

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie

Institute for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology

Chair for Pharmacology and Toxicology

Fahrstrasse 17, 91054 Erlangen
Tel: ++49 (0)9131 / 85-22771
Fax: ++49 (0)9131 / 85-22774
E-Mail: ludwig@pharmakologie.uni-erlangen.de

Ansprechpartner / Contact:

Hochschullehrer / Professors and Junior Faculty

		E-Mail	Telefon
Brune, Kay	Prof. Dr. med. Dr. h.c.	brune@pharmakologie.uni-erlangen.de	22292
<i>Leiter / Chairman bis 30.09.2003 sowie 01.09.2005 bis 31.03.2006</i>			
Ahmadi, Seifollah	PD Dr. rer. nat.	ahmadi@pharmakologie.uni-erlangen.de	26936
<i>bis 30.09.2005</i>			
Heindl, Cornelia	Dr. rer. nat.	heindl@pharmakologie.uni-erlangen.de	26936
Herrmann, Stefan	Dr. rer. nat.	Herrmann@pharmakologie.uni-erlangen.de	26979
<i>ab 07.04.2006</i>			
Hess, Andreas	PD Dr. rer. nat.	hess@pharmakologie.uni-erlangen.de	22801
Hinz, Burkhard	PD Dr. rer. nat.	hinz@pharmakologie.uni-erlangen.de	22754
Ludwig, Andreas	Prof. Dr. med.	ludwig@pharmakologie.uni-erlangen.de	22220
<i>Leiter / Chariman ab 01.04.2006</i>			
Pahl, Andreas	PDDr. rer. nat.	pahl@pharmakologie.uni-erlangen.de	22002
Sass, Gabriele	PD Dr. rer. nat.	sass@pharmakologie.uni-erlangen.de	22768
Stieber, Juliane	PD Dr. med.	stieber@pharmakologie.uni-erlangen.de	26936
<i>ab 01.12.2006</i>			
Tiegs, Gisa	Prof. Dr. rer. nat	tiegs@pharmakologie.uni-erlangen.de	22883
Zeilhofer, Hanns Ulrich	Prof. Dr. med.	zeilhofer@pharmakologie.uni-erlangen.de	26935
<i>Leiter / Chairman vom 01.10.2003 bis 31.08.2005</i>			

Forschungsschwerpunkte

- Schrittmacherkanäle
- Molekulare Neuropharmakologie
- Immunpharmakologie
- Immunpharmakologie und Toxikologie (Tiegs)
- Funktionelle Bildgebung (Brune, Hess)

Research Focus

- Pacemaker channels
- Neuropharmacology
- Biochemical Pharmacology
- Experimental Toxicology
- Functional Imaging

Die Leitung des Lehrstuhls Pharmakologie und Toxikologie hat im Berichtszeitraum wiederholt gewechselt. So wurde er nach der Ernennung von K. Brune zum Doerenkamp-Professor im Jahre 2003 zunächst von Prof. H.U. Zeilhofer verwaltet (01.10.2003 – 31.08.2005). Danach wurde er kommissarisch wieder von K. Brune geleitet (01.09.2005 – 31.03.2006). Seit dem 01.04.2006 hat A. Ludwig die Leitung übernommen. Zu den bis dahin bestehenden Arbeitsgruppen kam mit der Ernennung von A. Ludwig der Forschungsschwerpunkt „Schrittmacherkanäle“ hinzu. Im Folgenden wird versucht, trotz der Änderungen in der Verantwortung ein umfassendes Bild über die Forschungs- und Lehrtätigkeit des Lehrstuhls zu geben.

1. Schrittmacherkanäle

Schwerpunkt ist die Untersuchung der molekularen Struktur und Funktion von Ionenkanälen, insbesondere von Hyperpolarisations-aktivierten Kationenkanälen (HCN1–4). HCN-Kanäle unterliegen dem I_f/I_h -Strom und werden auch als Schrittmacherkanäle bezeichnet, da sie vermutlich entscheidend an der spontanen Aktivität von Sinusknotenzellen und rhythmisch aktiven Neuronen beteiligt sind. Weiterhin wird postuliert, dass sie an zahlreichen weiteren Funktionen wie Lernen, Gedächtnis, Schmerz und Schlaf beteiligt sind. Von unserer Arbeitsgruppe wurden die Gene für HCN2 und HCN4 in der Maus deletiert. Fehlen von HCN2 führt zu Absence-Epilepsie und einer geringgradigen Sinusknotendysfunktion. Möglicherweise werden auch beim Menschen durch defekte HCN-Kanäle solche Erkrankungen verursacht. Im Sinusknoten ist besonders stark HCN4 exprimiert. In unserem Labor hergestellte HCN4-defiziente Tiere sind bemerkenswerterweise nicht lebensfähig und sterben am Embryonaltag 10.5. Zur Aufklärung der Rolle von I_f im Sinusknoten adulter Tieren wurde mit Hilfe des Cre/loxP-Systems ein zeitlich kontrollierter Knockout von HCN4 generiert. Fehlen von HCN4 führt zu einer drastischen Reduktion des sinoatrialen I_f sowie zu Sinuspausen. Überraschenderweise ist aber die Hochregulation der Herzfrequenz durch den Sympathikus völlig erhalten. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass I_f nicht, wie bisher vermutet, an der beta-adrenergen Modulation der Herzfrequenz beteiligt ist. Wir schlagen vor, dass I_f stattdessen als „Backup“-Mechanismus funktioniert, der einen regelmäßigen Herzschlag auch unter kritischen kardialen Bedingungen garantiert. Weiterhin wurde versucht, eine transgene Mauslinie zu erzeugen, mit der Gene selektiv im Reizleitungssystem deletiert werden können. Dazu wurde ein „knock-in“ einer Tamoxifen-induzierbaren Cre-Rekombinase in den HCN4 Locus etabliert. Analysen zeigen, dass mit dieser Mauslinie tatsächlich eine zeitlich kontrollierte Deletion von Genen ausschließlich im Reizleitungssystem des Herzens möglich ist. Wir werden diese Linie einsetzen, um eine Reihe von Genen auszuschalten, die bei der Rhythmogenese im Herz eine Rolle spielen sollen.

