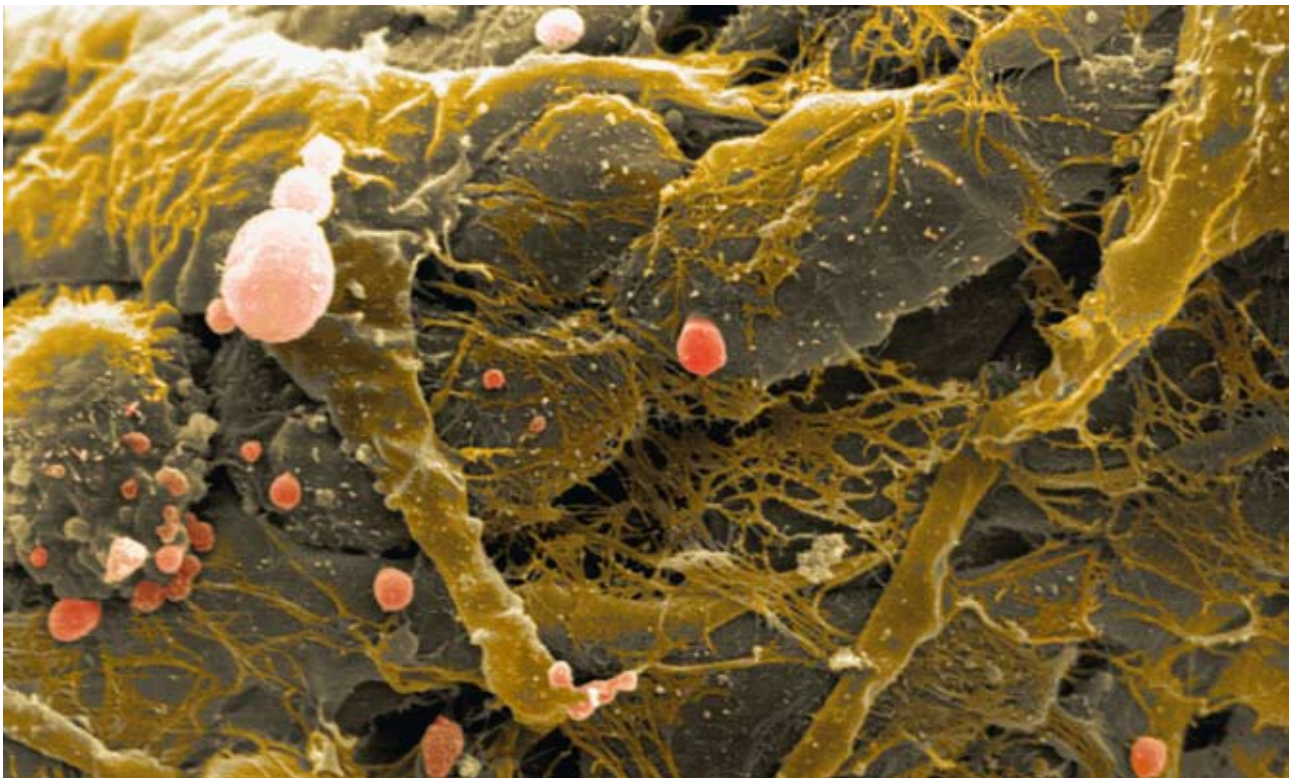


Zentrum Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Abteilung Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie
Centre for Dentistry and Oral Medicine and Craniomaxillofacial Surgery
Department of Oral and Maxillofacial Surgery



Die kolorierte rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (REM) zeigt das komplizierte Netzwerk von Verbindungen zwischen verschiedenen Knochenzellen in einer Kulturschale (Foto: Hans Rolf) Coloured scanning electron microscope (SEM) picture showing the complex network of cell-cell interactions between different bone cells cultured in vitro.

Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Gewebetechnologische Herstellung von Knochenersatz (Tissue Engineering)
 - ▷ Knochenbildung durch Steuerung der Stammzellaktivität mit osteoanabolen Signalen
 - ▷ Stammzellen aus regenerierenden Geweihknochen als Modellsystem für *in vitro*-Osteogenese und Remodeling – Untersuchungen zum Einfluss von lokalen und systemischen Faktoren auf Osteogenese und Knochenumbau
 - ▷ Klinische Genetik und genetische Epidemiologie der nicht-syndromalen Lippen-Kiefer-Gaumenspalte
 - ▷ Molekulare Pathologie oraler Plattenepithelkarzinome
 - ▷ Tissue Engineered Production of Bone Grafts
 - ▷ Osteogenesis by Controlling Stem Cell Activity with Osteoanabolic Signals
 - ▷ Stem Cells Derived from Regenerating Antler Bone as a Model System for *in vitro*-Osteogenesis and Remodeling – Investigations about the Influence of Local and Systemic Factors on Osteogenesis and Bone Remodeling
 - ▷ Clinical Molecular Genetics and Genetic Epidemiology of Non-syndromic Cleft Lip and Palate
 - ▷ Molecular Pathology of Oral Squamous Cell Carcinomas
-



Abteilungsleiter **Head of Department**

Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Henning Schliephake

Kontaktinformationen **Contact**

Abteilung Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN
 Robert-Koch-Straße 40, D-37075 Göttingen
 Telefon +49-551 / 39-8306, Fax +49-551 / 39-12653
 mkg@med.uni-goettingen.de
 www.mkg.med.uni-goettingen.de

Hochschullehrer/innen **Professors and Lecturers**

+49-551 /

Schliephake, Henning	Prof. Dr. med. Dr. med. dent.	Schliephake.henning@med.uni-goettingen.de	39-8306
Kramer, Franz-Josef (seit 10/2004)	Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. dent.	franz-josef.kramer@med.uni-goettingen.de	39-22880
Wiese, Karl-Günter	Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. dent.	wiese@med.uni-goettingen.de	39-8364

Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen **Other Group Leaders**

Rolf, Hans Joachim	Dipl.-Biol. Dr. rer. nat.	hrolf@uni-goettingen.de	39-22835
Gruber, Rudolf	Dr. med. Dr. med. dent.	r.gruber@med.uni-goettingen.de	39-22854
Fialka, Florian	Dr. med. Dr. med.dent.		

