

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Antiproliferative Aktivität unterschiedlicher Benzoxazol- und
Benzimidazol-Derivate sowie davon abgeleiteter fusionierter
heterozyklischer Verbindungen in verschiedenen
Tumorzelllinien mit Resistenz gegenüber DNA-Topoisomerase
II inhibierenden Zytostatika

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. rer. nat. Hermann Lage

aus Hamburg

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Petersen
2. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. P. Sinha
3. Priv.-Doz. Dr. habil. U. Kellner

Datum der Promotion: 23.03.2007

1. INHALTSVERZEICHNIS

1. Inhaltsverzeichnis	3
2. Zusammenfassung der Publikationspromotion	4
2.1. Titel	4
2.2. Autor	4
2.3. Abstract	4
2.4. Einleitung	5
2.5. Zielstellung	5
2.6. Methodik	6
2.7. Ergebnisse	8
2.8. Diskussion	10
2.9. Referenzen	11
3. Drei Publikationen als Promotionsleistung	13
3.1. Lage et al. (2006) <i>Int. J. Cancer</i> 119, 213-220.	14
3.2. Lage und Dietel (2002) <i>J. Cancer Res. Clin. Oncol.</i> 128, 349-357.	23
3.3. Lage et al. (2000) <i>Br. J. Cancer</i> 82, 488-491.	33
4. Erklärung über Art und Umfang der Mitwirkung des Promovenden bei der Bearbeitung des Forschungsthemas und bei der Erstellung der Publikationen	38
5. Selbständigkeitserklärung	40
6. Curriculum vitae	41
7. Schriftenverzeichnis	43
7.1. Originalarbeiten („Research Articles“)	43
7.1. Übersichtsarbeiten („Invited Reviews“)	48

2. ZUSAMMENFASSUNG DER PUBLIKATIONSPROMOTION

2.1 TITEL

Antiproliferative Aktivität unterschiedlicher Benzoxazol- und Benzimidazol-Derivate sowie davon abgeleiteter fusionierter heterozyklischer Verbindungen in verschiedenen Tumorzelllinien mit Resistenz gegenüber DNA-Topoisomerase II inhibierenden Zytostatika

2.2. AUTOR

Dr. rer. nat. Hermann Lage

2.3. ABSTRACT

Resistenzen von Tumorzellen gegenüber einer chemotherapeutischen Behandlung stellen ein zentrales Problem in der Onkologie dar. Chemoresistenzen gegenüber Zytostatika, die mit DNA Topoisomerase II (Topo II) interagieren, können über Modifikationen der Topo II Aktivität vermittelt werden. Eine Option zur Überwindung von Topo II vermittelter Chemoresistenz stellt der Einsatz alternativer Topo II Inhibitoren dar. Es wurden daher 20 neu synthetisierte Benzoxazol- und Benzimidazol-Derivate sowie davon abgeleiteter fusionierte heterozyklischer Verbindungen, die im zellfreien System Topo II inhibierende Eigenschaften zeigten, hinsichtlich einer möglichen antiproliferativen Aktivität in 18 unterschiedlichen Tumorzelllinien untersucht. Die Zellmodelle leiten sich von unterschiedlichen Tumorentitäten ab und bestehen aus chemosensiblen und chemoresistenten Varianten, die hinsichtlich der vorhandenen Resistenzmechanismen, insbesondere der Bedeutung von Topo II, näher charakterisiert wurden. In chemosensitiven Zellen zeigten lediglich zwei Substanzen, BD3 und G35, eine ähnliche Effektivität wie der klassische Topo II Inhibitor Etoposid. Die meisten heterozyklischen Verbindungen zeigten eine höhere antiproliferative Aktivität in chemoresistenten Zellen als in chemosensitiven Zelllinien. Dabei waren die Substanzen BD13, BD14 und BD16 hoch wirksam in mehreren chemoresistenten Zellmodellen.. Substanz D23 war hoch effizient in zwei resistenten Linien und Substanz D24, mit der höchsten Effektivität überhaupt, zeigte in einer chemoresistenten Zelllinie antiproliferative Aktivität. Zusammenfassend konnten die Substanzen BD13, BD14, BD16, D23 und D24 als wirksam in der Behandlung von unterschiedlichen Tumorzellmodellen identifiziert werden. Sie können daher potentiell als Ausgangssubstanzen für die Synthese neuer, verbesserter Topo II-Inhibitoren genutzt werden.

2.4. EINLEITUNG

Resistenzen gegenüber einer Behandlung mit zytotoxischen Substanzen sind die Hauptursache für eine ungenügende Ansprechrate von onkologischen Patienten auf eine Chemotherapie. Insbesondere stellen pleiotrope Resistenzen (Multidrug Resistenz, MDR), bei denen Tumorzellen gleichzeitig gegen mehrere strukturell und damit funktionell unterschiedlich wirksamen Substanzen resistent sind, ein enormes klinisches Problem dar (Szakacs et al., 2006). Neben dem klassischen MDR Phänotyp, der aufgrund der verstärkten Aktivität des membranständigen ABC-Transporters MDR1/P-Glykoprotein zustande kommt, sind weitere MDR Phänotypen beschrieben worden, denen unterschiedliche biologische Mechanismen zugrunde liegen. So sind neben der Aktivität weiterer ABC-Transporter, Modifikationen von Apoptose regulierenden zellulären Signalwegen und eine Vielzahl weiterer Mechanismen beschrieben worden. Einer dieser weiteren MDR-Mechanismen hat seine Ursache in einer Verminderung der biologischen Aktivität von DNA Topoisomerase II (Topo II), ein pharmakologisches Zielmolekül für verschiedene Zytostatika unterschiedlicher Substanzklassen, z.B. Anthrazykline oder Epipodophyllotoxine (Kellner et al., 2002).