In Zusammenarbeit mit M. Dutschmann (Göttingen) wurde eine gestörte Atmung in HCN-Kanal-defizienten Tieren identifiziert. Laufende Untersuchungen an diesen Tieren sollen zeigen, wel-

che Neuronen für diesen Phänotyp verantwortlich ist. Derzeit wird außerdem die physiologische Rolle von HCN4 im Gehirn untersucht. Die Arbeiten werden gefördert durch den SFB391 (Teilprojekt C12) und das Graduiertenkolleg 333. Projektleiter: Prof. A. Ludwig. Mitarbeiter: S. Herrmann, J. Stieber

1. Pacemaker channels

We study the molecular structure and physiological function of ion channels with a focus on hyperpolarization-activated cation channels (HCN1–4). HCN channels generate a current termed I_f (in the heart) or I_h (in the brain). HCN channels are also called „pacemaker channels“ since they contribute to the spontaneous rhythmic activity of sinoatrial node cells and various neurons. In addition, these ion channels are involved in a variety of other functions including learning and memory, pain and sleep. We created mice deficient for the isoforms HCN2 and HCN4. Lack of HCN2 leads to absence of epilepsy and sinus node dysfunction. The results suggest that defective HCN channels may play a role in the pathogenesis of these diseases in humans. The sinoatrial node expresses high levels of HCN4 protein. Knockout of HCN4, carried out in our laboratory, turned out to be embryonic lethal. To circumvent this embryonic lethality, we used the Cre/loxP-system to delete HCN4 in a temporally controlled manner. Adult mice lacking HCN4 show a dramatic reduction of sinoatrial I_f and display frequent sinus pauses. Surprisingly, upregulation of the heart rate by the sympathetic system is not impaired in the animals. These results indicate that I_f , contrary to earlier assumptions, seems not to be involved in the beta-adrenergic induced increase in heart rate. We suggest that I_f instead functions as backup mechanism supporting the generation of a regular cardiac rhythm under critical conditions. In addition, we attempted to generate a transgenic line enabling a temporally regulated inactivation of floxed target genes specifically in the sinoatrial node. We established a knock-in of a tamoxifen-inducible Cre recombinase in the HCN4 locus. The resulting mice show indeed high recombinase activity confined to the cardiac conduction system. We will use this transgene to inactivate various genes proposed to be important in cardiac pacemaking. In collaboration with M. Dutschmann (Göttingen), an altered regulation of respiration was identified in HCN-deficient mice. Ongoing experiments aim to identify the neuronal population responsible for this phenotype. In addition, we study the role of HCN4 in the brain. The above projects were funded by SFB 391 (C12) and GRK333. Principal investigator: Prof. A. Ludwig. Collaborators: S. Herrmann, J. Stieber

Internationale Kooperationen / International collaborations

Prof. Kenneth Chien, Harvard Medical School, USA

Prof. Peter Goldstein, Cornell University, New York, USA

Prof. Tallie Baram, University of California, Irvine, USA

Dr. Takuya Notomi, University of Sheffield, Großbritannien

Dr. Ingrid van Welie, University of Amsterdam, Niederlande

Ausgewählte Publikationen / Selected publications

Meuth SG, Kanyshkova T, Meuth P, Landgraf P, Munsch T, Ludwig A, Hofmann F, Pape HC, Budde T (2006) Membrane resting potential of thalamocortical relay neurons is shaped by the interaction among TASK3 and HCN2 channels. *J Neurophysiol* 96: 1517-1529

Stieber J, Wieland K, Stockl G, Ludwig A, Hofmann F (2006) Bradycardic and proarrhythmic properties of sinus node inhibitors. *Mol Pharmacol* 69: 1328-1337

