

Schlussbericht

Deutsches Zentrum für Lungenforschung (DZL)

Standort: Translational Lung Research Center Heidelberg

Partner: Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg

Förderkennzeichen: 82DZLZ04A2 (Rekrutierungszentrum)

DZL Klinische Studie: Monitoring von Patienten mit NSCLC –
epigenetische Analysen von Liquid Biopsies sowie RNA-Analysen von
Atemluftkondensaten (EMoLung)

Autoren: Martin Eichhorn, Sabine Wessels

Förderkennzeichen des Koordinierungszentrums: 82DZLZ21A4

Förderperiode: 01.09.2018 – 31.12.2023

Hinweis: Der Bericht fasst die Ergebnisse einer gemeinsam durchgeführten klinischen Studie zusammen. Die separat eingereichten Berichte der hier genannten Zuwendungsempfänger sind daher in weiten Teilen identisch.

Gefördert durch



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFT, FORSCHUNG UND KUNST

Schlussbericht zum Verwendungsnachweis für das Vorhaben FKZ 82DZLZ04A2

Zuwendungsempfänger: Thoraxklinik Heidelberg

Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2018 bis 31.12.2023

Vorhabenbezeichnung: Monitoring von Patienten mit NSCLC – epigenetische Analysen von Liquid Biopsies sowie RNA-Analysen von Atemluftkondensaten (EMoLung)

I. Kurzbericht

– Aufgabenstellung und Zielsetzung

Innerhalb des Deutschen Zentrums für Lungenforschung (DZL) liegt ein Schwerpunkt der Disease Area Lungenkrebs auf dem Thema Früherkennung von Rezidiven. Ein Hauptziel dieses Projekts war es, die durch Computertomographie (CT) erfolgende Vorhersage von Rezidiven zu ergänzen. Epigenetische Marker aus Liquid Biopsies sollten zusammen mit RNA-basierten Biomarkern aus Atemluftkondensat zu einer früheren Erkennung von Rezidiven führen.

Ziel der Studie war es, Verlaufskontrolle und Therapie von Patientinnen und Patienten mit NSCLC zu verbessern. Daher sollte ein Modell entwickelt werden, um Rezidive bei kurativ operierten Patienten und Patientinnen vorherzusagen.

Die Krankheitskontrolle auf der Grundlage von Liquid Biopsies und Atemluftkondensaten könnte dazu beitragen, neue diagnostische Strategien zu etablieren, die es erlauben, ein frühzeitiges Rezidiv besser vorzusagen als durch CT-Bildgebung allein. Daher könnte die Identifikation von epigenetischen Signaturen aus Liquid Biopsies und RNA-Biomarkern aus Atemluftkondensat zu einem Algorithmus führen, mit dem die Progression der Erkrankungen vorhersagbar wird.

Die Studie wurde von Partnern aller fünf DZL-Standorte durchgeführt. Alle Standorte rekrutierten NSCLC-Patienten und -Patientinnen (Stadium I-IIIa und IIIb nach Empfehlung des Tumorboards als operabel eingestuft (UICC, 8. Auflage, 2017)), um eine gut charakterisierte Kohorte aufzubauen.

Regelmäßige epigenetische Analysen der Blutproben und RNA-Analysen aus Atemluftkondensat wurden durchgeführt und mit CT-Daten abgeglichen. Zusätzlich wurden klinische Daten bei Follow-up-Visiten aufgenommen und an die Studienleitung an der LungenClinic Grosshansdorf übermittelt.

Primärer Endpunkt:

- Rezidiv/Kein Rezidiv nach zwei Jahren Follow-up
- Vorhersage von Rezidiv/keinem Rezidiv basierend auf epigenetischen Signaturen aus Liquid Biopsies und RNA-Biomarkern aus Atemluftkondensat

Sekundärer Endpunkt:

- Korrelation der epigenetischen Signaturen zusammen mit der RNA-Analyse im Vergleich zu CT-Bildgebung

Dieser gemeinsame Schlussbericht umfasst Arbeiten, die bei allen acht Projektpartnern des DZL durchgeführt wurden.

Die rekrutierenden Zentren waren:

- Medizinische Hochschule Hannover (DZL-Standort BREATH)
- Klinikum der Universität München (DZL-Standort CPC-M)
- Justus-Liebig-Universität Gießen (DZL-Standort UGMLC)
- LungenClinic Grosshansdorf GmbH (DZL-Standort ARCN)
- Asklepios Fachkliniken München-Gauting (DZL-Standort CPC-M)
- Thoraxklinik Heidelberg (DZL-Standort TLRC)

Ausschließlich an Analyse und Auswertung beteiligt sind:

- Universität zu Lübeck mit dem Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck (DZL-Standort ARCN)
- Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung Bad Nauheim (DZL-Standort UGMLC)
- Universitätsklinikum Ulm (externer Partner)

– **Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde**

Die EMOlung-Studie wurde aus kompetitiven Mitteln des DZL gefördert. Diese wurden durch das Clinical Trial Board im Rahmen der Ausschreibung 2017 bewilligt. Eine Kofinanzierung durch einen Sponsor bestand nicht. Allerdings wurden auch Hausmittel zur Durchführung verwendet.