EINLEITUNG

Die Hauptaufgaben der Abteilung Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie liegen in den Bereichen Lehre, Forschung und Krankenversorgung. Dabei sind die Dozenten der Abteilung sowohl der humanmedizinischen als auch der zahnmedizinischen Lehre verpflichtet. Ein wichtiger klinischer Schwerpunkt der Abteilung liegt in der rekonstruktiven Chirurgie des Gesichtsschädels. Daher ist auch der wissenschaftliche Hauptschwerpunkt der Abteilung auf die Entwicklung und Überprüfung von innovativen Konzepten der Gewebekonstruktion bei angeborenen und erworbenen Fehlbildungen oder Defekten des Gesichtsgewebes gerichtet. Methodisch werden dabei in Kulturen aus primären Knochenmarkstromazellen und primären Cervidenzellen die Expressionsmuster verschiedener osteogener Markermoleküle analysiert und unter Einfluss verschiedener Trägermaterialien für die dreidimensionale Gewebekultur, sowohl *in vitro* als auch *in vivo* untersucht. Zudem werden neue osteogene Wachstumsfaktoren gesucht und innovative Applikationsformen erforscht. Dies schließt auch den Einsatz von osteoanabolen Phytohormonen zur Förderung der Regeneration des osteoporotischen Knochens mit ein. Weitere Forschungsschwerpunkte der Abteilung umfassen die Ätiologie von angeborenen Gesichtsfehlbildungen (Lippen-Kiefer-Gaumenspalten) und die Entstehung von Tumoren in der Mundhöhle.

PREFACE

The department undertakes major responsibilities in teaching, research and medical/surgical treatment of the head and neck area. An important clinical and research focus is reconstructive surgery. Tissue engineered growth of bone is one of the main activities using three-dimensional culturing of marrow stroma cells. The effect of carriers and the enhancement of osteogenic differentiation through matrix coating of carriers are evaluated *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, new osteogenic growth factors are searched and innovative applications of such factors are tested. This includes the development of bioactive implant surfaces by innovative anchoring technology for osteogenic signalling molecules. Considerable research activity is based on antler bone cells, which are used as a model system for *in vitro* osteogenesis and remodelling. Recent research activities of the department include the aetiology of facial malformations (cleft lip and palate) and the genesis of oropharyngeal tumours.

1. Gewebetchnologische Herstellung von Knochenersatz (Tissue Engineering) und Osteoinduktion durch gesteuerten Einsatz von osteoanabolen Peptiden

Aus chirurgischer Sicht hat eine Reihe von experimentellen Studien in den vergangenen Jahren an verschiedenen Modellen eine beschleunigte knöcherne Regeneration in skelettalen Defekten

durch die Implantation osteogener Zellen gezeigt. So ließ sich sowohl durch xenogene Transplantation humaner mesenchymaler Stammzellen (MSZ) im immundefizienten Rattenmodell als auch durch autogene Transplantation kaniner und feliner mesenchymaler Stammzellen eine beschleunigte Heilung von Femur- und Unterkieferdefekten nachweisen. Die histologisch verifizierten experimentellen Ergebnisse haben dabei zwar eine signifikant stärkere Knochenneubildung in den mit MSZ besiedelten Gerüsten gezeigt, die Rolle der Lagerleistung blieb dabei jedoch unklar. Eine eigene Transplantatfunktion der Konstrukte, die der biologischen Signalfunktion der Matrix autogener Knochenimplantate vergleichbar wäre, erscheint nach wie vor zweifelhaft. Im Rahmen eines DFG-geförderten Forschungsprojektes werden humane Knochenmarkstromazellen kultiviert sowie die Eignung verschiedener mineralischer und organischer Trägermaterialien für die dreidimensionale Kultur untersucht. Der Einfluss von Matrixbeschichtungen der Trägermaterialien als auch verschiedene Techniken der Kultivierung auf die osteogenetischen Eigenschaften der Konstrukte werden darüber hinaus experimentell *in vivo* analysiert.

1. Tissue Engineered Production of Bone Grafts

A number of experimental approaches have demonstrated enhanced osseous regeneration in skeletal defects using transplantation of mesenchymal stem cells (MSCs) in various scaffolds. Both xenogenic transplantation in immunodeficient rodent models and autogenous transplantation of canine and feline MSCs into femoral and mandibular defects resulted in accelerated bone healing. Histomorphometric results have shown significant increase of bone formation in scaffolds containing MSCs. However, the role of the recipient host tissue remains unclear, and a graft function of the seeded scaffolds comparable to the signalling effect of natural bone matrix, appears to be uncertain. The aim of this DFG funded project is to determine the effect of different carriers on *in vitro* behaviour of human marrow stroma cells and to assess the effect of matrix coating of the carriers and different modes of culturing on *in vivo* osteogenesis, following the transplantation of seeded scaffolds in a rodent model.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Hubert Meyer, Dr. Volker Jäger, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Materna, T., Rolif, H.-J., Napp, J., Schulz, J., Gelinsky, M., Schliephake, H. In-vitro characterization of three-dimensional scaffolds seeded with human bone marrow stromal cells for tissue engineered growth of bone - mission impossible ? A methodological approach. Clin Oral Impl Res 2008, 19: 379-86.