2. Molekulare Neuropharmakologie

Im Berichtszeitraum beschäftigte sich diese Gruppe mit zwei großen Themenbereichen: Zum Einen ging es darum, die molekularen Mechanismen der antihyperalgetischen Wirksamkeit von selektiven und nicht-selektiven Zykllooxygenasehemmern (Aspirin-ähnliche Schmerzmittel, nicht-steroidale Antirheumatika, non-steroidal, anti-inflammatory drugs (NSAIDs) zu definieren. Unter der Leitung von H.U. Zeilhofer gelang es, den Glyzin- α 3-Rezeptor im Hinterhorn des Rückenmarks als entscheidendes Element der Hyperalgesie und Antihyperalgesie unter dem Einfluss von proalgetischen Prostaglandinen zu definieren. Die Gruppe konnte zeigen, dass Traumen und Entzündungen zu einer vermehrten Expression des Enzyms Zykllooxygenase-2 im Hinterhorn des Rückenmarks führt. Die vermehrt gebildeten Prostaglandine vom E-Typ aktivieren EP₂-Rezeptoren, die über eine Proteinkinase A zur Phosphorylierung des Glyzin- α 3-Rezeptors führen. Dadurch wird die normalerweise bestehende Hyperpolarisation des ersten, postsynaptischen, schmerzrelevanten Neurons reduziert und die Weiterleitung nozizeptiver Impulse erleichtert. Die Hemmung der Zykllooxygenase-2 im Hinterhorn des Rückenmarks führt zu einer Verminderung der PGE₂-Produktion und damit zu einer Normalisierung der Schmerzempfindlichkeit. Diese Ergebnisse wurden in herausragenden Journalen (*Nat Neurobiol*, *Science*, *J Clin Invest* und Anderen) publiziert. Projektleiter: S. Ahmadi, K. Brune, C. Heindl, B. Hinz, R. Ramer, H.U. Zeilhofer

In der Gruppe um B. Hinz und K. Brune gelang es, die Bedeutung der Zykllooxygenase-2 im Ziliarepithel des humanen Auges zu definieren und damit die molekularen Mechanismen der antiglaukomatösen Wirkung von synthetischen Prostaglandinen und Cannabinoiden als Senker des Augeninnendrucks zu erklären. Zahlreiche hochrangige Publikationen führten zur Bewertung „ausgezeichnet“ des Teilprojektes B1.6 von B. Hinz innerhalb des SFB 539 („Glaukome einschliesslich Pseudoexfoliationssyndrom“). Darüber hinaus konnte die Arbeitsgruppe von B. Hinz im Berichtszeitraum Einzelförderungen durch die Deutsche Krebshilfe e.V. und die Johannes und Frieda Marohn-Stiftung erwirken. Schwerpunkt dieser Projekte ist der Mechanismus der antitumorigenen Wirkung von Cannabinoiden und ausgewählten Chemotherapeutika. Flankierend zu diesen molekularen Analysen der Zykllooxygenasen und Prostaglandine führte die Arbeitsgruppe unter K. Brune und B. Hinz umfangreiche, pharmakokinetisch-pharmakodynamische Analysen der Zykllooxygenasehemmer beim Menschen durch. Auch diese Arbeiten führten zu einer Reihe relevanter Publikationen. Mit einer in *Arthritis & Rheumatism* konnte schliesslich ein neues Konzept zur Erklärung kardiovaskulärer Nebenwirkungen von Zykllooxygenase-Hemmern vorgestellt werden, das als Re-

search Highlight in *Nature Clinical Practise Rheumatology* dokumentiert wurde.

2. Neuropharmacology

The group "Neuropharmacology" was concerned with the molecular neuropharmacology of hyperalgesia. It was lead most of the time by H.U. Zeilhofer, but before his becoming the leader of the team and after his promotion to the chairmanship of the Department of Pharmacology at the University of Zurich and ETH Zurich, K. Brune was responsible. The central aim of this research group was the identification of the molecular mode of action of so called cyclooxygenase inhibitors (non-steroidal, anti-inflammatory drugs, aspirin-like drugs) in the central nervous system. In a series of exiting experiments using patch clamping of single cells of the dorsal horn of the spinal cord, k.o. mice, imaging techniques and classical pharmacological tools, it could be convincingly shown that peripheral trauma causes activation of cyclooxygenases in the dorsal horn of the spinal cord which in turn leads via prostaglandin E₂ receptors and protein kinase A to deactivation of glycine α 3 receptor dependant chloride channels. This observation explains why peripheral trauma causes central hyperalgesia and why cyclooxygenase inhibitors reduce hyperalgesia resulting from peripheral tissue trauma, inflammation, surgical tissue damage and infection. The successful approach was made possible by intensive collaborations with many research groups worldwide. This work not only yielded excellent publications, but also several prizes and awards. Principal investigators: S. Ahmadi, K. Brune, C. Heindl, B. Hinz, R. Ramer, H.U. Zeilhofer.

The group of B. Hinz and K. Brune has focussed on the importance of the cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme in the ciliary epithelium of the human eye. In this context evidence was provided suggesting that antiglaucomatous agents, including prostaglandins (latanoprost) and cannabinoids, confer their pharmacological action by inducing COX-2 which in turn leads to the expression of outflow-facilitating matrix metalloproteinases. Numerous publications and the evaluation as an excellent project led to a further 3-years funding (2006-2009) of the project now headed by B. Hinz within the Collaborative Research Grant 539 ("Glaucomas including pseudoexfoliation syndrome") of the German Research Community. Furthermore, the research team of B. Hinz was funded by projects of the German Cancer Aid and the Johannes and Frieda Marohn Stiftung. In the main focus of these project is the antitumorigenic action of cannabinoids and selected chemotherapeutic drugs. Besides molecular analyses of COX-2 expression, the group of K. Brune and B. Hinz performed extensive, pharmacokinetic-pharmacodynamic analyses of COX-2 inhibitors in humans. These approaches led to numerous relevant publication. With a recent paper published in *Arthritis & Rheumatism* a novel concept was proposed to explain cardiovascular side effects of COX inhibitors, which was documented as a Research Highlight in *Nature Clinical Practise Rheumatology*.

Internationale Kooperationen / International collaborations

Dr. Robert Harvey, The School of Pharmacy, University of London
Dr. S. Narumiya, Department of Pharmacology, Kyoto University
Dr. C.F. Woolf, Harvard Medical School, Massachusetts, USA.

