



Leistungsbericht LIFE-Zentrum

2007/2008

Leistungsbericht LIFE-Zentrum 2007/2008

Geschäftsführung:

Professor Dr. med. Stefan Endres

Professor Dr. med. Christian Stief

Professor Dr. rer. nat. Wolfgang Zimmermann (leitender Geschäftsführer)

Telefon: 7095-4895

Telefax: 7095-4864

E-Mail: wolfgang.zimmermann@med.uni-muenchen.de

Das LIFE-Zentrum besteht seit Mai 2008 aus den drei Forschungseinheiten Laserforschungslabor, Labor für Tumorimmunologie und der Urologischen Forschung. Hervorgegangen ist die Forschungseinrichtung aus einer 1995 etablierten Forschungseinrichtung der Urologischen Klinik.

1. Personal

Laser-Forschungslabor (LFL)

Wissenschaftliche Mitarbeiter

Planstellen 5

Drittmittel 1 + 6x 1/2

Gesamt 6 + 6x 1/2

Nichtwissenschaftliche Mitarbeiter

Planstellen 1/2

Drittmittel 1 + 1/2

Gesamt 2 + 2x 1/2

Labor für Tumorimmunologie (LTI)

Wissenschaftliche Mitarbeiter

Planstellen 3

Drittmittel 2

Gesamt 5

Nichtwissenschaftliche Mitarbeiter

Planstellen 1

Drittmittel 2

Gesamt 3

Experimentelle Forschung Urologie

Wissenschaftliche Mitarbeiter

Planstellen 2 (ausschließlich für Forschung)

2. Lehre

Pflichtveranstaltungen

MeCuM Modul III (Urologie: Tutorials, Seminare, Vorlesungen, Bedside-Teaching),

MeCuM Longitudinalkurs

Wahlveranstaltungen

Tumorimmunologiepraktikum für Mediziner und Biologen; Beteiligung an Vorlesung und Praktikum „Grundlagen der Immunologie“ des Immunologischen Instituts; LIFE-Seminar mit eingeladenen Rednern; LIFE-Forschungsbesprechung mit Ärzten der Urologischen Klinik; 6 Medizindoktoranden in Ausbildung (LTI).

3. Forschungsschwerpunkte

Die Forschungsschwerpunkte der Forschungseinrichtung sind ausgerichtet auf die Entwicklung und Verbesserung von Immuntherapien solider Tumoren sowie auf die Etablierung neuer prognostischer Marker bei urologischen Tumoren, Entwicklung und klinische Validierung innovativer optischer Verfahren zur Diagnose und Therapie humaner Neoplasien mit einem Schwerpunkt Lasermedizin sowie die Identifikation von neuen therapeutischen Ansätzen bei urologischen Tumoren und die Entwicklung neuer Strategien zur therapeutischen Beeinflussung urologischer Funktionsstörungen (erektile Dysfunktion, Blasenentleerungsstörungen).

3.1 Laser-Forschungslabor (LFL)

Allgemeine Einführung

Das LFL ist eine interdisziplinäre Forschungseinrichtung mit dem Ziel, innovative Methoden zur Detektion und Therapie humaner Neoplasien zu entwickeln, klinisch umzusetzen und zu evaluieren. Um diesen Prozess zu optimieren, werden enge Kontakte mit der Fachhochschule München (*University of Applied Sciences*) und dem Fachbereich Physik der naturwissenschaftlichen Fakultät der LMU München gepflegt. Sie ermöglichen in optimaler Weise auf der Basis von Praktikanten- und Diplomarbeiten Labormuster zu entwickeln und diese in Kooperation mit Industriepartnern bis hin zur klinischen Anwendung umzusetzen. Die sich anschließende Evaluierungsphase in der Klinik wird ebenso begleitet. Dies eröffnet die Möglichkeit in enger Kooperation mit den Ärzten Systemschwächen schnell zu erkennen und an die Industrie zur Optimierung weiterzuleiten. Bei Erfolg versprechenden Verfahren werden Kontakte zu Partnern aus unterschiedlichen Fachbereichen des Klinikums geknüpft, um diese Methoden rasch interdisziplinär umzusetzen (siehe Gründung von T.E.A.M). Im Laser-Forschungslabor werden drei Forschungsgebiete schwerpunktmäßig bearbeitet:

3.1.1 Optische *In-vivo*-Pathologie

Bei diesem Forschungsschwerpunkt, der auch unter dem Namen *Optical Biopsy* bekannt ist, werden derzeit international endoskopgestützte Methoden entwickelt, die es erlauben, eine histopathologische Befundung ohne Gewebeprobeentnahme vorzunehmen. Dazu ist notwendig, prä-maligne und maligne Areale mit hoher Sensitivität und Spezifität vorwiegend in Hohlorganen zu lokalisieren. Als besonders geeignet erweisen sich dabei das multilokuläre Harnblasenkarzinom, Karzinome in Lunge und Mundhöhle sowie Tumoren im Gehirn. Durch spezielle Sonden, die über die Arbeitskanäle der Endoskope eingebracht werden, ist es möglich, sowohl die Invasion des Tumors (*staging*) als auch die zelluläre Struktur der Oberfläche (*grading*) optisch auf einem Monitor darzustellen. Im Laser-Forschungslabor werden dazu aktuelle neue Fluoreszenzmarker eingesetzt sowie an einer Optimierung der Mikroendoskopie gearbeitet. Ziel ist, alle für die in vivo Pathologie notwendigen erforderlichen Techni-

ken in ein einziges Endoskop zu integrieren. Folgende Projekte wurden in 2007/2008 in diesem Forschungsschwerpunkt bearbeitet:

Verbundprojekt „Tumorvision“ (gefördert vom BMBF in Biophotonik III)

Nach erfolgreicher Entwicklung von Technologien zur Fluoreszenzlokalisierung mit Hilfe von 5-Aminolävulinsäure induziertem Protoporphyrin IX im LFL, die zur europäischen Zulassung der Verfahren in Europa beim Blasen-tumor (2005) und beim Glioblastom (2008) führten, werden nun neue Fluoreszenzmarker für maligne Tumoren untersucht. Im Verbundprojekt „Tumorvision“ werden Fluoreszenzsonden (*smart probes*) zur Anfärbung zweier unterschiedlicher Enzyme entwickelt. Dies ist zum einen Transketolase-like1 (TKTL1) als Prognosemarker und zum anderen DNaseX, das frühe maligne Änderungen anzeigen soll. Aufgabe des LFL ist es, ein hochempfindliches Spektroskopiesystem zu entwickeln, die diese schwache Markerfluoreszenz aus nativen Gewebeproben nachweisen kann. Dies geschieht mit Hilfe der Anregung und Detektion durch dünne Lichtleitfasern und damit Übertragungssystemen, die leicht in Endoskope integriert werden können. Zur Quantifizierung der Fluorochromkonzentration in streuendem und absorbierendem Gewebe werden Raytracing-Berechnungen und Monte-Carlo-Simulationen durchgeführt und mit Ergebnissen aus Messungen an Gewebephantomen verglichen. In diesem Vorhaben wurde ein Multifaserapplikator entwickelt, der alternierend Fluoreszenz- und Weißlichtemissionspektren aufzeichnet und verrechnet. Als Lichtquelle werden dazu LEDs und Laserdioden verwendet. Aus den korrigierten („intrinsische“) Fluoreszenzspektren ergibt sich eine bisher erreichte Empfindlichkeit im nmol-Bereich.

Fluoreszenznachweis von Indocyaningrün (ICG)(unterstützt durch die Industrie)

IGG ist ein klinisch zugelassener Infrarotfarbstoff, der aufgrund seiner Lokalisierung in Gefäßen überwiegend zur Darstellung der Gefäße im Auge und zur Leberfunktionsprüfung verwendet wird. Intravenös verabreicht zeigt er eine schnelle Pharmakokinetik und ist nicht zuletzt deswegen für Endoskophersteller interessant, um neue klinische Anwendungsfelder zu erschließen. In einer Studie an bisher 25 Patienten wurde die Durchblutung von Hautlappen nach plastisch chirurgischem Eingriff nach Tumorresektion in der HNO untersucht. In zwei Fällen konnte eine undurchlässige Arterie nach Anastomisierung festgestellt und korrigiert werden. Unser Ziel ist nun, die Bilddarstellung durch Überlagerung von Infrarotbild und nativem Weißlichtbild zu optimieren und auf einem Monitor darzustellen. In einem weiteren Schritt sollen Bildverarbeitungsroutinen entwickelt werden, um zusätzlich noch Perfusionsparameter quantitativ zu ermitteln.

„Femtoscope“, ein Projekt im Münchner Exzellenzcluster MAP (Munich Advanced Photonics)

Dieses Projekt hat sich zum Ziel gesetzt, durch mikroskopische Auflösung der Gewebeoberfläche durch ein Endoskop pathologisch gesicherte Aussagen über den Malignitätsgrad (*grading*) von humanen Neoplasien treffen zu können. Die Technik basiert auf einem flexiblen Endoskop in das kurze Laserpulse in Femtosekundenbereich eingekoppelt werden. In Kombination mit *in vivo* verwendbaren Kontrastmitteln wird angestrebt, zelluläre Strukturen aufzulösen. Derzeit werden Untersuchungen zur optischen Auflösung an histologischen Schnitten durchgeführt. Mit Hilfe des 2-Photoneneffekts erhalten wir dabei einen konfokalen Effekt, mit dessen Hilfe wir vergleichbar zum konfokalen 2-Photonen-Mikroskop auch hoch aufgelöste „optische Schnitte“ durch das Gewebe durchführen können.

„3D-Tissue Screen“ (gefördert vom BMBF in Biophotonik III)

In diesem Vorhaben ist das LFL Unterauftragnehmer eines Mikroskopherstellers sowie einer Firma, die fs-Laser in einer sehr kompakten Form produziert. Ziel ist Strahlscanner und Detektoren auf ihre Eignung zum Bau eines fs-Endoskops mit schneller Bildaufnahme zu untersuchen. Dazu wurden spezielle Objektive mit Gradientenindexlinsen konstruiert und ihre Leistungsfähigkeit mit konventionellen Mikroskopobjektiven verglichen. Um 2-Photonenbilder aus schwach fluoreszierendem Gewebe zu bekommen, ist eine hohe Empfindlichkeit erforderlich. Dies ist nur möglich, wenn alle optischen Parameter, wie z.B. die lineare und nichtlineare Pulsverzerrung auf ein Minimum reduziert werden.

Klinische Untersuchungen mit endoskopisch eingesetzter optischer Kohärenztomographie (OCT) (unterstützt durch die Industrie)

Dieses Vorhaben wird in Kooperation mit dem US Unternehmen Imalux durchgeführt. Imalux ist derzeit der einzige Hersteller einer flexiblen vorwärtsgerichteten OCT-Sonde, die endoskopisch eingesetzt werden kann und klinisch zugelassen ist. OCT-Bilder zeigen ähnlich wie bei Ultraschall einen Querschnitt durch das Gewebe mit seinen geschichteten Strukturen aus Epithel, Bindegewebe und Muskel bis zu einer Tiefe von 2 mm und einer Auflösung von ca. 10 µm. Damit ist dieses Verfahren dem Ultraschall deutlich überlegen. Erste Untersuchungen im Fachbereich Urologie an Zystektomiepräparaten hatten vor allem das Ziel, entzündetes von dysplastischem und malignem Gewebe zu unterscheiden. Weiterhin wird die endoskopisch gestützte OCT in der Gynäkologie bei der Cervixdysplasie und der HNO bei frühmalignen Veränderungen in der Mundhöhle und der Luftröhre eingesetzt. In allen Einsatzbereichen konnte bisher mit hoher Auflösung die Schichtstruktur des gesunden Gewebes dargestellt werden. Der Übergang von gesundem Gewebe zu prä-malignen und malignen Arealen war anhand der Verwerfung dieser Schichtungen klar erkennbar. Ziel ist, in enger Kooperation mit der Pathologie eine Bewertung abzugeben, die Aufschlüsse über maligne Einstufung des Befunds im Hinblick auf seine Invasion (*staging*) erlaubt.

3.1.2 Klinische Laserbehandlungen

Allgemeine Einführung

Als einziges Labor für Lasermedizin in Bayern hat sich die Arbeitsgruppe „Lasermedizin“ im LFL zum Ziel gesetzt, die neuesten Lasersysteme und -Verfahren ausgehend von *In-vitro*-Laborversuchen bis hin zu klinischen Studien auf ihre Effizienz hin zu untersuchen. Abhängig von den Laserparametern werden dabei Effekte der Gewebekoagulation und Vaporisation bis hin zur Steinzertrümmerung untersucht. Die Forschungsarbeiten wurden schwerpunktmäßig in Kooperation mit den klinischen Fächern Urologie, HNO und Gefäßchirurgie durchgeführt. Folgende Projekte wurden in 2007/2008 in diesem Forschungsschwerpunkt bearbeitet:

Endoluminale Behandlung der Varikosis

Neben konventionellen Eingriffen wird die thermische Laserbehandlung der Varikosis zunehmend als Alternative betrachtet. Das Ziel dieses minimal invasiven endoluminalen Eingriffs ist die kontrollierte Schädigung der Venenwände, die zu einem irreversiblen Gefäßverschluss führen sollen. Um dies mit Hilfe von Laserstrahlung zu erreichen, werden bereits erste klinische Erfahrungen gesammelt und die Wirksamkeit im Vergleich zur Radiofrequenzmethode untersucht. Nach wie vor fehlen allerdings systematische Daten auf experimenteller Basis, die die gesamte Bandbreite

der verfügbaren Laserleistungen und Wellenlängen sowie der unterschiedlichen Faserapplikatoren abdecken. Um diese zu erheben, haben wir ein Modell auf der Basis von Beinvenen frisch geschlachteter Rinder etabliert. Mit Hilfe dieses Modells ist es möglich, Akuteffekte abhängig von den unterschiedlichen applizierten Laserparametern zu untersuchen. Die Gefäßveränderungen wurden sowohl mikroskopisch als auch makroskopisch untersucht und quantifiziert. Mit Hilfe der OCT konnten frühe Veränderungen in der Gefäßwand bereits unmittelbar nach Laserbehandlung registriert und bewertet werden. Auf der Basis dieser experimentellen Daten wurde ein optimiertes Bestrahlungsprotokoll für die Laserbehandlung der Varikosis entwickelt.

Laserinduzierte Steinertrümmerung (unterstützt durch die Industrie)

Ziel dieses Projekts ist es, unterschiedliche Lasersysteme im Hinblick auf ihre destruktive Wirkung auf humane Nieren- und Speichelsteine im Vergleich zu Kunststeinen zu untersuchen. Im Mittelpunkt stand dabei die Bestimmung der Fragmentierungs- und Abtragate. Um die Prozesse der Steinertrümmerung besser physikalisch verstehen zu können, wurden die Stoßwellen, die die unterschiedlichen Lasersysteme induzierten genau untersucht. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Wellenlängen, die sowohl im IR- als auch sichtbaren Bereich lagen. Demnach konnten alle klinischen Steinproben bei IR emittierenden Lasern fragmentiert werden, wobei sichtbares Licht keine überzeugenden Ergebnisse lieferte. Zusätzlich bietet der IR-Laser den Vorteil, im geringen Leistungsbereich auch Gewebe koagulieren zu können. Ein und dasselbe Lasersystem ist damit für verschiedene Krankheitsformen einsetzbar.

