

**AG Experimentelle Rheumatologie****Arbeitsgruppenleiter:**

Prof. Dr. Alf Hamann  
AG Experimentelle Rheumatologie  
Charité Universitätsmedizin Berlin  
und Deutsches Rheumaforschungszentrum  
Charitéplatz 1  
10117 Berlin  
Tel: ++49 (0)30 28460655  
Fax: ++49 (0)30 28460656  
E-mail: hamann@drfz.de

**Genutzte Räume:**

Hessische Str.: 04/015; Mitbenutzung: 04/004,5,7,16,17, 02/023

**Wissenschaftliche Mitarbeiter im Forschungshaus Hessische Straße:**

Postdocs: Dr. Ute Hoffmann, Doktoranden: Jennifer Pfeil, Elisabeth Kenngott, Matthias Kröger, Technische Assistenz: Uta Lauer; Tel. 450-513407, -513417 (Labor)

**Homepage:**

<http://www.drfz.de/experimentelle-rheumatologie/>

**Forschungsgebiet:**

Chronische Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis und Allergien werden durch eine Auto- oder Hyperreaktivität des Immunsystems verursacht. Sie haben eine hohe sozio-ökonomische Bedeutung, denn herkömmliche Therapieansätze sind teilweise ineffizient, unspezifisch, mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden und die Heilung ist nicht dauerhaft. In unserer Arbeitsgruppe entwickeln wir am Standort Hessische Straße neuartige Therapiestrategien, die das Immunsystem modulieren:

1. Kopplung von T-Zell-Epitopen an synthetische innerte makromolekulare Trägermoleküle, um die tolerogene Effizienz von Peptid-Vakzinen zu verbessern.
2. Konjugation von Peptiden oder Proteinen an spezifische Peptide, die den Transport in mukosale Gewebe vermitteln, um die mukosale/orale Toleranzinduktion zu optimieren.
3. Fusion von Peptiden und Liganden, die an tolerogene Rezeptoren auf antigen-präsentierenden Zellen binden, um körpereigene immunsuppressorische Signalwege zu aktivieren.
4. Induktion von Foxp3+ regulatorischen T-Zellen durch immunmodulierende Bestandteile von Würmern.

Ziel ist es, tolerogene Impfstoffe zu erhalten, die in der Lage sind, die körpereigenen Toleranzmechanismen zu aktivieren, so dass die immunologische Balance wiederhergestellt wird und pathogene inflammatorische Aktivitäten supprimiert werden.

**Projekte am Standort Hess. Str.:****1. Kopplung von T-Zell-Epitopen an inerte Trägermoleküle**

Da die Wirksamkeit kleiner Peptide zur Autoantigen-spezifischen Toleranzinduktion in klinischen Studien aufgrund schneller Ausscheidung begrenzt war, wollen wir durch Kopplung der Peptide an synthetische makromolekulare Trägermoleküle wie Polyethylenglycol (PEG) oder Polyglycerole verschiedener Struktur und Größe diesen Ansatz verbessern. So konnten wir ein 20kD großes PEG gekoppelt an Autoantigene als Leadkandidaten identifizieren, der erfolgreich die Entstehung von Multipler Sklerose im Mausmodell verhinderte. Dabei spielten Foxp3+ Tregs eine entscheidende Rolle, da deren Depletion zur Aufhebung des tolerogenen Effektes führte. Auch durch Konjugation von Polyglycerolen an Peptide wurden Foxp3+ Tregs verstärkt induziert/expandiert und pro-inflammatorisches TNF reduziert, vor allem wenn die Polyglycerole eine verzweigte Struktur aufwiesen.

