

Nikolaus-Fiebiger-Zentrum für Molekulare Medizin

Lehrstuhl für Experimentelle Medizin I (Molekulare Pathogeneseforschung)

Adresse

Glückstraße 6
91054 Erlangen
Tel.: +49 9131 8529100
Fax: +49 9131 8526341
www.em1.molmed.uni-erlangen.de

Direktor

Prof. Dr. med. Thomas Brabletz

Ansprechpartner

Prof. Dr. med. Thomas Brabletz
Tel.: +49 9131 8529104
Fax: +49 9131 8526341
thomas.brabletz@fau.de

Forschungsschwerpunkte

- Zelluläre Plastizität: eine Triebkraft der Tumordiversion und anderer Krankheitsprozesse
- Die Rolle von Fibulin-4 in der Mechanostabilität des muskuloskeletalen Bindegewebes
- Molekulare Mechanismen der enchondralen Ossifizierung und Skelettentwicklung

Struktur der Einrichtung

Der Lehrstuhl für Experimentelle Medizin I ist im NFZ angesiedelt und gemeinsam mit dem Lehrstuhl für Experimentelle Medizin II für die Verwaltung und Organisation des Zentrums verantwortlich. Am Lehrstuhl für Experimentelle Medizin I waren in den Jahren 2013 - 2014 im Durchschnitt sieben wissenschaftliche und technische Beschäftigte an Forschung und Lehre beteiligt, davon drei über Drittmittel finanziert. Der Lehrstuhl wurde am 01.04.2011 mit Prof. Dr. D.N. Müller neu besetzt; seit dessen Ausscheiden am 30.09.2012 wurde der Lehrstuhl von Prof. Dr. J. Behrens bis zum 30.04.2014 kommissarisch geleitet. Am 01.05.2014 wurde der Lehrstuhl für Experimentelle Medizin I mit Prof. Dr. T. Brabletz neu besetzt. Bis Ende 2014 ist die Zahl der Mitarbeiter am Lehrstuhl auf acht angestiegen. Zusätzlich leitet Prof. Dr. K. von der Mark (i.R.) weiterhin eine Drittmittel-finanzierte Arbeitsgruppe und übernimmt Lehraufgaben für das Fach Molekulare Medizin. Das Ziel des Lehrstuhles ist es, molekulare Mechanismen der Pathogenese von Krebserkrankungen zu untersuchen, um dadurch neue Wege für die Diagnose, Prognosestellung und Therapie aufzuzeigen.

Forschung

Zelluläre Plastizität: eine Triebkraft der Tumordiversion und anderer Krankheitsprozesse

Projektleiter: Dr. M. Stemmler, Dr. S. Brabletz, Prof. Dr. T. Brabletz

Unser Forschungskonzept basiert auf klinisch relevanten Fragestellungen, insbesondere auf den wichtigsten Problemen der heutigen Krebsmedizin. Dazu zählen die Entwicklung einer Therapie-Resistenz, z. B. gegen etablierte Chemotherapeutika bei hämatologischen und soliden Neoplasien, sowie die Metastasierung solider Tumore. Dementsprechend sind die Überwindung der Radio-Chemoresistenz sowie die Entwicklung neuer, gezielter Therapien sowohl gegen Tumor-Diversion und Metastasierung die zentralen Herausforderungen der translationalen Krebsforschung, denen wir uns stellen. Wir konnten zeigen, dass die besondere Fähigkeit von Krebszellen, sich an unterschiedlichste Bedingungen und Anforderungen anzupassen, eine wesentliche Triebkraft der Progression bis zu einer Therapie-resistenten, metastatischen Erkrankung ist. Diese Fähigkeit wird als aberrante, zelluläre Plastizität bezeichnet. Dieser zellulären Plastizität liegt ein von uns identifizierter molekularer Motor – der ZEB1/miR-200 Feedback-Loop – zugrunde. Zunehmend wird deutlich, dass erhöhte zelluläre Plastizität, z. B. getrieben vom ZEB1/miR-200 Feedback-Loop, auch in anderen Krankheitsprozessen eine Rolle spielt. Dazu gehören z. B. Organfibrosen (Niere, Leber, Lunge), Entzündungsprozesse und wahrscheinlich auch die Arteriosklerose. Neben dem eigentlichen Forschungsthema „Krebs“ sind daher in Kooperationen auch diese Erkrankungen in das Forschungskonzept einbezogen.