2.5. ZIELSTELLUNG

Eine Option zur erfolgreichen pharmakologischen Beeinflussung von Tumorzellen mit Topo II vermittelter MDR ist die Entwicklung alternativer Substanzen, die auf eine andere Art und Weise als klassische Topo II Inhibitoren mit dem Enzym interagieren. Da eine Reihe von unterschiedlichen Benzoxazol- und Benzimidazol-Derivaten sowie davon abgeleitete fusionierte heterozyklische Verbindungen unter zellfreien Bedingungen Topo II inhibierenden Eigenschaften zeigte (Pinar et al., 2004), erschienen diese für eine derartige Option als interessante Kandidatenmoleküle. Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher 20 verschiedene Topo II inhibierende heterozyklische Verbindungen hinsichtlich ihrer potentiellen antineoplastischen Wirkung in insgesamt 18 unterschiedlichen Tumorzellmodellen untersucht (Lage et al., 2006). Diese Tumorzellmodelle, unterschiedlicher Tumorentitäten, setzten sich aus chemosensitiven und davon abgeleiteten chemoresistenten Varianten mit unterschiedlichen MDR Phänotypen zusammen. Die Eignung dieser Zelllinien mußte vorher über die Charakterisierung der vorhandenen Resistenzmechanismen, insbesondere hinsichtlich der funktionellen Bedeutung von Topo II, ermittelt werden (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002; Lage et al. 2006).

2.6. METHODIK

Zellkultur

Die Kultur von Tumorzellen erfolgte in modifiziertem L-15 Medium bei 37 °C in einer 5% CO₂ Atmosphäre (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002; Lage et al., 2006). Zur Aufrechterhaltung des Resistenzphänotyps enthielt das Medium zytostatikaresistenter Zelllinien außerdem eine nicht die Zellproliferation beeinträchtigende Konzentration der entsprechenden Selektionssubstanz.

Zellproliferationsassay

Zur Bestimmung des Resistenzgrades und des Kreuzresistenzmusters verschiedener Zytostatika in Tumorzellen sowie der Bestimmung der antiproliferativen Wirksamkeit 20 verschiedener Topo II inhibierender heterozyklischer Verbindungen wurde ein Zellproliferationsassay eingesetzt (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002; Lage et al., 2006). Dazu wurden die Tumorzellen in 96-er Platten ausgesät und mit ansteigenden Konzentrationen unterschiedlicher Zytostatika oder heterozyklischer Topo II Inhibitoren inkubiert. Nach 5 Tagen wurde die Zellzahl über Färbung mit dem Proteinfarbstoff Sulphorhodamine B (SRB) nachgewiesen. Die antiproliferative Wirkung der einzelnen Substanzen wurde über die Ermittlung des IC₅₀ Wertes bestimmt.

RT-PCR

Die mRNA Expression von ABC-Transportern wurde qualitativ in Tumorzellen mittels RT-PCR untersucht (Lage und Dietel, 2002). Dafür wurde die gesamte zelluläre Tumor RNA in cDNA umgeschrieben. Mittels spezifischer Oligonukleotidprimer wurden ABC-Transporter Sequenzen in einer PCR Reaktion amplifiziert, elektrophoretisch aufgetrennt und über eine Ethidiumbromid Färbung sichtbar gemacht.

Quantitative Echtzeit RT-PCR (QPCR)

Um die mRNA Expression der beiden Topo II Isoenzyme Topo II α und Topo II β quantitativ in Tumorzellen zu bestimmen, wurde eine quantitative Echtzeit RT-PCR (QPCR) mittels eines „LightCycler“ Instruments durchgeführt (Lage et al., 2006). Die Detektion der PCR-Amplifikate erfolgte über Fluoreszenzmessung des Farbstoffs SYBR-Green.

Northern Bot

Ein (semi-)quantitativer Nachweis der mRNA Expression von Topo II α und Topo II β erfolgte außerdem über eine Northern Bot Analyse (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002). Dafür wurde die gesamte Tumor RNA elektrophoretisch aufgetrennt, auf eine Membran transferiert und mit ^{32}P -markierten Topo II α - oder Topo II β spezifischen DNA Sonden hybridisiert.

Western Bot

Zum Nachweis der Proteinexpression von Topo II α , Topo II β und ABC-Transportern wurde eine Western Bot Analyse durchgeführt (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002; Lage et al., 2006). Dafür wurden nukleäre -, zytoplasmatische - und Gesamtproteinfraktionen elektrophoretisch aufgetrennt, auf eine Membran transferiert und mit einem spezifischen Antikörper inkubiert. Der Nachweis der spezifischen Bande erfolgte über Inkubation mit einem Sekundärantikörper und Detektion mittels Chemolumineszenz.

Promoter Methylierungsassay

Zur Charakterisierung des Methylierungsstatus des Topo II α Promoters wurde eine Southern Blot Analyse durchgeführt (Lage und Dietel, 2002). Dafür wurde genomische DNA mit den isoschizomeren Restriktionsnukleasen *HpaII* (indiziert Hypermethylierung aufgrund der Inhibition durch jegliche Art der Methylierung an einem C der CCGG Restriktionsstelle) und *MspI* (indiziert Hypomethylierung aufgrund der lediglich vorhandenen Inhibition durch 5-Methylcytosin am 5'-C der CCGG Restriktionsstelle) geschnitten und nach elektrophoretischer Auftrennung und Transfer auf eine Membran mit einer ^{32}P -markierten Topo II α Promoter spezifischen DNA Probe hybridisiert.

Topo II Aktivitätsassay

Die katalytische Aktivität von Topo II wurde mittels eines „Decatenation Assays“ gemessen (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002). Der Assay beruht auf einer ATP-abhängigen Verminderung des Komplexitätsgrads ineinander „verketteter“, ringförmiger Typ I Kinetoplast DNA (kDNA) Moleküle aus *C. fasciculata* nach zeit- und konzentrationsabhängiger Inkubation mit Kernextrakten von Tumorzellen. Nach der Reaktion wurden die Proben gelelektrophoretisch aufgetrennt, mit Ethidiumbromid gefärbt und densitometrisch ausgewertet.

Zytostatika Akkumulationsassay

Zur Bestimmung zellulärer Anthrazyklin – und Mitoxantron Akkumulation wurde eine „Flow Cytometer“ Analyse durchgeführt (Lage und Dietel, 2002). Die Tumorzellen wurden dazu mit unterschiedlichen Zytostatika Konzentrationen inkubiert. Nach Waschen der Zellen wurde die intrazelluläre Fluoreszenz der akkumulierten Zytostatika nach Anregung mit Licht von 480 nm bei 580 nm (Anthrazykline) und 630 nm (Mitoxantron) gemessen.

