezeigt.

Es konnten so 77 phänotypische Parameter bestimmt werden, die eine fehlerfreie Klassifizierung der Patienten- und der gesunden Kontrollen zuließen. Auch neue Blutproben, die ursprünglich nicht für den Prozess der Parameterselektion herangezogen wurden, konnten so mit hoher Genauigkeit vorhergesagt werden.

Auch konnten bereits bei AS-Patienten anti-TNF- $\alpha$  Therapie-induzierte, immunphänotypische Signaturen identifiziert werden. Aktuell werden Signaturen validiert, die ein erfolgreiches Ansprechen auf TNF- $\alpha$  bereits vor Therapiebeginn prognostizieren können.

In Zusammenarbeit mit Berit Rosche (Neuroimmunologie; Charité) konnten auch erste krankheitspezifische Signaturen bei Multiple Sklerose-Patienten identifiziert werden.

## Perspektiven

Das hier beschriebene, komplexe Immunmonitoring wird aktuell dazu genutzt, Therapiestudien zu begleiten, um Immunphänotyp-basierte Prädiktoren für das Ansprechen auf eine bestimmte Biologika-Therapie zu identifizieren. Weiterhin wird derzeit versucht, Algorithmen zu entwickeln, die eine Automatisierung der primären Datenanalyse erlauben. Letztlich muss nach Möglichkeiten gesucht werden, das Immunmonitoring von größeren Probenmengen bezüglich eines Hochdurchsatzverfahrens anzupassen und zu optimieren.



Dr. rer. nat. Andreas Grützkau  
 PD Dr. rer. nat. Claudia Berek  
 PD Dr. med. Thomas Häupl



## Regine von Ramin-Labor für Molekulare Rheumatologie

### MITARBEITER

#### Gruppenleitung

Dr. rer. nat. Claudia Berek  
 Dr. rer. nat. Andreas Grützkau  
 PD Dr. med. Thomas Häupl

#### Doktorandin

Biljana Smiljanovic

#### Technische Assistenz

Heidi Schliemann  
 Heike Hirseland  
 Gudrun Steinhauser  
 Anja Wachtel

### REFERENZEN

Smiljanovic B et al. The multifaceted balance of TNF-alpha and type I / II interferon responses in SLE and RA: how monocytes manage the impact of cytokines. *JMM* 2011 (in press)

Smiljanovic B et al. Defining TNF - and LPS-induced gene signatures in monocytes to unravel the complexity of peripheral-blood transcriptomes in health and disease *JMM* 2010; 88(10):1065-79.

Chu VT, Enghard P, Schürer S, Steinhauser G, Rudolph B, Riemekasten G, Berek C. Systemic activation of the immune system induces aberrant BAFF and APRIL expression in B cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009 Jul;60(7):2083-93.

Menssen A, Edinger G, Grün JR, Haase U, Baumgrass R, Grützkau A, Radbruch A, Burmester GR, Häupl T. SiPaGene:

Im Dezember 2004 wurde durch den großzügigen Nachlass von Frau von Ramin und einer Kofinanzierung aus Mitteln der Senatsverwaltung WiFoKu das Regine-von-Ramin Labor für Molekulare Rheumatologie (RvR-Labor) gegründet. Dieses Labor wird gemeinsam von den Arbeitsgruppen des DRFZ und den Liaisongruppen der Charité zur Durchführung von genomweiten Genexpressions-Analysen mittels Affymetrix-Technologie genutzt. Neben der Möglichkeit globaler Transkriptionsanalysen, besteht auch die Möglichkeit, Microarray-basierte miRNA Expressionsanalysen durchzuführen.

### Technische Ausstattung des Regine von Ramin Labores

Das RvR-Labor verfügt über eine Affymetrix-Station, die den aktuellen Scanner 3000 7G und die Fluidics FS450 umfasst. Darüber hinaus stehen mit dem Bioanalyzer (Agilent) und dem Nanodrop ND-1000 Spektrophotometer Standardinstrumente zur Qualitätskontrolle der untersuchten RNA-Proben zur Verfügung. Zusätzlich lassen sich mit der aHybTM-Hybridisierungsstation (Miltenyi Biotec) auf Objektträger gespottete Arrayformate prozessieren, die z.B. ein miRNA Expression Profiling mit Hilfe der miXplore Arrays (Miltenyi Biotec) erlauben.

In idealer Ergänzung ist in diesem Labor auch ein Laser Capture Mikrodisektionsgerät (LCM) der Fa. Arcturus untergebracht, das es ermöglicht, morphologisch und immunhistologisch charakterisierte Gewebeareale ohne enzymatischen Verdau „auszuschneiden“ und für molekulare Untersuchungen zugänglich zu machen. Beide Technologien werden primär dazu genutzt, Zellen molekular auf DNA-, RNA- und Proteinebene zu analysieren. Durch die Integration der LCM-Technologie in das RvR-Servicelabor ist es möglich, morphologisch und immunhistologisch eindeu-

tig identifizierbare Gewebeareale oder Zellen mittels der globalen Genexpressionsanalytik zu untersuchen (Abbildung 1).

### Bioinformatische Analysen

In enger Kooperation mit der Bioinformatik (Joachim Grün, DRFZ; Thomas Häupl, Charité) und der erfolgreich aus der Charité ausgegründeten „BioRetis GmbH“ konnte in den letzten Jahren die Grundlage für die Etablierung von umfangreichen experimentellen Maus- und krankheitsrelevanten humanen Transkriptombanken gelegt werden. Die Zusammenführung dieser Daten in die BioRetis- Analyseplattform gewährleistet sehr komfortable und zielgerichtete Gruppenvergleichsanalysen, die weltweit im Rahmen von bestehenden nationalen und internationalen Forschungsverbänden unter Berücksichtigung eines definierten Rechtevergabesystems genutzt werden können. Ein Überblick zu den zugrundeliegenden Analysestrategien wird im nachfolgenden Kapitel zur „Bioinformatik“ von Joachim Grün gegeben.

### Generierung von Krankheits-, Zell- und Zytokin-spezifischen Genexpressionsprofilen

Ein Forschungsschwerpunkt des DRFZ stellt die Analyse von krankheits- und zellspezifischen, globalen Genexpressionsprofilen dar. Es konnte gezeigt werden, dass periphere Monozyten, die von RA-, SLE und Morbus Bechterew Patienten isoliert worden sind, Krankheits-spezifische Gensignaturen aufweisen, die u.a. erfolgreich für eine Klassifizierung der Erkrankungen genutzt werden konnten (Abbildung 2). Die hohe Anzahl von differentiell exprimierten Genen spiegelt die Komplexität der chronisch-entzündlich rheumatischen Erkrankungen wieder, die ganz offensichtlich unter der konzertierten Regulation verschiedener Entzündungsmediatoren stehen. Die tragende pathophysiologische Rolle von pro-inflammatorischen



Zytokinen, wie TNF- $\alpha$  oder IFN- $\alpha/\gamma$ , am Entzündungsgeschehen konnte in den letzten 10 Jahren eindrucksvoll durch die erfolgreiche Behandlung mit Zytokin-spezifischen Biologika-Therapien gezeigt werden. Allerdings gibt es bisher keine zuverlässigen, molekularen Biomarker, die eine gezielte und damit individualisierte Therapie erlauben. Basierend auf dieser Erkenntnis wurden im Rahmen zweier von der EU-geförderten Forschungsprojekte (Autocure und IMI JU BTCure) Zytokin-spezifische Gensignaturen ex vivo erhoben (Abbildung 3).

Durch den Abgleich dieser Expressionsprofile mit den krankheitsspezifischen Profilen konnte Biljana Smiljanovic im Rahmen ihrer Promotionsarbeit zeigen, dass periphere Monozyten hoch-sensitive Biosensoren

sind, die krankheitsabhängig qualitativ und quantitativ unterschiedliche Zytokinsignaturen aufweisen. Während Monozyten von Lupuspatienten primär durch IFN- $\alpha/\gamma$ -vermittelte Immunantworten geprägt sind, konnte bei RA-Patienten eher eine Dominanz von TNF- $\alpha$  festgestellt werden. Allerdings konnte ganz klar gezeigt werden, dass deutliche interindividuelle Heterogenitäten insbesondere bei RA existieren, d.h. auch aktive RA-Patienten können eher durch eine IFN- als durch eine TNF-vermittelte Immunantwort charakterisiert sein. Dieses Wissen soll in weiterführenden Untersuchungen genutzt werden, um zu klären, ob diese molekularen Zytokinresponse-Signaturen zur Prädiktion eines erfolgreichen Therapieansprechverhaltens herangezogen werden können.

A new repository for instant online retrieval, sharing and meta-analyses of GeneChip expression data. BMC Genomics. 2009 Mar 5;10:98.

Stuhlmüller B, Häupl T, Hernandez MM, Grützkau A, Kuban RJ, Tandon N, Voss JW, Salfeld J, Kinne RW, Burmester GR. CD11c as a Transcriptional Biomarker to Predict Response to Anti-TNF Monotherapy With Adalimumab in Patients With Rheumatoid Arthritis. Clin Pharmacol Ther. 2009;87(3):311-21.

**KOOPERATIONSPARTNER**

Dr. rer. nat. Joachim Grün, DRFZ  
 Dr. rer. nat. S Fillatreau, Dr. rer. nat. Chiara Romagnani, Dr. rer. nat. A Hutloff, Dr. rer. nat. K Tokoyoda, DRFZ

PD Dr. med. K Pels, PD. Dr. med. E. Schott, Dr. rer. nat. C Daridon, Prof. Dr. med. T Dörner, Dr. med. S Mercan, Dr. rer. nat. K Kappert, Charité - Universitätsmedizin Berlin

Prof. Dr. rer. nat. A Thiel, BCRT - Charité

Prof. Dr. rer. nat. F Melchers, Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin

PD Dr. rer. nat. U Höpken, Max Delbrück Zentrum, Berlin-Buch

PD Dr. rer. med. H Eibel, Universitätsklinikum, Freiburg

Prof. Dr. med. B Bröker, Immunologie, Greifswald

Dr. F Apparailly, Dr. H Yssel, INSERM, Montpellier, Frankreich

Prof. Dr. W Maslinski, Institute of Rheumatology, Warschau, Polen

Dr. rer. nat S. Wild, Miltenyi Biotech, Bergisch-Gladbach

**DRITTMITTEL**

Senatsverwaltung für WiKuFo (Zuwendung aus dem Bund-Länder-Programm "Förderung innovativer Forschungsstrukturen in den neuen Ländern und Berlin)

Private Förderung durch den Regine von Ramin Nachlaß

EU-FP 7: Autocure

IMI JU BTCure

Abbildung 1: Ablaufschema zur globalen Genexpressionsanalyse beginnend von Zellisolierung per FACS bzw. per Laser-Mikrodissektion bis hin zur Generierung und Analyse des Transkriptomts mittels Microarray-Technologie. Mit dieser Methodik lassen sich sog. Gensignaturen identifizieren, die Aufschluss über die zellspezifische Pathophysiologie geben, aber auch für diagnostische Zwecke genutzt werden können.

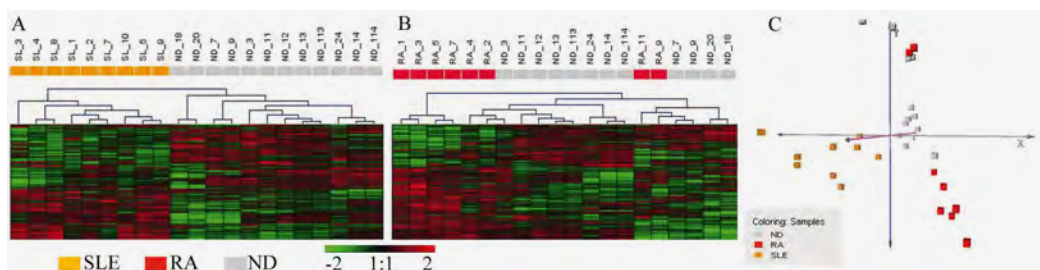
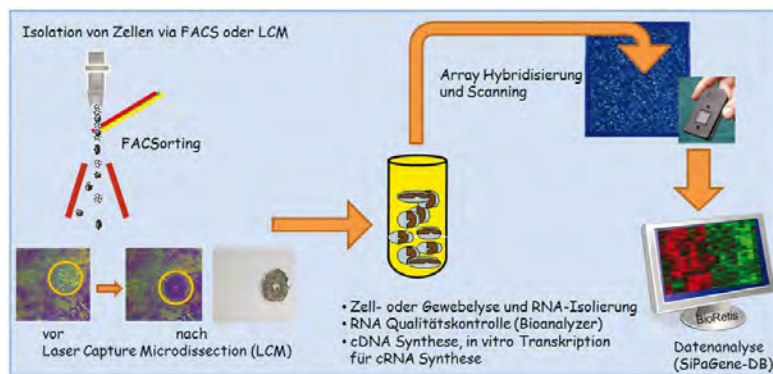


Abbildung 2: Genexpressionsprofile von humanen Monozyten, die von Lupus- (A) und RA-Patienten (B) aus dem peripheren Blut isoliert worden sind, und die mit Monozyten von gesunden Spendern verglichen worden sind. Die rot-grün Muster fassen ähnlich regulierte Gene zusammen (rot: verstärkte Expression; grün: verminderte Expression), die allerdings von ihrer qualitativen Zusammensetzung bei SLE und RA unterschiedlich sind und somit eine Klassifikation der Erkrankungen erlauben (C; Principal Component Analyse).

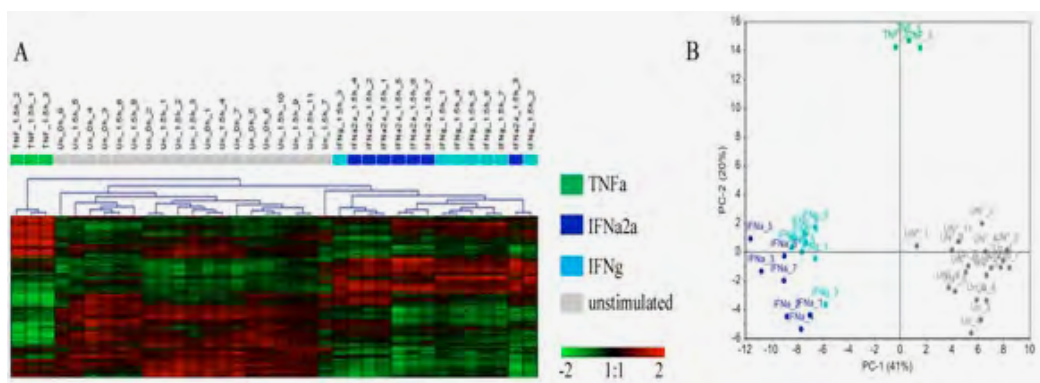
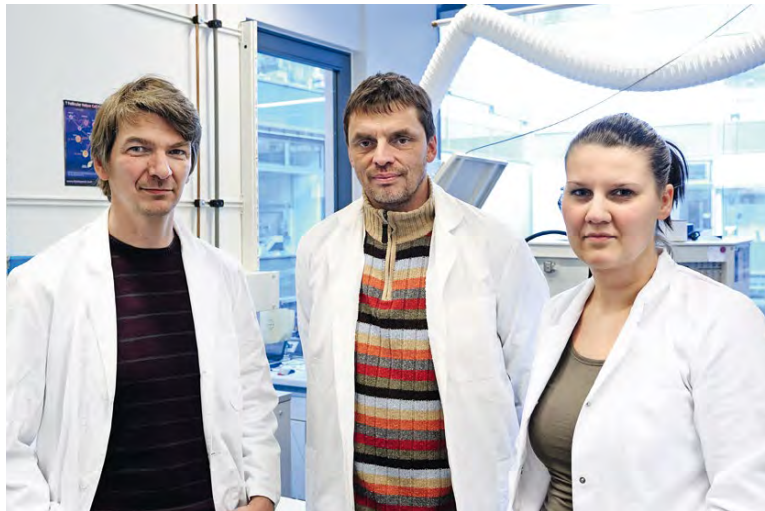


Abbildung 3: (A) Hierarchische Genclusteranalyse von Zytokin-spezifischen Expressionsprofilen, die in peripheren Blutmonozyten erhoben worden sind. (B) Principal Component Analyse (PCA), die zeigt, dass sich die Zytokin-aktivierten Zellen deutlich von den unstimulierten Proben (in Grau) unterscheiden, und dass die IFN- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  Genprofile (in Blau und Türkis) sich weit ähnlicher sind als das von TNF- $\alpha$  (in Grün).





Toralf Kaiser  
Andreas Grützkau  
Jenny Kirsch

## Zentrallabor für Zytometrie & Zellsortierung FCCF

### MITARBEITER

Wissenschaftliche Leitung  
Dr. rer. nat. Andreas Grützkau

Technische Leitung  
Dipl. Ing (FH) Toralf Kaiser

Wissenschaftliche Mitarbeiterin  
Dipl. Biochem. Jenny Kirsch

### KOOPERATIONSPARTNER

Max Planck Institut für Infektions-  
biologie, Berlin

Max Planck Institut für Molekulare  
Genetik, Berlin

Charité – Universitätsmedizin  
Berlin (Campus Mitte, Campus  
Steglitz, Campus Virchow)

Max Delbrück Center für  
Molekulare Medizin, Berlin

Robert Koch-Institut, Berlin

Leibniz-Institut für Molekulare  
Pharmakologie im  
Forschungsverbund Berlin e.V.

OLYMPUS LIFE SCIENCE RESEARCH  
EUROPA GMBH, Berlin

### PUBLIKATIONEN

Steinbrich-Zöllner M et al., 2008.  
From Transcriptome to Cytome:  
Integrating Cytometric Profiling,  
Multivariate Cluster, and  
Prediction Analyses for a  
Phenotypical Classification of  
Inflammatory Diseases Cytometry  
Part A 73A: 333-340.

Umfangreiche Serviceleistungen und eigene technologische Innovationen ermöglichen Zellanalyse und Zellsortierung auf modernstem Niveau. Das Zentrallabor für Zytometrie & Zellsortierung (FCCF) wurde im Jahre 2000 etabliert. Es handelt sich hierbei um eine gemeinsam genutzte Einrichtung des DRFZ, der Charité – Universitätsmedizin Berlin und des Max-Planck-Institutes für Infektionsbiologie.

Es beherbergt derzeit eine europa- und weltweit einzigartige Geräteausstattung: 2 Analyser FACSCalibur; 1 Analyser FACS Canto; 1 Analyser LSR II; 1 Analyser LSR Fortessa; 1 Analyser MACS Quant; 1 Cell Sorter FACS Advantage SE with Turbosort and DIVA upgrade; 2 Cell Sorter FACS Aria; 1 Cell Sorter FACS Aria II sowie einen BD Influx Cell Sorter

Diese Ausstattung erlaubt die Analyse fast aller derzeit auf dem Markt befindlichen Fluorochrome, die hauptsächlich für die Sortierung von humanen und murinen Immun- und Stromazellpopulationen genutzt werden können. Die mehr als 10-jährige Expertise des Personals im Bereich der Zytometrie gewährleistet eine kompetente Unterstützung bei der Planung und Durchführung von Experimenten. Darüber hinaus werden technologische Eigenentwicklungen auf den Weg gebracht, die auf eine Optimierung von Gerätefunktionen abzielen.

### Methoden und Anwendungsgebiete

#### Zellanalyse

Mit Hilfe der Zytometrie können Zellen aufgrund ihrer biologischen und physikalischen Eigenschaften elektronisch analysiert werden. Einerseits kann das durch Bestrahlung von Zellen mit Licht einer definierten Wellenlänge (Laser) erzeugte Streulicht dazu genutzt werden, bereits kleine von grossen und wenig von stark granulierten Zellen zu unterscheiden. Ande-

rerseits kann das über einen Fluoreszenz-markierten Antikörper, der gegen ein spezielles Zellprotein gerichtet ist, emittierte Fluoreszenzlicht dazu genutzt werden, festzustellen, ob bestimmte Proteine vermehrt oder vermindert auf der Zelloberfläche zu finden sind.

Die hohe Sensitivität moderner Durchflusszytometer erlaubt bereits den Nachweis von wenigen Molekülen pro Zelle. Durch die Kombination verschiedener Antikörper, die jeweils mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt sind, können gleichzeitig verschiedene Zelleigenschaften vermessen werden. So lassen sich mit Hilfe der neuesten Gerätegeneration, wie dem LSR II and the LSR Fortessa, bis zu 15 zelluläre Parameter auf Einzelzellniveau erfassen. Werden wiederum mehrere solcher "Multicolor"-Ansätze kombiniert, ist es möglich, Patienten vor und während einer Therapie zu monitoren, um Therapie-bedingte Effekte, die zum Nutzen aber auch zum Schaden des Patienten sein können, auf zellulärer Ebene aufzudecken (Steinbrich-Zoellner et al., 2008). Dieses Verfahren könnte zukünftig im Sinne einer „personalisierten Medizin“ zu diagnostischen und prognostischen Zwecken eingesetzt werden.

#### Zellsortierung

Ein weiteres Verfahren der Durchflusszytometrie ist die Zellsortierung, durch die interessante Zellen für weitere biochemische oder Funktionsanalysen separiert und gesammelt werden können. Aufgrund ihrer Eigenschaften können einzelne Zellen aus einem Zellgemisch selektiv isoliert werden. Diese Zellen werden zunächst wie im Zellanalyzer analysiert und dann in Tröpfchen verpackt, die eine spezifische elektrische Ladung erhalten und anschließend innerhalb eines elektrischen Feldes in Auffangröhrchen gelenkt werden.

Im Jahr 2010 wurde das FCCF um einen BD Influx Cell Sorter reicher. Es ist derzeit das modernste und empfindlichste Gerät auf dem Markt. Dieser Cell Sorter (Abb. 1) ist mit einem grünen Laser (532nm) ausgestattet, der die äußerst sensible Erfassung von Phycoerythrin und seiner Tandem-Konjugate ermöglicht. Darüber hinaus bietet das Gerät die Möglichkeit, Zellen nach ihren polarisationseigenschaften zu unterscheiden sowie extrem kleine Partikel (Bakterien, Chromosomen) zum messen.

In Kombination mit entsprechenden Voranreicherungsmethoden, wie der magnetischen Zellsortierung, können sehr seltene Zell-Subsets, wie beispielsweise Antigen-spezifische CD4 und CD8 oder Th17 Lymphozyten, analysiert oder sogar in hoher Reinheit aufgetrennt werden, um sie für weitergehende, molekulare Analysen *in vitro* zugänglich zu machen (Kirchhoff et al., 2007; Lexberg et al., 2008). Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf der Isolierung von Stromazellen aus verschiedenen Gewebearten, wie dem Knochenmark, den Lymphknoten oder der Milz (Tokoyoda et al., 2009). Diese Zellen sind hinsichtlich der verschiedenen Methoden der Zellisolierung sehr empfindlich. Aus diesem Grund wurden speziell angepasste Hochgeschwindigkeits-Sortierprotokolle entwickelt, die eine hohe Viabilität und Reinheit dieser Zellen gewährleisten.

## Technologische Entwicklungen

### Immunmonitoring

Die Anzahl von Parametern, die in der Durchflusszytometrie für die weitere Unterteilung von Leukozyten-Subsets benutzt werden, wird in Zukunft weiterhin zunehmen. Von diesen Entwicklungen wird insbesondere das multichromatische Immunmonitoring für diagnostische und prognostische Zwecke profitieren können. Es wird derzeit eine alternative Technologie entwickelt, um die Vielzahl von Messparametern weiter zu erhöhen, die bereits durch ein konventionell ausgestattetes high-end Zytometer erfasst werden können. Das Verfahren wurde 2011 zum Patent eingereicht.

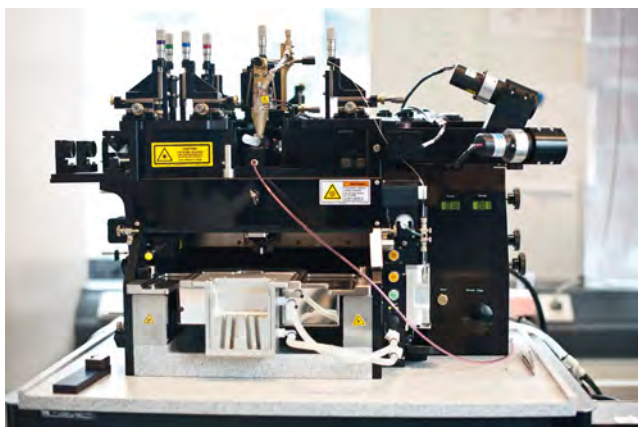


Abbildung 1: High-End Zellsorter (BD Influx), der speziell zur schonenden Sortierung von fragilen Zellen, wie Stroma- oder Stammzellen, zur Sortierung von extrem kleinen Zellbestandteilen sowie für Polarisationsmessungen eingesetzt wird.

### Einsatz von UV-C LEDs

In Kooperation mit dem Ferdinand Braun Institut und der TU Berlin wurde ein Modul zur Dekontamination von Cell Sorter Trägerflüssigkeit entwickelt. Ein Prototyp des Moduls wurde bereits in einen FACS DIVA Cell Sorter integriert. Die Dekontamination erfolgt kontinuierlich während der Zellsortierung und ermöglicht die Zellsortierung unter keimfreien Bedingungen. Dies hat mehrere Vorteile: langwierige Waschprotokolle können stark minimiert werden und auf Antibiotikazugaben kann verzichtet werden. Das Modul wurde 2011 zum Patent angemeldet.

### Cellevator

Zusammen mit der Firma Olympus Life Science Research Europe GmbH haben wir den Cellevator entwickelt und erstmals in einen Zellsorter BD FACS Aria implementiert. Das Gerät verhindert wirkungsvoll das Sedimentieren der Zellen während der Zellsortierung, wodurch qualitativ und quantitativ bessere Sortierergebnisse erreicht werden.

### Weiterer Service des Zentrallabors

#### Basiskurs Durchflusszytometrie

Zur Schulung an den Geräten und zum Kennenlernen der Technik wird monatlich ein zweistündiger Basiskurs Durchflusszytometrie angeboten. Die Kurse sind für alle Interessenten offen. Wegen der großen Nachfrage sollten sich Interessenten jedoch vorher im Diskussionsforum anmelden.

#### Sorterclub

Der Sorterclub findet 14-tägig statt und dient als Forum zur Diskussion und Planung experimenteller Forschungsarbeit mit Bezug auf Durchflusszytometrie bzw. Zellsortierung.

#### Berlin Flow Club

Der Berlin Flow Club wird in regelmäßigen Abständen abgehalten und dient der Diskussion und Planung von experimentellen und wissenschaftlichen Projekten in Zusammenhang mit der Zellsortierung und Zytometrie.

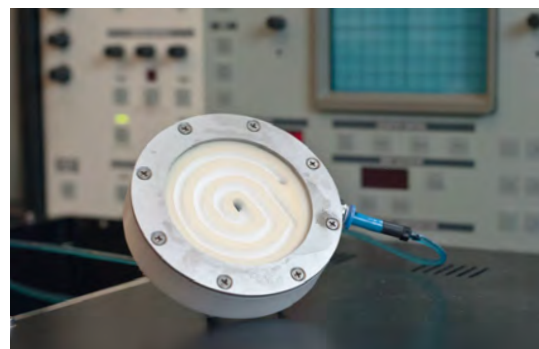


Abbildung 2: Das Foto zeigt ein neu entwickeltes mit UV-C LED's bestücktes Modul, das zurzeit zur kontinuierlichen Dekontamination der Trägerflüssigkeit bei Zellsortern erprobt wird. Es handelt sich hierbei um einen in Kooperation mit dem Ferdinand Braun Institut und der TU Berlin entwickelten Prototypen, der prinzipiell bei allen auf dem Markt befindlichen Zellsortern zum Einsatz kommen kann und so die Kontaminationsgefahr während des Sortierprozesses erheblich vermindert.

## BEREITS ETABLIERTE, TECHNOLOGISCHE VERBESSERUNGEN

Kaiser T, Raba K, Scheffold A, Radbruch A. A sheath-cooling system to stabilize side-streams and drop-delay during long term sorts for FACS Aria cell-sorter.

Kaiser T, Raba K, Sickert M, Radbruch A, Scheffold A. Integration of an ultrasonic wave device in a FACS-Aria cell sorter for continuous, non-invasive mixing of cell suspensions.

## LANGE NACHT DER WISSENSCHAFTEN BERLIN

Jedes Jahr wird zur Langen Nacht der Wissenschaften das Zelllabor für die Öffentlichkeit geöffnet, um auf diese Weise den Besuchern, wie beispielsweise Rheumapatienten, Studenten und Schülern, Themen wie die Zellsortierung und zelluläre Immunologie näherzubringen.

Heidi Hecker-Kia  
 Tuula Geske  
 Heidi Schliemann  
 Anette Peddinghaus



## Zentrallabor

### Serviceeinrichtung für die experimentelle Forschung

#### LABORMANAGERINNEN

Heidi Hecker-Kia  
 Tuula Geske  
 Heidi Schliemann

Technische Assistenz  
 Anette Peddinghaus

#### KOOPERATIONSPARTNER

Max Planck Institut für  
 Infektionsbiologie

Charité – Universitätsmedizin  
 Berlin,  
 Campus Mitte und  
 Campus Benjamin Franklin

Seit der Einrichtung des „Zentrallabors“ im Jahre 2000 umfassen die Aufgaben Serviceleistungen für alle wissenschaftlichen Arbeitsgruppen, wobei der Schwerpunkt in der Versorgung mit Antikörpern und ihren Konjugaten liegt. Darüber hinaus werden vielfältige Bereiche der Infrastruktur des Institutes eigenverantwortlich betreut. Dazu gehören die Kalkulation und Aquisition der Beiträge der Liaisongruppen zur Infrastruktur des Hauses, das Bestellwesen bezüglich der Kostenstellen für die Zellkultur und die allgemeinen Verbrauchsmittel, das Management der allgemeinen wissenschaftlichen Geräte inklusive Anschaffung, Kalkulation und Service in Zusammenarbeit mit der DRFZ-Verwaltung und die Versorgung der Gruppen mit allen elementaren Verbrauchsmaterialien, Chemikalien und Lösungen.

#### Antikörper

Spezifische Antikörper und ihre Fluorochrom-Derivate sind in der experimentellen zellbiologischen Forschung von zentraler Bedeutung. Inzwischen werden mehr als 1000 solcher Substanzen vom Labmanager-Team bereitgestellt. Mehr als 250 Antikörper produzierende Hybridome werden im DRFZ gepflegt und kultiviert. Die spezifischen Antikörper werden aus den Zellkulturüberständen isoliert, gereinigt und gegebenenfalls mit verschiedenen Fluorochromen konjugiert. Auf diese Weise garantieren die Labmanager die Grundversorgung mit allen relevanten biologischen Werkzeugen, die für die FACS-Analyse, das Sortieren von Zellen, Histologie, ELISA und andere immunologische Techniken benötigt werden. (Abb.1).

Diese enorme Vielfalt von Antikörpern und Konjugaten ist jedem Mitglied des DRFZ, des MPI, der Charité-Universitätsmedizin Berlin und anderen kollaborierenden Gruppen jederzeit zugänglich. Für diese umfangreiche Organisation steht das „Online Antibo-

dies Management“ zur Verfügung. Details wie der Namen des Klons, Konzentration, Titer und andere Hinweise sind ebenfalls ersichtlich. (Abb. 4)

#### Weitere Serviceleistungen

Auf Anfrage stehen die Labmanager kurzfristig bei der Lösung technischer Probleme zur Verfügung. Z. B. bei der Isolierung und Reinigung von Proteinen, Derivatisierungen, Fusionen oder Fragmentierung von Antikörpern und anderen Proteinen, der Herstellung von spezifischen AffinitätsMatrices für chromatographische Zwecke oder der Etablierung von ELISAs. Alle Präparationen gehen mit speziellen Qualitätskontrollen einher (Abb. 2+3). Der Aufgabenbereich des Zentrallabors umfasst auch die Einführung und Etablierung neuer Methoden und Techniken, insbesondere hinsichtlich neuer Fluorochrom-Markierungen.

#### Ausblick

Die Beschaffung weiterer Hybridome für neue wissenschaftliche Fragestellungen ist essentiell. Der Kampf gegen Mycoplasmen- und Endotoxin-Kontaminationen muss stets dem neuesten Stand der Technik angepasst werden. Die vermehrte Nutzung von Multicolor-Techniken im FACS-Bereich verlangt eine ständige Erweiterung des vorhandenen Fluorochrom-Spektrums, um über genügend Substanzen mit ausreichender Helligkeit, Photostabilität und schmalen Emissionspektren in verschiedensten Kombinationen verfügen zu können.

Die Anpassung der Infrastruktur des Laborbereichs an die stetig wachsende Zahl von Wissenschaftlern in unserem Hause stellt auch in Zukunft eine große Herausforderung an das Labormanagement dar. Der Zugang zu allen notwendigen Geräten und Einrichtungen des Hauses ist eine Voraussetzung für hochwertige wissenschaftliche Ergebnisse und muss jederzeit gewährleistet sein.



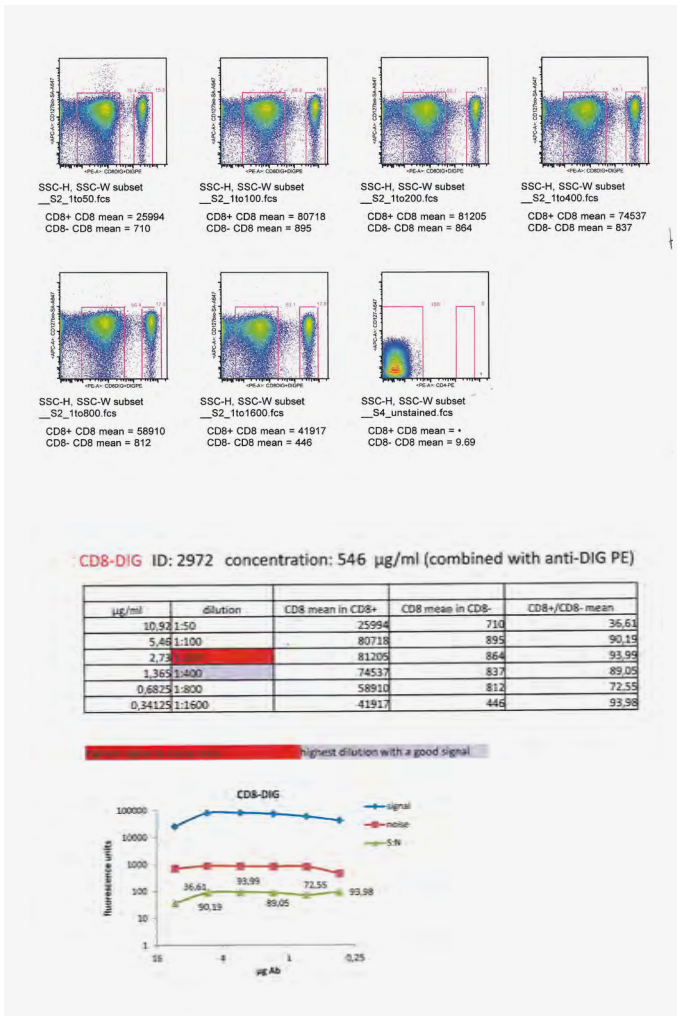


Abbildung 2: Titrationsprotokoll: [m]CD8 (53-6.72) - DIG

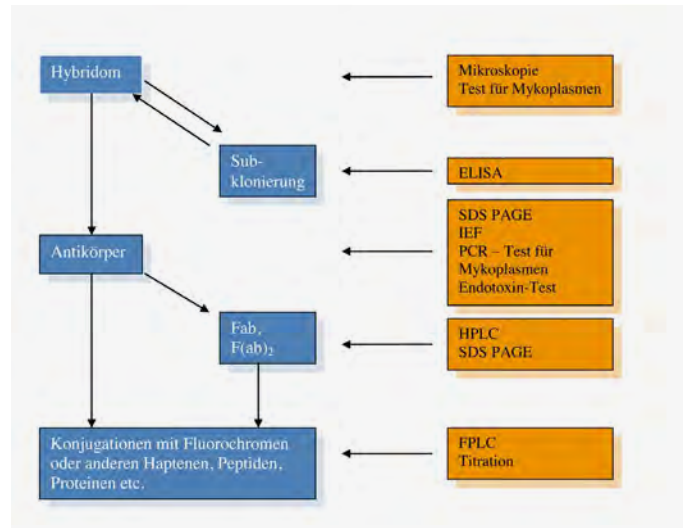


Abbildung 1: Allgemeiner Überblick über die Antikörper-Produktion und die Qualitätskontrollen.

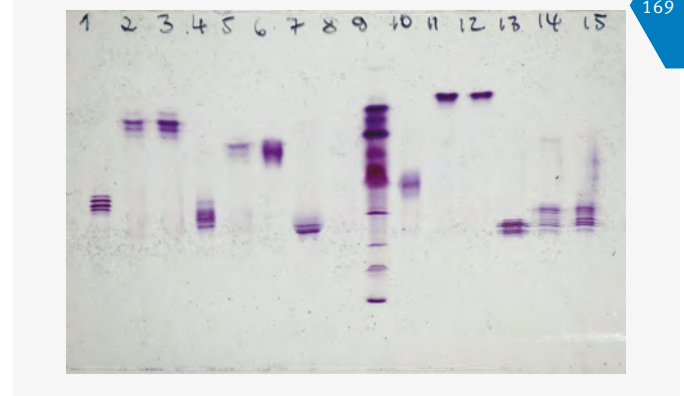


Abbildung 3 : Qualitätskontrolle von Antikörpern: Isoelektrische Focussierung

start - Windows Internet Explorer

http://10.10.0.4/antikoeper/(?vmsgundrcda8trf9v45)start.aspx

02/07/2008 schliemann Logout DRFZ-Antikörper

Info:

ID	Stamm	Name	isotype	Konz.	titer	ist Menge	Einheit	Box Nr.
44	human	antiCTLA4;BN13	mouse IgG2a	118		3	1mg	6

Group: AG\_Medienkueche Note

Menge: take it

Only permits numbers

Search: Go

eg.: cd14++t+bio or cd14++bio or cd14

id	datum	stamm	antikoepername	isotype	konz	titer	menge	einheit	box
select	11	18.02.2005 000000	human	antiCD154;Trap1		10.7	10	1mg	9
select	24	14.09.1998 000000	human	antiCD31;156.1	mouse IgG1	6.3	3	1mg	2
select	25	27.06.2002 000000	human	antiCD31;156.1	mouse IgG1	7.1	4	1mg	3
select	26	27.06.2002 000000	human	antiCD31;156.1	mouse IgG1	3.2	6	1mg	4
select	27	19.04.2004 000000	human	antiCD31;158-2B3		7.5	1	1mg	9
select	28	05.05.2004 000000	human	antiCD31;158-2B3		4.2	11	1mg	9
select	38	25.08.1998 000000	human	antiCD45Ro;UCHL1	mouse IgG2	8.7	1	1mg	3
select	39	30.01.2004 000000	human	antiCD45Ro;UCHL1	mouse IgG2	8.96	11	1mg	10
select	40	14.09.1998 000000	human	antiCD62L;145	mouse IgG1	4.2	5	1mg	3
select	41	28.05.1999 000000	human	antiCD71;L51	mouse IgG2a	8.6	8	1mg	3
select	44	15.03.2004 000000	human	antiCTLA4;BN13	mouse IgG2a	11.8	3	1mg	6

Abbildung 4: Online-Datenbank





# Anhang

Publikationen 2010 .....	172
Publikationen 2011.....	177
Publikationen 2012 .....	183
Präsentationen auf Kongressen 2010 .....	185
Präsentationen auf Kongressen 2011 .....	191
Qualifikationen 2010   2011 .....	198
Auszeichnungen.....	199
Stipendien.....	201
Seminare am DRFZ 2010   2011.....	202
Lehre 2010/11 - 2011/12 .....	204
Drittmittel-Projekte am DRFZ inklusive Liaisongruppen.....	206
Technologietransfer .....	209
Ausgewählte Veranstaltungen.....	210
Impressum.....	212
Lageplan.....	213

# Publikationen 2010

## Originalpublikationen

Albrecht J, Niesner U, Janke M, Menning A, Loddenkemper C, Kühl AA, Lepenes I, Lexberg MH, Westendorp K, Hradilkova K, Grün J, Hamann A, Epstein JA, Chang HD, Tokoyoda K, Radbruch A. Persistence of effector memory Th1 cells is regulated by Hoxp. *Eur J Immunol*. 2010 ;40(11):2993-3006.

Alizadeh BZ, Broen J, Rueda B, Hesselstrand R, Wuttge D, Simeon C, Ortego-Centeno N, Gonzalez-Gay MA, Pros A, Herrick A, Worthington J, Denton C, Fonseca C, Riemekasten G, Vonk MC, van den Hoogen F, Guiducci S, Matucci-Cerinic M, Scorza R, Beretta L, Airo P, Coenen M, Martin J, Koeleman BP, Radstake TR; EUSTAR. Functional variants of Fc gamma receptor (FCGR2A) and FCGR3A are not associated with susceptibility to systemic sclerosis in a large European Study (EUSTAR). *J Rheumatol*. 2010 ;37(8):1673-9. Erratum in: *J Rheumatol*. 2010;37(9):1979. 3.

Allanore Y, Meune C, Vonk MC, Airo P, Hachulla E, Carraresi P, Riemekasten G, Cozzi F, Beretta L, Derk CT, Komócsi A, Farge D, Balbir A, Riccieri V, Distler O, Chialà A, Papa ND, Simic KP, Ghio M, Stamenkovic B, Rednic S, Host N, Pellerito R, Zegers E, Kahan A, Walker UA, Matucci-Cerinic M; EUSTAR co-authors. Prevalence and factors associated with left ventricular dysfunction in the EULAR Scleroderma Trial and Research group (EUSTAR) database of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan;69(1):218-21.

Allie N, Keeton R, Court N, Abel B, Fick L, Vasseur V, Vacher R, Olleros ML, Drutskaya MS, Guler R, Nedospasov SA, Garcia I, Ryffel B, Quesniaux VF, Jacobs M. Limited Role for Lymphotoxin [alpha] in the Host Immune Response to Mycobacterium tuberculosis. *J Immunol*. 2010 ;185(7):4292-301.

Alten R, Döring G, Cutolo M, Gromnica-Ihle E, Witte S, Straub R, Buttgereit F. Hypothalamus-pituitary-adrenal axis function in patients with rheumatoid arthritis treated with nighttime-release prednisone. *J Rheumatol*. 2010 ;37(10):2025-31.

Ammirante M, Luo JL, Grivennikov S, Nedospasov S, Karin M. B-cell-derived lymphotoxin promotes castration-resistant prostate cancer. *Nature*. 2010;464(7286):302-5.

Appel H, Maier R, Loddenkemper C, Kayser R, Meier O, Hempfling A, Sieper J. Immunohistochemical analysis of osteoblasts in zygapophyseal joints of patients with ankylosing spondylitis reveal repair mechanisms similar to osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2010 ;37(4):823-8.

Arbatsky NP, Kondakova AN, Shashkov AS, Drutskaya MS, Belousov PV, Nedospasov SA, Petrova MA, Knirel YA. Structure of the O-antigen of Acinetobacter lwoffii EK30A; identification of d-homoserine, a novel non-sugar component of bacterial polysaccharides. *Org Biomol Chem*. 2010 ;8(15):3571-7.

Arbatsky NP, Kondakova AN, Shashkov AS, Drutskaya MS, Belousov PV, Nedospasov SA, Petrova MA, Knirel YA. Structure of the O-polysaccharide of Acinetobacter sp. VS-15 and Acinetobacter lwoffii EK67. *Carbohydr Res*. 2010 ;345(15):2287-90.

Avouac J, Walker U, Tyndall A, Kahan A, Matucci-Cerinic M, Allanore Y; EUSTAR, Miniati I, Müller A, Iannone F, Distler O, Becvar R, Sierakowski S, Kowal-Bielecka O, Coelho P, Cabane J, Cutolo M, Shoenfeld Y, Valentini G, Rovinsky J, Riemekasten G, Vlachoyiannopoulos P, Caporali R, Jiri S, Inanc M, Zimmer-

mann Gorska I, Carreira P, Novak S, Czirkaj L, Oliveira Ramos F, Jendro M, Chizzolini C, Kucharz EJ, Richter J, Cozzi F, Rozman B, Allia CM, Gabrielli A, Farge D, Kiener HP, Schöffel D, Airo P, Wollheim F, Martinovic D, Trotta F, Jablonska S, Reich K, Bombardieri S, Siakka P, Pellerito R, Bambara LM, Morovic-Vergles J, Denton C, Hinrichs R, Van den Hoogen F, Damjanov N, Köttler I, Ortiz V, Heitmann S, Krasowska D, Seidel M, Hasler P, Van Laar JM, Kaltwasser JP, Foeldvari I, Juan Mas A, Bajocchi G, Wislowska M, Pereira Da Silva JA, Jacobsen S, Worm M, Graniger W, Kuhn A, Stankovic A, Cossutta R, Majdan M, Damjanovska Rajcevska L, Tikly M, Nasonov EL, Steinbrink K, Herrick A, Müller-Ladner U, Dinc A, Scorza R, Sondergaard K, Indiveri F, Nielsen H, Szekanecz Z, Silver RM, Antivalle M, Espinosa IB, García de la Pena Lefebvre P, Midtvedt O, Launay D, Valesini F, Tuvik P, Ionescu RM, Del Papa N, Pinto S, Wigley F, Mihai C, Sinziana-Capranu M, Sunderkötter C, Jun JB, Alhasani S, Distler JH, Ton E, Soukup T, Seibold J, Zeni S, Nash P, Mouthon L, De Keyser F, Duruöz MT, Cantatore FP, Strauss G, von Mühlhen CA, Pozzi MR, Eyerich K, Szechinski J, Keiserman M, Houssiau FA, Román-Ivorra JA, Krummel-Lorenz B, Aringer M, Westhovens R, Bellisai F, Mayer M, Stoeckl F, Uprus M, Volpe A, Buslau M, Yavuz S, Granel B, Valderfío Feijó A, Del Galdo F, Popa S, Zenone T, Ricardo Machado X, Pileckyte M, Stebbings S, Mathieu A, Tulli A, Tourinho T, Souza R, Acayaba de Toledo R, Stamp L, Solanki K, Veale D, Francisco Marques Neto J, Bagnato GF, Loyo E, Toloza S, Li M, Ahmed Abdel Atty Mohamed W, Cobankara V, Olas J, Salsano F, Oksef F, Tanaseanu CM, Foti R, Ancuta C, Vonk M, Carraresi P, Beretta L, Balbir A, Chiàla A, Pasalic Simic K, Ghio M, Stamenkovic B, Rednic S, Host N, Pellerito R, Hachulla E, Furst DE. Characteristics of joint involvement and relationships with systemic inflammation in systemic sclerosis: results from the EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) database. *J Rheumatol*. 2010 ;37(7):1488-501.