Ausgewählte Publikationen / Selected publications

Bayer K, Ahmadi S, Zeilhofer HU (2004) Gabapentin may inhibit synaptic transmission in the mouse spinal cord dorsal horn through a preferential block of P/Q-type Ca²⁺ channels. *Neuropharmacology* 46: 743-9

Haverkamp S, Muller U, Zeilhofer HU, Harvey RJ, Wassle H (2004) Diversity of glycine receptors in the mouse retina: localization of the alpha2 subunit. *J Comp Neurol* 477: 399-411

Harvey RJ, Depner UB, Wassle H, Ahmadi S, Heindl C, Reinold H, Smart TG, Harvey K, Schutz B, Abo-Salem OM, Zimmer A, Poisbeau P, Welzl H, Wolfer DP, Betz H, Zeilhofer HU, Muller U (2004) GlyR alpha3: an essential target for spinal PGE₂-mediated inflammatory pain sensitization. *Science* 304: 884-7

Hinz B, Ramer R, Eichele K, Weinzierl U, Brune K (2004) R(+)-methanandamide-induced cyclooxygenase-2 expression in H4 human neuroglioma cells: Possible involvement of membrane lipid rafts. *Biochem Biophys Res Commun* 324:621-626

Hinz B, Ramer R, Eichele K, Weinzierl U, Brune K (2004) Upregulation of cyclooxygenase-2 expression is involved in R(+)-methanandamide-induced apoptotic death of human neuroglioma cells. *Mol Pharmacol* 66:1643-1651

Hinz B, Brune K (2004) Perspectives and clinical significance of eicosanoids in pain and inflammation. In: Curtis-Prior P (ed) *The eicosanoids*. John Wiley & Sons, London, pp. 321-325

Hinz B, Brune K (2004) Non-steroidal anti-inflammatory drugs – old and new. In: Iseberg DH, Maddison PJ, Woo P, Glass D, Breedveld FC (eds) *Oxford Textbook of Rheumatology*. 3rd edition, Oxford University Press, Oxford, pp. 442-450

Muth-Selbach U, Dybek E, Kolloosche K, Stegmann JU, Holthusen H, Lipfert P, Zeilhofer HU (2004) The spinal antinociceptive effect of nocistatin in neuropathic rats is blocked by D-serine. *Anesthesiology* 101: 753-8

Neubert A, Dormann H, Weiss J, Egger T, Criegee-Rieck M, Rascher W, Brune K, Hinz B (2004). The impact of unlicensed and off-label drug use on adverse drug reactions in paediatric patients. *Drug Saf* 27:1059-1067

Hinz B, Rösch S, Ramer R, Tamm ER, Brune K (2005) Latanoprost induces matrix metalloproteinase-1 expression in human non-pigmented ciliary epithelial cells through a cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *FASEB J*, published online Aug 2, 2005, doi:10.1096/fj.04-3626fje; Summary in *FASEB J* 19:1929-1931

Hinz B, Chevts J, Renner B, Wuttke H, Rau T, Schmidt A, Szelenyi I, Brune K, Werner U (2005) Bioavailability of diclofenac potassium at low doses. *Br J Clin Pharmacol* 59:80-84

Reinold H, Ahmadi S, Depner UB, Layh B, Heindl C, Hamza M, Pahl A, Brune K, Narumiya S, Muller U, Zeilhofer HU (2005) Spinal inflammatory hyperalgesia is mediated by prostaglandin E receptors of the EP₂ subtype. *J Clin Invest* 115: 673-9

Rösch S, Ramer R, Brune K, Hinz B (2005) Prostaglandin E₂ induces cyclooxygenase-2 expression in human non-pigmented ciliary epithelial cells through activation of p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases. *Biochem Biophys Res Commun* 338:1171-1178

Zeilhofer HU, Studler B, Arabadzisz D, Schweizer C, Ahmadi S, Layh B, Bosl MR, Fritschy JM (2005) Glycinergic neurons expressing enhanced green fluorescent protein in bacterial artificial chromosome transgenic mice. *J Comp Neurol* 482: 123-41

Zeilhofer HU (2005) Synaptic modulation in pain pathways. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 54: 73-100

Zeilhofer HU (2005) The glycinergic control of spinal pain processing. *Cell Mol Life Sci* 62: 2027-35

Hinz B, Dormann H, Brune K (2006) More pronounced inhibition of cyclooxygenase-2, increase of blood pressure and decrease of heart rate by treatment with diclofenac compared with celecoxib and rofecoxib. *Arthritis Rheum* 54: 282-291

Hosl K, Reinold H, Harvey RJ, Muller U, Narumiya S, Zeilhofer HU (2006) Spinal prostaglandin E receptors of the EP₂ subtype and the glycine receptor alpha3 subunit, which mediate central inflammatory hyperalgesia, do not contribute to pain after peripheral nerve injury or formalin injection. *Pain* 126: 46-53

Rösch S, Ramer R, Brune K, Hinz B (2006) R(+)-methanandamide and other cannabinoids modulate the expression of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinases in human non-pigmented ciliary epithelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 316:1219-1228

Zeilhofer HU, Brune K (2006) Analgesic strategies beyond the inhibition of cyclooxygenases. *Trends Pharmacol Sci* 27: 467-74