2. Knochenbildung durch Steuerung der Stammzellaktivität mit osteoanabolen Peptiden

Osteogene Wachstums- und Differenzierungsfaktoren haben ein hohes Potential in vivo eine Knochenneubildung zu induzieren und dadurch eine rasche knöcherne Ausheilung von skelettalen Defekten zu erreichen, die spontan nicht heilen. Dabei sind in den vergangenen Jahren eine Reihe neuer Faktoren entdeckt und isoliert worden, die eine knochenbildende Wirkung haben. Unklar ist neben der Wahl des am besten geeigneten Zytokins dabei noch die Frage der Trägermaterialien zur gezielten Applikation und gleichzeitigen Definition einer zu regenerierenden Form. Im Rahmen zweier Forschungsansätze wird daher einerseits am Modell des Göttinger Minischweins der Einsatz eines neuen Wachstumsfaktors (GDF 5) bei der Aufbauplastik des Kieferkammes untersucht. Dabei werden auch systemische Wirkungen des lokal applizierten Zytokins überprüft. Andererseits wird ein resorbierbares, zu langsamer Freisetzung fähiges Trägermaterial entwickelt, das unter Freisetzung der rekombinanten Wachstumsfaktoren (BMP 2) eine dem ursprünglichen Implantat kongruente knöcherne Form generiert. Durch in vitro Charakterisierung der Degradationsgeschwindigkeit unter Freisetzung der Wachstumsfaktoren werden die Eigenschaften des Trägers optimiert und anschließend in vivo experimentell getestet. Parallel dazu werden autogene Wachstumsfaktorkonzentrate aus Thrombozyten klinisch und experimentell auf ihre Fähigkeit getestet, die Knochenneubildung zu induzieren. Ziel eines zweiten Vorhabens ist die Identifizierung von Peptiden, die zu einer Differenzierung von Stammzellen in Osteoblasten/Osteozyten führen und somit den Knochenaufbau fördern. Zu diesem Zweck werden adulte mesenchym-abstammende Stammzellen (MSCs) mit Überständen fetaler Osteoblasten sowie Fraktionen verschiedener Peptidbanken behandelt. Nach Detektion der Differenzierung der MSCs zu Osteoblasten werden durch chromatographische Auftrennungen die biologisch aktiven Peptide isoliert. Es ist bekannt, dass der komplexe Weg der Differenzierung der MSC von einer Reihe bereits bekannter Faktoren gesteuert wird. Es ist aber anzunehmen, dass bislang unbekannte Faktoren an diesem Differenzierungsweg ebenfalls beteiligt sind. Darüber hinaus ist es von Interesse, die Bildung anderer aus dieser Art Vorläuferzellen entstehender Zelltypen wie Skelettmuskelzellen, Adipozyten und insbesondere Osteoklasten zu verhindern. Eigene Vorarbeiten mit Hilfe osteoanaboler Assay-Systeme führten bereits zur Isolierung von Peptiden wie IGF-Bindeproteinen (IGF-BP), „Tissue inhibitor of metalloproteinase type II“ (TIMP-2) und dem humanen Parathormon 1-37 (hPTH-1-37), für das auch ein klinischer Test entwickelt wurde. Diese Peptide befinden sich derzeit sowohl in der präklinischen wie auch in der klinischen Entwicklung und zeigen osteogene Effekte in Tiermodellen wie dem „Critical Size Defect“ (CSD) und in der ovariectomierten Ratte. Darüber hinaus wurde PTH-1-37 bereits in Patientinnen mit geringer Knochendichte getestet (Phase I Studie mit hPTH-1-37). Die Kenntnis von osteoanabol wirksamen Substanzen kann zur Entwicklung von Medikamenten führen, die Knochenheilungsvorgänge induzieren bzw. beschleunigen.

2. Osteogenesis by Controlling Stem Cell Activity with Osteoanabolic Peptides

Osteogenic growth and differentiation factors have a high clinical potential to induce bone formation in vivo, thus a rapid osseous healing can be achieved. In the past years, a number of new factors were discovered and isolated, which have shown osteoanabolic effects. Still unclear in this context is the question of the substrates and the most suitable application form. Within the context of two research projects, we have used a pig model to examine a new growth factor (GDF 5). Also, systemic effects of the locally applied cytokine have been examined. An absorbable substrate capable of slow release which gives the original implant a congruent shape under release of the recombinant growth factor BMP-2 has also been developed. Through in vitro characterisation of the degradation process under release of the growth factors, characteristics of the carrier are optimized and experimentally tested. Simultaneously, autogenous growth factor concentrates from blood platelets are clinically and experimentally tested on their ability to induce the new bone formation. The goal of a second project is the identification of peptides, which lead to a differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts and promote the bone formation process. For this purpose, adult mesenchymal stem cells (MSCs) are treated with supernatants of foetal osteoblast cultures as well as fractions of different peptide banks. Following detection of the differentiation of the MSCs to osteoblasts, biologically active peptides are isolated by chromatography. It has been assumed that the complex process of the differentiation of the MSC is influenced by a number of already well-known factors. Our own previous studies demonstrate that application of osteoanabolic assay systems have resulted in the identification of tissue inhibitor of metalloproteinase type II (TIMP-2) and the human parathormone 1-37 (hPTH-1-37) as well as the IGF binding protein (IGF-BP). These peptides are presently in preclinical as well as in clinical development and show osteoanabolic effects in animal models akin to the critical size defect (CSD) model and in the ovariectomized rat. Moreover, PTH-1-37 has already been tested in female patients with marginal bone density (phase I study with hPTH-1-37). A better understanding of osteoanabolic substances could lead to development of a new medicine that induces and/or accelerates bone healing process.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Prof. Dr. Dr. F.-J. Kramer

Prof. Dr. Dr. K.-G. Wiese

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. mult. W.G. Forssmann, Institut für Experimentelle Pharmakologie, Medizinische Hochschule Hannover

Dr. Herbert Weich, Gesellschaft für Biotechnologische Forschung, Braunschweig

Drittmittelförderung Funding

BMBF, BioProfile, 2005-2008

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Schliephake, H., Weich, H.A., Schulz, J., Gruber, R. In-vitro characterization of a slow release system of poly(lactic acid) and rhBMP2. J Biomed Mater Res 2007; 83: 455-462

Schliephake, H., Weich, H., Dullin, C., Gruber R., Frahse, S. Mandibular reconstruction by implantation of rhBMP in a slow release system of poly(lactic acid). Biomaterials 2008;29:103-110

Gruber, R., Ludwig, A., Achilles, M., Poehling, S., Merten, H.A., Schliephake, H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a histological and histomorphometric study in the Goettingen miniature pig. Clin Oral Impl Res 2008 May;19(5):522-9.