„Betamod“ – Wundheilungsmodulation durch lokal platzierte Betastrahler (unterstützt durch die Bayerische Forschungsförderung)

Wundheilung ist ein komplexer Prozess, der auf der Proliferation von Fibroblasten beruht. Im klinisch ungünstigsten Fall führt dieser Prozess zu Strikturen und Stenosen. Treten sie in röhrenförmigen Organen wie Harnröhre, Gallengang oder Tränen gang auf, ist eine klinische Intervention unabwendbar. Ziel des Betamod-Projekts ist, radioaktive Implantate aus Betastrahlern zu entwickeln und ihre Auswirkungen auf den Wundheilungsprozess zu untersuchen. Dazu werden in einem ersten Schritt an Tiermodellen mit Hilfe von Laserstrahlung Strikturen künstlich erzeugt. Die sich anschließende Gewebeproliferation wird mit Hilfe der OCT-Methode kontrolliert und aufgezeichnet und mit der Histologie verglichen. Ebenso können OCT-Bilder Aussagen über das Inkrustierungsverhalten unterschiedlicher Katheter liefern. Mit Hilfe marktverfügbarer Mikroendoskopiesysteme kann zusätzlich die Vernarbung der Geweboberfläche ohne Probenentnahme histologisch bewertet werden.

3.1.3 Photodynamische Therapie (PDT)

Allgemeine Einführung

Weißlicht PDT des Harnblasenkarzinoms

Durch eine Reihe klinischer Studien, die in der Zulassung von Hexvix® (5-Aminolävulinsäure (5-ALA)-Hexylester) mündeten, konnte gezeigt werden, dass durch Fluoreszenzendoskopie, verglichen mit der konventionellen Weißlichtendoskopie, signifikant mehr Tumoren entdeckt werden. Die zugrunde liegende selektive Synthese von 5-ALA induzierten Protoporphyrin IX (PPIX) in Tumorzellen, gemeinsam mit dem bekannten phototoxischen Potential von PPIX, legen nahe, auch PDT in der Blase durchzuführen. Dazu wurde ein neues Konzept zur integralen Therapie entwickelt, das auf dem Einsatz einer leistungsstarken Weißlichtquelle

(entwickelt in Kooperation mit Karl Storz GmbH) und eines Bestrahlungskatheters (entwickelt mit der Firma Optimed) beruht. Eine Phase-I-Studie mit Hexvix®, gesponsert von der Firma Photocure in Norwegen, zeigte, dass die Weißlicht PDT klinisch sicher und einfach durchzuführen ist.

Interstitielle PDT in der Neurochirurgie

In Analogie zum Blasenkarzinom konnte auch für das Gliom eine selektive Anreicherung von 5-ALA induziertem PPIX nachgewiesen werden. Aufgrund der Blut-Hirn Schranke zeigte sie den bisher größten nachgewiesenen Kontrast von Tumor zu Normalgewebe von über 100:1. Auf der Basis dieser Daten wurde eine Phase-I/II-Studie zur stereotaktischen PDT von inoperablen Gliomrezidiven durchgeführt. Zur Bestrahlung wurden 3-6 Lichtleitfasern verwendet, in die Licht eines Diodenlasers eingekoppelt wurde. Die Platzierung der Fasern wurde mit Hilfe eines Softwareprogramms, das die optischen Gewebeparameter und deren Einfluss auf die Penetrationstiefe von Licht berücksichtigt, vorgenommen. Ebenso wurde dafür gesorgt, dass der Faserabstand ausreichend groß war, um keine thermischen Schäden im gesunden Gewebe zu induzieren. Zukünftig wird durch eine spezielle Faseranordnung die Dosimetrie noch mehr verfeinert werden. Die Photosensibilisatorkonzentration mit Tumolvolumen wird dazu quantitativ bestimmt und durch Monitoring des Ausbleichverhaltens der Abbruch der PDT zeitlich genau festgelegt. Im Vergleich zur bisherigen Vorgehensweise wird damit die Dosimetrie patientenspezifisch.

5-ALA-PDT frühkindlicher Tumoren (unterstützt durch die DFG)

Ziel dieses Projekts ist die Untersuchung des diagnostischen und therapeutischen Potentials der Photodynamik bei Neuroblastomen und Hepatoblastomen des Kleinkinds. Dazu sollen zunächst die Resektionsgrenzen nach 5-ALA-Diagnostik festgelegt werden und anschließend mit PDT behandelt werden. In einem ersten Schritt werden Zellkulturen und Sphäroide aus Tumorzellen und Fibroblasten benutzt, um die Akkumulation von 5-ALA und die Pharmakokinetik zu untersuchen sowie Dosisfindungsstudien in einem Tiermodell (Nacktratte) durchzuführen. In beiden Modellsystemen wurde die Tumorselektivität als auch die therapeutische Wirksamkeit nachgewiesen. In einem Nachfolgeprojekt sind klinische Studien geplant.

Optimierung der PDT von Akne (unterstützt durch die Bayerische Forschungstiftung)

Zur Behandlung der *Akne vulgaris* wird unter anderem die Bestrahlung der betroffenen Hautflächen mit blauem Licht durchgeführt. Die dabei herbeigeführte Zerstörung der *Akne-propionicus*-Bakterien durch einen photodynamischen Effekt hat sich als sehr effizient erwiesen. Um die Dosis von Licht dieser kurzen Wellenlänge in das Gewebe zu erhöhen, werden Substanzen eingesetzt, die das Gewebe kurzzeitig für Licht transparenter machen. Um diesen Effekt zu quantifizieren und damit eine gezielte Auswahl unter den verwendeten Substanzen zu treffen, müssen Methoden eingesetzt und entwickelt werden, die es erlauben, die Änderung der optischen Gewebeparameter mit hoher Genauigkeit zu bestimmen. Folgende Ansätze wurden dazu in diesem Projekt ausgewählt

- 1) Messung der Reflexion und Transmission von Licht an präparierten Gewebescheiben aus Schweinehaut,
- 2) Einsatz der optischen Kohärenztomographie,

3) Analyse der Lichttransmission durch einen halbdurchlässigen Spiegel während der Lichteinstrahlung und

4) Analyse der Lichtverteilung im Gewebe durch dünne eingestochene Fasern.

Damit soll ermöglicht werden, die geeignetste Formulierung für das optische *tissue clearing* zu finden.

Aufbau einer Photodynamik-Allianz Bayern

Die langjährige Forschung auf dem Gebiet der Photodynamik führte zu einer Expertise, die das Laser-Forschungslabor als Kooperationspartner für Institute und Firmen in Moskau attraktiv erscheinen ließen. Um als gleichwertiger Partner auftreten zu können, wird nun eine Allianz zwischen Firmen und Kliniken in Bayern gegründet, die auf einer strategischen Partnerschaft zwischen dem LFL und dem Forschungslabor der Dermatologischen Klinik der Universität Regensburg basiert. Die Durchführung dieses Verfahrens wird durch das Bayerische Wissenschaftsministerium durch die Finanzierung einer Wissenschaftlerstelle für zwei Jahre unterstützt.

Begleitend zur klinischen Zulassung der 5-ALA und den chemisch modifizierten Formen (5-ALA-Ester) wurden Bestrahlungsmodalitäten für unterschiedliche Organe entwickelt sowie Experimente zur Lichtdosimetrie durchgeführt.

Interdisziplinäre Aktivitäten

Im November 2008 wurde T.E.A.M (Akronym für Transluminale endoskopische Arbeitsgemeinschaft München) gegründet, um als interdisziplinäre Arbeitsgemeinschaft der LMU neue und innovative endoskopische Technologien und Methoden zu entwickeln und klinisch zu evaluieren. Bisher haben sich in T.E.A.M. 12 Kliniken und Abteilungen als Mitglieder formiert. (Sprecher: Prof. Schirra (Med. II), Dr. Hüttl (Chirurgie), Dr. Baumgartner (LFL)). Um die Effizienz der Arbeitsgemeinschaft zu erhöhen, wurden drei interdisziplinäre Arbeitsgruppen eingerichtet (Kontakt: Dr. Baumgartner, LFL)

- NOTES (Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery) NOS (Natural Orifice Surgery)

Ziel: Endoskopisches Operieren als Weiterentwicklung der Laparoskopie. Der Eingriff wird durch Magen, Vagina, Blase oder Darm durchgeführt und hinterlässt keine Narben (Sprecher: Dr. Dian, Gynäkologie)

- Optisch-Endoskopische Diagnostik

Ziel: Minimal invasive Gewebediagnostik in Echtzeit und hoher Empfindlichkeit. Neben der Fluoreszenzendoskopie werden Methoden wie OCT und Mikroendoskopie eingesetzt (Sprecher: Dr. Betz, HNO)

- Funktionelle Implantate

Ziel: Entwicklung von Implantaten mit kontrollierter Abgabe von Medikamenten oder Betastrahlung (Sprecher: Dr. Assmann, Beschleunigerlabor, Garching, Dr. Schäfer, Prof. Schirra, Med. II)

Website: <http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Kompetenznetzwerk-Endoskopie/>

3.2 Labor für Tumorimmunologie

Allgemeine Einführung

In der Tumorimmunologie wird versucht, die körpereigenen Abwehrmechanismen gegen Tumoren zu erforschen und neue Wege zu finden, die Zellen des Immunsystems oder Tumorzellen gezielt therapeutisch zu beeinflussen, um Krebserkrankungen zu bekämpfen. In den letzten Jahren wurde eine Reihe von neuen Immuntherapien erarbeitet und in der Klinik getestet. Hierzu gehören Therapien mit Peptid-, dendritische Zell- und Tumorzellvakzinen, adoptive Zelltherapien, sowie Antikörpertherapien. Einen neuen Aspekt der Tumorimmunologie stellt die immuntherapeutische Wirkung von photodynamischer Therapie (PDT) dar. Sie erlaubt die Tötung von Tumorzellen mit Hilfe von Photosensibilisatoren nach Lichtbestrahlung bei gleichzeitiger Stimulation einer Tumorimmunantwort. In den letzten Jahren wurden so genannte Tumor-initiiertende Zellen oder Tumorstammzellen, ursprünglich in Leukämien entdeckt, auch für eine Reihe von soliden Tumoren nachgewiesen. Sie machen nur einen sehr geringen Bruchteil der Tumormasse aus und zeigen in vielen Fällen eine ausgeprägte Unempfindlichkeit gegenüber Chemo- und Strahlentherapie. Sie werden daher für das Wiederauftreten des Tumors nach zunächst erfolgreich erscheinender Therapie verantwortlich gemacht und stellen aus diesem Grund interessante Zielzellen für immunologische und andere Therapien dar. Allerdings ist gegenwärtig noch völlig offen, ob sich, wegen ihrer großen Ähnlichkeit zu normalen Gewebestammzellen, antigene Unterschiede finden lassen, die einen selektiven immuntherapeutischen Angriff erlauben.

Die Erfahrungen mit auftretenden Resistenzen bei neuen Wirkstoffen (niedermolekulare Kinaseinhibitoren, sog. *small molecule drugs*), die gezielt aufgrund der Kenntnis molekularer Vorgänge bei der Krebsentstehung entwickelt wurden, zeigen, dass Krebs wahrscheinlich nur erfolgreich mit Kombinationstherapien bekämpft werden kann. Daher wird auch der Immuntherapie ein wichtiger Stellenwert zukommen, da die Resistenzmechanismen für immuntherapeutische und *Small-molecule-drug*-Therapieansätze sehr verschieden sein dürften und so eine Kreuzresistenz von Tumoren vermieden werden kann.

Die Forschungsaktivitäten im Labor für Tumorimmunologie betreffen hauptsächlich urologische Tumoren, insbesondere Nieren- und Prostataatumoren, aber seit kurzem auch Magenkarzinome. Für die Entwicklung und Verbesserung der Immuntherapie solider Tumoren forschen wir mit Schwerpunkt auf folgenden Gebieten mit einzeln aufgeführten Projekten:

3.2.1 Identifizierung und Validierung von antigenen Zielstrukturen und Prognosemarkern

Nachweis und Immunphänotypisierung von Immun- und Chemotherapie-resistenten Tumor(stamm)zellen im Magenkarzinom (Leiterin: Dr. Mariana Tölge; Mitarbeiter: Elena Vetter).

In diesem Projekt möchten wir Zielstrukturen auf selektionierten Tumorzellen mit Stammzeleigenschaften identifizieren, die idealerweise nicht in normalen Stammzellen exprimiert werden und sich zur Entwicklung einer Immuntherapie eignen. Zur Isolierung solcher Zellen verfolgen wir zwei Strategien: (1) Einmal wollen wir bekannte Tumorstammzellmarker zur Anreicherung von potentiellen Stammzellen des Magenkarzinoms verwenden und diese Zellen funktionell verifizieren. (2) Unser zweiter Ansatz zeichnet sich dadurch aus, dass nicht einzelne Oberflächenmarker, sondern vielmehr Chemo-

bzw. Immuntherapien *in vitro* und in einem von uns etablierten autochthonen murinen Magenkarzinommodell zur Selektion der Zellen eingesetzt werden. Somit werden wir unvoreingenommen diejenigen Zellen untersuchen können, die einer konventionellen Therapie nicht zugänglich sind. Bisher konnten wir auf humanen und von unserem transgenen Magentumormodell abgeleiteten Magenkarzinomzellen eine Reihe von potentiellen Tumorstammzellmarker nachweisen (CD133, ABCG2, Hoechstfarbstoff ausschleusende *side populations*) und erste vergleichende Expressionsprofile der angereicherten potentiellen Stammzellen erstellen. Gegenwärtig erfolgt die funktionelle Überprüfung der Marker-positiven Zellen durch Kultivierung unter sog. Stammzellbedingungen und der Mauszellen durch Transplantation in syngene Mäuse.

