

## **Abschlussbericht Teilprojekt 11.2.2**

**Projekttitel:** Mechanismen der Fibroseprogression bei der chronischen Hepatitis C

**Projektleiter:** Prof. Dr. Dipl.-Biochem. S. Matern  
Medizinische Fakultät der RWTH Aachen  
Medizinische Klinik III  
Pauwelstr. 30  
52074 Aachen

**Telefon:** +49(0) 241-8088 591

**Fax:** +49(0) 241-8088 455

**E-Mail:** smatern@ukaachen.de

**Berichtszeitraum:** 01.02.2002 – 31.01.2005

## I. Kurzfassung

### **Aufgabenstellung:**

In diesem Projekt wurden als patientenspezifische Risikofaktoren Genpolymorphismen bei Patienten mit progressiver Leberfibrose auf dem Boden einer chronischen Hepatitis C analysiert. Das zweite Kernstück des Projektes war die Analyse eines in vitro und in Zellkultur aktiven TIMP-1-Antagonisten im transgenen Tiermodell.

### **Voraussetzungen:**

Die erforderliche Methodik war in Vorarbeiten bereits etabliert und die erforderliche apparative Ausrüstung war vorhanden. Durch das Kompetenznetz Hepatitis wurde das Projekt durch Mittel für Sachausgaben und eine BAT Vc/2-Stelle gefördert.

### **Planung und Ablauf:**

Das Projekt wurde termingerecht am 01.02.2002 begonnen. Die beiden Teilaufgaben wurden in den Arbeitsgruppen von Frau PD Dr. Elke Roeb und Herrn PD Dr. Frank Lammert bearbeitet.

### **Wissenschaftlicher und technischer Stand:**

Der Schweregrad und klinische Verlauf der Leberfibrose zeigt bei Patienten mit chronischer Hepatitis C starke interindividuelle Unterschiede. In murinen Genomanalysen und humanen Assoziationsstudien konnten wir Genvarianten identifizieren, die die Progression der Leberfibrose beeinflussen. Durch genomweite Kopplungsanalysen in experimentellen Kreuzungen von Inzucht-Mausstämmen wurden bisher unbekannte Fibrose-Susezeptibilitätsgene für die Leberfibrose kartiert. Matrixmetalloproteinasen (MMPs) sind für den Matrixabbau verantwortlich und werden durch spezifische Inhibitoren, sogenannte *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMPs), gehemmt. Die TIMP-1-Expression ist während der akuten und chronischen Leberschädigung deutlich erhöht. Außerdem ist TIMP-1 funktionell mit den fibrogenetischen Pathomechanismen korreliert. Für die Matrix-Ablagerung ist die lokale Balance zwischen aktivierten MMPs und ihren Inhibitoren von entscheidender Bedeutung. TIMP-1 dient als nicht-invasiver Biomarker der hepatischen Fibrose bei Hepatitis B und C. Es besteht zudem eine enge inverse

Korrelation zwischen der TIMP-1-Aktivität und dem antifibrotischen Effekt der Interferontherapie bei Patienten mit chronischer Hepatitis C. Es gibt weiterhin Hinweise darauf, dass die Regression der Leberfibrose mit einer Regression der TIMP-1-Aktivität einhergeht. Durch rationale Mutagenese des MMP-9 Moleküls gelang uns in früheren Arbeiten die Konstruktion von TIMP-1 Antagonisten (MMP-9-mut), die enzymatisch nicht aktiv sind, weiterhin fest an TIMP-1 binden und in vitro die TIMP-1 Aktivität hemmen. Im Tetrachlorkohlenstoff induzierten Fibrosemodell führten einige der Mutanten nach adenoviraler Überexpression zu einer signifikanten Hemmung der Leberfibrose.

### **Zusammenarbeit mit anderen Stellen:**

SFB 542 (RWTH Aachen), Medizinische Nachwuchsgruppe des Landes NRW "Polygene hepatobiliäre Erkrankungen" (PD Dr. Lammert), Kompetenznetz Hepatitis Hep-Net (Arbeitsgruppen Prof. Gressner/Aachen, Prof. Schuppan/Erlangen, PD Dr. Hellerbrand/Regensburg, PD Dr. T. Berg/Berlin).

