

LEHR- UND FORSCHUNGSGEBIET ZELL- UND MOLEKULARBIOLOGIE AN GRENZFLÄCHEN

UNIV.-PROF. DR. RER. NAT. WILLI JAHNEN-DECHENT

ANZAHL DER PLANSTELLEN FÜR WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER: 3

ANZAHL ALLER DRITTMITTELFINANZIERTEN MITARBEITER: 6, DAVON 4 WISS. MITARBEITER

1. FORSCHUNGSSCHWERPUNKTE

Untersuchung von Plasma-Bindeproteinen durch Gen-Knockout in Mäusen (B. Denecke, S. Ensslen, A. Heiss, W. Jahn-Dechent, C. Schäfer, N. Tsuchida, R. Westenfeld)

Fetuline (α_2 -HS-Glykoproteine) sind Plasma-Bindeproteine, die zur Homöostase des extrazellulären Calciums beitragen, indem sie spontane Apatitbildung in der Zirkulation verhindern. Diese Funktion der Fetuline haben wir durch Gen-Knockout in Mäusen belegt. In Zusammenarbeit mit Kollegen aus der Inneren Medizin II untersuchten wir Dialysepatienten und konnten zeigen, dass Fetuin-A-Mangel ein hochsignifikanter Mortalitätsfaktor ist. Einen weiteren Vertreter der Familie, Fetuin-B, haben wir erstmals auf Proteinebene untersucht. Einen weiteren Gen-Knockout haben wir für ein verwandtes Protein, das Histidin-reiche Glykoprotein (HRG) hergestellt. In diesem Projekt untersuchen wir die Rolle von HRG bei der Hämostase und im angeborenen Immunsystem in Kooperation mit Partnern aus der Universität Himeji, Japan. Besonders wichtig erscheint uns die Rolle dieser Proteine im pathophysiologischen Zusammenspiel mit Komponenten des angeborenen Immunsystems, der Knochenbildung sowie des Fettstoffwechsels. Das gilt für manifeste Erkrankungen wie Urämie und Atherosklerose aber auch für den physiologischen oder pathologischen Gewebeumbau (*remodeling*) bis hin zu Autoimmunerkrankungen.

Struktur und Regulation der zugehörigen murinen Gene (B. Denecke, W. Jahn-Dechent, J. Goldstein, V. Preuss, N. Tsuchida, B. Tschöke, M. Woeltje)

Zur Erzeugung von Gen-Knockout-Mäusen ist die Klonierung der entsprechenden Gene eine Grundvoraussetzung. Dabei werden typischerweise Phagen oder Cosmid-Klone von bis zu 100 KB isoliert und subkloniert. Diese genomischen Sequenzen enthalten auch regulatorische Genelemente, die zur Klonierung von Promoter-Reporterkonstrukten dienen. Nach Transfektion der Konstrukte in etablierte Zelllinien studieren wir den Aufbau der Promotoren sowie ihre Regulation durch externe Stimuli.

Analyse von Calcifizierungsmechanismen in vitro und in vivo (A. Heiss, W. Jahn-Dechent)

Im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms 1117 "Prinzipien der Biomineralisation" untersuchen wir natürliche Inhibitoren der Calcifizierung am Beispiel von α_2 -HS-Glykoprotein/Fetuin-A. Ziel dieser Untersuchungen ist ein genaues Verständnis des molekularen Mechanismus, der spontanes Ausfällen unlöslicher Calciumphosphate in Gegenwart von Fetuin-A verhindert. Dabei kooperieren wir mit Kollegen des Schwerpunktprogramms und haben so Zugang zu apparativ aufwändigen Methoden beteiligter Forschungseinrichtungen, darunter Neutronenbeugung, Synchrotronradiometrie und Rasterkraftmikroskopie.

Regulation der Zytokinwirkung durch Plasmabindeproteine (V. Preuss, R. Westenfeld, M. Wöltje)

Lösliche Proteine und Komponenten der Extrazellulärmatrix steuern die Aktivität, Verfügbarkeit und biologische Halbwertszeit von Zytokinen, Hormonen und Wachstumsfaktoren durch Komplexierung. Fetuin-A trägt Bindungsstellen für TGF und HGF. In Gen-Knockout-Mäusen konnten wir die Modulation der TGF-beta-Wirkung während der Leberregeneration nach partieller Hepatektomie durch Fetuin-A demonstrieren. Umgekehrt weisen Untersuchungen mit Promoter-Reporterkonstrukten darauf hin, dass Zytokine die Expression von Fetuin-A regulieren.