3. Biochemische Pharmakologie

Zusammen mit A. Pahl widmete sich K. Brune der Evaluation möglicher neuer therapeutischer Optionen bei Asthma und COPD. Dazu wurden eine Reihe von *in-vitro*-Modellen entwickelt (vgl. Aktivitäten Doerenkamp-Stiftungslehrstuhl). A. Pahl ist mit einem Teil der Arbeiten Mitglied des SFB 643 Immunintervention (Pharmakologische Beeinflussung des Th1/Th2-Gleichgewichts). Die Arbeitsgruppe biochemische Pharmakologie hat sich in den vergangenen Jahren insbesondere mit der molekularen Analyse akuter und chronischer Entzündungen mit den Schwerpunkten Sepsis und Asthma/Allergie. Dabei liegt ein besonderer Schwerpunkt auf dem Studium der Regulation der Signaltransduktion und Genexpression durch immunmodulatorische Substanzen. Ein Ziel der Untersuchungen war und ist, ob neben den bekannten Immunsuppressiva Cyclosporin A, FK-506 und Rapamycin neue Pharmaka identifiziert werden können, die über gleiche oder ähnliche Rezeptoren neue immunmodulatorische Eigenschaften aufweisen. Es gelang dabei, neue immunmodulatorische Arzneistoffe zu definieren und, in Zusammenarbeit mit der forschenden Arzneimittellindustrie, Prototypen neuer Arzneistoffe für die Asthmatherapie zu entwickeln. Arbeiten, die zeigen, dass in T-Zellen unterschiedliche Signalwege zur Induktion von Th1- und Th2-Zytokinen führen, ließ die Hypothese zu, dass Substanzen, die selektiv die Produktion von Th2-Zytokinen unterdrücken, zur Therapie Th2 dominierter Erkrankungen, wie z.B. Asthma, geeignet sind. In der Arbeitsgruppe wurde bereits eine solche neuartige niedermolekulare Substanz identifiziert. Die Identifikation der molekularen Details von Th2 selektiven Signalwegen soll zu neuen Zielstrukturen für die Entwicklung von anti-allergischen Substanzen führen. Weiterhin wird untersucht, ob das Therapiekonzept der spezifischen Unterdrückung von Th2-Zytokinen in pathologischen Situationen erfolgreich eingesetzt werden kann. Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf dem Krankheitsbild der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD), einer Krankheit die laut WHO in wenigen Jahren die dritthäufigste Todesursache weltweit sein wird. Zum Studium der Pathogenese der COPD sind in der Arbeitsgruppe zelluläre Testsysteme zur *in vitro* Modellierung der entzündlichen Prozesse bei der COPD entwickelt worden, z.B. die durch Zigarettenrauch stimulierten Genexpression in bronchialen Epithel- und Gefäßmuskelzellen. Diese *in vitro* erzielten Ergebnisse werden in einem Tiermodell der COPD weiter untersucht. Projektleiter: A. Pahl, A. Ammon, R. Puljic, L. Chialda, K. Schuh, S. Thiele, S. Hille

3. Biochemical Pharmacology

The group headed by A. Pahl and K. Brune is concerned with the molecular analysis of acute and chronic inflammation with the emphasis sepsis and asthma/allergy. A special emphasis is on the study of the regulation of signal transduction and gene expression by immunomodulatory compounds. Since two years I study gene expression in samples of clinical cohorts of asth-

ma and sepsis patients by means of genomic technologies. A goal of these investigations was whether beside the well-known immunosuppressives Cyclosporin A, FK-506 and Rapamycin new compounds can be identified, which exhibit immunomodulatory properties by using the same receptors. It succeeded to define new immunomodulatory compounds and to develop, in cooperation with the pharmaceutical industry, new lead structures for asthma therapy. Past work showed that in T-cells different signalling paths lead to the induction of Th1 and Th2 cytokines. These and other work led to the hypothesis that substances, which suppress selectively the production of Th2 cytokines, are suitable to the therapy of Th2 dominated diseases, e.g. asthma. A new low-molecular weight compound could be identified, which inhibited selectively Th2 cytokines. The identification of the molecular details of Th2 selective signalling pathways lead to new structures for the development of anti-allergic substances. Further it is examined whether the therapy concept of the specific suppression of Th2 cytokines can be successfully employed in pathological situations. A second focus of this group is the chronic obstructive pulmonary disease (COPD). COPD is predicted by the WHO to be the third leading cause of death by 2020. Cellular assays mimicking inflammatory processes have been developed to study the pathogenesis of COPD in vitro. Furthermore new in vivo models have been developed to study the pathogenesis of COPD in vivo as well. These models allow the evaluation of new drugs for COPD. Investigators: A. Pahl, A. Ammon, R. Puljic, L. Chialda, K. Schuh, S. Thiele, S. Hille

Internationale Kooperationen / International collaborations

Prof. Belvisi, Respiratory Pharmacology Group, Imperial College London.

Prof Shandra, Department of Normal Physiology, Odessa, Ukraine.