Babina M, Kim F, Hoser D, Ernst D, Rohde W, Zuberbier T, Worm M. Tamoxifen counteracts the allergic immune response and improves allergen-induced dermatitis in mice. *Clin Exp Allergy*. 2010;40(8):1256-65.

Batra A, Okur B, Glaubert R, Erben U, Ihbe J, Stroth T, Fedke I, Chang HD, Zeitz M, Siegmund B. Leptin: a critical regulator of CD4+ T-cell polarization in vitro and in vivo. *Endocrinology*. 2010 ;151(1):56-62

Baumgrass R, Brandt C, Wegner F, Abdollahnia M, Worm M. Low-dose, but not high-dose, cyclosporin A promotes regulatory T-cell induction, expansion, or both. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(1):183-4, author reply 184.

Becker MO, Müller-Ladner U, Riemekasten G. Implementation von Leitlinien für eine Therapie der systemischen Sklerose (Sklerodermie) : Wunsch und Wirklichkeit [Towards an implementation of guidelines for the therapy of systemic sclerosis (scleroderma): between desire and reality]. *Z Rheumatol*. 2010 ;69(4):310-7.

Bergthaler A, Flatz L, Hegazy AN, Johnson S, Horvath E, Löhning M, Pinschewer DD. Viral replicative capacity is the primary determinant of lymphocytic choriomeningitis virus persistence and immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(50):21641-21646.

Bissonnette R, Worm Mlach B, Guenther L, Cambazard F, Ruzicka T, Maeres J, Brown TC. Successful retreatment with alitretinoin in patients with relapsed chronic hand eczema. *Br J Dermatol*. 2010 ;162(2):420-6.

Brandt C, Liman P, Bendfeldt H, Mueller K, Reinke P, Radbruch A, Worm M, Baumgrass R. Whole blood flow cytometric measurement of NFATc1 and IL-2 ex-

pression to analyze cyclosporine A-mediated effects in T cells. *Cytometry A*. 2010 ;77(7):607-13.

Brehler R, Klimek L, Pfaar O, Hauswald B, Worm M, Bieber T. Safety of a rush immunotherapy build-up schedule with depigmented polymerized allergen extracts. *Allergy Asthma Proc*. 2010;31(3):e31-8.

Brueckner CS, Becker MO, Kroencke T, Huscher D, Scherer HU, Worm M, Burmester G, Riemekasten G. Effect of sildenafil on digital ulcers in systemic sclerosis: analysis from a single centre pilot study. *Ann Rheum Dis*. 2010 ;69(8):1475-8.

Busse D, de la Rosa M, Hobiger K, Thurley K, Flossdorf M, Scheffold A, Höfer T. Competing feedback loops shape IL-2 signaling between helper and regulatory T lymphocytes in cellular microenvironments. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(7):3058-63.

Buttgereit F, Doering G, Schaeffler A, Witte S, Sierakowski S, Gromnica-Ihle E, Jeka S, Krueger K, Szechinski J, Alten R. Targeting pathophysiological rhythms: prednisone chronotherapy shows sustained efficacy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1275-80.

Court N, Vasseur V, Vacher R, Frémond C, Shebzukhov Y, Yeremeev VV, Maillet I, Nedospasov SA, Gordon S, Fallon PG, Suzuki H, Ryffel B, Quesniaux VF. Partial redundancy of the pattern recognition receptors, scavenger receptors, and C-Type lectins for the long-term control of mycobacterium tuberculosis infection. *J Immunol*. 2010 ;184(12):7057-7070.

Curato C, Slavic S, Dong J, Skorska A, Altarache-Xifró W, Miteva K, Kaschina E, Thiel A, Imboden H, Wang J, Steckelings U, Steinhoff G, Unger T, Li J. Identification of noncytotoxic and IL-10-producing CD8+AT2R+ T cell population in response to ischemic heart injury. *J Immunol*. 2010;185(10):6286-93.

Curtis JR, Jain A, Asklung J, Bridges SL Jr, Carmona L, Dixon W, Finckh A, Hyrich K, Greenberg JD, Kremer J, Listing J, Michaud K, Mikuls T, Shadick N, Solomon DH, Weinblatt ME, Wolfe F, Zink A. A comparison of patient characteristics and outcomes in selected European and U.S. rheumatoid arthritis registries. *Semin Arthritis Rheum*. 2010 ;40(1):2-14.e1

Daridon C, Blassfeld D, Reiter K, Mei HE, Giesecke C, Goldenberg DM, Hansen A, Hostmann A, Frölich D, Dörner T. Epratuzumab targeting of CD22 affects adhesion molecule expression and migration of B-cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(6):R204.

de Kleer I, Vercoulen Y, Klein M, Meerding J, Albani S, van der Zee R, Sawitzki B, Hamann A, Kuis W, Prakken B. CD30 discriminates heat shock protein 60-induced FOXP3+ CD4+ T cells with a regulatory phenotype. *J Immunol*. 2010 ;185(4):2071-9.

Dickel H, Kreft B, Kuss O, Worm M, Soost S, Brasch J, Pfützner W, Grabbe J, Angelova-Fischer I, Elsner P, Fluhr J, Altmeyer P, Geier J. Increased sensitivity of patch testing by standardized tape stripping beforehand: a multicentre diagnostic accuracy study. *Contact Dermatitis*. 2010;62(5):294-302.

Dieudé P, Guedj M, Wipff J, Ruiz B, Riemekasten G, Matucci-Cerinic M, Melchers I, Hachulla E, Airo P, Diot E, Hunzelmann N, Cabane J, Mouthon L, Cracowski JL, Riccieri V, Distler J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Association of the TNFAIP3 rs5029939 variant with systemic sclerosis in the European Caucasian population. *Ann Rheum Dis*. 2010 ;69(11):1958-64.

Dixon WG, Carmona L, Finckh A, Hetland ML, Kvien TK, Landewe R, Listing J, Nicola PJ, Tarp U, Zink A, Asklung J. EULAR points to consider when establishing,

- analysing and reporting safety data of biologics registers in rheumatology. *Ann Rheum Dis.* 2010 ; 69(9):1596-602.
- Dölle S, Höser D, Rasche C, Loddenkemper C, Maurer M, Zuberbier T, Worm M. Long-term reduction in local inflammation by a lipid raft molecule in atopic dermatitis. *Allergy.* 2010 ;65(9):1158-65.
- Dziurla R, Gaber T, Fangradt M, Hahne M, Tripmacher R, Kolar P, Spies CM, Burmester GR, Buttgereit F. Effects of Hypoxia and/or lack of glucose on cellular energy metabolism and cytokine production in stimulated human CD4(+) T Lymphocytes. *Immunol Lett.* 2010; 131(1):97-105.
- Enghard P, Humrich JY, Chu VT, Grussie E, Hiepe F, Burmester GR, Radbruch A, Berek C, Riemekasten G. Class switching and consecutive loss of dsDNA reactive B1a B cells from the peritoneal cavity during murine lupus development. *Eur J Immunol.* 2010; 40(6): 1809-1818.
- Erdmann F, Weiwad M, Kilka S, Karanik M, Paetzel M, Baumgrass R, Liebscher J, Fischer G. The novel calcineurin inhibitor CN585 has potent immunosuppressive properties in stimulated human T cells. *J Biol Chem* 2010; 285(1): 1888-98.
- Flatz L, Hegazy AN, Berghaler A, Verschoor A, Claus C, Fernandez M, Gattinoni L, Johnson S, Kreppel F, Kochanek S, Broek MV, Radbruch A, Lévy F, Lambert PH, Siegrist CA, Restifo NP, Löhning M, Ochsenbein AF, Nabel GJ, Pinschewer DD. Development of replication-defective lymphocytic choriomeningitis virus vectors for the induction of potent CD8(+) T cell immunity. *Nat Med.* 2010;16(3):339-45.
- Foelster Holst R, Reitamo S, Yankova R, Worm M, Kadurina M, Thaci K, Bieber T, Tsankov N, Enk A, Luger T, Duffy M, Tansley R. The novel protease inhibitor SRD441 ointment is not effective in the treatment of adult subjects with atopic dermatitis: results of a randomized, vehicle-controlled study. *Allergy.* 2010; 65(12):1594-9.
- Freier E, Weber CS, Nowottn U, Horn C, Bartels K, Meyer S, Hildebrandt Y, Luetkens T, Cao Y, Pabst C, Muzzulini J, Schnee B, Brunner-Weinzierl MC, Marangolo M, Bokemeyer C, Deter HC, Atanackovic D. Decrease of CD4(+)FOXP3(+) T regulatory cells in the peripheral blood of human subjects undergoing a mental stressor. *Psychoneuroendocrinology.* 2010; 35(5):663-73.
- Frey O, Meisel J, Hutloff A, Bonhagen K, Bruns L, Kroczeck RA, Morawietz L, Kamradt T. Inducible costimulator (ICOS) blockade inhibits accumulation of polyfunctional T helper 1/T helper 17 cells and mitigates autoimmune arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(8):1495-501.
- Frölich D, Giesecke C, Mei HE, Reiter K, Daridon C, Lipsky PE, Dörner T. Secondary immunization generates clonally related antigen-specific plasma cells and memory B cells. *J Immunol.* 2010 ;185(5):3103-10.
- Furst DE, Keystone EC, Fleischmann R, Mease P, Breedveld FC, Smolen JS, Kalden JR, Braun J, Bresnahan B, Burmester GR, De Benedetti F, Dörner T, Emery P, Gibofsky A, Kavanaugh A, Kirkham B, Schiff MH, Sieper J, Singer N, Van Riel PL, Weinblatt ME, Weisman MH, Winthrop K. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2009. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69 Suppl 1:i2-29.
- Gäwert L, Hierse F, Zink A, Strangfeld A. Die Bedeutung der Patientensicht bei der Erfassung der Sicherheit neuer Medikamente [The importance of patient perspective in drug surveillance systems]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(9):795-802. German.
- Gerl V, Lischka A, Panne D, Großmann P, Berthold R, Hoyer BF, Biesen R, Bruns A, Alexander T, Jacobi A, Dörner T, Burmester GR, Radbruch A, Hiepe F. Blood dendritic cells in systemic lupus erythematosus exhibit altered activation state and chemokine receptor function. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(7):1370-77.
- Gültner S, Kuhlmann T, Hesse A, Weber JP, Riemer C, Baier M, Hutloff A. Reduced Treg frequency in LFA-1-deficient mice allows enhanced T effector differentiation and pathology in EAE. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(12):3403-12. Comment in: *Eur J Immunol.* 2010 ;40(12):3321-4.
- Hanke K, Becker MO, Brueckner CS, Meyer W, Jansen A, Schlumberger W, Hiepe F, Burmester GR, Riemekasten G. Anticentromere-a and anticentromere-B antibodies show high concordance and similar clinical associations in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2010;37(12):2548-52.
- Hartmann B, Heine G, Babina M, Steinmeyer A, Zügel U, Radbruch A, Worm M. Targeting the vitamin D receptor inhibits the B cell-dependent allergic immune response. *Allergy.* 2010 Dec 1. doi: 10.1111/j.1398-9995.2010.02513.x. [Epub ahead of print]
- Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C, Panse J, Frölich A, Berghaler A, Flatz L, Pinschewer DD, Radbruch A, Löhning M. Interferons direct Th2 cell reprogramming to generate a stable GATA-3(+)T-bet(+) cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions. *Immunity.* 2010 ; 32(1):116-128.
- Heine G, Lahl A, Müller C, Worm M. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol.* 2010 ;163(4):863-5.
- Heratizadeh A, Killig C, Worm M, Soost S, Simon D, Bauer A, Mahler V, Schuster C, Szliska C, Frambach Y, Eben R, Werfel T, Uter W, Schnuch A. Quantitative repeated open application testing with a rinse-off product in methylglybromo glutaronitrile-sensitive patients: results of the IVDK. *Contact Dermatitis.* 2010 ;62(6):330-7.
- Herz J, Siffrin V, Hauser AE, Brandt AU, Leuenberger T, Radbruch H, Zipp F, Niesner RA. Expanding two-photon intravital microscopy to the infrared by means of optical parametric oscillator. *Biophys J.* 2010 ;98(4):715-23.
- Hoff H, Kolar P, Ambach A, Radbruch A, Brunner-Weinzierl MC. CTLA-4 (CD152) inhibits T cell function by activating the ubiquitin ligase Itch. *Mol Immunol.* 2010 ;47(10):1875-81
- Hoffmann C, Hoffmann P, Lun A, Büning C, Hiepe F, Scherer HU, Steinhagen-Thiessen E, Weimann A. Is there a role for mannan-binding lectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease? *Immunogenetics.* 2010 ;62(4):231-5
- Horneff G, Hospach T, Dannecker G, Föll D, Haas JP, Girschick HJ, Huppertz HJ, Keitzer R, Laws HJ, Michels H, Minden K, Trauzeddel R. Aktualisierte Stellungnahme der GKR zur Meldung der FDA über Fälle von Malignomen bei Anti-TNF-behandelten Patienten vom 04.08.2009 [Updated statement by the German Society for Pediatric and Adolescent Rheumatology (GKR) on the FDA's report regarding malignancies in anti-TNF-treated patients from Aug. 4, 2009]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(6):561-7.
- Humrich JY, Morbach H, Undeutsch R, Enghard P, Rosenberger S, Weigert O, Kloke L, Heimann J, Gaber T, Brandenburg S, Scheffold A, Huehn J, Radbruch A, Burmester GR, Riemekasten G. Homeostatic imbalance of regulatory and effector T cells due to IL-2 deprivation amplifies murine lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 ;107(1):204-9.
- Huscher D, Pittrow D, Distler O, Denton CP, Foeldvari I, Humbert M, Matucci-Cerinic M, Kowal-Bielecka O, Avouac J, Behrens F, Nash P, Opitz CF, Rubin LJ, Seibold JR, Strand V, Furst DE; EPOSS-OMERACT Group. Interactions between rheumatologists and cardio/pulmonologists in the assessment and use of outcome measures in pulmonary arterial hypertension related to systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010 ;28(2 Suppl 58):S47-52.
- Jacobi AM, Mei H, Hoyer BF, Mumtaz IM, Thiele K, Radbruch A, Burmester GR, Hiepe F, Dörner T. HLA-DRhigh/CD27high plasmablasts indicate active disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(1):305-8.
- Janke M, Peine M, Nass A, Morawietz L, Hamann A, Scheffold A. In vitro-induced Th17 cells fail to induce inflammation *in vivo* and show an impaired migration into inflamed sites. *Eur J Immunol.* 2010; 40(4):1089-1098
- Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Parente E, Gruen J, Morandi B, Ferlazzo G, Thiel A, Schmitt-Knosalla I, Romagnani C. CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. *Blood.* 2010 ;116(8):1299-307.
- Kapp K, Maul J, Hostmann A, Mundt P, Preiss JC, Wenzel A, Thiel A, Zeitz M, Ullrich R, Duchmann R. Modulation of systemic antigen-specific immune responses by oral antigen in humans. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(11):3128-37.
- Kassner N, Krueger M, Yagita H, Dzionek A, Hutloff A, Kroczeck R, Scheffold A, Rutz S. Cutting edge: Plasmacytoid dendritic cells induce IL-10 production in T cells via the Delta-like-4/Notch axis. *J Immunol.* 2010;184(2):550-4.
- Kirch W, Gold R, Hensel M, Fasshauer M, Pittrow D, Huscher D, Reiser M, Stangel M, Baumann U, Borte M. Prospektive Versorgungsforschungsstudie zur Therapie mit Immunglobulinen (SIGNS). Rationale, Design und Methodik [Assessment of immunoglobulins in a long-term non-interventional study (SIGNS Study). Rationale, design, and methods]. *Med Klin (Munich).* 2010 ;105(9):647-51.
- Klages K, Mayer CT, Lahl K, Loddenkemper C, Teng MW, Ngiew SF, Smyth MJ, Hamann A, Huehn J, Sparwasser T. Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells improves effective therapeutic vaccination against established melanoma. *Cancer Res.* 2010;70(20):7788-99.
- Kowal-Bielecka O, Avouac J, Pittrow D, Huscher D, Behrens F, Denton CP, Foeldvari I, Humbert M, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Rubin LJ, Seibold JR, Strand V, Furst DE, Distler O; EPOSS Group. Echocardiography as an outcome measure in scleroderma-related pulmonary arterial hypertension: a systematic literature analysis by the EPOSS group. *J Rheumatol.* 2010 ;37(1):105-15.
- Krause K, Ardelean E, Kessler B, Magerl M, Metz M, Siebenhaar F, Weller K, Worm M, Zuberbier T, Maurer M. Antihistamine-resistant urticaria factitia successfully treated with anti-immunoglobulin E therapy. *Allergy.* 2010;65(11):1494-5.
- Krause L, Becker MO, Brueckner CS, Bellinghausen CJ, Becker C, Schneider U, Haeupl T, Hanke K, Hensel-Wiegel K, Ebert H, Ziemer S, Ladner UM, Pirlich M, Burmester GR, Riemekasten G. Nutritional status as marker for disease activity and severity predicting



- mortality in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(11):1951-7.
- Kwakkenbos MJ, Diehl SA, Yasuda E, Bakker AQ, van Geelen CM, Lukens MV, van Bleek GM, Widjoatmodjo MN, Bogers WM, Mei H, Radbruch A, Scheeren FA, Spits H, Beaumont T. Generation of stable monoclonal antibody-producing B cell receptor-positive human memory B cells by genetic programming. *Nat Med.* 2010 ;16(1):123-8.
- Lee YH, Benary M, Baumgrass R, Herzel H. Prediction of regulatory transcription factors in T helper cell differentiation and maintenance. *Genome Inform.* 2010;22:84-94
- Lexberg MH, Taubner A, Albrecht J, Lepenies I, Richter A, Kamradt T, Radbruch A, Chang HD. IFN- $\gamma$  and IL-12 synergize to convert *in vivo* generated Th17 into Th1/Th17 cells. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(11):3017-27.
- Licón Luna RM, Körmeny D, Brunner-Weinzierl MC. Female-biased incidence of experimental autoimmune encephalomyelitis reflects sexually dimorphic expression of surface CTLA-4 (CD152) on T lymphocytes. *Gend Med.* 2010 Aug;7(4):296-308.
- Lorenzen JM, Krämer R, Meier M, Werfel T, Wichmann K, Hoepfer MM, Riemekasten G, Becker MO, Haller H, Witte T. Osteopontin in the development of systemic sclerosis—relation to disease activity and organ manifestation. *Rheumatology (Oxford).* 2010 ;49(10):1989-91.
- Mahler M, Maes L, Blockmans D, Westhovens R, Bosuyt X, Riemekasten G, Schneider S, Hiepe F, Swart A, Gurtler I, Egerer K, Fooke M, Fritzier MJ. Clinical and serological evaluation of a novel CENP-A peptide based ELISA. *Arthritis Res Ther.* 2010 May 20;12(3):R99.
- Mariani L, Schulz EG, Lexberg MH, Helmstetter C, Radbruch A, Löhning M, Höfer T. Short-term memory in gene induction reveals the regulatory principle behind stochastic IL-4 expression. *Mol Syst Biol.* 2010 ;6:359.
- Martín-Mola E, Sieper J, Leirisalo-Repo M, Dijkmans BA, Vlahos B, Pedersen R, Koenig AS, Freundlich B. Sustained efficacy and safety, including patient-reported outcomes, with etanercept treatment over 5 years in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28(2):238-45.
- Matz M, Weber U, Mashreghi MF, Lorkowski C, Ladhoff J, Kramer S, Neumayer HH, Budde K. Effects of the new immunosuppressive agent AEB071 on human immune cells. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 ;25(7):2159-67.
- Mei HE, Frölich D, Giesecke C, Loddenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T. Steady state generation of mucosal IgA+ plasmablasts is not abrogated by B cell depletion therapy with rituximab. *Blood.* 2010;116(24):5181-90.
- Menning A, Loddenkemper C, Westendorf AM, Szilagy B, Buer J, Siewert C, Hamann A, Huehn J. Retinoic acid-induced gut tropism improves the protective capacity of Treg in acute but not in chronic gut inflammation. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(9):2539-48.
- Milovanovic M, Drozdenko G, Weise C, Babina M, Worm M. Interleukin-17A promotes IgE production in human B cells. *J Invest Dermatol.* 2010 ;130(11):2621-8.
- Milovanovic M, Heine G, Hallatschek W, Opitz B, Radbruch A, Worm M. Vitamin D receptor binds to the  $\epsilon$  germline gene promoter and exhibits transrepressive activity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 ;126(5):1016-1023.e1-4.
- Naumann L, Feist E, Natusch A, Langen S, Krause A, Buttgerit F, Burmester GR. IL-1-receptor antagonist anakinra provides long-lasting efficacy in the treatment of refractory adult-onset Still's disease. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(2):466-7. Letter.
- Neilson AR, Sieper J, Deeg M. Cost-effectiveness of etanercept in patients with severe ankylosing spondylitis in Germany. *Rheumatology (Oxford).* 2010 ;49(11):2122-34.
- Neves P, Lampropoulou V, Calderon-Gomez E, Roch T, Stervbo U, Shen P, Kühl AA, Loddenkemper C, Hauri M, Nedospasov SA, Kaufmann SH, Steinhoff U, Calado DP, Fillatreau S. Signaling via the MyD88 Adaptor Protein in B Cells Suppresses Protective Immunity: during *Salmonella typhimurium* Infection. *Immunity.* 2010;33(5):777-90.
- Ozen S, Pistorio A, Iusan SM, Bakkaloglu A, Herlin T, Brik R, Buoncompagni A, Lazar C, Bilge I, Uziel Y, Rigante D, Cantarini L, Hilario MO, Silva CA, Alegria M, Norambuena X, Belot A, Berkun Y, Estrella AI, Olivieri AN, Ipiigiani MG, Rumba I, Sztajn bok F, Tambic-Bukovac L, Breda L, Al-Mayouf S, Mihaylova D, Chasnyk V, Sengler C, Klein-Gitelman M, Djeddi D, Nuno L, Prunusild C, Brunner J, Kondi A, Pagava K, Pederzoli S, Martini A, Ruperto N; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation (PRINTO). EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener-granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(5):798-806.
- Peckl-Schmid D, Wolkerstorfer S, Königsberger S, Achatz-Straussberger G, Feichtner S, Schwaiger E, Zaborsky N, Huemer M, Gratz IK, Schibli R, Lamers M, Cramer R, Moser K, Luger EO, Achatz G. HAX1 deficiency: impact on lymphopoiesis and B-cell development. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(11):3161-72.
- Pinschewer DD, Schedensack M, Berghaler A, Horvath E, Brück W, Löhning M, Merkle D. T cells can mediate viral clearance from ependyma but not from brain parenchyma in a major histocompatibility class I- and perforin-independent manner. *Brain.* 2010 ;133(Pt 4):1054-66.
- Pischon N, Pischon T, Gülmez E, Kröger J, Purucker P, Kleber BM, Landau H, Jost-Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Burmester GR, Bernimoulin JP, Buttgerit F, Detert J. Periodontal disease in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(1):34-8.
- Poddubnyy D, Appel H, Sieper J. Investigation of involved tissue in axial spondyloarthritis—what have we learnt from immunohistochemical studies? *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2010 ;24(5):715-9.
- Poddubnyy D, Rudwaleit M, Listing J, Braun J, Sieper J. Comparison of a high sensitivity and standard C reactive protein measurement in patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(7):1338-41.
- Pogonka T, Schelzke K, Stange J, Papadakis K, Steinfeld S, Liesenfeld O, Lucius R. CD8+ cells protect mice against reinfection with the intestinal parasite *Eimeria falciformis*. *Microbes Infect.* 2010 ;12(3):218-26.
- Polansky JK, Schreiber L, Thelemann C, Ludwig L, Krüger M, Baumgrass R, Cording S, Floess S, Hamann A, Huehn J. Methylation matters: binding of Ets-1 to the demethylated Foxp3 gene contributes to the stabilization of Foxp3 expression in regulatory T cells. *J Mol Med.* 2010 ;88(10):1029-40.
- Radstake TR, Gorlova O, Rueda B, Martin JE, Alizadeh BZ, Palomino-Morales R, Coenen MJ, Vonk MC, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Broen JC, van Riel PL, van't Slot R, Italiaander A, Ophoff RA, Riemekasten G, Hunzelmann N, Simeon CP, Ortego-Centeno N, González-Gay MA, González-Escribano MF; Spanish Scleroderma Group, Airo P, van Laar J, Herrick A, Worthington J, Hesselstrand R, Smith V, de Keyser F, Houssiau F, Chee MM, Madhok R, Shiels P, Westhovens R, Kreuter A, Kiener H, de Baere E, Witte T, Padykov L, Klareskog L, Beretta L, Scorza R, Lie BA, Hoffmann-Vold AM, Carreira P, Varga J, Hinchcliff M, Gregersen PK, Lee AT, Ying J, Han Y, Weng SF, Amos CI, Wigley FM, Hummers L, Nelson JL, Agarwal SK, Assassi S, Gourh P, Tan FK, Koelerman BP, Arnett FC, Martin J, Mayes MD. Genome-wide association study of systemic sclerosis identifies CD247 as a new susceptibility locus. *Nat Genet.* 2010;42(5):426-9. Letter.
- Rivino L, Guarín P, Häringer B, Steinfeld S, Lozza L, Steckel B, Weick A, Sugliano E, Jarrossay D, Kühl A, Loddenkemper C, Abrignani S, Sallusto F, Lanzavecchia A, Geginat J. CCR6 is expressed on an IL-10-producing, auto-reactive memory T cell population with context-dependent regulatory function. *J Exp Med.* 2010 ;207(3):565-77.
- Röhner E, Detert J, Kolar P, Hocke A, N'Guessan P, Matziolis G, Kanitz V, Bernimoulin JP, Kielbassa A, Burmester GR, Buttgerit F, Pischon N. Induced apoptosis of chondrocytes by *Porphyromonas gingivalis* as a possible pathway for cartilage loss in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int.* 2010;87(4):333-40.
- Rueda B, Gourh P, Broen J, Agarwal SK, Simeon C, Ortego-Centeno N, Vonk MC, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan FK, Reveille JD, Assassi S, Garcia-Hernandez FJ, Carreira P, Camps M, Fernandez-Nebro A, Garcia de la Peña P, Nearney T, Hilda D, González-Gay MA, Airo P, Beretta L, Scorza R, Radstake TR, Mayes MD, Arnett FC, Martin J. BANK1 functional variants are associated with susceptibility to diffuse systemic sclerosis in Caucasians. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(4):700-5.
- Ruperto N, Lovell DJ, Quartier P, Paz E, Rubio-Pérez N, Silva CA, Abud-Mendoza C, Burgos-Vargas Rloni V, Melo-Gomes JA, Saad-Magalhães C, Chavez-Corales J, Huemer C, Kivitz A, Blanco FJ, Foeldvari I, Hofer M, Horneff G, Huppertz HI, Job-Deslandre C, Loy A, Minden K, Punaro M, Nunez AF, Sigal LH, Block AJ, Nys M, Martini A, Giannini EH; Paediatric Rheumatology International Trials Organization and the Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. Long-term safety and efficacy of abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010 ;62(6):1792-802.
- Ruppel E, Aÿ B, Boisguerin P, Dölle S, Worm M, Volkm R. Identification of IgE binding to Api g 1-derived peptides. *Chembiochem.* 2010 ;11(16):2283-93.
- Saad-Magalhães C, Pistorio A, Ravelli A, Filocomo G, Viola S, Brik R, Mihaylova D, Cate RT, Andersson-Gare B, Ferriani V, Minden K, Hashkes P, Rygg M, Sauvain MJ, Venning H, Martini A, Ruperto N; Pediatric Rheumatology International Trials Organisation (PRINTO). Does removal of aids/devices and help make a difference in the Childhood Health Assessment Questionnaire disability index? *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(1):82-7.
- Schattke S, Knebel F, Grohmann A, Dreger H, Kmezik F, Riemekasten G, Baumann G, Borges AC. Early right ventricular systolic dysfunction in patients with systemic sclerosis without pulmonary hypertension: a Doppler Tissue and Speckle Tracking echocardiography study. *Cardiovasc Ultrasound.* 2010 ;8:3.
- Schmitt KR, Boato F, Diestel A, Hechler D, Kruglov A, Berger F, Hendrix S. Hypothermia-Induced Neurite

- Outgrowth is Mediated by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ . *Brain Pathol.* 2010 ;20(4):771-79.
- Schneeweis C, Rafalowicz M, Feist E, Buttgereit F, Rudolph PE, Burmester GR, Egerer K. Increased levels of BlyS and sVCAM-1 in anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitides (AAV). *Clin Exp Rheumatol.* 2010 ;28(1 Suppl 57):62-6.
- Schwarz D, Welter S, George E, Franken P, Lehmann K, Weckwerth W, Dölle S, Worm M. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the allergenic potential of tomato. *Mycorrhiza.* 2010 Nov 10. [Epub ahead of print]
- Seibold JR, Denton CP, Furst DE, Guillevin L, Rubin LJ, Wells A, Matucci Cerinic M, Riemekasten G, Emery P, Chadha-Boreham H, Charef P, Roux S, Black CM. Randomized, prospective, placebo-controlled trial of bosentan in interstitial lung disease secondary to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(7):2101-8. Erratum in: *Arthritis Rheum.* 2010 ;62(10):3005.
- Sieper J, Koenig A, Baumgartner S, Wishneski C, Foehl J, Vlahos B, Freundlich B. Analysis of uveitis rates across all etanercept ankylosing spondylitis clinical trials. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(1):226-9.
- Siffrin V, Radbruch H, Glumm R, Niesner R, Paterka M, Herz J, Leuenberger T, Lehmann SM, Luenstedt S, Rinnenthal JL, Laube G, Luche H, Lehnardt S, Fehling HJ, Griesbeck O, Zipp F. In vivo imaging of partially reversible th17 cell-induced neuronal dysfunction in the course of encephalomyelitis. *Immunity.* 2010 ;33(3):424-36.
- Smiljanovic B, Grün JR, Steinbrich-Zöllner M, Stuhl-müller B, Häupl T, Burmester GR, Radbruch A, Grütz-kau A, Baumgrass R. Defining TNF- $\alpha$ - and LPS-induced gene signatures in monocytes to unravel the complexity of peripheral blood transcriptomes in health and disease. *J Mol Med.* 2010;88(10):1065-79.
- Song IH, Brandt H, Rudwaleit M, Sieper J. Limited diagnostic value of unilateral sacroiliitis in scintigraphy in assessing axial spondyloarthritis. *J Rheumatol.* 2010 ;37(6):1200-2.
- Song IH, Heldmann F, Rudwaleit M, Listing J, Appel H, Braun J, Sieper J. Different response to rituximab in tumor necrosis factor blocker-naïve patients with active ankylosing spondylitis and in patients in whom tumor necrosis factor blockers have failed: a twenty-four-week clinical trial. *Arthritis Rheum.* 2010 ;62(5):1290-7.
- Sonntag F, Schilling N, Mader K, Gruchow M, Klotzbach U, Lindner G, Horland R, Wagner I, Lauster R, Howitz S, Hoffmann S, Marx U. Design and prototyping of a chip-based multi-micro-organoid culture system for substance testing, predictive to human (substance) exposure. *J Biotechnol.* 2010 ;148(1):70-5.
- Spies CM, Gaber T, Hahne M, Naumann L, Tripmacher R, Schellmann S, Stahn C, Burmester GR, Rad-bruch A, Buttgereit F. Rimexolone inhibits proliferation, cytokine expression and signal transduction of human CD4+ T-cells. *Immunol Lett.* 2010;131(1):24-32.
- Stittrich AB, Haftmann C, Sgouroudis E, Kühl AA, He-gazy AN, Panse J, Riedel R, Flossdorf M, Dong J, Fuhrmann F, Heinz GA, Fang Z, Li N, Bissels U, Hatam F, Jahn A, Hammoud B, Matz M, Schulze FM, Baum-grass R, Bosio A, Mollenkopf HJ, Grün J, Thiel A, Chen W, Höfer T, Lodenkemper C, Löhning M, Chang HD, Rajewsky N, Radbruch A, Mashreghi MF. The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes. *Nat Immunol.* 2010 ;11(11):1057-62. Comment in: *Nat Immunol.* 2010 ;11(11):983-4.
- Strangfeld A, Hierse F, Rau R, Burmester GR, Krummel-Lorenz B, Demary W, Listing J, Zink A. Risk of incident or recurrent malignancies among patients with rheumatoid arthritis exposed to biologic therapy in the German biologics register RABBIT. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(1):R5.
- Strangfeld A, Zink A. Assessing cancer risk of cytokine inhibitors in RA. *Nat Rev Rheumatol.* 2010 ;6(3):126-7.
- Stuhlmüller B, Häupl T, Hernandez MM, Grütz-kau A, Kuban RJ, Tandon N, Voss JW, Salfeld J, Kinne RW, Burmester GR. CD11c as a transcriptional biomarker to predict response to Anti-TNF monotherapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 ;87(3):311-21.
- Tiller T, Kofer J, Kreschel C, Busse CE, Riebel S, Wickett S, Oden F, Mertes MM, Ehlers M, Wardemann H. Development of self-reactive germinal center B cells and plasma cells in autoimmune Fc $\gamma$ R1IB-deficient mice. *J Exp Med.* 2010;207(12):2767-78.
- Tumanov AV, Grivennikov SI, Kruglov AA, Shebzuk-hov YV, Koroleva EP, Piao Y, Cui CY, Kuprash DV, Nedospasov SA. Cellular source and molecular form of TNF specify its distinct functions in organization of secondary lymphoid organs. *Blood.* 2010;116(18):3456-64.
- Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Aïrò P, Cozzi F, Carreira PE, Bancel DF, Allanore Y, Müller-Ladner U, Distler O, Iannone F, Pellerito R, Pileckyte M, Miniati I, Ananieva L, Gurman AB, Damjanov N, Mueller A, Valentini G, Riemekasten G, Tikly M, Hummers L, Henriques MJ, Caramaschi P, Scheja A, Rozman B, Ton E, Kumánovics G, Coleiro B, Feierl E, Szucs G, Von Mühlen CA, Riccieri V, Novak S, Chizzolini C, Kotulaska A, Denton C, Coelho PC, Kötter I, Simsek I, de la Pena Lefebvre PG, Hachulla E, Seibold JR, Rednic S, Stork J, Morovic-Vergles J, Walker UA. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(10):1809-15.
- van der Goes MC, Jacobs JW, Boers M, Andrews T, Blom-Bakkers MA, Buttgereit F, Caeyers N, Choy EH, Cutolo M, Da Silva JA, Guillevin L, Holland M, Kirwan JR, Rovensky J, Saag KG, Severijns G, Webber S, Westhovens R, Bijlsma JW. Patient and rheumatologist perspectives on glucocorticoids: an exercise to improve the implementation of the European League Against Rheumatism (EULAR) recommendations on the management of systemic glucocorticoid therapy in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(6):1015-21.
- van der Goes MC, Jacobs JW, Boers M, Andrews T, Blom-Bakkers MA, Buttgereit F, Caeyers N, Cutolo M, Da Silva JA, Guillevin L, Kirwan JR, Rovensky J, Severijns G, Webber S, Westhovens R, Bijlsma JW. Monitoring adverse events of low-dose glucocorticoid therapy: EULAR recommendations for clinical trials and daily practice. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(11):1913-9.
- van der Heijde D, Rudwaleit M, Landewé RB, Sieper J. Justification for including MRI as a tool in the diagnosis of axial SpA. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(11):670-2.
- van Vollenhoven RF, Houbiers JG, Buttgereit F. In ,t Hout J, Boers M, Leij S, Kvien TK, Dijkmans BA, Szczepanski L, Szombati I, Sierakowski S, Miltenburg AM. The selective estrogen receptor alpha agonist Org 37663 induces estrogenic effects but lacks antirheumatic activity: A phase IIa trial investigating efficacy and safety of Org 37663 in postmenopausal female rheumatoid arthritis patients receiving stable background methotrexate or sulfasalazine. *Arthritis Rheum.* 2010 ;62(2):351-8.
- Vega-Ramos J, Alari-Pahissa E, Valle JD, Carrasco-Marín E, Esplugues E, Borrás M, Martínez-A C, Lauzurica P. CD69 limits early inflammatory diseases associated with immune response to *Listeria monocytogenes* infection. *Immunol Cell Biol.* 2010 ;88(7):707-15.
- Wang Y, Koroleva EP, Kruglov AA, Kuprash DV, Nedospasov SA, Fu YX, Tumanov AV. Lymphotoxin beta receptor signaling in intestinal epithelial cells orchestrates innate immune responses against mucosal bacterial infection. *Immunity.* 2010 Mar 26;32(3):403-13.
- Weber AJ, Li G, Kalak R, Street J, Buttgereit F, Dunstan CR, Seibel MJ, Zhou H. Osteoblast-targeted disruption of glucocorticoid signalling does not delay intramembranous bone healing. *Steroids.* 2010 ;75(3):282-286.
- Weisman M, Learch TJ, Baraliakos X, Chandran V, Gladman DD, Raychaudhuri SP, Xu H, Collantes-Estévez E, Vázquez-Mellado J, Mease PJ, Sieper J, Deodhar AA, Colbert RA, Clegg DO; SPARTAN Group. Current controversies in spondyloarthritis: SPARTAN.J *Rheumatol.* 2010 ;37(12):2617-23.
- Westhoff G, Edelmann E, Kewok J, Zink A. Diagnose-spektrum, Behandlungsindikation und Symptomdauer von Erstzuweisungen zum Rheumatologen [Diagnostic spectrum, treatment indication and symptom duration in initial referrals to the rheumatologist]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(10):910-8. German.
- Westhoff G, Zink A Besserung in Sicht. *Mobil* 2010; 36 (1) : 16-17.
- Wilke G, Steinhauser G, Grün J, Berek C. In silico subtraction approach reveals a close lineage relationship between follicular dendritic cells and BP3(hi) stromal cells isolated from SCID mice. *Eur J Immunol.* 2010 ;40(8):2165-73.
- Winter H, Holmer C, Buhr HJ, Lindner G, Lauster R, Kraft M, Ritz JP. Pilot study of bipolar radiofrequency-induced anastomotic thermofusion-exploration of therapy parameters ex vivo. *Int J Colorectal Dis.* 2010 ;25(1):129-33.
- Winter O, Moser K, Mohr E, Zotos D, Kaminski H, Szyska M, Roth K, Wong DM, Dame C, Tarlinton DM, Schulze H, MacLennan IC, Manz RA. Megakaryocytes constitute a functional component of a plasma cell niche in the bone marrow. *Blood.* 2010; 116(11):1867-1875.
- Wipff J, Dieudé P, Guedj M, Ruiz B, Riemekasten G, Cracowski JL, Matucci-Cerinic M, Melchers I, Humbert M, Hachulla E, Airo P, Diot E, Hunzelmann N, Caramaschi P, Sibilia J, Valentini G, Tiev K, Girerd B, Mouthon L, Riccieri V, Carpentier PH, Distler J, Amoura Z, Tamer I, Degano B, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Association of a KCNA5 gene polymorphism with systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension in the European Caucasian population. *Arthritis Rheum.* 2010 ;62(10):3093-100.
- Ziegler S, Huscher D, Karberg K, Krause A, Wassenberg S, Zink A. Trends in treatment and outcomes of rheumatoid arthritis in Germany 1997-2007: results from the National Database of the German Collaborative Arthritis Centres. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(10):1803-08.
- Zink A, Huscher D, Schneider M. Wie leitliniengerecht ist die rheumatologische Versorgung? Anspruch und Wirklichkeit [How closely does rheuma-

tology treatment follow the guidelines? ambition and reality]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(4):318-26. German

Zuberbier T, Bachert C, Bousquet PJ, Passalacqua G, Walter Canonica G, Merk H, Worm M, Wahn U, Bousquet J. GA<sup>2</sup> LEN/EAACI pocket guide for allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis and asthma. *Allergy.* 2010;65(12):1525-30.

Zuberbier T, Balke M, Worm M, Edenharter G, Maurer M. Epidemiology of urticaria: a representative cross-sectional population survey. *Clin Exp Dermatol.* 2010;35(8):869-73.

## Übersichtsartikel

Avouac J, Kowal-Bielecka O, Pittrow D, Huscher D, Behrens F, Denton CP, Foeldvari I, Humbert M, Mautucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Rubin LJ, Seibold JR, Distler O, Furst DE; EPOSS Group. Validation of the 6 min walk test according to the OMERACT filter: a systematic literature review by the EPOSS-OMERACT group. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(7):1360-3. Review.

Belousov PV, Kuprash DV, Nedospasov SA, Shebzukhov YV. Autoantibodies to tumor-associated antigens as cancer biomarkers. *Curr Mol Med.* 2010 ;10(2):115-22. Review.

Bijlsma JW, van der Goes MC, Hoes JN, Jacobs JW, Buttgereit F, Kirwan J. Low-dose glucocorticoid therapy in rheumatoid arthritis: an obligatory therapy. *Ann N Y Acad Sci.* 2010 ;1193:123-6. Review.

Braun J, Sieper J. Spondyloarthritis [Spondyloarthritiden]. *Z Rheumatol.* 2010 Jul;69(5):425-32; quiz 433-4. Review.

Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Dörner T. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmun Rev.* 2010 ;9(6):431-5. Review.

Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(5):218.

Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F. Pathogenesis der Parodontitis bei rheumatischen Erkrankungen [Pathogenesis of parodontitis in rheumatic diseases]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(2):109-12, 114-6. Review.

Dörner T, Kinnman N, Tak PP. Targeting B cells in immune-mediated inflammatory disease: A comprehensive review of mechanisms of action and identification of biomarkers. *Pharmacol Ther.* 2010;125(3):464-75. Review.

Dörner T. Hydroxychloroquine in SLE: old drug, new perspectives. *Nat Rev Rheumatol.* 2010 ;6(1):10-1. Review.

Drutskaya MS, Efimov GA, Kruglov AA, Kuprash DV, Nedospasov SA. Tumor necrosis factor, lymphotoxin and cancer. *IUBMB Life.* 2010 ;62(4):283-9. Review.

Entschladen F, Altschmied J, Baumgrass R, Behrmann I, Giehl K, Hermanns H, Huber O, Kieser A, Klotz LO, Kubatzky KF, Hass R, Janssen O, Friedrich K. Signal transduction, receptors, mediators and genes: younger than ever - the 13th meeting of the Signal Transduction Society focused on aging and immunology. *Cell Commun Signal.* 2010 ;8:2.

Feist E, Dörner T. Rituximab [Rituximab]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(7):594-600. Review. German.

Ghofrani HA, Distler Ohardt F, Gorenflo M, Grünig E, Haefeli WE, Held M, Hoepfer MM, Kähler CM, Kaemmerer H, Klose H, Köllner V, Kopp B, Mebus S, Meyer

A, Miera O, Pittrow D, Riemekasten G, Rosenkranz S, Schranz D, Voswinkel R, Olschewski H; German Society of Cardiology (DGK), the German Society of Respiratory Medicine (DGP) and the German Society of Pediatric Cardiology (DGPK). Therapie der pulmonal arteriellen Hypertonie (PAH) [Treatment of pulmonary arterial hypertension (PAH): recommendations of the Cologne Consensus Conference 2010]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2010;135 Suppl 3:S87-101. Review.

Grünig E, Barner A, Bell M, Claussen M, Dandel M, Dumitrescu D, Gorenflo M, Holt S, Kovacs G, Ley S, Meyer JF, Pabst S, Riemekasten G, Saur J, Schwaiblmair M, Seck C, Sinn L, Söricht S, Winkler J, Leuchte H. Nicht-invasive Diagnostik der pulmonalen Hypertonie H. [Non-invasive diagnosis of pulmonary hypertension: ESC/ERS Guidelines with commentary of the Cologne Consensus Conference 2010]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2010;135 Suppl 3:S67-77. Review.

Grützkau A, Radbruch A. Small but mighty: how the MACS-technology based on nanosized superparamagnetic particles has helped to analyze the immune system within the last 20 years. *Cytometry A.* 2010 ;77(7):643-7. Review.

Haibel H, Sieper J. Editorial review: how early should ankylosing spondylitis be treated with a tumor necrosis factor-blocker? *Curr Opin Rheumatol.* 2010 ;22(4):388-92. Review.

Haibel H, Sieper J. Use of methotrexate in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010 ;28(5 Suppl 61):S128-31. Review.

Hansen A, Daridon C, Dörner T. What do we know about memory B cells in primary Sjögren's syndrome? *Autoimmun Rev.* 2010 ;9(9):600-3. Review.

Hansen A, Dörner T. Sjögren Syndrom [Sjögren syndrome]. *Internist (Berl).* 2010 ;51(10):1267-79; quiz 1280. Review. German.

Hansen A, Dörner T. Aktuelle therapeutische Optionen bei Sjögren-Syndrom [Current therapeutic options in Sjögren's syndrome]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(1):19-24. Review. German

Häupl T, Stuhlmüller B, Grützkau A, Radbruch A, Burmester GR. Does gene expression analysis inform us in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69 Suppl 1:i37-42. Review.

Hauser AE, Kerfoot SM, Haberman AM. Cellular chirography in the germinal center: new visions from *in vivo* imaging. *Semin Immunopathol.* 2010 ;32(3):239-55. Review.

Hoes JN, Jacobs JW, Buttgereit F, Bijlsma JW; Medscape. Current view of glucocorticoid co-therapy with DMARDs in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2010 ;6(12):693-702. Review.

Huscher D, Saketkoo LA, Pittrow D, Khanna D. Development of clinical trial assessments for the study of interstitial lung disease in patients who have connective tissue diseases-methodological considerations. *Curr Rheumatol Rev.* 2010 ;6(2):145-150.

Jacobi AM, Dörner T. Current aspects of anti-CD20 therapy in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(3):316-21. Review.

Kolar P, Schmidt-Bleek K, Schell H, Gaber T, Toben D, Schmidmaier G, Perka C, Buttgereit F, Duda GN. The early fracture hematoma and its potential role in fracture healing. *Tissue Eng Part B Rev.* 2010;16(4):427-34. Review.

Lampropoulou V, Calderon-Gomez E, Roch T, Neves P, Shen P, Stervbo U, Boudinot P, Anderton SM, Filatreau S. Suppressive functions of activated B cells in autoimmune diseases reveal the dual roles of Toll-like receptors in immunity *Immunological Rev.* 2010 ;233:146-61. Review.

Lipsky PE, Dörner T. The red wolf remains a wily foe. *Nat Rev Rheumatol.* 2010 ;6(6):307-8. Review.

Luger EO, Wegmann M, Achatz G, Worm M, Renz H, Radbruch A. Allergy for a lifetime? *Allergol Int.* 2010 ;59(1):1-8. Review.