## **II. Eingehende Darstellung**

### **1. Ergebnisse und wissenschaftlicher Fortschritt**

#### *a) Konstruktion von MMP-9-Mutanten, die als TIMP-1-Antagonisten fungieren*

MMP-9, das eine sehr hohe Affinität zu TIMP-1 besitzt, wurde in Vorarbeiten als Ausgangsmolekül für die Konstruktion von TIMP-1 Antagonisten verwendet [Roeb et al. FASEB J 2000]. Da MMP-9 TGF $\beta$  aktiviert (profibrinogen!) und MMP-9 mit der Invasion hepatozellulärer oder kolorektaler Karzinome assoziiert ist, haben wir mittels rationaler und minimaler Mutagenese, die auf den bereits bekannten Strukturen des TIMP-2/MMP-2 Komplexes beruhen, proteolytisch inaktive MMP-9 Mutanten kloniert. Das Ziel war, MMP-9 so zu mutieren, dass die aggressive proteolytische Aktivität gehemmt wurde ohne die hochaffine Bindung an TIMP-1 zu beeinflussen. Ein nicht katalytisch wirksames Fragment der MMP-9, die sogenannte Hämopexindomäne (AS 529 bis 730, PEX genannt), führte nicht zu einer Hemmung der TIMP-1 Aktivität sondern zu einer Verminderung der MMP-9 Aktivität [Roeb et al. JBC 2002]. Wir vermuten hier in Einklang mit der mittlerweile gelösten Struktur der MMP-9 PEX als

Dimer eine Assoziation zwischen PEX und der Hämopexindomäne aktiver MMP-9 [Cha H *et al.* (2002) J. Mol. Biol. 320, 1065]. Diese Dimerisierung würde zum Aktivitätsverlust von MMP-9 aufgrund der Verlegung der primären Substratbindungsstelle führen. Die PEX ist somit für die Fibrotherapie, bei der eine Erhöhung der MMP-Aktivität durch Hemmung von TIMP-1 angestrebt wird, ungeeignet. Das MMP-9 Molekül wurde deshalb in seiner Struktur weitgehend belassen. Sämtliche realisierten MMP-9 Mutationen wurden im aktiven Zentrum der MMP-9 durchgeführt. Die Punktmutationen innerhalb des *catalytic cleft* sollten die 3D Struktur des Enzyms nicht beeinflussen, so dass eine Immunantwort im Mausmodell mit hoher Wahrscheinlichkeit unterbleibt. Um den Einfluss der MMP-9-Mutanten auf die Fibrogenese im Mausmodell zu untersuchen, wurden für sämtliche Mutanten in Zusammenarbeit mit PD Dr. R. Weiskirchen (Aachen) adenovirale Vektoren (Ad5-Derivate) konstruiert. Die Funktionalität der Vektoren wurde zunächst in Zellkultur an HepG2 Zellen überprüft. Alle Mutanten und Wildtyp MMP-9 wurden exprimiert. Die Proteinexpressionsmengen schwankten zwischen 1-10 nM (quantifiziert mittels ELISA). Vor dem Einsatz im Tiermodell wurden alle adenoviralen Konstrukte *in vitro* charakterisiert. Rekombinante Mutanten wurden aus Zellkulturüberständen angereichert und mittels Affinitätschromatographie mit Gelatin-Sepharose aufgereinigt. Aus 200 ml Überstand wurden 50-200 µg MMP-9-mut von einer Reinheit zwischen 80 und 90% gewonnen [Roderfeld, M *et al.* (2004) Gastroenterology in revision]. Der komplette Verlust der enzymatischen Aktivität der MMP-9 Mutanten wurde mittels Zymographie und eines Fluoreszenzassays mit einem synthetischen fluorogenen MMP-Substrat belegt. Der Fluoreszenzassay diente nach Zugabe von murinem TIMP-1 auch zur Quantifizierung der TIMP-1 Antagonisierung aller MMP-9 Mutanten. Die Rekonstruktion der ursprünglichen MMP-9 Aktivität nach Zugabe der MMP-9-Mutanten (TIMP-1-Antagonisten) nahm mit zunehmender Konzentration der Mutanten zu und lag zwischen 80 und 91%. Im Tiermodell wurde die hepatische Expression der Mutanten nach adenoviraler Injektion in die Schwanzvene mittels quantitativer PCR (Light Cycler) belegt.

