

BIOBANKEN UND PATHOLOGIE

BIOBANKS AND PATHOLOGY



Fluoreszenzmikroskop





Maria Stecklum bei der PCR

BIOBANKEN UND PATHOLOGIE

AN DER SCHNITTSTELLE VON GRUNDLAGEN- UND KLINISCHER FORSCHUNG

TEXT **RUSS HODGE, BARBARA URBAN**
FOTOS **REINER ZEISIG**

Über die Zusammenarbeit von MDC, Charité und Patienten an einer vielversprechenden Pipeline für die Krebsforschung.

Für Patienten ist ein Tumor ein bedrohlicher Fremdkörper, der so schnell wie möglich zerstört werden muss. Für Ärzte und Wissenschaftler dagegen ist das gleiche Gewebe eine erhaltenswerte Ressource. Warum? Die Prozesse, die sich auf molekularer Ebene im Tumor abspielen, geben Auskunft über sein Entstehen, sein Wachstum und seine Ausbreitung. Dieses Wissen kann zu besseren Behandlungs- und Heilungsmethoden führen. Um möglichst viele neue Erkenntnisse aus den Gewebeproben zu gewinnen, müssen diese sorgfältig dokumentiert und in Tumor-Biobanken gesammelt werden. Prof. Peter M. Schlag, der heute Leiter des Charité Comprehensive Cancer Center (CCCC) ist, und seine Mitarbeiter haben dies in jahrelanger Arbeit in der chirurgischen Abteilung der Robert-Rössle-Klinik auf dem Bucher Campus getan. Mit Hilfe dieser systematischen Sammlung konnten im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprojektes mit Prof. Ulrike Stein (MDC und Charité) bereits neue Marker für metastasierenden Darmkrebs identifiziert werden. Prof. Peter M. Schlag verfolgte die Idee einer Tumor-Biobank nach seinem Wechsel als Direktor an das Comprehensive Cancer Center der Charité (CCCC-TBB) konsequent weiter. Hierbei bot sich die besondere Möglichkeit, wertvolle Synergien mit der von Prof. Manfred Dietel (Direktor des Institutes für Pathologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin) zusammen mit Prof. Michael Hummel (Leiter ZeBanC) konzipierten und vom BMBF geförderten Zentralen Biobank Charité – ZeBanC zu nutzen und auf eine breite Basis zu stellen.

Viele Wissenschaftler schätzen das enorme Potential von Biobanken bei der Entwicklung einer „personalisierten Medizin“ und arbeiten deshalb seit langem Institutionen übergreifend zusammen, wie die enge Kooperation der Forschungsgruppen von Dr. Iduna Fichtner (MDC) und von Prof. Peter M. Schlag zeigt.

Wie eine Tumor-Biobank entsteht

Entnimmt ein Chirurg während einer Operation einem Patienten krankes Gewebe, wird es sofort von einem Pathologen untersucht. Dieser überprüft die Diagnose und informiert den Chirurgen, der dann über die weitere Behandlung entscheidet – Routinepathologie. Hat der Patient im Vorfeld seine Einwilligung gegeben, wird die Gewebeprobe in flüssigem Stickstoff schockgefroren und anonym verschlüsselt in eine Tumor-Biobank aufgenommen. „Solche Sammlungen sind mit riesigen Bibliotheken zu vergleichen“, sagt die Wissenschaftlerin Dr. Esmeralda Heiden vom CCC. „So erfasst, können die Proben für viele Forschungsarbeiten verwendet werden.“

Vom Patienten zur Maus...