2.7. ERGEBNISSE

Kreuzresistenzen

Das Ausmaß der Resistenz gegenüber der Selektionssubstanz sowie das Kreuzresistenzmuster der Tumorzellen gegenüber unterschiedlichen Zytostatika wurde mittels eines Zellproliferationsassays bestimmt (Lage und Dietel, 2002; Lage et al., 2006). Bei den Resistenzphänotypen handelte es sich i.d.R. um unterschiedliche MDR Formen, bei denen Resistenzen gegenüber Zytostatika unterschiedlicher Substanzklassen vorlagen.

Expression von ABC-Transportern

Resistente Tumorzelllinien, die mit klassischen MDR Substanzen wie Anthrazyklinen und Vinca Alkaloiden, selektioniert wurden, exprimierten i.d.R. das MDR1/P-Glykoprotein. Linien, die mit Selektion gegen Mitoxantron etabliert wurden, zeigten gelegentlich eine verstärkte Expression von BCRP. MRP1 wurde i.d.R. konstitutiv in allen Linien, resistent oder sensibel, auf schwachem Niveau exprimiert. Weitere Zytostatika induzierten keine Expression von ABC-Transportern (Lage und Dietel, 2002).

Zytostatika Akkumulation

Zum Nachweis, daß die Überexpression eines ABC-Transporters in den Tumorzellen funktionell von Bedeutung ist, wurden Zytostatika Akkumulationsassays durchgeführt (Lage und Dietel, 2002). Es zeigte sich, daß alle ABC-Transporter überexprimierenden Zellvarianten eine stark verminderte zelluläre Akkumulation des Selektionszytostatikums zeigten.

Expression von DNA Topoisomerase II Isoenzymen

Resistente Tumorzellvarianten, die gegen Topo II inhibierende Substanzen, wie Anthrazykline, Epipodophyllotoxine und Mitoxantron selektioniert wurden, zeigten i.d.R.

eine verminderte Expression beider Topo II Isoenzyme, Topo II α und Topo II β (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002; Lage et al., 2006).

Methylierungsstatus des DNA Topoisomerase II α Promoters

Um zu untersuchen, ob verminderte Topo II α Expression von resistenten Tumorzellen über eine Hypermethylierung des Topo II α Promoters erfolgte, wurde ein Promoter Methylierungsassay durchgeführt (Lage und Dietel, 2002). In den untersuchten Zelllinien konnte keine Hypermethylierung nachgewiesen werden.

DNA Topoisomerase II Aktivität

Der funktionelle Nachweis, ob eine verminderte Topo II Expression auch eine reduzierte katalytische Aktivität von Topo II nach sich zog, wurde über einen „Decatenation Assay“ bestimmt (Lage et al., 2000; Lage und Dietel, 2002). Es zeigte sich, daß alle Tumorzellen mit verminderter Topo II Expression auch eine verringerte Topo II Aktivität aufwiesen.

Antiproliferative Wirksamkeit von heterozyklischen DNA Topoisomerase II Inhibitoren

Die antiproliferative Aktivität von 20 verschiedenen Topo II inhibierenden heterozyklischen Verbindungen in chemosensiblen und chemoresistenten Tumorzellen mit Kreuzresistenzen gegenüber klassischen Topo II Inhibitoren wurde mittels eines Zellproliferationsassays ermittelt (Lage et al., 2006). In parentalen, chemosensitiven Zellen zeigten lediglich zwei Substanzen, BD3 und G35, eine ähnliche molare Effektivität wie der klassische Topo II Inhibitor Etoposid, ein Epipodophyllotoxin. Andererseits zeigten die meisten heterozyklischen Verbindungen eine höhere antiproliferative Aktivität in „chemoresistenten“ Zellen als in „chemosensitiven“ Zelllinien wobei einige der Substanzen eine ausgesprochen hohe antineoplastische Aktivität in unterschiedlichen MDR Zellvarianten zeigten. So waren die Substanzen BD13, BD14 und BD16 hoch wirksam in den MDR Magenkarzinomlinien EPG85-257RNOV und EPG85-257RDB, den MDR Pankreaskarzinomlinien EPP85-181RNOV und EPP85-181RDB, der MDR Mammakarzinomlinie MCF-7/Adr, der MDR Fibrosarkomlinie D79/86RNOV sowie der Etoposid-resistenten Melanomlinie MeWoETO1. Substanz D23 war hoch effizient in den MDR Kolonkarzinomlinien HT-29RNOV and HT-29RDB und Substanz D24 zeigte die höchste Effektivität überhaupt in der chemoresistenten Mammakarzinomlinie MDA-MB-231ROV. Zusammenfassend konnten die Substanzen BD13, BD14, BD16, D23 und D24 als wirksam in der Behandlung von unterschiedlichen

MDR Tumorzellmodellen mit Kreuzresistenzen gegenüber klassischen Topo II Inhibitoren identifiziert werden. Insbesondere die Substanzen BD13 und D23 zeigten eine sehr hohe biologische Aktivität in mehreren chemoresistenten Tumorzelllinien.

2.8. DISKUSSION

Die potentielle antiproliferative Aktivität von 20 unterschiedlichen Benzoxazol- und Benzimidazol-Derivaten sowie davon abgeleiteten fusionierten heterozyklischen Verbindungen wurde in 18 verschiedenen Tumorzelllinien unterschiedlicher Tumorentität untersucht. Die Tumorzellmodelle setzten aus chemosensitiven und davon abgeleiteten chemoresistenten Varianten mit Kreuzresistenz gegenüber klassischen Topo II Inhibitoren zusammen.

Nur einige der chemoresistenten Zelllinien zeigten Kreuzresistenzen gegenüber einige der heterozyklischen Substanzen. Interessanterweise waren die meisten der Verbindungen in den chemoresistenten Varianten sogar weitaus stärker aktiv als in parentalen Linien, die sensibel gegenüber der Behandlung mit klassischen Topo II Inhibitoren waren. Einige Substanzen (BD13, D23) zeigten in mehreren chemoresistenten Varianten eine sehr starke antiproliferative Effektivität, andere Verbindungen (BD14, BD16, D24) nur in wenigen bzw. einzelnen chemoresistenten Linien. Die biologische Wirksamkeit erscheint daher sowohl gewebespezifisch als auch spezifisch gegenüber dem Resistenzphänotyp.