Marelli-Berg FM, Fu H, Vianello F, Tokoyoda K, Hammann A. Memory T-cell trafficking: new directions for busy commuters. *Immunology.* 2010 ;130(2):158-65. Review

Pietra G, Romagnani C, Manzini C, Moretta L, Mingari MC. The emerging role of HLA-E-restricted CD8+ T lymphocytes in the adaptive immune response to pathogens and tumors. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:907092. Review.

Quesniaux VF, Jacobs M, Allie N, Grivennikov S, Nedospasov SA, Garcia I, Olleros ML, Shebzukhov Y, Kuprash D, Vasseur V, Rose S, Court N, Vacher R, Ryffel B. TNF in Host Resistance to Tuberculosis Infection. *Curr Dir Autoimmun.* 2010;11:157-179. Review.

Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010 ;21(5):331-44. Review.

Scherer HU, Dörner T, Burmester GR. Patient-tailored therapy in rheumatoid arthritis: an editorial review. *Curr Opin Rheumatol.* 2010 ;22(3):237-45. Review.

Schmidt RE, Witte T, Dörner T. Das Sjögren-Syndrom [Sjögren's syndrome]. *Z Rheumatol.* 2010;69(1):9-10. Review. German.

Schoels M, Wong J, Scott DL, Zink A, Richards P, Landewé R, Smolen JS, Aletaha D. Economic aspects of treatment options in rheumatoid arthritis: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(6):995-1003. Review.

Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gorter S, Knevel R, Nam J, Schoels M, Aletaha D, Buch M, Gossec L, Huizinga T, Bijlsma JW, Burmester G, Combe B, Cutolo M, Gabay C, Gomez-Reino J, Kouloumas M, Kvien TK, Martin-Mola E, McInnes I, Pavelka K, van Riel P, Scholte M, Scott DL, Sokka T, Valesini G, van Vollenhoven R, Winthrop KL, Wong J, Zink A, van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis.* 2010 ;69(6):964-75. Review.

Spies CM, Bijlsma JW, Burmester GR, Buttgereit F. Pharmacology of glucocorticoids in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Pharmacol.* 2010 ;10(3):302-7. Review.

Spies CM, Burmester GR, Buttgereit F. Methotrexate treatment in large vessel vasculitis and polymyalgia rheumatica. *Clin Exp Rheumatol.* 2010 ;28(5 Suppl 61):S172-7. Review.

Spies CM, Cutolo M, Straub RH, Burmester GR, Buttgereit F. More night than day – circadian rhythms in polymyalgia rheumatica and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2010 ;37(5):894-9. Review.

Straub RH, Cutolo M, Buttgereit F, Pongratz G. Energy regulation and neuroendocrine-immune control in



chronic inflammatory diseases. *J Intern Med.* 2010 ;267(6):543-60. Review.

Tokoyoda K, Hauser AE, Nakayama T, Radbruch A. Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nat Rev Immunol.* 2010 ;10(3):193-200. Review

Westhoff G, Zink A. Epidemiologie des primären Sjögren-Syndroms [Epidemiology of primary Sjögren's syndrome.]. *Z Rheumatol.* 2010;69(1):41-9. Review.

Worm M, Timmermans F, Moneret-Vautrin A, Muraro A, Malmheden Yman I, Lövik M, Hattersley S, Crevel R. Towards a European registry of severe allergic reactions: current status of national registries and future needs. *Allergy.* 2010 ;65(6):671-80. Review.

Yoshida T, Mei H, Dörner T, Hiepe F, Radbruch A, Filatreau S, Hoyer BF. Memory B and memory plasma cells. *Immunol Rev.* 2010 ;237(1):117-39. Review.

Zink A, Schneider M. 10 Jahre Behandlung mit TNF-Inhibitoren – Sind wir auf der sicheren Seite? [10 years of treatment with TNF inhibitors--are we on the safe side?]. *Z Rheumatol.* 2010 ;69(9):772-3. Editorial. German.

## Bücher und Buchkapitel

Hamann A. How T cells find their way around. In: Marelli-Berg FM, Nourshargh S (Eds.): *T-cell trafficking: methods and protocols.* New York, NY: Humana Pr. 2010. Chapter 1. S. 3-13. (Methods Mol Biol. 2010;616:3-13.) (Springer Protocols). ISBN: 978-1-6071-460-9

Hiepe F, Radbruch A. Systemische Autoimmunerkrankungen: Mechanismen und Therapiestrategien unter besonderer Berücksichtigung der Rolle der langlebigen Gedächtnis-Plasmazellen. In: Färber L, Kreiß A (Hrsg.): *Medizinische Spitzenforschung in Deutschland.* Stuttgart: Schattauer, 2010. S. 65-77. ISBN: 978-3-7945-2818-9

Landek L, Sterry W, Worm M. Dermatologische Untersuchungen In: Schnabel K et al. (Hrsg.): *Ärztliche Fertigkeiten: Anamnese, Untersuchung, ausgewählte Anwendungsgebiete* Stuttgart: Wissenschaftl. Verlagsges 2010. S. 75-84. ISBN: 978-3-8047-2446-4

Luger EO, Radbruch A, Worm M. B cells and allergy. In: Zierhut M, Biedermann T, Ono S (Eds.): *Immunology of Ocular Allergy,* New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers, in press (2010). S. 36-42. ISBN: 9788184488630

Minden K. Classification and epidemiology of juvenile idiopathic arthritis. In: Hochberg, MC, Silman, AJ, Smolen, JS, Weinblatt, ME and Weisman MH (Eds.): *Rheumatology, Fifth Edition.* Philadelphia (Elsevier) 2010.

Worm M. Anaphylaxie: Grundlagen und Meldesystem In: Wüthrich B, (Hrsg.): *Pathophysiologie und immunologische Grundlagen, Klassifikation, Epidemiologie.* (Nahrungsmittel und Allergie 3) München, Orlando: Dustri Verlag, 2010. S. 181-187. ISBN: 978-3-87185-392-0

Worm M. Epidemiology of anaphylaxis. In: Ring J (Ed.): *Anaphylaxis.* Basel: Karger, 2010. S. 12-21. ISBN: 978-3-8055-9441-7 (Chem Immunol Allergy. 2010;95:12-21. Review.)

Zink A, Huscher D, Schneider M. Daten der Kompetenznetze in der Medizin als Elemente eines Versorgungsmonitorings: Beispiel des Kompetenznetzes Rheuma. In: Kurth B-M (Ed.): *Monitoring der gesundheitlichen Versorgung in Deutschland.* Köln (Deutscher Ärzte-Verlag) 2008:121-31.

Zink A. European Biologics Registers. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (Eds.): *Rheumatoid Arthritis.* Philadelphia (Mosby Elsevier) 2009: 419-26.

Zink A., Minden K, List SM. Entzündlich-rheumatische Erkrankungen. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 49. Berlin (Robert Koch Institut) 2010.

## Weitere Publikationen

Breuer K, Worm M, Skudlik C, John SM. Ethylenoxid als berufliches Kontaktallergen – ein unterschätztes Problem? *Allergologie* 2010;33(8):331-336

Burmester GR, Lipsky PE, Dörner T, Kitasato symposium 2010: new prospects for cytokines. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(6):301.

Burt RK, Abinun M, Farge-Bancel D, Fassas A, Hiepe E, Havrdová E, Ikehara S, Loh Y, Marmont du Haut Champ A, Voltarelli JC, Snowden J, Slavin S. Risks of immune system treatments. *Science.* 2010 May 14;328(5980):825-6. Comment on: *Science.* 2010 Feb 12;327(5967):772-4.

Chu VT, Berek C Reply: Schneider P: Buffy's, B-cells and membrane BAFF. *Arthritis rheum* 2010; 62(5):1558. Letter

Dörner T, Burmester GR. Expanding possibilities in the treatment of patient groups with previously difficult-to-treat patients. *Curr Opin Rheumatol.* 2010 ;22(3):235-6.

Hompes S, Scherer K, Köhli A, Rueff F, Mahler V, Lange L, Treudler R, Rietschel E, Szepefalusi Z, Lang R, Rabe U, Reese T, Beyer K, Schwerk N, Worm M. Nahrungsmittel-Anaphylaxie: Daten aus dem Anaphylaxie-Register. *Allergo J* 2010;19(4):234-42.

Kleine Tebbe J, Werfel T, Niggemann B, Worm M. Correction required. *Dtsch Arztebl Int.* 2010 ;107(3):39; author reply 40-1.

Kleine-Tebbe J, Bufe A, Ebner C, Eigenmann P, Friedrichs F, Fuchs T, Huttegger I, Jung K, Klimek L, Kopp M, Lässig W, Merk H, Niggemann B, Rabe U, Saloga J, Schmid-Grendelmeier P, Sitter H, Virchow JC, Wagenmann M, Wedi B, Worm M. Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) bei IgE-vermittelten allergischen Erkrankungen. S2-Leitlinie. *Allergologie* 2010; 33(1):3-34.

Lepp U, Ballmer-Weber B, Beyer K, Erdmann S, Fuchs T, Henzgen M, Heratizadeh A, Huttegger I, Jappe U, Kleine-Tebbe J, Niggemann B, Raithe M, Reese I, Saloga J, Schäfer C, Szepefalusi Z, Vieths S, Werfel T, Zuberbier T, Worm M. Therapiemöglichkeiten bei der IgE-vermittelten Nahrungsmittelallergie. *Allergologie* 2010;33(8):347-356.

Michels H, Minden K Kinder und Rheuma. Was passiert am Skelett? *Arthritis + Rheuma* 2010; 5:266-76.

Minden K, Niewerth M Gelenkrheuma im Kindesalter. *Ärztliche Praxis Pädiatrie* 2010; 6:11-2.

Minden K, Niewerth M Gelenkrheuma im Kindesalter. *Der Mediziner* 2010; 5(6):30-5

Romagnani C. Conference Scene: Autoimmunity and transplantation: basic science and clinic translation meet in Geneva. 9th International Conference on New Trends in Immunosuppression and Immunotherapy 4-6 February 2010, Geneva, Switzerland. *Immunotherapy.* 2010 ;2(4):447-51.

Soost S, Zuberbier T, Zuberbier M, Worm M. Occupational contact dermatitis from ninhydrin in a police officer. *Contact Dermatitis.* 2010 ;62(1):59-60.

Strangfeld A, Zink A. Are We Playing It Safe? Tumor necrosis factor alpha inhibition and the risk of solid malignancies. *The Rheumatologist,* October 2010

Westhoff G CAPEA - Course and prognosis of early arthritis. *Rheuma Management* 2010; 2:10-1.

Westhoff G Primäres Sjögren-Syndrom. Auf der Spur einer wenig erforschten Krankheit. *Mobil* 2010; 36(6):24-5.

Worm M. Rasches Handeln kann Leben retten. *Pharm. Ztg.* 2010;25:18-26.

## Publikationen 2011

### Originalpublikationen

Allanore Y, Saad M, Dieudé P, Avouac J, Distler JH, Amouyel P, Matucci-Cerinic M, Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Hachulla E, Cusi D, Wichmann HE, Wipff J, Lambert JC, Hunzelmann N, Tiev K, Caramaschi P, Diot E, Kowal-Bielecka O, Valentini G, Mouthon L, Cziráj L, Damjanov N, Salvi E, Conti C, Müller M, Müller-Ladner U, Riccieri V, Ruiz B, Cracowski JL, Letenneur L, Dupuy AM, Meyer O, Kahan A, Munnich A, Boileau C, Martinez M. Genome-wide scan identifies TNIP1, PSORS1C1, and RHOB as novel risk loci for systemic sclerosis. *PLoS Genet.* 2011 ;7(7):e1002091.

Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Loddenkemper C, Sieper J. Analysis of interleukin-17+ cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17 mediated adaptive immune response. *Arthritis Res Ther.* 2011 ;13(3):R95.

Appel H, Wu P, Scheer R, Kedor C, Sawitzki B, Thiel A, Radbruch A, Sieper J, Syrbe U. Synovial and Peripheral Blood CD4+FoxP3+ T Cells in Spondyloarthritis. *J Rheumatol.* 2011;38(11):2445-51.

Arias K, Chu DK, Flader K, Botelho F, Walker T, Arias N, Humbles AA, Coyle AJ, Oettgen HC, Chang HD, Van Rooijen N, Wasserman S, Jordana M. Distinct immune effector pathways contribute to the full expression of peanut-induced anaphylactic reactions in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(6):1552-1561.e1.

Baraliakos X, Listing J, Fritz C, Haibel H, Alten R, Burmester GR, Krause A, Schewe S, Schneider M, Sörensen H, Schmidt R, Sieper J, Braun J. Persistent clinical efficacy and safety of infliximab in ankylosing spondylitis after 8 years--early clinical response predicts long-term outcome. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50(9):1690-9.

Baraliakos X, Listing J, von der Recke A, Braun J. The Natural Course of Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis: Differences Between Genders and Appearance of Characteristic Radiographic Features. *Curr Rheumatol Rep.* 2011; 13(5):383-7.

Barkhadarova F, Dähnrich C, Rosemann A, Schneider U, Stöcker W, Burmester GR, Egerer K, Schlumberger W, Hiepe F, Biesen R. Diagnostic value and clinical laboratory associations of antibodies against recombinant ribosomal P0, P1 and P2 proteins and their native heterocomplex in a Caucasian cohort with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2011 ;13(1):R20.



- Becker MO, Brückner C, Scherer HU, Wassermann N, Humrich JY, Hanitsch LG, Schneider U, Kawald A, Hanke K, Burmester GR, Riemekasten G. The monoclonal anti-CD25 antibody basiliximab for the treatment of progressive systemic sclerosis: an open-label study. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(7):1340-41.
- Belle TL van, Esplugues E, Liao J, Juntti T, Flavell RA, von Herrath MG. Development of autoimmune diabetes in the absence of detectable IL-17A in a CD8-driven virally induced model. *J Immunol*. 2011 ;187(6):2915-22.
- Beyer C, Distler JH, Allnare Y, Aringer M, Avouac J, Czirájk L, Cutolo M, Damjanov N, Del Galdo F, Fligels-tone K, Guiducci S, Kowal-Bielecka O, van Laar JM, Martucci-Cerinic M, Müller-Ladner U, Riemekasten G, Tarner IH, Tyndall A, Kennedy AT, Valentini G, Vettori S, Walker UA, Denton C, Distler O; EUSTAR bio-banking: recommendations for the collection, storage and distribution of biospecimens in scleroderma research. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(7):1178-82.
- Biesen R, Dähnrich C, Rosemann A, Barkhudarova F, Rose T, Jakob O, Bruns A, Backhaus M, Stöcker W, Burmester GR, Schlumberger W, Egerer K, Hiepe F. Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011 ;13(1):R26
- Bossini-Castillo L, Simeon CP, Beretta L, Vonk MC, Callejas-Rubio JL, Espinosa G, Carreira P, Camps MT, Rodríguez-Rodríguez L, Rodríguez-Carballeira M, García-Hernández FJ, López-Longo FJ, Hernández-Hernández V, Sáez-Comet L, Egurvide MV, Hesselstrand R, Nordin A, Hoffmann-Vold AM, Vanthuyne M, Smith V, De Langhe E, Kreuter A, Riemekasten G, Witte T, Hunzelmann N, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Lunardi C, Airò P, Scorza R, Shiels P, van Laar JM, Fonseca C, Denton C, Herrick A, Worthington J, Koeleman BP, Rueda B, Radstake TR, Martin J. Confirmation of association of the macrophage migration inhibitory factor gene with systemic sclerosis in a large European population. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(11):1976-81.
- Braun J, Rudwaleit M, Sieper J. Spondyloarthritis [Spondyloarthritis]. *Internist (Berl)*. 2011;52(6):657-70. German.
- Broen JC, Coenen MJ, Rueda B, Witte T, Padyukov L, Klareskog L, Hesselstrand R, Wuttge DM, Simeon C, Ortego-Centeno N, González-Gay M, Pros A, Hunzelmann N, Riemekasten G, Kreuter A, Vonk M, Scorza R, Beretta L, Airò P, van Riel PL, Kimberly R, Martin J, Edberg J, Radstake TR. The functional polymorphism 844 A>G in Fc(alpha)RI (CD89) does not contribute to systemic sclerosis or rheumatoid arthritis susceptibility. *J Rheumatol*. 2011;38(3):446-49.
- Buch MH, Smolen JS, Betteridge N, Breedveld FC, Burmester G, Dörner T, Ferracoli G, Gottenberg JE, Isaacs J, Kvien TK, Mariette X, Martin-Mola E, Pavelka K, Tak PP, van der Heijde D, van Vollenhoven RF, Emery P;. Updated consensus statement on the use of rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):909-20.
- Buttgereit F. How should impaired morning function in rheumatoid arthritis be treated? *Scand J Rheumatol Suppl*. 2011;40 (Suppl.125):28-39.
- Calderón-Gómez E, Lampropoulou V, Shen P, Neves P, Roch T, Stervbo U, Rutz S, Kühl AA, Heppner FL, Lodenkemper C, Anderton SM, Kanellopoulos JM, Charneau P, Fillatreau S. Reprogrammed quiescent B cells provide an effective cellular therapy against chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. 2011;41(6):1696-708
- Chu VT, Fröhlich A, Steinhauser G, Scheel T, Roch T, Fillatreau S, Lee JJ, Löhning M, Berek C. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat Immunol*. 2011;12(2):151-9.
- Conrad U, Plagmann I, Malchow S, Sack M, Floss DM, Kruglov AA, Nedospasov SA, Rose-John S, Scheller J. ELyated anti-human TNF therapeutic single-domain antibodies for prevention of lethal septic shock. *Plant Biotechnol J*. 2011; 9(1):22-31.
- Cutolo M, Buttgereit F, Straub RH. Regulation of glucocorticoids by the central nervous system. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 ;29(5 Suppl 68):S19-22.
- d'Hennezel E, Yurchenko E, Sgouroudis E, Hay V, Piccirillo CA. Single-cell analysis of the human T regulatory population uncovers functional heterogeneity and instability within FOXP3+ cells. *J Immunol*. 2011;186(12):6788-97.
- da Silva JA, Phillips S, Buttgereit F. Impact of impaired morning function on the lives and well-being of patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol Suppl*. 2011;125:6-11
- Daller B, Müsch W, Röhr J, Tumanov AV, Nedospasov SA, Männel DN, Schneider-Brachert W, Hehlhans T. Lymphotoxin-beta receptor activation by Lymphotoxin-alpha(1)beta(2) and LIGHT promotes tumor growth in an NFkappaB-dependent manner. *Int J Cancer*. 2011;128(6):1363-70.
- Dávalos A, Goedeke L, Smibert P, Ramírez CM, Warrier NP, Andreo U, Cirera-Salinas D, Rayner K, Suresh U, Pastor-Pareja JC, Esplugues E, Fisher EA, Penalva LO, Moore KJ, Suárez Y, Lai EC, Fernández-Hernando C. miR-33a/b contribute to the regulation of fatty acid metabolism and insulin signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(22):9232-7.
- de Bucourt M, Busse R, Zada O, Kaschke H, Weiss A, Teichgraber U, Rogalla P, Hein PA. CT-Guided Biopsies: Quality, Complications and Impact on Treatment - a Retrospective Initial Quality Control. *RöFo*. 2011;183(9):842-848.
- Denton CP, Avouac J, Behrens F, Furst DE, Foeldvari I, Humbert M, Huscher D, Kowal-Bielecka O, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Pittrow D, Rubin LJ, Seibold JR, Distler O. Systemic sclerosis-associated pulmonary hypertension: why disease-specific composite endpoints are needed. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(3):114.
- Deuschle K, Weinert K, Becker MO, Backhaus M, Huscher D, Riemekasten G Six-minute walk distance as a marker for disability and complaints in patients with systemic sclerosis. *Clin exp rheumatol* 2011; 29 (2): S53-S59
- Diaz-Gallo L, Gourh P, Broen J, Simeon C, Fonollosa V, Ortego-Centeno N, Agarwal S, Vonk M, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan F, Reveille J, Assassi S, García-Hernandez F, Carreira P, Camps M, Fernandez-Nebro A, de la Peña PG, Narnay T, Hilda D, González-Gay M, Airo P, Beretta L, Scorza R, Herrick A, Worthington J, Pros A, Gómez-Gracia I, Trapiella L, Espinosa G, Castellvi I, Witte T, de Keyser F, Vanthuyne M, Mayes M, Radstake T, Arnett F, Martin J, Rueda B. Analysis of the influence of PTPN22 gene polymorphisms in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Mar;70(3):454-62
- Didier A, Worm M, Horak F, Sussman G, de Beaumont O, Le Gall M, Melac M, Malling HJ. Sustained 3-year efficacy of pre- and coseasonal 5-grass-pollen sublingual immunotherapy tablets in patients with grass pollen-induced rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(3):559-66.
- Dieudé P, Bouaziz M, Guedj M, Riemekasten G, Airo P, Müller M, Cusi D, Matucci-Cerinic M, Melchers I, Koenig W, Salvi E, Wichmann HE, Cuomo G, Hachulla E, Diot E, Hunzelmann N, Caramaschi P, Mouthon L, Riccieri V, Distler J, Tarner I, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Chiochia G, Boileau C, Allnare Y. Evidence of the contribution of the X chromosome to systemic sclerosis susceptibility: association with the functional IRAK1 196Phe/532Ser haplotype. *Arthritis Rheum*. 2011;63(12):3979-87.
- Dieudé P, Guedj M, Truchetet ME, Wipff J, Revillon L, Riemekasten G, Matucci-Cerinic M, Melchers I, Hachulla E, Airo P, Diot E, Hunzelmann N, Mouthon L, Cabane J, Cracowski JL, Riccieri V, Distler J, Amoura Z, Valentini G, Caramaschi P, Tarner I, Frances C, Carpentier P, Bremilla NC, Meyer O, Kahan A, Chizzolini C, Boileau C, Allnare Y. Association of the CD226 307Ser variant with systemic sclerosis: Evidence for a contribution of co-stimulation pathways in SSc pathogenesis. *Arthritis Rheum*. 2011; 63(4):1097-1105.
- Dieudé P, Guedj M, Wipff J, Ruiz B, Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Hachulla E, Cerinic MM, Diot E, Hunzelmann N, Caramaschi P, Sibilia J, Tiev K, Mouthon L, Riccieri V, Cracowski JL, Carpentier PH, Distler J, Amoura Z, Tarner I, Avouac J, Meyer O, Kahan A, Boileau C, Allnare Y. NLRP1 influences the systemic sclerosis phenotype: a new clue for the contribution of innate immunity in systemic sclerosis-related fibrosing alveolitis pathogenesis. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(4):668-674.
- Distler JH, Jordan S, Airo P, Alegre-Sancho JJ, Allnare Y, Balbir Gurman A, Caporali R, Caramaschi P, Carreira PE, Chizzolini C, Cutolo M, Tuncay Duruöz M, Farge-Bancel D, Hesselstrand R, Iannone F, De Keyser F, Kucharz EJ, Launay D, García de la Peña Lefebvre P, Lukacova O, Marasini B, Martinovic D, Marques Neto JF, Radic M, Rednic S, Riemekasten G, Rovensky J, Seidel MF, Senel S, Smith V, Sunderkötter C, Ton E, van Laar JM, Matucci-Cerinic M, Müller Ladner U, Distler O. Is there a role for TNF antagonists in the treatment of SSc? EUSTAR expert consensus development using the Delphi technique. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(2 Suppl 65):S40-5.
- Distler JH, Strapatsas T, Huscher D, Dees C, Akhmetshina A, Kiener HP, Tarner IH, Maurer B, Walder M, Michel B, Gay S, Smolen JS, Müller-Ladner U, Schett G, Distler O. Dysbalance of angiogenic and angiostatic mediators in patients with mixed connective tissue disease. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(7):1197-202.
- Doebis C, Menning A, Neumann K, Ghani S, Schlawe K, Lauer U, Hamann A, Huehn J, Syrbe U. Accumulation and local proliferation of antigen-specific CD4(+) T cells in antigen-bearing tissue. *Immunol Cell Biol*. 2011;89(4):566-72.
- Dölle S, Lehmann K, Schwarz D, Weckwert W, Scheler C, George E, Franken P, Worm M. Allergenic activity of different tomato cultivars in tomato allergic subjects. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(11):1643-52.
- Dölle S, Schwarz D, Lehmann K, Weckwert W, George E, Worm M, Franken P. Tomato allergy: impact of genotype and environmental factors on the biological response. *J Sci Food Agric*. 2011 ;91(12):2234-40.
- Dörner T, Jacobi AM, Lee J, Lipsky PE. Abnormalities of B cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods*. 2011; 363(2):187-97.
- Egerer K, Roggenbuck D, Büttner T, Lehmann B, Kohn A, von Landenberg P, Hiemann R, Feist E, Burmester GR, Dörner T. Single-step autoantibody profiling in antiphospholipid syndrome using a multi-line dot assay. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(4):R118.

- Enghard P, Grussie E, Rieder C, Burmester GR, Riemekasten G. Subset size, activation threshold and distribution of autoreactive MZ and FO B cells do not differ in a sex-specific manner in the NZB/W F1 murine lupus model: an experimental mouse study. *Lupus*. 2011;20(12):1240-9.
- Engler JB, Undeutsch R, Kloke L, Rosenberger S, Backhaus M, Schneider U, Egerer K, Dragun D, Hofmann J, Huscher D, Burmester GR, Humrich JY, Engelhard P, Riemekasten G. Unmasking of autoreactive CD4 T cells by depletion of CD25 regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(12):2176-83.
- Ergin A, Syrbe U, Scheer R, Thiel A, Adam T, Büsow K, Duchmann R, Zeitz M, Sieper J. Impaired Periphereal Th1 CD4+ T Cell Response to Escherichia coli Proteins in Patients with Crohn's Disease and Ankylosing Spondylitis. *J Clin Immunol* 2011;31(6):998-1009.
- Esplugues E, Huber S, Gagliani N, Hauser AE, Town T, Wan YY, O'Connor W Jr, Rongvaux A, Van Rooijen N, Haberman AM, Iwakura Y, Kuchroo VK, Kolls JK, Bluestone JA, Herold KC, Flavell RA. Control of TH17 cells occurs in the small intestine. *Nature*. 2011;475(7357):514-8.
- Fransen J, Popa-Diaconu D, Hesselstrand R, Carreira P, Valentini G, Beretta L, Airo P, Inanc M, Ullman S, Balbir-Gurman A, Sierakowski S, Allanore Y, Czirkjak L, Riccieri V, Giacomelli R, Gabrielli A, Riemekasten G, Matucci-Cerinic M, Farge D, Hunzelmann N, Van den Hoogen FH, Vonk MC. Clinical prediction of 5-year survival in systemic sclerosis: validation of a simple prognostic model in EUSTAR centres. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(10):1788-92.
- Frischbutter S, Gabriel C, Bendfeldt H, Radbruch A, Baumgrass R. Dephosphorylation of Bcl-10 by calcineurin is essential for canonical NF- $\kappa$ B activation in Th cells. *Eur J Immunol*. 2011; 41(8):2349-57.
- Furst DE, Keystone EC, Braun J, Breedveld FC, Burmester GR, De Benedetti F, Dörner T, Emery P, Fleischmann R, Gibofsky A, Kalden JR, Kavanaugh A, Kirkham B, Mease P, Sieper J, Singer NG, Smolen JS, Van Riel PL, Weisman MH, Winthrop K. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2010. *Ann Rheum Dis*. 2011;70 Suppl 1:i2-36.
- Gaber I, Schellmann S, Erekl KB, Fangradt M, Tykwin ska K, Hahne M, Maschmeyer P, Wagegg M, Stahn C, Kolar P, Dziurla R, Löhning M, Burmester GR, Buttgereit F. Macrophage migration inhibitory factor counterregulates dexamethasone-mediated suppression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  function and differentially influences human CD4+ T cell proliferation under hypoxia. *J Immunol*. 2011;186(2):764-74.
- Gäwert L, Hierse F, Zink A, Strangfeld A. How well do patient reports reflect adverse drug reactions reported by rheumatologists? Agreement of physician- and patient-reported adverse events in patients with rheumatoid arthritis observed in the German biologics register. *Rheumatology (Oxford)*. 2011; 50(1):152-60
- Geldmeyer-Hilt K, Heine G, Hartmann B, Baumgrass R, Radbruch A, Worm M. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) impairs NF- $\kappa$ B activation in human naïve B cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 407 (4):699-702.
- Ghofrani HA, Distler Ohardt F, Gorenflo M, Grünig E, Haefeli WE, Held M, Hoepfer MM, Köhler CM, Kaemmerer H, Klose H, Köllner V, Kopp B, Mebus S, Meyer A, Miera O, Pittrow D, Riemekasten G, Rosenkranz S, Schranz D, Voswinkel R, Olschewski H. Treatment of pulmonary arterial hypertension (PAH): Updated Recommendations of the Cologne Consensus Conference 2011. *Int J Cardiol*. 2011 Dec;154(S1):S20-S33.
- Gorlova O, Martin JE, Rueda B, Koeleman BP, Ying J, Teruel M, Diaz-Gallo LM, Broen JC, Vonk MC, Simeon CP, Alizadeh BZ, Coenen MJ, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, van Riel PL, Vanthuyne M, van Slot R, Italiaander A, Ophoff RA, Hunzelmann N, Fonollosa V, Ortego-Centeno N, González-Gay MA, García-Hernández FJ, González-Escribano MF, Airo P, van Laar J, Worthington J, Hesselstrand R, Smith V, de Keyser F, Houssiau F, Chee MM, Madhok R, Shiels PG, Westhovens R, Kreuter A, de Baere E, Witte T, Padyukov L, Nordin A, Scorza R, Lunardi C, Lie BA, Hoffmann-Vold AM, Palm O, García de la Peña P, Carreira P, Varga J, Hinchcliff M, Lee AT, Gourp P, Amos CI, Wigley FM, Hummers LK, Nelson JL, Riemekasten G, Herrick A, Beretta L, Fonseca C, Denton CP, Gregersen PK, Agarwal S, Assassi S, Tan FK, Arnett FC, Radstake TR, Mayes MD, Martin J. Identification of novel genetic markers associated with clinical phenotypes of systemic sclerosis through a genome-wide association strategy. *PLoS Genet*. 2011;7(7):e1002178.
- Grünig E, Barner A, Bell M, Claussen M, Dandel M, Dumitrescu D, Gorenflo M, Holt S, Kovacs G, Ley S, Meyer JF, Pabst S, Riemekasten G, Saur J, Schwaiblmair M, Seck C, Sinn L, Sorichter S, Winkler J, Leuchte HH. Non-invasive diagnosis of pulmonary hypertension: ESC/ERS Guidelines with Updated Commentary of the Cologne Consensus Conference 2011. *Int J Cardiol*. 2011;154(S1):S3-S12.
- Hartmann B, Heine G, Babina M, Steinmeyer A, Zügel U, Radbruch A, Worm M. Targeting the vitamin D receptor inhibits the B cell-dependent allergic immune response. *Allergy*. 2011; 66(4):540-8.
- Hebel K, Rudolph M, Kosak B, Chang HD, Butzmann J, Brunner-Weinzierl MC. IL-1 $\beta$  and TGF- $\beta$  act antagonistically in induction and differentially in propagation of human proinflammatory precursor CD4+ T cells. *J Immunol*. 2011;187(11):5627-35.
- Heberlein I, Demary W, Bloching H, Braun J, Buttgereit F, Dreher R, Kuhn C, Lange U, Pollähne W, Zink A, Zeidler H, Häntzschel H, Raspe H. Medikamentöse Osteoporoseprophylaxe und -therapie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis (ORA-Studie) [Prophylaxis and treatment of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis (ORA study)]. *Z Rheumatol*. 2011;70(9):793-802.
- Heberlein I, Demary W, Bloching H, Braun J, Buttgereit F, Dreher R, Kuhn C, Lange U, Zink A, Zeidler H, Häntzschel H, Raspe H. Diagnostik und Behandlung der Osteoporose bei rheumatoider Arthritis vor dem Hintergrund der Leitliniennutzung : Ergebnisse einer Befragung von Patienten, Hausärzten und Rheumatologen (ORA-Studie) [Diagnosis and treatment of osteoporosis and rheumatoid arthritis in accordance with German guidelines : Results of a survey of patients, primary care physicians and rheumatologists.]. *Z Rheumatol*. 2011;70(7):592-601. German.
- Heijstek MW, Ott de Bruin LM, Bijl M, Borrow R, van der Klis F, Koné-Paut I, Fasth A, Minden K, Ravelli A, Abinun M, Pileggi GS, Borte M, Wulffraat NM. EULAR recommendations for vaccination in paediatric patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(10):1704-12.
- Heiland GR, Appel H, Poddubny D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, Sieper J. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2011.
- Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, Kopp I, Neudorf U, Niehues T, Baus H, Becker M, Bertram B, Dannecker G, Deuter C, Foeldvari I, Frosch M, Ganser G, Gaubitz M, Gerdes G, Horneff G, Illhardt A, Mackensen F, Minden K, Pleyer U, Schneider M, Wagner N, Zierhut M. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2011.
- Heine G, Drozdenko G, Lahl A, Unterwalder N, Mei H, Volk HD, Dörner T, Radbruch A, Worm M. Efficient tetanus toxoid immunization on vitamin D supplementation. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(3):329-34.
- Heldmann F, Brandt J, van der Horst-Bruinsma IE, Landewe R, Sieper J, Burmester GR, van den Bosch F, de Vlam K, Geusens P, Gaston H, Schewe S, Appelboom T, Emery P, Dougados M, Leirisalo-Repo M, Breban M, Listing J, Braun J. The European Ankylosing Spondylitis Inliximab Cohort (EASIC): a European multicentre study of long term outcomes in patients with ankylosing spondylitis treated with infliximab. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(4):672-80.
- Henneicke H, Herrmann M, Kalak R, Brennan-Speranza TC, Heinevetter U, Bertollo N, Day RE, Huscher D, Buttgereit F, Dunstan CR, Seibel MJ, Zhou H. Corticosterone selectively targets endo-cortical surfaces by an osteoblast-dependent mechanism. *Bone*. 2011; 49(4):733-742.
- Herz J, Paterka M, Niesner RA, Brandt AU, Siffrin V, Leuenberger T, Birkenstock J, Mossakowski A, Glumm R, Zipp F, Radbruch H. In vivo imaging of lymphocytes in the CNS reveals different behaviour of naïve T cells in health and autoimmunity. *J Neuroinflammation*. 2011;8:131.
- Hillen U, Dickel H, Löffler H, Pfützner W, Mahler V, Becker D, Brasch J, Worm M, Fuchs T, John SM, Geier J. Late reactions to patch test preparations with reduced concentrations of p-phenylenediamine: a multicentre investigation of the German Contact Dermatitis Research Group. *Contact Dermatitis*. 2011;64(4):196-202.
- Hoff P, Gaber I, Schmidt-Bleek K, Sentürk U, Tran CL, Blankenstein K, Lütkecosmann S, Bredahl J, Schüller HJ, Simon P, Wassilew G, Unterhauser F, Burmester GR, Schmidmaier G, Perka C, Duda GN, Buttgereit F. Immunologically restricted patients exhibit a pronounced inflammation and inadequate response to hypoxia in fracture hematomas. *Immunol Res*. 2011; 51(1):116-22.
- Hohenadel M, Beyer K, Hompes S, Worm M. Auslöserprofile anaphylaktischer Reaktionen – Vom niedergelassenen Allergologen bis zum Notfallarzt. *Allergologie* 2011;34(2):60-67.
- Holmer C, Winter H, Kröger M, Nagel A, Jaenicke A, Lauster R, Kraft M, Buhr HJ, Ritz JP. Bipolar radiofrequency-induced thermofusion of intestinal anastomoses-feasibility of a new anastomosis technique in porcine and rat colon. *Langenbecks Arch Surg*. 2011;396(4):529-33.
- Hompes S, Köhli A, Nemat K, Scherer K, Lange L, Rueff F, Rietschel E, Reese T, Szepealusi Z, Schwerk N, Beyer K, Hawranek T, Niggemann B, Worm M. Proving allergens and treatment of anaphylaxis in children and adolescents - data from the anaphylaxis registry of German-speaking countries. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22(6):568-574.
- Honke N, Shaabani N, Cadeddu G, Sorg UR, Zhang DE, Trilling M, Klingel K, Sauter M, Kandolf R, Gailus N, van Rooijen N, Burkart C, Baldus SE, Grudat M, Löhning M, Hengel H, Pfeffer K, Tanaka M, Häussinger D, Reicher M, Lang PA, Lang KS. Enforced viral replication activates adaptive immunity and is essential for the control of a cytopathic virus. *Nat Immunol*. 2011;13(1):51-7

- Hoppe B, Burmester GR, Dörner T. Heparin or aspirin or both in the treatment of recurrent abortions in women with antiphospholipid antibody (syndrome). *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(3):299-304. Review.
- Horneff G, Foeldvari I, Minden K, Moebius D, Hospach T. Report on malignancies in the German juvenile idiopathic arthritis registry. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(1):230-6.
- Huber S, Gagliani N, Esplugues E, O'Connor W Jr, Huber FJ, Chaudhry A, Kamanaka M, Kobayashi Y, Booth CJ, Rudensky AY, Roncarolo MG, Battaglia M, Flavell RA. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3<sup>+</sup> and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity*. 2011;34(4):554-65.
- Hutloff A. T-Zell-Kostimulation : Grundlegende Mechanismen und neue Entwicklungen [T-cell costimulation : Basic mechanisms and new aspects]. *Z Rheumatol*. 2011;70(7):588-91.
- Illei GG, Cervera R, Burt RK, Doria A, Hiepe F, Jayne D, Pavletic S, Martin T, Marmont A, Saccardi R, Voskuyl AE, Farge D. Current state and future directions of autologous hematopoietic stem cell transplantation in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(12):2071-4.
- Jansson AF, Sengler C, Kuemmerle-Deschner J, Gruhn B, Kranz AB, Lehmann H, Kleinert D, Pape L, Girschick HJ, Foeldvari I, Haffner D, Haas JP, Moebius D, Foell D, Peitz J, Grote V. B cell depletion for autoimmune diseases in paediatric patients. *Clin Rheumatol*. 2011;30(1):87-97.
- Kager I, Mousa SA, Sieper J, Stein C, Pipam W, Likar R. Blockade of intra-articular adrenergic receptors increases analgesic demands for pain relief after knee surgery. *Rheumatol Int*. 2011;31(10):1299-1306.
- Kendall GS, Hirstova M, Horn S, Dafou D, Acosta-Saltos A, Almolda B, Zbarsky V, Rumajogee P, Heuer H, Castellano B, Pfeffer K, Nedosaspov SA, Peebles DM, Raivich G. TNF gene cluster deletion abolishes lipopolysaccharide-mediated sensitization of the neonatal brain to hypoxic ischemic insult. *Lab Invest*. 2011;91(3):328-341.
- Köhler A, De Filippo K, Hasenberg M, van den Brandt C, Nye E, Hosking MP, Lane TE, Männ L, Ransohoff RM, Hauser AE, Winter O, Schraven B, Geiger H, Hogg N, Gunzer M. G-CSF mediated thrombopoietin release triggers neutrophil motility and mobilization from bone marrow via induction of Cxcr2 ligands. *Blood*. 2011;117(16):4349-57.
- Kolar P, Gaber T, Perka C, Duda GN, Buttgereit F. Human early fracture hematoma is characterized by inflammation and hypoxia. *Clin Orthop Relat Res*. 2011;469(11):3118-26.
- Kolar P, Hoff H, Maschmeyer P, Burmester GR, Brunner-Weinzierl MC. CTLA-4 (CD152) blockade does not cause a pro-inflammatory cytokine profile in regulatory T cells. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(2):254-260.
- Kruglov AA, Lampropoulou V, Fillatreau S, Nedosaspov SA. Pathogenic and protective functions of TNF in neuroinflammation are defined by its expression in T lymphocytes and myeloid cells. *J Immunol*. 2011;187(11):5660-70.
- Kuchmiy, A.A., Kruglov, A.A., Galimov, A.R., Shebzukhov, Yu.V., Chudakov, D.M., Lukyanov, S.A., Nedosaspov SA. Novel transgenic reporter mouse for studying Tumor Necrosis Factor expression. *Russ. J. Immunol*. 2011, 5(14): 205-214
- Kuna P, Samolinski B, Worm M, Pfaar O, Klimek L; Sustained clinical efficacy of sublingual immunotherapy with a high-dose grass pollen extract. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2011;43(4):117-21.
- Lee H, Zuberbier T, Worm M. Sublinguale Immuntherapie Stand 2011 [Sublingual immunotherapy. Where are we now?]. *Hautarzt*. 2011;62(6):467-74; quiz 475. German.
- Lorenz HM, Schmitt WH, Tesar V, Mueller-Ladner U, Tarner I, Hauser IA, Hiepe F, Alexander T, Woehling H, Nemoto K, Heinzel PA. Treatment of active lupus nephritis with the novel immunosuppressant 15-deoxyspergualin: an open-label dose escalation study. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(2):R36.
- Luther J, Driessler F, Megges M, Hess A, Heribert B, Mandic V, Zaiss MM, Reichardt A, Zech C, Tuckermann JP, Calkhoven CF, Wagner EF, Schett G, David JP. Elevated Fra-1 expression causes severe lipodystrophy. *J Cell Sci*. 2011;124(Pt 9):1465-76.
- Maniati E, Bossard M, Cook N, Candido JB, Emami-Shahri N, Nedosaspov SA, Balkwill FR, Tuveson DA, Hagemann T. Crosstalk between the canonical NF- $\kappa$ B and Notch signaling pathways inhibits Ppary expression and promotes pancreatic cancer progression in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(12):4685-99.
- Matz M, Naik M, Mashreghi MF, Glander P, Neumayer HH, Budde K. Evaluation of the novel protein kinase C inhibitor rostrastaurin as immunosuppressive therapy after renal transplantation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2011;7(1):103-13.
- Mierau R, Moizadeh P, Riemekasten G, Melchers I, Meurer M, Reichenberger F, Buslau M, Worm M, Blank N, Hein R, Muller-Ladner U, Kuhn A, Sunderkotter C, Juche A, Pfeiffer C, Fiehn C, Sticherling M, Lehmann P, Stadler R, Schulze-Lohoff E, Seitz C, Foeldvari I, Krieg T, Genth E, Hunzelmann N. Frequency of disease-associated and other nuclear autoantibodies in patients of the German network for systemic sclerosis: correlation with characteristic clinical features. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(5):R172.
- Mihály J, Gamlieli A, Worm M, Rühl R. Decreased retinoid concentration and retinoid signalling pathways in human atopic dermatitis. *Exp Dermatol*. 2011;20(4):326-30.
- Moran EM, Heydrich R, Ng CT, Saber TP, McCormick J, Sieper J, Appel H, Fearon U, Veale DJ. IL-17A expression is localised to both mononuclear and polymorphonuclear synovial cell infiltrates. *PLoS One*. 2011;6(8):e24048
- Mosca M, Govoni M, Tomietto P, Aringer M, Boumpas D, Cervera R, Conti F, D'Cruz D, Doria A, De La Fuente D, Galeazzi M, Houssiau F, Huizinga TW, Khamashta MA, Ines L, Duarte C, Couto M, Meroni P, Montecucco C, Norkuviene E, Riemekasten G, Rios V, Schneider M, Shoenfeld Y, Steup-Beekman GM, Szymrka-Kaczmarek M, Tani C, Tincani A, Tzioufas AG, Voll R, Benicivelli W, Salaffi F, Bombardieri S. The development of a simple questionnaire to screen patients with SLE for the presence of neuropsychiatric symptoms in routine clinical practice. *Lupus*. 2011;20(5):485-92.
- Muhammad K, Roll P, Seibold T, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, Tony HP. Impact of IL-6 receptor inhibition on human memory B cells *in vivo*: impaired somatic hypermutation in preswitch memory B cells and modulation of mutational targeting in memory B cells. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(8):1507-10.
- Nedjai B, Hitman GA, Church LD, Minden K, Whiteford ML, McKee S, Stjernberg S, Pettersson T, Ranki A, Hawkins PN, Arkwright PD, McDermott MF, Turner MD. Differential cytokine secretion results from p65 and c-Rel NF- $\kappa$ B subunit signaling in peripheral blood mononuclear cells of TNF receptor-associated periodic syndrome patients. *Cell Immunol*. 2011;268(2):55-9.
- Nouailles G, Day TA, Kuhlmann S, Loewe D, Dorhoi A, Gamradt P, Hurwitz R, Jörg S, Pradl L, Hutloff A, Koch M, Kursar M, Kaufmann SH. Impact of inducible costimulatory molecule (ICOS) on T-cell responses and protection against Mycobacterium tuberculosis infection. *Eur J Immunol*. 2011;41(4):981-91.
- O'Connor SJ, Hauser AE, Haberman AM, Kleinstein SH. Activated germinal centre B cells undergo directed migration. *Int J Data Min Bioinform*. 2011;5(3):321-31
- Ode A, Kopf J, Kurtz A, Schmidt-Bleek K, Schrade P, Kolar P, Buttgereit F, Lehmann K, Huttmacher DW, Duda GN, Kasper G. CD73 and CD29 concurrently mediate the mechanically induced decrease of migratory capacity of mesenchymal stromal cells. *Eur Cell Mater*. 2011;22:26-42.
- Pincus T, Bijlsma JW, Braun J, Buttgereit F, Cutolo M. Low-dose glucocorticoids in rheumatic diseases: introduction. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(5 Suppl 68):S2-4.
- Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J. Rates and predictors of radiographic sacroiliitis progression over 2 years in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(8):1369-74.
- Poddubnyy D, Vahldiek J, Spiller I, Buss B, Listing J, Rudwaleit M, Sieper J. Evaluation of 2 Screening Strategies for Early Identification of Patients with Axial Spondyloarthritis in Primary Care. *J Rheumatol*. 2011;38(11):2452-60.
- Poddubnyy DA, Märker-Hermann E, Kaluza-Schilling W, Zeidler H, Braun J, Listing J, Sieper J, Rudwaleit M. Relation of HLA-B\*27, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Promoter Gene Polymorphisms, and T Cell Cytokine Production in Ankylosing Spondylitis -- A Comprehensive Genotype-Phenotype Analysis from an Observational Cohort. *J Rheumatol*. 2011;38(11):2436-41.
- Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, Matucci-Cerinic M, Czirájk L, Lukitsch I, Becker M, Kill A, van Laar JM, Catar R, Luft FC, Burmester GR, Hegner B, Dragun D. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):530-6.
- Röhner E, Seeger JB, Hoff P, Pfützner T, Preininger B, Andreas K, Buttgereit F, Perka C, Matziolis G. Preferred use of polyhexanide in orthopedic surgery. *Orthopedics*. 2011;34(10):e664-8.
- Roll P, Muhammad K, Schumann M, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, Tony HP. In vivo effects of the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab on the B cell compartment. *Arthritis Rheum*. 2011;63(5):1255-64.
- Rudolph M, Hebel K, Miyamura Y, Mavarakis E, Brunner-Weinzierl MC. Blockade of CTLA-4 Decreases the Generation of Multifunctional Memory CD4<sup>+</sup> T Cells *In Vivo*. *J Immunol*. 2011;186(10):5580-9.
- Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y, Van den Bosch F, Olivieri I, Roussou E, Scarpato S, Sørensen IJ, Valle-Oñate R, Weber U, Wei J, Sieper J. The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(1):25-31.