**2. Verbesserung des transmukosalen Transports durch Kopplung mit „Targeting“-Peptiden**

Durch in vitro und in vivo Screening von Peptidbibliotheken konnte unser Kooperationspartner T. Pernthaner (Neuseeland) Peptidsequenzen identifizieren, die verstärkt über die Mukosa aufgenommen werden und so in das lymphatische System gelangen. In unserem Labor untersuchen wir das Potential dieser Peptide, den Transport von klinisch eingesetzten Polypeptiden und Proteinen zu verbessern bzw. zu ermöglichen. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die mukosale Applikation von Targeting-Peptid gekoppeltem OVA-Peptid zu einer verstärkten Proliferation OVA-spezifischer T-Zellen im Vergleich zu freiem OVA-Peptid führt. Durch Laser-Scanning-Mikroskopie konnten wir nachweisen, dass gekoppelte Proteine im Dünndarm von Subfraktionen von Epithelzellen aufgenommen werden. Außerdem konnten die Konstrukte in CD11c+ Zellen in Peyerschen Plaques nachgewiesen werden, was auf einen möglichen Transportmechanismus über diese Zellpopulation hindeutet. Überraschenderweise führte die mukosale Aufnahme nur zu einer leichten Erhöhung der regulatorischen T-Zellen, d.h. der Immunisierungsweg durch die Mukosa ist nicht per se tolerogen.

**3. Induktion von Toleranz durch gezieltes Targeting tolerogener Signalwege**

Wenn Selbstantigene zusammen mit apoptotischen Zellen von Phagozyten aufgenommen werden, wird Toleranz gegenüber diesen Antigenen erzeugt. Sogenannte „Bridging“-Moleküle spielen dabei eine wichtige Rolle. Die Kopplung von OVA-Peptid an solch ein „Bridging“-Molekül führte in vitro zu einer verstärkten Induktion/Expansion von Foxp3+ Tregs im Vergleich zu freiem Peptid. Allerdings zeigten nicht alle Batches der "engineerten" Proteine diese Aktivität, sodass noch unklar ist, ob dieser Ansatz auch für die in vivo Behandlung aussichtsreich ist und welche Eigenschaften für eine tolerogene Wirkung essentiell sind.

**4. Induktion von Foxp3+ regulatorischen T-Zellen durch immunmodulierende Bestandteile von Würmern**

Wir suchen nach Bestandteilen von Würmern, die selektiv auf entzündliche Immunantworten einwirken, ohne die protektive Immunität des Patienten gegenüber Infektionen zu beeinträchtigen. Die Grundidee ist dabei, zum einen Signale zu verwenden, die das Immunsystem selbst nutzt, um negative Feedbackmechanismen zu induzieren. Zum anderen sollen Moleküle von Würmern eingesetzt werden, die es den Würmern seit Millionen von

Jahren der Evolution ermöglichen, eine Wurm-spezifische Immunität zu unterdrücken und in Koexistenz mit dem Wirt zu leben. Es ist bereits gezeigt worden, dass Fadenwürmer wie *Heligmosomoides polygyrus* und *Ascaris* Foxp3<sup>+</sup> Tregs in vitro induzieren können. Diese Studien möchten wir vertiefen und besonders bei *Ascaris* herausfinden, welche molekularen Bestandteile dieses Spulwurmes, die immunmodulierenden Eigenschaften aufweisen.

### Spezialtechniken:

*Verschiedene Mausmodelle:*

DTH, Colitismodelle, Arthritis, Influenza, EAE (MOG-Modell)

*Analysen:*

Homing, Sortierung und Nachweis regulatorischer T-Zellen, Laser Scanning Mikroskopie, Infrarot-Imaging

### Publikationen:

Pink M, Ratsch BA, Mardahl M, Schröter MF, Engelbert D, Triebus J, Hamann A, Syrbe U. 2014 Identification of two regulatory elements controlling Fucosyltransferase 7 transcription in murine CD4<sup>+</sup> T cells. *Mol Immunol.* 2014 Nov;62(1):1-9

Liu FD, Kenngott EE, Schröter MF, Kühl A, Jennrich S, Watzlawick R, Hoffmann U, Wolff T, Norley S, Scheffold A, Stumhofer JS, Saris CJ, Schwab JM, Hunter CA, Debes GF, Hamann A. 2014 Timed action of IL-27 protects from immunopathology while preserving defense in influenza. *PLoS Pathog.* 2014 May 8;10(5)

Cording S, Wahl B, Kulkarni D, Chopra H, Pezoldt J, Buettner M, Dummer A, Hadis U, Heimesaat M, Bereswill S, Falk C, Bode U, Hamann A, Fleissner D, Huehn J, Pabst O. 2014. The intestinal micro-environment imprints stromal cells to promote efficient Treg induction in gut-draining lymph nodes. *Mucosal Immunol.* Mar;7(2):359-68.