Kramer Fj, Meyer M, Morgan D, Forssmann Wg, Ständer L, Schliephake H, Mark S, Maronde E. Tissue Inhibitor of Metalloproteinases II (TIMP-2) is an Osteoanabolic Factor in vitro and in vivo. Eur J Med Res. 2008 Jun 24;13(6):292-8.

3. Stammzellen aus regenerierenden Geweihknochen als Modellsystem für in vitro-Osteogenese und Remodeling - Untersuchungen zum Einfluss von lokalen und systemischen Faktoren auf Osteogenese und Knochenumbau

Der jährlich regenerierende Geweihknochen von Hirschen (Cerviden) wird von unserer Arbeitsgruppe als Modellsystem zum Studium der Knochenbildung und des Knochenumbaus benutzt. Bei unseren Untersuchungen an permanent kultivierten Geweihzellen (Langzeit-Kulturen) stellte sich heraus, dass Primärkulturen aus regenerierenden Geweihknochen ebenso wie deren erste Passage über einen Zeitraum von mindestens 27 Monaten ohne sichtbare Anzeichen von Apoptose („programmierter Zelltod“) kultiviert werden können. Im Rahmen unseres Projektes ist es außerdem erstmals gelungen, aus primären Geweihzellkulturen multipotente Zellen zu isolieren, die sich mit dem monoklonalen Stammzellmarker STRO-1 sowie weiteren Stammzellmarkern markieren und isolieren lassen. Die Basis unserer Zellkultur-Experimente (*in vitro* - Untersuchungen) ist die Tatsache, dass die Stammzellen aus dem Geweihknochen auch in der Kulturschale eine außergewöhnliche Regenerationskapazität und ein großes morphogenetisches Potenzial zeigen. Neben einem extrem raschen Wachstum haben sie auch die Fähigkeit zur Bildung größerer Mengen an Faktoren für spezifische autokrine und parakrine Regulationsmechanismen. Durch die Analyse und Charakterisierung der Geweihzellkulturen werden wichtige Informationen zur Übertragung und Etablierung eines vergleichbaren Systems auf der Basis adulter humaner mesenchymaler Stammzellen erwartet. Mit den gewonnenen Informationen sollen bisher bekannte Grenzen der *in vitro*-Knochenherzeugung, wie die Apoptose der differenzierten Zellen und die fehlende Fähigkeit zur Bildung dreidimensionaler Strukturen, überwunden oder aufgehoben werden. Die erstmals gelungene Isolation von multipotenten Stammzellen (STRO-1+) aus dem regenerierenden Geweihknochen liefert Indizien dafür, dass auch in diesem Knochengewebe eine sogenannte „Stammzell-Nische“ existiert, die möglicherweise die Grundlage für die jährlich wiederkehrende, vollständige Regeneration des Geweihknochens liefert.

Unsere Experimente werden sowohl unter dem Aspekt der grundlagenwissenschaftlich orientierten als auch der anwen-

dungsorientierten Forschung mit dem Ziel durchgeführt, die Versorgung von Patienten zu verbessern. Im Rahmen dieses Forschungsschwerpunktes werden von uns unter Anderem die folgenden Themen bearbeitet:

- ▷ Morphologie sowie Physiologie des regenerierenden und des blanken Geweihknochens der Cerviden
- ▷ Hormonale Regulation der Osteogenese und des „bone remodeling“
- ▷ Isolierung von multipotenten Stammzellen aus primären Geweihzellkulturen
- ▷ Immunhistochemische Lokalisation von Stammzellen im Knochengewebe
- ▷ Immunocytochemische Lokalisation von Hormonen und verschiedenen hormonellen Faktoren
- ▷ Immunhistologische Lokalisation von Nervenfasern im Knochen
- ▷ Einfluss von Hormonen und Wachstumsfaktoren auf Geweihzellkulturen
- ▷ Vergleichende Untersuchungen an Knochenzellkulturen verschiedener Spezies
- ▷ Molekularbiologische Untersuchungen zur Proliferation und Differenzierungsfähigkeit multipotenter Stammzellen
- ▷ Besiedelungsexperimente mit Cervidenzellen und biokompatiblen Werkstoffen

3. Stem Cells Derived from Regenerating Antler Bone as a Model System for In vitro - Osteogenesis and Remodeling - Investigations about the Influence of Local and Systemic Factors on Osteogenesis and Bone Remodeling

The annual regenerating antler of cervids is used as a model to study osteogenesis and bone remodeling. Our investigations on long-term cultivated antler cells have shown that primary antler cell cultures as well as their first passages can be kept alive for more than 27 months without visible signs of apoptosis (“programmed cell death”). Cells positive for different mesenchymal stem cell markers (e.g. STRO-1) were, for the first time, detected in primary antler cell cultures and isolated for further investigations. Our cell culture experiments are based on the fact that the stem cells derived from cervid antlers exhibit extraordinary proliferation rates and have a high morphogenetic potential. They are also capable of developing large amounts of factors involved in specific mechanisms of autocrine and paracrine regulation. The first successful isolation of multipotent stem cells (STRO-1+) indicates an existence of a so-called “stem cell niche” also in antler bone, potentially serving as a basis for recurrent and complete antler bone regeneration. Our experiments deal with basic and clinical research with the aim of improving the medical treatment for patients.

