

# 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, J. Goldstein, A. Heiss, W. Jahnen-Dechent, C. Schäfer, N. Tsuchida-Straten, R. Westenfeld)

Fetuiene ( $\alpha_2$ -HS-Glykoproteine) sind Plasma-Bindeproteine, die zur Homöostase des extrazellulären Calciums beitragen, indem sie spontane Apatitbildung in der Zirkulation verhindern. Diese Funktion der Fetuiene 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, J. Goldstein, W. Jahnen-Dechent, N. Tsuchida, M. Wöltje)

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 (S. Brincker, A. Heiss, W. Jahnen-Dechent)

Im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms 1117 "Prinzipien der Biomineralisation" untersuchen wir natürliche Inhibitoren der Calcifizierung am Beispiel von  $\alpha_2$ -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 Röntgen-/Neutronen Kleinwinkelstreuung, Synchrotronradiometrie und Rasterkraftmikroskopie.

Regulation der Zytokinwirkung durch Plasmabindeproteine (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 Promotor-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 von Stammzellen beim tissue engineering (B. Denecke, S. Neuss-Stein, S. Reepschläger C. Szesny, B. Tschöke, 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; Merx, Innere I.  
 Sind Probanden/ ja  
 Patienten einbezogen?

#### P 2: DFG-Graduiertenkolleg "Biointerface"

Projektleiter: Prof. Dr. Willi Jahnen-Dechent  
 Förderer: DFG, GK 1035/1  
 Art der Förderung: Projektförderung  
 Bewilligungszeitraum: 07/04 – 12/08  
 Kooperationen: Möller, TexMC; Schorle, Bonn  
 Sind Probanden/ nein  
 Patienten einbezogen?

#### P3: Reprogrammierung von Stammzellen

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

#### P 4: Entwicklung von „BIOMAT.-Chips“

Projektleiter: Dr. Bernd Denecke  
 Förderer: IZKF BIOMAT., ZP 5  
 Art der Förderung: Projektförderung  
 Bewilligungszeitraum: 01/02-04/04  
 Kooperationen: Bloemeke, Hautklinik; Dooley, Klin. Chemie; Ostendorf, Innere II; Hillebrand, Lammers, Innere III; Müller, Hygiene; Schrage, Augenklinik; Cierpka, Plast. Chirurgie; Mey, Biologie  
 Sind Probanden/ nein  
 Patienten einbezogen?

#### P 5: Protein-Mineral Grenzfläche

Projektleiter: Dr. Alexander Heiss  
 Förderer: START  
 Art der Förderung: Projektförderung  
 Bewilligungszeitraum: 05/04 – 12/05  
 Kooperationen: Simon, Anorganische Chemie; Mayer, Elektronenmikroskopie  
 Sind Probanden/ nein  
 Patienten einbezogen?

#### P 6: HRG-Funktionsanalyse

Projektleiter: Dr. Cora Schäfer  
 Förderer: START  
 Art der Förderung: Projektförderung  
 Bewilligungszeitraum: 07/04 – 06/06  
 Kooperationen: Herrmann, Medizinische Klinik III, Erlangen; Koide, Hyogo, Japan  
 Sind Probanden/ nein  
 Patienten einbezogen?

## 3. PUBLIKATIONEN

**mittlerer IF des Faches (mIF): 1,401 (Material science, Biomaterials)**

### 3.1 Originalarbeiten

- [1] Börner C, **Wöltje M**, Höllt V, Kraus J. STAT6 transcription factor binding sites with mismatches within the canonical 5'-TTC...GAA-3' motif involved in regulation of delta- and mu-opioid receptors. *J Neurochem.* 2004, Dec, 91 (6): 1493-500. IF 4,825
- [2] **Brandenburg VM**, Gaertner S, Lindemann-Docter K, Ortlepp JR, Westerhuis R, Ketteler M, **Westenfeld R**, Floege J. Underestimated complications in thrombotic thrombocytopenic purpura--haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Aug;19(8):2142-6. IF 2,607
- [3] **Brandenburg VM**, Politt D, Ketteler M, Fassbender WJ, Heussen N, **Westenfeld R**, Freuding T, Floege J, Ittel TH. Early rapid loss followed by long-term consolidation characterizes the development of lumbar bone mineral density after kidney transplantation. *Transplantation.* 2004; 27;77 (10):1566-71. IF 3,608