Ebenso wichtig wie die Konservierung in Tumorbanken ist es, die Gewebe vital zu erhalten, um die ständig im Patienten stattfindenden dynamischen Regulationsmecha-

nismen simulieren zu können. „Dies gelingt durch direkte Transplantation von Tumorgewebe in Mäuse“ erklärt Iduna Fichtner. Die Verpflanzung von Gewebe von einer Spezies (hier: Mensch) zu einer anderen (hier: Maus) heißt Xenotransplantation. „Um solche Modelle zur Erforschung neuer Krebstherapien zu entwickeln, braucht es nicht nur gut ausgestattete Labore und Unternehmen, sondern auch ein Disziplinen übergreifendes Zusammenspiel von Wissenschaftlern und Klinikern aus universitärer und außeruniversitärer Forschung“, sagt die MDC-Wissenschaftlerin. „Wir arbeiten zum Beispiel seit den frühen 1990er Jahren mit der Forschungsgruppe von Peter Schlag zusammen.“

Iduna Fichtner gehört zu den Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, die schon lange in der außeruniversitären Forschung tätig sind. Bereits vor der Gründung des MDC im Jahr 1992 arbeitete sie als Abteilungsleiterin im Zentralinstitut für Krebsforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR, einer der Wissenschaftseinrich-



Kryoröhrchen mit Tumorproben



Margit Lemm bei der Probenentnahme aus der Biobank

tungen der DDR auf dem Bucher Campus. Das Zentralinstitut für Krebsforschung war für seine exzellente klinische und translationale Forschung sehr bekannt, ein Gedanke, der auch bei Gründung des MDC weiterverfolgt wurde. 1992 bewarb sich Iduna Fichtner, wie andere ehemalige Angestellte der Akademie der Wissenschaften, am neu gegründeten MDC. Sie erhielt eine unbefristete Stelle und konnte so ihre Forschung fortsetzen. Seit dieser Zeit leitet sie die MDC-Gruppe „Experimentelle Pharmakologie“. Ihre Forschungsgruppe entwickelt Zellkultur- und Tiermodelle für Krebserkrankungen und sucht nach neuen Biomarkern für die Testung neuer, zielorientierter Antitumor-Medikamente.

„In den letzten zwei Jahrzehnten haben wir mehr als zweihundert Patienten-abgeleitete Xenograft-Modelle von Krebsarten wie Leukämien, Sarkomen, Mamma-, Kolon-, Ovarial- und Lungenkarzinomen etabliert“, sagt Frau Fichtner. Diese Xenograft-Modelle wurden in histologischen, immunhistochemischen und genetischen Studien untersucht. Ein entscheidender Schritt beim Wissenstransfer von der Maus zum Menschen ist sicherzustellen, dass die Tumore nach der Entnahme vom Patienten keine signifikanten Veränderungen erfahren haben. „Tests haben bewiesen, dass die Xenograft-Tumore hochgradig ähnlich den originalen klinischen Proben blieben“, erklärt Fichtner. Die Tiertumore sprachen auf Krebsmittel wie Paclitaxel, Gemcitabin und Carboplatin auf eine Weise an, die deren Wirksamkeit beim Menschen widerspiegelt. Darüber hinaus kann man in diesen Modellen auch neuere zielgerichtete Medikamente untersuchen und die Abhängigkeit ihrer Antitumorwirkung von auftretenden Genmutationen nachvollziehen. „Allerdings zeigte sich auch, dass jeder Tumor sehr individuell auf eine Reihe von Wirkstoffen reagiert, die in der klinischen Routine angewandt werden oder sich in der Entwicklung befinden“, so Fichtner.

...und von der Maus zurück zum Patienten

Eine Maus von einem Krebs zu heilen, der von einem bestimmten Patienten abgeleitet wurde, könnte ein vielversprechender Weg zu optimierten Behandlungsformen für den ursprünglichen Gewebespende sein. Seit zwei Jahren arbeiten die Wissenschaftler von CCCC, MDC, MPI für Molekulare Genetik in Berlin und der Firma Experimentelle Pharmakologie & Onkologie (EPO) daher gemeinsam an neuen Forschungsprojekten, wie z.B. TREAT 20, ColoNet. Ziel von TREAT 20 ist, Patienten mit einem metastasierenden Melanom zu helfen, bei denen eine ganze Reihe von Therapien nicht angeschlagen hat. Die Wissenschaftler planen, von 20 solcher Patienten Gewebe zu gewinnen und daraus Xenografts zu entwickeln. Inzwischen sind bereits 14 Proben in Zellkultur vermehrt und zur Entwicklung von Tiermodellen verwendet worden.