Within the scope of our research, we examine the following topics:

- ▷ Morphology and physiology of the regenerating hard antler bone
- ▷ Hormonal regulation of osteogenesis and bone remodeling
- ▷ Isolation of multipotent stem cells derived from primary antler cell cultures
- ▷ Immunohistochemical localisation of stem cells in bone tissue
- ▷ Immunocytochemical localisation of hormones and different hormonal factors
- ▷ Immunohistological localisation of nerve fibres in the bone
- ▷ Influence of hormones and growth factors on antler cell cultures
- ▷ Comparative investigations on bone cell cultures obtained from different species
- ▷ Molecular biological investigations on the proliferation and differentiation capacity of multipotent stem cells
- ▷ Colonisation of biocompatible materials by antler bone cells

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dipl.-Biol. Dr. rer. nat. Hans J. Rolf

Kooperationen Cooperations

Prof. Ludek Bartos, Research Institute of Animal Production, Prag, Tschechische Republik

Prof. Dr. med. G. A. Bubenik, Department of Integrative Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Kanada

Prof. Dr. Horst Kierdorf, Prof. Dr. Uwe Kierdorf, Institut für Biologie und Chemie, Universität Hildesheim

Prof. Dr. Stefan Schütz, Institut für Forstzoologie und Waldschutz, Universität Göttingen

Dr. Dean Konjević, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Zagreb, Kroatien

Drittmittelförderung Funding

DFG Normalverfahren R02520/1-1 (2004-2006) und R02520/1-3 (2006-2008)

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Rolf, H. J., Kierdorf, U., Kierdorf, H., Schulz, J., Seymour, N., Schliephake, H., Napp, J., Niebert, S., Wölfel, H., Wiese, K. G. (2008) Localization and characterization of STRO-1+ cells in the deer pedicle and regenerating antler. *PLoS ONE* 3(4): e2064. doi:10.1371/journal.pone.0002064.

Rolf, H. J.; Wiese, K. G.; Siggelkow, H.; Schliephake, H.; Bubenik, G. A. (2006) *In vitro*-studies with antler bone cells: Structure forming capacity, osteocalcin production and influence of sex steroids. *Osteology*, Vol. 15 (4), 245-257.

Rolf HJ, Seymour N, Napp J, Schliephake H, Wiese KG (2006) Proliferation und Differenzierung von STRO-1+ Zellen aus regenerierenden Gehörknöchelchen unter dem Einfluss verschiedener Kulturmedien. *OSTEOLOGIE*, Vol. 15 (Suppl. 1): 31-2.

4.

Klinische Genetik und genetische Epidemiologie der nicht-syndromalen Lippen-Kiefer-Gaumenspalte

Lippen-Kiefer-Gaumenspalten zählen zu den häufigsten angeborenen Fehlbildungen des Menschen; sie können isoliert oder im Rahmen eines übergeordneten Syndroms auftreten. Die Ergebnisse zahlreicher früherer Studien deuten darauf hin, dass die isolierten Spalten eine so genannte multifaktorielle Entstehung haben, d. h. sowohl äußere (Umwelt-)Faktoren als auch (typischerweise mehrere) genetische Faktoren können an ihrer Entstehung beteiligt sein. Langfristiges Ziel des Projektes ist die Identifizierung genetischer Faktoren, die ursächlich an der Entstehung von nicht syndromalen Lippen-Kiefer-Gaumenspalten beteiligt sind. Hierzu werden in einem

interdisziplinären Forschungsprojekt bundesweit Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumenspalten und ihre Familienangehörigen besucht und aus einer Blutprobe die Erbsubstanz isoliert. Die Bedeutung von in früheren Untersuchungen bereits festgestellten Veränderungen der Erbsubstanz wird für den mitteleuropäischen Raum überprüft und gleichzeitig auch nach neuen bislang unbekannt Genen mit Relevanz für die Entstehung von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten gesucht. Kenntnisse der genetischen Grundlagen der Spaltfehlbildung ermöglichen zukünftig möglicherweise eine bessere Beratung von betroffenen Familien oder Patienten bei Kinderwunsch über das Wiederholungsrisiko und eventuell auch neue Strategien zur Prävention von Lippen-Kiefer-Gaumenspalten in der Frühschwangerschaft.

4.

Clinical Molecular Genetics and Genetic Epidemiology of Non-syndromic Cleft Lip and Palate

Cleft lip and palate rank among the most frequent congenital malformations in humans; they can occur either isolated or in the context of a complex syndrome. The results of several earlier studies indicate to the fact that isolated orofacial clefts have a multifactorial etiology including both external (environmental) factors and (typically several) genetic factors. A long-term goal of the project is the identification of genetic factors, which cause the emergence of non-syndromal cleft lip and palate. In an interdisciplinary research project, patients nationwide with cleft lip and palate and their relatives were visited and blood specimen were collected with the purpose of isolating their DNA. The impact of certain genetic mutations identified by earlier investigations is examined for the central European area; and at the same time a search for new unknown genes with relevance for the etiology of cleft lip and palate has been initiated. Fundamental genetic knowledge of the malformation may possibly allow a better future counselling for families or patients concerned. Also, better understanding would allow developing new strategies for the prevention of cleft lip palate during early pregnancy.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Dr. F.-J. Kramer

Kooperationen Cooperations

Dr. E. Mangold, Institut für Humangenetik, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Drittmittelförderung Funding

DFG, Forschergruppe 423 (2004-2006); DFG Normalverfahren KR1912 / 7-1 (ab 2007)

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

TGFB3 displays parent-of-origin effects among central Europeans with nonsyndromic cleft lip and palate. Reutter H, Birnbaum S, Mende M, Lauster C, Schmidt G, Henschke H, Saffar M, Martini M, Lauster R, Schiefke F, Reich RH, Braumann B, Scheer M, Knapp M, Nöthen MM, Kramer FJ, Mangold E. *J Hum Genet*. 2008;53(7):656-61. Epub 2008 May 15.