- [4] Leite-Browning ML, McCawley LJ, **Jahnen-Dechent W**, King LE, Jr., Matrisian LM, Ochieng J. Alpha 2-HS glycoprotein (fetuin-A) modulates murine skin tumorigenesis. *Int J Oncol* 2004; 25(2):319-24. IF 2,536
- [5] Musi B, Braide M, Carlsson O, Wieslander A, Albrektsson A, Ketteler M, **Westenfeld R**, Floege J, Rippe B. Biocompatibility of peritoneal dialysis fluids: long-term exposure of nonuremic rats. *Perit Dial Int*. 2004 Jan-Feb;24(1):37-47. IF 1,950
- [6] **Neuss S**, Becher E, **Wöltje M**, Tietze L, **Jahnen-Dechent W**. Functional expression of HGF and HGF receptor/c-met in adult human mesenchymal stem cells suggests a role in Cell mobilization, tissue repair and wound healing. *Stem Cells* 2004, 22, 405-14. IF 5,820.
- [7] Ostendorf T, Van Roeyen C, **Westenfeld R**, Gawlik A, Kitahara M, De Heer E, Kerjaschki D, Floege J, Ketteler M. Inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide promotes glomerular angiogenesis via upregulation of vascular endothelial growth factor receptors. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Sep;15(9):2307-19. IF 7,499
- [8] Peters H, Eisenberg R, Daig U, Liefeldt L, **Westenfeld R**, Gaedeke J, Kramer S, Neumayer HH. Platelet inhibition limits TGF-beta overexpression and matrix expansion after induction of anti-thy1 glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2238-48. IF 5,302
- [9] Reynolds JI, Joannides AJ, Skepper JN, McNair R, Schurgers LJ, Proudfoot D, **Jahnen-Dechent W**, Weissberg PI, Shanahan CM. Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15(11):2857-67. IF 7,499
- [10] Swallow CJ, Partridge EA, Macmillan JC, Tajirian T, DiGuglielmo GM, Hay K, Szweras M, **Jahnen-Dechent W**, Wrana JL, Redston M, Gallinger S, Dennis JW. alpha2HS-glycoprotein, an antagonist of transforming growth factor beta in vivo, inhibits intestinal tumor progression. *Cancer Res*. 2004 Sep 15;64 (18):6402-6409. IF 8,649

### 3.2 Übersichtsarbeiten/Reviews

- [1] **Brandenburg VM**, **Westenfeld R**, Ketteler M. The fate of bone after renal transplantation. *J Nephrol*. 2004 Mar-Apr; 17(2):190-204. IF 1,025
- [2] **Jahnen-Dechent W**, **Neuss S**. Stammzellen in der Medizin. *biologen heute* 2004/2005: 35-51, ISSN 1432-8631
- [3] **Jahnen-Dechent W**. „Lot's Wife's Problem" gelöst? Regulation der biologischen Calcifizierung. *Biospektrum* 2004,3, 254-257. ISSN 0947-0867

### 3.3 Beiträge in Lehr-/Handbüchern, Monographien

- [1] **Jahnen-Dechent W**. Lot's wife's problem revisited: how we prevent pathological calcification. *Biom mineralization*, Edition II, Baeuerlein, E., ed. Wiley-VCH, Weinheim, 2004, 245-267, ISBN 3527310657

### 3.4 Diplomarbeiten, Dissertationen, Habil.-schriften

#### **Diplomarbeiten:**

- [1] Reepschläger, Svenja. Transdifferenzierung muriner mesenchymaler Stammzellen zu leberähnlichen Zellen unter Verwendung eines Extraktes aus primären Hepatozyten. FH Jülich Feb/2004

#### **Dissertationen:**

- [1] Neuss-Stein, Sabine. Untersuchungen zur Bedeutung mesenchymaler Stammzellen in der Geweberegeneration. RWTH Aachen Dez/2004

## **4. SONSTIGES**

### 4.1 Preise/ Auszeichnungen

*Dr. Ralf Westenfeld*

- Best Abstract and Best abstract of young authors EDTA 2004 Lissabon
- Poster Preis: GFN Basel, 2004

### 4.2 Patente

*Prof. Dr. Willi Jahnen-Dechent*

- DE 103 05 222 A1 2004.08.19

### 4.3 Gutachtertätigkeit für Organisationen

*Prof. Dr. Willi Jahnen-Dechent*

- EU FP6
- Deutsche Forschungsgemeinschaft
- IZKF „BIOMAT.“

### 4.4 Gutachtertätigkeit für Zeitschriften

*Prof. Dr. Willi 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

*Dr. Vincent Brandenburg*

- Nephrol Dial Transplant
- Am Journal Kid Dis
- Am J Transplant

### 4.5 Ausrichtung von Konferenzen und Tagungen

*IZKF BIOMAT, BwA, AKM*

- XVIIth Aachen Colloquium on Biomaterials, Aachen, 4.-5. März 2004

## 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
- Durchfluss-Zytometrie