Aufgrund der Topo II inhibierenden Aktivität der heterozyklischen Verbindungen unter zellfreien Bedingungen (Pinar et al., 2004), erscheint eine intrazelluläre Interaktion der Substanzen mit Topo II als wahrscheinlichste Ursache für die antiproliferative Aktivität. Daraus erklärt sich auch die höhere Effektivität in chemoresistenten Linien mit verminderter Topo II Expression: in parentalen, chemosensitiven Linien mit relativ hohem Gehalt an Topo II, führt die Behandlung mit heterozyklischen Verbindungen aufgrund der ausreichenden Restaktivität von Topo II nur zu einer sehr geringen Beeinträchtigung der Proliferationsrate; in chemoresistenten Zelllinien mit nur sehr geringem Topo II Gehalt, kann die Topo II Restaktivität hingegen nahezu vollständig inhibiert werden, was zu einem sehr ausgeprägten antiproliferativen Effekt führt. Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß einige heterozyklische Verbindungen auch in klassischen MDR Zelllinien mit verstärkter Expression des membranständigen ABC-Transporters MDR1/P-Glykoprotein ohne signifikante

Reduktion des Topo II Gehalts, antiproliferative Aktivität zeigten. Die antineoplastische Wirkung muß in diesen Zellen daher aufgrund anderer Mechanismen zustande kommen. So könnten die Verbindungen z.B. die zelluläre Bereitschaft zur Aktivierung apoptotischer Signalwege beeinflussen. Diese Annahme wird von der Beobachtung gestützt, daß ähnliche Benzoxazol Derivate in der klassischen MDR Maus Lymphomzelllinie L5718 Apoptose induzieren konnten (Varga et al., 2005).

Allgemeine Struktur-Aktivitäts Relationen bei den untersuchten heterozyklischen Topo II Inhibitoren ergeben, daß 2-p-Chlorbenzylbenzoxazol-Derivate mit einer Benzamido-Gruppe anstatt des Phenylacetamido-Restes an Position 5 des fusionierten heterozyklischen Systems, für eine antiproliferative Wirkung in chemoresistenten Zelllinien besser geeignet sind. In einigen Fällen, z.B. in Magenkarzinom – und Melanomzellen, konnte die Substituierung des Phenyl-Restes der Benzamido-Gruppe an Position 5 der 2-p-Chlorbenzylbenzoxazol-Struktur mit einer Nitro-Gruppe die Aktivität erhöhen. Auf der anderen Seite vermindert eine Nitro-Gruppe anstelle eines Brom Atoms oder einer Ethyl-Gruppe an dieser para Position die antineoplastische Aktivität in anderen Zelllinien, z.B. Mamma – oder Pankreaskarzinomlinien.

Zusammenfassend konnten einige heterozyklische Verbindungen, insbesondere die Substanzen BD13, BD14, BD16, D23, und D24, als effektiv zur Behandlung von chemoresistenten Tumorzellen, inklusive Zellen mit einem MDR Phänotyp, identifiziert werden. Sie zeigten eine hohe antiproliferative Aktivität in Tumorzellen mit Kreuzresistenz gegenüber klassischen Topo II inhibierenden Zytostatika, wie Etoposid, Anthrazyklinen oder Mitoxantron. Sie können daher potentiell als Ausgangssubstanzen für die Synthese neuer, verbesserter Topo II-Inhibitoren genutzt werden.

2.9. REFERENZEN

Kellner U, Sehested M, Jensen PB, Gieseler F, Rudolph P (2002) Culprit and victim - DNA topoisomerase II. *Lancet Oncol.* 3, 235-243.

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Pinar A, Yurdakul P, Yildiz I, Temiz-Arpaci O, Acan NL, Aki-Sener E, Yalcin I (2004) Some fused heterocyclic compounds as eukaryotic topoisomerase II inhibitors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 317, 670-674.

Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM (2006) Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5, 219-234.

Varga A, Aki-Sener E, Yalcin I, Temiz-Arpaci O, Tekiner-Gulbas B, Cherepnev G, Molnar J (2005) Induction of apoptosis and necrosis by resistance modifiers benzazoles and benzoxazines on tumour cell line mouse lymphoma L5718 Mdr1+ cells. *In Vivo* 19, 1087-1091.

3. DREI PUBLIKATIONEN ALS PROMOTIONSLEISTUNG

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

3. 1. PUBLIKATION 1

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 213

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 214

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 215

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 216

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 217

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 218

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 219

Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

Seite 220

3.2. PUBLIKATION 2

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 349

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 350

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 351

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 352

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 353

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 354

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 355

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 356

Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

Seite 357

3.3. PUBLIKATION 3

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Seite 488

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Seite 489

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Seite 490

Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

Seite 491

4. ERKLÄRUNG ÜBER ART UND UMFANG DER MITWIRKUNG DES PROMOVENDEN BEI DER BEARBEITUNG DES FORSCHUNGSTHEMAS UND BEI DER ERSTELLUNG DER PUBLIKATIONEN

Der Promovend hatte folgenden Anteil an den eingereichten Publikationen:

Publikation 1: Lage H, Aki-Sener E, Yalcin I (2006) High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.

95 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

- Formulierung der wissenschaftlichen Fragestellung: 100%
- Planung der Experimente: 100%
- Durchführung der Experimente: 100% (z.T. mit Unterstützung einer selbst angeleiteten MTA)
- Auswertung und Interpretation der Versuchsergebnisse: 95%
- Schreiben der Publikation: 90%

Publikation 2: Lage H, Dietel M (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.

90 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

- Formulierung der wissenschaftlichen Fragestellung: 90%
- Planung der Experimente: 100%
- Durchführung der Experimente: 100% (z.T. mit Unterstützung einer selbst angeleiteten MTA)
- Auswertung und Interpretation der Versuchsergebnisse: 95%
- Schreiben der Publikation: 100%

Publikation 3: Lage H, Helmbach H, Dietel M, Schadendorf D (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.