*b) MMP-9-Mutanten hemmen die Fibrogenese bei Tetrachlorkohlenstoff-induzierter (CCI4) Leberfibrose*

Im Tetrachlorkohlenstoffmodell reduziert die adenovirale Applikation inaktivierter MMP-9 Mutanten den Fibrosegrad im METAVIR Score signifikant [Roderfeld M *et al.*

(2004) *Gastroenterology in revision*]. Auch die Bestimmung des Leber-Kollagengehalts mittels Sirius Red Färbung sowie die Hydroxyprolin Bestimmung im Leberlysate belegen den antifibrotischen Effekt z.B. der Mutante E402Q. E402Q und H401A führen in der quantitativen PCR zudem zu einer signifikanten Verminderung der Expression Fibrose-relevanter Gene (Typ I Kollagen, TIMP-1 und MMP-2). Parallel zum verminderten Hydroxyprolin Gehalt durch die MMP-9 Mutanten fanden wir auch eine verminderte Expression des  $\alpha$ -*smooth muscle actin*, eines Markers für aktivierte HSC. Erste Untersuchungen an isolierten HSC *in vitro* deuten auf eine verminderte Transdifferenzierung der HSC unter dem Einfluss der TIMP-1 Antagonisten hin [Roderfeld M *et al.* (2004) *Gastroenterology in revision*]. Wir haben erste Hinweise dafür, dass die autokrine Inhibition der HSC-Apoptose durch TIMP-1 infolge der MMP-9-Mutanten antagonisiert wird. Die Abnahme der Zahl aktivierter HSC unterbricht den fibrotischen Prozess. Zu diesem Zeitpunkt kommt die erhöhte proteolytische Aktivität in fibrotischer Leber zum Zuge und führt über eine gesteigerte Fibrolyse zu einer Nettoabnahme der ECM, was die Regeneration des Parenchyms einleitet. Die Ergebnisse wurden auf der AASLD 2004 als Vortrag präsentiert.

*c) Applikation hydrophiler Gallensäuren reduziert die hepatische TIMP-1 Expression*  
Aufgrund des unterschiedlichen Gallensäure-Metabolismus in Hepatoblastomzell-Linien im Vergleich zu primären Zellen [Ellis *et al.* BBA 2001], wurde der Einfluss hydrophiler Gallensäuren auf die hepatische TIMP-1 Expression im Rattenmodell der extrahepatischen Cholestase untersucht [Roeb *et al.* Scand J Gastroenterol 2003]. Dies ist in sofern sinnvoll, als dass eine extrahepatische Cholestase über die Leber hinaus auch die Darmmukosa beeinflusst und hier z.B. Transportmoleküle wie das *multidrug resistance-associated protein 2*, deren Funktion wiederum Einfluss auf die Aufnahme hepatoprotektiver oder schädigender Substanzen hat [Dietrich *et al.* *Gastroenterology* 2004].

Die extrahepatische Cholestase nach Ligatur des Ductus hepaticus choledochus induziert eine Akut Phase Reaktion in der Leber. Wir haben den Einfluss der hepatoprotektiven Gallensäuren Ursodeoxycholsäure (UDCA) und isoUDCA auf die Akut-Phase-Reaktion untersucht und die zugrunde liegenden Zytokinspiegel in der Leber gemessen. Nach dreiwöchiger Cholestase führte eine orale Applikation von UDCA oder isoUDCA zu einer Verminderung der  $\alpha$ 2-Makroglobulinexpression, dem Haupt-Akut-Phase-Protein in der Ratte, und zu einer signifikanten Reduktion der

TIMP-1 Expression in der Rattenleber [Roeb et al. Scand J Gastroenterol 2003]. Diesem Effekt lag eine verminderte hepatische Expression der inflammatorischen Zytokine IL-6 und TNF $\alpha$  zugrunde, wohingegen das antiinflammatorische IL-10 nicht beeinflusst wurde. Die zugrunde liegenden Mechanismen, über die UDCA zu einer verminderten Expression inflammatorischer Zytokine und verminderten TIMP-1 Expression führt, müssen noch weiter aufgeklärt werden.

*d) Einfluss einer Zytokinblockade auf die hepatische Expression von TIMPs und MMPs im CCl<sub>4</sub> Modell*

