

# BMBF-Förderschwerpunkt „Molekulare Diagnostik“

## Sprecher

Prof. Dr. rer. nat. Dr. rer. biol. hum. Michael Stürzl

Prof. Dr. med. Roland S. Croner

## Anschrift

Molekulare und Experimentelle Chirurgie  
Chirurgische Klinik  
Translational Research Center  
Schwabachanlage 12  
91054 Erlangen  
Tel.: +49 9131 8539520  
Fax: +49 9131 8539523  
michael.stuerzl@uk-erlangen.de  
www.polyprobe-bmbf.de

## Aufgaben und Struktur

Die molekulare Medizin hat durch den wissenschaftlich-technischen Erkenntnisgewinn in den letzten Jahren einen nachhaltigen Entwicklungsschub erhalten. Eine bestehende Herausforderung ist es, die Erkenntnisse der Grundlagenforschung für die klinische Praxis nutzbar zu machen. Die Etablierung von verlässlichen diagnostischen und prognostischen Markern für eine leistungsfähige molekulare Diagnostik steht bei vielen Erkrankungen erst am Anfang. Einer der wesentlichen Engpässe ist die Validierung von potenziellen Biomarkern, welche langfristig eine Therapieindividualisierung ermöglichen sollen. Es ist zu erwarten, dass eine bessere Verknüpfung der Resultate aus der Grundlagenforschung mit klinischen Befunden aus gut charakterisierten Patientenkohorten die Entwicklung und Validierung neuer Marker beschleunigen wird. Das BMBF hat zu diesem Zweck den Förderschwerpunkt „Molekulare Diagnostik“ etabliert. Das Programm soll die molekular-diagnostische Forschung in Deutschland stärken und die Umsetzung der Ergebnisse der Grundlagenforschung zu einem medizinisch nutzbaren und wirtschaftlich verwertbaren Produkt oder Verfahren beschleunigen.

## Forschung

Im Zeitraum von 2009 – 2014 wurde unter Erlanger Leitung ein Forschungsverbund zum kolorektalen Karzinom (KRK) unterstützt. Jährlich werden weltweit 945.000 kolorektale Karzinome neu diagnostiziert, und 492.000 Patienten sterben daran. Ziel der Studie war die Validierung und diagnostische Anwendung von RNA-Expressionsprofilen, die das Ansprechen auf etablierte Standardtherapien oder das Krankheitsstadium eines KRK vorhersagen. Das

Projekt wurde von BMBF und Industriepartner mit insgesamt zwei Millionen EUR gefördert. Im Rahmen des Projektes arbeiten verschiedene Institute und Kliniken der Universitätsklinik Erlangen, Frankfurt und Bochum sowie Kliniken aus Köln und Schwabach mit Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH zusammen. Das Besondere an dieser Studie war, dass alle Untersuchungen ausschließlich an routinemäßig gewonnenem, Formalin-fixiertem Paraffingewebe durchgeführt wurden. Dies wird die Verbreitung und kommerzielle Ausbeutung des Tests wesentlich unterstützen. Die wichtigsten Komponenten für die hohe Innovationskraft des Verbundprojektes wurden in zurückliegenden Untersuchungen von den Mitgliedern des Konsortiums erarbeitet:

(1) Mittels ausgedehnter Transkriptomanalysen an Frischgeweben kolorektaler Karzinome wurden prädiktive beziehungsweise prognostische Markersignaturen identifiziert. Spezifisch zählten hierzu Markersignaturen, welche hochsignifikant die Bestimmung metastasierender Tumorstadien (Prof. Dr. R.S. Croner, Chirurgische Klinik), angiogenesebezogenen Überlebens (Prof. Dr. Dr. M. Stürzl, Chirurgische Klinik), Ansprechen auf Chemotherapie (Prof. Dr. W. Brückl, Medizinische Klinik 1) und Radiochemotherapie (Prof. Dr. C. Rödel, PD Dr. F. Rödel, Universitätsklinikum Frankfurt) erlauben.

(2) Der Industriepartner des Konsortiums entwickelte ein Verfahren, mit dessen Hilfe intakte RNA aus Formalin-fixiertem, Paraffin-eingebettetem Gewebe extrahiert werden kann, das im Routineablauf pathologischer Diagnostik gewonnen wurde. Bei diesem Verfahren wird aus dem zu untersuchenden Gewebe die RNA mittels Silikat-beschichteter magnetischer Partikel extrahiert, die mit hoher Affinität Nukleinsäuren binden. Aufgrund des einfachen, aber effizienten Reinigungsprinzips wird die Extraktion von RNA aus Gewebeschnitten erstmals im Rahmen eines vollautomatisierten Prozesses ermöglicht. Das Verfahren wurde dahingehend optimiert, dass aus nur einem Dünnschnitt des Tumormaterials RNA-Mengen extrahiert werden können, die ausreichen, um mittels quantitativer RT-PCR die Expression von bis zu 1.000 unterschiedlichen Genen zu analysieren (Polyprobe-Test). Das UK Erlangen hat mit Unterstützung des Industriepartners diese Technik am UK Erlangen etabliert. Die benötigten Gerätschaften wurden vom Industriepartner bereitgestellt. Die Analysen wurden ausschließlich am UK Erlangen durchgeführt.