Ziele der wissenschaftlichen Arbeit sind:

1. die Erforschung grundlegender molekularer Mechanismen der Entstehung, Invasion und Metastasierung solider Tumore;
2. darauf aufbauend, die Einbeziehung klinisch relevanter Fragestellungen mit dem Ziel einer verbesserten Prognostik und der Entwicklung neuer therapeutischer Optionen zur Verhinderung von Metastasierung und Überwindung einer Therapieresistenz;
3. die Erforschung der von uns identifizierten Pathomechanismen in anderen Erkrankungen, wie z. B. Organfibrosen, Entzündungsprozessen und Arteriosklerose.

Die Rolle von Fibulin-4 in der Mechanostabilität des muskuloskeletalen Bindegewebes

Projektleiter: Dr. T. Sasaki, Prof. Dr. K. von der Mark

Fibulin-4, ein extrazelluläres Matrixmolekül, ist – neben Elastin und Fibrillin – essentiell für Aufbau und Funktion von elastischen Fasern im muskuloskeletalen, kardiovaskulären und pul-

monalen Bindegewebe. Patienten mit rezessiven Mutationen im Fibulin-4 zeigen neben Aneurismen und Cutis laxa auch skeletale Dysfunktionen und Wachstumsstörungen. Das Ziel dieses DFG-Projektes ist es, die Struktur-Funktionsbeziehungen der Fibulin-4 Mutationen aufzuklären. Mit Hilfe von rekombinant hergestellten Proteinen wurde die Einfluss der Mutationen auf Sekretion, extrazelluläre Assemblierung, Protease-Sensibilität und die Interaktion mit extrazellulären Komponenten des elastischen Bindegewebes, wie Elastin, Fibrillin, Lysyloxidasen und Latent TGF β -Binding Protein (LTBPS), untersucht. Weiterhin wurden wichtige Informationen über die Rolle von Fibulin-4 durch morphologische, histologische und biochemische Untersuchungen einer Fibulin-4 defizienten Maus erhalten, die Arachnodaktylie-ähnliche Gelenkkontrakturen aufweist. Die Ergebnisse zeigen, dass die Fibulin-4 Defizienz die Struktur, Stärke und Quervernetzung von Kollagenfibrillen in Sehnen und Knochen stark beeinträchtigt; dies ist wahrscheinlich der Hauptgrund für die beschriebenen Bindegewebsschwächen der Patienten mit Fibulin-4 Mutationen.

Molekulare Mechanismen der enchondralen Ossifizierung und Skelettentwicklung

Projektleiter: Prof. Dr. K. von der Mark

Während der Entwicklung des Vertebratenskeletts werden die transienten Knorpelmodelle der Röhrenknochen, Rippen und Wirbel in einem komplexen Prozess, genannt „enchondrale Ossifizierung“, durch Knochen ersetzt. Ein genauer, zeitlich und räumlich kontrollierter Ablauf dieses Prozesses durch Wachstumsfaktoren und Hormone ist Voraussetzung für ein reproduzierbares Skelettwachstum. Ähnliche Prozesse der Knorpel-Knochenumwandlung laufen auch während der Knochenfrakturheilung und der Entstehung von Osteophyten im arthrotischen Gelenk ab. Die Identifizierung der beteiligten Faktoren und die Aufklärung der molekularen Abläufe der Skelettentstehung bis hin zur enchondralen Ossifizierung ist daher essentiell nicht nur für das Verständnis der Regulation des Skelettwachstums und von Chondrodysplasien, sondern auch für die Entwicklung therapeutischer Ansätze von Frakturheilungen und Knochenregeneration. Die Aufklärung der Knorpel-Knochenumwandlung mit Hilfe transgener Mausmodelle, Zell- und Organkultursystemen und in vitro Techniken steht im Zentrum des von der DFG geförderten Forschungsprojektes. In der Arbeitsgruppe wurden verschiedene transgene Mausmodelle generiert, in denen