Wir haben die hepatische MMP-2/-9/-3/-1 und -13 Expression nach medikamentöser IL-1 $\beta$  Blockade im CCl<sub>4</sub> induzierten Fibrosemodell der Maus untersucht [Geier, A et al. (2004) eingereicht]. Fibrose-suszeptible BALB/c Inzuchtmäuse [Lammert et al. Gastroenterology 2002;123:2041-2051] wurden über 4 Wochen täglich mit Kin2, einem *subcutan* zu applizierenden spezifischen IL-1 $\beta$  Rezeptorantagonisten behandelt. Parallel erhielten die Mäuse eine intraperitoneale CCl<sub>4</sub> Injektion 2 x wöchentlich. Die histologische Auswertung der Leberschnitte nach 4 Wochen ergab eine signifikante Verbesserung des METAVIR Scores durch die Kin2 Applikation im Vergleich zur alleinigen CCl<sub>4</sub>-Injektion. Die Leberlysate wurden auf verschiedene Marker hin mittels quantitativer PCR untersucht. In der Kin2 Gruppe konnten wir im Vergleich zur CCl<sub>4</sub> Kontrollgruppe einen signifikanten Anstieg der MMP-13 mRNA verzeichnen (p=0,0048). Die übrigen fibroserelevanten Gene (MMP-9, MMP-2, TGF $\beta$ , und alpha1(I) Kollagen) zeigten dagegen keine signifikanten Expressionsänderungen. In HSC wurde eine reziproke Regulation von alpha1(I) Kollagen und MMP-13 beschrieben. MMP-13 wird vor allem in den nicht zu Myofibroblasten-ähnlichem Phänotyp transformierten HSC sowie in Kupfferzellen gebildet. MMP-13 hydrolysiert hauptsächlich Komponenten der ECM und wurde bereits als wichtige MMP für die Auflösung der Fibrose im CCl<sub>4</sub>-Modell beschrieben [Lee HS et al. (2001) Hepatogastroenterology 48, 1114-1117]. In weiteren Versuchen muss nun geklärt werden durch welchen Mechanismus (Transformationshemmung der HSC?, Apoptose der HSC?) bei einer IL-1 $\beta$  Blockade MMP-13 induziert wird bzw. wie MMP-13 zur Reduktion der ECM führt.

*e) Effekte von TIMP-1 und TIMP-1-Antagonisten auf die Migration von Leberzellen*

Mehrere intrazelluläre Signaltransduktionswege sind an der MMP-9-Genexpression beteiligt. Zu den wichtigsten stimulatorischen und inhibitorischen Faktoren zählen Interferone, Mitogene, Wachstumsfaktoren, PMA, TNF $\alpha$ , IL-1 und TGF $\alpha$  (Übersicht in [Van den Steen et al. (2002) Crit Rev Biochem Mol Biol 37, 375-536]). TIMP-1 ist ein multifunktionales Protein mit Bedeutung für Zellwachstum, Fibrose, Angiogenese und Apoptose. In humanen Hepatomzell-Linien konnten wir eine verstärkte Expression von MMP-2 und MMP-9 nach TIMP-1 Überexpression nachweisen [Roeb et al. (1999) J. Cell. Biochem. 75:346-55]. Jetzt gelang uns der Nachweis einer verstärkten Zellmigration in der Boyden Kammer infolge TIMP-1 Überexpression, die allerdings durch eine MMP-Inhibition mittels Galardin (unspezifischer synthetischer MMP-Inhibitor) oder spezifischer Gelatinaseinhibitoren reduziert wurde [Roeb et al. WJG in press]. Verglichen mit Wildtyp HepG2 Zellen, zeigen HepG2-TIMP-1 eine signifikant erhöhte Migration ( $p < 0.05$ ) und Zellen, die den TIMP-1-Antagonisten MMP-9-H401A überexprimieren eine auf 62% verminderte Migration ( $p < 0.01$ ). Galardin reduzierte die Migration dosisabhängig in allen Fällen. Zudem haben wir intrazelluläre Signalwege in Abhängigkeit von einer TIMP-1 Überexpression untersucht. TIMP-1 deaktiviert die p38 MAPK-abhängigen Signalwege von MMP-2 und MMP-9 [Roeb et al. WJG in press]. Die Migration von Hepatomzellen kann also durch TIMP-1 verstärkt werden, dieser Effekt ist aber unabhängig von der MMP-inhibierenden Funktion von TIMP-1 und wird sogar durch spezifische MMP-Inhibitoren reduziert. Wie die Beeinflussung der Signaltransduktion durch TIMP-1 stattfindet, über einen speziellen TIMP-1-Rezeptor oder indirekt über bereits bekannte andere Rezeptoren ist nach wie vor völlig unklar.