90 Prozent

Beitrag im Einzelnen:

- Formulierung der wissenschaftlichen Fragestellung: 80%
- Planung der Experimente: 100%
- Durchführung der Experimente: 100% (z.T. mit Unterstützung einer selbst angeleiteten MTA)
- Auswertung und Interpretation der Versuchsergebnisse: 90%
- Schreiben der Publikation: 95%

Berlin, 15.09.2006

Prof. Dr. Iver Petersen
(betreuender Hochschullehrer)

PD Dr. rer. nat. Hermann Lage
(Promovend)

5. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

„Ich, Dr. rer. nat. Hermann Lage, erkläre, daß ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Antiproliferative Aktivität unterschiedlicher Benzoxazol- und Benzimidazol-Derivate sowie davon abgeleiteter fusionierter heterozyklischer Verbindungen in verschiedenen Tumorzelllinien mit Resistenz gegenüber DNA-Topoisomerase II inhibierenden Zytostatika“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, 15.09.2006

PD Dr. rer. nat. Hermann Lage

6. CURRICULUM VITAE

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mitveröffentlicht.

7. SCHRIFTENVERZEICHNIS

7.1. ORIGINALARBEITEN (“RESEARCH ARTICLES”)

1. Bieler, A., Mantwill, K., Dravits, T., Bernshausen, A., Glockzin, G., Köhler-Vargas, N., **Lage, H.**, Gansbacher, B., and Holm, P.S. (2006). Novel three-pronged strategy to enhance cancer cell killing in glioblastoma cell lines: histone deacetylase inhibitor, chemotherapy, and oncolytic adenovirus dl520. *Hum. Gene Ther.* 17, 55-70.
2. Christmann, M., Pick, M., **Lage, H.**, Schadendorf, D., and Kaina, B. (2001) Acquired resistance of melanoma cells to the antineoplastic agent fotemustine is caused by reactivation of the DNA repair gene MGMT. *Int. J. Cancer* 92, 123-129.
3. Dietel, M., Arps, H., **Lage, H.**, and Niendorf, A. (1990) Membrane vesicle formation due to acquired mitoxantrone resistance in human gastric carcinoma cell line EPG85-257. *Cancer Res.* 50, 6100-6106.
4. Ebert, M.P.A., Krüger, S., Fogeron M.-L., Lamer, S., Chen, J., Pross, M., Schulz, H.-U., **Lage, H.**, Heim, S., Roessner, A., Malfertheimer, P., and Röcken, C. (2005) Overexpression of cathepsin B in gastric cancer identified by proteome analysis. *Proteomics* 5, 1693-1704.
5. Grottko, C., Mantwill, K., Dietel, M., Schadendorf, D., and **Lage, H.** (2000) Identification of differentially expressed genes in human melanoma cells with acquired resistance to various antineoplastic drugs. *Int. J. Cancer* 88, 535-546.
6. Györfy, B., and **Lage, H.** (2006) A web-based warehouse of gene expression in human malignant melanoma. *J. Invest. Dermatol.*, in press
7. Györfy, B., Serra, V., Jürchott, K., Abdul-Ghani, R., Garber, M., Stein, U., Petersen, I., **Lage, H.**, Dietel, M., and Schäfer, R. (2005) Prediction of doxorubicin sensitivity in breast tumors based on gene expression profiles of drug-resistant cell lines correlates with patient survival. *Oncogene* 24, 7542-7551.
8. Györfy, B., Serra, V., Materna, V., Schäfer, R., Dietel, M., Schadendorf, D., and **Lage, H.** (2006) Analysis of gene expression profiles in melanoma cells with acquired resistance against antineoplastic drugs. *Melanoma Res.* 16, 147-155.
9. Györfy, B., Surowiak, P., Kiesslich, O., Denkert, C., Schäfer, R., Dietel, M., and **Lage, H.** (2006) Gene expression profiling of 30 cancer cell lines predicts resistance towards 11 anticancer drugs at clinically achieved concentrations. *Int. J. Cancer* 118, 1699-1712.
10. Heim, S., and **Lage, H.** (2005) Transcriptome analysis of different multidrug-resistant gastric carcinoma cells. *In Vivo* 19, 583-590.
11. Holm, P.S., Bergmann, S., Jürchott, K., **Lage, H.**, Brand, K., Ladhoff, A., Mantwill, K., Curiel, D.T., Döbelstein, M., Dietel, M., Gansbacher, B., and Royer, H.-D. (2002) YB-1 relocates to the nucleus in adenovirus-infected cells and facilitates viral replication by inducing E2 gene expression through the E2 late promoter. *J. Biol. Chem.* 277, 10427-10434.
12. Holm, P.S., **Lage, H.**, Bergmann, S., Jürchott, K., Glockzin, G., Bernshausen, A., Mantwill, K., Ladhoff, A., Wichert, A., Mymryk, J.S., Ritter, T., Dietel, M., Gansbacher, B., and Royer, H.D. (2004) Multidrug-resistant cancer cells facilitate E1-independent adenoviral replication: impact for cancer gene therapy. *Cancer Res.* 64, 322-328.
13. Kellner, U., Hutchinson, L., Seidel, A., **Lage, H.**, Danks, M.K., Dietel, M., and Kaufmann, S.C. (1997) Decreased drug accumulation in a mitoxantrone-resistant gastric carcinoma cell line in the absence of P-glycoprotein. *Int. J. Cancer* 71, 817-824.