Ausgewählte Publikationen / Selected publications

Ullmann S, Hage T, Draheim R, Egerland U, Oelmüller U, Brune K and Pahl A (2004) RNA Based Drug Screening Using Automated RNA Purification and Real-time RT-PCR. *J Biomol Screen* 9: 95-102

Puljic R, Pahl A (2004) Smoke induced changes in epithelial cell gene expression: development of an in vitro model for COPD. *ALTEX* 21: 3-7

Pahl A, Szelenyi S, Brune K. (2006). Hypoxia induced chemokine expression in nasal epithelial cells: development of an in vitro model for chronic rhinosinusitis. *ALTEX*. 23: 59-63

Pahl A., Bauhofer A, Petzold U, Cnota PJ, Maus J, Brune K, Szelenyi S (2006). Synergistic effects of the anti-cholinergic R,R-glycopyrrolate with anti-inflammatory drugs. *Biochem Pharm.* 72: 1690-6

Veldman C, Pahl A, Beissert S, Hansen W, Buer J, Dieckmann D, Schuler G, Hertl M. (2006) Inhibition of the transcription factor foxp3 converts desmoglein 3-specific type 1 regulatory T cells into th2-like cells. *J Immunol.* 176: 3215-22

4. Experimentelle Toxikologie

Systemische und organspezifische Entzündungen gehören zu den Hauptursachen schwerwiegender Erkrankungen. Im Rahmen der experimentellen Entzündungsforschung bearbeitet die Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. rer. nat. Gisa Tiegs Fragestellungen zu immunologischen Mechanismen und molekularer Signalverarbeitung bei entzündlichen Leber- und Nierenerkrankungen. Ausgehend von TNF α - und TNF α -Rezeptorsignalen, die Apoptose einerseits, aber auch Zellproliferation, Leberregeneration sowie Expression von „Survival Faktoren“ aus-

lösen können, beschäftigt sich die Arbeitsgruppe derzeit mit der Identifizierung zytoprotektiver Proteine in der Leber mittels gene arrays. Diese werden mittels Gentransfer in die Leber eingebracht und sollen als Schutzfaktoren der Hepatozyten gegenüber der immunologischen Attacke dienen. Diese meist anti-apoptotisch wirksamen Proteine, zu denen auch die Hämoxxygenase-1 (HO-1) gehört, können also eine Bedeutung für Organprotektion einerseits, aber auch für Tumorentstehung und Chemotherapieresistenz andererseits haben. In diesem Zusammenhang wurde kürzlich auch die RNAi-Technologie für den Gene-knockdown *in vitro* und *in vivo* etabliert, mit deren Hilfe pro- und anti-apoptotische Proteine herabreguliert werden können. Ein weiterer Forschungsschwerpunkt gilt den Mechanismen der Differenzierung adaptiver tolerogener T-Zellen (Tregs oder NKT-Zellen), die Immuntoleranz in der Leber auslösen können. Schließlich beschäftigt sich die Gruppe mit der Erforschung von Interaktion des Immunsystems mit dem Nervensystem bei experimenteller Hepatitis und Nephritis. Diese Projekte werden in Kooperation mit dem Anatomischen Institut I und der Medizinische Klinik IV – Nephrologie und Hypertensiologie, Universität Erlangen-Nürnberg, bearbeitet. Aus der Kenntnis der immunologischen Mechanismen und deren wechselseitiger Beeinflussung durch Neuropeptide und Neurotransmitter erarbeitet die Gruppe neue Ansätze zur Immuntherapie. Die Arbeitsgruppe wird durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen von Einzelförderungen im Normalverfahren, den Sonderforschungsbereich 423 "Nierenschäden: Pathogenese und regenerative Mechanismen", das Graduiertenkolleg 592 "Lymphozyten: Differenzierung, Aktivierung & Deviation", sowie durch die Wilhelm Sander-Stiftung und die Johannes und Frieda Marohn-Stiftung gefördert. Projektleiter: Prof. G. Tiegs. Mitarbeiter: D. Abt, M. Biburger, S. Buerbank, A. Erhardt, I. Kröger, F. Haimerl, G. Sass, E.M. Vogel

4. Experimental Toxicology

The research focus of the „Experimental Toxicology“ group of Gisa Tiegs, PhD, addresses immunological and molecular mechanisms of inflammatory liver and kidney injury. For this purpose they have developed experimental mouse models of immune-mediated liver injury which are inducible by the T cell mitogenic lectin Concanavalin A (ConA) or by bacterial toxins. As in the case of human viral or autoimmune hepatitis, inflammatory liver injury in these models is mediated by T cells. As a consequence of T cell activation, the intrahepatic macrophages, i.e. the Kupffer cells, become activated and proinflammatory cytokines are produced. The most prominent mediators of liver injury are tumor necrosis factor (TNF) and interferon- γ (IFN γ). Four major aspects are currently investigated: 1) the role of adaptive regulatory T cells (Tregs) and NKT cells for induction of immune tolerance in the liver; 2) the role of TNF receptors, their ligands (soluble TNF and transmembrane TNF) and TNF signal transduction leading to either apoptosis or expression of hepatoprotective proteins (e.g. heme oxygenase-1 which also bears anti-inflammatory properties); 3) the role of heme oxygenase-

1 and casein kinase II for tumor survival and resistance to chemotherapy; and 4) hepatic and renal innervation and functional consequences for disease activity in immune-mediated injury models (in cooperation with Winfried L. Neuhuber, MD, Institute of Anatomie I, and Roland Veelken, MD, Medical Clinic IV, University of Erlangen-Nuremberg) with the aim to identify new targets for pharmacological intervention in the peripheral nervous system resulting in immunosuppression. The group is supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft by research project grants, the Sonderforschungsbereich 423 "Nierenschäden: Pathogenese und regenerative Mechanismen", the Graduiertenkolleg 592 "Lymphozyten: Differenzierung, Aktivierung & Deviation", as well as by the Wilhelm Sander-Stiftung and by the intramural Johannes und Frieda Marohn-Stiftung. Principal investigator: Prof. G. Tiegs. Collaborators: D. Abt, M. Biburger, S. Buerbank, A. Erhardt, I. Kröger, F. Haimerl, G. Sass, E.M. Vogel