Identifizierung von Zielantigenen und Prognosemarker im klarzelligen Nierenzellkarzinom durch genomweite Expressionsanalysen (Leiter: Dr. med. Alexander Buchner; Mitarbeiter: Dr. rer. nat. Rainer Riesenberg; Oliver Spring; Martin Eder)

Ziel dieses Projekts ist es, mögliche Targets für Antikörper- und Zell-vermittelte Tumorummuntherapie aber auch andere Therapieansätze (z.B. *small molecule drugs*) sowie Prognosefaktoren zur Abschätzung des therapiewichtigen Rezidivrisikos von Patienten mit klarzelligen Nierenzellkarzinom (RCC) zu finden. Dazu wurden Tumoreareale aus mehr als 50 kryopräservierten RCC-Primärtumor- und Metastasengeweben mittels *laser capture microdissection* isoliert und ihre genomweiten Expressionsprofile erstellt. Derzeit werden Analysen der Expressionsdaten durchgeführt, die gemeinsame Veränderungen in Signaltransduktions- und Stoffwechselwegen der Tumorzellen in Metastasen aufzeigen. Mit Hilfe der Follow-up-Daten von 28 Patienten mit RCC-Metastasen konnte eine 3-Gensignatur identifiziert werden, die eine von bekannten Parametern unabhängige prognostische Stratifizierung erlaubt. HNF1- β /TCF2, eines dieser Gene, ist in Primärtumoren und Metastasen herunterreguliert. Seine funktionelle Bedeutung für das Nierenzellkarzinom wird durch Ausschaltung und konditionale Überexpression gegenwärtig in Nierenzellen untersucht. Analysen zur prognostischen Bedeutung und dem möglichen Wirkmechanismus von Indolamin-3,2-Dioxygenase in Tumorendothelzellen des RCC konnten durch Publikation in der Fachzeitschrift *Clinical Cancer Research* abgeschlossen werden (Riesenberg *et al.*, 2007).

Funktionelle Charakterisierung von CEACAM20, ein potentielles Zielantigen für das Magen- und Prostatakarzinom (Leiter: Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Zimmermann; Mitarbeiter: Carina Hoffmann; Michaela Paptistella; Andreas Eisenried)

CEACAM20, ein Mitglied der karzinoembryonalen Antigenfamilie (CEA), wird in Prostatakarzinomen und in gastrointestinalen Tumoren des Menschen exprimiert. CEACAM20 trägt ein so genanntes *immunoreceptor tyrosine-based activation motif* (ITAM). Überexpression von Proteinen mit ITAM-Motiven führt in Epithelzellen zu Transformation. Daher könnte CEACAM20 an der Tumorprogression in Tumoren epithelialen Ursprungs beteiligt sein. Um dies zu überprüfen, haben wir stabile induzierbare Transfektanten (*tet-on*-System) hergestellt, an denen wir gegenwärtig die Bedeutung von CEACAM20 für Zellproliferation, Zellbeweglichkeit sowie Apoptoseempfindlichkeit überprüfen. Falls sich zeigt, dass CEACAM20 den transformierten Phänotyp fördert, wollen wir ein Panel von in Zusammenarbeit mit GENOVAC erstellten monoklonalen Antikörpern testen, ob die Funktion von CEACAM20 therapeutisch günstig beeinflusst werden kann.

3.2.2 Neue immunologische Ansätze für die Tumorthherapie

Identifizierung, rekombinante Herstellung und Expression von Tumor-erkennenden Rezeptoren zytotoxischer T-Zellen („Designer-T-Zellen“) (Leiterin: Dr. rer. nat. Heike Pohla; Mitarbeiter: Heidi Herbig; Birgit Stadlbauer)

Eines der größten Hemmnisse für eine erfolgreiche Tumormimmuntherapie ist die Toleranz gegenüber Selbstantigenen, zu denen auch die meisten in Tumoren vorhandenen, nicht individualspezifischen Antigene zählen. Ein neuer Weg, dieses Problem zu umgehen, stellt die Klonierung von T-Zellrezeptoren (TCR) aus seltenen Tumorantigen-spezifischen zytotoxischen T-Zellen und ihre funktionelle Expression mittels retroviralem TCR-Gentransfer in einer Vielzahl von T-Zellen von Tumorkranken dar. Im Rahmen des Z1-Projekts des SFB-Transregio 36/1 (Leitung W. Uckert, Berlin; Zusammenarbeit mit B. Gänsbacher, TU München) werden TCR- α - und β -Ketten von Tumor-erkennenden zytotoxischen T-Zellen kloniert, rekombinant exprimiert und funktionell getestet. Bisher wurden in Kooperation TCR-Analysen von 20 T-Zellklonen durch PCR klassifiziert und sequenziert. In einem Teil der Fälle wurden die dazugehörigen T-Zellrezeptor-cDNAs für die α - und β -Ketten kloniert und für die retrovirale Expression an die Gruppe Uckert weitergegeben.

Antitumorimmunpotential von photodynamischer Therapie beim Prostatakarzinom und Glioblastom (Leiter: PD Dr. med. vet. Robert Kammerer; Mitarbeiter: Patrick Palluch; Konstantin Oboukhovskij, Dipl. Ing. Thomas Pongratz)

Die photodynamische Therapie (PDT) ist eine neuartige Modalität zur Behandlung von Krebs. Dabei werden Photosensibilisatoren oder metabolische Vorstufen, wie 5-ALA, verabreicht, die bevorzugt in Tumorzellen akkumulieren oder metabolisiert werden. Bestrahlung des Tumors mit Licht zerstört den Tumor hauptsächlich durch die Photosensibilisator-vermittelte Bildung von hochreaktivem Singulett-Sauerstoff. Es konnte gezeigt werden, dass PDT in Mäusen systemische Immunreaktionen auslösen kann, die vermutlich für das vollständige Verschwinden von Tumoren verantwortlich sind. Gelegentlich bei Gliompatienten nach PDT beobachtete vollständige Tumorregressionsen legen nahe, dass auch beim Menschen durch PDT systemische Anti-Tumorimmunreaktionen ausgelöst werden. Wir haben uns zum Ziel gesetzt, die 5-ALA-basierte PDT im Sinne einer maximal wirksamen Anti-Tumorimmunantwort zu optimieren. Als Modell verwenden wir humane und murine Prostatakarzinom- sowie humane Glioblastomzelllinien. Genomweite Transkriptionsanalysen zeigten, dass Tumorzellen nach sublethaler PDT, wie erwartet, sehr effizient so genannte *Early-response*-Transkriptionsfaktor- (*c-fos*, *Jun*), Hitzeschockprotein- (u.a. *HSP70*) und andere Stressgene aber auch Zytokin- und Chemokingene hochregulierten. Letztere Gene zählen sogar zu den am stärksten in subkutan wachsenden Mausprostata-tumoren nach PDT induzierten Genen. Gegenwärtig versuchen wir die nach sublethaler PDT angelockten Leukozytenpopulationen in Tumoren immunhistologisch zu charakterisieren und die nach PDT *in vitro* freigesetzten Chemokine in Granulozytenmigrationsassays zu testen.

Entwicklung einer Bordetella-pertussis-Adenylatzyklase (CyaA) basierten Subfragmentvakzine zur Behandlung von CEA-exprimierenden Karzinomen (Leiter: PD Dr. med. vet. Robert Kammerer; Mitarbeiter: Laura Szymanski)

Das karzinoembryonale Antigen (CEA) ist aufgrund seiner konstanten Expression in verschiedenen Adenokarzinomen ein sehr attraktives Zielantigen für Immuntherapien. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass durch eine aktive Immunisierung CEA-spezifische zytotoxische T-Zellen (CTL) induziert werden können, aller-

dings nur mit limitiertem klinischem Erfolg. Das Ziel dieses Projekts besteht darin, die Wirksamkeit einer neuen, auf der Verwendung eines modifizierten Adenylat-Zyklase-Toxins von *Bordetella pertussis* (CyaA) als Vehikel für CEA-Peptidfragmente als Immunogen (in Zusammenarbeit mit BT Pharma, Frankreich) zu untersuchen. Modifiziertes CyaA hat seine Toxizität, nicht jedoch seine Fähigkeit, exogene Epitope selektiv in Antigen präsentierende Zellen zu transferieren, verloren. Neben der quantitativen Bestimmung der durch die Vakzine induzierten CEA-spezifischen CTL soll auch die Fähigkeit dieser CTL, CEA-exprimierende Tumoren im Tiermodell abzustößen, untersucht werden. Da es sich beim CEA um ein tumorassoziiertes Antigen handelt, gegen das eine gewisse Toleranz besteht, muss jede effektive Vakzine in der Lage sein, diese Toleranz zu durchbrechen. Dies soll in einem CEA-transgenen Mausmodell untersucht werden. Bisher konnte gezeigt werden, dass die CyaA-CEA-Vakzine alleine eine relativ geringe gegen CEA-gerichtete zelluläre Immunantwort auslöst, die durch verschiedene Boosterschemata (z.B. durch Kombination mit genetischer Immunisierung mit CEA-Expressionsvektoren) gesteigert werden soll.

3.2.3 Charakterisierung von Mausmodellen für die Evaluierung von neuen Immuntherapien

Immuntherapie des Magenkarzinoms durch adoptiven Lymphozytentransfer in einem transgenen autochthonen Mausmodell (Leiter: PD Dr. med. vet. Robert Kammerer)

Auf der Basis eines transgenen Mausmodells haben wir in den letzten Jahren ein *In-vivo*-Tumormodell aufgebaut, das für die Überprüfung und Optimierung von Tumorimmuntherapien hervorragend geeignet ist. Das T-Antigen-Transgen, ein Onkogen des SV40-Virus, wird unter der Kontrolle des CEA-Promotors exprimiert (CEA424-Tag-tg-Mäuse) und führt in 100% der Tiere zu einer spontanen Tumorentwicklung im Pylorusbereich des Magens, die in einem Alter von 90-110 Tagen zum Tode führt. Neuere Untersuchungen in Zusammenarbeit mit der TUM zeigten, dass es sich bei den Tumoren um Magenkarzinome mit einer ausgeprägten neuroendokrinen Komponente handelt. Um grundsätzlich die Frage zu beantworten, ob die Progression des spontan entstehenden Magentumors in den transgenen Mäusen durch eine Tumormimmuntherapie beeinflusst werden kann, haben wir einen adoptiven Transfer von Milzzellen aus nicht immunisierten und gegen SV40-T-Ag-immunisierten C57BL/6-Mäusen auf CEA424-Tag-tg-Mäuse durchgeführt. Bei diesem Vorgehen wird die zentrale Toleranz gegenüber dem T-Antigen, die in den transgenen Mäusen besteht, umgangen. CEA424-Tag-tg-Mäuse zeigten nach Transfer von Milzzellen immunisierter C57BL/6-Mäuse eine signifikant längere Überlebenszeit im Vergleich zu Mäusen, die Milzzellen von nicht immunisierten Mäusen erhielten. Bei den länger überlebenden therapierten Mäusen konnten wir eine massive Lymphozyteninfiltration in den submukosalen Raum, in den der Tumor einwächst, beobachten. In Zusammenarbeit mit der Nuklearmedizinischen Klinik (Prof. Dr. med. Peter Bartenstein, Dr. Mona Mustafa) konnte als nichtinvasive quantitative Therapiekontrolle im Magentumormodell die ¹⁸F-Desoxyglukose-Positronemissionstomographie (FDG-PET) etabliert werden.

3.2.4 Entwicklung, Optimierung und klinische Testung von Tumorzellen

Allogene genetisch modifizierte Tumorzellen zur Therapie von Patienten mit metastasiertem Nierenzellkarzinom (Klinische Phase-I-Studie) bzw. mit hormonrefraktärem Prostatakarzinom (Klinische Phase-I/II-Studie) (Leiter: Dr. rer. nat.

Heike Pohla und Dr. med. Alexander Buchner; Mitarbeiter: Heidi Herbig; Birgit Stadlbauer)

Beide Studien wurden erfolgreich abgeschlossen. Die Ergebnisse der Studien, die eine hohe Verträglichkeit und zum Teil eine klinische Wirksamkeit nahe legen, wurden zusammen mit den Kooperationspartnern zur Publikation eingereicht. Weiterführende umfangreiche Immunmonitoring-Analysen sind fast abgeschlossen; ihre Publikation wird vorbereitet.

Einsatz einer Multipeptidvaccine zur Behandlung des metastasierten Nierenzellkarzinoms (Klinische Phase-I-Studie) (Leiterin: Dr. rer. nat. Heike Pohla; Mitarbeiter: Heidi Herbig; Birgit Stadlbauer)

IMA901 ist eine auf mehreren Tumor-assoziierten Peptiden basierende therapeutische Tumorstoffimpfung. Die Peptide wurden aufgrund ihrer Überexpression in primärem RCC-Gewebe ausgewählt. Sie besteht aus neun HLA-Klasse-I-bindenden Peptiden und einem HLA-Klasse-II-bindenden Peptid und ist in der Lage, CD8⁺ CTL und CD4⁺ Th-Zellen zu aktivieren. Entwickelt wurde diese Vaccine von der Firma Immatix Biotechnologies GmbH. Es handelt sich um eine multizentrische klinische Phase-I-Studie zur Behandlung von Patienten mit fortgeschrittenem RCC. Hauptziel dieser offenen, nicht-kontrollierten, einarmigen Studie war die Untersuchung der Verträglichkeit und Sicherheit dieser Vaccine zusammen mit intradermal injiziertem rekombinanten humanen GM-CSF als Adjuvanz. Wir haben für diese Studie 76 Patienten HLA-typisiert und 15 Patienten konnten alleine in München eingeschlossen werden. Dementsprechend wurden in unserer Arbeitsgruppe auch die meisten erfolgreichen PBMC-Aufarbeitungen (n = 111) durchgeführt.

Immunmonitoring zur Pilotstudie: Therapie von Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (Leiterin: Dr. rer. nat. Heike Pohla; Mitarbeiter: Birgit Stadlbauer)

Unter Leitung der Chirurgischen Klinik (Klinikum der Universität München) wurde eine klinische Pilot-Phase-I-Studie begonnen, in der Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) nach chirurgischer Resektion mit bestrahlten, autologen Tumorzellen vakzinieren werden. Am Ort der Vakzinierung wird über eine Minipumpe kontinuierliche GM-CSF appliziert. Zusätzlich erhalten die Patienten vor Vakzinierung und nach Lymphopenieinduktion durch Gabe von Cyclophosphamid/Fludarabine eine Reinfusion autologer Leukozyten (Leukaphereseprodukt). Präklinische und klinische Studien belegen, dass durch Erzeugung von Lymphopenie die Frequenz zirkulierender Tumor-spezifischer T-Lymphozyten deutlich gesteigert werden kann. ELISPOT-Analysen zum Immunmonitoring befinden sich derzeit in der Auswertung.