Matrixproteine, Wachstumsfaktoren und Transkriptionsfaktoren des hypertrophen Knorpels spezifisch unter einem Typ10 Kollagen Promoter überexprimiert oder deletiert werden können. Die Entwicklung einer BACCO110-spezifischen Cre-Deleter Maus (Prof. Dr. R. Kemler, Max-Planck-Institut Freiburg) ermöglichte die selektive Deletion des β -Catenin Gens in hypertrophen Chondrocyten der Wachstumszone. Mäusen mit dieser β -Catenin Defizienz fehlten fast vollständig die Knochentrabekel in der primären Spongiosa. Mit Hilfe von histologischen und molekularbiologischen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass dieser Phänotyp durch eine erhöhte Osteoklastenaktivität aufgrund einer Aktivierung der RANKL Expression in β -Catenin defizienten hypertrophen Chondrocyten verursacht wird. Damit konnte zum ersten Mal die zentrale Funktion von hypertrophen Chondrocyten und β -Catenin in der Regulation der Knochentrabekelentwicklung gezeigt werden. Weitere Studien über die Mechanismen der Knorpel-Knochen Umwandlung ergaben den unerwarteten Befund, dass hypertrophe Chondrocyten am Ende der fötalen Wachstumsfuge entgegen der bisherigen Auffassung nicht vollständig durch Apoptose eliminiert werden, sondern in der Lage sind, zu Osteoblasten zu differenzieren. Dies wurde durch genetische Markierung von hypertrophen Chondrocyten mit Reporter genen und cytologische Analyse der entstehenden Knochenmarkszellen und Osteoblasten festgestellt. Dieser Befund stellt gängige Lehrmeinungen über die Differenzierungsmechanismen von Chondrocyten und Osteoblasten in Frage und wirft neue Aspekte zu unserem Verständnis der Plastizität des zellulären Phänotyps auf.

Lehre

Die Lehrstühle für Experimentelle Medizin I und II sind hauptverantwortlich für die Ausbildung der Molekularmediziner im Fach Zellbiologie. Das Lehrangebot umfasst Grundvorlesungen, Seminare, Praktika in Zell- und Molekularbiologie, Hauptvorlesungen, F1 und F2 Praktika und Literaturseminare für den Bereich „Molekulare Zellfunktionen“ sowie in Tumorbiologie und Entwicklungsbiologie. Der Unterricht wird auch von Studierenden der Humanmedizin sowie von Biologen in Anspruch genommen.

Ausgewählte Publikationen

Brabletz T, Lyden D, Steeg PS, Werb Z. Roadblocks to translational challenges on metastasis. *Nat Med* 2013, 19: 1104-9

Siebzehnrübl F, Silver DJ, Tugertimur B, Deleyrolle LP, Siebzehnrübl D, Sarkisian MR, Devers KG, Yachnis AT, Kupper MD, Neal D, Nabils NH, Kladde MP, Suslov O, Brabletz S, Brabletz T Reynolds BA, Steindler DA. The ZEB1 pathway links glioblastoma initiation, invasion and chemoresistance. *EMBO Mol Med* 2013, 5: 1196-212

Vannier C, Mock C, Brabletz T, Driever W. ZEB1 regulates E-Cadherin and Epcam expression to control cell behavior in early zebrafish development. *J Biol Chem* 2013, 288: 18643-59

Golovchenko S, Hattori T, Hartmann C, Gebhardt M, Gebhardt S, Hess A, Pausch F, Schlund B, von der Mark K. Deletion of beta catenin in hypertrophic growth plate chondrocytes impairs trabecular bone formation. *Bone* 2013, 55(1): 102-12

Puisieux A, Brabletz T, Caramel J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat Cell Biol* 2014, 16: 488-94