Das Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin hat mit Studien zur Tiefensequenzierung gezeigt, dass die Tumore in den Tiermodellen noch die Eigenschaften der menschlichen Ausgangsprobe besitzen, denn die Tiefensequenzierung liefert eine sehr detaillierte Beschreibung der Tumor-DNA. Aber auch neue Mutationen, die in den Tumoren stattfinden, können durch die vergleichende Tiefensequenzierung angezeigt werden.

Neben einer Vielzahl biologischer Daten kann das Projekt auch Informationen über Veränderungen in der Genexpression liefern. Bei einem der experimentellen Ansätze beobachteten die Wissenschaftler, dass sich der Tumor nach der Behandlung stark verkleinerte. Ob ein solcher Therapieansatz wirklich erfolgreich ist, wird mit weiteren Xenograft-Studien untersucht. Daraus werden dann Medikamenten-Empfehlungen für die behandelnden Ärzte abgeleitet. Untersuchungen in Xenograft-Systemen können auch zeigen, warum therapeutische Ansätze, die zunächst vielversprechend scheinen, bei längerer Behandlung versa-

gen. So tragen sie zur Aufklärung von Resistenzmechanismen in der Krebstherapie bei.

Patienten als Partner in der Forschung

Für Patienten ist es günstig, wenn ihr Tumor zu einer bekannten Kategorie gehört, die gut auf eine bestimmte Behandlung anspricht. Aber wie viele Kategorien gibt es, welche genetischen und umweltbedingten Faktoren haben Einfluss auf die Entwicklung eines Tumors und was entscheidet darüber, wie ein Patient auf die Therapie reagiert? Die Antwort auf diese Fragen erfordert eine enge Partnerschaft zwischen Klinik, großen Biobanken, Forschungslabors und Unternehmen.

Die meisten Kliniker würden sich wünschen, dass Patienten vorab aufgeklärt werden, warum das Großprojekt „Biobanken“ so wichtig ist. Den beteiligten Wissenschaftlern ist klar, dass natürlich jeder Patient das Recht hat, die Mitwirkung an Forschungsprojekten wie diesem zu verweigern. Aus ihrer Sicht wäre es jedoch tragisch, wenn dies aus Unwissenheit geschehen würde, denn jede neuartige Behandlung ist das Ergebnis aus der Erforschung von Proben anderer Menschen, die einer Nutzung ihres Gewebes für Forschungszwecke zugestimmt hatten.

„Wenn das gesammelte Gewebematerial nicht genutzt wird, gehen vielleicht wichtige Informationen verloren“, sagt Iduna Fichtner. „Je mehr Patienten sich an interdisziplinären Forschungsprojekten wie dem unsrigen beteiligen, desto mehr Menschen kann geholfen werden. Und vielleicht kommen wir durch diese Arbeit der ‚personalisierten Medizin‘ ein Stück näher.“



Dr. Iduna Fichtner wurde im Erzgebirge geboren. Sie hat in Jena und Halle Pharmazie studiert und promoviert. 1977 startete sie als Wissenschaftlerin am Zentralinstitut für Krebsforschung der Akademie der Wissenschaften in Berlin-Buch und habilitierte sich 1986 zur Wirksamkeit liposomaler Formulierungen von Zytostatika. Kurz danach wurde sie Abteilungsleiterin im Zentralinstitut für Krebsforschung. Seit 1992 leitet sie die Forschungsgruppe „Experimentelle Pharmakologie“ am MDC. 1997 gründete sie mit ihrem inzwischen pensionierten Kollegen, Dr. Christian Nowak, das Unternehmen „Experimental Pharmacology & Oncology Berlin-Buch GmbH“ (EPO), deren Geschäftsführer heute Dr. Jens Hoffmann ist. Gestartet als Spin-Off aus dem MDC agiert EPO heute weltweit und arbeitet mit mehr als 100 wissenschaftlichen Institutionen, Biotech- und Pharma-Unternehmen zusammen.