3.2.5 Weiterentwicklung von standardisierten Methoden zum *immune monitoring*

(Leiterin: Dr. rer. nat. Heike Pohla; Mitarbeiter: Birgit Stadlbauer)

Um die vielschichtigen Folgen verschiedenster therapeutischer Maßnahmen auf das Immunsystem zu erfassen, wird eine Reihe von diagnostischen Tests benötigt. Folgende Technologien wurden für das Immunmonitoring am LTI etabliert: ELISPOT zur Quantifizierung Antigen-spezifischer T-Zell-Antworten anhand von Zytokin- bzw. Granzym- oder Perforinproduktion, *Cytometric bead array* für die gleichzeitige Quantifizierung von über 20 verschiedenen Zytokinen und Chemokinen aus Serum, Zytokin-Sekretions-Assay bzw. Zytokin-*capture*-Assay, der eine Anreicherung z. B. CD4⁺ und CD8⁺ Tumor-spezifischer T-Zellen auch ohne Kenntnis des Antigens erlaubt, Multiparameter-Immunfluoreszenz am LSRII-FACS-Gerät, für eine kombinierte phä-

notypische und funktionelle Analyse verschiedener T-Zell-Subpopulationen, MHC/Peptid-Tetramer- bzw. Multimer-Bindungsanalysen sowie die quantitative T-Zell-Rezeptor (TCR)-Analyse mittels *Real-time*-RT-PCR. Außerdem haben wir an mehreren Ringversuchen des *Cancer Vaccine Consortiums* zur Standardisierung von ELISPOT-Tests für das Immunmonitoring erfolgreich teilgenommen.

3.3 Urologische Forschung

3.3.1 Verteilung und funktionelle Relevanz der Proteinkinase A (PKA) und Proteinkinase G (PKG) im unteren Harntrakt des Menschen

(Leiter: Dr. med. Christian Gratzke)

Die benigne Prostatahyperplasie (BPH) ist die häufigste Ursache von Miktionsstörungen des alternden Mannes. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, neue medikamentöse Therapieoptionen bei der Behandlung von Symptomen des unteren Harntraktes zu erschließen. Die Aktivierung der NO/cGMP-Kaskade bewirkt einen Anstieg der intrazellulären cGMP- bzw. cAMP-Konzentration; dies führt über Proteinkinase A (PKA)- bzw. Proteinkinase G (PKG)-vermittelte Mechanismen zu einer Verringerung der verfügbaren Ca^{2+} -Konzentration mit der Folge einer Relaxation glatter Muskulatur. Phosphodiesterasen (PDEs) kontrollieren die intrazellulären cAMP und cGMP-Spiegel. Die Verteilung und Funktion der PKA, PKG und PDE-Isoformen von Urethra, *Detrusor vesicae* sowie Prostata des Menschen sind weitgehend unbekannt. Tierexperimentelle Untersuchungen lassen auf einen Einfluss von zyklischen Nukleotid (cNMP)-bedingten Alterationen von Urethra, Detrusor und Prostata im Alter, bei erhöhtem infravesikalem Widerstand, Ischämie sowie Diabetes mellitus schließen. Phase I- und II- Studien geben Hinweise auf die Wirksamkeit von PDE1 und PDE5-Inhibitoren in der Verbesserung subjektiver Symptome. Unter Nutzung von molekularbiologischen sowie funktionellen Techniken sollen cNMP-, PKA-, PKG- und PDE-vermittelte Übertragungsmechanismen in Urethra, Detrusor und Prostata des Menschen untersucht werden. Dadurch soll das Verständnis der physiologischen Regulationsmechanismen des unteren Harntraktes sowie der Entstehung und Behandlung von BPH-bedingten Symptomen erhöht werden.

3.3.2 Urodynamische Effekte einer selektiven CB2-Rezeptor-Stimulation auf die normale Blasenfunktion und Detrusorüberaktivität bei wachen Ratten

(Leiter: Dr. med. Christian Gratzke)

Die Einnahme von Cannabisextrakten bessert Symptome der Dranginkontinenz bei Patienten mit multipler Sklerose. Der Mechanismus dafür ist unbekannt. Die Arbeitsgruppe zeigte kürzlich die Expression von CB1- und CB2-Rezeptoren in der Blase (Urothel und Detrusor) bei Affe und Mensch mittels *Western Blots* und Immunfluoreszenz. Doppelfärbungen zeigten die Kolo-kalisation von CB2-Rezeptoren mit sensiblen Nervenendigungen im Urothel und Suburothel. Die Expression von CB2-Rezeptoren war im Urothel signifikant höher als im Detrusor. Weder Anandamid, ein CB1/CB2 und TRPV1-Agonist, noch CP 55,940, ein hochpotenter CB1/CB2-Agonist, zeigten signifikante Effekte auf pharmakologisch oder elektrisch hervorgerufene Muskelkontraktionen der Blase *in vitro*. Während CP 55,940 *in vivo* das Miktionsintervall verlängerte sowie den Blasenbasisdruck und Schwellendruck erhöhte, zeigte Anandamid eine Erniedrigung der gleichen Parameter nach Lockerung der Urothelbarriere durch Vorbehandlung mit Protaminsulfat *in vivo*. Die beim Menschen beobachtete Symptombesserung der Dranginkontinenz durch Cannabisextrakte könnte daher auf eine

Stimulation von CB2-Rezeptoren an sensiblen Nervenendigungen im Urothel und Suburothel zurückzuführen sein. Das Ziel des Projekts ist es, die Effekte eines selektiven CB2-Rezeptor-Agonisten (JWH-133) auf die normale Blasenfunktion in wachen Ratten und auf Ratten mit Detrusorüberaktivität, hervorgerufen durch infravesikaler Obstruktion, zu analysieren. Die Effekte von JWH-133 auf isoliertes Blasengewebe werden *in vitro* mit der Organbadtechnik getestet. Die Expression von CB1- und CB2 Rezeptoren sollen vor und nach täglicher Behandlung von JWH-133 auf die Blase der Ratten untersucht werden. Die bei Affe und Mensch gefundene Kolokalisation von CB2-Rezeptor und sensiblen Nervenendigungen werden mit immunhistochemischen Färbungen verifiziert.

3.3.3 Untersuchung der Wirkung von Pharmakotherapie und *In-vivo*-Gentherapie zur selektiven Beeinflussung von Rho-Kinase auf die erektile Funktion in einem Cavernosusnerv-Schädigungsmodell der Ratte

(Leiter: Dr. med. Christian Gratzke)

Erektile Dysfunktion (ED) ist eine Komplikation nach radikaler Prostatektomie bei Prostatakarzinom. Auch bei nervschonender OP-Technik führt die Schädigung der cavernösen Nerven mit ihren parasympathischen Fasern zu temporärer oder permanenter ED bei 26-100% der Patienten. Reduzierte Erektionsepisoden führen zu reduzierter Oxygenierung und cavernöser Fibrose. Verschiedene Therapien wurden im Tierversuch und bei Patienten getestet, unter anderem tägliche Anwendung von Phosphodiesterase-5-Inhibitoren. Es besteht jedoch Bedarf an weiteren Therapie-Strategien, um erektile Funktion und damit die Lebensqualität zu verbessern. Die erektile Funktion wird durch Relaxation und Kontraktion der glatten Muskelfasern im *Corpus cavernosum* kontrolliert. Transmitter wie Noradrenalin, Endothelin-1 und Angiotensin interagieren mit *G-protein coupled receptors* (GPCR), um Kontraktionen des erektilen Gewebes zu bewirken. GPCRs aktivieren RhoA/Rho-Kinase (ROCK)-Signale zur Calcium-unabhängigen Regulation der Kontraktion glatter Muskelzellen. Es gibt zunehmend Hinweise auf die Beteiligung von ROCKs in der Pathogenese von ED und kardiovaskulären Erkrankungen. Eine verbesserte erektile Funktion durch ROCK-Inhibition bei ED verschiedener Genese konnte bereits demonstriert werden. Derzeit verfügbare ROCK-Inhibitoren unterscheiden jedoch nicht zwischen ROCK1- und ROCK2-Isoformen und inhibieren Proteinkinase A und C. Erste Daten aus einem Tiermodell (post-Prostatektomie bei der Ratte) zeigen eine erhöhte ROCK2-Expression. Das aktuelle Projekt untersucht die langfristigen Auswirkungen eines neuen selektiven ROCK2-Inhibitors, H1152, in Vergleich zu Gentransfer-Techniken, auf die Erektion in einem Rattenmodell. Dabei werden sowohl funktionelle Tests als auch die molekularbiologische Charakterisierung von RhoA/ROCK und NO/cGMP-Aktivität im erektilen Gewebe durchgeführt.

3.3.4 Angiogenese in urologischen Tumoren

Nachweis and Quantifizierung von potentiellen Blasentumormarkern im Urin

(Leiterin: Dr. med. Derya Tilki)

Molekulare Bildgebung zur Darstellung von Tumorblutgefäßen im Prostatakarzinom

(Leiterin: Dr. med. Derya Tilki)

Die Rolle endothelialer und hematopoietischer Vorläuferzellen bei der Vaskularisierung urologischer Tumoren

(Leiterin: Dr. med. Derya Tilki)

Diese Forschungsprojekte dienen u.a. der Identifikation neuer Urinmarker beim Urothelkarzinom, was einen deutlichen Benefit für die Patienten hinsichtlich der Anpassung der Tumornachsorge bedeutet, denn bisher sind invasive Nachsorgemethoden wie Zystoskopie und Spülzytologie die Standardverfahren. Auch zur Prognosebeurteilung können neue Marker einen wertvollen Beitrag leisten. Ein viel versprechender Marker konnte bereits mittels ELISA und *Western Blot* im Urin von Patienten mit Harnblasenkarzinom identifiziert werden, die Publikation hierzu ist eingereicht. Weiterer Inhalt der Projekte ist die Identifizierung der detaillierten Abläufe bei der Tumorneoangiogenese bei urologischen Tumoren incl. präziser Visualisierung der Tumorgefäße. Diese Daten bilden die Grundlage zur Entwicklung neuer Therapieansätze bei urologischen Tumoren.

3.3.5 Optische Kohärenztomographie (OCT) - ein minimal invasives Verfahren in der Diagnose von Harnblasenkarzinomen

(Leiter: Dr. med. Alexander Karl, Dr. rer. hum. biol. Herbert Stepp)

Die optische Kohärenztomographie (OCT) als minimal invasives Verfahren findet in verschiedenen medizinischen Bereichen Anwendung. Wir präsentieren die ersten Erfahrungen und Ergebnisse einer monozentrischen Studie im Bereich der Harnblase. Bei 52 Patienten wurden 166 Läsionen mittels OCT beurteilt und histologisch korreliert (TUR-B/Biopsie). 32 Patienten wiesen ein TCC in der Vorgeschichte auf (Nachsorge), bei weiteren 20 Patienten wurde der V.a. eine Neoplasie geäußert. Zum Einsatz kam ein OCT-System (Niris®, Imalux®, Cleveland), welches Licht nahe dem Infrarotbereich verwendet. Die verwendete OCT Sonde hat einen Aussendurchmesser von 2,7 mm, welche mit Hilfe eines regulären Zystoskopschaftes in der Blase positioniert wurde. Die OCT wurde zur Beurteilung von Läsionen, welche in der Weisslichtendoskopie als suspekt eingestuft wurden, eingesetzt. Diese Läsionen wurden mit der OCT gescannt und dann biopsiert. Von insgesamt 166 OCT Scans konnten 102 (61%) im Rahmen der Videoanalyse mit der Lokalisation der Biopsie korreliert werden. Nur Läsionen, welche sicher zuzuordnen waren, wurden in die spätere Analyse eingeschlossen. 88 Läsionen waren benigne. Alle malignen Läsionen konnten mit diesem Verfahren als solche erkannt werden. Die OCT zeigt in dieser Analyse eine Sensitivität von 100% bei einer Spezifität von 65% für maligne Läsionen. Die OCT als ein minimal invasives Verfahren wies eine hohe Sensitivität in der Detektion maligner Läsionen auf. Mangels Markierungsmethoden bei der OCT konnten lediglich 61% der gescannten Läsionen der Biopsiestelle sicher zugeordnet werden. Für die Zukunft ist ein Verfahren zur Markierung bzw. die Entwicklung eines Schaftes zum schnellen Wechsel zwischen OCT und Biopsie wünschenswert.

3.3.6 Prädiktion von Lymphknotenmetastasen anhand von Genexpressionsanalysen von Prostatastanzbiopsien bei Prostatakarzinom

(Kooperation Dr. med. Alexander Karl und Prof. Waldman (UCSF))

Das Ziel dieses Projekts ist die Detektion eines Genexpressionsmusters zur prätherapeutischen Detektion von pelvinen Lymphknotenmetastasen. Der Bedarf an neuen Markern ergibt sich aus der relativ geringen Sensitivität und Spezifität der radiologischen Diagnoseverfahren und der nicht ausreichenden Prädiktionssicherheit von klinischen Nomogrammen. Mögliche Anwendungsgebiete sind die Anpassung oder Extension der Lymphadenektomie, die Anpassung und ggf. Vergrößerung des Strahlenfeldes bei Radiotherapie sowie ggf. die Indikationsstellung zu neoadjuvanter oder primärer hormonablativer Therapie. Für die Studie wurden zunächst 38 *High-risk*-Patienten mit radikaler Prostatovesikulektomie und Lymphadenektomie ausge-

wählt, jeweils 19 davon mit bzw. ohne Lymphknotenbefall. Die *Follow-up*-Zeit war mindestens zwei Jahre. Aus dem formalinfixiertem OP-Präparat wurde Tumorge- webe mittels manueller Mikrodissektion isoliert und die Expression von 48 Genen (ermittelt in vorangegangenen Studien der UCSF) mittels quantitativer RT-PCR gemessen. Acht dieser 48 Gene zeigten eine signifikante Korrelation mit dem Vorlie- gen von Lymphknoten-Metastasen. Drei dieser acht Gene (ANGPT2, EVI1, ZNF217) waren signifikante und unabhängige Prädiktoren für das Vorhandensein von Lymph- knotenmetastasen beim Prostatakarzinom (*likelihood ratio test*: $p = 0.0001, 0.089, 0.046$). Die Überprüfung dieser Ergebnisse an einer größeren Serie von Gewebepro- ben ist in Vorbereitung.

3.3.7 Rolle der TRPA1- und TRPV1-Ionenkanäle im Urogenitaltrakt

Morphologie und Funktion von TRPA1- und TRPV1-Ionenkanälen im humanen Ure- ter

Physiologischer Mechanismus der durch TRPA1- und TRPV1-Ionenkanäle induzier- ten Relaxation der humanen Urethra und deren mögliche funktionelle Abhängigkeit von Canabinoid-Rezeptoren

Physiologischer Mechanismus der durch TRPA1- und TRPV1-Ionenkanäle induzier- ten Relaxation der humanen Prostata und deren mögliche Abhängigkeit von Canabi- noid-Rezeptoren

(Leiter: Philipp Weinhold / Dr. med. Christian Gratzke)

Das Ziel der Forschungsprojekte zu den TRPA1 und TRPV1-Ionenkanälen war nachzuweisen, ob TRPA1- und TRPV1-Ionen Kanäle im Urogenitaltrakt existieren, was für eine Funktion diese haben, wie deren genaue physiologische Mechanismen ablaufen und in welchem möglichen Zusammenhang sie mit anderen Rezeptortypen stehen. Für den Nachweis und die genaue Verteilung der TRP-Ionenkanäle wurden *Western Blots* sowie immunohistochemische Verfahren durchgeführt. Um die genaue Funktion und deren physiologische Mechanismen bestimmen zu können, wurden Daten aus Experimenten mit einem Organbad erhoben. Dies erlaubte, die Wirkung der TRP-Agonisten direkt an der postsynaptischen Membran des verwendeten Gewebes zu testen, zum anderen konnte mittels Elektro-Feld-Stimulation (EFS), also neuronaler Stimulation, der Effekt der TRP-Agonisten präsynaptisch abgeklärt wer- den.