Zhou X, von der Mark K, Henry S, Norton W, Adams H, de Crombrughe B. Chondrocytes transdifferentiate into osteoblasts in endochondral bone during development, post-natal growth and fracture healing in mice. *PLoS Genet* 2014, 10(12): e1004820

Internationale Zusammenarbeit

Prof. Dr. G. Goodall, University of Adelaide: Australia

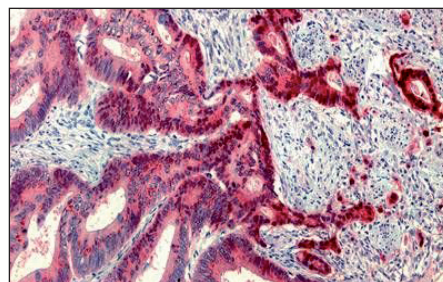
Prof. Dr. R. Fodde, Erasmus University, Rotterdam: The Netherlands

Prof. Dr. G. Berx, VIB and University of Ghent: Belgium

Prof. Dr. C. Hartmann, Institute of Molecular Pathology, IMP, Vienna: Austria

Prof. T. Hattori, Graduate School of Dentistry and Medicine, Okayama University, Okayama: Japan

Prof. B. de Crombrughe, MD, Anderson Cancer Center, Texas University, Houston: USA



Plastizität von Tumorzellen im Darmkrebs

Nikolaus-Fiebiger-Center of Molecular Medicine

Chair of Experimental Medicine I (Molecular Pathogenesis Research)

Address

Glückstraße 6
91054 Erlangen
Phone: +49 9131 8529100
Fax: +49 9131 8526341
www.em1.molmed.uni-erlangen.de

Director

Prof. Dr. med. Thomas Brabletz

Contact

Prof. Dr. med Thomas Brabletz
Phone: +49 9131 8529104
Fax: +49 9131 8526341
thomas.brabletz@fau.de

Research Focus

- Cellular Plasticity: a driving force for cancer progression and other disease processes
- The role of fibulin-4 in the mechanostability of the musculoskeletal connective tissue
- Molecular mechanisms of endochondral ossification and skeletal development

Structure of the Institute

The Chair of Experimental Medicine I is located at the NFZ and is, together with the Chair of Experimental Medicine II, responsible for the organization and administration of the Center. In 2013 – 2014, about seven scientists and technical staff were involved in research and teaching at the Chair of Experimental Medicine I, three of them supported by grants. Prof. Dr. D.N. Müller held the Chair from April 2011 until October 2012. Prof. Dr. J. Behrens acted as temporary chairman after Prof. Dr. D.N. Müller left until April 2014. Since May 2014, Prof. Dr. T. Brabletz has been holding the Chair of Experimental Medicine I. Until the end of 2014, there was an increase in staff members with the result that eight persons are presently working in Prof. Dr. T. Brabletz' group. In addition, Prof. Dr. K. von der Mark (retired) continued to lead a research group financed by grants and participated in teaching molecular medicine. In a translational approach, the Brabletz lab focuses on cancer research with the aim to develop new diagnostic and prognostic tools as well as novel therapeutic strategies.

Research

Cellular Plasticity: a driving force for cancer progression and other disease processes

Project managers: Dr. M. Stemmler, Dr. S. Brabletz, Prof. Dr. T. Brabletz

It became evident that cancer cells are highly adaptive to the demanding environmental conditions – a property which can be summarized as aberrant cellular plasticity. In addition to accumulation of genetic alterations, aberrant cellular plasticity is now considered as a major driving force for cancer progression towards a therapy resistant, metastatic disease, as well as for the pathogenesis of other diseases. Our group has discovered one underlying molecular mechanism controlling cellular plasticity: A phenotypic switch between a stemness/EMT state and a differentiated state which is exerted by a double-negative feedback loop between the EMT-activator ZEB1 and the miR-200 family of microRNAs, the so-called ZEB1/miR-200 feedback loop. Future work will address the role of cellular plasticity in cancer and other diseases and explore it as a target of therapeutic intervention. We will:

- investigate the role of the ZEB1/miR-200 feedback loop in cancer initiation and metastasis;
- investigate the microenvironment as a modulator of cellular plasticity in cancer;
- identify novel mechanisms underlying cellular plasticity;
- explore the translational and clinical relevance by developing novel treatment strategies;
- investigate the role of cellular plasticity in other disease processes, such as organ fibrosis, kidney diseases, inflammation.