Seidel D, Eickmeier I, Kühl AA, Hamann A, Loddenkemper C, Schott E. 2014 CD8 T cells primed in the gut-associated lymphoid tissue induce immune-mediated cholangitis in mice. *Hepatology.* 2014 Feb;59(2):601-11.

Eickmeier I, Seidel D, Grün JR, Derkow K, Lehnardt S, Kühl AA, Hamann A, Schott E. 2014. Influence of CD8 T cell priming in liver and gut on the enterohepatic circulation. *J Hepatol.* Jun;60(6):1143-50

Polansky JK, Syrbe U, Hamann A. Epigenetic analyses - new therapeutic approaches for rheumatic diseases? 2013 *Z Rheumatol.* Oct;72(8):804-8.

Hoffmann U, Pink M, Lauer U, Heimesaat MM, Winsauer C, Kruglov A, Schlawe K, Leichsenring C, Liesenfeld O, Hamann A, Syrbe U. 2013. Regulation and migratory role of P-selectin ligands during intestinal inflammation. *PLoS One.* Apr 22;8(4):e62055.

Toker A, Engelbert D, Garg G, Polansky JK, Floess S, Miyao T, Baron U, Düber S, Geffers R, Giehr P, Schallenberg S, Kretschmer K, Olek S, Walter J, Weiss S, Hori S, Hamann A, Huehn J. 2013. Active demethylation of the Foxp3 locus leads to the generation of stable regulatory T cells within the thymus. *J Immunol.* Apr 1;190(7):3180-8.

Cording S, Fleissner D, Heimesaat M M, Bereswill S, Loddenkemper C, Uematsu S, Akira S, Hamann A, and Huehn J. 2013. Commensal microbiota drive proliferation of conventional and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in mesenteric lymph nodes and Peyer's patches. *Eur J Microbiol Immunol,* Mar;3(1):1-10

Schroeter MF, Ratsch BA, Lehmann J, Baumgrass R, Hamann A, Syrbe U. 2012. Differential regulation and impact of fucosyltransferase VII and core 2 (beta) 1,6-N-acetyl-glycosaminyltransferase for generation of E- and P-selectin ligands in murine CD4<sup>(+)</sup> T cells. *Immunology.* Dec;137(4):294-304.

Neumann K, Kruse N, Szilagyi B, Erben U, Rudolph C, Flach A, Zeitz M, Hamann A, Klugewitz K. 2012. Connecting liver and gut: murine liver sinusoidal endothelium induces gut tropism of CD4<sup>+</sup> T cells via retinoic acid. *Hepatology.* Jun;55(6):1976-84

Hamann A. 2012. Regulatory T cells stay on course. *Immunity.* Feb 24;36(2):161-3.

**Drittmittelprojekte:**

Im RCIS durchgeführt:

DFG	SFB 650 TP1	Induction of stable Foxp3+ regulatory T cells	Hamann
-----	-------------	-----------------------------------------------	--------

Weitere Drittmittelprojekte der AG Hamann:

DFG	SFB 633 TP B01	B1: Mukosa and homing/differentiation of T cells	Hamann
DFG	Einzel	Epigenetische Signaturen von Gedächtnis-T-Zellen	Hamann/Löhning
BMBF	Verbund DEEP TP 5.1	Epigenetics of inflammatory T cells	Hamann/Polansky-Biskup
BMBF	Verbund Neu2	Screening for novel anti-inflammatory compounds targeting IL-27 and IL-35	Hamann/Fillatreau