4. Drittmittel, 2007/2008 laufende und neu eingeworben Mittel

#	Drittmittelgeber (Aktenzeichen)	Empfänger	Laufzeit	Betrag T Euro
Labor für Tumorimmunologie				
1	BMBF (DLR 01 GE 9624/1)	Pohla	04-07	51
2	Programm Molekulare Medizin (40/2005)	Kammerer, Zimmermann	06-07	15
3	Programm Molekulare Medizin (41/2005)	Kammerer, Zimmermann	06-07	15
4	BioChancePLUS BMBF (0313822A)	Zimmermann	06-09	35
5	SFB-TransRegio (TR 36 Z1)	Pohla	06-09	228
6	Krebshilfe (107320)	Baumgartner, Zimmermann	06-09	193
7	Programm Molekulare Medizin (16/2007)	Kammerer, Zimmermann	08-09	15
8	Programm Molekulare Medizin (17/2007)	Kammerer, Zimmermann	08-09	15
9	Programm Molekulare Medizin (18/2007)	Kammerer, Zimmermann	08-09	15
10	DAAD-Postdoc-Stipendium (A/07/73021/Ref. 414)	Tölge-Corrales Urrutia	08-09	12
<i>Summe</i>				594
Laser- Forschungslabor				
11	Krebshilfe (107320)	Baumgartner, Zimmermann	06-09	s. o.
12	BMBF (13N9105)	Stepp	07-09	199
13	DFG (TI/609/1-1)	Till, Stepp	06-09	100
14	BMBF (Unterauftrag von Fa. Toptika)	Stepp	08-09	180
15	Exzellenzcluster (MAP D.1.6)	Sroka	07-09	160
16	Bayer. Forschungsstiftung (AZ-712-06)	Sroka	07-09	180
17	BMBF (Unterauftrag von Fa. Biolitec)	Beyer	06-09	100
18	Bayer. Forschungsstiftung (AZ-785-07)	Beyer, Baumgartner	08-10	132
<i>Summe</i>				1.051
Forschung Urologische Klinik				
19	DFG, GR 3333/1-1 (Forschungsstipendium)	Gratzke	07	15
20	Industrie (Coloplast)	Gratzke	07-08	129
21	Münchener Medizinische Wochenschrift, MMW	Karl	07-08	8
22	Curt-Bohnewald-Fond	Karl	07-08	8
23	Friedrich-Baur-Stiftung	Tilki		8
24	Else-Kröner Fresenius Stiftung	Tilki		151
25	Bayer. Forschungsstiftung	Weidlich	07-08	70
26	MSD Forschungsstipendium	Gratzke, Stief, Andersson, Hedlund	08-09	10
27	Deutsche Gesellschaft für Andrologie, Forschungsstipendium	Gratzke, Stief, Andersson, Bivalacqua, Hedlund	08-09	10
28	European Society for Sexual Medicine (ESSM)	Gratzke, Stief, Bivalacqua, Hedlund	08-09	50
29	FöFoLe, Med. Fakultät der LMU München	Gratzke	08-09	36
30	Münchener Medizinische Wochenschrift, MMW	Schlenker	08-09	13
31	DFG	Tilki		34
32	Friedrich-Baur-Stiftung	Tilki		9
33	Rudolf-Hohenfellner-Stiftung	Tilki		14
<i>Summe</i>				599
Gesamt				2.244

5. Ernennungen, Preise und Diplom- und Promotionsarbeiten

Dr. rer. nat. Reinhold Baumgartner:

- Wahl zum Sprecher der Transluminale und Endoskopischen Arbeitsgemeinschaft München (T.E.A.M.)

Dr. hum. biol. Ronald Sroka:

- Wahl zum Tagungspräsidenten für die Ausrichtung der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Lasermedizin in München 2009

Prof. Dr. med. Wolfgang Zimmermann:

- Wahl zum leitenden Geschäftsführer des LIFE-Zentrums

Rosemarie Krupar, cand. med.:

- Semesterstipendium (USA) des DAAD

Abgeschlossene Promotionen und Diplomarbeiten

Labor für Tumormimmunologie

Dr. med. Stefanie Meyle (2007, magna cum laude)

Dr. med. Oliver Spring (2007, magna cum laude)

Dr. med. Michael Osthoff (2008, magna cum laude)

Dipl. Biol. Konstantin Oboukhovskij (2008, Note: 1,3)

Laser-Forschungslabor

Dipl. Ing. Robert Mayer

Dipl. Ing. Sabine Linden

Dipl. Phys. Michaela Püls

Dipl. Phys. Melanie Hohberg

Dipl. Phys. Romana Pauli

Dr. med. Verena Steinbrecher

Dr. med. Christine Burgmeier

Dr. hum. biol. Margarita Noll (magna cum laude)

Urologische Forschung

Im Berichtszeitraum wurden keine experimentellen Doktorarbeiten abgeschlossen.

6. Publikationen

Originalarbeiten

Laser-Forschungslabor

2007

1. Bader M, **Hecht V**, Hocaoglu Y, Stähler M, Reich O, Stief C, **Sroka R**. Technische Aspekte zur intraoperativen Bewertung des Behandlungsfortschritts bei der Laserlithotripsie. **Urologe A** 46, 1019-1026 (2007), **IF 0,4**

2. **Beck TJ**, Kreth FW, **Beyer W**, Mehrkens JH, **Obermeier A**, **Stepp H**, Stummer W, **Baumgartner R**. Interstitial photodynamic therapy of nonresectable malignant glioma recurrences using 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX. *Lasers Surg Med* 39, 386-393 (2007), **IF 2,1**
3. **Beck TJ**, Burkanas M, Bagdonas S, Krivickiene Z, **Beyer W**, **Sroka R**, **Baumgartner R**, Rotomskis R. Two-photon photodynamic therapy of C6 cells by means of 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX. *J Photochem Photobiol B* 87, 174-182 (2007), **IF 2,1**
4. Hautmann H, Pichler JP, **Stepp H**, **Baumgartner R**, Gamarra F, Huber RM. In-vivo kinetics of inhaled 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in bronchial tissue. *Respir Res* 8, 33 (2007), **IF 2,3**
5. Hillemanns P, Reiff J, **Stepp H**, Soergel P. Lymph node metastasis detection of ovarian cancer by porphyrin fluorescence photodetection: case report. *Lasers Med Sci* 22, 131-135 (2007), **IF 1,2**
6. Hungerhuber E, **Stepp H**, Kriegmair M, Stief C, Hofstetter A, Hartmann A, Knüchel R, Karl A, Tritschler S, Zaak D. Seven years' experience with 5-aminolevulinic acid in detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 69, 260-264 (2007), **IF 2,1**
7. Meissner OA, Schmedt CG, Hunger K, Hetterich H, **Sroka R**, Rieber J, Babaryka G, Steckmeier BM, Reiser M, Siebert U, Müller-Lisse U. Endovascular optical coherence tomography ex vivo: venous wall anatomy and tissue alterations after endovenous therapy. *Eur Radiol* 17, 2384-2393 (2007), **IF 2,6**
8. Schmedt CG, Meissner OA, Hunger K, Babaryka G, Ruppert V, Sadeghi-Azandaryani M, Steckmeier BM, **Sroka R**. Evaluation of endovenous radiofrequency ablation and laser therapy with endoluminal optical coherence tomography in an ex vivo model. *J Vasc Surg* 45, 1047-1058 (2007), **IF 3,3**
9. Schmedt CG, **Sroka R**. Reply to letter to the editor. Investigation on radiofrequency and laser (980 nm) effects after endoluminal treatment of saphenous vein insufficiency in an ex-vivo model. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 34, 250 (2007), **IF 2,2**
10. Seitz M, **Sroka R**, Gratzke C, Schlenker B, **Steinbrecher V**, Khoder W, Tilki D, Bachmann A, Stief C, Reich O. The diode laser: a novel side-firing approach for laser vaporisation of the human prostate - immediate efficacy and 1-year follow-up. *Eur Urol* 52, 1717-1722 (2007), **IF 4,9**
11. Seitz M, **Ackermann A**, Gratzke C, Schlenker B, Ruzsat R, Bachmann A, Stief C, Reich O, **Sroka R**. Der Diodenlaser: Ex-vivo Untersuchungen zu den Vaporisations- und Koagulationseigenschaften. *Urologe A* 46, 1242-1247 (2007), **IF 0,4**
12. Sostak P, Theil D, **Stepp H**, Roeber S, Kretschmar HA, Straube A. Detection of bone marrow-derived cells expressing a neural phenotype in the human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 66, 110-116 (2007), **IF 4,4**
13. **Sroka R**, Janda P, Killian T, Vaz F, Betz CS, Leunig A. Comparison of long term results after Ho:YAG and diode laser treatment of hyperplastic inferior nasal turbinates. *Lasers Surg Med* 39, 324-331 (2007), **IF 2,1**
14. **Stepp H**, **Beck T**, **Beyer W**, **Pfaller C**, Schuppler M, **Sroka R**, **Baumgartner R**. Measurement of fluorophore concentration in turbid media by a single optical fiber. *Medical Laser Application* 22, 23-34 (2007)
15. **Stepp H**, **Beck T**, **Beyer W**, **Pfaller C**, Schuppler M, **Sroka R**, **Baumgartner R**. Measurement of fluorophore concentration in scattering media by a single optical fiber. *Medical Laser Application* 22, 23-34 (2007)
16. **Stepp H**, **Beck T**, **Pongratz T**, Meinel T, Kreth FW, Tonn JC, Stummer W. ALA and malignant glioma: fluorescence-guided resection and photodynamic treatment. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 26, 157-164 (2007), **IF 1,1**
17. Stummer W, **Beck T**, **Beyer W**, Mehrkens JH, **Obermeier A**, Etminan N, **Stepp H**, Tonn JC, **Baumgartner R**, Herms J, Kreth FW. Long-sustaining response in a patient with non-resectable, distant recurrence of glioblastoma multiforme treated by interstitial photodynamic therapy using 5-ALA: case report. *J Neurooncol* (2007), **IF 1,8**

18. Tritschler S, Tauber S, **Meier R, Stepp H**, Karl A, Zaak D, Stief CG. Die Fluoreszenzzytologie. *Urologe A* 46, 1121-1123 (2007), **IF 0,4**
19. Wang XL, Wang HW, Huang Z, **Stepp H, Baumgartner R**, Dannecker C, Hillemanns P. Study of Protoporphyrin IX (PpIX) Pharmacokinetics After Topical Application of 5-Aminolevulinic Acid in Urethral Condylomata Acuminata. *Photochem Photobiol* 83, 1069-1073 (2007), **IF 2,1**
20. Weidlich P, Adam C, **Sroka R**, Lanzl I, Assmann W, Stief CG. Low-dose-rate-Brachytherapie durch lokal integrierte Betastrahler nach Urethrotomia interna - Ein Pilotprojekt im Tierversuch. *Urologe A* 46, 1231-1235 (2007), **IF 0,4**
21. Zaak D, Karl A, **Stepp H**, Tritschler S, Tilki D, Burger M, Knüchel R, Stief C. Die Fluoreszenzzytoskopie beim Harnblasenkarzinom. *Urologe A* 46, 1519-1527 (2007), **IF 0,4**
22. **Zelenkov P, Baumgartner R**, Bise K, **Heide M, Meier R**, Stocker S, **Sroka R**, Goldbrunner R, Stummer W. Acute morphological sequelae of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid in the C6 spheroid model. *J Neurocol* 82, 49-60 (2007), **IF 1,8**

2008

1. Bader MJ, **Hecht V**, Hocaoglu Y, Tilki D, Staehler M, Wondrazek F, Reich O, Stief CG, **Sroka R**. In-vitro comparison of laser-induced lithotripsy on artificial stones by means of different laser systems. *Medical Laser Application* 22, 220-226 (2008)
2. **Beck TJ, Burgmeier C, Blagova R**, Steckmeier B, **Hecht V**, Schmedt CG, **Sroka R**. Thermal-induced effects on vein tissue: A basic ex-vivo investigation for EVLT. *Medical Laser Application* 22, 238-241 (2008)
3. **Blagova R, Burgmeier C**, Steckmeier S, Steckmeier B, Barbaryka G, **Beck TJ, Hecht V**, Schmedt CG, **Sroka R**. Ex-vivo investigations on endoluminal laser therapy of varicosis - An optimization process. *Medical Laser Application* 22, 242-247 (2008)
4. Hillemanns P, Wang XL, Hertel H, Andikyan V, Hillemanns M, **Stepp H**, Soergel P. Pharmacokinetics and selectivity of porphyrin synthesis after topical application of hexaminolevulinic acid in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 198, 300.e1-7 (2008), **IF 2,9**
5. Ruszat R, Wyler S, Rieken M, Seitz M, Reich O, **Sroka R**, Gasser T, Bachmann A. Prospective single-centre comparison of 120 watt photo selective vaporization of the prostate and 200 watt high-intensive diode laser ablation of the prostate. *European Urology Supplements* 7, 529 (2008), **IF 2,5**
6. Seitz M, **Sroka R**. Re: Gunnar Wendt-Nordahl, Stephanie Huckele, Patrick Honeck, et al. 980-nm Diode Laser: A novel laser technology for vaporization of the prostate. *Eur Urol* 2007;52 : 1723-8. *European Urology* 54, 697 (2008), **IF 5,6**
7. Seitz M, Soljanik I, Stanislaus P, **Sroka R**, Stief C: Explosive gas formation during transurethral resection of the prostate (TURP). *European Journal of Medical Research* 13, 399-400 (2008), **IF 0,8**
8. Seitz M, Reich O, Karl A, Bachmann A, Gratzke C, **Steinbrecher V**, Stanislaus P, Stief C, **Sroka R**. Diode laser treatment of human prostates - Clinical 6-month experience. *Medical Laser Application* 22, 232-237 (2008)
9. Siedek V, Betz CS, **Hecht V, Blagova R**, Vogeser M, Zengel P, Berghaus A, Leunig A, **Sroka R**. Laser induced fragmentation of salivary stones: An in vitro comparison of two different, clinically approved laser systems. *Lasers in Surgery and Medicine* 40, 257-264 (2008), **IF 2,7**
10. **Sroka R**, Ackermann A, Tilki D, Reich O, **Steinbrecher V**, Hofstetter A, Stief CG, Seitz M. In-vitro comparison of the tissue vaporisation capabilities of different lasers. *Medical Laser Application* 22, 227-231 (2008)
11. Stummer W, **Beck T, Beyer W**, Mehrkens JH, **Obermeier A**, Etminan N, **Stepp H**, Tonn JC, **Baumgartner R**, Herms J, Kreth FW. Long-sustaining response in a patient with non-resectable, distant recurrence of glioblastoma multiforme treated by interstitial photodynamic therapy using 5-ALA: case report. *Journal of Neuro-Oncology* 87, 103-109 (2008), **IF 1,9**