To address our research questions, we use molecular, epigenetic, and genetic in vitro approaches, cell, and animal models (e.g. mouse tumor models and conditional knockout and transgenic models of plasticity-related genes), as well as human tumor material and patients' data.

The role of fibulin-4 in the mechanostability of the musculoskeletal connective tissue

Project managers: Dr. T. Sasaki, Prof. Dr. K. von der Mark

Fibulin-4 is a 50 kDa extracellular matrix protein which is essential – together with elastin and fibrillin – for assembly and function of elastic fibers of the cardiovascular, musculoskeletal, and lung elastic tissues. Patients with a recessive missense mutation in fibulin-4 display not only defects in elastogenesis resulting in cutis laxa and aneurisms, but also in multiple bone fractures at birth; two patients showed arachnodactyly. Fibulin-4 deficiency in mice is perinatally lethal due to cardiovascular and lung abnormalities and leads to joint contractures during fetal development. The goal of this DFG-funded project

was to clarify the role of fibulin-4 in connective tissue development and homeostasis. The skeletal phenotype of fibulin-4 deficient mouse embryos was analyzed using morphological, immunohistochemical, and in situ hybridization techniques. Surprisingly, in fibulin4 deficient mice the size of collagen fibrils and collagen crosslinking was affected, explaining the joint contracture on fibulin-4 null mice. In order to clarify the genotype-phenotype relation of fibulin-4 mutations, several mutagenized recombinant proteins with clinically relevant fibulin-4 mutations were prepared. Most mutations, in particular those affecting calcium binding sites, affected secretion, matrix assembly and enhanced resistance against proteinases, resulting in fibulin deficiency. Furthermore, multiple interactions with collagens, fibrillin and elastin, as well as with lysyloxidases and LTBP were impaired, explaining the defect in collagen crosslinks in fibulin4 null mice. Molecular dynamic simulations were performed which provided new insight into the structure of the fibulin molecule and the conformational instability of mutations affecting the calcium binding site.

The proposed studies will provide novel insights into the role of fibulin-4 in the assembly and stability of elastic fibers as well as in the development and homeostasis of cardiovascular tissue.

Molecular mechanisms of endochondral ossification and skeletal development

Project manager: Prof. Dr. K. von der Mark
During development of the vertebral skeleton, chondrocytes shape the cartilage models of the subsequent bony elements of the extremities, ribs and the spine. Chondrocytes grow and differentiate rapidly and are replaced by bone cells in a complex process called "endochondral ossification". For reproducible skeletal growth, a precise spatially and temporally coordinated control of endochondral ossification is an absolute requirement. Similar processes also occur during fracture callus healing and development of osteophytes in osteoarthritic joints. Therefore, elucidation of factors and mechanisms involved in endochondral ossification is essential not only for our understanding of the regulation of normal skeletal growth and skeletal dysplasias, but also for the development of new tools in the diagnosis and therapy of joint degeneration, fracture healing, and cartilage and bone repair. The analysis of these factors by means of molecular biological techniques, cell and organ culture systems, and transgenic mouse models is currently the major focus of a DFG-funded research project.

The development of a collagen10-specific targeting vector for recombination into BAC (bacterial artificial chromosomes) allowed the specific overexpression or deletion of genes in hypertrophic chondrocytes. Mating BACCol10-Cre deleter mice to conditional β -catenin knockout mice (Prof. Dr. R. Kemler, Max-Planck-Institute Freiburg) resulted in transgenic mice lacking trabecular bone in the subchondral zone of the diaphysis. This deficiency was due to enhanced RANKL activity stimulating osteoclast differentiation in β -catenin deficient chondrocytes.