- Scheel T, Gursche A, Zacher J, Häupl T, Berek C. V-region gene analysis of locally defined synovial B and plasma cells reveals selected B cell expansion and accumulation of plasma cell clones in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011; 63(1):63-72.
- Schioppa T, Moore R, Thompson RG, Rosser EC, Kulbe H, Nedospasov S, Mauri C, Coussens LM, Balkwill FR. B regulatory cells and the tumor-promoting actions of TNF- $\alpha$  during squamous carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(26):10662-7.
- Schmidt A., Oberle N, Weiß E, Vobis D, Frischbutter S, Baumgrass R, Falk CS, Haag M, Brügger B, Mayr GW, Lin H, Reichardt P, Gunzer M, Suri-Payer E, Kramer PH. Human regulatory T cells rapidly suppress TCR-induced calcium signals, NF- $\kappa$ B and NF-AT activation in conventional CD4+CD25- T cells. *Sci Signal* 2011; 4(204):ra90.
- Schwarz D, Welter S, George E, Franken P, Lehmann K, Weckwirth W, Dölle S, Worm M. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the allergenic potential of tomato. *Mycorrhiza*. 2011;21(5):341-349.
- Sehoul J, Loddenkemper C, Cornu T, Schwachula T, Hoffmüller U, Grützkau A, Lohneis P, Dickhaus T, Gröne J, Kruschewski M, Mustea A, Turbachova I, Baron U, Olek S. Epigenetic quantification of tumor-infiltrating T-lymphocytes. *Epigenetics*. 2011;6(2):236-246.
- Seror R, Ravaut P, Mariette X, Bootsma H, Theander E, Hansen A, Ramos-Casals M, Dörner T, Bombardieri S, Hachulla E, Brun JG, Kruize AA, Praprotnik S, Tomšić M, Gottenberg JE, Devauchelle V, Devita S, Vollenweider C, Mandl T, Tzioufas A, Carsons S, Saraux A, Sutcliffe N, Vitali C, Bowman SJEULAR Sjogren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI): development of a consensus patient index for primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):968-72.
- Sgouroudis E, Kornete M, Piccirillo CA. L-2 production by dendritic cells promotes Foxp3(+) regulatory T-cell expansion in autoimmune-resistant NOD congenic mice. *Autoimmunity*. 2011;44(5):406-14
- Song IH, Heldmann F, Rudwaleit M, Haibel H, Weiß A, Braun J, Sieper J. Treatment of active ankylosing spondylitis with abatacept: an open-label, 24-week pilot study. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):1108-1110.
- Song IH, Hermann K, Haibel H, Althoff C, Listing J, Burmester G, Krause A, Bohl-Bühler M, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J. Effects of etanercept versus sulfasalazine in early axial spondyloarthritis on active inflammatory lesions as detected by whole-body MRI (ESTHER): a 48-week randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(4):590-6.
- Song IH, Hermann KG, Haibel H, Althoff CE, Poddubnyy D, Listing J, Weiß A, Freundlich B, Rudwaleit M, Sieper J. Relationship between active inflammatory lesions in the spine and sacroiliac joints and new development of chronic lesions on whole-body MRI in early axial spondyloarthritis: results of the ESTHER trial at week 48. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(7):1257-1263.
- Spies CM, Cutolo M, Straub RH, Burmester GR, Buttgereit F. Prednisone chronotherapy. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 Sep-Oct;29(5 Suppl 68):S42-5.
- Steinfelder S, Floess S, Engelbert D, Haeringer B, Baron U, Rivino L, Steckel B, Gruetzkau A, Olek S, Gegina J, Huehn J, Hamann A. Epigenetic modification of the human CCR6 gene is associated with stable CCR6 expression in T cells. *Blood*. 2011; 117(10):2839-2846.
- Stoehr AD, Schoen CT, Mertes MM, Eiglmeier S, Holeccka V, Lorenz AK, Schommartz T, Schoen AL, Hess C, Winkler A, Wardemann H, Ehlers M. TLR9 in Peritoneal B-1b Cells Is Essential for Production of Protective Self-Reactive IgM To Control Th17 Cells and Severe Autoimmunity. *J Immunol*. 2011;187(6):2953-65.
- Strand V, Smolen JS, van Vollenhoven RF, Mease P, Burmester GR, Hiepe E, Khanna D, Nikač E, Coteur G, Schiff M. Certolizumab pegol plus methotrexate provides broad relief from the burden of rheumatoid arthritis: analysis of patient-reported outcomes from the RAPID 2 trial. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):996-1002.
- Strangfeld A, Eveslage M, Schneider M, Bergerhausen HJ, Klopsch T, Zink A, Listing J. Treatment benefit or survival of the fittest: what drives the time-dependent decrease in serious infection rates under TNF inhibition and what does this imply for the individual patient? *Ann Rheum Dis*. 2011 ; 70(11):1914-20.
- Strangfeld A, Hyrich K, Askling J, Arkema E, Davies R, Listing J, Neovius M, Simard J, Symmons D, Watson K, Zink A. Detection and evaluation of a drug safety signal concerning pancreatic cancer: lessons from a joint approach of three European biologics registers. *Rheumatology (Oxford)*. 2011; 50(1):146-51.
- Straub RH, Buttgereit F, Cutolo M. Alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in systemic immune diseases - a role for misguided energy regulation. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 Sep-Oct;29(5 Suppl 68):S23-31
- Strehl C, Gaber T, Löwenberg M, Hommes DW, Verhaar AP, Schellmann S, Hahne M, Fangradt M, Waggegg M, Hoff P, Scheffold A, Spies CM, Burmester GR, Buttgereit F. Origin and functional activity of the membrane-bound glucocorticoid receptor. *Arthritis Rheum*. 2011;63(12):3779-88
- Strehl C, Spies CM, Buttgereit F. Pharmacodynamics of glucocorticoids. *Clin Exp Rheumatol*. 2011 ;29(5 Suppl 68):S13-8
- Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, Mehta M, Hoffmann JE, Frisch JT, Schell H, Lienau J, Serra A, Radbruch A, Duda GN. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *J Bone Miner Res*. 2011 ;26(1):113-24.
- Tony HP, Burmester G, Schulze-Koops H, Grunke M, Henes J, Kötter I, Haas J, Unger L, Lovric S, Haubitz M, Fischer-Betz R, Chehab G, Rubbert-Roth A, Specker C, Weinerth J, Holle J, Müller-Ladner U, König R, Fiehn C, Burgwinkel P, Budde K, Sörensen H, Meurer M, Aringer M, Kieseier B, Erfurt-Berge C, Sticherling M, Veelken R, Ziemann U, Strutz F, von Wussow P, Meier FM, Hunzelmann N, Schmidt E, Bergner R, Schwarting A, Eming R, Hertl M, Stadler R, Schwarz-Eywill M, Wassenberg S, Fleck M, Metzler K, Zettl U, Westphal J, Heitmann S, Herzog AL, Wiendl H, Jakob W, Schmidt E, Freivogel K, Dörner T; Safety and clinical outcomes of rituximab therapy in patients with different autoimmune diseases: experience from a national registry (GRAID). *Arthritis Res Ther*. 2011;13(3):R75.
- Tumanov AV, Koroleva EP, Guo X, Wang Y, Kruglov A, Nedospasov S, Fu YX. Lymphotoxin Controls the IL-22 Protection Pathway in Gut Innate Lymphoid Cells during Mucosal Pathogen Challenge. *Cell Host Microbe*. 2011;10(1):44-53.
- van der Heijde D, Sieper J, Maksymowych WP, Dougados M, Burgos-Vargas R, Landewé R, Rudwaleit M, Braun J2010 Update of the international ASAS recommendations for the use of anti-TNF agents in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):905-8.
- van Dijken TD, Vastert S, Jloni VM, Pontikaki I, Linne-mann K, Girschick H, Armbrust W, Minden K, Prince FH, Kokke FT, Nieuwenhuis EE, Horneff G, Wulffraat NM. Development of inflammatory bowel disease in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol*. 2011 ;38(7):1441-6.
- Vastesaeer N, van der Heijde D, Inman RD, Wang Y, Deodhar A, Hsu B, Rahman MU, Dijkmans B, Geusens P, Vander Cruyssen B, Collantes E, Sieper J, Braun J. Predicting the outcome of ankylosing spondylitis therapy. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(6):973-81.
- Weise C, Heunemann C, Loddenkemper C, Herz U, van Tol EA, Worm M. Dietary docosahexaenoic acid in combination with arachidonic acid ameliorates allergen-induced dermatitis in mice. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011; 22(5):497-504.
- Weise C, Hilt K, Milovanovic M, Ernst D, Rühl R, Worm M. Inhibition of IgE production by docosahexaenoic acid is mediated by direct interference with STAT6 and NF- $\kappa$ B pathway in human B cells. *J Nutr Biochem*. 2011 ;22(3):269-75.
- Weise C, Zhu Y, Ernst D, Kühl AA, Worm M. Oral administration of *Escherichia coli* Nissle 1917 prevents allergen-induced dermatitis in mice. *Exp Dermatol*. 2011 ;20(10):805-9.
- Wenzel K, Rajakumar A, Haase H, Geusens N, Hubner N, Schulz H, Brewer J, Roberts L, Hubel CA, Herse F, Hering L, Qadri F, Lindschau C, Wallukat G, Pijnenborg R, Heidecke H, Riemekasten G, Luft FC, Muller DN, Lamarca B, Dechend R. Angiotensin II type 1 receptor antibodies and increased angiotensin II sensitivity in pregnant rats. *Hypertension*. 2011;58(1):77-84.
- Widenmeyer M, Shebzukhov Y, Haen SP, Schmidt D, Clasen S, Boss A, Kuprash DV, Nedospasov SA, Stenzl A, Aebert H, Wernet D, Stevanovič S, Pereira PL, Rammensee HG, Gouttefangeas C. Analysis of tumor antigen-specific T cells and antibodies in cancer patients treated with radiofrequency ablation. *Int J Cancer*. 2011;128(11):2653-62.
- Winter S, Rehm A, Wichner K, Scheel T, Batra A, Siegmund B, Berek C, Lipp M, Höpken UE. Manifestation of Spontaneous and Early Autoimmune Gastritis in CCR7-Deficient Mice. *Am J Pathol*. 2011;179(2):754-65.
- Worm M, Kostev K, Hompes S, Zuberbier T. Versorgungsprofil von Patienten mit schweren allergischen Reaktionen. *Allergologie*. 2011; 34(6):285-293
- Worm M, Lee HH, Kleine-Tebbe J, Hafner RP, Laidler P, Healey D, Buhot C, Verhoef A, Maillère B, Kay AB, Larché M. Development and preliminary clinical evaluation of a peptide immunotherapy vaccine for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):89-97, 97.e1-14.
- Worm M, Reese I, Schäfer C, Niggemann B, Raithele M, Werfel T; Diagnose von Nahrungsmittelallergien: Streitfall IgG [IgG food allergies - a subject of controversy]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2011;136(28-29):1494-5; author reply 1495-6, 1496.
- Worm M, Scherer K, Köhli-Wiesner A, Ruëff F, Mahler V, Lange L, Treudler R, Rietschel E, Szepefalusi Z, Lang R, Rabe U, Reese N, Schwerk N, Beyer K, Hompes S. Nahrungsmittelanaphylaxie und Kofaktoren – Daten aus dem Anaphylaxie-Register. *Allergologie*. 2011; 34(7):329–337
- Zehner M, Doria A, Lan J, Aroca G, Jayne D, Boletis I, Hiepe E, Prestele H, Bernhardt P, Amoura Z. Efficacy and safety of enteric-coated mycophenolate sodium in combination with two glucocorticoid regimens for the treatment of active lupus nephritis. *Lupus*. 2011;20(14):1484-93.



## Übersichtsartikel

Aringer M, Hiepe F. Systemischer Lupus erythematosus [Systemic lupus erythematosus]. *Z Rheumatol*. 2011;70(4):313-23. Review. German.

Bousquet J, Anto J, Auffray C, Akdis M, Cambon-Thomsen A, Keil T, Haahtela T, Lambrecht BN, Postma DS, Sunyer J, Valenta R, Akdis CA, Annesi-Maesano I, Arno A, Bachert C, Ballester F, Basagana X, Baumgartner U, Bindsløv-Jensen C, Brunekreef B, Carlsen KH, Chatzi L, Cramer R, Eveno E, Forastiere F, Garcia-Aymerich J, Guerra S, Hammad H, Heinrich J, Hirsch D, Jacquemin B, Kauffmann F, Kerkhof M, Kogevinas M, Koppelman GH, Kowalski ML, Lau S, Lodrup-Carlson KC, Lopez-Botet M, Lotvall J, Lupinek C, Maier D, Makela MJ, Martinez FD, Mestres J, Momas I, Nawijn MC, Neubauer A, Oddie S, Palkonen S, Pin I, Pison C, Rancé F, Reitamo S, Rial-Sebbag E, Salapatas M, Sioux V, Smagge D, Torrent M, Toskala E, van Cauwenberge P, van Oosterhout AJ, Varraso R, von Hertzen L, Wickman M, Wijmenga C, Worm M, Wright J, Zuberbier T. MeDALL (Mechanisms of the Development of ALLergy): an integrated approach from phenotypes to systems medicine. *Allergy*. 2011; 66 : 596-604

Buttgereit F, Burmester GR, Straub RH, Seibel MJ, Zhou H. Exogenous and endogenous glucocorticoids in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2011;63(1):1-9. Review.

Chang HD, Kamradt T. Darmflora als Regulator des Immunsystems [Intestinal microbiota as regulator of the immune system]. *Z Rheumatol*. 2011;70(9):790-2. German. Review

Chang HD, Radbruch A. Targeting pathogenic T helper cell memory. *Ann Rheum Dis*. 2011;70 Suppl 1:i85-7. Review.

Chang HD, Kamradt T, Schulze-Koops H. Th1-, Th17- und Th1+17-Zellen [Th1, Th17 and Th1+17 cells]. *Z Rheumatol*. 2011;70(10):862-5. German.

Chu VT, Beller A, Nguyen T, Steinhauser G, Berek C. The long-term survival of plasma cells. *Scand J Immunol*. 2011; 73(6):508-11.

Dörner T, Giesecke C, Lipsky PE. Mechanisms of B cell autoimmunity in SLE. *Arthritis Res Ther*. 2011 ;13(5):243.

Emery P, Dörner T. Optimising treatment in rheumatoid arthritis: a review of potential biological markers of response. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(12):2063-70. Review.

Fillatreau S. Novel regulatory functions for Toll-like-receptor-activated B cells during intracellular bacterial infection. *Immunol Rev*. 2011;240(1):52-71.

Heijstek MW, Ott de Bruin LM, Borrow R, van der Klis F, Koné-Paut I, Fasth A, Minden K, Ravelli A, Abinun M, Pileggi G, Borte M, Bijl M, Wulfraat NM. Vaccination in paediatric patients with auto-immune rheumatic diseases: a systemic literature review for the European League against Rheumatism evidence-based recommendations. *Autoimmun Rev*. 2011;11(2):112-22.

Hiepe F, Dörner T, Hauser AE, Hover BF, Mei H, Radbruch A. Long-lived autoreactive plasma cells drive persistent autoimmune inflammation. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(3):170-178.

Hompes S, Worm M. Besonderheiten bei der Betreuung von Patienten mit Nahrungsmittel-Anaphylaxie. *Allergologie*. 2011; 34(3):123-129. Review.

Horneff G, Foeldvari I, Minden K, Ganser G, Haas J-P, Hospach A. Zehn Jahre Erfahrung im deutschen JIA-Etanercept-Register - Lehren aus wechselnden Pati-

entenpopulationen. [10 years experience in the German JIA Etanercept Registry - lessons from changing patient populations.]. *Arthritis + Rheuma* 2011; 31(5):334-42. Review

Huscher D, Sengler C, Thiele K, Bischoff S, Pfäfflin A, Gromnica-Ihle E. Geschlechtsspezifische Aspekte der Rheumatoiden Arthritis. [Gender-Specific Characteristics of Rheumatoid Arthritis]. *Akt Rheumatol* 2011; 36(6):352-60. Review

Kiltz U, Sieper J, Braun J. Entwicklung von Morbidität und Mortalität bei Spondyloarthritis [Development of morbidity and mortality in patients with spondyloarthritis]. *Z Rheumatol*. 2011;70(6):473-9.

Klein-Weigel P, Opitz C, Riemekasten G. Systemic sclerosis - A systematic overview. *Vasa*. 2011;40(1):6-19.

Kowal-Bielecka O, Avouac J, Pittrow D, Huscher D, Behrens F, Denton CP, Foeldvari I, Humbert M, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Rubin LJ, Seibold JR, Strand V, Furst DE, Distler O. Analysis of the validation status of Quality of Life and Functional Disability Measures in Pulmonary Arterial Hypertension related to systemic sclerosis: results of a systematic literature Analysis by the Expert Panel on Outcomes Measures in Pulmonary Arterial Hypertension related to systemic sclerosis (EPOSS). *J Rheumatol*. 2011 ;38(11):2419-27.

Niesner RA, Hauser AE. Recent advances in dynamic intravital multi-photon microscopy. *Cytometry A*. 2011; 70(10):789-98.

Niewerth M, Minden K. Transition - Der schwierige Weg des Übergangs von der pädiatrischen in die internistische Rheumatologie. *Arthritis + Rheuma* 2011; 31(4):265-9. Review

Opitz C, Klein-Weigel PF, Riemekasten G. Systemic sclerosis - A systematic overview. *Vasa*. 2011;40(1):20-30.

Riemekasten G. Geschlechtsspezifische Aspekte bei der systemischen Sklerose [Gender-Specific Aspects in Systemic Sclerosis] *Akt Rheumatol*. 2011; 36(6):366-371. Review

Schwender-Groen L, Worm M, Klinger R. Vergleichende psychologische Aspekte von Juckreiz und Schmerz [Comparative psychological aspects of itching and pain]. *Schmerz*. 2011;25(2):207-18; quiz 219-20. Review. German

Shebzukhov YV, Kuprash DV. Transcriptional regulation of TNF/LT locus in immune cells. *Mol. Biol*. 2011;45(1):47-57. Review. Original Russian Text published in *Molekulyarnaya Biologiya*, 2011, Vol. 45, No. 1, pp. 56-67.

Sieper J. Spondyloarthropathies in 2010: new insights into therapy-TNF blockade and beyond. *Nat Rev Rheumatol*. 2011 ;7(2):78-80. Review.

Spies CM, Strehl C, van der Goes MC, Bijlsma JW, Buttgereit F. Glucocorticoids. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2011 ;25(6):891-900.

Voss H, Elsner P, Fartasch M, Köllner A, Richter G, Rother A, Schindera I, Schwanz HJ, Skudlik C, Stary A, Wehrmann W, Worm M, John SM. 10 years quality assurance of the dermatologist's procedure. ABD review board part II: 2003-2009. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2011 Jan;9(1):42-6.

Wittmann J, Jäck HM, Mashreghi MF. MicroRNAs in B- und T-Zellen als Regulatoren der Entzündung [MicroRNAs in B-cells and T-cells as regulators of inflammation]. *Z Rheumatol*. 2011;70(6):507-10. German.

Worm M, Heine G, Radbruch A. Immunmodulation durch Vitamin D. *Allergologie*. 2011; 34(11):538-542. Review.

## Bücher und Buchkapitel

Berek C. Pathogenese: Prinzipien entzündlicher rheumatischer Erkrankungen. In: Krenn V, Rütter W. (Eds.): *Pathologie des Bewegungsapparates*. Berlin: De Gruyter 2011. S. 15-24. ISBN: 978-3-11-022189-8

Garcia I, Olleros ML, Quesniaux VF, Jacobs M, Allie N, Nedospasov SA, Szymkowski DE, Ryffel B. Roles of Soluble and Membrane TNF and Related Ligands in Mycobacterial Infections: Effects of Selective and Non-selective TNF Inhibitors During Infection. *Adv Exp Med Biol*. 2011;691:187-201.

Huber S, Esplugues E, Flavell RA. TGF-beta and TH17 cells. In: Jiang S. (Ed.): *TH17 cells in health and disease*. New York, NY: Springer, 2011. S. 41-45. ISBN 978-1-441-99371-7 (Eelctr.); 978-1-4419-9370-0 (Print)

Kruglov AA, Tumanov AV, Grivennikov SI, Shebzukhov YV, Kuchmiy AA, Efimov GA, Drutskaya MS, Scheller J, Kuprash DV, Nedospasov SA. Modalities of Experimental TNF Blockade In Vivo: Mouse Models. *Adv Exp Med Biol*. 2011;691:421-31.

Niesner R, Siffrin V, Zipp F. Two photon imaging of immune cells in neural tissue. In: Helmchen F et al (Eds.): *Imaging in Neuroscience*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2011. S. 981-988. ISBN: 978-0879699383

## Weitere Publikationen

Aletaha D, Dörner T. Considering comorbidity in managing rheumatic diseases: going where trials cannot go. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(3):116. Editorial

Bossini-Castillo L, Broen JC, Simeon CP, Beretta L, Vonk MC, Ortego-Centeno N, Espinosa G, Carreira P, Camps MT, Navarrete N, González-Escribano MF, Vicente-Rabanedo E, Rodríguez L, Tolosa C, Román-Ivorra JA, Gómez-Gracia I, García-Hernández FJ, Castellví I, Gallego M, Fernández-Nebro A, García-Portales R, Egurube MV, Fonollosa V, de la Peña PG, Pros A, González-Gay MA, Hesselstrand R, Riemekasten G, Witte T, Coenen MJ, Koeleman BP, Houssiau F, Smith V, de Keyser F, Westhovens R, De Langhe E, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Chee MM, Madhok R, Shiels P, Fonseca C, Denton C, Claes K, Padykov L, Nordin A, Palm O, Lie BA, Airó P, Scorza R, van Laar JM, Hunzelmann N, Kreuter A, Herrick A, Worthington J, Radstake TR, Martín J, Rueda B. A replication study confirms the association of TNFSF4 (OX40L) polymorphisms with systemic sclerosis in a large European cohort. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(4):638-41.

Bousquet PJ, Calderón MA, Demoly P, Larenas D, Passalacqua G, Bachert C, Brozek J, Canonica GW, Casale T, Fonseca J, Dahl R, Durham SR, Merk H, Worm M, Wahn U, Zuberbier T, Schünemann HJ, Bousquet J. The Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) Statement applied to allergen-specific immunotherapy with inhalant allergens: a Global Allergy and Asthma European Network (GA2)LEN article. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 ;127(1):49-56, 56.e1-11.

Braun J, van den Berg R, Baraliakos X, Boehm H, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Dagfinrud H, Dijkmans B, Dougados M, Emery P, Geher P, Hammoudeh M, Inman RD, Jongkees M, Khan MA, Kiltz U, Kvien T, Leirisalo-Repo M, Maksymowych WP, Olivieri I, Pavelka K, Sieper J, Stanislawski-Biernat E, Wendling D, Ozgocmen S, van Droogen C, van Royen B, van der Heijde D. 2010 update of the ASAS/EULAR re-

commendations for the management of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(6):896-904

**Buttgereit F.** Do the treatment with glucocorticoids and/or the disease itself drive the impairment in glucose metabolism in patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2011 ;70(11):1881-3. Editorial

Carmona FD, Simeon CP, Beretta L, Carreira P, Vonk MC, Ríos-Fernández R, Espinosa G, Navarrete N, Vicente-Rabaneda E, Rodríguez-Rodríguez L, Tolosa C, García-Hernández FJ, Castellví I, Egurbide MV, Fonollosa V, González-Gay MA, Rodríguez-Carballeira M, Díaz-González F, Sáez-Comet L, Hesselstrand R, **Riemekasten G**, Witte T, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Madhok R, Shiels P, Fonseca C, Denton C, Nordin A, Palm Ø, Hoffmann-Vold AM, Airó P, Scorza R, Lunardi C, van Laar JM, Hunzelmann N, Kreuter A, Herrick A, Worthington J, Koeleman BP, Radstake TR, Martín J. Association of a non-synonymous functional variant of the ITGAM gene with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(11):2050

**Dörner T.** Challenges in understanding Sjögren's syndrome--improved insights into the pathogenesis generate hope for innovative therapies? *Arthritis Res Ther.* 2011;13(4):123. Editorial

**Dörner T**, Burmester GR. (R)evolution of clinical therapeutics and strategies. *Curr Opin Rheumatol.* 2011;23(3):265. Editorial comment

Dougados M, Simon P, Braun J, Burgos-Vargas R, Maksymowych WP, **Sieper J**, van der Heijde D. ASAS recommendations for collecting, analysing and reporting NSAID intake in clinical trials/epidemiological studies in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(2):249-51.

Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, Aletaha D, Allaart CF, Bathon J, Bombardieri S, Brooks P, Brown A, Matucci-Cerinic M, Choi H, Combe B, de Wit M, Dougados M, Emery P, Furst D, Gomez-Reino J, Hawker G, Keystone E, Khanna D, Kirwan J, Kvien TK, Landewé R, **Listing J**, Michaud K, Martin-Mola E, Montie P, Pincus T, Richards P, Siegel JN, Simon LS, Sokka T, Strand V, Tugwell P, Tyndall A, van der Heijde D, Verstappen S, White B, Wolfe F, **Zink A**, Boers M. American College of Rheumatology/ European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(3):404-13.

Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, Aletaha D, Allaart CF, Bathon J, Bombardieri S, Brooks P, Brown A, Matucci-Cerinic M, Choi H, Combe B, de Wit M, Dougados M, Emery P, Furst D, Gomez-Reino J, Hawker G, Keystone E, Khanna D, Kirwan J, Kvien TK, Landewé R, **Listing J**, Michaud K, Martin-Mola E, Montie P, Pincus T, Richards P, Siegel JN, Simon LS, Sokka T, Strand V, Tugwell P, Tyndall A, van der Heijde D, Verstappen S, White B, Wolfe F, **Zink A**, Boers M. American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Arthritis Rheum.* 2011;63(3):573-86

**Heine G**, Sims GP, **Worm M**, Lipsky PE, **Radbruch A**. Isolation of human B cell populations. *Curr Protoc Immunol.* 2011;Chapter 7:Unit7.5.

**Hiepe F**, **Hoyer B**, Alexander T, Taddeo A, Voll R, **Radbruch A**. Therapeutic inhibition of proteasomes in systemic lupus erythematosus. *J Transl Med.* 2011; 9 (Suppl. 2):19.

Huppertz HI, Föll D, Girschick H, **Minden K**, Horneff G. Progress in pediatric rheumatology: apprehend the opportunities of the future without forgetting the lessons from the past. *Rheumatol Int.* 2011;31(10):1259-62. Editorial.

Kamradt T, **Chang HD**. Diversity and flexibility of Th17 effector functions. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(2):106. Editorial.

**Minden K**, Heiligenhaus A. Therapie mit Biologika bei juveniler idiopathischer Arthritis und Uveitis. [Biologic drug treatment of juvenile idiopathic arthritis and its consequences on the disease course.]. *Z prakt Augenheilkd* 2011; 32:398-400.

**Minden K**, Heiligenhaus A. Uveitis bei juveniler idiopathischer Arthritis. Therapie mit Biologika sowie deren Einfluss auf den Krankheitsverlauf. *Der Augenspiegel* 2011; 57(10):34-5.

Muul LM, Heine G, Silvin C, James SP, Candotti F, **Radbruch A**, **Worm M**. Measurement of proliferative responses of cultured lymphocytes. *Curr Protoc Immunol.* 2011 ;chapter 7:Unit7.10.

Reinhold-Keller E, **Zink A**. Morbidität und Mortalität bei entzündlich-rheumatischen Krankheiten: Wie haben sie sich verändert? [Moridity and mortality in systemic rheumatoid diseases: how did they change?]. *Z Rheumatol.* 2011;70(6):462-3. German.

**Riemekasten G** Systemisklerose, Sjögren-Syndrom, Myositiden. *MedReport.* 2011; 20:10

**Sieper J**. Editorial comment: Spondyloarthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2011;23(4):325-6. Editorial

Smith PJ, **Radbruch A**. Cyto 2011-Overview of the XXVI ISAC Congress Proceedings Issue of Cytometry. *Cytometry A.* 2011 ;79(5):325-7.

**Westhoff G**, Edelmann E. Erste Ergebnisse aus CA-PEA. *Rheuma Management* 2011; 2:12-3.

**Westhoff G**. Fatigue: unterbewertete Manifestation rheumatischer Krankheiten. *MedReport* 2011; 20:6.

**Worm M**. Q&A: Food additive intolerance. *BMC Med.* 2011 ;9:115

Zink A. Rheuma. Fakten und Versorgungslage. *Frankfurter Allgemeine Zeitung* 2011;(198):B1.

## Publikationen 2012

(Stand:21.3.2012)

### Originalpublikationen

Aringer M, Burkhardt H, Burmester GR, Fischer-Betz R, Fleck M, Graninger W, **Hiepe F**, Jacobi AM, Kötter I, Lakomek HJ, Lorenz HM, Manger B, Schett G, Schmidt RE, Schneider M, Schulze-Koops H, Smolen JS, Specker C, Stoll T, **Strangfeld A**, Tony HP, Villiger PM, Voll R, Witte T, **Dörner T**. Current state of evidence on off label therapeutic options for systemic lupus erythematosus, including biological immunosuppressive agents, in Germany, Austria, and Switzerland - a consensus report. *Lupus.* 2012;21(4):386-401.

Baraliakos X, **Listing J**, Buschmann J, von der Recke A, Braun J. A comparison of new bone formation in patients with ankylosing spondylitis and patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis: a retrospective cohort study over six years. *Arthritis Rheum* 2012; 64(4):1127-33.

Bossini-Castillo L, Martín JE, Broen J, Gorlova O, Simeón CP, Beretta L, Vonk MC, Luis Callejas J, Castellví I, Carreira P, José García-Hernández F, Fernández Castro M, the Spanish Scleroderma Group, Coenen MJ, **Riemekasten G**, Witte T, Hunzelmann N, Kreuter

A, Distler JH, Koeleman BP, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Palm O, Hesselstrand R, Nordin A, Airó P, Lunardi C, Scorza R, Shiels P, van Laar JM, Herrick A, Worthington J, Denton C, Tan FK, Arnett FC, Agarwal SK, Assassi S, Fonseca C, Mayes MD, Radstake TR, Martín J. A GWAS follow-up study reveals the association of the IL12RB2 gene with systemic sclerosis in Caucasian populations. *Hum Mol Genet.* 2012;21(4):926-933.

Broen JC, Dieude P, Vonk MC, Beretta L, Carmona FD, Herrick A, Worthington J, Hunzelmann N, **Riemekasten G**, Kiener H, Scorza R, Simeon CP, Fonollosa V, Carreira P, Ortego-Centeno N, Gonzalez-Gay MA, Airo P, Coenen MJ, Tsang K, Aliprantis AO, Martin J, Allanore Y, Radstake TR. Polymorphisms in the Interleukin 4, Interleukin 13, and Corresponding Receptor Genes Are Not Associated with Systemic Sclerosis and Do Not Influence Gene Expression. *J Rheumatol.* 2012; 39(1):112-118

Broen J, Bossini-Castillo L, Van Bon L, Vonk M, Knaapen H, Beretta L, Rueda B, Hesselstrand R, Herrick A, Worthington J, Hunzelmann N, Denton C, Fonseca C, **Riemekasten G**, Kiener H, Scorza P, Simeon C, Ortego-Centeno N; (for the Spanish Systemic Sclerosis group), Gonzalez-Gay M, Airo' P, Coenen M, Martin J, Radstake T. A rare polymorphism in Toll Like Receptor 2 is associated with systemic sclerosis phenotype and increases production of inflammatory mediators. *Arthritis Rheum.* 2012;64(1):264-71

Cappelli S, Bellando Randone S, Martinović D, Tamas MM, Pasalić K, Allanore Y, Mosca M, Talarico R, Opris D, Kiss CG, Tausche AK, Cardarelli S, Riccieri V, Koneva O, Cuomo G, Becker MO, Sulli A, Guiducci S, Radić M, Bombardieri S, Aringer M, Cozzi F, Valesini G, Ananyeva L, Valentini G, **Riemekasten G**, Cutolo M, Ionescu R, Czirják L, Damjanov N, Rednic S, Mautucci Cerinic M. To Be or Not To Be, Ten Years After: Evidence for Mixed Connective Tissue Disease as a Distinct Entity. *Semin Arthritis Rheum.* 2012;41(4):589-98.

Chu VT, **Berek C**. Immunization induces activation of bone marrow eosinophils required for plasma cell survival. *Eur J Immunol.* 2012; 42(1)130-7.

Fransen J, Johnson SR, van den Hoogen F, Baron M, Allanore Y, Carreira PE, Czirják L, Denton CP, Distler O, Furst DE, Gabrielli A, Herrick A, Inanc M, Kahaleh B, Kowal-Bielecka O, Medsger TA Jr, Mueller-Ladner U, **Riemekasten G**, Sierakowski S, Valentini G, Veale D, Vonk MC, Walker U, Chung L, Clements PJ, Collier DH, Csuka ME, Jimenez S, Merkel PA, Seibold JR, Silver R, Steen V, Tyndall A, Matucci-Cerinic M, Pope JE, Khanna D. Items for developing revised classification criteria in systemic sclerosis: Results of a consensus exercise with the ACR/EULAR working committee for classification criteria in systemic sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012;64(3):351-7.

Gerhold K, Avagyan A, Reichert E, Seib C, Van DV, **Luger EO**, **Hutloff A**, Hamelmann E. Prenatal allergen exposures prevent allergen-induced sensitization and airway inflammation in young mice. *Allergy.* 2012 ; 67(3):353-61.

Gossec L, Smolen JS, Gaujoux-Viala C, Ash Z, Marzo-Ortega H, van der Heijde D, Fitzgerald O, Aletaha D, Balint P, Boumpas D, Braun J, Breedveld FC, Burmester G, Cañete JD, de Wit M, Dagfinrud H, de Vlam K, Dougados M, Helliwell P, Kavanaugh A, Kvien TK, Landewé R, Luger T, Maccarone M, McGonagle D, McHugh N, McInnes IB, Ritchlin C, **Sieper J**, Tak PP, Valesini G, Vencovsky J, Winthrop KL, **Zink A**, Emery P. European League Against Rheumatism recommendations for the management of psoriatic arthritis with pharmacological therapies. *Ann Rheum Dis.* 2012; 71(1):4-12.



Grazio S, Kusić Z, Cvijetić S, Grubišić F, Balenović A, Nemčić T, Matijević-Mikelić V, Punda M, Sieper J. Relationship of bone mineral density with disease activity and functional ability in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional study. *Rheumatol Int*. 2011 Aug 20. [Epub ahead of print]

Hahne M, Gaber T, Buttgereit F. Hypoxie als ein Schlüsselfaktor im Entzündungsgebiet bei rheumatischen Erkrankungen [Hypoxia is a key factor in the inflammatory milieu of rheumatic diseases.] *Z Rheumatol*. 2012; 71(1):64-67.

Hartmann B, Riedel R, Jörß K, Loddenkemper C, Steinmeyer A, Zügel U, Babina M, Radbruch A, Worm M. Vitamin D Receptor Activation Improves Allergen-Triggered Eczema in Mice. *J Invest Dermatol*. 2012;132(2):330-336.

Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, Sieper J. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(4):572-4.

Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, Kopp I, Neudorf U, Niehues T, Baus H, Becker M, Bertram B, Dannecker Gter C, Foeldvari I, Frosch M, Ganser G, Gaubitz Mdes G, Horneff G, Illhardt A, Mackensen F, Minden K, Pleyer U, Schneider M, Wagner N, Zierhut M. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(5):1121-33.

Henes JC, Schmalzing M, Vogel W, Riemekasten G, Fend F, Kanz L, Koetter I. Optimization of Autologous Stem Cell Transplantation for Systemic Sclerosis – A Single-center Longterm Experience in 26 Patients with Severe Organ Manifestations. *J Rheumatol*. 2012; 39(2):269-75.

Hoehlig, K., Shen P, Lampropoulou V, Roch T, Malissen B, O'Connor R, Ries S, Hilgenberg E, Anderton SM, Fillatreau S. Activation of CD4+Foxp3+ regulatory T cells occurs normally in absence of B cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. In press

Hoppe B, Häupl T, Skapenko A, Ziemer S, Tauber R, Salama A, Schulze-Koops H, Burmester GR, Dörner T. Fibrinogen and factor XIII A-subunit genotypes interactively influence C-reactive protein levels during inflammation. *Ann Rheum Dis*. 2012 Jan 20. [Epub ahead of print]

Hover BF, Mumtaz IM, Loddenkemper K, Bruns A, Sengler C, Hermann KG, Maza S, Keitzer R, Burmester GR, Buttgereit F, Radbruch A, Hiepe F. Takayasu arteritis is characterised by disturbances of B cell homeostasis and responds to B cell depletion therapy with rituximab. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(1):75-9.

Johnson SR, Fransen J, Khanna D, Baron M, van den Hoogen F, Medsger TA Jr, Peschken CA, Carreira PE, Riemekasten G, Tyndall A, Matucci-Cerinic M, Pope

JE. Validation of potential classification criteria for systemic sclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012; 64(3):358-67.

Klein M, Vaeth M, Scheel T, Grabbe S, Baumgrass R, Berberich-Siebelt F, Bopp T, Schmitt E, Becker C. Repression of cyclic adenosine monophosphate upregulation disarms and expands human regulatory T cells. *J Immunol*. 2012 ;188(3):1091-7.

Kondakova AN, Novototskaya-Vlasova KA, Drutskaya MS, Senchenkova SN, Shcherbakova VA, Shashkov AS, Gilichinsky DA, Nedospasov SA, Knirel YA. Structure of the O-polysaccharide chain of the lipopolysaccharide of *Psychrobacter muricollis* 2pS(T) isolated from overcooled water brines within permafrost. *Carbohydr Res*. 2012;349:78-81.

Kornete M, Sgouroudis E, Piccirillo CA. ICOS-Dependent Homeostasis and Function of Foxp3+ Regulatory T Cells in Islets of Nonobese Diabetic Mice. *J Immunol*. 2012;188(3):1064-74

Kulikov AV, Shilov ES, Mufazalov IA, Gogvadze V, Nedospasov SA, Zhivotovsky B. Cytochrome c: the Achilles' heel in apoptosis. *Cell Mol Life Sci*. 2011 Dec 17. [Epub ahead of print]

Lampropoulou V, Shen P, Hilgenberg E, Ries S, Opitz C, Fillatreau S. Functional interactions between B lymphocytes and the innate immune system. *Infectious Disorders – Drug Targets*. In press.

Lill CM, Schjeide BM, Akkad DA, Blaschke P, Winkelmann Ades LA, Hoffman S, Luessi F, Dörner T, Li SC, Steinhagen-Thiessen E, Lindenberger U, Chan A, Hartung HP, Aktas O, Lohse P, Kümpfel T, Kubisch C, Epplen JT, Zettl UK, Bertram L, Zipp F. Independent replication of STAT3 association with multiple sclerosis risk in a large German case-control sample. *Neurogenetics*. 2012;13(1):83-6.

Lowin T, Weidler C, Jenei-Lanzl Z, Capellino S, Baerwald CG, Buttgereit F, Straub RH. Relation between placental growth factor-1 (PlGF-1) and vascularization, DHEAS to DHEA conversion, or aromatase expression in patients with arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011 Dec 14. doi: 10.1002/art.34338.

Märker-Hermann E, Sieper J. Frühdiagnostik und frühe Therapie der Spondyloarthritis einschließlich der Psoriasisarthritis [Early diagnostics and therapy of spondyloarthritis including psoriatic arthropathy]. *Z Rheumatol*. 2012;71(1):17-8. German.

Martin JE, Carmona FD, Broen JC, Simeón CP, Vonk MC, Carreira P, Ríos-Fernández R, Espinosa G, Vicente-Rabareda E, Tolosa C, García-Hernández FJ, Castellví I, Fonollosa V, González-Gay MA, Sáez-Comet L, Portales RG, de la Peña PG, Fernández-Castro M, Díaz B, Martínez-Estupiñán L, Coenen M, Voskuyl AE, Schuerwegh AJ, Vanthuyne M, Houssiau F, Smith V, de Keyser F, De Langhe E, Riemekasten G, Witte T, Hunzelmann N, Kreuter A, Palm O, Chee MM, van Laar JM, Denton C, Herrick A, Worthington J, Koeleman BP, Radstake TR, Fonseca C, Martin J. The autoimmune disease-associated IL2RA locus is invol-

ved in the clinical manifestations of systemic sclerosis. *Genes Immun*. 2012; 13(2):191-6.

Mahler M, Agmon-Levin N, van Liempt M, Shoenfeld Y, Waka A, Hiepe F, Swart A, Gürtler I, Fritzler MJ. Multi-center evaluation of autoantibodies to the major ribosomal P C22 epitope. *Rheumatol Int*. 2012; 32(3):691-8.

Neumann K, Kruse N, Szilagyí B, Erben U, Rudolph C, Flach A, Zeitz M, Hamann A, Klugewitz K. Connecting liver and gut: Murine liver sinusoidal endothelium induces gut tropism of CD4(+) T cells via retinoic acid. *Hepatology*. 2011 Nov 23;doi: 10.1002/hep.24816. [Epub ahead of print]

Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J, Rudwaleit M. Baseline radiographic damage, elevated acute phase reactants and cigarette smoking status predict radiographic progression in the spine in early axial spondyloarthritis. *Arthritis Rheum* 2012; 64(5):1388-98.

Röhner E, Matziolis G, Perka C, Füchtmeier B, Gaber T, Burmester GR, Buttgereit F, Hoff P. Inflammatory synovial fluid microenvironment drives primary human chondrocytes to actively take part in inflammatory joint diseases. *Immunol Res*. 2011 Oct 7. [Epub ahead of print]

Schmidt-Bleek K, Schell H, Schulz N, Hoff P, Perka C, Buttgereit F, Volk HD, Lienau J, Duda GN. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade. *Cell Tissue Res*. 2011 Jul 26. [Epub ahead of print]

Shen P., Lampropoulou V, Stervbo U, Hilgenberg E, Ries S, Mecqinon A, Fillatreau S. Intrinsic Toll-like receptor signalling drives regulatory function in B cells. *Frontiers in Bioscience*. In press.

Sieper J, van der Heijde D, Dougados M, Brown LS, Lavie F, Pangan AL. Early response to adalimumab predicts long-term remission through 5 years of treatment in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Nov 29. [Epub ahead of print]

Soost S, Abdollahnia M, Kostev K, Worm M. Topische Therapie des Handekzems – Analyse des Verordnungsprofils in dermatologischen Praxen [Topical therapy of hand eczema - analysis of the prescription profile from dermatologists in private practice.] *J Dtsch Dermatol Ges*. 2012; 10(3):180-85.

Song IH, Haibel H, Stelling ES, Sieper J, Rudwaleit M. Evaluation of the spinal pain score in AS--a psychometric analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Dec 11. [Epub ahead of print]

Sporbeck B, Mathiske-Schmidt K, Jahr S, Huscher D, Becker M, Riemekasten G, Taufmann I, Burmester GR, Pögel S, Reissauer A. Effect of biofeedback and deep oscillation on Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis: results of a controlled prospective randomized clinical trial. *Rheumatol Int*. 2012;32(5):1469-1473.

Stohl W, Hiepe F, Latinis KM, Thomas M, Scheinberg MA, Clarke A, Aranow C, Wellborne FR, Abud-Mendoza C, Hough DR, Pineda L, Migone TS, Zhong ZJ, Freimuth WW, Chatham WW; on Behalf of the Bliss-52 and -76 Study Groups. Belimumab reduces autoantibodies, normalizes low complement, and reduces select B-cell populations in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012 Jan 24. doi:10.1002/art.34400. [Epub ahead of print]

Westhoff G, Dörner T, Zink A. Fatigue and depression predict physician visits and work disability in women with primary Sjögren's syndrome: results from a cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2012; 51(2):262-269.