12. Zaak D, **Sroka R**, Khoder W, Adam C, Tritschler S, Karl A, Reich O, Knüchel R, **Baumgartner R**, Tilki D, Popken G, Hofstetter A, Stief CG. Photodynamic diagnosis of prostate cancer using 5-aminolevulinic acid - First clinical experiences. *Urology* 72, 345-348 (2008), **IF 2,1**

Labor für Tumorimmunologie

2007

1. Brämwig KH, Knittelfelder R, Gruber S, Untersmayr E, Riemer AB, Szalai K, Horvat R, **Kammerer R**, **Zimmermann W**, Zielinski CC, Scheiner O, Jensen-Jarolim E (2007). Immunization with mimotopes prevents growth of carcinoembryonic antigen-positive tumors in BALB/c mice. *Clin Cancer Res* 13, 6501-6508. **IF 6,2**
2. **Riesenberg R**, Weiler C, **Spring O**, **Eder M**, **Buchner A**, **Popp T**, **Castro M**, **Kammerer R**, Takikawa O, Hatz RA, Stief CG, Hofstetter A, **Zimmermann W** (2007). Overexpression of indoleamine-2,3-dioxygenase in tumor endothelial cells correlates with long term survival of renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 13, 6993-7002. **IF 6,2**
3. **Kammerer R**, **Popp T**, Haertle S, Singer BB and **Zimmermann W** (2007). Species-specific evolution of ITAM-containing CEACAM1-related immune receptors in the dog. *BMC Evol Biol* 7: 196. **IF 4,5**
4. Zobywalski A, **Javorovic M**, Frankenberger B, **Pohla H**, Kremmer E, Bigalke I, Schendel DJ (2007). Generation of clinical grade dendritic cells with capacity to produce biologically active IL-12p70. *J Transl Med* 5:18. **IF 3,3**
5. Rüttinger D, van den Engel NK, Winter H, Schlemmer M, **Pohla H**, Grütznert S, Wagner B, Schendel DJ, Fox BA, Jauch KW, Hatz RA (2007). Adjuvant therapeutic vaccination in patients with non-small cell lung cancer made lymphopenic and reconstituted with autologous PBMC: first clinical experience and evidence of an immune response. *J Transl Med* 5, 43-56. **IF 3,3**
6. Hofmann T, **Buchner A**, Hofstetter A, Stief CG, Oberneder R, **Riesenberg R**. (2007). Prognostic relevance of disseminated tumour cells in bone marrow of patients with transitional cell carcinoma. *Eur J Cancer* 43, 2678-84. **IF 4,2**
7. Brill TH, Kubler HR, Randenborgh HV, Fend F, **Pohla H**, Breul J, Hartung R, Paul R, Schendel DJ, (2007). Gänsbacher B. Allogeneic retrovirally transduced, IL-2- and IFN-gamma-secreting cancer cell vaccine in patients with hormone refractory prostate cancer-a phase I clinical trial. *J Gene Med* 9, 547-560. **IF 3,9**
8. **Buchner A**, **Castro M**, **Hennig A**, **Popp T**, Assmann G, Hofstetter A, Stief C, **Zimmermann W**. (2007). [Transcriptome analyses in renal cell carcinoma: Combination of laser microdissection and microarrays.] *Urologe A* 46, 1170-1175. **IF 0,4**

2008

1. Ebelt K, Babaryka G, Figel AM, **Pohla H**, **Buchner A**, Stief CG, Eisenmenger W, Kirchner T, Schendel DJ, Noessner E. (2008). Dominance of CD4(+) lymphocytic infiltrates with disturbed effector cell characteristics in the tumor microenvironment of prostate carcinoma. *Prostate* 68, 1-10. **IF 3,7**
2. Kutscher S, Dembek CJ, Allgayer S, Heltai S, **Stadlbauer B**, Biswas P, Nozza S, Tambussi G, Bogner JR, Stellbrink HJ, Goebel FD, Lusso P, Tinelli M, Poli G, Erfle V, **Pohla H**, Malnati M, Cosma A (2008). The intracellular detection of MIP-1beta enhances the capacity to detect IFN-gamma mediated HIV-1-specific CD8 T-cell responses in a flow cytometric setting providing a sensitive alternative to the ELISPOT. *AIDS Res Ther* 5:22. [Epub ahead of print] **IF 2,0**
3. Janetzki S, Panageas KS, Ben-Porat L, Boyer J, Britten CM, Clay TM, Kalos M, Maecker HT, Romero P, Yuan J, Kast WM, Hoos A; Elispot Proficiency Panel of the CVC Immune Assay Working Group. **Collaborators**: Anderson R, Bercovici N, Boyer J, Britten C, Brockstedt D, Caterini J, Cerundolo V, Chen W, Clay T, Darnell R, Dubey S, Ermak T, Gnjatic S, Harrop R, Healey D, Houghton A, Jaeger E, Janssen W, Jones L, Kast WM, Kaufman J, Knuth A, Konur A, Kos F, Kunle O, Manson K, Matijevic M, Miyahara Y, Musselli C, Olson W, Panicali D, Parida S, Parker J, **Pohla H**, Pride M, Rappaport R, Reay P, Rivoltini L, Romero P, Schiltz P, Shiku H, Slingluff C, Smith J, Speiser D, Swanlund D, Vajdy M, Van der Aa A, Weber J, Woelfel T,

- Wolchok J (2008). Results and harmonization guidelines from two large-scale international Elispot proficiency panels conducted by the Cancer Vaccine Consortium (CVC/SVI). **Cancer Immunol Immunother** 57, 303-315. **IF 3,7**
4. Ha CT, Waterhouse R, Warren J, **Zimmermann W**, Dveksler GS (2008). N-glycosylation is required for binding of murine pregnancy-specific glycoproteins 17 and 19 to the receptor CD9. **Am. J. Reprod. Immunol.** 59, 251-258. **IF 2,1**
 5. Slevogt H, Zabel S, Opitz B, Hocke A, Julia Eitel J, Dje N´Guessan P, Lucka L, Riesbeck K, **Zimmermann W**, Zweigner J, Temmesfeld-Wollbrueck B, Suttrop N and Singer BB. (2008). CEACAM1 inhibits Toll-like receptor 2-triggered antibacterial responses of human pulmonary epithelial cells. **Nat Immunol** 9, 1270-1278. **IF 26,2**
 6. May F, Matiasek K, Vroemen M, Caspers C, Mrva T, Arndt C, Schlenker B, Gais P, Brill T, **Buchner A**, Blesch A, Hartung R, Stief C, Gänsbacher B, Weidner N (2008). GDNF-transduced Schwann cell grafts enhance regeneration of erectile nerves. **Eur Urol** 54, 1179-1187. **IF 5,6**

Urologische Forschung

2007

1. Andersson KE, **Gratzke C**. Pharmacology of alpha1-adrenoceptor antagonists in the lower urinary tract and central nervous system. **Nat Clin Pract Urol** 4, 368-378 (2007)
2. Andersson KE, Uckert S, **Stief C**, Hedlund P. Phosphodiesterases (PDEs) and PDE inhibitors for treatment of LUTS. **Neurourol Urodyn** 26, 928-933 (2007)
3. **Bader M**, Hecht V, **Hocaoglu Y**, **Stahler M**, **Reich O**, **Stief C**, Sroka R. [Technical aspects of intraoperative assessment of treatment progress in laser lithotripsy.]. **Urologe A** 46, 1019-1026 (2007)
4. **Bastian PJ**, Palapattu GS, Yegnasubramanian S, Lin X, Rogers CG, Mangold LA, Trock B, Eisenberger M, Partin AW, Nelson WG. Prognostic value of preoperative serum cell-free circulating DNA in men with prostate cancer undergoing radical prostatectomy. **Clin Cancer Res** 13, 5361-5367 (2007)
5. **Becker AJ**. Editorial comment on: Correction of congenital penile curvature using modified tunical plication with absorbable sutures: the long-term outcome and patient satisfaction. **Eur Urol** 52, 267 (2007)
6. **Buchner A**, Castro M, Hennig A, Popp T, Assmann G, Hofstetter A, **Stief C**, Zimmermann W. [Transcriptome analyses in renal cell carcinoma : Combination of laser microdissection and microarrays.]. **Urologe A** 46, 1170-1175 (2007)
7. Burger M, **Zaak D**, **Stief CG**, Filbeck T, Wieland WF, Roessler W, Denzinger S. Photodynamic diagnostics and noninvasive bladder cancer: is it cost-effective in long-term application? A Germany-based cost analysis. **Eur Urol** 52, 142-147 (2007)
8. Clevert DA, Bensler S, Stickel M, Horng A, Strautz T, Flach P, Jung EM, Reiser M, **Stahler M**. Contrast enhanced ultrasound eases interpretation of an unclear renal tumor in addition to CT, MRI and histological findings--a case report in a young patient. **Clin Hemorheol Microcirc** 36, 313-318 (2007)
9. Denzinger S, Hartmann A, Hofstaedter F, Knuechel R, Wild PJ, Zaak D, **Stief C**, Wieland WF, Stoehr R, Burger M. [Interdisciplinary networking for clinical and molecular questions in non-muscle invasive urothelial carcinoma of the bladder]. **Urologe A** 46, 1126-1128 (2007)
10. Ergün S, **Tilki D**, Hohn HP, Gehling U, Kilic N. Potential implications of vascular wall resident endothelial progenitor cells. **Thromb Haemost** 98, 930-939 (2007)
11. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, **Siebels M**, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM, TARGET Study Group. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. **N Engl J Med** 356, 125-134 (2007)
12. **Gratzke C**. Editorial comment on: effects of the M3 receptor selective muscarinic antagonist darifenacin on bladder afferent activity of the rat pelvic nerve. **Eur Urol** 52, 848 (2007)

13. **Gratzke C**, Hudelmaier M, Hitzl W, Glaser C, Eckstein F. Knee cartilage morphologic characteristics and muscle status of professional weight lifters and sprinters: a magnetic resonance imaging study. *Am J Sports Med* 35, 1346-1353 (2007)
14. **Gratzke C, Reich O**. Editorial comment on: diagnostic accuracy of noninvasive tests to evaluate bladder outlet obstruction in men: detrusor wall thickness, uroflowmetry, postvoid residual urine, and prostate volume. *Eur Urol* 52, 835 (2007)
15. **Gratzke C, Reich O**. Editorial comment on: Holmium laser enucleation of the prostate (HoLEP): long-term results, reoperation rate, and possible impact of the learning curve. *Eur Urol* 52, 1471-1472 (2007)
16. **Gratzke C, Schlenker B, Seitz M, Karl A**, Hermanek P, Lack N, **Stief CG, Reich O**. Complications and early postoperative outcome after open prostatectomy in patients with benign prostatic enlargement: results of a prospective multicenter study. *J Urol* 177, 1419-1422 (2007)
17. **Gratzke C, Schlenker B, Weidlich P, Seitz M, Reich O, Stief CG**. [Benign prostatic hyperplasia: background and diagnosis]. *MMW Fortschr Med* 149, 25-28 (2007)
18. **Gratzke C**, Uckert S, Kedia G, **Reich O, Schlenker B, Seitz M, Becker AJ, Stief CG**. In vitro effects of PDE5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil on isolated human ureteral smooth muscle: a basic research approach. *Urol Res* 35, 49-54 (2007)
19. **Gratzke C**, Uckert S, **Reich O, Schlenker B, Tilki D, Seitz M, Stief CG**. [PDE5 inhibitors : A new option in the treatment of ureteral colic?]. *Urologe A* 46, 1219-1223 (2007)
20. **Hofmann T, Buchner A**, Hofstetter A, **Stief CG**, Oberneder R, Riesenberger R. Prognostic relevance of disseminated tumour cells in bone marrow of patients with transitional cell carcinoma. *Eur J Cancer* 43, 2678-2684 (2007)
21. **Hungerhuber E**, Stepp H, Kriegmair M, **Stief C**, Hofstetter A, Hartmann A, Knuechel R, **Karl A, Tritschler S**, Zaak D. Seven years' experience with 5-aminolevulinic acid in detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 69, 260-264 (2007)
22. Karagülle O, Smorag U, Candir F, Gundermann G, Jonas U, **Becker AJ**, Gehrke A, Gutenbrunner C. Clinical study on the effect of mineral waters containing bicarbonate on the risk of urinary stone formation in patients with multiple episodes of CaOx-urolithiasis. *World J Urol* 25, 315-323 (2007)
23. **Karl A, Seitz M, Tritschler S**, Clevert D, **Gratzke C, Stief C**. [Scrotal masses]. *MMW Fortschr Med* 149, 44-48 (2007)
24. Kernt M, **Staeher M**, Christian S, Kampik A, Neubauer AS. Resolution of macular oedema in occult choroidal neovascularization under oral Sorafenib((R)) treatment. *Acta Ophthalmol Scand* (2007)
25. Kilic N, Oliveira-Ferrer L, Neshat-Vahid S, Irmak S, Obst-Pernberg K, Wurmbach JH, Loges S, Kilic E, Weil J, Lauke H, **Tilki D**, Singer BB, Ergün S. Lymphatic reprogramming of microvascular endothelial cells by CEA-related cell adhesion molecule-1 via interaction with VEGFR-3 and Prox1. *Blood* 110, 4223-4233 (2007)
26. **May F, Stief C**. [Female urinary incontinence. The weak spot is the pelvic floor]. *MMW Fortschr Med* 149, 26-27 (2007)
27. **Mayer ME, Bauer RM**, Schorsch I, Sonnenberg JE, **Stief CG**, Uckert S. Female sexual dysfunction: what's new? *Curr Opin Obstet Gynecol* 19, 536-540 (2007)
28. Meindl T, Copenrath E, Degenhart C, **Müller-Lisse UL**, Reiser MF, Müller-Lisse UG. MDCT urography: experience with a bi-phasic excretory phase examination protocol. *Eur Radiol* 17, 2512-2518 (2007)
29. **Reich O**. Editorial comment on: A prospective randomized study comparing monopolar and bipolar transurethral resection of prostate using transurethral resection in saline (TURIS) system. *Eur Urol* 52, 523-524 (2007)
30. **Reich O**. [Green light for unhampered urine flow. Benign prostatic hyperplasia: laser instead of excision?]. *MMW Fortschr Med* 149, 7 (2007)
31. Riesenberger R, Weiler C, Spring O, Eder M, **Buchner A**, Popp T, Castro M, Kammerer R, Takikawa O, Hatz RA, **Stief CG**, Hofstetter A, Zimmermann W. Expression of Indoleamine 2,3-