Internationale Kooperationen / International collaborations

George Kollias, Alexander Fleming Biomedical Sciences Research Center, Athens, Greece

Nico Van Rooijen, Vrije Universiteit, Amsterdam, The Netherlands

Miguel Soares, Instituto Gulbenkia de Ciência, Oeiras, Portugal

Yaron Ilan, Department of Medicine, Hadassah University Hospital, Ein-Karem, Jerusalem, Israel

Ausgewählte Publikationen / Selected publications

Bang R, Biburger M, Neuhuber WL, Tiegs G (2004) Neurokinin-1 receptor antagonists protect mice from CD95- and TNF-mediated apoptotic liver damage. *J Pharmacol Exp Ther* 308: 1174-1180

Mühlen KA, Schümann J, Wittke F, Stenger S, van Kaer L, Tiegs G (2004) NK cells but not NKT cells are involved in *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A-induced hepatotoxicity in mice. *J Immunol* 172: 3034-3041

Sass G, Seyfried S, Soares MCP, Yamashita K, Kaczmarek E, Neuhuber WL, Tiegs G (2004) Cooperative signaling of the heme oxygenase products biliverdin and CO protects mice from immune-mediated liver damage. *Hepatology* 40: 1128-1135

Biburger M, Tiegs G (2005) α -Galactosylceramide-induced liver injury in mice is mediated by TNF- α but independent of Kupffer cells. *J Immunol* 175: 1540-1550

Blumenthal SB, Kiemer AK, Tiegs G, Seyfried S, Holtje M, Brandt B, Holtje HD, Zahler S, Vollmar AM (2005) Metalloporphyrins inactivate caspase-3 and -8. *FASEB J* 19: 1272-1279

Kresse M, Latta M, Künstle G, Riehle HM, van Rooijen N, Hentze H, Tiegs G, Biburger M, Lucas R, Wendel A (2005) Kupffer cell-expressed membrane-bound TNF mediates melphalan hepatotoxicity via activation of both TNF receptors. *J Immunol* 175: 4076-4083

Sass G, Shembade ND, Tiegs G (2005) Tumour necrosis factor α (TNF)-TNF-receptor-1-inducible cytoprotective proteins in the mouse liver: relevance of suppressors of cytokine signalling. *Biochem J* 385: 537-544

Wajant H, Assouh-Luty C, Gerspach J, Siegmund D, Müller N, Huard B, Tiegs G, Pfizemäuer K (2006) A CD40-CD95L fusion protein interferes with CD40L-induced pro-survival signaling and allows membrane CD40L-restricted activation of CD 95. *J Mol Med* 84: 785-797

5. Funktionelle Bildgebung

Als sehr nützlich erwies sich das Vorhandensein des Tier-MRT-Gerätes. Unter der Leitung von K. Brune und A. Hess konnten Mitarbeiter dieses und anderer Institute die strukturelle, räumliche und zeitliche Auflösung der funktionellen Bildgebung (MRT) deutlich verbessern. Zahlreiche Arbeiten belegen den Erfolg dieser Arbeitsgruppe. Zusammen mit dem T. Eschenhagen (jetzt Hamburg) gelang es, in *Nat Medicine* zu publizieren. Details der Arbeit dieser Gruppe finden sich im Forschungsbericht

des Stiftungslehrstuhls. Als grundlegend für die Erlanger Initiativen zur Kleintierbildgebung erwiesen sich die laufenden Arbeiten am Tier-MRT-Geräte. Unter der Leitung von K. Brune und A. Hess konnten Mitarbeiter dieses und anderer Institute die strukturelle, räumliche und zeitliche Auflösung der funktionellen Bildgebung (MRT) deutlich verbessern. Zahlreiche Arbeiten belegen den Erfolg dieser Arbeitsgruppe. Zusammen mit dem T. Eschenhagen (jetzt Hamburg) gelang es, in *Nat Medicine* zu publizieren. Details der Arbeit dieser Gruppe finden sich im Forschungsbericht des Stiftungslehrstuhls. Projektleiter: K. Brune, L. Budinsky, A. Hess, M. Sergejeva.

Functional Imaging

The ongoing work with the animal MRI scanner proved to be a fundamental basis for the Erlanger small animal imaging initiatives. Under the guidance of K. Brune and A. Hess co-workers of the I. f. Pharmacology and other institutions aimed at improving the structural, spatial and temporal resolution of the (functional) MR-imaging. Numerous publications prove the success of this working group as exemplified by a publication in *Nat. Medicine* in cooperation with T. Eschenhagen (now Hamburg). Details of the work of this group are given in the report of the Doerencamp professorship. Investigators: K. Brune, L. Budinsky, A. Hess, M. Sergejeva.