## Präsentationen auf Kongressen 2010

### Vorträge, Poster, Abstracts und andere Beiträge auf Kongressen, Fachtagungen, Symposien und Workshops

- V 02.01.10, Margitta Worm, Urtikaria, Anaphylaxie, Asthma – Manifestationen bei Kindern und Erwachsenen, 5. Interdisziplinäres Symposium – Allergologische und infektiologische Fragen in der Praxis und Klinik, Leipzig
- V 02.01.10, Margitta Worm, Vaskulär bedingte Entzündungen – klinische Konsequenzen aus dermatologischer Sicht, Dermatologische Fortbildung Charité, Berlin
- V 20.01.10, Falk Hiepe, B Zell / Plasmazellen targetierende Therapien, Hautklinik der Universität Lübeck, Lübeck
- V 21.01.10, Thomas Dörner, Anti-CD22 therapy in inflammatory diseases, Immune network meeting UK. UCL, London, GBR
- V 27.01.10, Thomas Dörner, Immunological remission in RA, Regionale Rheumatagung, Universität von Rostock
- V 29.01.10, Thomas Dörner, Current aspects of cytokine blockade in RA beyond TNF inhibition, Meeting of the Finnish society of rheumatology, Tampere, FIN
- V 04.02.10, Andreas Radbruch, Targeting B and plasma cells, 9th International Conference of New Trends in Immunosuppression and Immunotherapy, Genf, CHE
- V 05.02.10, Chiara Romagnani, Regulatory function of NK cells, 9th International Conference of New Trends in Immunosuppression and Immunotherapy, Geneva, CHE
- V 06.02.10, Thomas Dörnertsches Register Rituximab in AIDs, Rheumazentrum Düsseldorf, Düsseldorf
- V 10.02.10, Falk Hiepe, CAPS verstehen und erkennen: FCAS, Muckle Wells, NOMID/CINCA – ihre Symptome, Diagnose und Therapieoptionen, Symposium CAPS verstehen, erkennen und behandeln, Berlin
- V 11.02.10, Andreas Radbruch, Stromal niches for immunological memory, Leeds Institute of Molecular Medicine seminar series, Leeds Institute of Molecular Medicine, Leeds, GBR
- 1st Systemic Sclerosis World Congress, 11.02.10, Florence, ITA
  - Becker M, Huscher D, Brueckner C, Hanke K, Burmester GR, Riemekasten G, Different Forms Of Pulmonary Involvement In Systemic Sclerosis And Their Clinical Associations- Data From The German Systemic Sclerosis Network Registry (Dnss),
  - Behrooz Alideh Z, Broen J, Rueda B, Hesselstrand R, Herrick A, Worthington J, Denton C, Fonseca, Riemekasten G, Vonk MC, van den Hoogen FHJ, Matucci-Cerenic M, Beretta L, Airo P, Coenen M, Martin J, Koeleman BPC, Radstak TRD, Results From A Eustar Based Study: Functional Variants Of

Fcgriia And Fcgriiia Are Not Associated With Ssc Susceptibility Or Clinical Phenotype,

Broen J, Gourgh P, Rueda B, Hesselstrand R, Herrick A, Worthington J, Agarwal S, Tan F, Denton C, Fonseca, Riemekasten G, Vonk M, Kiener H, Scorza, Beretta L, Coenen M, Mayes M, Martin J, Arnett F, Radstake T, The Fas -670A>G Polymorphism Influences The Susceptibility To Systemic Sclerosis Phenotypes

Guenther J, Kill A, Becker MO, Widmer R, Hanke K, Dragun D, Riemekasten G, Angiotensin And Endothelin Receptor Expression In Peripheral Immune Cells From Healthy Donors And Systemic Sclerosis (Ssc) Patients

Hanke K, Brueckner CS, Becker M, Meyer W, Schlumberger W, Burmester GR, Riemekasten G, Anti-Cenp-A And Anti-Cenp-B Antibodies Show High Concordance And Similar Clinical Associations In Patients With Systemic Sclerosis Despite Completely Different Underlying Protein Sequences

Hegner B, Catar R, Kusch A, Essin K, Naether M, Gollasch M, Riemekasten G, Dragun D, Differentiation Responses Of Bone Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells From Systemic Sclerosis Patients To Pro-Fibrotic Cytokines

Hegner B, Rudolph B, Schindler R, Luft FC, Riemekasten G, Dragun D, Multimodal Therapy For ACE-Inhibitor Refractory Scleroderma Renal Crisis With Biopsy Proven Thrombotic Angiopathy

Kill A, M. Becker, J. Günther, C. Jessen, D. Dragun, G.R. Burmester, G. Riemekasten, Role Of Agonistic Autoantibodies Directed To The Angiotensin II Type 1 And The Endothelin-1 Type A Receptors In Systemic Sclerosis

Moinzadeh P, Hunzelmann N, Fehr A, Genth E, Juhe A, Kötter I, Kreuter A, Krieg T, Melchers I, Meurer M, Müller-Ladner U, Riemekasten G, Sunderkötter C, Assessing Organ Involvement And Current Symptoms As Indicators For Disease Progression In A 2400 Patient Cohort

Naether M, Philippe A, Catar R, Lukitsch I, Riemekasten G, Dragun D, 12 Signaling Induced By Endogenous Ligand Independent Autoimmune Activation Of Angiotensin Type 1- And Endothelin Type A-Receptor In Microvascular Endothelial Cells

Riemekasten G, Krause L, Brueckner C, Becker M, Bellinghausen T, Becker C, Schneider U, Haepf T, Ebert H, Mueller-Ladner U, Burmester G, Nutrition Status As Marker For Disease Activity And Severity Predicting Mortality In Ssc Patients

Vonk M., D. Diaconu, C. Denton, G. Riemekasten, D. Farge, L. Czirjak, P. van Riel, F. van den Hoogen, J. Franssen, Disease Activity Criteria For Patients With Early Systemic Sclerosis

Schohe A, Becker M, Huscher D, Schneider U, Hanke K, Burmester GR, Riemekasten G, Predictive Factors To Respond To Pulsed Intravenous Cyclophosphamide In Patients With Systemic Sclerosis - Results From A Single Centre Study

V Gabriela Riemekasten, Treatment of Systemic Sclerosis

■ V 13.02.10, Angela Zink, Safety Aspects of Biologics Data from the German and European Registers, Experiencia Meeting, Berlin

■ V 20.02.10, Angela Zink, Epidemiologie und Versorgungsforschung, RheumaWissen, Berlin

■ V 21.02.10, Andreas Radbruch, Maintenance and adaptation of immunological memory, 6th Spring School on Immunology, Ettal

■ 27.02.10, Stittrich Anna-Barbara, Claudia Haftmann, Ahmed Hegazy, Jun Dong, Franziska Fuhrmann, Gitta Heinz, Na Li, Zhuo Fang, Angelina Jahn, Wei Chen, Andreas Hutloff, Max Löhning, Hyun-Dong Chang, Nikolaus Rajewsky, Andreas Radbruch\* and Mir-Farzin Mashreghi\*, MicroRNA-182 Promotes Clonal Expansion Of Activated T Helper Cells, Keystone Symposium „Lymphocyte Activation and Gene Expression“, Breckenridge, Colorado, USA

■ V 27.02.10, Angela Zink, Moderne Rheumatherapie - Effektivität und Sicherheit, Symposium Regionales Rheumazentrum, Oldenburg

■ V 01.03.10, Andreas Radbruch, Immunological memory – timing and context matters, Symposium “Immunity in context - Development and Survival Signals in the Immune System”, The Weizmann Institute of Science, Rehovot, ISR

■ V 03.03.10, Kirsten Minden, Risiken biologischer Therapien bei rheumakranken Kindern und Jugendlichen, Interdisziplinäres „Consilium diagnosticum“, Berlin

### ■ 30th European Workshop for Rheumatology Research, EWRR, 04.03.10, Bamberg

Alexander, T., Thiel, A., Biesen, R., Rose, T., Sattler, A., Radtke, H., Burmester, G.R., Radbruch, A., Arnold, R., and Hiepe, F., Identification Of Cellular Markers Predicting Relapses After Immunoablation And Autologous Haematopoietic Stem Cell Transplantation (Asct) For Refractory Systemic Lupus Erythematosus. Annals Of The Rheumatic Diseases 69, Suppl. 2, A52-A52

V Andreas Radbruch, The concept of memory T cells

Stittrich AB, Haftmann C, Hegazy A, Floessdorf M, Dong J, Fuhrmann F, Heinz G, Li N, Fang Z, Jahn A, Baumgrass R, Grun J, Chen W, Hofer T, Lohning M, Chang HD, Rajewsky N, Radbruch A, Mashreghi MF, MicroRNA-182 Promotes Clonal Expansion Of Activated T Helper Cells

JY. Humrich, R Undeutsch, L Kloke, G-R Burmester, G Riemekasten, Homeostatic Imbalance Of Regulatory And Effector T Cells Due To Il-2 Deprivation Amplifies Murine Lupus

R. Undeutsch, A. Papendieck, JY. Humrich, G. Riemekasten, Interleukin10-Producing Cd4 T Cells Ameliorate Murine Lupus In Nzb/W F1 Mice

Riemekasten G, Philippe A, Lukitsch I, Slowinski T, Näther M, Systemic Sclerosis As Prototypic Disease With High Levels Of Functional Antibodies Against Angiotensin II Type-1 And Endothelin-1 Type A Receptor Strongly Predicting Prognosis

■ V 06.03.10, Thomas Dörner, Experiences with anti-CD20 therapy in autoimmune diseases, Meeting of the Portuguese Society of Rheumatology, Funchal, PRT

■ 11.03.10, Heine G, Radbruch A, Worm M, Mechanismen Vitamin D Rezeptor Vermittelter Modulation Humaner B Zellaktivierung, 22. Mainzer Allergie-Workshop, Mainz

■ V 13.03.10, Andreas Grützku, Cytometric profiling to monitor inflammatory responses in a broader context, 8th World Congress on TSIS, München



- V 13.03.10, Martina Niewerth, Pädiatrische Rheumatologie wo stehen wir heute? Ergebnisse der Arbeitsgruppe Kinder und Jugendrheumatologie am Deutschen Rheuma Forschungszentrum Berlin, 7. Symposium Pädiatrische Immunologie & Rheumatologie, Greifswald
- V 14.03.10, Andreas Radbruch, The organisation of immunological memory, International PhD Immunology Course 2010 of the San Raffaele Scientific Institute, Stresa, ITA
- V 16.03.10, Max Löhning, Generation and deviation of T helper cell memory, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach
- 17.03.10, Falk Hiepe, Wirtschaftliche Verordnungen von TNF-alpha-Hemmstoffen bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen, 38. Workshop Pharmakotherapieberatung, Berlin
- 17.03.10, Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C, Panse I, Fröhlich A, Berghaler A, Flatz L, Pinschewer DD, Radbruch A, Löhning M, Virus-Induced Interferons Direct Th2 Cell Reprogramming And Promote A Stable Gata-3+ T-Bet+ "Th2+1" Cell Subset With Combined Th2 And Th1 Cell Functions, World Immune Regulation Meeting – IV, Davos, CHE
- 17.03.10, Anja Strangfeld, Aktuelles aus den Registern Infektionen und Malignome im Verlauf, 3. Südbayerisches Wissenschaftsboard Rheumatologie, München
- 18.03.10, Andreas Radbruch, Immunologisches Gedächtnis im Knochenmark, Lebenswissenschaftliches Kolleg der Studienstiftung des deutschen Volkes, Bonn
- **36th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, 22.03.10, Wien, AUT**
- Alexander T, Schneider S, Schneider U, Ziemer S, Radtke H, Burmester G, Arnold R, Hiepe F, Development Of Secondary Autoimmune Disorders After Immunoablation And Haematopoietic Stem Cell Transplantation For Refractory Systemic Lupus Erythematosus. Bone Marrow Transplantation 45, 174-S174
- Alexander T, Thiel A, Biesen R, Rose T, Radtke H, Burmester G, Arnold R, Radbruch A, Hiepe F, Identification Of Predictive Cellular Markers For The Development Of Flares After Immunoablation And Autologous Haematopoietic Stem Cell Transplantation For Refractory Systemic Lupus Erythematosus. Bone Marrow Transplantation 45, S172-S172
- V Hiepe F, New Therapeutic Strategies In Sle. Bone Marrow Transplantation 45, S17-S17
- V 24.03.10, Andreas Radbruch, Maintenance of T helper cell memory, Immunology programme at the Department of Pathology in Cambridge, Department of Pathology, University of Cambridge, GBR
- V 27.03.10, Kirsten Minden, Rheumatische Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter, Repetitorium Pädiatrie, Berlin
- V 31.03.10, Andreas Radbruch, Bone marrow stroma organizing immunological memory, Annual course for immunologists of the Dutch Society for Immunology, Lunteren, NLD
- V 01.04.10, Margitta Worm, Allergie und Ernährung, moderne Therapien allergischer Erkrankungen, Vortragsrunde Dathe-Gymnasium, Berlin
- V 10.04.10, Angela Zink, Aktuelle Versorgungssituation in Deutschland, Daten der Kerndokumentation, 5. Kongress des Berufsverbandes Deutscher Rheumatologen, München
- **116. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V., DGIM, 13.04.10 Wiesbaden**
- V Falk Hiepe, Anti-B und T-Zell Therapie
- V Margitta Worm, "Klinik und Diagnostik - dermatologische Sicht"
- V Angela Zink, Infektionen und Neoplasien: Erfahrungen aus den Registern
- Rose, T., Backhaus, M., Radbruch, A., Burmester, G.R., Hiepe, F., Grützkau, A. and R. Biesen, Biomarkervergleich Beim Systemischen Lupus Erythematosus: Der Interferonsurrogatmarker Siglec1 - Nicht Aber Anti-DsDNA-Antikörper Oder Komplementfaktor C3 - Korreliert Longitudinal Mit Der Krankheitsaktivität
- V 14.04.10, Andreas Radbruch, The concepts of memory T cells, 12th Conference on Advances in Targeted Therapies, Mandelieu, FRA
- V 15.04.10, Kirsten Minden, Impfungen bei rheumatischen Kindern, 5. Kongress des Berufsverbandes Deutscher Rheumatologen, München
- V 19.04.10, Andreas Grützkau, From Transcriptome to Cytome: Putting Candidate genes in a global immunophenotypical context, Seminare Immunologie, Allergologie, Pneumologie, Marburg
- 21.04.10, Kruglov AA, Kühl A, Grivennikov SI, Tumanov AA, Kuprash DV, Loddenkemper C, Littman D, Nedospasov SA, Distinct, Non-Redundant Functions Of Tnf/Lt Expressed By Ltlcs In Mucosal Immunity, Scientific conference "Gene Expression & Signaling in the Immune System", Cold Spring Harbor, USA
- V 22.04.10, Angela Zink, Benefit/Risk-Verhältnis der Therapie mit TNF-Blockern, 5. Konzept-Kurs Spondyloarthritis (SpA), Berlin
- V 23.04.10, Andreas Grützkau, Fishing for Biomarkers: From gene expression to cytometric profiling of chronic-inflammatory rheumatic diseases, 15. Leipziger Workshop Zytomik, Leipzig
- V 24.04.10, Thomas Dörner, Optionen der Schmerztherapie bei Gelenkerkrankungen, Hausärztekongress, Berlin
- **8. B-Zell-Forum der DGfI, 29.04.10, Dresden**
- Cheng, Q, Long-Lived Plasma Cells Adoptively Transferred From Nzb/W Mice Cause Nephritis In Rag1-/- Mice
- Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgfi- $\beta$  Signaling During Treg Cell Induction?
- Oehme L, Hauser AE, Intravital Analysis Of B Cell Motility Over The Time Course Of A Germinal Center Reaction, 29.04.10, Heine G, Drozdenko G, Grün JR, Radbruch A, Worm M, Subset-Specific Induction Of Interleukin-10 In Human B Cells Is Transient And Initial Autocrine Signaling Primes Plasmablast Differentiation"
- V Claudia Berek, Eosinophils are required for the long term survival of plasma cells, Arbeitskreis Biologie der B-Zelle, Dresden
- V 29.04.10, Ria Baumgrass, Activation-induced cell fate decisions in Th cells vation-induced cell fate decisions in Th cells, German-Braslian Binational Meeting of System Biology, Ouro Preto, BRA
- V 30.04.10, Max Löhning, Generation and reprogramming of T helper cell memory in virus infections, Immunology Seminar Series, St. Gallen, CHE
- V 01.05.10, Margitta Worm, Anaphylaxie-Register, 6. Expertenforum Anaphylaxie, Hamburg
- V 01.05.10, Margitta Worm, Focus Group Atopic Dermatitis, Berlin Days, Berlin
- V 08.05.10, Anja E. Hauser, In vivo Imaging of Germinal Center Migration, International Society of Nephrology Forefront Symposium, Sylt
- V 08.05.10, Falk Hiepe, On behalf of the EBMT Working Party Members, Hematopoietic stem cell transplantation for severe autoimmune diseases: 15 years of activity from the European Bone Marrow Transplant Association Working Party on Autoimmune Diseases, 7th International Congress on Autoimmunity, Ljubljana, SLO
- **5th ENII EFIS/EJI Immunology Summer School 09.05.2010, Capo Caccia, Sardinia, ITA**
- Melanie Krüger, How Does Tgfi Modulate Tgfi- $\beta$  Signaling During Treg Cell Induction?, 09.05.10, Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling
- Pfeil J, Lauer U, Cording S, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Modified Peptides
- V 10.05.10, Andreas Grützkau, From Transcriptome to Cytome: Putting Candidate genes in a global immunophenotypical context, Immunologie Seminar, Jena
- V 11.05.10, Thomas Dörner, Expanding possibilities of monoclonal antibody therapy in RA, Scandinavian Congress of Rheumatology, Bergen, NOR
- V 11.05.10, Falk Hiepe, Biologika bei SLE, Dt. Advisory Board Meeting Belimumab, GlaxoSmith Kline, Frankfurt/M
- V 12.05.10, Thomas Dörner, Neue Therapien bei SLE, Treffen der Lupus SHG, Düsseldorf
- V 13.05.10, Margitta Worm, Die Vielfalt der SIT – Routen und Dauer, 9. Dermatologisches Alpenseminar, Grainau
- V 27.05.10, Simon Fillatreau, Activated B cells in autoimmune diseases: the case for a regulatory role, Kitasato Symposium: New prospects for cytokines, Berlin
- V 27.05.10, Andreas Radbruch, B cells and plasma cells, Marie Curie conference on translational research in pediatric rheumatology, TRIPR, Geneva, ITA
- V 28.05.10, Falk Hiepe, Type I interferon and plasma cells in autoimmunity, Kitasato Symposium: New prospects for cytokines, Berlin
- V 29.05.10, Martina Niewerth, Die juvenile idiopathische Arthritis im Erwachsenenalter, Alfred Krupp Wissenschaftskolleg, Greifswald
- V 02.06.10, Thomas Dörner, B cell directed therapy: differences and similarities in MS and RA,

- Immune meeting, North Shore Health Care Systems, Feinstein Institute, Long Island, USA
- V 02.06.10, Margitta Worm, Haut und Lebensqualität, 2. Arbeitsmedizinisches Symposium, Berlin
- V 03.06.10, Andreas Radbruch, Organization of immunological memory, and Th1 lymphocytes and chronic inflammation, 16th Immunology Seminar, Ph.D. course of the Department of Immunology, Budapest University, Department of Immunology, Eötvös Loránd University, Budapest, HUN
- V 05.06.10, Gisela Westhoff, Das Sjögren Syndrom aus der Perspektive der Betroffenen, Preisverleihung der W. Schulze Stiftung, Berlin
- V 06.06.10, Anja Weiß, Superiority, Equivalence and Non-Inferiority Trials, Klinikkonferenz in der Medizinischen Poliklinik der Klinik für Rheumatologie, Berlin
- V 07.06.10, Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgfi Signaling During Treg Cell Induction?, SAC meeting, Berlin
- V 10.06.10, Falk Hiepe, Wirtschaftliche Verordnungen von TNF-alpha-Hemmstoffen bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen, 40. Workshop Pharmakotherapieberatung, Düsseldorf
- V 12.06.10, Margitta Worm, Gibt es Unterschiede in der Einleitung und Weiterbehandlung mit Bienen- und Wespengift? Wenn ja: welche und wie stellen wir und darauf ein? 4. Insektengiftsymposium, Dresden
- V 13.06.10, Joachim Listing, Biologic registers in RA -What are the lessons from 10 years of experience? Turkish National Rheumatology Meeting 2010, Antalya, TUR
- V 14.06.10, Chiara Romagnani, Requirements for NK cell activation and differentiation, INGM, Milan, ITA
- 15.06.10, Pfeil J, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Modified Peptides. 4th German Meeting on Immune Regulation, Berlin
- V 15.06.10, Chiara Romagnani, Requirements for NK cell activation and differentiation, IGG, Genova, ITA
- V 16.06.10, Ria Baumgrass, Activation-induced cell fate decisions in Th cells, 4th German Meeting on Immune Regulation, Schmöckwitz
- **EULAR, Annual European Congress of Rheumatology, 16.06.10, Rome, ITA**
- Buttgereit F, Döring G, Knauer C, Witte S, Szechinski J, Alten R, Chronotherapy Of Rheumatoid Arthritis: Capra-1 Demonstrates Sustained Efficacy Of Modified-Release Prednisone Over 12 Months
- Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgfi Signaling During Treg Cell Induction?, 16.06.10, Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signaling
- Fangradt M, Gaber T, Hahne M, Jakstadt M, Stahn C, Tran CL, Burmester GR, Buttgereit F, Hypoxia Differentially Affects Cytokine Expression In Monocytes And Monocyte Derived Macrophages (Poster Presentation)
- Frank Buttgereit, Using The Circadian Rhythms To Optimize The Administration Of Glucocorticoids
- V Frank Buttgereit, How to use glucocorticoids in optimal way: from bench to bedside
- Hahne M, Jakstadt M, Fangradt M, Stahn C, Waggel M, Kolar P, Gaber T, Burmester GR, Buttgereit F, Hypoxia And Co-Culture Conditions Alter Survival And Surface Molecules Expression Of Human Monocytes And T Cells, EULAR
- Hahne M, Luetkecosmann S, Lohanatha FL, Tran CL, Jakstadt M, Kasper G, Duda G, Kolar P, Gaber T, Burmester GR, Buttgereit F, Angiogenic Potential Of Hmecs Is Driven By Hif-2A Overcoming The Effects Of Hif-1A
- Henneicke H, Herrmann M, Heinevetter U, Brennan T, Kream B, Dunstan C, Buttgereit F, Zhou H, Seibel MJ, Glucocorticoid-Induced Fat Accrual Is Mediated By The Osteoblast
- Kolar P, Gaber T, Lohanatha FL, Hahne M, Lütkecosmann S, Tran CL, Schmidt-Bleek K, Sentürk U, Fangradt M, Matziolis D, Matziolis G, Kasper G, Unterhauser F, Burmester GR, Schmidmaier G, Perka C, Duda GN, Buttgereit F, Immune Cell Function And Fracture Healing In Humans
- Schellmann, S., Gaber, T., Jakstadt, M., Stahn, C., Hahne, M., Waggel, M., Maschmeyer, P., Fangradt, M., Kolar, P., Burmester, G. R., and Buttgereit, F., Hypoxia Affects The Redox State Of Cd4+ T Cells And Concomitantly Impairs Survival And Proliferation
- Waggel, M., Gaber, T., Lohanatha, F. L., Jakstadt, M., Kasper, G., Duda, G., Kolar, P., Burmester, G. R., and Buttgereit, F., Hypoxia Suppresses Adipogenic And Promotes Osteogenic Differentiation Of Human Mesenchymal Stem Cells (Hmcs) In A Hif-1 Dependent Manner
- V Thomas Dörner, Rationale of targeting BAFF/BlyS in SLE
- Becker M, Brückner C, Scherer HU, Hanitsch L, Kawaal A, Grützkau A, Wassermann N, Burmester GR, Riemekasten G, The Monoclonal Anti-Cd25 Antibody Basiliximab For The Treatment Of Progressive Systemic Sclerosis – An Open Label Study
- Diaz Gallo LM, Gourp P, Broen J, Simeon C, Fonolosa V, Ortego-Centeno N, Vonk MC, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan FK, Agarwal S, Reveille J, Assassi S, García-Hernández FJ, Carreira P, Camps M, Fernandez-Nebro A, García de la Peña P, Nearney T, Hilda D, González-Gay MA, Airo P, Beretta L, Scorza R, Herrick A, Worthington J, Pros A, Gómez-García I, Trapiella L, Espinosa G, Castellvi I, Witte T, De Keyser F, Housiau F, Mayes M, Radstake T, Arnett F, Martin J, Rueda B, Analysis Of The Influence Of Ptpn22 Gene Polymorphisms In Systemic Sclerosis
- Günther J, Kill A, Becker M, Riemekasten G, Angiotensin And Endothelin Receptor Expression In Peripheral Blood Mononuclear Cells (Pbmcs) From Healthy Donors And Systemic Sclerosis (Ssc) Patients
- Humrich JY, Weigert O, Kloke L, Riemekasten G, Cd4+Foxp3+ Regulatory T Cells Sustain Drug-Induced Disease Remission In (Nzbxnzw) F1 Lupus-Prone Mice Lupus-Prone Mice
- Kill A., Jeannine Günther, Mike Oliver Becker, Gerd-Rüdiger Burmester, Gabriela Riemekasten, Role Of Agonistic Autoantibodies Directed To The Angiotensin II Type 1 And The Endothelin-1 Type A Receptors In Systemic Sclerosis
- Kloke L, Riemekasten G, Ow Dose Ril-2 Treatment Provides Treg Expansion. A Novel Rationale For Sle?
- Anja Strangfeld, Anti-TNF therapy in RA: predictors, risks, health benefits
- Anja Strangfeld, Increased risk of sepsis after termination of anti-TNFa treatment results from the German Biologics Register Rabbit
- Anja Strangfeld, Primary prevention of the rheumatic diseases
- Huscher D, Sengler C, Ziegler S, Thiele K, von Hinüber U, Wassenberg S, Fischer K, Späthling-Messteckemper S, Zink A, Discrepancy Between Physician-Assessed And Patient-Reported Disease Burden In Patients With Psoriatic Arthritis - Results From The National Database Of The German Collaborative Arthritis Centres.
- Moinzadeh P, Hunzelmann N, Fehr A, Genth E, Juche A, Köttler I, Kreuter A, Krieg T, Melchers I, Meurer M, Müller-Ladner U, Riemekasten G, Sunderkötter C, Assessing Organ Involvement And Current Symptoms As Indicators For Disease Progression In A 2500 Patient Cohort
- Moinzadeh P, Hunzelmann N, Fehr A, Genth E, Juche A, Köttler I, Kreuter A, Krieg T, Melchers I, Meurer M, Müller-Ladner U, Riemekasten G, Sunderkötter C, Use Of Vasodilators And Ace Inhibitors In Patients Of The German Network For Systemic Scleroderma
- Riemekasten G, Heidecke H, Slowinski T, Mattucci-Cerinic M, Cziráj L, Ghofrani HA, Becker MO, Kill A, Näther M, Dragun D, Functional Autoantibodies Against Vascular Receptors Serve As Biomarkers
- Riemekasten G., L. Krause, M.O. Becker, K. Hanke, G.R. Burmester, Nutrition Status As Marker For Disease Activity And Severity Predicting Mortality In Ssc Patients
- Undeutsch R., A. Papendieck, JY. Humrich, G. Riemekasten, Cd4+ T Cell Derived Il-10 Ameliorates Murine Lupus
- Wipff J., G. Riemekasten, P. Dieude, J. Carcowski, M. Humbert, P. Airo, I. Melchers, E. Hachulla, C. Boileau, Y. Allanore, Genesys Consortium. Association Of Kcna5 Gene Polymorphism With Systemic Sclerosis-Associated Pulmonary Arterial Hypertension
- V 17.06.10, Thomas Dörner, GRAID Registry Safety and efficacy of rituximab in autoimmune diseases
- V 17.06.10, Thomas Dörner, Impact of therapy on B cell subsets in SLE
- Cheng QJ, Mumtaz I, Hoyer BF, Radbruch A, Hiepe F, Adoptive Transfer Of Long-Lived Plasma Cells From Nzb/W Mice Causes Immune Complex Nephritis In Recipient Rag-/- Mice
- 17.06.10, Margitta Worm, Atopische Dermatitis – Aktuelle Probleme und Lösungen, IDEAL Summerschool 2010, Thema Juckreiz, Berlin
- 24.06.10, Cheng Q, Mumtaz, Intiaz M, Hoyer BF, Radbruch A, Hiepe F, Long-Lived Plasma Cells Adoptively Transferred From Nzb/W Mice Cause Immune Complex Nephritis In Immunodeficient Rag1-/- Mice, 9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, Vancouver, CAN
- 24.06.10, Lexberg M, Taubner A, Albrecht I, Richter A, Kamradt T, Radbruch A, Chang HD, Ifn-γ And Il-

- 12 Synergize To Convert In Vivo Generated Th17 Into Th1/17 Lineage Cells, FOCIS, Boston, USA
- 24.06.10, Mashreghi MF, Stittrich AB, Haftmann C, Hegazy A, Lohning M, Chang HD, Radbruch A, Mircrona-182 Regulates Expansion Of Activated T Helper Cells., 10th Annual Meeting of the Federation-of-Clinical-Immunology-Societies Boston, Boston, USA
- **9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, 24.06.10, Vancouver, CAN**
- Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling, 9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, Vancouver, CAN
- Gerl V, Großmann P, Johnen C, Bräutigam K, Mumtaz I, Hostmann B, Toman N, von Hesler FW, Radbruch A, Hiepe F, Tnf-A Induces 52 Kd Ro/Ssa Dependent Adcc In Primary Human Keratinocytes,
- ▼ 25.06.10, Thomas Dörner, Impact of B cell directed therapy in SLE
- ▼ 26.06.10, Thomas Dörner, Mechanism of action of anti-CD22 therapy on B cells in SLE
- ▼ 25.06.10, Margitta Worm, Bullous skin disease, 24th Symposium Augustanum, Berlin
- **13th German Meeting on T-cells: Subsets & Functions, 01.07.10 Marburg**
- ▼ Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling
- ▼ 01.07.10, Ahmed Hegazy, Interferons and T-bet reprogram Th2 cells into a stable GATA-3+ T-bet+ "Th2+1" cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions
- ▼ 01.07.10, Simon Fillatreau, Suppressive functions of activated B cells, Invited talk, Würzburg
- ▼ 01.07.10, Margitta Worm, Trends in epidemiology of anaphylaxis, 6th Rajka Symposium, München
- ▼ 01.07.10, Margitta Worm, "Neue" Auslöser der Nahrungsmittelanaphylaxie, 22. Fortbildungswoche 2010, München
- ▼ 07.07.10, Hegazy, AN, Interferons And T-Bet Reprogram Th2 Cell Commitment To Permit Protective Anti-Viral Responses, 15th International Congress of Mucosal Immunology, ICMI, Paris, FRA
- ▼ 09.07.10, Claudia Berek, Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells, B-Zell Retreat Regulators of adaptive Immunity, Volkach
- ▼ 13.07.10, Thomas Dörner, Personalized medicine in treating RA, National Meeting of the Mexican Society of Rheumatology, Mexico-City, MEX
- ▼ 14.07.10, Max Löhning, T cell memory: Generation and reprogramming, Interdisciplinary Center for Infection Biology and Immunity, Berlin
- 16.07.10, Falk Hiepe, Labordiagnostik bei Autoimmunerkrankungen, 5. Rheum. Sommerakademie Berlin/ Potsdam
- **14th Chiba University Global COE Symposium, Chiba University Hospital, JPN**
- ▼ 20.08.10, Andreas Radbruch, Protective and pathogenic immunological memory,
- 22.08.10, Pink M, Ratsch BA, Hecht J, Hamann A, P-Selectin Ligand Expression In T Cell Migration: Molecular Regulation Of Fut7
- 22.08.10, Schroeter MF, Ratsch, BA, Hamann A, Syrbe U, Selectin Dependent Migration Of T Cells: Molecular Regulation Of C2Glcna-1, A Glycosyltransferase Essential For The Generation Of P-Selectin Ligand
- ▼ 22.08.10, Andreas Radbruch, Organisation of immunological memory by bone marrow stromal cells
- ▼ 23.08.10, Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgf- $\beta$  Signaling During Treg Cell Induction?
- ▼ 23.08.10, Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling
- Pink M, Ratsch BA, Hecht J, Hamann A, Syrbe UP, Selectin Ligand Expression In T Cell Migration: Molecular Regulation Of Fut7
- Schroeter MF, Ratsch, BA, Hamann A, Syrbe U, Selectin Dependent Migration Of T Cells: Molecular Regulation Of C2Glcna-1, A Glycosyltransferase Essential For The Generation Of P-Selectin Ligand
- Szilagy Balint, Astrid Menning, Stefan Floess, Jochen Huehn, Alf Hamann., Stable Expression Of The Gut Homing Receptor Integrin  $\alpha$ 4 $\beta$ 7 On Cd4+ Memory T Cells
- Mei H, Yoshida T, Hiepe F, Thiele K, Perka C, Radbruch A, Dörner T, Blood-Borne Human Plasma Cells In Steady State Are Derived From Mucosal Immune Responses
- Hegazy AN, Peine M, Helmstetter C, Panse I, Fröhlich A, Bergthaler A, Flatz L, Pinschewer DD, Radbruch A, Löhning M, Interferons And T-Bet Reprogram Th2 Cells Into A Stable Gata-3 + T-Bet+ "Th2+1" Cell Subset With Combined Th2 And Th1 Cell Functions"
- 01.09.10, Raluca Niesner, Intravital Ca-imaging in the investigation of brain pathology, Summer-school on Metrology, Graduated School of Metrology, University of Braunschweig, Braunschweig
- ▼ 01.09.10, Margitta Worm, Immunmodulation durch Vitamin D, 5. Deutscher Allergiekongress, Hannover
- **EULAR laboratory course, 02.09.10, Charite Berlin**
- ▼ Thomas Dörner, Strategies to detect autoantibodies Antiphospholipid syndrome, 02.09.10, Falk Hiepe, Algorithms for autoantibody cascade testing
- ▼ Falk Hiepe, ANA staining patterns
- ▼ 02.09.10, Margitta Worm, Epidemiologie von Anaphylaxien, Expertenforum Rheumatologie, Berlin
- ▼ 03.09.10, Falk Hiepe, Workshop Vaskulitiden, Expertenforum Rheumatologie, Berlin
- ▼ 04.09.10, Thomas Dörner, Erworbene Thrombophilie, 15. Symposium Thrombose, Charite Berlin
- ▼ 09.09.10, Margitta Worm, 5 interessante klinische Publikationen des letzten Jahres zum Thema Nahrungsmittelallergie, 5. Deutscher Allergiekongress, Hannover
- ▼ 10.09.10, Hyun-Dong Chang, Immunology and rheumatology, The scientific basis of rheumatology: a primer for clinicians, Athens, GRE
- ▼ 11.09.10, Thomas Dörner, Personalized decisions in RA therapy, Global B cell meeting. UCL, London, GBR
- ▼ 11.09.10, Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Romagnani C, Cd62L Expression Identifies A Unique Subset Of Polyfunctional Cd56Dim Nk Cells., NK2010, Cavtat, CRO
- ▼ 15.09.10, Ria Baumgrass, Quantitative single cell analysis of TF expression and activation to discover limiting factors for Th cell activation, 6th Workshop Molecular Interactions from units o systems, Berlin
- **38. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, 15.09.10, DGRH, Hamburg**
- ▼ Claudia Berek, B-Zellpathophysiologie bei rheumatoider Arthritis
- ▼ Frank Buttgerit, Auswirkungen von rheumatischen Erkrankungen auf die physische und psychische Leistungsfähigkeit
- ▼ Frank Buttgerit, Individuelle Osteoporose-Therapie: Welche Patienten wie behandeln?
- ▼ Frank Buttgerit, Leistungsminderung durch rheumatischen Erkrankungen: Ursachen und Bedeutung
- ▼ Frank Buttgerit, Neue Daten zu Wirksamkeit und Sicherheit von Prednison MR (Ergebnisse der CAPRA-2 Studie)
- ▼ Frank Buttgerit, Prednison MR – Glucocorticoidtherapie der RA neu definiert
- Hahne, M., Luetkecossman, S., Tran, C. L., Lohanatha, F. L., Jakstadt, M., Kasper, G., Duda, G., Kolar, P., Gaber, T., Burmester, G. R., and Buttgerit, F., Angiogenic Potential Of Hmecs Is Driven By Hif-2A Overcoming The Effects Of Hif-1A
- Kolar, P., Gaber, T., Maschmeyer, P., Schmidt-Bleek, K., Lohanatha, F. L., Hahne, M., Wagegg, M., Matziolis, D., Matziolis, G., Unterhauser, F., Burmester, G. R., Schmidmaier, G., Perka, C., Duda, G., and Buttgerit, F., Immune Cell Populations In Fracture Healing In Humans
- ▼ Martin Hahne, Angiogenic Potential of HMECs Is Driven by HIF-2 $\alpha$  Overcoming the Effects of HIF-1 $\alpha$ .
- ▼ Monique Fangradt, Hypoxia Differentially Affects Cytokine Expression in Monocytes and Monocyte Derived Macrophages
- Schellmann, S., Gaber, T., Jakstadt, M., Stahn, C., Hahne, M., Wagegg, M., Maschmeyer, P., Fangradt, M., Kolar, P., Burmester, G. R., and Buttgerit, F., Hypoxia Affects The Redox State Of Cd4+ T Cells And Concomitantly Impairs Survival And Proliferation
- Wagegg, M., Gaber, T., Lohanatha, F. L., Jakstadt, M., Kasper, G., Duda, G., Kolar, P., Burmester, G. R., and Buttgerit, F., Hypoxia Suppresses Adipogenic And Promotes Osteogenic Differentiation Of Human Mesenchymal Stem Cells (Hmcs) In A Hif-1 Dependent Manner

- ▼ Kirsten Minden, Langzeitprognose von Patienten mit schwerer juveniler idiopathischer Arthritis (JIA) Ergebnisse aus dem JuMBO-Register
- ▼ Kirsten Minden, Therapiein der JIA Ein Ausblick, und wie gehen wir damit um?
- ▼ Martina Niewerth, H1N1-Influenza-Impfung bei Kindern mit Autoimmunerkrankungen – Ergebnisse einer Umfrage unter Mitgliedern der Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie
- ▼ Hyun-Dong Chang, Th1, Th17, Th1+17 cells
- A. Kill, J. Günther, M. Becker, G. Riemekasten, Role Of Agonistic Autoantibodies Directed To The Angiotensin II Type 1 And The Endothelin-1 Type A Receptors In Systemic Sclerosis
- Becker C, Riemekasten G, Validation Of German Version Of The Scleroderma Health Assessment Questionnaire (Shaq)
- Günther J, Kill A, Becker M, Riemekasten G, Angiotensin And Endothelin Receptors In Immune Cells Of Systemic Sclerosis (Ssc) Patients And The Effect Of Autoantibodies Against These Receptors
- ▼ Anja Strangfeld, Perioperative Risiken unter Biologika-Therapie
- ▼ Anja Strangfeld, Die Chance auf Remission bei rheumatoider Arthritis wächst
- ▼ Anja Strangfeld, Risikofaktoren für Sepsis unter anti-TNF-Therapie
- ▼ Anja Strangfeld, Wie sicher ist die Biologika-Therapie im Alter?
- Hans Bastian, Pandemische Grippe A(H1N1) 2009 - Befragung von Patienten mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen nach Schutzimpfung
- Maria Eveslage, Steffen Meixner, Neueste Daten der Rabbit-Studie
- ▼ Gisela Westhoff, Das Sjögren-Syndrom aus Patientensicht – Vergleichende Untersuchung von Patienten mit primärem Sjögren Syndrom und RA Patienten mit/ohne Sicca Symptomatik
- ▼ Gisela Westhoff, Verlauf und Prognose der frühen Arthritis
- ▼ Angela Zink, Safety von Biologika
- de la Camp R, Schuch F, Wendler J, Rapp P, Körber N, Huscher D, Rheumadok: Die Innovative It-Lösung Zur Lückenlosen Und Detaillierten Patientendatenerfassung In Rheumatologischen Praxen Und Ambulanzen
- ▼ Dörte Huscher, Kostenveränderung für rheumatoide Arthritis, ankylosierende Spondylitis, Psoriasis-Arthritis und systemischen Lupus erythematoses bei rheumatologisch betreuten Patienten zwischen 2002 und 2008
- Huscher D, Thiele K, Sengler C, Fischer K, Kötter I, Hoese G, Zink A, Kostenveränderung Für Rheumatoide Arthritis, Ankylosierende Spondylitis, Psoriasis-Arthritis Und Systemischen Lupus Erythematoses Bei Rheumatologisch Betreuten Patienten Zwischen 2002 und 2008
- Dziurla R, Detert J, Blau, A, Gaber T, Kolar P, Bastian H, Feist E, Mattat K, Schoebel C, Fietze I, Burmester GR, Buttgerit F, Significant Increase In Sleep Duration, Efficiency And Quality In Patients With Rheumatoid Arthritis By Etanercept Treatment
- ▼ Thomas Dörner, Ergebnisse des dt. GRAID Registers
- ▼ Falk Hiepe, SLE – von der chemischen zur biologischen Immunsuppression
- ▼ Falk Hiepe, Symposium Zelltherapie – Zukunft oder Mythos
- ▼ Tobias Alexander, Immunoablation and stem cell transplantation - depletion of autoreactive immunologic memory in SLE
- ▼ Gabriela Riemekasten, „Rheumatoid Cachexia“ – Folge von Immobilität, Entzündung oder Stoffwechselstörung?
- ▼ Gabriela Riemekasten, Digitale Ulzerationen und PAH bei systemischer Sklerose – Was kann der Rheumatologe tun?
- ▼ Reinmar Undeutsch, IL-10 produzierende CD4+ T-Zellen als mögliche Therapieoption im murinen Lupus
- ▼ Thomas Dörner, Neue Horizonte in der Zytokintherapie: Bericht vom Kitasato Meeting
- ▼ Gabriela Riemekasten, Rheuma + Lunge
- ▼ Jeannine Günther, Angiotensin and endothelin receptors in immune cells of Systemic Sclerosis (SSc) patients and the effect of autoantibodies against these receptors
- ▼ Gabriela Riemekasten, Kardiovaskuläre Risiken entzündlich-rheumatischer Erkrankungen
- ▼ Angela Kill, Role of Agonistic Autoantibodies Directed to the Angiotensin II Type 1 and the Endothelin-1 Type A Receptors in Systemic Sclerosis, 38. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, DGRH, Hamburg
- **40. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, DGfI, Leipzig**
- ▼ Claudia Berek, Immuno deficiencies, 22.09.10, Lischke T, Hegemann A, Hutloff A, Kroczeck RA, Functional Correlates Of Cd4+ T Cell Tolerance And Immunity To Soluble Protein Antigen In Vivo
- ▼ Andreas Radbruch, Organisation of memory by mesenchymal stroma,
- Anna-Barbara Stittrich, Claudia Haftmann, Hyun-Dong Chang, Nikolaus Rajewsky, Andreas Radbruch, Mir-Farzin Mashreghi, MicroRNA-182 Promotes Clonal Expansion Of Activated T Helper Cells
- ▼ Hyun-Dong Chang, Pathogenic T cell memory
- JY. Humrich, O. Weigert, L. Kloke, C. Von Spee, R. Undeutsch, G. Riemekasten, Cd4+Foxp3+ Regulatory T Cells Sustain Drug-Induced Disease Remission In (Nzbxnzw) F1 Lupus-Prone Mice Lupus-Prone Mice
- R. Undeutsch, A. Papendieck, JY. Humrich, G. Riemekasten, Cd4+ T Cell Derived Il-10 Ameliorates Murine Lupus
- Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Romagnani C, Cd62L Expression Identifies A Unique Subset Of Polyfunctional Cd56Dim Nk Cells.
- ▼ Ria Baumgrass, Discovery of limiting TFs for cytokine production by quantitative single cell analysis of TF expression
- ▼ Ahmed Hegazy, Interferons and T-bet reprogram Th2 cell commitment to generate a stable GATA-3+
- T-bet+ “Th2+1” cell subset and permit protective anti-viral responses
- A. N. Hegazy, M. Peine, C. Helmstetter, I. Panse, A. Fröhlich, A. Bergthaler, L. Flatz, D. D. Pinschewer, A. Radbruch, M. Löhning, Interferons And The Transcription Factor T-Bet Reprogram Th2 Cell Commitment To Generate A Stable Gata-3+T-Bet+ “Th2+1” Cell Subset And Permit Protective Anti-Viral Responses
- ▼ Simon Fillatreau, Activated B cells: their regulatory roles
- ▼ Jens Humrich, CD4+Foxp3+ regulatory T cells sustain drug-induced disease remission in (NZ-BxNZW) F1 lupus-prone mice
- **24.09.10, Anja Strangfeld, Infektionsrisiko und Biologika, 1. Westdeutsches Infektiologengespräch, Bonn**
- **25.09.10, Kirsten Minden, Lebensqualität und Langzeitprognose von Kindern und Jugendlichen mit Rheuma, Symposium „10 Jahre Hamburger Zentrum für Kinder- und Jugendrheumatologie“, Hamburg**
- **25.09.10, Margitta Worm, Epidemiologie der Anaphylaxie, Allergieforum Ruhr 2010, Bochum**
- **26.09.10, Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling, 9th European Conference on Computational Biology (ECCB), Gent, BEL**
- **8th German-Japanese Immunology Meeting of the German Society for Immunology, 26.09.10, Cuxhaven**
- ▼ Andreas Radbruch, Regulation of T helper cell expansion and memory in acute and chronic immune responses
- ▼ Ria Baumgrass, Discovery of limiting TFs for cytokine production by quantitative single cell analysis
- **29.09.10, Anja Strangfeld, Methodische Herausforderungen bei der Auswertung von Registerdaten, 9. Kongress für Versorgungsforschung, Bonn**
- **01.10.10, Stefan Frischbutter, A new role of calcineurin for NF-κB activation in T lymphocytes, 1. Berlin-Brandenburger Interdisziplinäres Calcium/Calcineurin-Symposium, Berlin**
- **01.10.10, Anja Strangfeld, Infektionsrisiko in Abhängigkeit vom Therapiestatus, Arthritis Workshop – Pro und Contra aktueller Pfade in Diagnostik und Therapie, Berlin**
- **01.10.10, Margitta Worm, Immunotherapy, safety and management of adverse reactions, Allergy School, Berlin**
- **05.10.10, Ria Baumgrass, How transcription factors control T cells, 2nd Autumn School, DGfI, Bad Schandau**
- **05.10.10, Falk Hiepe, Stem cell transplantation in autoimmune diseases, Jahrestagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Hämatologie und Onkologie, Berlin**
- **09.10.10, Hoyer BF, Lodenkemper K, Mumtaz IM, Bruns A, Sengler C, Hermann KG, Maza S, Keitzer R, Burmester GR, Buttgerit F et al., Takayasu's Arteritis Characterised By Disturbances Of B Cell Homeostasis Responds To B Cell Depletion With Rituximab**