- Dioxygenase in Tumor Endothelial Cells Correlates with Long-term Survival of Patients with Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 13, 6993-7002 (2007)
32. Ruzsat R, Wyler S, Forster T, **Reich O, Stief CG**, Gasser TC, Sulser T, Bachmann A. Safety and effectiveness of photoselective vaporization of the prostate (PVP) in patients on ongoing oral anticoagulation. *Eur Urol* 51, 1031-1038 (2007)
 33. Rübber H, Goepel M, Hautmann R, Hohenfellner M, **Stief C**. [100 years of congresses in German language urology]. *Urologe A* 46, 1011-1014 (2007)
 34. Scher B, **Seitz M**, Albinger W, Tiling R, Scherr M, Becker HC, Souvatzoglu M, Gildehaus FJ, Wester HJ, Dresel S. Value of 11C-choline PET and PET/CT in patients with suspected prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 34, 45-53 (2007)
 35. **Schlenker B, Gratzke C, Weidlich P, Seitz M, Reich O, Stief CG**. [Benign prostatic hyperplasia: medical therapy]. *MMW Fortschr Med* 149, 29-31 (2007)
 36. **Schorsch I, Soljanik I, Stanislaus P, Bauer R, Mayer M, Hocaoglu Y, Becker A, May F**. [Causes and diagnosis of female urinary incontinence]. *MMW Fortschr Med* 149, 27-29 (2007)
 37. **Seitz M**, Ackermann A, **Gratzke C, Schlenker B**, Ruzsat R, Bachmann A, **Stief C, Reich O**, Sroka R. [Diode laser : Ex vivo studies on vaporization and coagulation characteristics.]. *Urologe A* 46, 1242-1247 (2007)
 38. **Seitz M, Gratzke C, Schlenker B, Karl A, Stanislaus P, Walther S, Stief CG, Reich O**. [Benign prostatic hyperplasia: surgical treatment]. *MMW Fortschr Med* 149, 34-36 (2007)
 39. **Seitz M**, Scher B, Scherr M, **Tilki D, Schlenker B, Gratzke C**, Schipf A, **Stanislaus P**, Müller-Lisse U, **Reich O, Stief C**. [Imaging procedures to diagnose prostate cancer]. *Urologe A* 46, W1435-W1446 (2007)
 40. **Seitz M, Schlenker B, Gratzke C, Weidlich P, Stief CG, Reich O**. [Standards for the punch biopsy of the prostate]. *MMW Fortschr Med* 149, 35-36 (2007)
 41. **Seitz M**, Sroka R, **Gratzke C, Schlenker B**, Steinbrecher V, **Khoder W, Tilki D**, Bachmann A, **Stief C, Reich O**. The diode laser: a novel side-firing approach for laser vaporisation of the human prostate-immediate efficacy and 1-year follow-up. *Eur Urol* 52, 1717-1722 (2007)
 42. **Seitz M, Stief C**. [Don't wait until the stream dries up--recommend BPH screening]. *MMW Fortschr Med* 149, 24-25 (2007)
 43. **Soljanik I, Schorsch I, Stanislaus P, Bauer R, Mayer M, Hocaoglu Y, Becker A, May F**. [Conservative treatment of urinary incontinence]. *MMW Fortschr Med* 149, 30-31 (2007)
 44. **Stahler M**. Editorial Comment on: Associations of single nucleotide polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene with the characteristics and prognosis of renal cell carcinomas. *Eur Urol* 52, 1155 (2007)
 45. **Stahler M, Haseke N, Schoeppler G, Stadler T, Gratzke C, Stief CG**. Modern Therapeutic Approaches in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *EAU-EBU Update Series* 5, 26-37 (2007)
 46. **Stanislaus P, Soljanik I, Schorsch I, Bauer R, Mayer M, Hocaoglu Y, Becker A, May F**. [Surgical treatment of female urinary incontinence]. *MMW Fortschr Med* 149, 33-34 (2007)
 47. Stepp H, **Waidelich R**. [Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in urology.]. *Aktuelle Urol* 38, 455-462 (2007)
 48. **Stief C**. PDE5 inhibitors: is there more to come besides erectile dysfunction? *Eur Urol* 52, 943-944 (2007)
 49. **Tilki D**, Kilic E, Tauber R, Pfeiffer D, **Stief CG**, Tauber R, Ergün S. The complex structure of the smooth muscle layer of spermatic veins and its potential role in the development of varicocele testis. *Eur Urol* 51, 1402-1409 (2007)
 50. **Tilki D**, Kilic N, Sevinc S, Zywiets F, Stief CG, Ergun S. Zone-specific remodeling of tumor blood vessels affects tumor growth. *Cancer* 110, 2347-2362 (2007)
 51. **Tilki D**, Oliveira-Ferrer L, Kilic N, Friedrich MG, **Stief CG**, Ergün S. [One molecule, two faces : Epithelial loss of cell adhesion molecule CEACAM1 activates angiogenesis in bladder and prostate cancer.]. *Urologe A* 46, 1128-1134 (2007)

52. **Tilki D**, Singer B, **Seitz M**, **Stief CG**, Ergün S. [Molecular imaging of tumor blood vessels.]. *Urologe A* 46, 1266-1271 (2007)
53. **Tilki D**, **Stief CG**, Ergün S. Reply to Ayhan Verit's Letter to the Editor re: Derya Tilki, Ergin Kilic, Robert Tauber, Dietrich Pfeiffer, Christian G. Stief, Roland Tauber and Sleyman Ergün. The Complex Structure of the Smooth Muscle Layer of Spermatic Veins and its Potential Role in. *Eur Urol* 52, 1536-1537 (2007)
54. **Tritschler S**, Scharf S, **Karl A**, **Tilki D**, Knuechel R, Hartmann A, **Stief CG**, **Zaak D**. Validation of the Diagnostic Value of NMP22® BladderChek® Test as a Marker for Bladder Cancer by Photodynamic Diagnosis. *Eur Urol* 51, 403-408 (2007)
55. **Tritschler S**, Tauber S, Meier R, Stepp H, **Karl A**, **Zaak D**, **Stief CG**. [Fluorescence cytology : Improvement of urinary cytology.]. *Urologe A* 46, 1121-1123 (2007)
56. **Trottmann M**, **Becker AJ**, **Stadler T**, Straub J, **Soljanik I**, **Schlenker B**, **Stief CG**. Semen quality in men with malignant diseases before and after therapy and the role of cryopreservation. *Eur Urol* 52, 355-367 (2007)
57. **Trottmann M**, **Stahler M**, **Stadler T**, Giessing M, Dreikorn K, **Stief CG**. [17th Annual Congress of the Kidney Transplantation Professional Circle of the German Society of Urology]. *Urologe A* 46, 170-171 (2007)
58. **Trottmann M**, **Tritschler S**, Graser A, **Strittmatter F**, **Becker A**, **Haseke N**, **Stief CG**. [Injuries of the renal pelvis and ureter: Diagnosis and management]. *Urologe A* 46, 927-936 (2007c)
59. Uckert S, Bazrafshan S, Scheller F, **Mayer ME**, Jonas U, **Stief CG**. Functional responses of isolated human seminal vesicle tissue to selective phosphodiesterase inhibitors. *Urology* 70, 185-189 (2007)
60. Uckert S, Mayer ME, **Stief CG**, Jonas U. The future of the oral pharmacotherapy of male erectile dysfunction: things to come. *Expert Opin Emerg Drugs* 12, 219-228 (2007)
61. Uckert S, Oelke M, Albrecht K, **Stief C**, Jonas U, Hedlund P. Immunohistochemical description of cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human labia minora. *J Sex Med* 4, 602-608 (2007c)
62. Waldkirch ES, Uckert S, Langnäse K, Richter K, Jonas U, Wolf G, Andersson KE, **Stief CG**, Hedlund P. Immunohistochemical distribution of cyclic GMP-dependent protein kinase-1 in human prostate tissue. *Eur Urol* 52, 495-501 (2007)
63. **Weidlich P**, **Adam C**, Sroka R, Lanzl I, Assmann W, Stief C. [Low-dose rate brachytherapy with locally integrated beta emitters after internal urethrotomy : A pilot project using an animal model.]. *Urologe A* 46, 1231-1235 (2007)
64. **Zaak D**, **Karl A**, Stepp H, **Tritschler S**, **Tilki D**, Burger M, Knuechel R, **Stief C**. [Fluorescence cystoscopy at bladder cancer : Present trials.]. *Urologe A* 46, 1519-1527 (2007)

2008

1. **Bader MJ**, Sroka R, **Gratzke C**, **Seitz M**, **Weidlich P**, **Stahler M**, **Becker A**, **Stief CG**, **Reich O**. Laser Therapy for Upper Urinary Tract Transitional Cell Carcinoma: Indications and Management. *Eur Urol* (2008)
2. **Bader MJ**, **Stief CG**, **Becker AJ**. [Acute renal colic--pathogenesis, diagnostic and therapy]. *MMW Fortschr Med* 150, 27-29 (2008)
3. **Bastian PJ**. Editorial comment on: Degarelix: a novel gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor blocker-results from a 1-yr, multicentre, randomised, phase 2 dose-finding study in the treatment of prostate cancer. *Eur Urol* 54, 814 (2008)
4. **Bastian PJ**. Editorial Comment on: Nerves at the Ventral Prostatic Capsule Contribute to Erectile Function: Initial Electrophysiological Assessment in Humans. *Eur Urol* (2008)
5. **Bastian PJ**. Editorial comment on: placebo-controlled dose-ranging phase 2 study of subcutaneously administered LHRH antagonist cetorelix in patients with symptomatic benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 54, 179-180 (2008)

6. **Bastian PJ.** Editorial Comment on: Risk-Adjusted Hazard Rates of Biochemical Recurrence for Prostate Cancer Patients after Radical Prostatectomy. *Eur Urol* (2008)
7. **Bastian PJ.** Words of wisdom. Re: Limited tissue penetration of taxanes: a mechanism for resistance in solid tumors. *Eur Urol* 53, 666-667 (2008)
8. **Bastian PJ.** Words of wisdom. Re: Prognostic risk stratification and clinical outcomes in patients undergoing surgical treatment for renal cell carcinoma with vascular tumor thrombus. *Eur Urol* 53, 450-451 (2008)
9. **Bastian PJ,** Ellinger J, von Rücker A, Müller SC, Yegnasubramanian S, Nelson WG, **Stief CG.** [CpG island hypermethylation of the DNA. Perspectives of a molecular biomarker for prostate cancer]. *Urologe A* 47, 1205-1207 (2008)
10. **Bastian PJ,** Lörken M, Euler H, Lümmer G, Bastian HP. [Results of the evaluation of 85337 urinary stone analyses]. *Aktuelle Urol* 39, 298-304 (2008)
11. **Bastian PJ,** Palapattu GS, Yegnasubramanian S, Rogers CG, Lin X, Mangold LA, Trock B, Eisenberger MA, Partin AW, Nelson WG. CpG island hypermethylation profile in the serum of men with clinically localized and hormone refractory metastatic prostate cancer. *J Urol* 179, 529-534 (2008)
12. **Bauer RM, Bastian PJ, Gozzi C, Stief CG.** Postprostatectomy Incontinence: All About Diagnosis and Management. *Eur Urol* (2008)
13. **Bauer RM, Stadler TC, Bader MJ, Bastian PJ, Gozzi C, Stief CG.** [25 years of progress in urology: breakthrough for sexual dysfunction, testicular cancer and incontinence]. *MMW Fortschr Med* 150, 144-145 (2008)
14. **Becker AJ,** Uckert S, **Stief CG.** [The basics of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibition in urology]. *Urologe A* 47, 1582-1587 (2008)
15. Burger M, Denzinger S, Wieland WF, **Stief CG,** Hartmann A, **Zaak D.** Does the current World Health Organization classification predict the outcome better in patients with noninvasive bladder cancer of early or regular onset? *BJU Int* 102, 194-197 (2008)
16. Chatzigeorgiou K, Burges A, **Becker AJ,** Friese K. Intramural bladder leiomyoma appearing as a pelvic tumor: a case report. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 137, 254-255 (2008)
17. Clevert DA, Minaifar N, Weckbach S, Jung EM, Stock K, Reiser M, **Stahler M.** Multislice computed tomography versus contrast-enhanced ultrasound in evaluation of complex cystic renal masses using the Bosniak classification system. *Clin Hemorheol Microcirc* 39, 171-178 (2008)
18. Ebel K, Babaryka G, Figel AM, Pohla H, **Buchner A, Stief CG,** Eisenmenger W, Kirchner T, Schendel DJ, Noessner E. Dominance of CD4(+) lymphocytic infiltrates with disturbed effector cell characteristics in the tumor microenvironment of prostate carcinoma. *Prostate* 68, 1-10 (2008)
19. Eisen T, Oudard S, Szczylik C, Gravis G, Heinzer H, Middleton R, Cihon F, Anderson S, Shah S, Bukowski R, Escudier B, **TARGET Study Group (incl. Stahler M).** Sorafenib for older patients with renal cell carcinoma: subset analysis from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 100, 1454-1463 (2008)
20. Ellinger J, von Rücker A, Wernert N, Büttner R, **Bastian PJ,** Müller SC. [Prostate cancer research. Biomarkers as promising options for optimized diagnosis and treatment]. *Urologe A* 47, 1190-1192 (2008)
21. Ergün S, Hohn HP, Kilic N, Singer BB, **Tilki D.** Endothelial and hematopoietic progenitor cells (EPCs and HPCs): hand in hand fate determining partners for cancer cells. *Stem Cell Rev* 4, 169-177 (2008)
22. Euler H, Bastian HP, **Bastian PJ,** Lümmer G. [Qualitative and quantitative analysis of urolithiasis with the Rietveld method (x-ray diffraction)]. *Urologe A* 47, 1472-1480 (2008)
23. Faul P, **Schlenker B, Gratzke C, Stief CG, Reich O,** Gustaw Hahn R. Clinical and technical aspects of bipolar transurethral prostate resection. *Scan J Urol Nephrol* 1-6 (2008)
24. Gaisa NT, **Tilki D,** Losen I, Dahl E, Stoehr R, **Stief CG,** Knüchel R. Insights from a whole cystectomy specimen - association of primary small cell carcinoma of the bladder with transitional cell carcinoma in situ. *Hum Pathol* 39, 1258-1262 (2008)