Internationale Kooperationen / International collaborations

Prof. Dr. J. Bjaalie, INCF, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Prof. Dr. H. Zeilhofer, Institut f. Pharmazent. Wissenschaften, Zürich

Prof. Dr. J. Horikawa, Toyohashi University of Technology, Japan

Ausgewählte Publikationen / Selected publications

Mohr J., Hess A, Scholz M, Obermayer K (2004) A method for the automatic segmentation of autoradiographic image stacks and spatial normalization of functional cortical activity patterns. *J Neurosci Methods* 134: 45-58

Baumjohann D, Hess A, Budinsky L, Brune K, Schuler G, Lutz MB (2006) In vivo magnetic resonance imaging of dendritic cell migration into the draining lymph nodes of mice. *Eur J Immunol* 36: 2544-55

Budinger E, Heil P, Hess A, Scheich H (2006) Multisensory processing via early cortical stages: connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neuroscience* 143: 1065-83

Kneser U, Polykandriotis E, Ohnolz J, Heidner K, Grabinger L, Euler S, Amann KU, Hess A, Brune K, Greil P, Sturzl M, Horch RE (2006) Engineering of vascularized transplantable bone tissues: induction of axial vascularization in an osteoconductive matrix using an arteriovenous loop. *Tissue Eng* 12: 1721-31

Polykandriotis E, Horch RE, Arkudas A, Labanaris A, Brune K, Greil P, Bach AD, Kopp J, Hess A, Kneser U (2006) Intrinsic versus extrinsic vascularization in tissue engineering. *Tissue Eng* 585: 311-26

Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G, Didie M, Naito H, Nixdorff U, Hess A, Budinsky L, Brune K, Michaelis B, Dhein S, Schwoerer A, Ehmke H, Eschenhagen T (2006) Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. *Nat Med*, 2006. 12: 452-8

Anhang / Appendix

Begutachtete Drittmittel / Appraised extramural funding

2004: 412.447 € 2005: 346.312 € 2006: 480.687 €

Andere Drittmittel / Other extramural funding

2004: 264.151 € 2005: 264.474 € 2006: 462.212 €

Berufungen / Appointments

Prof. Dr. Hanns Ulrich Zeilhofer

Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Zurich, Winterthurerstrasse 190, Zurich, Switzerland zum 01.09.2005

Habilitationsverfahren / Lecturat qualification

Dr. Gabriele Sass: Charakterisierung TNFa-induzierbarer cytoprotektiver Proteine bei experimenteller Immunhepatitis (Dezember 2005)

Dr. Seifollah Ahmadi: Elektrophysiologische Untersuchungen zur Bedeutung der spinalen glycinergen Neurotransmission für die Nociception (Dezember 2005)

Dissertationen / Doctorate theses

Chevts, Julia Dr. med.: Bioverfügbarkeit von Diclofenac-Kalium in niedriger Dosierung bei gesunden Probanden (2004)

Lippross, Sebastian Dr. med.: Elektrophysiologische Untersuchungen zum zellulären Wirkmechanismus der Prostaglandin-vermittelten Schmerzsensibilisierung im Hinterhorn des Rückenmarks der Ratte (2004)

Lauterbach, Andreas Dr. med.: Untersuchungen zur Modulation der spinalen Nociception durch das Neuropeptid Nocistatin (2004)

Mühlen, Katrin Dr. rer. nat.: Role of NK and NKT cells in *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A-induced liver injury in mice (2004)

Schmitt, Christopher Dr. med.: Polymorphismen im TLR4-Gen: Genotypisierungsmethoden und Auswirkungen auf den Phänotyp humaner Monozyten (2004)

Noula Dattu Shembade, Dr. rer. nat.: Identification of Silencer of Cytokine Signaling (SOCS)-1 and A20 as Tumor Nekrosis Factor- α inducible cytoprotective proteins in the mouse liver (2005)

Ramer, Robert Dr. rer. nat.: Untersuchungen zum Mechanismus und zur funktionellen Konsequenz der R(+)-Methanandamid-induzierten Cyclooxygenase-2-Expression in humanen Neurogliomazellen (2005)

Seyfried, Stefan Dr. rer. nat.: Anti-inflammatory and anti-viral effects of inducible heme oxygenase-1 in the mouse liver (2005)

Chialda, Ligia-Emilia Dr. med.: Mitogen-aktivierte Protein Kinasen sind neue therapeutische Angriffspunkte für die antientzündliche Therapie des Asthma bronchiale (2006)

Rösch, Susanne Dr. rer. nat.: Untersuchungen zum Wirkmechanismus ausgewählter antiglaukomatöser Substanzen am Modell humaner nicht-pigmentierter Ziliarepithelzellen (2006)

Preise und Auszeichnungen / Honors and awards

Depner Ulrike

1. Förderpreis für Schmerzforschung, Grundlagenforschung: Der $\alpha 3$ -Glycinrezeptor – ein essentielles Schlüsselement der Prostaglandin E2 vermittelten entzündlichen Schmerzsensibilisierung (2004)

S. Rösch, R. Ramer, K. Brune, B. Hinz

Schmiedeberg-Posterpreis der Deutschen Gesellschaft für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie: Antiglaucomatous agents induce the expression of matrix metalloproteinases in human non-pigmented ciliary epithelial cell (2004)

S. Rösch, R. Ramer, E.R. Tamm, K. Brune

PHOENIX-Pharmazie-Wissenschaftspreis (Fachgebiet Pharmakologie) für innovativ-qualitativ hervorragende wissenschaftliche Arbeiten: Latanoprost induces matrix metalloproteinase-1 expression in human non-pigmented ciliary epithelial cells through a cyclooxygenase-2-dependent mechanism (2006)

A. Hess, M. Sergejeva, K. Brune, L. Budinsk

ESMRMB Poster Certificate of Merit Award: fMRI of analgesic effects: BOLD imaging in a rat pain model.