- ximab. *Annals Of The Rheumatic Diseases* 69, Suppl. 2, A11., 74th Annual Scientific Meeting of the ACR, Atlanta, USA
- V 09.10.10, Falk Hiepe, Differentialdiagnose Fieber, 29. Intensivkurs Rheumatologie, München
- **40. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Immunologie, 13.10.10, DGfI, Leipzig**
- V Andreas Radbruch, Immunologie und Zytometrie: 35 Jahre Ko-Evolution
- V Hyun-Dong Chang, Pathogenic and protective immunological memory
- V Andreas Grützkau, Global cytometric profiling as a new tool for disease and therapy monitoring and biomarker discovery
- V 18.10.10, Ria Baumgrass, Discovery of limiting Transcription Factors of Gene Expression Using Single Cell Analysis of Primary Activated T Helper Cells, International Workshop of the DFG-Transregio Research Center TR 52, Würzburg
- **14th Joint meeting Signal Transduction, Receptors, Mediators and Genes, 18.10.10, Weimar**
- Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgf- $\beta$  Signaling During Treg Cell Induction?
- V Tobias Scheel, Quantitative single cell analysis of transcription factor expression and activation reveals NFATc2 and c-fos as limiting factors for IL-2 production of Th cells
- V 18.10.10, Hyun-Dong Chang, Organization of Immunological memory by bone marrow stroma, 1st European conference on mesenchymal stem cells, Toulouse, FRA
- V 22.10.10, Martina Niewerth, Transition Pädiatrische Rheumatologie – wo stehen wir?, Workshop Transition, Berlin
- V 23.10.10, Kirsten Minden, Epidemiologie und Outcome rheumatischer Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen, VII. Kinderrheumatologisches Symposium, Nürnberg
- V 23.10.10, Angela Zink, Update zur Sicherheit von Biologika in der Rheumatologie, 15. Jahrestagung Sicherheitsaspekte bei der medikamentösen Therapie der rheumatoiden Arthritis, München
- V 25.10.10, Hyun-Dong Chang, Organization and maintenance of immunological memory, Symposium: Establishment and maintenance of immune memory, Utrecht, NLD
- V 27.10.10, Krüger, M, How Does Tgfi Modulate Tgf- $\beta$  Signaling During Treg Cell Induction? Immunological Mechanisms of Vaccination, Seattle, USA
- V 27.10.10, Menning, A, Induction Of Regulatory T Cells By Modulation Of T Cell Receptor Signalling, Keystone Symposium Immunological Mechanisms of Vaccination, Seattle, USA
- V 28.10.10, Hyun-Dong Chang, The pro-inflammatory memory of T helper cells, MACS Symposium: The T cell adaptive immune response, Florence, ITA
- V 29.10.10, Claudia Berek, The plasma cell survival niche, SFB 620 Retreat Immundefizienz, Schauinsland
- V 29.10.10, Alexander, T, Risk Factors For The Development Of Lupus Flares After Immunoablation Followed By Asct, 38. Treffen des Arbeitskreises Klinische Immunologie, Frankfurt am Main
- V 29.10.10, Hiepe F, Is The Development Of Secondary Autoimmunity After Immunoablation Plus Asct Mediated By Occupation Of Free Plasma Cell Niches By Autoreactive Clones?, 38. Treffen des Arbeitskreises Klinische Immunologie, Frankfurt am Main
- V 29.10.10, Anja Strangfeld, Lessons from the biologics registries, CEE Inflammation Forum, Antalya, TUR
- V 01.11.10, Simon Fillatreau, Activated B cells: their regulatory roles, Alfred Krupp Wissenschaftskolleg, Lübeck
- V 01.11.10, Margitta Worm, Anaphylaktische Reaktionen: Erkennen, schnell handeln, registrieren, 12. Kamingsgespräch, Berlin
- V 01.11.10, Margitta Worm, Auslöser anaphylaktischer Reaktionen-Daten aus dem Anaphylaxieregister, Bodensee-Symposium, Bregenz
- V 4.11.10, Falk Hiepe, Abgeschlagenheit, unklares Fieber: Was steckt dahinter?, 58. Ärztekongress Berlin/Charité Fortbildungsforum, Update Rheumatologie, Berlin
- V 06.11.10, Andreas Radbruch, Memory Plasma Cells and Protective and Pathogenic Immune Responses, 2-day program initiating the annual ACR Basic Research Conference, Atlanta, Georgia, USA
- **74th Annual Scientific Meeting of the ACR, 06.11.10, Atlanta, USA**
- Buttgereit F, Mehta DP, Kirwan JR, Szechinski J, Bors M, Alten R, Supronik J, Szombati I, Römer U, Witte S, Grahn A, Saag KG, Low-Dose Glucocorticoid Chronotherapy Of Rheumatoid Arthritis: 12 Week Efficacy And Safety Of Modified-Release (Mr) Prednisone
- Buttgereit F, Szechinski J, Döring G, Witte S, Knauer C, Grahn A, Saag KG, Alten R, Safety Of A Novel Modified-Release (Mr) Prednisone Formulation: Results Of The "Circadian Administration Of Prednisone In Rheumatoid Arthritis" (Capra) Studies
- V Frank Buttgereit, Neuro Endocrine Immunology
- V Martin Hahne, Angiogenic Potential of HMECs Is Driven by HIF-2a Overcoming the Effects of HIF-1a
- Wagegg, Markus, Gaber, Timo, Lohanatha, Ferenz, Jakstadt, Manuela, Kasper, Grit, Duda, Georg, Kolar, Paul, Adipogenic and Osteogenic Switch in Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells (hMSCs) Is Triggered by Hypoxia in a HIF-1 Dependent Manner
- Broen J, Gourh P, Vonk M, Beretta L, Rueda B, Geurts-van Bon L, Brouwer C, Hesselstrand R, Herrick A, Worthington J, Hunzelmann N, Denton C, Fonseca C, Riemekasten G, Kiener H, Scorza R, Simeon C, Ortego-Centeno N, Gonzalez-Gay M, Airo P, Coenen M, Mayes M, Kyburz D, Arnett F, Martin J, Radstake T, Functional Variants In The Pre-B Cell Colony Enhancing Factor Gene Are Associated With Systemic Sclerosis Susceptibility And The Clinical Hallmark Pulmonary Arterial Hypertension
- Diaz-Gallo LM, Gourh P, Broen J, Simeón C, Fonollosa V, Ortego-Centeno N, Vonk MC, Coenen M, Riemekasten G, Hunzelmann N, Hesselstrand R, Tan FK, Agarwal SK, Reveille JD, Assassi S, Garcia-Hernandez FJ, Carreira P, Camps MT, Fernandez-Nebro M, Garcia de la Peña P, Rios R, Nearney T, Hilda D, González-Gay MA, Airo P, Beretta L, Scorza R, Herrick A, Worthington J, Pros A, Gómez-Gracia I, Trapiella L, Espinosa G, Castellvi I, Witte T, De Keyser F, Vanthuyne M, Mayes MD, Radstake T, Arnett FC, Martin J, Rueda B, Analysis Of The Influence Of Ptpn22 Gene Polymorphisms In Systemic Sclerosis
- Gorlova Olga, Jose-Ezequiel Martin, Blanca Rueda, Bobby PC Koelman, Maria Teruel, Lina-Marcela Diaz-Gallo, Jasper C. Broen, Madelon C. Vonk, Carmen P. Simeon, Behrooz Z Alizadeh, Marieke J.H. Coenen, Alexandre E Voskuyl, Annemie J Schuerwegh, Piet L C M van Riel, Ruben van 't Slot, Annet Italiaander, Roel A Ophoff, Nico Hunzelmann, Norberto Ortego-Centeno, Miguel A González-Gay, María F González-Escribano, Paolo Airo, Jaap van Laar, Jane Worthington, Roger Hesselstrand, Vanessa Smith, Filip de Keyser, Fredric Houssiau, Meng May Chee, Rajan Madhok, Paul Shiels, Rene Westhovens, Alexander Kreuter, Hans Kiener, Elfride de Baere, Torsten Witte, Leonid Padykov, Lars Klareskog, Rafaella Scorza, Benedicte A Lie, Anna-Maria Hoffmann-Vold, Patricia Carreira, John Varga, Monique Hinchcliff, Annette T Lee, Pravitt Gourh, Christopher I Amos, Gabriella Riemekasten, Ariane Herrick, Lorenzo Beretta, Peter K. Gregersen, Sandeep Agarwal, Shervin Assassi, Filemon K. Tan, Frank C Arnett, Timothy RDJ Radstake, Maureen D Mayes, Javier Martin, Genome-Wide Association Study Of Systemic Sclerosis Clinical Features Identifies New Disease Risk Variants
- Philippe D, Guedj M, Wipff J, Riemekasten G, Airo P, Melchers I, Matucci-Cerinic M, Hachulla E, Boileau C, Allanore Y, GENESYS Consortium, Identification Of Nlrp1 As A Systemic Sclerosis Susceptibility Gene: A New Clue For The Contribution Of Innate Immunity In Ssc Pathogenesis
- V Anja Strangfeld, Increasing Chance of Remission in Patients with Rheumatoid Arthritis
- V Anja Strangfeld, Influence of ESR on EULAR response rates in patients treated with tocilizumab. Results from the German biologics register RABBIT
- Huscher D, Roubinis N, Avouac J, Behrens F, Denton CP, Furst DE, Foeldvari I, Humbert M, Kowal-Bielecka O, Matucci-Cerinic M, Nash P, Opitz CF, Pittrow D, Rubin LJ, Seibold JR, Hoepfer MM, Morris MF, Teal SA, Distler O, Validation Of 6 Minute Walking Distance In Patients With Pulmonary Arterial Hypertension Associated With Systemic Sclerosis.
- Huscher D, Thiele K, Pfaefflin A, Bischoff S, Alten R, von Hinuber U, Schneider M, Zink A, Increase In Direct And Decrease In Indirect Costs Of Ra In Germany Between 2002 And 2008
- Saketkoo LA, Huscher D, Khanna D, Dellaripa, P.F., Flaherty K, Matteson EL, Oddis CV, Phillips K, Pittrow D, Wells A, Denton CP, Distler O, Kowal-Bielecka O, Strand V, Brown KK, Seibold JR, Developing A Disease Activity And Therapeutic Response Index In Connective Tissue Disease Related Interstitial Lung Disease (Ctd-ILD): Rationale, Aims, Design And Results From Tier 0, The Pre-Delphi Exercise
- Cheng Q, Mumtaz IM, Hoyer BF, Radbruch A, Hiepe F, Long-Lived Plasma Cells Adoptively Transferred From Nzb/W Mice Cause Nephritis In Rag1-/- Mice
- Kill A, Jeannine Günther, Mike Oliver Becker, Gerd-Rüdiger Burmester, Gabriela Riemekasten, Role Of Agonistic Autoantibodies Directed To The Angiotensin II Type 1 And The Endothelin-1 Type A Receptors In Systemic Sclerosis

- 07.11.10, Kruglov AA, Efimov GA, Kuchmyi AA, Drutskaya MS, Kuprash DV, Nedospasov SA, Tumor Necrosis Factor – Physiology And The Consequences Of Its Blockade As Defined By Mouse Studies., Frontiers of Immunology in Health and Diseases. Cold Spring Harbor Asia Conference, Suzhou, CHI
- V 08.11.10, Andreas Radbruch, Von der Immunologie zur Vakzinologie, Symposium der Leopoldina zum Thema Schutzimpfungen, Berlin
- V 12.11.10, Claudia Berek, Eosinophils support the long term survival of plasma cells, Universität Würzburg
- V 13.11.10, Falk Hiepe, New therapeutic concepts in SLE, Symposium on Mechanisms of autoimmune diseases, Hamburg
- V 17.11.10, Shebzukhov Yu.V., Brazhnik K., Kruglov A.A., Kuprash D.V., Nedospasov, S.A, Epigenetic Regulation Of Human And Mouse Gene Expression., Transcriptional programming in immune system, Würzburg
- V 18.11.10, Löhning, M, Reprogramming Of Th2 Cells Into A Stable Gata-3+ T-Bet+ “Th2+1” Hybrid Cell Subset, International Workshop of SFB-TR 52, Würzburg
- V 22.11.10, Löhning, M, Reprogramming Of Th2 Cells Into A Stable Gata-3+ T-Bet+ “Th2+1” Hybrid Cell Subset, National Institutes of Health (NIH) MiniSymposium, Bethesda, MD, USA
- V 24.11.10, Kirsten Minden, Erfahrungen im Biologika Einsatz aus den Medikamentenregistern, der Übergang ins Erwachsenenalter, Kinderrheumatologisches Symposium, Berlin
- V 26.11.10, Ria Baumgrass, Systems analysis of regulatory networks in T-helper cells, 4th Meeting FORSYS Partner Berlin, Berlin
- V 26.11.10, Tobias Scheel, A quantitative single cell analysis revealed limiting factors for IL-2 production, 4th Meeting FORSYS Partner Berlin, Berlin
- V 26.11.10, Anja Strangfeld, Biologika real life – Daten aus dem RABBIT-Register, Rheuma im Dialog, Berlin
- V 27.11.10, Angela Zink, Dr.-Franziskus-Blondel-Vorlesung: Die Versorgung von Rheumapatienten in Deutschland, 37. Aachener Rheumaseminar, Aachen
- V 30.11.10, Margitta Worm, Towards a European food allergy register, Jubiläumsseminar Matallergiregister 10 år, Oslo, NOR
- V 01.12.10, Falk Hiepe, The significance of BlyS inhibition in clinical practice, 22nd Panhellenic Conference for Rheumatology, Athens, GRE
- V 01.12.10, Andreas Radbruch, Immunological memory, Winter School on „Plasticity Across Systems – Linking Neuronal, Immune and Metabolic Memory” of the SFB “Plasticity and Sleep” of the Universities of Lübeck and Kiel, Lübeck
- V 03.12.10, Thomas Dörner, Immune targeting in systemic autoimmune diseases, Immunology summit 2010, Lübeck, ESP
- V 03.12.10, Falk Hiepe, Der komplizierte Fall: Falldiskussionen, 17. Charité Trainingskurs Rheumatologie, Berlin
- V 04.12.10, Ria Baumgrass, Activation-induced cell fate decisions in Th cells, Graduierten-Kolleg Heidelberg
- **Research Center ImmunoSciences (RCIS), 09.12.10, Berlin Immunology Day, Berlin**  
 V Stefan Frischbutter, Discovery of novel molecular mechanisms within the NF-κB signaling in Th cells, 09.12.10, Pfeil J, Rigby A, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Immunosuppression By Carrier-Conjugated Peptides  
 V Ahmed Hegazy, Interferons and T-bet reprogram Th2 cells into a stable GATA-3+ T-bet+ “Th2+1” cell subset with combined Th2 and Th1 cell functions  
 A. N. Hegazy, M. Peine, C. Helmstetter, I. Panse, A. Fröhlich, A. Bergthaler, L. Flatz, D. D. Pinschewer, A. Radbruch, M. Löhning, Interferons And T-Bet Reprogram Th2 Cells Into A Stable Gata-3+T-Bet+ “Th2+1” Cell Subset With Combined Th2 And Th1 Cell Functions
- V 13.12.10, Claudia Berek, The plasma cell survival niche, Immunologie Seminar Philipps Universität Marburg, Marburg
- V 26.01.11, Margitta Worm, Anaphylaxie und Notfallbehandlung, Fortbildung Landesverband der HNO-Ärzte, Halle
- V 27.01.11, Andreas Radbruch, Wie uns das Immunsystem schützt, Vortrag im Einstein-Gymnasium (Vortragsreihe organisiert von der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften, BBAW), Potsdam
- V 27.01.11, Margitta Worm, B cells in allergy, Kolloquium Molekulare Zellbiologie, Lübeck
- V 08.02.11, Alf Hamann, Topographical memory, T cell lineages and the impact of epigenetic regulation, Seminar, Erlangen
- V 09.02.11, Claudia Berek, The plasma cell survival niche, Universitätsklinikum Jena-Friedrich-Schiller-Universität, Jena
- V 16.02.11, Ria Baumgrass, Mathematical modeling of transcriptional T-cell activation and differentiation, Meeting: Forsys Status Seminar, Heidelberg
- V 17.02.11, Margitta Worm, Atopic Dermatitis and Food Allergy: When and how to test, FAAM - EAACI, Venedig, ITA
- V 24.02.11, Andreas Radbruch, immunological memory as driver of chronic rheumatic inflammation, International Immunology Summit, Berlin
- V 24.02.11, Angela Zink, What can the information from patient registries in RA tell us? Interpretation of the data, Workshop at the 2nd international immunology summit, Berlin
- V 02.03.11, Andreas Radbruch, The organisation of immunological memory, ESF-JSPS Frontier Science Conference for Young Researchers, Huls-horst, NLD
- **31st European Workshop for Rheumatology Research, EWRR, 05.03.11, Amsterdam, NLD**  
 Anna-Barbara Stittrich, Claudia Haftmann, Evridiki Sgouroudis, Zhuo Fang, Nikolaus Rajewsky, Hyundong Chang, Andreas Radbruch, Mir-Farzin Mashreghi, Inhibition Of Mir-182 Decreases Ova-Induced Arthritis In Mice  
 Inka Albrecht, Kristyna Hradilkova, Kerstin Westendorf, Melanie Weber, Andreas Radbruch, Hyundong Chang, Twist1 And Hopx Determine Function And Persistence Of Pathogenic Memory/Effector T Cells  
 J Günther, MO Becker, A Kill, G Riemekasten, Systemic Sclerosis - Agonistic Auto-Antibodies Directed Against The Angiotensin Receptor Type 1 And The Endothelin Receptor Type A And Their Effects On Immune Cells Undeutsch R, Humrich JY, Papendieck A, Riemekasten G, Cd4+ T Cells Producing Il-10 Have A Beneficial Effect In Murine Lupus  
 V Andreas Radbruch, Memory Plasma Cells  
 Daridon C, Blassfeld D, Reiter K, Mei H, Giesecke C, Goldenberg DM, Hansen A, Hostmann A, Fröhlich D, Dörner T, Epratuzumab Affects B Cell Trafficking In Systemic Lupus Erythematosus 05.03.11, Mei H, Fröhlich D, Giesecke C, Lodenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T, Steady State Generation Of Mucosal Iga+ Plasmablasts Is Not Abrogated By B Cell Depletion Therapy With Rituximab

## Präsentationen auf Kongressen 2011

### Poster, Abstracts und andere Beiträge auf Kongressen, Fachtagungen, Symposien und Workshops

- V 08.01.11, Kirsten Minden, Neues zu alten Erkrankungen: Epidemiologie, Pathologie und Therapie chronisch-entzündlicher rheumatischer Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter, Wissenschaftsretreat Charité, Berlin
- V 08.01.11, Anja Strangfeld, Infektionen unter Biologika - Daten aus RABBIT und anderen Registern, Jahresauftakt-Tagung 2011, Dresden
- V 10.01.11, Kirsten Minden, Biologika in der Kinderrheumatologie anti-TNF & Co., Quo vadis, Kinder- und Jugendmedizin?, Berlin
- V 13.01.11, Anja Strangfeld, Update from the German Biologics Register RABBIT, 7th European Register Meeting, Uppsala, SWE

### EULAR Task Force on Biologics Registers Implementation Workshop, 17.01.11, Zürich, CHE

- V Angela Zink, European Biologics Registers - Collaborative Analyses across Registers, 17.01.11, Joachim Listing, Time-varying risks: Consequences for the analysis and interpretation of the results

Maria Eveslage, Preparing data for analysis, data quality, misclassification: start & stop dates, outcome

- V 21.01.11, Kirsten Minden, Outcome of juvenile idiopathic arthritis, Kinderrheumatologisches Symposium, St. Augustin

- Ursula Schulte-Wrede, \*Marta Steinbrich-Zöllner, Joachim R. Grün, \*Joachim Sieper, Andreas Radbruch, Andreas Grützkau, Anti-Tnf-A Therapy Monitoring In Chronic Rheumatic Diseases By Cytometric Profiling Of Peripheral Blood Cells
- V 11.03.11, Falk Hiepe, Systemischer Lupus erythematodes – neue Therapieansätze und "unmet medical need", UCB-Kamingespräch "Aktuelle Herausforderungen der Immunologie", Köln
- V 11.03.11, Anja Strangfeld, Optimizing Treatment Now and for the Long Term, The REAL-Meeting, München
- V 13.03.11, Andreas Radbruch, Immunological memory, 7th Spring School on Immunology of the DGfI, Ettal
- V 17.03.11, Kirsten Minden, Course and prognosis of JIA - Data from observational studies, 1st Transalpe Meeting in Pediatric Rheumatology, Innsbruck, AUT
- V 17.03.11, Margitta Worm, Are there different immunological "finger-prints" of vitamine-A-derivates?, Symposium Management of type I and type IV allergies - new perspectives and treatment options (Annual Congress SSAI-SGA), Lugano, CHE
- V 18.03.11, Alf Hamann, Functional memory, T cell lineages and the impact of epigenetic regulation, 7th Spring School on Immunology of the DGfI, Ettal
- V 22.03.11, Andreas Radbruch, Immunablation and autologe Stammzelltransplantation, Gastdozentur beim Lebenswissenschaftlichen Kolleg der Studienstiftung, Köln
- V 23.03.11, Martina Niewerth, Transition in der pädiatrischen Rheumatologie - Status quo, Symposium der Ständigen Koordinationsgruppe Versorgungsforschung, Berlin
- V 23.03.11, Anja Strangfeld, Versorgungsrealität und ACR-Update Epidemiologie, RheumaWissen, Bremen
- 25.03.11, Andreas Radbruch, Immuntherapie der Zukunft, Kurs „Spondylarthritiden“, Berlin
- 26.03.11, Margitta Worm, Gentechnik in der Diagnostik von Nahrungsmittelallergien, 6. Tiroler Allergie-Tagung Gentechnik und Allergie, Innsbruck, AUT
- V 28.03.11, Gisela Westhoff, Beobachtungsstudie Sjögren-Syndrom, Sjögren-Selbsthilfe Berlin, Berlin
- **9. B-Zell-Forum der DGfI, 29.03.11 - 31.03.11, Bad Sooden-Allendorf**
- V Lemke, A, Lifetime And Migration Of Mucosal Plasma Cells
- V Chu Van Trung, Eosinophils are required for the longevity of plasma cells
- Vu Van D, Franke RK, Beier KC, Hutloff A, Effector Functions Of Antigen-Specific T And B Cells In A Chronic Airway Inflammation Model
- Mei H, Wirries I, Frölich D, Perka C, Reiter K, Schmidt S, Radbruch A, Dörner T, The Human Bone Marrow Is A Major Site Of Cd19-Negative Plasma Cells Characterised By Advanced Maturity And IgG Production
- V 30.03.11, Margitta Worm, Auslöser und Epidemiologie der Anaphylaxie, 46. DDG-Tagung, Dresden
- V 04.04.11, Löhning, M, Plasticity Of T Helper Cell Differentiation In Antiviral Immune Responses, SFB 841 Symposium, Hamburg
- **Max Planck Institute für Physik Komplexer Systeme Workshop: "Physics of immunity: complexity approach (PICA)", 04.04.11, Dresden**
- V Andreas Radbruch, Modelling and experimentation: approaching the complexity of the immune system
- V Ria Baumgrass, Activation-induced cell fate decisions in Th cells
- 06.04.11, Capucine Daridon, Daniela Blassfeld, Karin Reiter, Henrik E. Mei, Claudia Giesecke, David M. Goldenberg, Arne Hansen, Arwed Hostmann, Daniela Frölich and Thomas Dörner, Epratuzumab Targeting Of Cd22 Affects Adhesion Molecule Expression And Migration Of B-Cells In Systemic Lupus Erythematosus, 8th European Lupus Meeting, Porto, PRT
- **Kinderrheumatologisches Symposium, 07.04.11, St. Augustin**
- V Kirsten Minden, Outcome of juvenile idiopathic arthritis - Data from observational studies
- V Kirsten Minden, Observational studies - Paediatric rheumatology group
- **3. Nationales Innovationsforum Medizin. Fokus: Immunologie, 07.04.11, Berlin**
- V Andreas Radbruch, haben Morbus Crohn, Rheuma, Allergie und Transplantation gemeinsam?
- V Hyun-Dong Chang, Das immunologische Gedächtnis (als Treiber chronischer Entzündung)
- V Alf Hamann, ImmunoReset
- V 12.04.11, Claudia Berek, Eosinophils are required for the long term survival of plasma cells in the bone marrow, Keystone Meeting B Cells: New Insights into Normal versus Dysregulated Function, Whistler, CAN
- V 12.04.11, Angela Zink, Establishing and running a biologics register: Run, run RABBIT!, British Society for Rheumatology Annual Conference, Brighton, GBR
- V 14.04.11, Henrik Mei, Chronic differentiation of human mucosal IgA-secreting cells during B cell depletion therapy with rituximab, Keystone Meeting B Cells: New Insights into Normal versus Dysregulated Function, Whistler, CAN
- 14.04.11, Ursula Schulte-Wrede, \*Marta Steinbrich-Zöllner, Joachim R. Grün, \*Joachim Sieper, Andreas Radbruch, Andreas Grützkau, Cytometry Lifts Off In High-Dimensionality Spaces: Multiparametric Immune Monitoring Of Chronic Inflammatory Responses In Peripheral Leukocyte Subsets, 16. Leipziger Workshop: Cytomics in LIFE, Leipzig
- 18.04.11, Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Romagnani C, Human Nk Cell Differentiation And Acquisition Of Responsiveness To Activating Receptor Stimulation, NK2011, Mainz
- V 28.04.11, Kirsten Minden, Transition of patients included in biologic registers, Pharmachild Meeting, Utrecht, NLD
- **8. B-Zell-Forum der DGfI, 01.05.11, Dresden**
- V Henrik Mei, Heterogeneity of human bone marrow plasma cells
- Mei H, Reiter K, Frölich D, Tony HP, Radbruch A, Dörner T, Peripheral Blood Plasmablasts And Plasma Cells In Rheumatoid Arthritis Patients Treated With The Anti-Cd20 Antibody Rituximab
- Mei H, Yoshida T, Thiele K, Perka C, Hiepe F, Radbruch A, Dörner T, Blood-Borne Human Plasma Cells In Steady State Are Derived From Mucosal Immune Responses
- V 02.05.11, Falk Hiepe, Die Rolle langlebiger Plasmazellen in der Pathogenese des SLE, 117. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V., DGIM, Wiesbaden
- **Trainingskurs in Kinder- und Jugendrheumatologie für Kinder- und Jugendärzte, 05.05.11, Würzburg**
- V Kirsten Minden, Wie viele und welche Rheumapatienten werden Sie in der Praxis sehen? Epidemiologie wichtiger kinder- und jugenderheumatologischer Erkrankungen
- V Kirsten Minden, Nichtoperative Basisdiagnostik mit Fallbeispielen
- V Kirsten Minden, Differentialdiagnose der JIA anhand von Fallbeispielen (II)
- V Kirsten Minden, Therapie der JIA mit Fallbeispielen
- V 07.05.11, Angela Zink, Safety Aspects of Biologics Data from the German and European Registers, Experiencia Meeting, Berlin
- 09.05.11, Pfeil J, Lauer U, Cording S, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Modified Peptides, 6th ENII EFIS/EJI Immunology Summer School 2011, Capo Caccia, Sardinia, ITA
- V 15.05.11, Henrik Mei, Chronic differentiation of human mucosal IgA-secreting cells during B cell depletion therapy with rituximab, 98th Annual Meeting of the AAI, San Francisco, USA
- V 15.05.11, Falk Hiepe, Memory Plasma Cells As Therapeutic Target in Autoimmune Disease, 11th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity, Shanghai, CHI
- **13th International Conference on Tumor Necrosis Factor, Awaji, 15.05.11, JPN**
- V Kruglov AA, Critical Role Of Soluble Lt Produced By Lti Cells In Intestinal Iga Production
- V Sergei Nedospasov, Distinct functions of TNF and lymphotoxin as defined by mouse studies
- V 15.05.11, Andreas Radbruch, The organisation of immunological memory, 6th ENII EFIS/EJI Immunology Summer School 2011, Capo Caccia, ITA
- 16.05.11, Mei H, Frölich D, Giesecke C, Lodenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T, Chronic Differen-

- tiation Of Human Mucosal Iga-Secreting Cells During B Cell Depletion Therapy With Rituximab, 98th Annual Meeting of the AAI, San Francisco, USA
- 18.05.11, Pfeil J, Hamann A., Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Carrier-Conjugated Peptides, 5th German Meeting on Immune Regulation, Berlin-Schmöckwitz
  - **CYTO 2011, 20.05.11, Baltimore, USA**
    - ▼ Raluca Niesner, Enhancing the optical performance in dynamic intravital two-photon microscopy,
    - ▼ Chang Hyun-Dong, Maria Lexberg, Andreas Radbruch, Stability And Plasticity Of Th17 Cells Revealed By The Cytokine Secretion Assay
  - Schulte-Wrede Ursula, Marta Steinbrich-Zöllner, Joachim R. Grün, Toralf Kaiser, Till Sörensen, Thomas Häupl, Joachim Sieper, Andreas Radbruch, Andreas Grützkau, Cytometric Signatures As A Diagnostic And Prognostic Tool In Monitoring Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases
  - 21.05.11, Kirsten Minden, Der Einsatz von Biologika - ständig neue Aspekte, Kinderreumatologisches Symposium, Berlin
  - 21.05.11, Kirsten Minden, Pädiatrische Rheumatologie, PräEULAR - Neue Standards in der Rheumatologie - Kurs auf London, Berlin
  - **XXVI Congress of the International Society for The Advancement of Cytometry (ISAC), 21.05.11, Baltimore, USA**
    - ▼ Andreas Radbruch, Cytometric tracking of immunological memory – it's not in the blood,
    - ▼ Ria Baumgrass, Cytometry – challenges and opportunities to study transcriptional regulation (and dysregulation)
  - **EULAR, Annual European Congress of Rheumatology, 25.05.11, London, GBR**
    - ▼ Frank Buttgerit, Integrated Summary of Safety for Modified-Release Prednisone Compared to Immediate-Release Prednisone: Results from the "Circadian Administration of Prednisone in Rheumatoid Arthritis" (CAPRA) Studies
  - Gaber, T., Jakstadt, M., Hahne, M., Fangradt, M., Stahn, C., Hoff, P., Burmester, G.-R., Buttgerit, F., Hypoxia Affects The Impact Of Tocilizumab Treatment On The Cytokine Secretion From Chronically Activated Human Cd4+ T Cells
  - Hoff, P., Gaber, T., Hahne, M., Wagegg, M., Stahn, C., Fangradt, M., Schmidt-Bleek, K., Sentürk, U., Matziolis, D., Matziolis, G., Badakhshi, H., Burmester, G.R., Duda, G.N., Perka, C., Buttgerit, F., Preoperative Irradiation For The Prevention Of Heterotopic Ossification Induces Local Inflammation
  - Hoff, P., Kuhlmeier, A.K., Huscher, D., Gaber, T., Hahne, M., Maschmeyer, P., Belavý, D.L., Felsenberg, D., Burmester, G.R., Buttgerit, F., Effects Of Simulated Weightlessness On The Immune System: Results Of The 2Nd Berlin Bedrest Study
  - Stahn, C., Gaber, T., Jakstadt, M., Hahne, M., Hoff, P., Fangradt, M., Wagegg, M., Spies, C., Burmester, G.R., Buttgerit, F., Origin And Functional Activity Of The Human Membrane-Bound Glucocorticoid Receptor
  - Westhoff, G., Buttgerit, F., Zink, A., Fatigue And Morning Stiffness Are Correlated In Early Arthritis And Both Are Substantially Improved By Glucocorticoids
  - Inka Albrecht, Kristyna Hradilkova, Melanie Weber, Andreas Radbruch, Hyun-Dong Chang, Biomarkers For Pathogenic Memory T Cells And Their Function In Chronic Inflammation
  - ▼ Anja Strangfeld, Interpreting safety data from registries
  - ▼ Henrik Mei, Incomplete targeting of mucosal B cells by anti-CD20 therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis
  - ▼ Falk Hiepe, The mechanism of action of Belimumab, a BLYS-specific inhibitor, is consistent with biomarker and vaccine results from the phase 3 BLISS studies
  - Schmidt S, Hoyer BF, Mei H, Dörner T, Enhanced Levels Of Circulating Iga Plasmablasts Suggests Over-Activation Of Mucosal Immunity In Patients With Active SLE
  - ▼ Falk Hiepe, Case 1 presentation: Development of factor VIII inhibitor haemophilia in a SLE patient after immunoablation with ATG followed by autologous stem cell transplantation
  - ▼ Falk Hiepe, Case 1 discussion: Autologous stem cell transplantation in lupus
  - G. Riemekasten, A. Kill, M.O. Becker, A. Ghoffrani, M. Hoepfer, H. Heidecke, I. Luckitsch, D. Dragun, Functional Antibodies Against Endothelin-1 Receptor Type A (Etar) And Angiotensin II Type-1 Receptor (At1R) As Strong Predictor For Ssc-Related Pah And For Pah-Related Prognosis
  - C. Becker, M.O. Becker, G. Riemekasten, Scleroderma Health Assessment Questionnaire (Shaq) – An Excellent Predictor Of Outcome In Patients With Systemic Sclerosis
  - C. Beyer, J.H. Distler, Y. Allanore, J. Avouac, M. Aringer, L. Czirják, M. Cutolo, N. Damjanov, F. Del Galdo, K. Figelstone, S. Guiducci, O. Kowal-Bielecka, J.M. van Laar, U. Müller-Ladner, M. Matucci-Cerinic, G. Riemekasten, I.H. Tamer, A. Tyndall, A. Tyrrell Kennedy, G. Valentini, S. Vettori, U.A. Walker, C. Denton, O. Distler, EUSTAR Biobanking Group, Eustar Recommendations For The Collection, Storage, And Distribution Of Biospecimens In Systemic Sclerosis
  - K. Weinert, M. Becker, H. Heidecke, T. Haeupl, S. Pade, G.R. Burmester, D. Dragun, G. Riemekasten, Is There Any Link Between Disease Manifestations And The Presence Of Autoantibodies Against The Endothelin-1 Type A Receptor (Etar) In Rheumatoid Arthritis?
  - K. Weinert, M.O. Becker, H. Heidecke, K. Loewy, D. Dragun, G. Riemekasten, What Is The Diagnostic Impact Of Antibodies Against The Endothelin Receptor Type-A In Patients With Systemic Lupus Erythematosus?
  - M. Meunier, M. Matucci-Cerinic, B. Maurer, G. Riemekasten, F. Bartoli, G. Fiori, O. Distler, Y. Allanore, Outcomes Of Systemic Sclerosis Associated Polyarthritis Patients Treated By Biotherapies Tocilizumab Or Abatacept: A Eustar Observational Study
  - R. Undeutsch, S. Rosenberger, J. Humrich, P. Enghard, G. Riemekasten, Autoantigen-Specific Cd4+ T Cells In Murine Lupus In Dependence Of Disease State And Under Control Of Cd25+Foxp3+ Cd4+ Regulatory T Cells
  - S. Cappelli, S. Bellando-Randone, D. Martinovic, M.-M. Tamas, K. Pasalic, Y. Allanore, M. Mosca, R. Talarico, D. Opris, C. Kiss, A.-K. Tausche, S. Cardarelli, V. Riccieri, O. Koneva, G. Cuomo, M.O. Becker, A. Sulli, S. Guiducci, M. Radic, S. Bombardieri, M. Aringer, F. Cozzi, G. Valesini, L. Ananieva, G. Valentini, G. Riemekasten, M. Cutolo, R. Ionescu, L. Czirják, N. Damjanov, S. Rednic, M. Matucci Cerinic, Autoantibodies And Clinical Features Can Predict Evolution In Patients With Mixed Connective Tissue Disease (Mctd)
  - 09.06.11, Claudia Berek, Eosinophils are required for the long term survival of plasma cells in the bone marrow, Basel Institut für Immunology Meeting, Basel, CHE
  - 11.06.11, Margitta Worm, Epidemiology of food allergy, EAACI Congress, Istanbul, TUR
  - 12.06.11, Falk Hiepe, Long lived plasma cells and autoimmunity, B Cells an Protection: Back to Basics, San Feliu de Guixols, ESP
  - 15.06.11, Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Romagnani C, Human Nk Cell Differentiation And Acquisition Of Responsiveness To Activating Receptor Stimulation, KIR2011, Tammsvik, SWE
  - 16.06.11, Ria Baumgrass, Binary Decision Making in Gene Expression Control of T Lymphocytes, TR52 Meeting, Berlin
  - 16.06.11, Simon Fillatreau, Activated B cells: their role in immune regulation, NAT meeting, Nantes, FRA
  - 16.06.11, Pfeil J, Rigby A, Lauer U, Cording S, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Carrier-Conjugated Peptides, 14th Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology, Danzig, POL
  - 18.06.11, Margitta Worm, Aktualisierte Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der Insektengiftallergie, Insektenworkshop, Motzen
  - 20.06.11, Shebzukhov, Yu V, Epigenetic Regulation Of Tnf $\alpha$  Transcription, 14th German Meeting on T-cells: Subsets & Functions, Marburg
  - **International Eosinophil Society, Biennale Symposium, 21.06.11, Quebec, CAN**
    - ▼ Chu VT, Eosinophils Are Essential For The Long-Term Survival Of Plasma Cells In The Bone Marrow, Eosinophils for ever young
    - ▼ Claudia Berek, Eosinophils support the long term survival of plasma cells in the murine bone marrow, Eosinophils for ever young
  - 22.06.11, Andreas Radbruch, Resting memory: memory plasma cells and memory T helper cells, Henry Kunkel Society Annual Meeting, Washington DC, USA
  - Juni 2011, Enric Esplugues, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA
  - **FOCIS, Washington DC, 23.06.11, USA**
    - Albrecht Inka, Kristyna Hradilkova, Kerstin Westendorf, Melanie Weber, Mir-Farzin Mashreghi, Andreas Radbruch, Hyun-Dong Chang, Hoxp Is Required For The Persistence Of Pathogenic Th1 Cells
  - Stittrich Anna-Barbara, Claudia Haftmann, Evridiki Sgouroudis, Zhuo Fang, Nikolaus Rajewsky, Hyun-Dong Chang, Andreas Radbruch, Mir-Farzin Mash



- regh, Antagomir Mediated Inhibition Of Mir-182 Ameliorates Ova-Induced Arthritis In Mice
- V 24.06.11, Falk Hiepe, Ursache, Diagnostik und Differenzialdiagnostik reaktiver Arthritiden, Vortragsveranstaltung Seramun Diagnostica GmbH, Heidesee
  - 24.06.11, Stittrich AB, Haftmann C, Sgouroudis E, Kühl AA, Chang HD, Rajewsky N, Radbruch A and Mashreghi MF, Mir-182 Is Induced By Il-2 And Promotes Clonal Expansion Of Activated Helper T Lymphocytes, 14th German Meeting on T-cells: Subsets & Functions, Marburg
  - V 24.06.11, Anja Strangfeld, What can we learn from registries?, CEE Inflammation Forum, St. Petersburg, RUS
  - V 01.07.11, Margitta Worm, Anaphylaxie-Registervorteile für den Arzt, Galen SummerSchool, Charité Berlin, Berlin
  - V 02.07.11, Angela Zink, Kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, Symposium Rheuma und Herz, Rheumazentrum Göttingen
  - V 07.07.11, Angela Zink, Versorgung Rheumakranker in Deutschland, 3. Nationales Innovationsforum Medizin. Fokus: Immunologie, Berlin
  - V 10.07.11, Claudia Berek, Making and using monoclonal antibodies in research and medicine, People's University of Beijing, CHI
  - V 14.07.11, Claudia Giesecke, Secondary Tetanus Immunization Generates Clonally Related Antigen-Specific Plasma Cells and Memory B cells, AR:O.S.A. Expert Workshop: Current Rheumatology – Outcome, Science, Advances, PHC, Berlin
  - V 15.07.11, Falk Hiepe, Labordignostik bei Autoimmunerkrankungen, Rheumatologische Sommerakademie, Potsdam
  - V 16.07.11, Henrik Mei, Incomplete targeting of mucosal B cells by anti-CD20 therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis, AR:O.S.A. Expert Workshop Current Rheumatology, Berlin
  - V 16.07.11, Ina Wirries, Heterogeneity of plasma cells in human bone marrow, AR:O.S.A. Expert Workshop Current Rheumatology, Berlin
  - V 16.07.11, Stefanie Schmidt, Enhanced level of circulating IgA plasmablasts suggests over-activation of mucosal immunity in patients with active SLE, AR:O.S.A. Expert Workshop Current Rheumatology, Berlin
  - V 24.07.11, Angela Zink, Studientypen: RCT, Register und Kohorten, DGRh Summer School Rheumatologie, Düsseldorf
  - 2V 7.07.11, Andreas Radbruch, Neue Targets in der Therapie, Rheumatologische Summer School, Düsseldorf
  - V Juli 2011, Enric Esplugues, ISCIII, Madrid, ESP
  - 14.08.11, Mei H, Frölich D, Giesecke C, Lodenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T, Chronic Differentiation Of Human Mucosal Iga-Secreting Cells During B Cell Depletion Therapy With Rituximab, Keystone Meeting B Cells: New Insights into Normal versus Dysregulated Function, Whistler, CAN
  - V 15.08.11, Kirsten Minden, Kinderreumatologie - Schwierigkeiten in Diagnose und Therapie, Qualitätszirkel Orthopädie, Berlin
  - V 23.08.11, Falk Hiepe, BlyS als Ziel einer selektiven SLE-Therapie, Launch-Tagung Benlysta, Berlin
  - V 25.08.11, Henrik Mei, Blood-borne human plasma cell in steady state are derived from mucosal immune responses, 14th International Congress of Immunology, ICI, Kobe, JPN
  - V 27.08.11, Margitta Worm, Vortrag, Studien, Leitlinien, eigene Erfahrungen? Fragen und Antworten, Allergie Akademie, Berlin
- 39. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, DGRh, 31.08.-3.9.11, München
- Gaber, T., Jakstadt, M., Hahne, M., Fangradt, M., Strehl, C., Hoff, P., Burmester, G.-R., Buttgerit, F., Hypoxia Affects The Impact Of Tocilizumab Treatment On The Cytokine Secretion From Chronically Activated Human Cd4+ T Cells
- Hahne, M., Luetkecosmann, S., Tran, C. L., Strehl, C., Fangradt, M., Jakstadt, M., Kasper, G., Duda, G., Hoff, P., Gaber, T., Burmester, G.-R., and Buttgerit, F., Angiogenic Potential Of Hmecs – Analysis Of Two Hifa Isoforms And Their Overlapping Functions
- Hoff, P., Gaber, T., Hahne, M., Wagegg, M., Strehl, C., Fangradt, M., Schmidt-Bleek, K., Sentürk, U., Matziolis, D., Matziolis, G., Badakhshi, H., Burmester, G.R., Duda, G.N., Perka, C., Buttgerit, F., Preoperative Irradiation As Prophylaxis Of Heterotopic Ossification Induces Local Inflammation
- V Martin Hahne, Angiogenic potential of HMECS – analysis of two Hifa isoforms and their overlapping functions
- Strehl, C., Gaber, T., Hoff, P., Jakstadt, M., Schellmann, S., Hahne, M., Wagegg, M., Spies, C., Fangradt, M., Burmester, G.R., Buttgerit, F., Origin And Functional Activity Of The Human Membrane-Bound Glukokortikoid Receptor,
- Westhoff, G., Buttgerit, F., Zink, A., Fatigue Und Morgensteifigkeit Bei Früher Arthritis Korrelieren Miteinander Und Werden Durch Glukokortikoide Deutlich Gebessert: Ergebnisse Aus Capea
- V Kirsten Minden, Gesundheitsbezogene Lebensqualität von erwachsenen Patienten mit juveniler idiopathischer Arthritis (JIA), die im Kindesalter mit Etancercept behandelt wurden
- V Kirsten Minden, Transition in Deutschland: Status quo aus pädiatrischer und internistischer Sicht,
- V Martina Niewerth, Erfahrungen junger Rheumatiker beim Wechsel in die Erwachsenenmedizin zwei Jahre nach Verlassen der pädiatrischen Versorgung
- V Hyun-Dong Chang, The pathogenic T cell memory in chronic inflammation
- V Hyun-Dong Chang, IMPAM Netzwerk
- Stittrich A.-B., Haftmann C., Sgouroudis E., Fang Z., Rajewsky N., Chang H.-D., Radbruch A., Mashreghi M.-F, Inhibition Of Mir-182 Decreases Ova-Induced Arthritis In Mice
- Engler J.B., Undeutsch R., Kloke L., Rosenberger S., Backhaus, M., Schneider U., Egerer K., Dragun D., Hofmann J., Huscher D., Burmester G.-R., Humrich J.Y., Enghard P., Riemekasten G., Demaskierung Autoreaktiver Cd4+ T-Zellen Durch Depletion Der Cd25+ Regulatorischen T-Zellen Beim Systemischen Lupus Erythematodes
- Günther J., Calatayud Subias J.A., Kill A., Becker M., Riemekasten G., Systemic Sclerosis – Agonistic Auto-Antibodies Directed Against The Angiotensin Receptor Type 1 And The Endothelin Receptor Type A And Their Effects On Immune Cells
- Kill A., Guenther J., Becker M.O., Riemekasten G., Agonistische Autoantikörper Gegen Den Angiotensin Ii Typ-1- Und Den Endothelin 1 Typ-A-Rezeptor Von Patienten Mit Systemischer Sklerose Vermitteln Inflammatorische Und Fibrotische Effekte In Vitro
- Kötter I., Henes J., Schmalzing M., Vogel W., Riemekasten G., Kanz L., Autologe Stammzelltransplantation Mit Cd34-Selektion Bei Systemischer Sklerose – Monozentrische Erfahrungen Bei 26 Patienten
- Moinszadeh P., Hunzelmann N., Blank N., Distler J., Fehr A., Fierbeck G., Genth E., Himsel A., Juche A., Kötter I., Kreuter A., Krieg T., Melchers I., Pfeiffer C., Müller-Ladner U., Riemekasten G., Seitz C., Sunderkötter C., Das Patientenregister Des Deutschen Netzwerks Für Systemische Sklerodermie (Dnss): Daten Zum Verlauf Der Organbeteiligung Nach Vier Jahren Und Poliklinik Für Dermatologie Und Venerologie, Münster
- Riemekasten G., Kill A., Becker M., Heidecke H., Dragun D., Diagnostischer Und Prädiktiver Wert Von Funktionellen Antikörpern Gegen Den Angiotensin-Rezeptor-Typ-1 (At1R) Und Gegen Den Endothelin-Rezeptor-Typ-A (Eta) Für Die Entwicklung Eines Lungenhochdrucks Bei Systemischer Sklerose
- Strohbeck C., Meier F.M., Riemekasten G., Himsel A., Hergott I., Blank N., Bretzel R.G., Distler J., Seidel M., Müller-Ladner U., Gastrointestinale Beteiligung Bei Systemischer Sklerose (Ssc) Im Vergleich Zu Anderen Rheumatischen Erkrankungen
- Undeutsch R., Humrich J., Papendieck A., Riemekasten G., Cd4+ T Cells Producing Il-10 Have A Beneficial Effect In Murine Lupus
- V Anja Strangfeld, Abatacept im deutschen Biologika-Register, Abatacept-Experten-Forum, München
- V Anja Strangfeld, Unterschiede zwischen Mann und Frau bei rheumatoider Arthritis
- V Joachim Listing, RA-Patienten, die eine Remission nach den neuen EULAR/ACR-Kriterien erreichen, haben eine der Normalbevölkerung vergleichbare Funktionsfähigkeit
- V Gisela Westhoff, Fatigue - eine unterbewertete Manifestation rheumatischer Krankheiten
- V Gisela Westhoff, Sensitivität und Spezifität der neuen ACR-EULAR RA Klassifikationskriterien in der Praxisroutine (CAPEA)
- V Gisela Westhoff, Verlauf und Prognose der frühen Arthritis - CAPEA
- V Dörte Huscher, Vergleich der neuen ACR/EULAR Remissionskriterien mit der DAS28-Remission bei Patienten mit rheumatoider Arthritis – Daten der Kerndokumentation
- V Capucine Daridon, The humanized anti-CD22 antibody epratuzumab affects adhesion molecule

expression and migration of B-cells in systemic lupus erythematosus

▼ Henrik Mei, Success and limits of B cell depletion therapy

▼ Henrik Mei, Regulation of protective and auto-reactive humoral memory

Mei H, Frölich D, Giesecke C, Loddenkemper C, Reiter K, Schmidt S, Feist E, Daridon C, Tony HP, Radbruch A, Dörner T, Incomplete Targeting Of Mucosal B Cells By Anti-Cd20 Therapy With Rituximab In Patients With Rheumatoid Arthritis

▼ Falk Hiepe, Vom Schrotschuss zur zielgerichteten Therapie., Symposium SLE-Therapie 2011

▼ Gabriela Riemekasten, Vorsitz Symposium Systemsklerose, Sjögren, Myositiden. Und "Systemsklerose"