Dr. Iduna Fichtner comes from the Erzgebirge, located in the southeastern part of Germany. She studied pharmacy in Jena and Halle, where she also received her PhD. In 1977 she began her career as a scientist at the Central Institute for Cancer Research of Academy of Sciences in Berlin Buch. In 1986 she completed her post-doctoral thesis (Habilitation) on the efficacy of liposomal formulations with cytostatic drugs. Until 1991 she was department head at the Central Institute for Cancer Research. Since 1992 she has been employed as senior scientist and leader of the research group „Experimental Pharmacology“ at the MDC. In 1997, together with Dr. Christian Nowak, she co-founded the company Experimental Pharmacology & Oncology Berlin-Buch GmbH (EPO) as a spin-off from the Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC). Today, Dr. Jens Hoffmann is the CEO of EPO. EPO currently has customers from more than 100 scientific institutes, biotech and pharmaceutical companies worldwide.



Marlen Keil at the bench

Biobanks and pathology at the crossroads of basic and clinical science

TEXT **RUSS HODGE, BARBARA URBAN** PHOTOS **REINER ZEISIG**

The MDC, Charité, and patients collaborate on a unique pipeline for cancer research.

For a patient, a tumor is something to be destroyed or removed from the body as quickly as possible. For doctors and scientists, this same tissue represents a crucial resource: molecular processes in tumors provide information about the origin, growth, and spread of cancer that could lead to better treatments or cures. Taking full advantage of tumor specimens requires that they be meticulously annotated and collected in “Biobanks” such as the one Professor Peter M. Schlag of the Charité-Universitätsmedizin Berlin and MDC and his colleagues have been amassing, starting when he began in the surgical department of the Robert-Rössle Clinic on the Buch campus. In the framework of a research collaboration, this collection has already led to discoveries such as new markers for metastatic colon cancer, discovered by Professor Ulrike Stein’s lab at the MDC and Charité. Prof. Schlag continued to push the idea of the tumor biobank when he became director of the CCCC, and now the collection is known as the CCCC-TBB. This offered the unique opportunity to develop valuable synergies with the Central Biobank of the Charité (ZeBanC), which was conceived by Prof. Manfred Dietel (Director of the Institute of Pathology at the Charité) with Prof. Michael Hummel (now the Director of the ZeBanC) and funded through an application they made to the BMBF. As a result, the project has expanded its reach and has a stronger foothold.

A crucial role for pathologists

Pathologists with the right “mindset” make excellent research partners. “Routine pathology,” says CCCC scientist Dr. Esmeralda Heiden, “is an essential step in

Margit Lemm from the Fichtner lab takes samples from the biobank



surgery. Tissue is removed during an operation and it immediately goes to a pathologist who checks the diagnosis for the surgeon. Then, if patients have given their consent, we take an additional step: part of the tissue is collected and snap-frozen in liquid nitrogen. From there it goes into the Tumor Biobank." Such collections are like vast reference libraries that can be accessed by researchers at the MDC and elsewhere.

"A good pathologist wants to know why things happen in cancer tissues," Heiden says. "As well as exploring disease mechanisms, there are further steps that can be taken toward clinical applications. For example, culture cells from a specific patient's tumor can be transplanted, or xenografted, into mice, where they grow into the same type of tumor. This gives us models to explore potential new cancer therapies." Additionally, xenografts serve as a sort of factory to produce more of the cancerous tissue, to keep it alive, and to study tumor markers in a dynamic way.