14. Kowalski, P., Wichert, A., Holm, P.S., Dietel, M., and **Lage, H.** (2001) Selection and characterization of a high activity ribozyme directed against the antineoplastic drug resistance-associated ABC-transporter BCRP/MXR/ABCG2. *Cancer Gene Ther.* 8, 185-192.
15. Kowalski, P., Stein, U., Scheffer, G.L., and **Lage, H.** (2002) Modulation of the atypical multidrug-resistant phenotype by a hammerhead ribozyme directed against the ABC-transporter BCRP/MXR/ABCG2. *Cancer Gene Ther.* 9, 579-586.
16. Kowalski, P., Farley, K.M., **Lage, H.**, and Schneider, E. (2004) Effective knock down of very high ABCG2 expression by a hammerhead ribozyme. *Anticancer Res.* 24, 2231-2236.
17. Kowalski, P., Surowiak, P., and **Lage, H.** (2005) Reversal of different drug-resistant phenotypes by an autocatalytic multitarget multiribozyme directed against the transcripts of the ABC-transporters MDR1/P-gp, MRP2, and BCRP. *Mol. Ther.* 11, 508-522.
18. **Lage, H.**, Aki-Sener, E., and Yalcin, I. (2006). High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* 119, 213-220.
19. **Lage, H.**, and Dietel, M. (1996) Cloning of a human cDNA encoding a protein with high homology to yeast methionyl-tRNA synthetase. *Gene* 178, 187-189.
20. **Lage, H.**, and Dietel, M. (1997) Cloning and characterization of cDNAs encoding a protein with high homology to rat intestinal development protein OCI-5. *Gene* 188, 151-156.
21. **Lage, H.**, Dietel, M., Fröschle, G., and Reymann, A. (1998) Expression of the novel mitoxantrone resistance associated gene MXR7 in colorectal malignancies. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 58-60.
22. **Lage, H.**, Christmann, M., Kern, M.A., Dietel, M., Pick, M., Kaina, B., and Schadendorf, D. (1999) Expression of DNA repair proteins hMSH2, hMSH6, hMLH1, O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase and N-methylpurine-DNA glycosylase in melanoma cells with acquired drug resistance. *Int. J. Cancer* 80, 744-750.
23. **Lage, H.**, Helmbach, H., Dietel, M., and Schadendorf, D. (2000) Modulation of DNA topoisomerase II activity and expression in melanoma cells with acquired drug resistance. *Br. J. Cancer* 82, 488-491.
24. **Lage, H.**, Jordan, A., Scholz, R., and Dietel, M. (2000) Thermosensitivity of multidrug-resistant human gastric and pancreatic carcinoma cells. *Int. J. Hyperthermia* 16, 291-303.
25. **Lage, H.**, Helmbach, H., Grottko, C., Dietel, M., and Schadendorf, D. (2001) DFNA5 (ICERE-1) contributes to acquired etoposide resistance in melanoma cells. *FEBS Lett.* 494, 54-59.
26. **Lage, H.**, Kellner, U., Tannapfel, A., and Dietel, M. (2001) Expression of a glypican-related 62-kDa antigen is decreased in hepatocellular carcinoma in correspondence to the grade of tumor differentiation. *Virchows Arch.* 438, 567-573.
27. **Lage, H.**, Perlitz, C., Abele, R., Tampé, R., Dietel, M., Schadendorf, D., and Sinha, P. (2001) Enhanced expression of human ABC-transporter TAP is associated with cellular resistance to mitoxantrone. *FEBS Lett.* 503, 179-184.
28. **Lage, H.**, and Dietel, M. (2002) Multiple mechanisms confer different drug-resistant phenotypes in pancreatic carcinoma cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 128, 349-357.
29. Liedert, B., Materna, V., Schadendorf, D., Thomale, J., and **Lage, H.** (2003) Overexpression of cMOAT (MRP2 / ABCC2) is associated with decreased formation of platinum-DNA adducts and decreased G₂-arrest in melanoma cells resistant to cisplatin. *J. Invest. Dermatol.* 121, 172-176.
30. Ludwig, A., Dietel, M., and **Lage, H.** (2002) Identification of differentially expressed genes in classical and atypical multidrug-resistant gastric carcinoma cells. *Anticancer Res.* 22, 3213-3222.

31. Mantwill, K., Köhler-Vargas, N., Bernshausen, A., Bieler, A., **Lage, H.**, Kaszubiak, A., Dravitz, T., Surowiak, P., Dravits, T., Treiber, U., Hartung, R., Gänsbacher, B., Holm, P.S. (2006) Inhibition of the multidrug resistant phenotype by targeting YB-1 with a conditionally oncolytic adenovirus: implications for combinatorial treatment regime with chemotherapeutic agents. *Cancer Res.* 66, 7195-7202.
32. Materna, V., Holm, P.S., Dietel, M., and **Lage, H.** (2001) Kinetic characterization of ribozymes directed against the cisplatin resistance-associated ABC-transporter cMOAT/MRP2/ABCC3. *Cancer Gene Ther.* 8, 176-184.
33. Materna, V., and **Lage, H.** (2003) Homozygous mutation arg₇₆₈trp in the ABC-transporter encoding gene MRP2/cMOAT/ABCC2 causes Dubin-Johnson syndrome in a Caucasian patient. *J. Hum. Gen.* 48, 484-486.
34. Materna, V., Pleger, J., Hoffmann, U., and **Lage, H.** (2004) RNA expression of MDR1/P-glycoprotein, DNA-topoisomerase I, and MRP2 in ovarian carcinoma patients: correlation with chemotherapeutic response. *Gynecol. Oncol.* 94, 152-160.
35. Materna, V., Liedert, B., Thomale, J., and **Lage, H.** (2005) Protection of platinum-DNA adduct formation and reversal of cisplatin resistance by anti-MRP2 hammerhead ribozymes in human cancer cells. *Int. J. Cancer* 115, 393-402.
36. Materna, V., Stege, A., Surowiak, P., Priebisch, A., and **Lage, H.** (2006) RNA interference-triggered reversal of ABCC2-dependent cisplatin resistance in human cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 348, 153-157.
37. Molnár, J., Mucsi, I., Nasca, J., Hevér, A., Gyémánt, N., Ugocsai, K., Hegyes, P., Kessig, S., Gaal, D., **Lage, H.**, and Varga, A. (2004) New silicon compounds as resistance modifiers against multidrug-resistant cancer cells. *Anticancer Res.* 24, 865-872.
38. Nelson, K., Helmstaedter, V., and **Lage, H.** (2006) The influence of Tamoxifen on growth behavior and cell-cell adhesion in OSCC in vitro. *Oral Oncol.*, in press
39. Nieth, C., Priebisch, A., Stege, A., and **Lage, H.** (2003) Modulation of the classical multidrug resistance (MDR) phenotype by RNA interference (RNAi). *FEBS Lett.* 545, 144-150.
40. Nieth, C., and **Lage, H.** (2005) Induction of the ABC-transporters Mdr1/P-gp (Abcb1), Mrp1 (Abcc1), and Bcrp (Abcg2) during establishment of multidrug resistance following exposure to mitoxantrone. *J. Chemother.* 17, 215-223.
41. Noske, A., Kaszubiak, A., Weichert, W., Sers, C., Niesporek, S., Koch, I., Schaefer, B., Sehoul, J., Dietel, M., **Lage, H.**, and Denkert, C. (2006) Specific inhibition of AKT2 by RNA interference results in reduction of ovarian cancer cell proliferation: increased expression of AKT in advanced ovarian cancer. *Cancer Lett.*, in press
42. Pohl, A., **Lage, H.**, Müller, P., Pomorski, T., and Herrmann, A. (2002) Transport of phosphatidylserine via MDR1 P-glycoprotein in a human gastric carcinoma cell line. *Biochem. J.* 365, 259-268.
43. Poland, J., Schadendorf, D., **Lage, H.**, Schnölzer, M., Celis, J.E., and Sinha, P. (2002) Study of therapy resistance in cancer cells with functional proteome analysis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 40, 221-234.
44. Poland, J., Urbani, A., **Lage, H.**, Schnölzer, M., and Sinha, P. (2004) Study of the development of thermoresistance in human pancreatic carcinoma cell lines using proteome analysis. *Electrophoresis* 25, 173-183.
45. Priebisch, A., Rompe, F., Tönnies, H., Kowalski, P., Surowiak, P., Stege, A., Materna, V., and **Lage, H.** (2006) Complete Reversal of ABCG2-dependant atypical multidrug resistance (MDR) by RNA interference in human carcinoma cells. *Oligonucleotides*, in press