*f) Genpolymorphismen als Prognosefaktoren bei Patienten mit chronischer Hepatitis*

C

Zu den patientenspezifischen, genetischen Risikofaktoren, die den Verlauf einer chronischen Virushepatitis und das Ansprechen auf eine antivirale Therapie beeinflussen könnten, werden Polymorphismen von Schlüsselenzymen der hepatischen Biotransformation und des hepatobiliären Substrattransports von Endo- und Xenobiotika gerechnet. In diesem Teilprojekt sollten potenzielle Modulatoren der Fibrose-Suszeptibilität durch die Analyse von Genpolymorphismen charakterisiert

werden. Zunächst konnten im Inzuchtmausmodell der CCl<sub>4</sub>-induzierten Leberfibrose durch Genomanalysen (*Quantitative Trait Locus*-Analysen und *in silico* Haplotyp-Analysen) erfolgreich bisher unbekannte Suszeptibilitäts-Gene (*Hfib*-Genloci) identifiziert und kartiert werden [Lammert et al. *Gastroenterology* 2002;123:2041-2051]. Polymorphismen der orthologen humanen *Hfib*-Gene können jetzt bei klinisch, biochemisch und serologisch detailliert charakterisierten Patienten mit chronischer Virushepatitis getestet werden. In unseren bereits etablierten Patientenkollektiven sowie in Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen Prof. Dr. A.M. Gressner (Aachen), PD Dr. T. Berg (Charité) und PD Dr. C. Hellerbrand (Regensburg) wurden im vergangenen Förderzeitraum die Bedeutung von Genpolymorphismen des Hämochromatose-Gens *HFE*, des Chemokinrezeptors *CCR5*, des Chemokins *RANTES* und des *Master*-Cytokins der Leberfibrose *TGFB1* untersucht [Wasmuth HE et al. *BMC Infect Dis* 2004;4:1-8, Wasmuth HE et al. *Hepatology* 2004;40:327-334, *J Mol Med* 2004;82:64-69, Wasmuth HE et al. *J Mol Med* 2004;82:64-69; Geier A et al. *Liver Int* 2004;24:285-294, Tag et al. *Cytokine* 2003;24:173-181]. Als Methoden kamen RFLPs, *Taq Man*-Assays und Direktsequenzierung zum Einsatz. Die Daten wurden mit dem klinischen Verlauf, laborchemischen Parametern, der Entzündungsaktivität, dem Stadium der Fibrose und Autoimmunphänomen korreliert. Erstmals konnten im Rahmen einer Haplotypanalyse *RANTES*-Polymorphismus mit einer verminderten Wahrscheinlichkeit für das Ansprechen auf eine antivirale Therapie bei chronischer Hepatitis C assoziiert werden [Wasmuth HE et al. *Hepatology* 2004;40:327-334, *Hepatology* 2004;39:604-607]. Die Ergebnisse sollen zukünftig in größeren Patientenkollektiven im Rahmen von HEPNET validiert werden.

## **2. Verwertungsplan**

Insgesamt tragen unsere Untersuchungen zum besseren Verständnis der pathophysiologischen Grundlagen der Leberfibrose und deren Therapiemöglichkeiten bei. Angestrebt werden die Identifizierung weiterer Risikogene für die Leberfibrose bei Patienten mit chronischer Hepatitis C und die Charakterisierung der molekularen Pathomechanismen in genetisch definierten Mausmodellen. Die Ergebnisse werden in wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert und finden Eingang in die Planung diagnostischer und therapeutischer Studien bei Patienten mit chronischer Hepatitis C im Speziellen und chronischen fibrosierenden



Lebererkrankungen im Allgemeinen.