Family-based association study of the MTHFR polymorphism C677T in patients with nonsyndromic cleft lip and palate from central Europe. Reutter H, Birnbaum S, Lacava AD, Mende M, Henschke H, Bergé S, Braumann B, Lauster C, Schiefke F, Wenghoefer M, Saffar M, Reich R, Scheer M, Kramer FJ, Knapp M, Mangold E. *Cleft Palate Craniofac J*. 2008 May;45(3):267-71.

Mutation screening in the IRF6-gene in patients with apparently nonsyndromic orofacial clefts and a positive family history suggestive of autosomal-dominant inheritance. Birnbaum S, Reutter H, Lauster C, Scheer M, Schmidt G, Saffar M, Martini M, Hemprich A, Henschke H, Kramer FJ, Mangold E. *Am J Med Genet A*. 2008 Mar 15;146A(6):787-90.

A family-based association study in Central Europeans: no evidence for the cystathionine beta-synthase c.844ins68 gene variant as a risk factor for non-syndromic cleft lip and palate. Birnbaum S, Reutter H, Mende M, Díaz-Lacava A, Henschke H, Bergé SJ, Braumann B, Lauster C, Hemprich A, Wenghoefer M, Saffar M, Reich RH, Scheer M, Knapp M, Kramer FJ, Mangold E. *Am J Med Genet A*. 2007 Jan 15;143(2):205-7.

5. Molekulare Pathologie oraler Plattenepithelkarzinome

Prognoseprädiktion bei oralen Plattenepithelkarzinompatienten durch differenzielle Genexpressionsanalysen

Ziel dieses Projekts ist es, ein Prognoseprofil bei Patienten mit einem histologisch gesicherten Plattenepithelkarzinom der Mundschleimhaut zu erstellen. Dieses Prognoseprofil wird anhand genetischer Marker auf Ebene der mRNA erstellt.

Das Projekt wird in zwei Teilphasen durchgeführt: In einer ersten Phase wurden retrospektiv Patienten mit Mundhöhlenkarzinomen untersucht, von welchen aus dem klinischen Verlauf bekannt ist, ob sie innerhalb von drei Jahren nach Diagnosestellung tumorbedingt verstarben oder nicht. In dieser Population wurde mittels cDNA-Microarray- und Real-time-PCR-Untersuchung die differenzielle Genexpression von Karzinombiopsien im intraindividuellen Vergleich mit gesunder Schleimhaut untersucht. Ziel dieses ersten Teilprojektes war die Identifizierung von Genexpressionsmustern, die mit dem klinischen Verlauf korrelieren. Anhand der damit identifizierten prognoserelevanten Genexpressionsprofile wird in einer zweiten Projektphase untersucht, inwiefern beim einzelnen Patienten aus der differenziellen Genexpression der identifizierten Gene der spätere klinische Verlauf vorhergesagt werden kann. Hierbei wird die real-time-PCR-Untersuchung eingesetzt. Die Identifizierung eines prognostisch zu nutzenden Genexpressionsprofils dient der Verbesserung der individuellen multimodalen Therapie von Patienten mit Mundhöhlenkarzinomen. Sollte Patienten nach der Analyse der intraoperativ gewonnenen Gewebeproben in eine Hoch-Risiko-Gruppe eingeordnet werden, muss der Nutzen adjuvanter Therapiestrategien und modifizierte Nachsorgekonzepte evaluiert werden. Demgegenüber könnte ggf. auf den Einsatz von den Patienten unnötig belastender Behandlungen verzichtet werden, wenn sich aus dem individuellen Genexpressionsprofil eine gute Überlebensprognose ableiten lässt.

Regulation der interzellularen Gap-Junction-Kommunikation im in vivo DMBA-induzierten Wangentaschenkarzinom des Hamsters

Bestimmte Connexinsubtypen als Bestandteile der an der interzellularen Kommunikation beteiligten Gap Junctions scheinen an prokarzinogenen oder tumorsupprimierenden Effekten beteiligt zu sein. Hierbei muss von tumorgewebsspezifischen und tumorstadienspezifischen Einflüssen einzelner Connexinsubtypen ausgegangen werden.

Im Rahmen des Projektes wird evaluiert, inwiefern sich ein Tiermodell für die Untersuchung der tumorstadienabhängigen Connexininduzierten Effekte im oralen Plattenepithelkarzinom eignet.

Hierzu werden Connexingenexpressionsprofile von unterschiedlich weit fortgeschrittenen humanen oralen Plattenepithelkarzinomen mit entsprechenden Profilen oraler Plattenepithelkarzinome des Hamsters korreliert. Bei entsprechender Korrelation kann davon ausgegangen werden, dass die stadienabhängige Regulation verschiedener Connexinsubtypen im oralen Plattenepithelkarzinom beider untersuchter Spezies vergleichbar verläuft und sich das Tiermodell offenbar für die Durchführung von kontrollierten Tierversuchen eignet.

Für die vergleichende Analyse der Connexinexpression werden Genexpression und Proteinexpression mittels real-time-PCR bzw. Western Blot untersucht.

Sollte sich die Eignung des Modells bestätigen, werden Nachfolgeuntersuchungen zur Auswirkung der pharmakologischen Beeinflussung bestimmter Connexinsubtypen auf den Tumorprogress im Tiermodell umgesetzt.