▼ Gabriela Riemekasten, Management digitaler Ulzerationen bei Patienten mit SSC

Gabriela Riemekasten, Reinmar Undeutsch, Symposium Start-Up Projekte - Evaluation der Behandlung eines Lupus mit wiederholter Gabe einer Autoantigen-Aminosäuresequenz

Capucine Daridon, Daniela Blaßfeld, Karin Reiter, Henrik E. Mei, Claudia Giesecke, David M. Goldenberg, Arne Hansen, Arwed Hostmann, Daniela Frölich and Thomas Dörner, The Humanized Anti-Cd22 Antibody Epratuzumab Affects Adhesion Molecule Expression And Migration Of B-Cells In Systemic Lupus Erythematosus

▼ Henrik Mei, The human bone marrow is a major site of CD19-negative plasma cells characterized by advanced maturity and IgG production

Mei H, Wirries I, Frölich D, Giesecke C, Perka C, Radbruch A, Dörner T, The Human Bone Marrow Is A Major Site Of Cd19-Negative Plasma Cells Characterized By Advanced Maturity And IgG Production

Schmidt S, Hoyer BF, Mei H, Dörner T, Enhanced Levels Of Circulating Iga Plasmablasts Suggests Over-Activation Of Mucosal Immunity In Patients With Active SLE

▼ Gabriela Riemekasten, Rheuma und Lunge

▼ Gabriela Riemekasten, Symposium Gender Aspekte rheumatischer Erkrankungen - Einfluss des Geschlechts auf Epidemiologie und Verlauf der Kollagenosen

■▼ 01.09.11, Andreas Radbruch, Regulation of memory Th cell differentiation and survival by microRNA, 2nd Chinese-German Immunology Meeting of the DGfI: Immunotherapy: From Basic to Clinics, Peking, CHI

■ 03.09.11, Chieko Kyogoku, Defining T Helper (Cd4) Cell-Specific Disease Signatures In Active, Inactive And Stem Cell Transplanted Lupus Patients By Global Gene Expression Profiling Immune-Related Pathologies: Understanding Leukocyte Signaling And Emerging Therapies, IMPULSE 2011 (Immune-related Pathologies: Understanding Leukocyte Signaling and Emerging therapies), Visegrad, UNG

■▼ 04.09.11, Frölich D, Giesecke C, Mei H, Reiter K, Daridon C, Lipsky PE, Dörner T, Secondary Immunization Generates Clonally Related Antigen-Specific Plasma Cells And Memory B Cells, 17th Germinal Centre Conference, Wishaw, GBR

■▼ 05.09.11, Hyun-Dong Chang, The adaptive immune system and bone biology, International Society for Fracture Repair, Würzburg

■ 08.09.11, Claudia Haftmann, Anna-Barbara Stittrich, Gitta Heinz, Hyun-Dong Chang, Nikolaus Rajewsky, Andreas Radbruch, Mir-Farzin Mashreghi, Regulation Of Pathogenic Effector Memory T Helper 1 Cell Survival By MicroRNA, 7th Annual Meeting of the Oligonucleotide-Therapeutics-Society, Copenhagen, DAN

■▼ 08.09.11, Margitta Worm, Sektions- und AG-Sitzungen Dermatologie; Praxisnahes Fortbildungssymposium: Anaphylaxie, "Anaphylaxie Register Update 2011, 6. Deutscher Allergiekongress Wiesbaden "100 Jahre spezifische Immuntherapie", Wiesbaden

■▼ 09.09.11, Anja Strangfeld, Risk of herpes zoster in patients treated with biologicals, DANBIO 10th anniversary, Copenhagen, DAN

■▼ 14.09.11, Angela Zink, Safety Data from RABBIT, Registries Convention, Rome, ITA

■▼ 15.09.11, Andreas Radbruch, The resting and the pathogenic immunological memory, Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Immunologie, Graz, AUT

■▼ 17.09.11, Falk Hiepe, Laborparameter zur Prädiktion von systemischer Sklerose und digitaler Ulzerationen, 3. Deutsches SSC-Forum, Berlin

■▼ 18.09.11, Falk Hiepe, Vom Schrotschuss zur zielgerichteten Therapie: Benlysta und andere neue Medikamente für Lupus, Fortbildungsveranstaltung der Lupus-Selbsthilfegemeinschaft, Kassel

■▼ 20.09.11, Kirsten Minden, Juvenile Idiopathische Arthritis (JIA) von Fall zu Fall, Pressekonferenz Pfizer, Berlin

#### ■ Kitasato Symposium, 21.09.11, Potsdam

▼ Alf Hamann, Peptides reloaded - new strategies for tolerogenic vaccination

▼ Simon Fillatreau, Activated B cells: Pathogenic and Protective Cytokine Producers

▼ Andreas Radbruch, Cytokine imprinting – mechanisms for memory

#### ■ Arbeitstreffen "Curriculare Modernisierung und bessere Versorgung der Rheumapatienten in der Republik Moldova (CuMoRheM)", Moldova-Institut, 22.09.11, Leipzig

▼ Kirsten Minden, Rheumatologische Kerndokumentation

▼ Dörte Huscher, Rheumatologische Kerndokumentation

#### ■ 10th Dresden Symposium on Autoantibodies, 22.09.11, Dresden

Angela Kill, Jeannine Günther, Mike O. Becker, Harald Heidecke, Duska Dragun, Gabriela Riemekasten, Role Of Agonistic Autoantibodies Directed To The Angiotensin II Type 1 And The Endothelin-1 Type A Receptors In Systemic Sclerosis,

Jeannine Günther, J.A. Calatayud Subias, A. Kill, M.O. Becker, G. Riemekasten, Systemic Sclerosis

– Agonistic Auto-Antibodies Directed Against The Angiotensin Receptor Type 1 And The Endothelin Receptor Type A And Their Effects On Immune Cells

Mike Becker, Angela Kill, Reinmar Undeutsch, Christoph Tabeling, Martin Witzentrath, Wolfgang M. Kuebler, Sebastian Bock, Rudi Samapati, Harald Heidecke, Ivo Lukitsch, Duska Dragun, Gabriela Riemekasten, Role Of Functional Antibodies Against Vascular Receptors In Systemic Sclerosis

▼ Falk Hiepe, Concepts of plasma cell targeting

#### ■ Jahrestagung der deutschen und italienischen Gesellschaft für Immunologie (SIICA+DGfI), 28.09.11-30.09.11, Riccione, ITA

▼ Krüger M, Regulated Heterogeneity In Endogenous C-Fos Protein Levels Ensures Variability And Robustness In Il-2 Decision Making Within The Memory Th Cell Population

▼ Chu Van Trung, Plasma cell survival niche: Eosinophil and plasma cell communication

▼ Smiljanovic B, The Multifaceted Balance Of Tnf-Alpha And Type I/ii Ifn Responses In Sle And Ra: How Monocytes Manage The Impact Of Cytokines

Franke RK, Weber JP, Fuhrmann F, Vu Van D, Burmeister Y, Hutloff A, The Relevance Of The Inducible Costimulator Icos For T Follicular Helper Cells

Vu Van D, Franke RK, Beier KC, Hutloff A, The Role Of The Inducible Costimulator Icos For Local T/B Cell Cooperation In A Murine Model Of Allergic Airway Inflammation

Mir-Farzin Mashreghi, Regulation of memory Th cell differentiation and survival by microRNA

Köck Juliana, Stephan Kreher, Farah Hatam, Ria Baumgrass, Andreas Radbruch, Hyun-Dong Chang, Nfat Regulates The Expression Of Interleukin-4 In An All-Or-Non Fashion In Th2 Cells

Juelke K, Killig M, Luetke-Eversloh M, Romagnani C, Human Nk Cell Differentiation And Acquisition Of Responsiveness To Activating Receptor Stimulation

▼ Hauser AE, Lifetime Of Antibody Secreting Cells In Mucosal Immune Responses

▼ Löhning M, Virus Infection Reprograms Th2 Cells Into A Stable Gata-3+ T-Bet+ "Th2+1" Hybrid Cell Subset

■▼ 28.09.11, Falk Hiepe, Die Bedeutung der B-Zellen in der Pathogenese entzündlich-rheumatischer Erkrankungen., Immunologische Grundlagen der Rheumatologie 2011, Herne

■▼ 28.09.11, Anja Strangfeld, Neue Immuntherapeutika vor und nach der Zulassung: was wir von Rheumatologen lernen können, 84. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Neurologie, Wiesbaden

■▼ 28.09.11, Margitta Worm, Retinoide und Hautbarriere, 27. Fortbildungskongress „Fortschritte der Allergologie, Dermatologie, Pneumologie“, Davos, CHE

■▼ 29.09.11, Kirsten Minden, Therapie mit Biologika sowie deren Einfluss auf den Krankheitsverlauf der juvenilen idiopathischen Arthritis, 109. Kongress der DOG, Berlin

- V 30.09.11, Falk Hiepe, The Role of Plasma Cells in Autoimmunity, 11 th International Symposium on Sjögren's Syndrome, Athen, GRE
- V 06.10.11, Tobias Scheel, Quantitative Single Cell Analysis of Endogenous Transcription Factor Expression Levels Reveals NFATc2 and c-fos as Limiting Factors for IL-2 Production, 7th Workshop Molecular Interactions, Berlin
- V 07.10.11, Martina Niewerth, Sozioökonomische Relevanz entzündlich-rheumatischer Erkrankungen im Kindesalter, 49. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde, Villach, AUT
- V 07.10.11, Andreas Radbruch, The organization of the resting immunological memory, Annual Meeting of the Croatian Immunological Society, Rabac, CRO
- V 08.10.11, Kirsten Minden, Transition - Übergang vom Kind zum Erwachsenen, JIA Symposium, Leipzig
- 08.10.11, Angela Zink, Aktiv im Leben trotz Rheuma, Jahrestagung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte, Berlin
- **3rd Autumn School, DGFI, 09.10.11, Bad Schandau**
- V Gabriel, C, Identification And Functional Characterization Of Interaction (Partners) In Tcr Induced Signalling Pathways
- V Jargosch, M, Identification And Functional Characterization Of Critical Transcription Factors During T Helper Cell Fate Decisions
- V Claudia Berek, Plasma cells
- **21. Jahrestagung der Deutschen Zytophotometrie Gesellschaft, 12.10.11, Bonn**
- V Tobias Scheel, Quantitative Single Cell Analysis of Endogenous Transcription Factor Expression Levels Reveals NFATc2 and c-fos as Limiting Factors for IL-2 Production
- V Raluca Niesner, Advances in dynamic intravital two-photon microscopy - focus on optical performance and molecular specificity
- V 14.10.11, Angela Zink, Safety of TNF Antagonists, International Immunology Masterclass: Mini-Symposium 2: Efficacy and safety of TNF antagonists – Data obtained from registries, Bratislava, TSE
- V 21.10.11, Falk Hiepe, Der SLE - eine Geschichte mit offenem Ende, Benlysta- Launsch-Symposium, München
- 23.10.11, Pfeil J, Lauer U, Rigby A, Cording S, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Carrier-Conjugated Peptides, 2nd International Conference on Immune Tolerance, Amsterdam, NLD
- V 26.10.11, Falk Hiepe, Diagnose des Systemischen Lupus Erythematodes (SLE), Systemischer Lupus Erythematodes - ein Update zu Diagnostik und Therapie, EuMeCom-Fortbildung, Berlin
- V 26.10.11, Falk Hiepe, Therapie des Systemischen Lupus Erythematodes (SLE), Systemischer Lupus Erythematodes - ein Update zu Diagnostik und Therapie, EuMeCom-Fortbildung, Berlin
- V 26.10.11, Margitta Worm, Anaphylaxie, Investigatorentreffen, Berlin
- **Keystone Symposium Immunological Mechanisms of Vaccination, 27.10.11, Seattle, USA**
- V Claudia Giesecke, Secondary immunization generates clonally related antigen-specific plasma cells and memory B cells
- Frölich D, Giesecke C, Mei H, Reiter K, Daridon C, Lipsky PE, Dörner T, Secondary Immunization Generates Clonally Related Antigen-Specific Plasma Cells And Memory B Cells
- V 27.10.11, Margitta Worm, Systemtherapie des chronischen Handgelenks - warum eine frühe Behandlung sinnvoll ist, ABD Tagung, Dresden
- **75th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology, ACR, Chicago, USA**
- Boers M, Buttgerit F, A Simple Model That Suggests Possible Cost Savings When Modified-Release Prednisone 5Mg/Day Is Added To Current Treatment In Patients With Active Rheumatoid Arthritis, 04.11.11, Buttgerit, F., Szechinski, J., Doering, G., Witte, S., Knauer, C., Grahn, A.Y., Saag K.G., Alten R., Integrated Safety Summary Of Modified-Release Prednisone And Immediate-Release Prednisone Comparing Doses <5Mg/Day Versus >5Mg/Day
- Fangradt, M., Gaber, T., Hahne, M., Hoff, P., Jakstadt, M., Strehl, C., Burmester, G.-R., and Buttgerit, F., Mechanisms Of Human Monocytes And Macrophages To Adapt To Hypoxia
- Hahne, M., Luetkecosmann, S., Tran, C. L., Strehl, C., Fangradt, M., Jakstadt, M., Duda, G., Hoff, P., Gaber, T., Burmester, G.-R., and Buttgerit, F., Differential Regulatory Functions Of Hif-1 And Hif-2 During Angiogenesis Of Human Microvascular Endothelial Cells (Hmecs)
- Spies, C.M., Gaber, T., Hoff, P., Mazuch, J., Maier, B., Hahne, M., Strehl, C., Tran, C.L., Soboleva, N., Stoehr, A., Lohanatha, F.L., Wagegg, M., Fangradt, M., Jakstadt, M., Huscher, D., Burmester, G.-R., Dert, J., Kramer, A., Buttgerit, F., Circadian Rhythms Of Cellular Immunity In Rheumatoid Arthritis
- Westhoff G, Zink A, Buttgerit F, Fatigue And Morning Stiffness Are Correlated In Early Arthritis And Both Are Substantially Improved By Glucocorticoids
- Muhammad Khalid, Arumugam Palanichamy, Petra Roll, Stefan Kleinert, Thomas Dörner, Hans-Peter Tony, Reduced Imprints Of Receptor Editing At The Immunoglobulin  $\kappa$  And  $\lambda$  Light Chain Loci During Rituximab Treatment
- Sieger N, Reiter K, Mei H.E., Shock A, Daridon C and Dörner T, Epratuzumab Inhibits Upstream B Cell Receptor Signaling And Modulates Ca2+ Flux Upon Activation
- Tony Hans-Peter, Petra Roll, Henrik Mei, Lara Gnuegge, Monika Kobialko, Thomas Dörner, Value Of Predictive B Cell Markers For Euler Response To Rituximab In Patients With Rheumatoid Arthritis
- V Hyun-Dong Chang, Organisation of immunological memory by bone marrow stroma

Bossini-Castillo Lara, Jose Ezequiel Martin, Jasper Broen, Carmen Pilar Simeon, Lorenzo Beretta, Madelon C. Vonk, Patricia E. Carreira, Spanish Scleroderma Group, Gabriela Riemekasten, Nicolas Hunzelmann, Alexandre E. Voskuyl, Annemie Schuerwegh, Oyvind Palm, Roger Hesselstrand, Annika Nordin, Claudio Lunardi, Paul Shiels, Jacob M. Van Laar, Ariane L. Herrick, Filemon K. Tan, Shervin Assassi, Carmen Fonseca, Maureen D. Mayes, Timothy Radstake, Javier Martin, A Genome-Wide Association Study Follow-Up Strategy Reveals The Association Of Il12Rb2 Gene With Systemic Sclerosis In Caucasian Populations,

Deliadiconu-Popa, Madelon C. Vonk, Roger Hesselstrand, Patricia E. Carreira, Gabriele Valentini, Lorenzo Beretta, Paolo Airo, Murat Inanc, Alexandra Balbir-Gurman, Stanislaw Sierakowski, Yannick Allanore, Laszlo Czirkjak, Valeria Ricciari, Roberto Giacomelli, Armando Gabrielli, Gabriela Riemekasten, Marco Matucci-Cerinic, Dominique Farge, Nicolas Hunzelmann, Frank H.J. van den Hoogen, Jaap Fransen, Development And Validation Of A New Clinical Prediction Rule For 5-Year Survival In Early Scleroderma, A Eustar Study

Dieude Philippe, Matthieu Bouaziz, Gabriela Riemekasten, Paolo Airo, Martina Müller, Daniele Cusi, Gilles Chiochia, Catherine Boileau, Yannick Allanore and Genesys Consortium, Evidence For The Contribution Of The X Chromosome To Systemic Sclerosis Susceptibility: Association With The Functional Irak1 196Phe/532Ser Haplotype

Ezequiel Jose Martin, Jasper Broen, Olga Y. Gorlova, Madelon C. Vonk, Spanish Scleroderma Group, Alexandre Voskuyl, Annemie Schuerwegh, Marie Vanthuyne, Vanessa Smith, Rene Westhovens, Elfride de Baere, Alexander Kreuter, Gabriela Riemekasten, Roger Hesselstrand, Annika Nordin, Oyvind Palm, Paolo Airo, Nicolas Hunzelmann, Lorenzo Beretta, Filemon K. Tan, Frank C. Arnett, Maureen D. Mayes, Timothy Radstake, Javier Martin, Bobby P.C. Koeleman, Identification Of Novel Genes Associated With Systemic Sclerosis Through Genome Wide Association Study Follow-Up

Johnson Jose, Jaap Fransen, Dinesh Khanna, Thomas A. Medsger, Christine A. Peshken, Patricia Carreira, Gabriela Riemekasten, Alan G. Tyndall, Marco Matucci-Cerinic, Murray Baron, Frank Van den Hoogen, Janet E. Pope, Validation Of Potential Classification Criteria For Systemic Sclerosis

Kill Angela, Mike O. Becker, Jeannine Guenther, Harald Heidecke, Duska Dragun, Gabriela Riemekasten, Anti-At(1)R And Anti-Et(A)R Autoantibodies In Systemic Sclerosis: Indication Of Possible Involvement In Disease Pathology

Kill Angela, Reinmar Undeutsch, Christoph Tabeiling, Martin Witzzenrath, Wolfgang M. Kuebler, Sebastian Bock, Rudi Samapati, Harald Heidecke, Ivo Lukitsch, Duska Dragun and Gabriela Riemekasten, Systemic Sclerosis As Prototypic Disease For Functional Antibodies Against Vascular Receptors: From Beside To Bench And Mouse Models

Meunier Marine, Marco Matucci Cerinic, Britta Maurer, Gabriela Riemekasten, Raffaele Pellerito, Carlos Alberto von Mühlen, Alessandra Vacca, Paolo Airo, Francesca Bartoli, Ginevra Fiori, Oliver Distler, Yannick Allanore, Biotherapies Tocilizumab Or Abatacept: A Eustar Observational Study

Strohbeck Christiane, Florian MP Meier, Gabriela Riemekasten, Christiane Pfeiffer, Andrea Himsel, Ilka Herrgott, Norbert Blank, Jorg HW Distler, Matthias Seidel, Nicolas Hunzelmann, Ulf Müller-Ladner, Clinical Features Of Gastrointestinal Involvement In Patients With Systemic Sclerosis



- ▼ Dörte Huscher, Performance of the new ACR/EULAR remission criteria compared to DAS28 remission in unselected real-life patients with rheumatoid arthritis
- ▼ Anja Strangfeld, Impact of Different Biologic Agents on the improvement of fatigue
- 04.11.11, Pfeil J, Rigby A, Hamann A, Hoffmann U, Tolerogenic Vaccination, SFB 650 Retreat, Berlin
- 05.11.11, Margitta Worm, Anaphylaxie bei Neurodermitis Patienten, Derma Kompakt, Berlin
- 07.11.11, Shebzukhov, Yu V, Decreased Activity Of Mapk/Ap1 Signaling Pathway Limits The Expression Levels Of Inflammatory Cytokines In Th0 And Th2 Cells, The 15th STS Meeting 2011: Signal Transduction - Receptors, Mediators and Genes, Weimar
- 12.11.11, Claudia Berek, Eosinophils are required for the long-term survival of plasma cells, Universität Würzburg, Würzburg
- **Research Center ImmunoSciences (RCIS), Berlin Immunology Day, 14.11.11, Berlin**
- ▼ Andreas Grützkau, Multiparameter flow cytometry analysis of peripheral blood mononuclear cells in ankylosing spondylitis
- Kenngott E, Kröger M, Pfeil J, Hoffmann U, Rigby A, Hamann A, Improving The Efficacy Of Peptide Vaccination By Targeting Tolerogenic Pathways
- Pfeil J, Rigby A, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Immunosuppression By Carrier-Conjugated Peptides, 14.11.11, Pfeil J, Lauer U, Rigby A, Cording S, Hamann A, Hoffmann U, Induction Of Antigen-Specific Tolerance By Carrier-Conjugated Peptides
- ▼ Löhning, M, Generation, Maintenance And Reprogramming Of Immunological Memory
- 15.11.11, Andreas Radbruch, Erfahrungen eines erfolgreichen Antragstellers, European Research Council – Advanced Grants: Workshop für AntragstellerInnen der Leibniz-Gemeinschaft, Berlin
- 16.11.11, Falk Hiepe, Plasmazellen als Zielzellen in der Therapie des SLE., Fortbildung EUMECOM, Heidelberg
- 17.11.11, Falk Hiepe, Plasma cells and autoimmunity, Seminar MerckSerono, Genf, CHE
- 19.11.11, Martina Niewerth, Aktuelle Daten zur Versorgung junger Rheumatiker, Veranstaltung des Rheumazentrums München zum Thema "Transition in der Rheumatologie, München
- 24.11.11, Falk Hiepe, Bedeutung der Interferon-Gensignatur bei Konnektivitäten, 13. Berner Immunologie - Tag Systemischer Lupus Erythematoses, Bern, CHE
- 25.11.11, Anja Strangfeld, Tumorrisiko bei Patienten unter konventioneller und Biologika-Therapie, B-Zell-Forum, Nürnberg
- 26.11.11, Kirsten Minden, Neue Therapien in der Kinderreumatologie und ihre Konsequenzen, Rheumatologisches Harzsymposium, Wernigerode
- 26.11.11, Margitta Worm, Anaphylaxie - Was können wir aus Registerdaten lernen und wie können wir die Versorgung verbessern, Anaphylaxie-Konferenz, Szczecin, POL
- 30.11.11, Angela Zink, Epidemiologische Studien am DRFZ: Aktuelle Ergebnisse, Jahrestagung des Regionalen Rheumazentrums Berlin, Berlin
- 01.12.11, Claudia Berek, B lymphocytes and sustained autoantibody production, Expanding Autoimmunity Menarini Diagnostics, Lissabon, PRT
- 02.12.11, Löhning, M, Programmierung Von Gedächtnis-Zellen Des Immunsystems Als Beispiel Für Zelluläre Lernprozesse, BBAW-Minisympodium Biochemie – Molekularbiologie, Berlin
- 03.12.11, Margitta Worm, Das chronische Handekzem, 21. Jahrestagung der Dermatologen Brandenburgs, Potsdam
- 06.12.11, Anja Strangfeld, Transformation von Registerdaten in die Praxis, 18. Charité-Trainingskurs Rheumatologie, Berlin
- 07.12.11, Löhning, M, Virus Infection Reprograms Th2 Cells Into A Stable Gata-3+ T-Bet+ "Th2+1" Hybrid Cell Subset, Annual Congress of the British Society of Immunology, BSI, Liverpool, GBR
- 09.12.11, Falk Hiepe, Der komplizierte Fall: Falldiskussionen zu autoimmunen Gerinnungsstörungen und Kollagenosen, 18. Charité-Trainingskurs Rheumatologie, Berlin
- 12.12.11, Margitta Worm, Training on anaphylaxis, Investigator Meeting, Washington DC, USA
- 14.12.11, Chiara Romagnani, Signatures of NK cell differentiation, CIM Karolinska, Stockholm, SWE
- 16.12.11, Ria Baumgrass, Impaired TcR-signaling promotes Treg cell differentiation, SFB 650 Meeting, Berlin
- 16.12.11, Henrik Mei, B and plasma cell disturbances in SLE, Biomarkers in Rheumatology: 2nd GISEA International Meeting, Rome, ITA
- 17.12.11, Falk Hiepe, Innovative Therapieoptionen bei SLE, Kollagenose-Club, Hamburg
- 17.12.11, Andreas Radbruch, Good memory – bad memory, Wissenschaftliches Symposium „Immunität und Immundefizienz“ anlässlich des 60. Geburtstages von Prof. Dr. Reinhold E. Schmidt, Hannover
- 20.12.11, Max Löhning, Generation, maintenance and reprogramming of immunological memory, Immunology Seminar Series, Erlangen
- 02.12.12, Kirsten Minden, Transition - Wunsch und Wirklichkeit, Fachtagung zur Versorgungssituation rheumatischer Kinder und Jugendlicher, Fulda



Das DRFZ präsentiert sich regelmäßig auf dem Kongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie mit einem Informationsstand den Ärzten, Wissenschaftlern und Patienten. 39. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, DGRh, 31.08. - 3.9.11, München



# Qualifikationen 2010 | 2011

## Bachelor 2010

Nina Hahne, 2010, Immunantwort der Adbl GATA-1 Maus im Vergleich zu Normaltieren, Beuth Hochschule für Technik Berlin

Fanny Wegener, 2010, Gewinnung und Charakterisierung polyklonaler Antikörper gegen wichtige Transkriptionsfaktoren während der T-Zell-Aktivierung, Universität Potsdam

## Bachelor 2011

Theresa Bartossek, 2011, Gewinnung und funktionelle Charakterisierung von polyklonalen Antikörpern gegen wichtige Transkriptionsfaktoren/Signalwegsmoleküle bei der Induktion von regulatorischen T-Zellen, Universität Potsdam

Maria Jäpel, 2011, Transkriptionelle Regulation des Foxp3-Gens durch Bindung von NFATc2, Smad3 und TGIF am Promoter, Hochschule Lausitz (FH)

## Master 2010

Ferez L. Lohanatha, 2010, Optimization of Bone Fracture Healing through In Vitro Modulation of HIF-Signaling Cascade in Human Mesenchymal Stem Cells, Charité

Jenny Thom, 2010, Epigenetic Regulation of IFN $\gamma$  in Human Natural Killer cells, Charité

## Master 2011

David Cartoixa Cartoixa, 2011, Genome wide analysis of Th17 signature genes, University of Barcelona, ESP

Basak Burcu Cicek, 2011, Transcriptional Regulation of the IFN $\gamma$  Gene in Human Natural Killer cells, Charité

Jenny Gerhard, 2011, Aktivierung der NADPH oxidase in Mikroglia bei NAD(P)H-basiertem FLIM, FU

Claudia Giesecke, 2011, Characterization of tetanus-specific human B effector cells in healthy donors and splenectomized individuals, Charité

## Diplom 2010

Claudia Haftmann, 2010, Transcriptional regulation of miRNA cluster miR-183-96-182 in T helper lymphocytes, HU

Laura Oehme, 2010, *in vivo* imaging of germinal center B cell migration, FU

Claudia Schlundt, 2010, Molekulare Wirkmechanismen ausgewählter Transkriptionsfaktoren auf die Signaltransduktion in T-Zellen, FU

Jürgen Reiser, 2010, Effekt der Modulation der Antigen-Präsentation durch Autoantigen - gekoppelte Antikörper gegen DEC205 und 33D1 auf den murinen Lupus, Charité

Katherine Sturm, 2010, Etablierung einer zytometrischen Hochdurchsatzmethode zur Testung der Spezifität von Inhibitoren in primären humanen T-Lymphozyten, Universität Potsdam

## Diplom 2011

Aleksandre Beller, 2011, Vergleich der Genexpression in verschiedenen Plasmazellpopulationen, FU

Lina Burbat, 2011, Untersuchung der transkriptionellen Regulation von Zytokinen in aktivierten murinen T – Helferzellen, Universität Potsdam

Katharina Jörß, 2011, Einfluss eines Vitamin-D-Rezeptor-Agonisten auf die atopische Dermatitis im Mausmodell - Bedeutung regulatorischer T-Zellen, Charité

Stefanie Schmidt, 2011, Charakterisierung von Immunabnormalitäten bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis – Beiträge zur Etablierung von Biomarkern für das individuelle Ansprechenverhalten auf Rituximab-Therapie, TU

Frank Thormann, 2011, Einfluss diätetischer mehrfach ungesättigter Fettsäuren und Präbiotika auf die allergische Immunantwort in der Haut, Charité

Ralph Willebrand, 2011, Die Rolle von Camta\_1 für die Funktion humaner regulatorischer T-Zellen, FU

## Medizinische Doktorarbeiten 2010

Tobias Alexander, 2010, Rekonstitution des adaptiven Immunsystems nach Immunablation und autologer hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei therapierefraktärem systemischen Lupus erythematoses, Charité

Katharina Dickhaut, 2010, Charakterisierung von niedermolekularen MHC Klasse II Beladungskatalysatoren (MLE) *in vitro* und *in vivo*, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Jan Broder Engler, 2011, Autoaggressive und regulatorische T-Zellen beim Systemischen Lupus Erythematoses – Ein dynamisches Gleichgewicht, Charité

Milena Milovanovic, 2010, Characterization of the vitamin D receptor complex at the epsilon germline promoter, HU

Daniel Panne, 2010, Einwanderung von B-Lymphozyten und Plasmazellen in entzündetes Gewebe am Beispiel der murinen Lupusnephritis, Charité

## Medizinische Doktorarbeiten 2011

Kristina Beyer, 2011, Anaphylaxie im Notarzteinsatz – Ergebnisse aus zwei Jahren Datenerhebung in Berlin, Charité

Sabine Dölle, 2011, Neue Therapieansätze bei der Nahrungsmittelallergie und der atopischen Dermatitis, Charité

Tim Hollstein, 2011, Retinoic acid and B cells, Charité

Anastasia Mikusheva, 2011, Role of Interleukin 6 in Breast Cancer Cell Growth in Bone, Charité

Nicole Wendt, 2011, Plazeboeffekt bei Atopie, Charité

## Naturwissenschaftliche Doktorarbeiten 2010

Inka Albrecht, 2010, Identifizierung und Charakterisierung neuartiger Target-Gene in chronisch aktivierten Th Zellen, Humboldt-Universität zu Berlin

Hanna Bendfeldt, 2010, Untersuchung der Expression und Translokation von Transkriptionsfaktoren bei der Aktivierung von T-Helfer- und Regulatorischen T-Zellen, Freie Universität Berlin

Elisabeth Calderon-Gomez, 2010, Engineered B cells as cell-therapy for central nervous system autoimmunity, Humboldt-Universität zu Berlin

Kerstin Juelke, 2010, Role of Cytokines for NK cell Competence and Differentiation, Humboldt University-Berlin

Claudia Leichsenring, 2010, Regulation of the Expression of Gut- Homing Molecules, Freie Universität Berlin

Maria Lexberg, 2010, Stability and plasticity of IL-17 expression in Th17 cells, Technische Universität Berlin

Edda Schulz, 2010, Experimental and Mathematical Analysis of T- helper Lymphocyte Differentiation, HU

Matthias Sieber, 2010, Modulatoren des Calcineurin-NFATc-Signalweges in humanen TH-Zellen, Universität Potsdam

## Naturwissenschaftliche Doktorarbeiten 2011

Claudia Brandt, 2011, Molekulare Mechanismen der T Zellmodulation bei der Cyclosporin A-Therapie von PatientInnen mit atopischer Dermatitis, FU

Monique Fangradt, 2011, Adaptation von primären humanen Monozyten/Makrophagen an Hypoxie, TU-Berlin/Charité

Stefan Frischbutter, 2011, Die Dephosphorylierung des Adapterproteins Bcl-10 durch die Ser/Thr-Phosphatase Calcineurin ist essentiell für die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in Th-Lymphozyten, FU

Lotta Gäwert, 2011, Registerdaten zur Risikobewertung neuer Therapien am Beispiel der Biologikatherapie der rheumatoiden Arthritis. Die Bedeutung der Patientenangaben in der Erfassung unerwünschter Ereignisse, Charité

Kerstin Geldmeyer-Hilt, 2011, Vitamin D inhibits NF- $\kappa$ B activation in B cells and controls the humoral immune response, TU

Björn Hartmann, 2011, Vitamin D receptor activation modulates the allergic immune response, TU

Juliana Köck, 2011, Regulation und Kontrolle des Zytokins Interleukin-4 in T Helferlymphozyten, HU

Vicky Lampropoulou, 2011, TLR/MyD88 signaling in B cells suppresses T cell-mediated CNS autoimmunity, TU

Anna-Barbara Stittrich, 2011, Untersuchung der Funktion von microRNAs in T Helfer Lymphozyten, HU

Cindy Strehl, 2011, Analyse von Herkunft und funktioneller Aktivität humaner membranständiger Glucocorticoidrezeptoren, TU/Charité

Balint Szilagy, 2011, Regulation of the Gut-Homing Receptor alpha4beta7 and the Chemokine Receptor CCR9, HU

### Legende:

HU - Humboldt Universität zu Berlin

TU - Technische Universität Berlin

Charité - Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Auszeichnungen 2010

Datum	Preisträger	Preis	verliehen von
05.06.2010	Gisela Westhoff	Wolfgang-Schulze Forschungsbeihilfe	Deutsche Rheuma-Liga e.V.
26.06.2010	Thomas Dörner	Randy Fischer Preis	National Institutes of Health
23.09.2010	Max Löhning	Georges-Köhler-Preis 2010	Deutsche Gesellschaft für Immunologie
01.10.2010	Sergei Nedospasow	Ernennung zum Mitglied	Academia Europaea
01.10.2010	Andreas Radbruch	Ernennung zum Mitglied	European Molecular Biology Organization
05.11.2010	Angela Zink und Mitarbeiter PB II	rheo-Fortschrittspreis 2010	Deutsche Rheuma-Liga e.V.
11.11.2010	DRFZ	Prädikat TOTAL E-QUALITY	TOTAL E-QUALITY Deutschland e.V.
12.11.2010	Koji Tokoyoda	Postdoktoranden-Preis	Robert Koch-Stiftung
24.11.2010	Andreas Radbruch	Research Grant	"IMPAM" Imprinting of pathogenic memory", Federal Ministry of Education and Research (BMBF)
27.11.2010	Angela Zink	Dr. Franziskus-Blondel-Medaille	Stadt Aachen
30.11.2010	Edda Schulz	Avrion-Mitchison-Preis für Rheumatologie	Schering Stiftung
01.12.2010	Andreas Radbruch	ERC Advanced Grant	Europäischer Forschungsrat



v.l.: Angela Zink, Erika Gromnica-Ihle, 05.11.2010

### rheo-Fortschrittspreis

Für besonderes gesellschaftliches Engagement zum Wohle rheumatischer Menschen verleiht die Deutsche Rheuma-Liga jedes Jahr einen Ehrenpreis, den rheo-Fortschrittspreis. Dieses Jahr wurde Frau Prof. Dr. Angela Zink, Leiterin des Forschungsbereichs Epidemiologie des Deutschen Rheuma-Forschungszentrums Berlin und ihr Mitarbeiterteam in der Dokumentation ausgezeichnet. Dank der Versorgungsforschung von Prof. Zink und ihrem Team ständen verlässliche Angaben über die Versorgungssituation der Menschen mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen in Deutschland zur Verfügung, erläuterte die Präsidentin der Deutschen-Rheumaliga, Prof. Gromnica-Ihle, bei der Preisverleihung. (Text: Deutsche Rheuma-Liga e.V.)

### Franziskus-Blondel-Medaille

Anlässlich des 37. Aachener Rheumaseminars am 27. November 2010, wird Professor Dr. Angela Zink die Franziskus-Blondel-Medaille verliehen. Durch die Dokumentation rheumatischer Krankheiten ließ die Leiterin des Forschungsbereichs Epidemiologie am Deutschen Rheuma-Forschungszentrum Berlin, eine im internationalen Vergleich herausragende Datenbasis mit Daten von mehr als 30.000 Patienten aus 32 kooperierenden Rheumazentren entstehen. So konnte sie positive Langzeiteffekte der modernen Rheumatherapie, wie die Verminderung der Krankheitsaktivität, aber auch Schwachstellen in der ambulanten Versorgung und Rehabilitation aufzeigen. Mit ihren einzigartigen Dokumentationen hat Professor Zink eine wichtige Grundlage für die Versorgungsforschung in der Rheumatologie geschaffen. (Text: aachen-euregio.business on.de)



Postdoktorandenpreis der Robert-Koch-Stiftung für junge Wissenschaftler, v.l.: Koji Tokoyoda, Jörg Hacker, Adakemie der Wissenschaften, 12.11.2010

### Postdoktorandenpreis der Robert-Koch-Stiftung

Dr. rer. nat. Koji Tokoyoda, Berlin und Chiba, Japan, wurde mit dem Preis für Immunologie der Robert Koch-Stiftung, für seine Arbeiten zur Entstehung und Entwicklung des immunologischen Gedächtnisses ausgezeichnet. Koji Tokoyoda arbeitet am DRFZ in der Arbeitsgruppe Zellbiologie, Radbruch.



v.l.: Edda Schulz, Avrion Mitchison

### Avrion-Mitchison-Preis

Die Stiftung Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin vergibt jährlich den Avrion-Mitchison-Preis für die beste experimentelle, klinische oder epidemiologische Forschungsarbeit auf dem Gebiet der Rheumatologie. 2010 ging er an Edda Schulz aus der AG Zellbiologie. Der mit 2.500 Euro dotierte Preis wird von der Schering Stiftung gestiftet. Bei der Preisverleihung war Avrion Mitchison persönlich anwesend, um der Preisträgerin zu gratulieren.

# Auszeichnungen 2011

Datum	Preisträger	Preis	verliehen von
08.02.2011	Andreas Radbruch	Wahl zum Fachkollegium (Amtsperiode: 2012-2015)	Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)
01.05.2011	Sergei Nedospasow	Mechnikov Immunology Prize	Russian Academy of Sciences
11.05.2011	Andreas Radbruch	Ernennung zum Mitglied des Wissenschaftlichen Beirats	Georges-Köhler-Centrum
05.06.2011	Mir-Farzin Mashreghi, Anna-B. Stittrich	Wolfgang-Schulze-Forschungspreis	Deutsche Rheuma-Liga e.V.
17.06.2011	Andreas Radbruch	Carol-Nachman-Preis	Stadt Wiesbaden
01.09.2011	Jan Broder Engler	Robert-Koch Promotionspreis	Charité - Universitätsmedizin Berlin
03.09.2011	Hyun-Dong Chang	Rheuma-Stiftung Ideenwettbewerb "ist Rheuma heilbar"	Rheuma-Stiftung, München, DGRh-Kongress
28.09.2011	Margitta Worm	Kanert Preis	Stiftung Kanert für Allergieforschung
29.09.2011	Henrik Mei	Hans Hench Preis	DGFI
02.11.2011	Edda Schulz	Nachwuchswissenschaftlerinnen-Preis 2011	Forschungsverbund Berlin
06.12.2011	Anna-Barbara Stittrich	Avrion-Mitchison-Preis für Rheumatologie	Schering Stiftung



Foto: H. Kubenka, Wiesbaden

Carol-Nachman-Preis für Rheumatologie. 2.v.l.: Andreas Radbruch, 11.05.2011, Wiesbaden



Foto: forschungsverbund e.V.

DER Nachwuchswissenschaftlerinnen-Preis für Edda Schulz, ehemalige Doktorandin der Arbeitsgruppe Zellbiologie, Radbruch, 2.11.2011, Adlershof

## Carol-Nachman-Preis

Mit dem Carol-Nachman-Preis wurden in diesem Jahr zwei Wissenschaftler geehrt: Prof. Dr. Andreas Radbruch, Deutsches Rheumaforschungszentrum Berlin, und Prof. Dr. Désirée M. F. M. van der Heijde, Leiden University Medical Center, Department of Rheumatology, Niederlande. Der mit 37.500 Euro dotierte Preis ist eine der höchsten medizinischen Auszeichnungen Deutschlands und dient der Förderung der klinischen, therapeutischen und experimentellen Forschungsarbeit auf dem Gebiet der Rheumatologie. (Text: Stadt Wiesbaden)

## Ideenwettbewerb

Die Rheuma-Stiftung lobte einen Ideenwettbewerb aus: "Rheuma heilbar machen" - Hyun-Dong Chang aus der Arbeitsgruppe Zellbiologie hat ihn mit der Einreichung eines überzeugenden Ideenkonzeptes gewonnen.



v.l.: Rotraut Schmale-Grede, Hyun-Dong Chang, Matthias Schneider, 3.09.2011, DGRh-Kongress, München



Anna-Barbara Stittrich und Mir-Farzin Mashreghi, beide aus der Arbeitsgruppe Zellbiologie, erhalten den Wolfgang-Schulze-Forschungspreis von Dr. Helmut Sörensen, Präsident der Berliner Rheuma-Liga e.V., am 5.06.2011 im Berliner "Roten Rathaus".



Auch der Avrion Mitchison-Preis geht in 2011 an Anna-Barbara Stittrich. v.l.: Sonja Kiessling, Schering Stiftung, Anna-Barbara Stittrich, Andreas Radbruch. 6.12.2011, DRFZ



# Stipendien

Datum	Stipendiat	Stipendium	vergeben von
<b>2010</b>			
11.2008 - 20.2011	Francesca Liu	Promotionsstipendium	DAAD
01.2010	Nguyen Thi To Nga	Promotionsstipendium	Ministry of Education Vietnam
01.2010	Martin Hahne	Promotionsstipendium	Berlin-Brandenburg School of Regenerative Therapies (BSRT)
01.2010	Martin Hahne	Promotionsstipendium	Berlin-Brandenburg School of Regenerative Therapies (BSRT)
02.2010	Milena Milovanovic	Elsa-Neumann- Promotionsstipendium	Nafög, Humboldt Universität zu Berlin
05.2010	Henrik Mei	Reisestipendium	efis grant for participation in the 14th International Congress of Immunology, Kansai, Japan
05.2010	Melanie Krüger	Promotionsstipendium	GlaxoSmithKline Stiftung
06.2010	Oingyu Cheng	Reisestipendium	Lupus2010
26.6.-1.7.11	Henrik Mei	Reisestipendium	Leibniz Gemeinschaft, Teilnahme am 61st Lindau Annual Nobel Laureate Meeting
24.-27.06.10	Mir-Farzin Mashreghi	Reisestipendium	Focis
08.2010	Claudia Baumann	Promotionsstipendium	International Max Planck Research School for Immunology & Infectious Diseases
08.2010	Julia Siede	Promotionsstipendium	International Max Planck Research School for Immunology & Infectious Diseases
08.2010	Ahmed N. Hegazy	Reisestipendium	14th International Congress of Immunology, Kansai, Japan
09.2010	Anna Abajyan	Promotionsstipendium	German Academic Exchange Service (DAAD)
09.2010	Enver Tahir	Promotionsstipendium	Graduate School IMMUCO
09.2010	Bimba F. Hoyer	Reisestipendium, DGRH Kongress	Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie, DGRh
10.2010	In-Sok Hong	Gastarzt	DAAD
<b>2011</b>			
02.2011	Anna-B. Stittrich	Reisestipendium	Biochemical Society des Keystone Symposia Future of Science Funds , Keystone Symposium, Canada
03.2011	Henrik Mei	Reisestipendium	Arthur Vick Stiftung, Keystone B cell meeting
04.2011	Karolin Pollok	Promotionsstipendium	Neurocure Graduated Program (Charité)
04.2011	Henrik Mei	Reisestipendium	EULAR
04.2011	Katharina Blankenstein	Forschungsstipendium	Charité
04.2011	Chieko Kyogoku	Postdoktoranden Stipendium	Alexander von Humboldt-Stiftung
06.2011	Chu Van Trung	Reisestipendium	GSK
06.2011	Chu Van Trung	Reisestipendium	Deutsche Gesellschaft für Immunologie, DGfI
06.2011	Angela Kill	Promotionsstipendium	Charité – Universitätsmedizin Berlin
07.2011	Caroline von Spee	Promotionsstipendium	Schering Stiftung
10.2011	Claudia Hülso	Forschungsstipendium	Charité – Universitätsmedizin
10.2011	Edgar Wiebe	Forschungsstipendium	Charité – Universitätsmedizin
11.2011	Philippe Saikali	Postdoktoranden Stipendium	Alexander von Humboldt-Stiftung

# Posterpreise

Datum	Preisträger	verliehen von
01.04.10	Ahmed N.Hegazy	World Immune Regulation Meeting
18.09.10	Dörte Huscher	Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie
18.09.10	Markus Wagegg	
18.09.10	Gisela Westhoff	
23.09.10	Ahmed N. Hegazy	Deutsche Gesellschaft für Immunologie
25.09.10	Anna-B. Stittrich	

Datum	Preisträger	verliehen von
25.09.11	Mike Becker	10th Dresden Symposium on Autoantibodies
09.11.10	Dörte Huscher	American Congress of Rheumatology
09.11.10	Kirsten Minden	
09.11.10	Anja Strangfeld	
09.11.10	Gisela Westhoff	
09.11.11	Gisela Westhoff	



## Seminare am DRFZ 2010 | 2011

Die Seminare am DRFZ sind studienbegleitende Veranstaltungen mit verpflichtender Teilnahme der Studenten an mindestens einem der wissenschaftlichen Klubs oder Seminare. Hierzu zählen auch die technologischen Ausbildungsveranstaltungen in den Bereichen Zytometrie, tierexperimentelles Arbeiten und Laborsicherheit.

Die wissenschaftlichen Klubs sind thematisch fokussiert nebenstehend aufgelistet. Sie dienen der gruppenübergreifenden, zeitnahen und öffentlichen Diskussion der wissenschaftlichen Projekte. In der Regel nehmen an diesen Veranstaltungen der Wissenschaftliche Direktor, alle Mitarbeiter und Gruppenleiter, die auf dem jeweiligen Feld arbeiten, sowie externe Kooperationspartner teil. Hier werden neue Ideen, Projekte, einzelne Experimente und auftretende Schwierigkeiten in englischer Sprache zur intensiven und detaillierten Diskussion gestellt und neue Kooperationen vereinbart. Sie bilden zudem eine essentielle Informationsquelle für die wissenschaftliche Leitung und eine Qualitätskontrolle der Ausbildung in den einzelnen Arbeitsgruppen. Die Klubs werden von jeweils einem Gruppenleiter organisiert und öffentlich angekündigt.

### Institutsseminar (Lab-)Seminar

Das öffentlich angekündigte **Institutsseminar** dient der Darstellung der wissenschaftlichen Ergebnisse, die über einen längeren Zeitraum (1 bis 1,5 Jahre) erarbeitet wurden und durch jeweils einen Doktoranden oder Postdoktoranden einer Arbeitsgruppe wöchentlich präsentiert werden.