### 3. Projektbezogene Veröffentlichungen 2002-2004

- 1) Dietrich CG, Geier A, Salein N, **Lammert F, Roeb E**, Oude Elferink RP, **Matern S**, Gartung C. Consequences of bile duct obstruction on intestinal expression and function of multidrug resistance-associated protein 2. *Gastroenterology* 2004;126:1044-1053
- 2) Fickert P, Fuchsbichler A, Wagner M, Zollner G, Kaser A, Tilg H, Krause R, **Lammert F**, Langner C, Zatloukal K, Marschall HU, Denk H, Trauner M. Regurgitation of bile acids from leaky bile ducts causes sclerosing cholangitis in Mdr2 (Abcb4) knockout mice. *Gastroenterology* 2004;127:261-274
- 3) Figge A, **Lammert F**, Paigen B, Henkel A, **Matern S**, Korstanje R, Shneider BL, Chen F, Stoltenberg E, Spatz K, Hoda F, Cohen DE, Green RM. Hepatic overexpression of murine Abcb11 increases hepatobiliary lipid secretion and reduces hepatic steatosis. *J Biol Chem* 2004;279:2790-2799
- 4) Geier A, Reugels M, Weiskirchen R, Wasmuth HE, Dietrich CG, Siewert E, Gartung C, Lorenzen J, Bosserhoff AK, Brüggmann M, **Matern S, Lammert F**. Common heterozygous hemochromatosis gene mutations are risk factors for inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C. *Liver Int* 2004;24:285-294
- 5) Geier A, Siewert E, Dietrich CG, **Lammert F**, Heinrich PC, **Matern S**, Gartung C. Contribution of interleukin-6 to organic anion transporter regulation during the hepatic acute phase response. *Biochem Biophys Res Comm* 2004;322:232-238
- 6) Hillebrandt S, Goos C, **Matern S, Lammert F**. Genome-wide analysis of hepatic fibrosis in inbred mice identifies the susceptibility locus Hfib1 on chromosome 15. *Gastroenterology* 2002;123:2041-2051
- 7) **Lammert F**, Hillebrandt S, **Matern S**. Identification of fibrogenic genes in a polygenic mouse model of liver fibrosis. In: Gressner AM, Heinrich PC, Matern S (Hrsg.). *Cytokines in liver injury and repair*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 2002, S. 173-176
- 8) **Lammert F**, Wang DQ, Hillebrandt S, Geier A, Fickert P, Trauner M, **Matern S**, Paigen B, Carey MC. Spontaneous cholecysto- and hepatolithiasis in Mdr2 knockout mice: a model for human low phospholipid-associated cholelithiasis. *Hepatology* 2004;39:117-128

- 9) **Lammert F**, Wilkens G, Dietrich CG, Geier A, Wasmuth HE, **Matern S**. Extrahepatische Manifestationen chronischer Lebererkrankungen. *Versicherungsmedizin* 2004; im Druck
- 10) Roderfeld M, **Matern S**, **Roeb E**. Confocal laser scanning microscopy: a deep look into the cell. *Dtsch Med Wochenschr* 2003;128:2539-2542
- 11) **Roeb E**, Bosserhoff AK, Hamacher S, Jansen B, Dahmen J, Wagner S, **Matern S**. Enhanced migration of TIMP-1 overexpressing hepatoma cells is attributed to gelatinases: relevance to intracellular signaling pathways. *World J Gastroenterol* 2004, im Druck
- 12) **Roeb E**, Purucker E, Gartung C, Geier A, Jansen B, Winograd R, **Matern S**. Effect of glutathione depletion and hydrophilic bile acids on hepatic acute phase reaction in rats with extrahepatic cholestasis. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:878-885
- 13) **Roeb E**, Schleinkofer K, Kernebeck T, Pötsch S, Jansen B, Behrmann I, Matern S, Grötzinger J. The matrix metalloproteinase 9 (mmp-9) hemopexin domain is a novel gelatin binding domain and acts as an antagonist. *J Biol Chem* 2002;277:50326-50332
- 14) **Roeb E**, **Matern S**. Matrix metalloproteinases and colorectal cancer. *Med Klin* 2003;98:763-770
- 15) Wasmuth HE, Werth A, Müller T, Berg T, Dietrich CG, Geier A, Schirin-Sokhan R, Gartung C, Lorenzen J, **Matern S**, **Lammert F**. CC Chemokine Receptor 5  $\Delta$ 32 poly-morphism in two independent cohorts of HCV infected Caucasian patients without hemophilia. *J Mol Med* 2004;82:64-69
- 16) Wasmuth HE, Stolte C, Geier A, Dietrich CG, Gartung C, Lorenzen J, **Matern S**, **Lammert F**. The presence of non-organ-specific autoantibodies is associated with a negative response to combination therapy with interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *BMC Infect Dis* 2004;4:1-8
- 17) Wasmuth HE, **Matern S**, **Lammert F**. From genotypes to haplotypes in hepatobiliary diseases: one plus one equals (sometimes) more than two. *Hepatology* 2004;39:604-607
- 18) Wasmuth HE, Werth A, Müller T, Berg T, Dietrich CG, Geier A, Gartung C, Lorenzen J, **Matern S**, **Lammert F**. Haplotype tagging RANTES gene variants influence response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;40:327-334

19) Wasmuth HE, Kunz D, Vidacek D, Koch A, Gartung C, Gressner AM, **Matern S, Lammert F**. Patients with acute on chronic liver failure display "sepsis-like" immunoparalysis. J Hepatol 2005; im Druck

20) Wasmuth HE, **Lammert F, Matern S**. Genetische Risikofaktoren der Fibrogenese bei chronischen Lebererkrankungen. Med Klinik 2003;98:754-762