An unexpected finding resulting from genetic lineage tracing studies with BACCol10;Cre induced YFP-reporter gene expression in transgenic mice provided new insight into the mechanism of cartilage – bone conversion in endochondral ossification. According to general understanding, the chondrocyte lineage terminates with the elimination of late hypertrophic cells by apoptosis in the growth plate. In our cell tracking studies, however, we demonstrated that hypertrophic chondrocytes can survive beyond “terminal” differentiation and give rise to a progeny of osteoblasts participating in endochondral bone formation. In searching for transitory cells between hypertrophic chondrocytes and trabecular osteoblasts, we identified by confocal microscopy a novel, small reporter gene positive cell type with mitotic activity in the lower hypertrophic zone at the chondroosseous junction. We propose that these cells mark the initiation point of a second pathway giving rise to endochondral osteoblasts, alternatively to perichondrium derived osteoprogenitor cells. These findings add to current concepts of chondrocyte-osteocyte lineages and give new insight into the complex cartilage-bone transition process in the growth plate.

Teaching

The Chairs of Experimental Medicine I and II organize lectures, seminars, and experimental classes in cell, molecular, and developmental biology at basic and advanced levels for students of Molecular Medicine, Medicine, and Biology. Special lectures, including tumor biology and oncology, molecular mechanism of cell differentiation, and development, cell-cell and cell-extracellular matrix interactions, are given.

Selected Publications

Brabletz T, Lyden D, Steeg PS, Werb Z. Roadblocks to translational challenges on metastasis. *Nat Med* 2013, 19: 1104-9

Siebzehnrübl F, Silver DJ, Tugertimur B, Deleyrolle LP, Siebzehnrübl D, Sarkisian MR, Devers KG, Yachnis AT, Kupper MD, Neal D, Nabils NH, Kladde MP, Suslov O, Brabletz S, Brabletz T Reynolds BA, Steindler DA. The ZEB1 pathway links glioblastoma initiation, invasion and chemoresistance. *EMBO Mol Med* 2013, 5: 1196-212

Vannier C, Mock C, Brabletz T, Driever W. ZEB1 regulates E-Cadherin and Epcam expression to control cell behavior in early zebrafish development. *J Biol Chem* 2013, 288: 18643-59

Golovchenko S, Hattori T, Hartmann C, Gebhardt M, Gebhardt S, Hess A, Pausch F, Schlund B, von der Mark K. Deletion of beta catenin in hypertrophic growth plate chondrocytes impairs trabecular bone formation. *Bone* 2013, 55(1): 102-12

Puisieux A, Brabletz T, Caramel J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat Cell Biol* 2014, 16: 488-94

Zhou X, von der Mark K, Henry S, Norton W, Adams H, de Crombrughe B. Chondrocytes transdifferentiate into osteoblasts in endochondral bone during development, post-natal growth and fracture healing in mice. *PLoS Genet* 2014, 10(12): e1004820

International Cooperations

Prof. Dr. G. Goodall, University of Adelaide: Australia

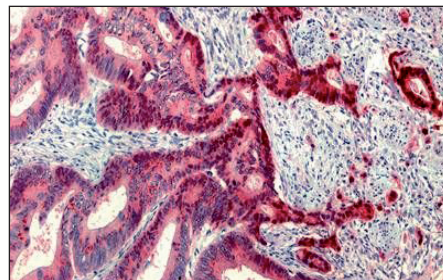
Prof. Dr. R. Fodde, Erasmus University, Rotterdam: The Netherlands

Prof. Dr. G. Berx, VIB and University of Ghent: Belgium

Prof. Dr. C. Hartmann, Institute of Molecular Pathology, IMP, Vienna: Austria

Prof. T. Hattori, Graduate School of Dentistry and Medicine, Okayama University, Okayama: Japan

Prof. B. de Crombrughe, MD, Anderson Cancer Center, Texas University, Houston: USA



Plasticity of tumor cells in colon cancer.