46. Rau, B., Sturm, I., **Lage, H.**, Berger, S., Schneider, U., Hauptmann, S., Wust, P., Riess, H., Schlag, P.M., Dörken, B., and Daniel, P.T. (2003) Dynamic expression profile of p21^{WAF1/CIP1} and Ki-67 predicts survival in rectal carcinoma treated with preoperative radiochemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 21, 3391-3401.
47. Reymann, A., Woermann, C., Fröschle, G., Schneider, C., Bräsen, J.H., **Lage, H.**, and Dietel, M. (1998) Sensitive assessment of cytostatic drug resistance-mediating factors MDR1 and MRP in tumors of the gastrointestinal tract by RT-PCR. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 36, 55-57.
48. Ross, D.D., Yang, W., Abruzzo, L.V., Dalton, W.S., Schneider, E., **Lage, H.**, Dietel, M., Greenberger, L., Cole, S.P.C., and Doyle, L.A. (1999) Atypical multidrug resistance: breast cancer resistance protein messenger RNA expression in mitoxantrone-selected cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 91, 429-433.
49. Schwendel, A., Richard, F., Langreck, H., Kaufmann, O., **Lage, H.**, Winzer, K.J., Petersen, I., and Dietel, M. (1998) Chromosome alterations in breast carcinomas: frequent involvement of DNA losses including chromosomes 4q and 21q. *Br. J. Cancer* 78, 806-811.
50. Sinha, P., Hütter, G., Köttgen, E., Dietel, M., Schadendorf, D., and **Lage, H.** (1998) Increased expression of annexin I and thioredoxin detected by two-dimensional gel electrophoresis of drug resistant human stomach cancer cells. *J. Biochem. Biophys. Methods* 18, 105-116.
51. Sinha, P., Hütter, G., Köttgen, E., Dietel, M., Schadendorf, D., and **Lage, H.** (1999) Increased expression of epidermal fatty acid binding protein, cofilin, and 14-3-3- σ (stratifin) detected by two-dimensional gel electrophoresis, mass spectrometry and microsequencing of drug-resistant human adenocarcinoma of the pancreas. *Electrophoresis* 20, 2952-2960.
52. Sinha, P., Hütter, G., Köttgen, E., Dietel, M., Schadendorf, D., and **Lage, H.** (1999) Search for novel proteins involved in the development of chemoresistance in colorectal cancer and fibrosarcoma cells in vitro using two-dimensional electrophoresis, mass spectrometry and microsequencing. *Electrophoresis* 20, 2961-2969.
53. Sinha, P., Kohl, S., Fischer, J., Hütter, G., Kern, M., Köttgen, E., Dietel, M., **Lage, H.**, Schnölzer, M., and Schadendorf, D. (2000) Identification of novel proteins associated with the development of chemoresistance in malignant melanoma using two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis* 21, 3048-3057.
54. Sinha, P., Poland, J., Schnölzer, M., Celis, J.E., and **Lage, H.** (2001) Characterization of the differential protein expression associated with thermoresistance in human gastric carcinoma cell lines. *Electrophoresis* 22, 2990-3000.
55. Sinha, P., Poland, J., Kohl, S., Schnölzer, M., Helmbach, H., Hütter, G., **Lage, H.**, and Schadendorf, D. (2003) Study of the development of chemoresistance in melanoma cell lines using proteome analysis. *Electrophoresis* 24, 2386-2404.
56. Stege, A., Priebsch, A., Nieth, C., and **Lage, H.** (2004) Stable and complete overcoming of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human gastric carcinoma cells by RNA interference. *Cancer Gene Ther.* 11, 699-706.
57. Stein, U., **Lage, H.**, Jordan, A., Walther, W., Bates, S.E., Litman, T., Hohenberger, P., and Dietel, M. (2002) Impact of BCRP/MXR, MRP1 and MDR1/P-glycoprotein on thermoresistant variants of atypical and classical multidrug resistant cancer cells. *Int. J. Cancer* 97, 751-760.
58. Surowiak, P., Drag, M., Materna, V., Suchocki S, Grzywa R, Spaczynski M, Dietel, M, Oleksyszyn J, Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) Expression of aminopeptidase N / CD13 in human ovarian cancers. *Int. J. Gynecol. Cancer*, in press
59. Surowiak, P., Maciejczyk, A., Materna, V., Drag-Zalensinska, M., Wojnar, A., Pudelko, M., Kedzia, W., Spaczynski, M., Dietel, M., Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) Unfavourable prognostic significance of S100P expression in ovarian cancers. *Histopathology*, in press