### 2010

02.02.10, Henrik Mei, Plasma cell compartments in human blood and bone - similarities, relationship and differences

02.02.10, Henrik Mei, Plasma cell compartments in human blood and bone - similarities, relationship and differences

09.02.10, Shirin Fatehi, Analysis of a possible epigenetic memory in cells of mesenchymal origin

16.02.10, Anja Lemke, Analyzing lifetime of antibody secreting cells in the murine GALT

23.02.10, Tobias Alexander, Depletion of autoreactive immunologic memory after immunoablation and autologous stem cell transplantation induces long-term remission in SLE through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system

02.03.10, Gennadiy Drozdenko, Vitamin D: evaluation of the immunomodulatory properties *in vivo*

09.03.10, Velia Gerl, Phenotypical and functional characterization of blood dendritic cells in SLE

16.03.10, Alessandro Serra, Characterization of bone-marrow homing plasma cells

23.03.10, Caroline Helmstetter, Cytokine production dynamics of CD4+ T cells

30.03.10, Cindy Stahn, Analysis of origin and function of membrane bound glucocorticoid receptors

13.04.10, Evridiki Sgouroudis, Functional dynamics of CD4+Foxp3+regulatory T cells throughout the pro-

### Wochenplan der wissenschaftlichen Klubs am DRFZ

Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag
<b>T-Cell Club</b> Max Löhning	<b>Institutsseminar/ Lab Seminar</b> Andreas Radbruch		<b>B-Cell Club</b> Anja Hauser Andreas Hutloff	<b>Journal Screen</b> Hyun-Dong Chang
<b>Tolerance Club</b> 1. Montag im Monat	<b>Clinical Immunology &amp; Hot Technologies</b> Andreas Grützkau		<b>Berlin Forum on Pain and Inflammation</b> Hyun-Dong Chang	
<b>Clinic Club</b> Max Löhning	<b>Epigenetics Club</b> monatlich Alf Hamann/Dirk Engelbert			
<b>FACS Club</b> Toralf Kaiser alle 2 Monate	<b>Epidemiologie Club</b> Angela Zink			

Wissenschaftliche Klubs und Seminare am DRFZ in der Wochenübersicht.

gression of type 1 diabetes: lessons learned from the NODmouse model

27.04.10, Astrid Menning, Induction of regulatory T cells *in vivo* by modulation of T cell receptor signaling

04.05.10, Toralf Roch, Novel B cell derived cytokine regulates immunity

11.05.10, Anja Weiss and Maria Eveslage, Sample size estimation

18.05.10, Capucine Daridon, Epratuzumab, anti-CD22 antibody, and its mechanism of action on B cells

18.05.10, Capucine Daridon, Epratuzumab, anti-CD22 antibody, and its mechanism of action on B cells

25.05.10, Devasena Kanthi, Simulation of the endosteal haematopoietic stem cell niche

01.06.10, Michael Peine, Co-existence of Th1 and Th2 programs in CD4+ T cells

15.06.10, Mir-Farzin Mashreghi, MicroRNA profiles in T helper lymphocytes

22.06.10, Stefan Frischbutter, Calcineurin synergizes with Bcl-10 to activate NF- $\kappa$ B during T helper cell activation

29.06.10, Chu Van-Trung, Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow

06.07.10, Matthias Pink, Molecular regulation of Fucosyltransferase VII an enzyme controlling homing of CD4+ T cells to skin and inflammation

24.08.10, Merlin Lütke-Eversloh, Regulation of IFN- $\gamma$  expression in human NK cells

31.08.10, Susanne Eiglmeier, Sweet antibodies

14.09.10, Inka Albrecht, Biomarkers for chronic T cell memory

21.09.10, Henrik Mei, Heterogeneity of plasma cells in human bone marrow

21.09.10, Henrik Mei, Heterogeneity of plasma cells in human bone marrow

28.09.10, Ilka Wagner, 3D cultures of human skin and their appendages status quo and trends

05.10.10, Yuriy Shebzukhov, Epigenetic regulation of TNF expression

12.10.10, Monique Fangradt, Hypoxia differentially effects gene expression in monocytes and monocyte derived macrophages

19.10.10, Özen Sercan, Effects of IFN-gamma on antigen-specific CD8+T cell homeostasis

26.10.10, Raluca Niesner, Improving spatial resolution in intravital deep-tissue two-photon microscopy

02.11.10, Melanie Krüger, How does TGIF modulate TGF- $\beta$  signaling during Treg cell induction?

09.11.10, Frederik Heinrich, Role of Notch in T-helper cells

16.11.10, Thomas Rose, Characterization of Siclec-1 as clinical biomarker in SLE

23.11.10, Francesca Diane Liu, The Role of IL 27 in influenza infection

30.11.10, Anja Lemke, Migration and lifetime of antibody secreting cells in the murine GALT

07.12.10, Lutz Kloke, IL-2 driven Treg expansion for the therapy of SLE

14.12.10, Bimba Hoyer, B cell disturbances as biomarker for disease activity in giant cell vasculitis

21.12.10, Tobias Scheel, A quantitative single cell analysis revealed NFAT and c-fos as limiting factors for IL-2 production

### 2011

04.01.11, Adriano Taddeo, Antigen-specific targeting of plasma cells: an in-vitro Proof-of-Principle

11.01.11, Andrei Kruglov, Control of gut-associated lymphoid tissue development and intestinal IgA production by TNF, LT $\alpha$  and LT $\beta$  produced by lymphoid tissue inducing cells

18.01.11, Quingyu Cheng, Memory plasma cells in lupus

25.01.11, René Riedel, Tracking of antigen-specific memory B cells in the mouse

01.02.11, Alexander Stoehr, TLR9 mediated tolerance mechanism in murine SLE

08.02.11, Enric Esplugues, Role of Small Intestine in the CD4 T cell biology

15.03.11, Jennifer Pfeil, Induction of antigen-specific tolerance by carrier-conjugated peptides

22.03.11, Jeannine Günther, Auto-antibodies against the angiotensin II type 1 receptor and the endothelin type A receptor - their possible role in the pathogenesis of systemic sclerosis

31.03.11, Andreas Grützkau, Molecular signatures of inflamed blood cells: new options in rheumatology diagnostics?

05.04.11, Randi Kristina Franke, The function of ICOS for the germinal center response

12.04.11, Ping Shen, Regulation of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by a TLR-9 agonist

19.04.11, Katrin Roth, Analysis of plasma cell dynamics in bone marrow niches by intravital microscopy

03.05.11, Farah Hatam, Th2 differentiation decisions

10.05.11, Thi To Nga Nguyen, The role of BAFF for B cell maintenance, activation and differentiation

17.05.11, Ulrik Stervbo, Antigen-recognition properties of MOG-reactive effector and regulator CD4+ T cells

24.05.11, Kerstin Westendorf, Characterization of pathogenic T helper memory cells in chronic inflammation

31.05.11, Anna Kuchmiy, Novel transgenic mouse models for the study of TNF biology

07.06.11, David Zimmer, Regulation of T-bet expression in T helper cells

14.06.11, Jan P. Weber, The fate of T follicular helper cells

28.06.11, Robert Biesen, Biomarker competition in lupus

16.08.11, Tim Hollstein, 9-cis retinoic acid in type I allergy

30.08.11, Anna-Barbara Stittrich, MicroRNAs in T helper lymphocytes

27.09.11, Jannike Köhle, In vivo analysis of rTH17 generation in the small intestine

04.10.11, Karolin Pollok, Dynamics and interactions of plasma cells during neuroinflammatory processes

11.10.11, Philippe Saikali, Molecular mechanisms of Th2 cell reprogramming in mouse and man

18.10.11, Mari McGrath, ES-62: investigating the therapeutic potential of helminth modulation of autoimmune inflammation

25.10.11, Stefanie Ries, Dissecting the signaling events controlling expression of cytokines in TLR activated B cells

01.11.11, Henrik Mei, Chronic activation of mucosal B cells in healthy and autoimmune individuals

08.11.11, Anja Fröhlich, Cytokine regulation of T cell differentiation during viral infection

16.11.11, Chu van Trung, New functions of eosinophils – a link to mucosal immunity

22.11.11, Claudia Giesecke, Characterization of human B effector cells after secondary tetanus toxoid vaccination in healthy donors and splenectomized patients

22.11.11, Claudia Giesecke, Characterization of human B effector cells after secondary tetanus toxoid vaccination in healthy donors and splenectomized patients

28.11.11, Daniel Cirera, Micromanaging Th17 cells

06.12.11, Micha Schroeter, Regulation of P-selectin ligand expression on CD4+ T cells

13.12.11, Alessandro Serra, Programming of osteogenic precursors by the adaptive immune system

20.12.11, Sandra Zehentmeier, Bone marrow stroma cells as organizers of the plasma cell survival niche

## SFB 650 Seminar 2010

Das DRFZ ist an der Organisation der **Seminarreihen der Sonderforschungsbereiche** SFB 633, SFB 650 und SFB 618 beteiligt. Im Rahmen dieser Seminarreihen tragen regelmäßig auswärtige Wissenschaftler vor. Ebenso im **Berlin Life Science Colloquium** (BLSC), der gemeinsamen Seminarreihe des ZIBI (Graduiertenkolleg 1121 und IMPRS-ID) der Humboldt-Universität und der Freien Universität Berlin. Hier die Übersicht der im DRFZ abgehaltenen Vorträge.

20.01.10, Prof. Dr. Dirk Busch, CD8+ memory stem (T) cells

26.01.10, Dr. Dirk Carstanjen, The transcription factor Klf4 instructs Th17 differentiation and selectively controls autoimmunity

27.01.10, Dr. Adam Sisson, Polyglycerol nanogels: Highly biocompatible, functional scaffolds in the nanoscale

05.02.10, Dr. Thoma Böldicke, Intrabody mediated retention of TLR2 and TLR9 in the ER for inhibitor of murine rheumatoid arthritis

15.02.10, Dr. Soizic Garaud, Importance of CD5 isoform in the autoreactive B cells

13.04.10, Dr. Gudrun P.F. Debes, Lymphocyte recirculation through inflamed tissue

28.05.10, Dr. Pushpa Pandiyan, Tregs and cytokine deprivation

23.06.10, Mark Sundrud, PhD, Modulating pathogenic T cell responses through metabolic stress

01.09.10, PhD Jessica Stolp, Investigating the genetic control of B cells causing Type 1 diabetes

22.09.10, PD Dr. Christian Becker, CD4-mediated Treg activation

14.10.10, Prof. Tasuku Honjo, Evolutional origin of class switch recombination

14.10.10, Dr. Boaz Tirosh, Regulation of protein and lipid biosynthesis in plasma cell differentiation

22.10.10, Dr. Tony Permethaner, Identification of peptide ligands mediating mucosal transcytosis

10.12.10, Dr. Hye-Jung Kim, Interaction between Qa-1 restricted CD8 Treg and TFH is essential to maintain self-tolerance

## SFB 650 Seminar 2011

13.01.11, Dr. Facundo Batista, Dynamic imaging of lymphocyte activation – from single molecules to living tissue

31.01.11, Prof. Jörn Walter, The 6th base 5-Hydroxymethylcytosine and mechanisms of epigenomic reprogramming

02.02.11, Dr. Veit Buchholz und Prof. Dirk Busch, Analyzing the Functional Diversification of Single CD4 and CD8 T Cells during Infection

09.02.11, PD Dr. Timo Burster, Achieving protease resistance of altered peptide ligands by cleavage site-directed amino acid substitution. A possible agent to treat autoimmune diseases?

17.02.11, Prof. Dr. Lars Nitschke, Regulation of B cell activation by CD22 and Siglec-G

17.02.11, Jörn C. Albring, MD, Targeting of B and T lymphocyte Attenuator prevents graft-versus-host disease without global immunosuppression

09.03.11, Shohei Hori, Ph.D., Resolving the controversies about regulatory T cell plasticity

11.05.11, David Schubert, TCR triggering and immunological synapse formation of CD4+ T cells in autoimmunity

08.06.11, Prof. J. Oriol Sunyer, Functional roles and evolutionary conservation of fish and mammalian phagocytic B cells from systemic and mucosal compartments

09.09.11, Mark Davis, New approaches to human immunology

08.11.11, Markus Mohrs, Tracking cytokine responses to infection

17.11.11, Christina Zielinski, Distinct differentiation requirements and functional properties of microbe-specific human Th 17 cells

08.12.11, Kendall Smith, The Quantal Theory of Immunity: Implications for Autoimmunity

## SFB 633 Seminar 2010

12.06.10, Dr. Steffen Jung, Origins and Functions of Mononuclear Phagocytes

## SFB 618 Seminar 2011

03.03.11, PD. Dr. David Voehringer, Orchestration of type 2 immunity *in vivo*

07.07.11, Shinya Sakaguchi, Ph.D., The zinc finger protein MAZR is part of the transcription factor network that regulates CD4/CD8 cell fate decision of DP thymocytes

## Lehre 2010/11 - 2011/12

Charité - Universitätsmedizin Berlin			2010/11		2011/12	
Lehrende(r)	Name der Veranstaltung	Art	SS	WS	SS	WS
Alexander, Becker, Biesen, Hoyer, Klugewitz, Löhning, Riemekasten, Schneider	Rheumatologie Unterricht am Krankenbett	Seminar + Praktikum	x	x		
Alexander, Biesen, Hoyer, Schneider	Rheumatologie	Praktikum	x	x		
Alexander, Hiepe, Hoyer, Riemekasten	Rheumatologie für Medizipädagogen	Vorlesung	x	x		
Buttgereit, Gaber-Elsner, Hahne	Immune Cells II - Isolation, incubation and investigation of human monocytes/T cells under hypoxic conditions	Praktikum		x		x
Chang	Advanced Flow Cytometry	Praktikum ZIBI	x			
Chang u.a.	Immuntherapie	Vorlesung	x	x		
Chang, Grützkau, Nedospasow, Romagnani, Thiel	Molecular Medicine	Vorlesung, Übung, Praktikum		x		
Chang, Mashreghi	Basic Flow Cytometry	Praktikum BSRT		x		
Dörner	Max-Hirsch-Lecture	Seminar	x	x	x	x
	Einführung in den Untersuchungskurs Rheumatologie für das 2. Und 4. Klinische Semester	Vorlesung	x	x	x	x
	SLE/Kollagenosen/Antiphospholipidsyndrom	Vorlesung	x	x	x	x
Buttgereit	Innere Medizin für Studenten der Zahnmedizin und Pharmazie	Vorlesung	x	x	x	x
Grützkau	Wahlpflichtfach Innere Medizin – Rheumatologie und Klinische Immunologie: Immunmonitoring in der Rheumatologie	Vorlesung		x	x	x
Hamann	Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten	Seminar	x	x	x	x
Hamann, Hoffmann, Pfeil, Hutloff, Hauser, Fröhlich	Cellular and moleculare Immunology	Praktikum				x
Hamann, Hoffmann, Pfeil	Cellular Immunology					
Hamann, Hoffmann, Romagnani, Hauser, Fröhlich	Cellular and moleculare Immunology	Praktikum		x		x
Hamann, Löhning, Ehlers, Hauser	Cellular and molecular immunology (Vorbereitung und Voraussetzung zum Praktikum im WS)	Seminar	x		x	
Hauser	Wahlpflichtfach Rheumatologie und Klinische Immunologie	Seminar	x	x	x	x
Hiepe	Rheumatologie	Vorlesung zum Praktikum	x	x		
Hoffmann	Vorlesung Graduierten-Kolleg Immuco	Vorlesung	x		x	
Hutloff	Immunologie-Seminar (Vorbereitung und Voraussetzung zum Praktikum Immunologie im WS)	Seminar	x		x	
	Rheumatologie und Klinische Immunologie	Vorlesung	x	x	x	
Klugewitz	Praktikum der Immunologie	Praktikum		x		x
	Hauptvorlesung Innere Medizin	Vorlesung	x			
	Funktion der Leber bei Immunität und Toleranz	Vorlesung	x			
Klugewitz, Riemekasten	Klinische Untersuchung der Patienten in der Inneren Medizin	Praktikum	x			
	Innere Medizin	Praktikum	x	x		
Löhning	T-cell and Tolerance Club	Seminar	x	x	x	x
	Clinic Club - Bedside Knowledge for Bench People. Seminar series on clinical practice combined with site visits at the medical clinics	Seminar		x	x	x
Mei	Max-Hirsch-Lecture	Seminar	x	x	x	x
Minden	Pädiatrie	Block-praktikum	x	x	x	
Niesner	Fluorescence Imaging in Chronic Neuroinflammation	Vorlesung + Praktikum Graduierten-schule	x		x	
Riemekasten	Gender Aspects in Rheumatic Diseases	Seminar	x	x		

Charité - Universitätsmedizin Berlin			2010/11		2011/12	
Lehrende(r)	Name der Veranstaltung	Art	SS	WS	SS	WS
Romagnani	Innate Immunity and NK Cells	Vorlesung	x			
	Innate Immunity and NK Cells	Vorlesung + Tutorium		x		
Sieper	Rheumatologische Hauptvorlesung	Vorlesung		x	x	x
Strangfeld	Sozialmedizin	Seminar + Praktikum	x	x		
	Sozialmedizin / Lehrveranstaltung: Demographie	Praktikum			x	
Worm	Diagnostik infektiöser Hauterkrankung	Praktikum	x	x		
	Allergieprävention und Toleranzinduktion	Vorlesung			x	
	Atopische Dermatitis (Neurodermitis)	Vorlesung				x
	Der umweltmedizinische Problempatient	Vorlesung				x
	Kontaktallergien, Nahrungsmittelallergien	Vorlesung				x
	Atopie und Psyche	Vorlesung				x
	Bakteriell bedingte Hautkrankheiten	Vorlesung				x
	Entzündliche Hauterkrankungen	Vorlesung				x
	Psoriasis	Vorlesung				x
	Schöne Haare, juckende Kopfhaut	Vorlesung				x
	Viral bedingte Hautkrankheiten	Vorlesung				x
	Netzwerk Haut, Hormone und Allergie	Vorlesung				x
	Anatomischer Aufbau der Haut Grundlagen der Effloreszenzen	Seminar				x
	Infektiöse Erkrankungen der Haut	Seminar				x
	Entzündliche und ekzematöse Hauterkrankungen	Seminar		x		
Zink	Sozialmedizin	Praktikum	x	x	x	

Universität Potsdam			2010/11		2011/12	
Lehrende(r)	Name der Veranstaltung	Art	SS	WS	SS	WS
Baumgrass	Praktikum Zellbiologie	Praktikum				x
	Spezielle Immunologie	Vorlesung		x		x
	Zelluläre und molekulare Immunologie	Praktikum		x		
	Transkriptionskontrolle bei der T-Zell-Differenzierung	Ringvorlesung				
	T-Zelluntersuchungen mittels Durchflussszytometrie	Praktikum				

Sonstige			2010/11		2011/12	
Lehrende(r)	Name der Veranstaltung	Art	SS	WS	SS	WS
Hauser	Immunologie	Ringvorlesung	x			
Kruglov	Experiments with mice	Praktikum				x

Lomonosov Universität zu Moskau			2010/11		2011/12	
Lehrende(r)	Name der Veranstaltung	Art	SS	WS	SS	WS
Nedospasow	Introduction in Immunology	Ringvorlesung	x			
Nedospasow	Molecular immunology	Vorlesung			x	



## Drittmittel-Projekte am DRFZ inklusive Liaisongruppen

Kurzname	Projektbezeichnung	Förderer	DRFZ	Liaison	Beginn	Ende
BTCURE	Be The Cure (IMI Inflammation - Translational Research and Adaptive Immunity)	EU	Radbruch, Grützkau		01.04.11	31.03.16
DC Thera	Dendritic Cells for novel Immunotherapies	EU	Radbruch, Thiel		01.01.05	30.06.10
NANODIARA	Development of novel nanotechnology based diagnostic systems for RA and OA	EU		Buttgereit	10.10	12.13
	Mathematical modelling of in vivo cell dynamics in germinal centres	EU	Hauser		01.06.09	31.03.10
Modest	Modular devices for ultrahigh-throughput and small-volume nucleofection	EU	Radbruch		01.04.07	30.09.10
IMMEMO	ERC Advanced Grant: Protective and pathogenic immunological memory and its organisation by stroma cells	EU	Radbruch, Chang, Kreiß		01.08.11	31.07.16
	Etablierung epigenetischer Marker in der Immun- und Krebsdiagnostik	EU / EFRE	Grützkau		01.01.09	31.12.11
Immunopain	Korrelierte Mechanismen der Gelenkentzündung und Chronifizierung der Schmerzen bei der Arthritis	BMBF	Radbruch, Chang		01.06.10	31.05.13
ANCYLOSS	Biomarker der Knochenformation bei ankylosierender Spondylitis	BMBF		Sieper	01.06.10	01.05.13
ArthroMark	Biomarker and imaging for diagnosis, monitoring and stratification of rheumatoid arthritis and spondyloarthritides : Entzündung und Knochendestruktion bei ankylosierender Spondylitis	BMBF		Sieper	01.09.10	01.08.13
	Entwicklung, Umsetzung und Verfestigung eines professionellen Verwertungskonzeptes am DRFZ	BMBF	Radbruch, Moser		01.04.09	31.03.12
BIOTIA	Biologische Toleranz- induzierende Substanzen zur selektiven Unterdrückung schädlicher Immunreaktivität	BMBF	Radbruch		01.01.08	31.12.10
	Vergleichende Bewertung von Ansätzen zur Induktion antigenspezifischer Toleranz und Immunsuppression; Innovative Therapien	BMBF		Hamann	01.08	06.11
BTDC	Be the DifferenCe in IMI: Understanding aberrant adaptive immunity mechanisms in human chronic Immune-mediated Diseases: Rheumatoid Arthritis, Systemic Lupus Erythematosus Inflammatory Bowel disease	BMBF	Radbruch, Chang		01.07.10	31.05.11
CIPP	Pan-Selektin-Blockade	BMBF		Hamann	07.05	02.10
DEEP SP 5.1	Epigenetics of inflammatory T cells	BMBF		Hamann	01.09.12	31.08.17
DIVERS	Diagnosevalidierungsstudie DIVERS	BMBF	Listing, Zink		2011	04.07.05
FORSYS	Systemanalyse von regulatorischen Netzwerken in T-Helfer Zellen: Mathematische Modellierung der Transkription bei T-Zell-Aktivierung und-Differenzierung; TP1,TP2,TP4,TPZ,TP PM	BMBF	Baumgrass, Radbruch, Rajewsky		01.05.08	30.04.11
IMPAM	Imprinting of the pathogenic memory for rheumatic inflammation TP2	BMBF	Radbruch, Chang		01.09.10	31.08.13
PHARMACHILD	Long-term PHARMacovigilance for Adverse effects in CHILDhood arthritis focussing on Immune modulatory drugs	BMBF	Minden, Zink		01.04.11	31.03.14
PRIMAGE	GERONTOSYS - Verbundprojekt: Projektive Immunität im Alter - TP D	BMBF	Radbruch, Chang		01.07.11	30.06.14
S-T-THERA	Viruspezifische adoptive T-Zell Transplantate basierend auf spezifischer T-Isolierung anhand von Aktivierungsmarkersignaturen	BMBF	Radbruch, Thiel		01.07.09	30.06.12
	Effects of NSAIDs on Radiographic Damage in AS	BMBF	Zink		01.03.08	31.08.11
	Induktionstherapie mit Adalimumab	BMBF	Zink		01.08.07	28.02.10
	Frühkohorte juvenile idipathische Arthritis- Arbeitspaket Studienprotokoll	BMBF	Zink, Minden		01.09.09	31.08.15
	Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand	BMWi	Baumgrass		01.06.11	31.05.13
ZIM-projekt	Entwicklung von konjugierten Peptiden für die Immuntherapie	BMWi		Hamann	01.01.12	31.12.13
SFB TR 52	Binäre Kontrollmechanismen der Genexpression von T-Lymphozyten TP B01, TP1-2008	DFG	Radbruch, Baumgrass, Nedospasow	Hamann	01.07.08	30.06.12
	Transkriptionelle Regulation des humanen und murinen TNF/ Lymphotoxin-Lokus in transgenen und knock-in Mäusen, TP B05, TP1-2008	DFG	Nedospasow, Fillatreau		01.07.08	30.06.12
	Epigenetic control of the transcription of homing receptors TPB4	DFG		Hamann, Syrbe	01.07.08	31.12.12
SFB TR 36	Effektor- und regulatorische T-Zellen bei der Tumorförderung; TP B05, TP1-2009	DFG	Radbruch, Thiel, Romagnani		01.07.06	30.06.10
SFB 618	Dynamik des immunologischen Gedächtnisses, 2-05 TP C03	DFG		Löhning	07.09	06.13

## Drittmittel-Projekte Fortsetzung

Kurzname	Projektbezeichnung	Förderer	DRFZ	Liaison	Beginn	Ende
SFB 633	Rolle der Leber bei der Induktion mukosaler Toleranz in CD4+ T-Zellen TP A8	DFG		Hamann, Klugewitz	07.03	06.11
	Rolle des Muskosa-Milieus für die Induktion spezifischen Homings und die funktionelle Differenzierung von T-Zellen TP B1	DFG		Hamann	07.03	30.06.15
	Analyse der Toleranzinduktion von Interleukin-17-produzierenden T-Helferzellen im Dünndarm TP A15, TP3	DFG	Esplugues, Hauser		01.07.11	30.06.15
	Rolle von Tumornekrosefaktor und Lymphotoxin aus T-Zellen oder Zellen bei der Organisation von Lymphatischem Gewebe; TP A13, TB2	DFG	Nedospasow, Fillatreau		01.07.07	30.06.11
	Analyse der Präsentation oral applizierter Antigene und der spezifischen T-Zellreaktion: Toleranz versus Immunität TP A01, TP2	DFG	Radbruch, Scheffold		01.07.07	30.06.11
	Die Rolle dauerhaft aktivierter, proflamatorischer T-Zellen bei chronischen mukosalen Entzündungen; TP B10, TB2	DFG	Radbruch, Thiel		01.09.12	06.11.12
	Bedeutung und mögliche therapeutische Anwendung von Interleukin-22+ Natural Killer-Zellen in der Kolitis; TP B14, TP3	DFG	Romagnani		01.07.11	30.06.14
SFB 650	Targeting of memory plasma cells secreting pathogenic antibodies	DFG	Radbruch	Burmester, Hiepe	2009	2012
	Immunomodulation of B cells in autoimmunity beyond depletion of CD20-positive B cells	DFG		Dörner	2009	2012
	Selbstregulation chronischer Th1-Antworten; TP 23, TP2	DFG	Radbruch, Chang	Löhning	01.01.09	31.12.10
	Evaluation of the therapeutic potential of T cells with regulatory function in lupus	DFG		Riemekasten	01.09	12.12
	Induktion und Stabilisierung des IL-10 Gedächtnisses von Tr1 Zellen für zelluläre immunregulatorische Therapien	DFG	Radbruch, Thiel	Sieper	01.01.09	31.12.12
	Immunomodulation allergischer Erkrankungen durch nukleäre Hormonrezeptor-Liganden	DFG	Radbruch	Worm, Arnold	2005	2012
	Bietet die Herstellung von B-Zellen zur Suppression von Autoimmunerkrankungen eine Alternative oder Ergänzung zur autoantigen-reaktiven Treg TP2	DFG	Fillatreau		01.01.05	31.12.12
	Die partielle Inhibierung der T-Zell-Rezeptor-Signalübertragung fördert die Induktion und Proliferation von regulatorischen T-Zellen in vitro und in vivo; TP4, TP2	DFG	Radbruch, Baumgrass		01.01.05	31.12.12
	Verwendung von NK-Zellen zur Suppression unerwünschter Immunreaktionen in der Transplantationsmedizin; TP 20, TP2	DFG	Romagnani		01.01.10	31.12.12
	Induction of stable FOXP3+ regulatorischer T-Zellen TP1	DFG		Hamann	01.01.05	12.12
Immunomodulation Typ-I allergischer Erkrankungen durch Vitamin D	DFG		Worm	01.09	12.12	
IMMUNOBONE	Epigenetische Signaturen von Gedächtnis-T-Zellen	DFG		Hamann, Löhning	01.12	12.14
	Characterisation of bone marrow mesenchymal stroma cells and their role in the organisation of long-lasting immunological memory	DFG	Radbruch, Chang		01.07.10	30.06.13
	Delineation of distinct plasma cell subsets and their interrelation with niches of the bone marrow defining humoral memory	DFG		Dörner	01.07.10	30.06.13
	The role of endogenous glucocorticoids in bone and cartilage destruction by immunologic processes	DFG		Buttgereit	01.07.10	30.06.13
	Immunologische Charakterisierung der initialen Phase des Frakturhämatoms	DFG		Buttgereit	01.09	12.10
	B Zellgedächtnis bei SLE	DFG		Dörner	2008	
	Role of the spleen for reactive B cell memory and protective humoral memory in man	DFG		Dörner, Mei	2008	
	The costimulatory T-cell molecule ICOS as a novel therapeutic target for allergic airway disease	DFG		Hutloff	01.01.08	31.06.11
	Exln1 - RKGS	DFG		Löhning	09.11	12.11
	Die Bedeutung von BAFF für die B-Zell-Differenzierung im Keimzentrum	DFG	Berek		01.02.09	31.01.11
	Allergen specific antibody therapies	DFG	Ehlers		15.10.07	14.10.10
	Regulation of self-reactive B cells in human and mice	DFG	Ehlers		01.07.07	30.06.10
	Effektor- und regulatorische CD4 T-Zellen bei der Tumorüberwachung	DFG	Fillatreau		01.07.10	30.06.14
	Untersuchung der Dynamik von Antikörperproduzierenden Zellen in Knochenmark und Mucosa mittels Multiphoton Mikroskopie	DFG	Hauser		01.01.10	31.12.12
	The costimulatory T-cell molecule ICOS as a novel therapeutic target for allergic airway disease	DFG	Hutloff		01.01.08	31.06.11

## Drittmittel-Projekte Fortsetzung

Kurzname	Projektbezeichnung	Förderer	DRFZ	Liaison	Beginn	Ende
	The role of ICOS for T follicular helper responses GZ: HU 1294/4-1	DFG	Hutloff		15.05.11	18.05.14
	Fine dissection of TNF pathogenic functions in autoimmune diseases and novel systems to model ist therapeutic neutralization	DFG	Nedospasow		01.11.11	31.10.14
	Do Toll-like receptor-activated B cells suppress immunity to infection	DFG	Nedospasow Fillatreau		01.04.09	30.04.12
	In vivo imaging of lymphocytes in the CNS reveals different behaviour of naïve T cells in health and autoimmunity	DFG	Niesner		2012	2015
	Initiierung und Intensivierung einer bilateralen Kooperation	DFG	Radbruch		2010	
RABBIT	The German Biologics Register	Industrie	Zink		03.03.01	31.12.17
	Akrale Ulzera und Sildenafil; Pfizer GmbH	Industrie		Riemekasten	07.03	02.10
	Nationales Screening Programm zur Frühdiagnose der axialen Spondyloarthritis; Essex pharma GmbH	Industrie		Sieper	03.07	12.11
	Unterstütz. German Spondyloarthropathy, Abbott GmbH & Co.KG	Industrie		Sieper	01.05	12.10
	Aktivierung allergenspezifischer T-Zellen während der spezifischen Immuntherapie	Industrie		Worm	10.05	12.20
	Einflussfaktoren der Allergenität von Gemüse	Industrie		Worm	06.09	08.12
	IgE und Immunmodulatoren	Industrie		Worm	01.99	12.20
	IgE-Antikörperprofile	Industrie		Worm	07.06	12.20
	Praediktiver Wert von Labor- und klinischen Parametern für digitale Ulzera bei systemischer Sklerodermie	Industrie		Worm	12.09	12.20
	TNF allergy	Industrie		Worm	04.09	12.20
	Durchführung der randomisierten klinischen Prüfung Etanercept versus Sulfasalazin bei früher axialer Spondyloarthritis/ Langzeit- Follow-up von mit Infliximab behandelten Patienten mit ankylosierender Spondylitis	Industrie	Listing, Zink		01.03.10	30.09.10
	Rheumatologische Kerndokumentation	Industrie	Zink		23.11.05	31.12.10
	Langzeitdokumentation der Anwendung von Etanercept/MTX bei im Kindesalter erkrankten Patienten mit chronischer Arthritis	Industrie	Zink, Minden		01.05.07	30.04.12
	Beobachtungsstudie zu Verlauf und Prognose der frühen Arthritis	Industrie	Zink, Westhoff		20.11.09	31.12.13
	Etablierung epigenetischer Marker in der Immun- und Krebsdiagnostik; Technologie Stiftung Berlin	Sonstiges		Hamann	01.09	31.12.11
	Transkrip. Programmierung von T-Zellen; Forschungszentrum Jülich GmbH	Sonstiges		Löhning	06.08	02.12
	Movida – Identifizierung und funktionelle Bedeutung von Vitamin-D-Polymorphismen	Sonstiges		Worm	08.10	01.12
	Etablierung epigenetischer Marker in der Immun- und Krebsdiagnostik, Zukunftsfonds Berlin	Sonstiges	Grützkau		01.01.09	31.12.11
	Spring School of Immunology, DGFI	Sonstiges	Radbruch		2005	2011
	Mundgesundheitsliche Probleme und Implantat-Versorgung bei Patienten mit primärem Sjögren-Syndrom	Sonstiges	Westhoff		01.12.11	31.12.12
	Immunologisches Gedächtnis gegen Viren; Volkswagen Stiftung	Stiftung		Löhning	11.11	10.14
	Lichtenberg-Professur; Volkswagen Stiftung	Stiftung		Löhning	11.06	10.11
	Molekulare Mechanismen der Plastizität von CD4 T-Helfer-Zellen in vivo; Humboldt-Stiftung	Stiftung		Löhning	11.11	10.13
	Investigating B-Lymphocytes as drivers and regulators of autoimmune disease of the central nervous system; Hertie Stiftung	Stiftung	Fillatreau		01.10.12	30.09.12
	Alexander von Humboldt-Stiftung	Stiftung	Radbruch		01.03.12	31.08.10
	Stifterverband für die Deutsche Wirtschaft Claussen-Simon-Stiftung	Stiftung	Radbruch		01.01.06	31.08.10
	Kerndokumentation für Kinder und Jugendliche mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen	Stiftung	Zink, Minden		01.01.09	31.12.11
	Kohorte primäres Sjögren-Syndrom	Stiftung	Zink, Westhoff		01.01.10	31.12.10
	LC-PUFA im Allergie-Maus-Modell			Worm	10.05	12.20

# Technologietransfer

Erfinder	Name der Patentfamilie	Status
Claudia Berek	Mittel zur Therapie und Diagnose von rheumatoider Arthritis - vollhumaner Antikörper gegen citrulliniertes Vimentin	angemeldet
Claudia Berek	Eosinophils as a therapeutic target	angemeldet
Hyun-Dong Chang	Method for in-vitro detecting pathogenic T helper cells and pharmaceutical compositions for treating autoimmune diseases	laufend
Jun Dong	Method for identifying functional cytokine memory via analysis of DNA methylation	angemeldet
Marc Ehlers	Sialylated antigen-specific antibodies for treatment or prophylaxis of unwanted inflammatory immune reactions and methods of producing them	übertragen in 2011
Simon Fillatreau	Antigen-presenting inactivated B cells for immune suppression and a method for producing said cells	laufend
Toralf Kaiser	Principle component analysis (PCA) -based analysis of discontinuous emission spectra in multichromatic flow cytometry: lift off in higher-dimensional data spaces	laufend
Toralf Kaiser	UV-C LED disinfection module for flow cytometry and sterile cell sorting by using a UV-C LED disinfection module	angemeldet
Sergei Nedaspasov	Knock-in Mouse for modelling blockade of human TNFalpha	aufgegeben in 2010
Alexander Scheffold	Verwendung von Notch-Regulatoren zur Modulation der Immunantwort durch Induktion/Suppression von Interleukin-22	laufend
Alexander Scheffold	Verfahren zur Modulation der Immunantwort durch Aktivierung oder Inaktivierung des Notch und/oder STAT4 Signalweges	aufgegeben in 2011
Andreas Thiel	Use of 4-1BB receptor for identifying and/or seperating activated regulatory TH cells (Treg)	übertragen in 2010
Weißensteiner	Puffer für DNA- und RNA-Polymerase-Reaktionen	laufend, in Lizenz

Stand: 31.12.2011



Jährlich findet im gemeinsamen Institutsfoyer des DRFZ und des Max Planck für Infektionsbiologie in der Vorweihnachtszeit die Avron Mitchison Preisverleihung und Hasinger Lecture statt.



# Ausgewählte Veranstaltungen

## Organisation von regionalen und überregionalen Tagungen, Kongressen, Workshops, Symposien und Events

### 2010

01.03.10

Pressekonferenz „Vorhersagemodelle zum Verlauf der frühen rheumatoiden Arthritis – Wie entscheidend sind rechtzeitige Diagnose und Therapie für den Behandlungserfolg? Gisela Westhoff

21.-26.02.10, 6. Springschool on Immunology der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, DGfI, Andreas Radbruch, Tanja Duréz, Jacqueline Hirscher

14.03.10

Life Science School, Section Immunology and Infectious Diseases, Max Löhning, Studienstiftung des deutschen Volkes, Bonn

24.03.10

Mamocell Meeting, Anja E. Hauser, Berlin

27.-29.05.10

Kitasato Symposium, "New prospects for cytokines", Thomas Dörner, G.-R. Burmester, Andreas Radbruch, Berlin

05.06.10, Lange Nacht der Wissenschaft 2010 (650 Besucher), Berliner Rheuma-Kliniken, Kompetenznetze der Medizin im DRFZ, Jacqueline Hirscher, Vincent de Jong, Jan Weber, Hyun-Dong Chang, Ute Hoffmann

07.-08.06.10, Begutachtung durch den wissenschaftlichen Beirat im DRFZ

09.07.10, MACS-Club, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Hyun-Dong Chang, Alexander Scheffold

31.08.10

ChIP-Seq-Workshop, Ria Baumgrass, Berlin

26.-29.09.10

8. German - Japanese Symposium, Cuxhaven, Andreas Radbruch, Tanja Duréz, Christine Raulfs

03.10.10

2st Autum School, Ria Baumgrass, Bad Schandau

11.11.10

FORSYS-Workshop, Ria Baumgrass, Berlin

11.11.10

Mitglieder der "European League against Rheumatism" (EULAR) besuchen das DRFZ, Andreas Grützkau, Jacqueline Hirscher

11.11.10

SFB 650 Retreat: Strengthening the negative control mechanisms of the immune system, Alf Hamann, DRFZ

30.11.10

Hasinger Lecture, gehalten durch Paul-Peter Tak, Niederlande & Avrion-Mitchison-Preisverleihung, Preisträgerin: Edda Schulz im DRFZ

30.11.10

Charité - Trainingskurs: 5 Tage Rheumatologie und Klinische Immunologie, Gabriela Riemekasten, Gerd-Rüdiger Burmester, Charité, Berlin

09.12.10

Berlin Day of ImmunoSciences (RCIS), Alf Hamann, Charité, Berlin

### 2011



19.01.11

Besuch russischer Kinderärzte, Führung durch das DRFZ inkl. Vorträge und Postersession, Org. Kirsten Minden und Kinder- u. Jugendrheumatologie

18.02.11

MACS-Club, DRFZ Berlin, Hyun-Dong Chang, Alexander Scheffold

13.-18.03.11

7. Springschool on Immunology der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, DGfI, Andreas Radbruch, Tanja Duréz, Jacqueline Hirscher

20.03.11

Lebenswissenschaftliches Kolleg, Sektion Immunologie und Infektiologie, Thema: Immunregulation und Immuntherapie, Max Löhning, Studienstiftung des deutschen Volkes, Köln

02.04.11

Der neuer Präsident der Leibniz-Gemeinschaft, Prof. Dr. Karl Ulrich Mayer zu Gast im DRFZ

07.04.11

3. Nationalen Innovationsforum Medizin: Focus Immunologie 2011, Andreas Radbruch, Martin Zeitz, Steigenberger Hotel, Berlin



28.05.11

Vorbereitungen zur Langen Nacht der Wissenschaft am 28.05.2011 im DRFZ: Die Schülerinnen Kara-Lena S. und Luise S. üben Techniken für ihre Vorführungen am "Schülerstand" ihrer Klasse, wo sie Rahmen der Langen Nacht im DRFZ anderen Schülern die Wissenschaft näher bringen. 20 Schüler der Ev. Schule Zentrum Mitte waren beteiligt und inspirierten die Gäste. Programm: Dem Immunsystem auf der Spur. Forschen - verstehen - heilen. "Mobile Rheuma-Sprechstunde" mit Berliner Rheuma-Kliniken, den "Kompetenznetzen der Medizin" 1.200 Besucher. Jacqueline Hirscher, Vincent de Jong, Ute Hoffmann, Hyun-Dong Chang, Jan Weber

03.05.11

VBio - Sonderveranstaltung der DGfI, 2 Schulklassen zu Gast in den Laboren des DRFZ

21.05.11

XXVI Congress of the International Society for the Advancement of Cytometry (ISAC), Baltimore, USA, Kongresspräsident: Andreas Radbruch

20.-21.06.11

Begutachtung durch den wissenschaftlichen Beirat, Postersession im DRFZ

18.06-02.07.11

ZIBI International Summer School on Pathogen-Host Interplay, incl. Praktikum: Introduction to cell sorting and flow cytometry, Hyun-Dong Chang

22.09.11

Symposium SFB650: Tolerance – from Bench to bedside (pre-Kitasato-Meeting), Alf Hamann, Potsdam

22.-23.9.2011

Kitasato Symposium, "Translational prospects for cytokines in 2011", Thomas Dörner, Andreas Radbruch, G.-R. Burmester, Potsdam

24.09.11

Eröffnung des Rheuma-Labors an der Charité. Wissenschaftler der Liaison-Arbeitsgruppen begleiten die Veranstaltung in den neuen Räumen durch Präsentationen von Techniken aus dem Laboralltag.

27.09.11

Joint Annual Meeting DGfI / SIICA, Riccione, ITA, Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen und Italienischen Gesellschaft für Immunologie, Andreas Radbruch

03.10.11

German-Russian meeting on Tumor Biology (The 3rd in the series of bilateral German-Russian meetings in biomedical sciences), Sergei Nedospasow, Schloss Heigerloh (near Tübingen),



24.5.11  
 Science Slam, Lido, Kreuzberg. Teilnehmer: Jan Weber, AG Hutloff. Jan Weber erklärt den etwa 450 Gästen "Das Immunsystem" in zehn Minuten. Science Slam ist ein Kurzvortragswettbewerb für Studierende und Nachwuchswissenschaftler, bei dem jeder Vortragende zehn Minuten Zeit hat, um sein eigenes Forschungsthema in einem populärwissenschaftlichen Vortrag vorzustellen und dabei die Herzen des Publikums zu gewinnen, die über den Sieger entscheiden.

05.10.11  
 7th Workshop Molecular Interactions, Ria Baumgrass, FU Berlin

09.10.11  
 3rd Autumn School, Ria Baumgrass, Bad Schandau

12.10.11  
 Weltrheumatag, Die Rheuma-Liga Berlin lädt gemeinsam mit dem DRFZ Patienten und Interessierte ins DRFZ ein. Jacqueline Hirscher, Andreas Radbruch, Rheuma-Liga

12.10.11  
 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zytometrie, Bonn, Hyun-Dong Chang



10.11.11  
 Evaluation des DRFZ durch die Leibniz-Gemeinschaft. Joachim Listing bei der Posterpräsentation während der Leibniz-Begutachtung.

14.11.11  
 Berlin Day of ImmunoSciences (RCIS) und RCIS Symposium, Alf Hamann, Charité, Berlin

06.12.12  
 Charité-Trainingskurs: 5 Tage Rheumatologie und klinische Immunologie, Gabriela Riemekasten, Gerd-Rüdiger Burmester, Charité, Berlin

16.12.11  
 SFB 650 Retreat: Strengthening the negative control mechanisms of the immune system, Alf Hamann, DRFZ



06.12.11  
 Hasinger Lecture, Gehalten von Peter Lipsky, USA  
 Mitchison Preisverleihung, Preisträgerin: Anna-Barbara Stittrich im DRFZ



29.11.2011, DRFZ  
 Blumen für Claudia Berek, überreicht durch Andreas Radbruch. Etwa 150 geladene Gäste und Mitarbeiter waren an diesem Tag bei dem Geburtstags-Symposium und Verabschiedungsfeier im Medizinhistorischen Museum und anschließend im DRFZ dabei. Ein ganzes Wissenschaftlerleben in Kurzvorträgen - von humorvoll bis wissenschaftlich - es war ein gelungener Ehrentag für Claudia Berek. Trotz Ruhestand führt sie ihre Arbeitsgruppe als Senior-Gruppenleiterin weiter.



16.12.11  
 Besuch einer 12. Klasse, Biologie Leistungskurs des Gymnasiums Steglitz im DRFZ Labor. Hyun-Dong Chang, Jacqueline Hirscher





### Titelseite:

Unser Bild zeigt Lymphozyten im Dünndarm einer Maus. Verschiedenste Publikationen haben bereits gezeigt, dass der Darm eine bedeutende Rolle bei der Regulation von Immunantworten hat. In den letzten Jahren gibt es in Mausmodellen zunehmend Hinweise darauf, dass die Zusammensetzung der Darmflora einen Einfluss auf die Entstehung von Autoimmunerkrankungen wie z.B. Rheumatoide Arthritis oder Multiple Sklerose haben kann.

Bild: Laura Oehme, Arbeitsgruppe Hauser, Immundynamik

## Impressum

Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin (DRFZ)

Ein Institut der Leibniz-Gemeinschaft

Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany

Andreas Radbruch, Wissenschaftlicher Direktor

Petra Starke, Kaufmännische Direktorin

Tel. +49 (0)30 28460 601

Fax +49 (0)30 28460 603

E-Mail [info@drfz.de](mailto:info@drfz.de)

Koordination Jacqueline Hirscher

Satz und Layout Jacqueline Hirscher, Claudia Brose, Grafik (Umschlag),  
Benedikt Lauer

Fotos Jacqueline Hirscher, wenn nicht anders vermerkt

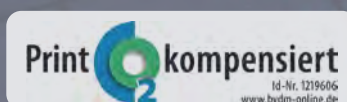
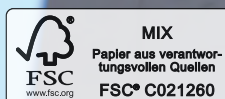
Übersetzungen Christine Raulfs

Druckerei in puncto druck+medien gmbh, Bonn

Der Jahresbericht kann kostenlos beim DRFZ angefordert werden.

[www.drfz.de](http://www.drfz.de)

ISSN 1436-7106



## Lageplan



**Vom Hauptbahnhof zum DRFZ:** 10 Minuten Fußweg bis zum DRFZ, oder mit dem Bus 147 bis „Schumannstraße“ oder mit dem TXL (Richtung Alexanderplatz) bis „Karlplatz“.