A pipeline from patient to mouse...

Making such models has long been the focus of Iduna Fichtner's lab at the MDC, requiring the assembly of a pipeline involving her lab, the Charité, clinics around Berlin and the company EPO founded by Fichtner. This work predates the MDC; Fichtner served as department head in the Central Institute for Cancer Research of the Academy of Sciences of the GDR on the Berlin-Buch campus. After German reunification, she started a group focused on "Experimental Pharmacology" at the MDC.

"Our lab has developed a range of cancer xenograft models to test novel compounds, identify new biomarkers, and explore tumor mechanisms. Turning such models into new therapies requires well-equipped labs and companies and cross-disciplinary interactions between scientists and clinicians from university and non-university research institutes." She has collaborated with Schlag's laboratory, for example, since the early 1990s. One result: more than 200 patient-derived xenograft models for cancer ranging from leukemia and

sarcomas to cancer of the breast, colon, ovaries, and lung.

A 2008 study published in *Clinical Cancer Research* reported on 25 xenograft mouse models successfully developed from human lung tumors. The animal tumors were highly similar to the original clinical samples and responded to several cancer drugs in a way that mirrored human responses. But each tumor reacted in an individual way, hinting at the need for personalized therapies.

"This pipeline helps us achieve better classifications of tumors and make better decisions about how they should be treated," Fichtner says. "Curing a mouse tumor derived from a specific patient might be the most promising approach to finding a treatment for the human. That treatment might already exist, or we may have to be more creative."

...and from mouse back to the patient

A current project involves patients with metastatic melanomas that have failed to respond to other therapies; it brings together scientists from the MDC, pathologists at the Tumor Biobank, and EPO. The aim is to obtain 20 specimens for the Biobank and to use them to create animal models; so far 14 have been collected. Collaborators at the Max Planck Institute for Molecular Genetics in Berlin are using "deep sequencing" to study tumor DNA, demonstrating that xenografts still have the characteristics of the original human tissue. The work also reveals the appearance of new mutations and changes in gene expression in the tumors.

One experimental therapy led to clear reductions in tumor size in the mouse. Would it also help the patient? Here the team ran into the next hurdle: "Even when a patient has run out of other options, moving on to a human trial is very difficult," Heiden says. "Professor Schlag has spent hours on the phone and writing letters to get approval."

Studies with xenografts can also reveal problems with therapeutic

approaches that seem promising. That's the case with inhibitors targeting the epidermal growth factor receptor (EGFR), known to promote tumor growth. "So far the results have been disappointing compared to chemotherapy," Fichtner says. "Studies of our model animals have revealed some of the ways cancer cells circumvent the inhibitors' effects."

Patients as integral partners in research

Ideally, a cancer patient's tumor falls into a known category that responds well to an existing treatment. How many categories are there, what factors influence tumor development, and how will a specific patient respond? Obtaining answers will almost surely require vast Biobanks and the type of pipeline that Fichtner and her colleagues have worked so long to establish.

But all of this work depends on obtaining samples, so a major effort is underway to tell patients why the procedure is important and how their privacy will be protected. Patients

shouldn't withhold consent for the wrong reasons, researchers believe, particularly since every existing treatment stems from a long history of others who have been willing to share tissues and information. Samples are already routinely collected during surgery; extra tissue that isn't preserved will simply be destroyed, and a potential wealth of information is lost forever.

The effort to educate patients seems to be paying off; most patients consent. The growing Tumor Biobank has already attracted research collaboration partners from Berlin, Germany, and abroad. "Anybody who has an idea and obtained the necessary ethical approval can work with us," Esmeralda Heiden says.

Setting up the pipeline from the Biobanks to mice and back to patients has been complicated. But once in place, as this unique project at the MDC and the Charité shows, it may go a long way toward achieving the goals of translational research and making personalized medicine a reality.

Marlen Keil in the lab