60. Surowiak, P., Materna, M., Denkert, C., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) Significance of cyclooxygenase 2 and MDR1/P-glycoprotein coexpression in ovarian cancers. *Cancer Lett.* 235, 272-280.
61. Surowiak, P., Materna, V., Drag-Zalesinska, M., Wojnar, A., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) Maspin expression is characteristic for cisplatin-sensitive ovarian cancer cells and for ovarian cancer cases of longer survival rates. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 25, 131-139.
62. Surowiak, P., Materna, V., Györfy, B., Matkowski, R., Wojnar, A., Maciejczyk, A., Paluchowski P, Dziegiel, P., Pudelko, M., Kornaffel, J., Dietel, M., Kristiansen, G., Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) Multivariate analysis of estrogen receptor alpha, pS2, metallothionein and CD24 expression in invasive breast cancers. *Br. J. Cancer* 95, 339-346.
63. Surowiak, P., Materna, V., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., Kristiansen, G., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2006) Unfavourable prognostic value of CD24 expression in sections from primary and relapsed ovarian cancer tissue. *Int. J. Gynecol. Cancer* 16, 515-521.
64. Surowiak, P., Materna, V., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2005) Augmented expression of metallothionein and glutathione S-transferase pi as unfavorable prognostic factors in cisplatin-treated ovarian cancer patients. *Virchows Arch.* 447, 626-633.
65. Surowiak, P., Materna, V., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2006) Topoisomerase 1A, HER/2neu and Ki67 expression in paired primary and relapse ovarian cancer tissue samples. *Histol. Histopathol.* 21, 713-720.
66. Surowiak, P., Materna, V., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dolinska-Krajewska, B., Gebarowska, E., Dietel, M., Zabel, M., and **Lage, H.** (2006) ABCC2 (MRP2, cMOAT) can be localized in the nuclear membrane of ovarian carcinomas and correlates with resistance to cisplatin and clinical outcome. *Clin. Cancer Res.*, in press
67. Surowiak, P., Materna, V., Klak, K., Spaczynski, M., Dietel, M., Kristiansen, G., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2005) Prognostic value of immunohistochemical estimation of CD24 and Ki67 expression in cisplatin and paclitaxel treated ovarian carcinoma patients. *Pol. J. Pathol.* 56, 69-74.
68. Surowiak, P., Materna, V., Maciejczyk, A., Kaplenko, I., Spaczynski, M., Dietel, M., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2006) CD46 expression is specific for ovarian cancer cases of shorter revival-free survival. *Anticancer Res.* in press
69. Surowiak, P., Materna, V., Matkowski, R., Szczuraszek, K., Kornaffel, J., Wojnar, A., Pudelko, M., Dietel, M., Denkert, C., Zabel, M., and **Lage, H.** (2005) Relationship between cyclooxygenase 2 and MDR1/P-glycoprotein expressions in invasive breast cancers and their prognostic significance. *Breast Cancer Res.* 7, R862-R870.
70. Surowiak, P., Materna, V., Paluchowski P, Matkowski, R., Wojnar, A., Maciejczyk, A., Pudelko, M., Kornaffel, J., Dietel, M., Kristiansen, G., **Lage, H.**, and Zabel, M. (2006) CD24 expression is specific for tamoxifen-resistant ductal breast cancer cases. *Anticancer Res.* 26, 629-634.
71. Tönnies, H., and **Lage, H.** (2004) Chromosomal imbalances associated with drug resistance and thermoresistance in human pancreatic carcinoma cells. *Eur. J. Cell Biol.* 83, 591-601.
72. Tönnies, H., Poland, J., Sinha, P., and **Lage, H.** (2003) Association of genomic imbalances with drug resistance and thermoresistance in human gastric carcinoma cells. *Int. J. Cancer* 103, 752-758.
73. Wichert, A., Holm, P.S., Dietel, M., and **Lage, H.** (1999) Selection of a high activity ribozyme against the cytostatic drug resistance associated glypican-3 using an in vitro assay containing total tumor RNA. *Cancer Gene Ther.* 6, 263-270.
74. Wichert, A., Stege, A., Midorikawa, Y., Holm, P.S., and **Lage, H.** (2004) Glypican-3 is involved in cellular protection against mitoxantrone in gastric carcinoma cells. *Oncogene* 23, 945-955.

75. Woehlecke, H., Osada, H., Herrmann, A., and **Lage, H.** (2003) Reversal of breast cancer resistance protein-mediated drug resistance by tryprostatin A. *Int. J. Cancer* 107, 721-728.
76. Woehlecke, H., Pohl, A., Alder-Baerens, N., **Lage, H.**, and Herrmann, A. (2003) Enhanced exposure of phosphatidylserine in human gastric carcinoma cells overexpressing the half-size ABC-transporter BCRP (ABCG2). *Biochem. J.* 376, 489-495.
77. Zhou, J., Liu, M., Aneja, R., Chandra, R., **Lage, H.**, and Joshi, H.C. (2006) Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in cancer cells by the c-Jun NH₂-terminal kinase. *Cancer Res.* 66, 445-452.

7.2. ÜBERSICHTSARBEITEN (“INVITED REVIEWS”)

1. Györfy, B., Surowiak, P., and **Lage H.** (2005) Application of microarrays for the prediction of therapy response in breast cancer. *Cancer Genomics and Proteomics* 2, 255-264.
2. **Lage, H.** (1999) Atypische Multidrug-Resistenz. *Arzneimitteltherapie* 17, 39-44.
3. **Lage, H.**, and Dietel, M. (1999) Involvement of the DNA mismatch repair system in antineoplastic drug resistance. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 125, 156-165.
4. **Lage, H.** (2003) ABC-transporters: implications on drug resistance from microorganisms to human cancers. *Int. J. Antimicrob. Agents* 22, 188-199.
5. **Lage, H.** (2003) Drug resistance in breast cancer. *Cancer Ther.* 1, 81-92.
6. **Lage, H.** (2003) Molecular analysis of therapy resistance in gastric cancer. *Digest. Dis.* 21, 326-338.
7. **Lage, H.** (2004) Proteomics in cancer cell research: an analysis of therapy resistance. *Pathol. Res. Pract.* 200, 105-117.
8. **Lage, H.** (2005) Reversal of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by RNA interference. *International Congress Series* 1277, 144-153.
9. **Lage, H.** (2005) Potential applications of RNA interference technology in the treatment of cancer. *Fut. Oncol.* 1, 103-113.
10. **Lage, H.** (2006) MDR1/P-glycoprotein (ABCB1) as target for RNA interference-mediated reversal of multidrug resistance. *Curr. Drug Targets* 7, 813-821.
11. **Lage, H.**, and Denkert, C. (2006) Resistance to chemotherapy in ovarian cancer. *Recent Results Cancer Res.*, in press
12. **Lage, H.**, and Dietel, M. (2000) Effect of the breast cancer resistance protein on atypical multidrug resistance. *Lancet Oncol.* 1, 169-175.

Berlin, den 15.09.2006

PD Dr. rer. nat. Hermann Lage