Spezifisch wurden im Rahmen der Arbeiten 61 molekulare Marker, die in den aufgeführten Vor-

arbeiten identifiziert wurden, an einer unabhängigen Patientenkohorte validiert. Bisher konnten drei Marker aus den Vorarbeiten (n=80 KRK) identifiziert werden, die in unabhängigen retrospektiven (n=82 KRK) und prospektiven (n=380 KRK) Patientenkohorten signifikant mit der Metastasierung korrelieren. Eine weitere prognostische Validierung dieser Parameter an 177 Patienten zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit dem Überleben in einem achtjährigen Follow-up. Bis zum Abschluss der Studie wird die Vorhersagekraft des Polyprobe-Tests für die Bestimmung des Tumorstadiums (primärer Endpunkt) und die Vorhersage des Ansprechens auf Standardtherapie (sekundärer Endpunkt) weiter evaluiert. Im Rahmen einer Nachsorgeperiode (36 Monate nach Rekrutierungsende) wird gegenwärtig überprüft, ob die in dem Projekt validierte, stadienspezifische und prädiktive Biomarkersignatur auch eine Aussage für das krankheitsfreie Überleben und das Gesamtüberleben der rekrutierten Patienten erlaubt. Die Studie wird in Form einer prospektiven Studie durchgeführt. Das Rekrutierungsziel mit 650 Patienten wurde zum Ende der Förderperiode erreicht, und die Expressionsanalyse aller 61 Marker wurde erfolgreich abgeschlossen, so dass dies weltweit eine der größten Studien zu diesem Themenbereich ist.



**Polyprobe**  
**Colorectal Cancer**  
**Erlangen - Frankfurt - Köln**

# BMBF Core Program “Molecular Diagnostics”

## Speakers

Prof. Dr. rer. nat. Dr. rer. biol. hum. Michael Stürzl

Prof. Dr. med. Roland S. Croner

## Address

Molecular and Experimental Surgery

Department of Surgery

Translational Research Center

Schwabachanlage 12

91054 Erlangen

Phone: +49 9131 8539522

Fax: +49 9131 8539523

michael.stuerzl@uk-erlangen.de

www.polyprobe-bmbf.de

## Aims and Structure

Molecular medicine has gained a significant increase in scientific and technological knowledge in the past years. The present challenge is to transfer available knowledge of basic research into clinical application. In this framework, the development of reliable diagnostic and prognostic markers for a powerful molecular diagnostics is still at the very beginning for many diseases. One of the major bottlenecks is the validation of potential biomarkers. Therefore, an improved connection of the results of basic research with clinical findings from well characterized patient cohorts is expected to significantly foster the development and validation of novel markers for individualized treatment in the future. The BMBF has established the core program Molecular Diagnostics to address this point. The primary goal of this program is to support molecular diagnostic research in Germany and to transfer results from basic research to clinically available and economically exploitable products or processes.

## Research

A research group headed by Erlangen on colorectal carcinoma was sponsored between the years 2009 – 2014. World-wide more than 945,000 colorectal carcinomas (CRC) are newly diagnosed per year, and 492,000 patients die of them. The goal of the study was the validation and diagnostic application of RNA expression profiles in order to predict the tumor stages and the responses to standard therapies of colorectal carcinoma. The project was sponsored by the BMBF and an industrial partner with a total of two million EUR. Within the frame of this project, different institutes and departments of the clinical centers in Erlangen, Frankfurt, and

Bochum in cooperation with clinics in Cologne and Schwabach together with Siemens Healthcare Diagnostic Products GmbH were cooperating. It was a specific clue of this study that all investigations were exclusively carried out on routinely acquired paraffin-embedded and formalin-fixed material. This will foster the spread and commercial exploitation of the potential test in the future. The major innovative components for the project were established in previous studies by members of the consortium.

(1) Predictive and prognostic relevant marker signatures were identified through performing extensive transcriptome analysis on fresh tissues of colorectal carcinomas. Different marker signatures were detected which highly significantly identify metastatic tumor stages (Prof. Dr. R.S. Croner, Department of Surgery) and predict angiogenesis-related survival (Prof. Dr. Dr. M. Stürzl, Department of Surgery), as well as responses to chemotherapy (Prof. Dr. W. Brückl, Department of Medicine 1) and radiochemotherapy (Prof. Dr. C. Rödel, PD Dr. F. Rödel, Clinical Center Frankfurt).

(2) The industrial partner of the consortium has established a technology for the isolation of RNA from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues which are acquired from routine pathological procedures. In this process, the RNA is isolated by silicate-coated magnetic beads which bind nucleic acids with high affinity. Based on this simple, but efficient purification principle, the extraction of RNA from tissue sections could be fully automated. The process has been optimized so that one thin section of a tumor tissue is sufficient to extract RNA amounts sufficiently high enough for quantitative RT-PCR analyses of the expression of more than 1,000 different genes (Polyprobe-test). Siemens Healthcare Diagnostic Products GmbH has established this key technology at the UK Erlangen and in addition has provided the required equipment for the procedure in the course of the cooperation. In the project, 61 different molecular markers which have been identified in previous studies were validated in an independent patient cohort. Currently, three markers have been identified from previous analysis (n = 80 CRC) which correlate significantly with metastasis in independent retrospective (n = 82 CRC) and prospective (n = 203 CRC) patient cohorts. During further analysis of 177 cases, these three markers showed a significant correlation with survival during a five year follow-up period. Up to the end of the funding period, the predictive power of the Polyprobe-test for determi-

nation of the tumor stage (primary endpoint) and the prediction of response to standard therapy (secondary endpoint) will be evaluated. In the course of an ongoing follow-up period (36 months after the end of patient recruitment), it will be investigated whether the established biomarker signatures can also predict disease free survival or total cancer-related survival in the recruited patients. The study is carried out in a prospective manner. 650 patients have been successfully recruited and the expression of all 61 marker genes has been analyzed. Accordingly, this study is one of the largest studies on this subject worldwide.