25. **Gozzi C, Bauer RM, Becker AJ, Schorsch I, May F, Rehder P, Stief CG, Bastian PJ.** [Functional retrourethral sling. A change of paradigm in the treatment of stress incontinence after radical prostatectomy]. *Urologe A* 47, 1224-1228 (2008)
26. **Gozzi C, Becker AJ, Bauer R, Bastian PJ.** Early results of transobturator sling suspension for male urinary incontinence following radical prostatectomy. *Eur Urol* 54, 960-961 (2008)
27. **Gozzi C, Tritschler S, Bastian PJ, Stief CG.** Urethroplasty for stricture disease-what is success beyond the voiding function? *Eur Urol* 54, 257-258 (2008)
28. **Gozzi C, Tritschler S, Bastian PJ, Stief CG.** [Management of urethral strictures]. *Urologe A* 47, 1615-1622 (2008)
29. **Gozzi C, Tritschler S, Bastian PJ, Stief CG.** [Urethral strictures]. *MMW Fortschr Med* 150, 37-39 (2008)
30. Graser A, Becker CR, Reiser MF, **Stief C, Staehler M.** [Volumetry of metastases from renal cell carcinoma : Comparison with the RECIST criteria]. *Radiologe* 48, 850-856 (2008)
31. Graser A, Johnson TR, **Bader M, Staehler M, Haseke N,** Nikolaou K, Reiser MF, **Stief CG,** Becker CR. Dual energy CT characterization of urinary calculi: initial in vitro and clinical experience. *Invest Radiol* 43, 112-119 (2008)
32. **Gratzke C.** Daily use of PDE5-inhibitors: the road to happiness? *Eur Urol* 54, 28-30 (2008)
33. **Gratzke C,** Hedlund P. Editorial Comment on: Suburothelial Myofibroblasts in the Human Overactive Bladder and the Effect of Botulinum Neurotoxin Type A Treatment. *Eur Urol* (2008)
34. **Gratzke C,** Jarajapu YP, Christ GJ, Kaplan JR, Williams JK, Andersson KE, Badlani G. Effects of long-term dietary soy treatment on female urethral morphology and function in ovariectomized nonhuman primates. *J Urol* 180, 2247-2253 (2008)
35. **Gratzke C, Reich O.** Editorial comment on: Is botulinum neurotoxin type A (BoNT-A) a novel therapy for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic enlargement? A review of the literature. *Eur Urol* 54, 776-777 (2008)
36. **Gratzke C, Seitz M.** Editorial Comment on: Characteristics of Spontaneous Activity in the Bladder Trigone. *Eur Urol* (2008)
37. **Gratzke C,** Streng T, Waldkirch E, **Sigl K, Stief C,** Andersson KE, Hedlund P. Transient Receptor Potential A1 (TRPA1) Activity in the Human Urethra-Evidence for a Functional Role for TRPA1 in the Outflow Region. *Eur Urol* (2008)
38. Holdenrieder S, Burges A, **Reich O,** Spelsberg FW, Stieber P. DNA integrity in plasma and serum of patients with malignant and benign diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1137162-170 (2008)
39. Hungerhuber E, Bach E, Hartmann A, Frimberger D, **Stief C, Zaak D.** Adenocarcinoma of the bladder following nephrogenic adenoma: a case report. *J Med Case Reports* 2164 (2008)
40. Jocham D, Stepp H, **Waidelich R.** Photodynamic diagnosis in urology: state-of-the-art. *Eur Urol* 53, 1138-1148 (2008)
41. **Karl A.** Editorial comment on: molecular lymph node staging in bladder urothelial carcinoma: impact on survival. *Eur Urol* 54, 1372 (2008)
42. **Karl A,** Stepp H, Willmann E, **Tilki D,** Zaak D, Knüchel R, **Stief C.** Optical coherence tomography (OCT): ready for the diagnosis of a nephrogenic adenoma of the urinary bladder? *J Endourol* 22(, 2429-2432 (2008)
43. **Karl A, Zaak D, Stief CG.** Incorporating fluorescence cystoscopy for the diagnosis of bladder cancer into clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 5, 424-425 (2008)
44. **Karl A,** Zaak D, **Tilki D,** Hungerhuber E, **Staehler M,** Denzinger S, **Stanislaus P, Tritschler S, Strittmatter F, Stief C,** Burger M. [Diagnosis of urothelial carcinoma]. *Urologe A* 47, 357-367 (2008)
45. Kernt M, **Staehler M, Stief C,** Kampik A, Neubauer AS. Resolution of macular oedema in occult choroidal neovascularization under oral Sorafenib treatment. *Acta Ophthalmol* 86, 456-458 (2008)

46. **Khoder WY, Becker AJ, Stief CG.** Editorial Comment on: Laparoscopic Augmentation Ileocystoplasty: Results and Outcome. *Eur Urol* (2008)
47. Lu B, Poirier C, Gaspar T, **Gratzke C**, Harrison W, Busija D, Matzuk MM, Andersson KE, Overbeek PA, Bishop CE. A mutation in the inner mitochondrial membrane peptidase 2-like gene (Immp2l) affects mitochondrial function and impairs fertility in mice. *Biol Reprod* 78, 601-610 (2008)
48. **May F, Bauer R.** Editorial Comment on: Cizolirtine Citrate, an Effective Treatment for Symptomatic Patients with Urinary Incontinence Secondary to Overactive Bladder: A Pilot Dose-Finding Study. *Eur Urol* (2008)
49. **May F**, Matiasek K, Vroemen M, Caspers C, Mrva T, Arndt C, **Schlenker B**, Gais P, Brill T, **Buchner A**, Blesch A, Hartung R, **Stief C**, Gansbacher B, Weidner N. GDNF-transduced Schwann cell grafts enhance regeneration of erectile nerves. *Eur Urol* 54, 1179-1187 (2008)
50. Montorsi F, Brock G, Lee J, Shapiro J, Van Poppel H, Graefen M, **Stief C**. Effect of nightly versus on-demand vardenafil on recovery of erectile function in men following bilateral nerve-sparing radical prostatectomy. *Eur Urol* 54, 924-931 (2008)
51. Morakkabati-Spitz N, Gieseke J, Willinek WA, **Bastian PJ**, Schmitz B, Träber F, Jaeger U, Mueller SC, Schild HH. Dynamic pelvic floor MR imaging at 3 T in patients with clinical signs of urinary incontinence-preliminary results. *Eur Radiol* 18, 2620-2627 (2008)
52. Mueller-Lisse UG, Scher B, Scherr MK, **Seitz M**. Functional imaging in penile cancer: PET/computed tomography, MRI, and sentinel lymph node biopsy. *Curr Opin Urol* 18, 105-110 (2008)
53. Muschter R, **Reich O**. [Surgical and instrumental management of benign prostatic hyperplasia.]. *Urologe A* 47, 155-165 (2008)
54. **Reich O**. Editorial comment on: Functional outcome following photoselective vaporisation of the prostate (PVP): urodynamic findings within 12 months follow-up. *Eur Urol* 54, 908 (2008)
55. **Reich O**. Editorial comment on: transurethral photoselective vaporization versus transvesical open enucleation for prostatic adenomas >80ml: 12-mo results of a randomized prospective study. *Eur Urol* 54, 436-437 (2008)
56. **Reich O, Gratzke C**, Bachmann A, **Seitz M, Schlenker B**, Hermanek P, Lack N, **Stief CG**, Urology Section of the Bavarian Working Group for Quality Assurance. Morbidity, mortality and early outcome of transurethral resection of the prostate: a prospective multicenter evaluation of 10,654 patients. *J Urol* 180, 246-249 (2008)
57. **Reich O, Seitz M**. [Laser vaporization of the prostate: all as it should be?]. *Urologe A* 47, 461-466 (2008)
58. Ruszat R, **Seitz M**, Wyler SF, Abe C, Rieken M, **Reich O**, Gasser TC, Bachmann A. GreenLight laser vaporization of the prostate: single-center experience and long-term results after 500 procedures. *Eur Urol* 54, 893-901 (2008)
59. Ruszat R, Wyler SF, Seitz M, Lehmann K, Abe C, Bonkat G, **Reich O**, Gasser TC, Bachmann A. Comparison of potassium-titanyl-phosphate laser vaporization of the prostate and transurethral resection of the prostate: update of a prospective non-randomized two-centre study. *BJU Int* 102, 1432-1438 (2008)
60. Rübber H, Goepel M, Hautmann R, Hohenfellner M, **Stief C**. [Scientific advances in German-language research in Urology Status report on the first year of the "new era of reckoning in urology"]. *Urologe A* 47, 1065 (2008)
61. **Scher B, Seitz M**. PET/CT imaging of recurrent prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 35, 5-8 (2008)
62. Scher B, **Seitz M**, Albinger W, Reiser M, **Schlenker B, Stief C**, Mueller-Lisse U, Dresel S. Value of PET and PET/CT in the diagnostics of prostate and penile cancer. *Recent Results Cancer Res* 170159-179 (2008)
63. **Schlenker B, Gratzke C, Tilki D**, Hungerhuber E, Schneede P, **Reich O, Stief CG, Seitz M**. [Organ-sparing surgery for penile cancer.]. *Urologe A* 47, 803-808 (2008)

64. **Seitz M.** Editorial comment on: Functional outcome following photoselective vaporisation of the prostate (PVP): urodynamic findings within 12 months follow-up. *Eur Urol* 54, 909-910 (2008)
65. **Seitz M.** Editorial Comment on: Thulium Laser versus Standard Transurethral Resection of the Prostate: A Randomized Prospective Trial. *Eur Urol* 53, 390 (2008)
66. **Seitz M.** The modified russell procedure: back to the future. *Eur Urol* 53, 242-243 (2008)
67. **Seitz M, Bayer T, Ruszat R, Tilki D, Bachmann A, Gratzke C, Schlenker B, Stief C, Sroka R, Reich O.** Preliminary evaluation of a novel side-fire diode laser emitting light at 940 nm, for the potential treatment of benign prostatic hyperplasia: ex-vivo and in-vivo investigations. *BJU Int* (2008)
68. **Seitz M, Gratzke C.** Editorial Comment on: Combined Magnetic Resonance Imaging and Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging in the Diagnosis of Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol* (2008)
69. **Seitz M, Khoder W.** Editorial Comment on: Comparison of Contrast-Enhanced Color Doppler Imaging (CDI), Computerized Tomography (CT), and Magnetic Resonance Imaging (MRI) for the Detection of Crossing Vessels in Patients with Ureteropelvic Junction Obstruction (UPJO). *Eur Urol* 53, 1261-1262 (2008)
70. **Seitz M, Ruszat R, Bayer T, Tilki D, Bachmann A, Stief C, Sroka R, Reich O.** Ex vivo and in vivo investigations of the novel 1,470 nm diode laser for potential treatment of benign prostatic enlargement. *Lasers Med Sci* (2008)
71. **Seitz M, Soljanik I, Stanislaus P, Sroka R, Stief C.** Explosive gas formation during transurethral resection of the prostate (TURP). *Eur J Med Res* 13, 399-400 (2008)
72. **Seitz M, Sroka R.** Re: Gunnar Wendt-Nordahl, Stephanie Huckele, Patrick Honeck, et al. 980-nm Diode Laser: A Novel Laser Technology for Vaporization of Prostate *Eur Urol* 2007;52:1723-8. *Eur Urol* 54, 697 (2008)
73. **Seitz M, Stanislaus P, Stief C.** [Detection of prostate cancer]. *MMW Fortschr Med* 150, 39-41, 43 (2008)
74. **Seitz M, Waggershauser T, Khoder W.** Congenital intrarenal arteriovenous malformation presenting with gross hematuria after endoscopic intervention: a case report. *J Med Case Reports* 2326 (2008)
75. **Stadler TC, Becker AJ, Stief CG.** [Modern treatment of erectile dysfunction]. *MMW Fortschr Med* 150, 41-43 (2008)
76. **Stahler M.** Editorial Comment on: Identification of Stanniocalcin 2 as Prognostic Marker in Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* (2008)
77. **Stahler M.** Re: Pierre I. Karakiewicz, Nazareno Suardi, Claudio Jeldres, et al. Neoadjuvant Sudent induction therapy may effectively down-stage renal cell carcinoma atrial thrombi. *Eur Urol* 2008;53:845-8. *Eur Urol* 54, 950-951 (2008)
78. **Stahler M, Haseke N, Schöppler G, Stadler T, Karl A, Siebels M, Ihrler S, Stief CG.** Carcinoma of the collecting ducts of Bellini of the kidney: adjuvant chemotherapy followed by multikinase-inhibition with sunitinib. *Eur J Med Res* 13, 531-535 (2008)
79. **Stahler M, Haseke N, Stadler T, Bader M, Karl A, Becker A, Stief CG.** Renal surgery in the elderly: morbidity in patients aged >75 years in a contemporary series. *BJU Int* 102, 684-687 (2008)
80. **Stahler M, Haseke N, Zilinberg K, Stadler T, Karl A, Stief CG.** [Systemic therapy of metastasizing renal cell carcinoma]. *Urologe A* 47, 1357-1367 (2008)
81. **Stanislaus P, Seitz M.** Editorial Comment on: Post-treatment Prostate Biopsies in the Era of Three-Dimensional Conformal Radiotherapy: What Can They Teach Us? *Eur Urol* (2008)
82. **Stief CG.** Rebuttal from Author re: Frantois Giuliano. Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors Improve Male Lower Urinary Tract Symptoms. *Eur Urol* 2008;53:1121-3. *Eur Urol* 53, 1123-1124 (2008)

83. **Stief CG**, Porst H, Neuser D, Beneke M, Ulbrich E. A randomised, placebo-controlled study to assess the efficacy of twice-daily vardenafil in the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol* 53, 1236-1244 (2008)
84. **Tilki D**, Kilic N, Herbst H, **Reich O**, **Seitz M**, Lauke H, **Stief CG**, Ergün S. High level of endostatin in epididymal epithelium: protection against primary malignancies in this organ? *Histochem Cell Biol* 130, 527-535 (2008)
85. Uckert S, Sormes M, Kedia G, Scheller F, Knapp WH, Jonas U, **Stief CG**. Effects of phosphodiesterase inhibitors on tension induced by norepinephrine and accumulation of cyclic nucleotides in isolated human prostatic tissue. *Urology* 71, 526-530 (2008)
86. Waldkirch E, Uckert S, Schultheiss D, Geismar U, Bruns C, Scheller F, Jonas U, **Becker AJ**, **Stief CG**, Hedlund P. Non-genomic effects of androgens on isolated human vascular and nonvascular penile erectile tissue. *BJU Int* 101, 71-75 (2008)
87. Waldkirch E, Uckert S, Sigl K, Imkamp F, Langnaese K, Richter K, Jonas U, Sohn M, **Stief C**, Wolf G, Hedlund P. Expression and distribution of cyclic GMP-dependent protein kinase-1 isoforms in human penile erectile tissue. *J Sex Med* 5, 536-543 (2008)
88. Wowra B, Zausinger S, Drexler C, Kufeld M, Muacevic A, **Stahler M**, Tonn JC. CyberKnife radiosurgery for malignant spinal tumors: characterization of well-suited patients. *Spine* 33, 2929-2934 (2008)
89. **Zaak D**, Sroka R, **Khoder W**, **Adam C**, **Tritschler S**, **Karl A**, **Reich O**, Knuechel R, Baumgartner R, **Tilki D**, Popken G, Hofstetter A, **Stief CG**. Photodynamic diagnosis of prostate cancer using 5-aminolevulinic acid--first clinical experiences. *Urology* 72, 345-348 (2008)