Zell- und molekularbiologische Methoden der Biomaterialtestung (C. Cordes, B. Denecke, T. Gräf)

Bei der Entwicklung optimaler Biomaterialien stellt sich neben den technischen Fragen nach Material- und Produktionsverfahren stets auch das Problem der Biokompatibilität. Dem Medizinproduktegesetz gemäß wird diese Fragestellung im Kontakt mit etablierten Zelllinien oder im Tierversuch untersucht. Zunehmend sind aber die komplexen Regelmechanismen bekannt, die zur zellulären Aktivierung Biomaterial-relevanter Zellen führen. Neben der genomweiten Analyse der Genexpression ist die DNA-Chip-Technologie auch für weniger komplexe Fragestellungen verwendbar. Zur Überprüfung Biomaterial-relevanter Probleme werden adaptierte "BIOMAT.-Chips" entwickelt, die gezielt die Untersuchung der relevanten Regulationsmechanismen zulassen. Diese Arbeiten wurden durch eine Anschubfinanzierung des Stammzellnetzwerks NRW gefördert.

Potenzial Stammzellen beim tissue engineering (B. Denecke, S. Neuss, B. Tschöke, C. Szezny, M. Wöltje)

Die Differenzierung in Richtung mesothelialer Zellen, die in der Embryogenese aus dem Mesoderm entstehen, soll Aufschlüsse über die mögliche Verwendbarkeit autologer humaner mesenchymaler Stammzellen zur Herstellung eines Bauchwandersatzes liefern. Mit der zunehmenden Anzahl an Publikationen, die adulten MSC ein weitaus größeres Differenzierungspotential zusprechen als bisher angenommen, stellt sich die Frage, ob diese Zellen in vitro über die Keimblattgrenzen hinaus differenzierbar sind. Aus diesem Grund werden in diesem Teilvorhaben zusätzlich MSC gezielt in Richtung neuronaler Zellen (Ektoderm) und Hepatozyten (Endoderm) differenziert. Darüber hinaus analysieren wir

Mechanismen der Stammzell-Mobilisierung aus dem Knochenmark sowie ihre potenzielle Rolle bei der Wundheilung. Hier ist insbesondere die Makrophagendifferenzierung aus Vorläuferzellen sowie deren anschließende Aktivierung Gegenstand unserer Untersuchungen.

2. DRITTMITTEL

2.1 über die Drittmittelstelle des UKA verwaltete Mittel

P 1: Extrazelluläre Calcifizierungsinhibitoren

Projektleiter: Prof. Dr. Willi Jahnen-Dechent
 Förderer: DFG, SPP 1117
 Art der Förderung: Projektförderung
 Bewilligungszeitraum: 05/03 – 04/05
 Kooperationen: Ketteler, Floege; Innere II, Hollweg; Elektronenmikroskopie
 Sind Probanden/ ja
 Patienten einbezogen?

P 2: Entwicklung von "BIOMAT.-Chips"

Projektleiter: Dr. Bernd Denecke
 Förderer: IZKF „BIOMAT.“, ZP5
 Art der Förderung: Projektförderung
 Bewilligungszeitraum: 01/02 – 12/03
 Kooperationen: Bloemeke, Hautklinik; Dooley, Klin. Chemie; Ostendorf, Innere II; Hillebrand, Lammers, Innere III; Müller, Hygiene und Umweltmedizin; Schrage, Augenklinik; Cierpka, Plast. Chirurgie; Mey, Biologie
 Sind Probanden/ nein
 Patienten einbezogen?

P 3: *In vitro* Differenzierung von humanen mesenchymalen Stammzellen

Projektleiter: Dr. Michael Wöltje
 Förderer: IZKF „BIOMAT.“, B 75
 Art der Förderung: Projektförderung
 Bewilligungszeitraum: 01/02 – 12/03
 Kooperationen: Tietze, Eblenkamp, Pathologie; Brook, Schmidt, Kosinski, Schiefer, Neurologie; Schneider, Orthopädie; Wiesemann, Gries, ITA
 Sind Probanden/ nein
 Patienten einbezogen?

P 4: Reprogrammierung von Stammzellen

Projektleiter: Dr. B. Denecke
 Förderer: START
 Art der Förderung: Projektförderung
 Bewilligungszeitraum: 01/03-12/04
 Sind Probanden/ nein
 Patienten einbezogen?