Hierdurch wird ein besseres Verständnis zur molekularen Pathologie oraler Plattenepithelkarzinome erwartet.

Interaktionen von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) mit Plattenepithelkarzinomzellen des Oropharynx

Maligne Tumoren interagieren auf vielfältige Weise mit dem umgebenden Tumorstroma, wodurch grundlegende Tumoreigenschaften wie Invasivität oder die Fähigkeit zur Angiogenese gesteuert werden. Im In-vitro-Modell kann die Kokultur von Karzinomzellen mit undifferenzierten mesenchymalen Zellen das Wachstum der Tumorzellen beeinflussen. Dies konnte bereits anhand von Interaktionen humaner mesenchymaler Stammzellen (hMSC) sowohl mit Mammakarzinomzellen als auch mit Tumorzellen hepatozellulärer Karzinome und mit Zellen der myeloischen Leukämie gezeigt werden. Die Einflüsse von hMSC auf Plattenepithelkarzinomzellen des Oropharynx sind bislang ungeklärt. Als Modellversuche für die Tumor-Stroma-Wechselwirkung führen wir Untersuchungen an Kokulturansätzen humaner Plattenepithelkarzinomzellen (PCI-13) mit humanen mesenchymalen Stammzellen aus Beckenkamm-aspiraten durch. Die Analyse dieser Interaktionen kann Aufschluss über die Kommunikation zwischen Karzinomzellen und dem umgebenden Stroma so wie über Einflüsse des Stromas auf die biologische Aktivität des Tumorgewebes geben. Im Rahmen unseres Projektes werden kritische Signaltransduktionswege, u.a. über den Wnt/ β -Catenin-Pathway, aber auch über weitere wichtige Marker der epithelial-mesenchymalen Interaktion (MMP-14, Cathepsin B, E-Cadherin, ETS-1) mittels quantitativer Realtime-PCR auf RNA-Ebene und mittels ELISA und Immunfluoreszenz auf Proteinebene untersucht. Eigene Vorversuche haben bereits gezeigt, dass die Proliferation von Plattenepithelkarzinomzellen des Oropharynx in Anwesenheit humaner mesenchymaler Stammzellen gehemmt wird. Im Gegenzug zeigt sich eine gesteigerte Proliferation der hMSC. Eine genaue Analyse beteiligter Signaltransduktionswege soll nun Mechanismen aufzeigen, die für diese gegenseitige Beeinflussung ursächlich sind. Hierdurch könnten sich wichtige Erkenntnisse über die Regulation der Tumoraktivität und damit möglicherweise neue Ansatzpunkte für therapeutische Verfahren ergeben.

5. Molecular Pathology of Oral Squamous Cell Carcinomas

Prediction of prognosis of patients suffering from Oral Squamous Cell Carcinoma using differential gene expression analysis

A major goal of this project is it to provide a prognosis profile for patients with a histologically proven oral squamous cell carcinoma. This prognosis profile is provided on the basis of genetic markers on mRNA-level. The project has been carried out in two subphases: In the first phase patients with oral squamous cell carcinoma were examined and their clinical course observed. In this population group, the differential gene expression was compared intra individually with non-affected oral mucosa by means of cDNA microarray and real time PCR investigation. A goal of the subproject is the identification of gene expression samples, which correlate with the clinical process. On this basis, the prognosis-relevant gene expression profile will be examined in respect to individual mRNA process level. The methods real time PCR investigation is used. The identification of a gene expression profile which can be used prospectively may improve the individual multimodal therapy strategies of patients with oral cancer.

Regulation of gap-junction-intercellular-communication in the DMBA-induced hamster cheek pouch carcinoma

Connexins as part of gap junctions seem to be involved in progression or suppression of cancer. This appears to depend on tumour stage and the tumour natural tissue.

A goal of this project is to evaluate the value of an animal model to analyse the tumour stage dependent effects of connexins in oral cancer.

This is provided by the comparison of connexin gene expression profiles of differentially progressed human oral cancer with appropriate gene expression profiles of hamster oral cancer. If there is an evident correlation between stage dependent expression in human and hamster oral cancer, it can be hypothesized, that the examined animal model is usable in controlled animal studies. The connexin expression is comparatively analysed by real-time-PCR and Western-Blot.

If the animal model is eligible, the influence of connexin-manipulation on tumour progression will be evaluated. A better knowledge about the molecular pathology of oral cancer will be expected.

Interactions of human mesenchymal stem cells (hmsc) with head and neck squamous cell cancer (hnscc) cells

Malignant tumors interact with the surrounding stroma in many different ways effecting regulation of basic tumor attributes like invasivity or angiogenetic capabilities. In-vitro-models showed influence of human mesenchymal stem cells (hmsc) on the proliferation of breast cancer cells, hepatocellular carcinoma cells, and myeloid leukemia cells. Influences of hmsc on head and neck squamous cell cancer cells (hnscc) have not been investigated yet. As a model for tumor-stroma-interaction we established a co-culture experiment with human hnscc (PCI-13) and human hmsc obtained from iliac crest grafts. The analysis if the interactions between the two cell types could deliver use-

ful insight into signaling mechanisms between tumor cells and surrounding stroma as well as into regulation of biological tumor activity. Within the scope of our project critical signaling pathways of epithelial-mesenchymal interaction are evaluated, e.g. Wnt/ β -Catenin, but also further important markers like MMP-14, Cathepsin B, E-Cadherin and ETS-1. Analysis is performed via quantitative real-time-PCR on RNA level and by means of ELISA and immunofluorescence on protein level. Preliminary results show a decreased proliferation of hnscc in contrast to an increased proliferation rate of hmsc. Detailed investigation of the causally involved signal transduction mechanisms may eventually lead to new therapeutic strategies.

Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Prof. Dr. Dr. F.-J. Kramer

Dr. Dr. R. M. Gruber

Dr. Dr. F. Fialka

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Fialka F, Gruber RM, Hitt R, Opitz L, Brunner E, Schliephake E, Kramer FJ (2008): CPA6, FM02, LG11, SIAT1 and TNC are differentially expressed in early- and late-stage oral squamous cell carcinoma - A pilot study. *Oral Oncol* 44, 941-948.

Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Dr. T. E. Reichert, Abt. Mund-, Kiefer-, Gesichtschirurgie, Universität Regensburg

Anhang Appendix

Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Hilbert J, Dr. med., Johannes Fredericus Samuel Esser - Wegbereiter der modernen plastischen Chirurgie - Die Berliner Zeit - Dissertation Universität Göttingen 2008.

Khalilian F, Dr. med., Die Bedeutung des Periostes für die Frühvaskularisation freier bikortikaler kortikospongioser Augmentationsplastiken - Eine tierexperimentelle Untersuchung an Göttinger Miniaturschweinen. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Fenge S, Dr. med., Sonografiegestützte Therapie bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle an der Universitätsklinik Göttingen. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Fialka F, Dr. med., Die Bedeutung transsarkolemmaler Ionentransporte für die verzögerte Phase der positiven Inotropie nach Vorlaststeigerung von Kaninchen- und Menschenmyokard. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Kühne L, Dr. med., Biokompatibilität eines expandierenden Implantatmaterials aus Methylmethakrylat und N-Vinyl-2-Pyrrolidon im Vergleich zu Polyäthylen. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Fialka F, Dr. med. dent., Eine genomweite Genexpressionsanalyse aus Biopsien lokal begrenzter und fortgeschrittener oraler Plattenepithelkarzinome. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Jamil M, Dr. med. dent., Tierexperimentelle Untersuchung zur Rekonstruktion des Unterkiefers mit einem alloplastischen Knochensatzmaterial unter Zugabe eines mitogenen Wachstumsfaktors. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Materna T, Dr. med. dent., Quantifizierung und Charakterisierung von humanen Knochenmarkstromazellen in dreidimensionalen Trägermaterialien. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Arnold J, Dr. med. dent., Computertomographisch gestützte Volumen- und Dichtebestimmung nach der Sinusbodenaugmentation mit rh-GDF-5-beschichtetem Beta-Trikalziumphosphat. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Hellkuhl C, Dr. med. dent., Vergleich zweier histomorphometrischer Verfahren zur Evaluation der Augmentatzusammensetzung nach experimenteller Sinusbodenelevation. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

20. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Implantologie e.V., München, 2007

Joint Meeting DGI, ÖGI, SGI, IAOFR, Berlin 2009

Preise und Auszeichnungen Prizes and Awards

Dr. Dr. F. Fialka

Tagungspreis der Arbeitsgemeinschaft für Kieferchirurgie 2007

Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Mitglied des Executive Committee der IAOMS seit 2005-2009

Pastpräsident der Deutschen Gesellschaft für Implantologie (DGI), seit 2006-2009

Präsident elect der Deutschen Gesellschaft für Zahn-Mund-Kieferheilkunde (DGZMK), seit 2007

2. Vorsitzender der Arbeitsgemeinschaft Kieferchirurgie innerhalb der DGZMK, seit 2007

Sprecher der Sektion Chirurgie in der VHZMK (Verein der Hochschullehrer der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde), seit Sept. 2004-2006

Dipl.-Biol. Dr. rer. nat. H. J. Rolf

Stellv. Sprecher des Arbeitskreises „experimentelle Osteologie“ der Deutschen Gesellschaft für Osteologie

Universitäre Gremien University Boards

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Mitglied der Ethikkommission

Sprecher der erweiterten Gerätekommission 2006-2009

Mitglied der Forschungsförderungskommission 2006 - 2009

Mitglied im Beirat ZTE

Geschäftsführender Leiter des Zentrums Zahn-Mund-Kieferheilkunde 2006-2009

Vorsitzender der Zahnärztlichen Prüfung 2007 - 2009

Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Mitglied im Fachkollegium 205 „Medizin“ (Amtsperiode 2008-2011) der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG)

Dipl.-Biol. Dr. rer. nat. H. J. Rolf

Gutachter für die Czech Grant Agency

Herausgebertätigkeit Editorial Work

Prof. Dr. Dr. H. Schliephake

Associate Editor des Int. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery seit 2004

Editor der Section Reconstructive Surgery des Int. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery seit 2004

Mitglied im redaktionellen Beirat der Zeitschrift Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, seit 2002

Mitglied im redaktionellen Beirat der Deutschen Zahnärztlichen Zeitschrift, seit 2002

Schriftleitung der Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie seit 2006

Mitglied im Editorial Board des Asian Journal of OMF Surgery seit 2006

Mitglied im Editorial Board des China Journal of OMF Surgery seit 2007

Mitglied im Editorial Board der Oral Oncology seit 2007

Internationale wissenschaftliche Kooperationen

International Scientific Cooperations

Prof. Ludek Bartos, Research Institute of Animal Production, Prag, Tschechische Republik

Prof. Dr. med. G. A. Bubenik, Department of Integrative Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Kanada

Dean Konjević, PhD, DVM, Department for Game Biology, Pathology and Breeding, Faculty of Veterinary Medicine,

University of Zagreb, Croatia

Fakultätsinterne Förderung Internal Faculty Funding

Anschubfinanzierung, Forschungsförderungsprogramm 2008, „Die Regulation von Connexin 43 im DMBA-induzierten Mundhöhlenkarzinom des Hamsters“ (Florian Fialka)

Gastwissenschaftler/innen Guest Scientists

Dr. Zhu, China, 2006 für 18 Monate