P 5: Netzwerk Stammzellforschung NRW

Projektleiter: Dr. B. Denecke
 Förderer: MWF
 Art der Förderung: Projektförderung
 Bewilligungszeitraum: 05/03-12/03
 Kooperationen: Wöltje, Jockenhövel, THGCh; Wiesemann, Gries, ITA; Noll; FZ Jülich
 Sind Probanden/ ja
 Patienten einbezogen?

3. PUBLIKATIONEN

mittlerer IF des Faches (mIF): 1,313 (Material science, Biomaterials)

3.1 Originalarbeiten

- [1] **Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnen-Dechent W.** (2003) Tissue distribution and activity testing suggest similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem. J.* 376, 135-145. **IF 4,589**
- [2] **Schäfer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, Müller-Esterl W, Schinke T, Jahnen-Dechent W.** (2003) The serum protein α_2 -HS-glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J. Clin. Invest.* 112, 357-366. **IF 14,051.**
- [3] Ketteler M, Wanner C, Metzger T, Bongartz P, Westenfeld R, Gladziwa, U, Schurgers, L.J, Vermeer, C, **Jahnen-Dechent W**, Floege J. (2003) Deficiencies of calcium-regulating proteins in dialysis patients: A novel concept of cardiovascular calcification in uremia. *Kidney Int.* 63, Suppl. 84, S84-S87. **IF 5,016.**
- [4] **Dagtekin G, Schiffer R, Klein B, Jahnen-Dechent W, Zwadlo-Klarwasser G.** (2003) Modulation of angiogenic functions in human macrophages by biomaterials. *Biomaterials* 24, 3395-3401. **IF 3,008.**
- [5] Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger J.E, Mahnken A.H, Böhm R, Metzger T, Wanner C, **Jahnen-Dechent W**, Floege J. (2003) Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *The Lancet* 361, 827-833. **IF 15,397**

- [6] Heiss A, Du Chesne A, Denecke B, Grötzing J, Yamamoto K, Renné T, **Jahnen-Dechent W.** (2003) Structural basis of calcification inhibition by α_2 -HS glycoprotein / fetuin-A: formation of colloidal calci-protein particles. *J. Biol. Chem.* 278, 13333-13341. **IF 6,696**
- [7] Müller BP, Eisenträger A, **Jahnen-Dechent W**, Dott W, Hollender J. (2003) Effect of sample preparation on the *in vitro* genotoxicity of a light curable glass ionomer cement. *Biomaterials*, 24, 611-617. **IF 3,008.**
- [8] Qing M, Schumacher K, Heise R, **Wöltje M**, Vazquez-Jimenez JF, Richter T, Arranda-Carrero M, Hess J, von Bernuth G, Seghaye M. C. (2003). In-tramycardial synthesis of pro- and anti-inflammatory cytokines in infants with congenital cardiac defects. *J Am Coll Cardiol* 41, 2266-2274. **IF 6,278**

3.2 Diplomarbeiten, Dissertationen, Habil.-schriften

Diplomarbeiten:

- [1] Preuss Verena. Regulation des Fetuin-Genlocus. Dipl. Biol., RWTH Aachen, 09.09.2003

Dissertationen:

- [1] Schäfer Cora. Biochemische und funktionelle Charakterisierung einer gerichteten Gendeletion (knockout) von Fetuin-A in Mäusen. Dr. rer. nat., RWTH Aachen, 27.11.2003

4. SONSTIGES

4.1 Gutachtertätigkeit für Organisationen

Prof. Dr. W. Jahnen-Dechent

- Deutsche Forschungsgemeinschaft
- IZKF „BIOMAT.“

4.2 Gutachtertätigkeit für Zeitschriften

Prof. Dr. W. Jahnen-Dechent

- Atherosclerosis Thrombosis Vascular Biology
- Biochemical and Biophysical Archive
- Biochemical Journal
- Biological Chemistry
- Circulation Research
- European Journal of Biochemistry
- FEBS Letters
- Hormone and Metabolism Research
- Journal of Cellular Physiology

4.3 Ausrichtung von Konferenzen und Tagungen

IZKF BIOMAT, BwA, AKM

- XVIth Aachen Colloquium on Biomaterials, Aachen, 6.-7. März 2003

5. METHODEN

Zellkultur, pro- und eukaryontisch, Stammzellkultur, Molekularbiologie, alle Standard-Techniken

DNA-, RNA- Protein-Analytik, DNA-Array Analyse

Expression und Reinigung rekombinanter Proteine

Antikörpererzeugung und Analyse, polyklonal und monoklonal

Transgene und *knockout* Mäuse

Histologie, Mikroskopie