– **Planung und Ablauf des Vorhabens**

Die EMOlung-Studie wurde im Rahmen von vier Arbeitspaketen (Work packages, WP) bearbeitet:

WP1: Vorbereitung der Studiendokumentation und Set-up

Vorbereitung der Rekrutierung, Probennahme und Datenerfassung. Durchführung von Site-visits zum Erlernen der Methodik (Gewinnung von Atemluftkondensaten).

WP2: Rekrutierung und Nachbeobachtung

In dieser Studie war geplant, 240 Patienten und Patientinnen nach folgenden Kriterien einzuschließen.

Einschlusskriterien:

- NSCLC, Stadium I-IIIa
- Kurativ operiert
- Unterschriebene Einwilligungserklärung
- Alter ≥ 18 Jahre
- ECOG ≤ 2

Ausschlusskriterien:

- NSCLC Stadium IIIc/IV
- Neoadjuvante Chemotherapie oder Chemoradiotherapie
- SCLC

Folgende Biomaterialsammlungen waren geplant:

- Blut (epigenetische Analyse von cfDNA)
- Atemluftkondensate, Exhaled breath condensates (RNA-Analyse)

Folgende Visiten waren je Patient geplant (siehe Abbildung 1):

- V1: Vor der OP (Biomaterialien)
- V2: Direkt nach der OP (Datenerfassung, Histologie etc.)
- V3: 3 Monate nach der OP (Biomaterialien (s.o.), klinische Phänotypisierung)
- V4 – V5: Klinische Phänotypisierung nach 6 bzw. 9 Monaten und ggf. zusätzlich zum Zeitpunkt des Rezidivs (dann inkl. Biomaterialsammlung).
- V6 – V8: Klinische Phänotypisierung und Biomaterialiensammlung nach 12, 18 und 24 Monaten und ggf. zusätzlich zum Zeitpunkt des Rezidivs.

Die Datenerfassung erfolgte zu allen Follow-up-Terminen (0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 Monate nach der OP) oder ggf. zusätzlich zum Zeitpunkt des Rezidivs.

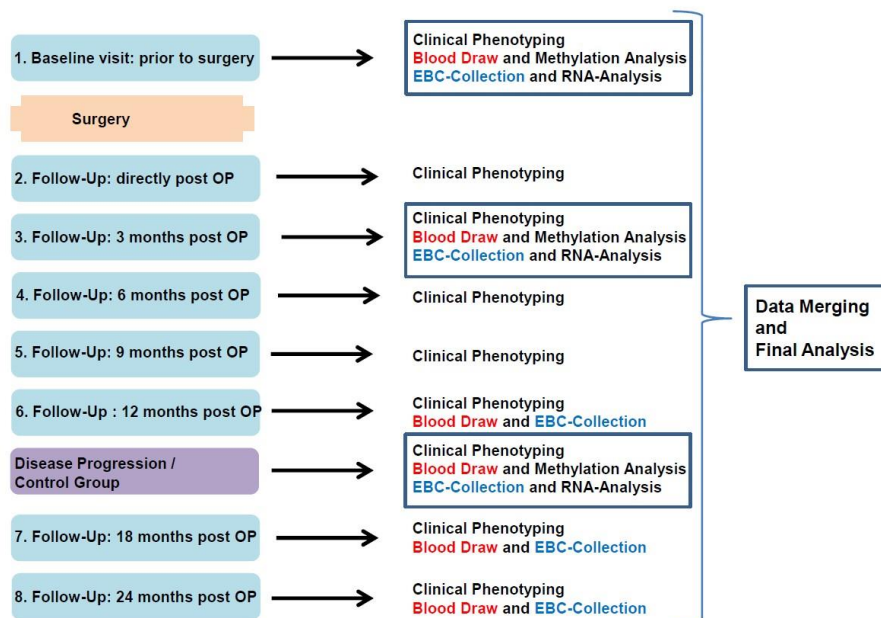


Abbildung 1:Übersicht der geplanten Visiten im Rahmen von EMOlung

Die rekrutierenden Zentren übermittelten die Daten an die Studienzentrale (Großhansdorf).

Die LungenClinic plante, 100 Patienten und Patientinnen (auf die Jahre 2018 und 2019 verteilt jeweils 50) zu rekrutieren, alle anderen Zentren planten, je 35 Patientinnen und Patienten zu rekrutieren.

In dieser Studie wurde zur Sicherung des Studienziels konkurrierend auf Jahresbasis rekrutiert. Die Visiten wurden durch Fallpauschalen vergütet. Der Mittelabruf erfolgte nach Bestätigung der Datenübermittlung durch die Studienzentrale.

WP3: Analysen

Das Universitätsklinikum Ulm übernahm die epigenetische Analyse der Blutproben. Die Atemluftkondensate wurden am Standort UGMLC – zunächst in Bad Nauheim, nach dem Wechsel des PIs in Nancy/Frankreich – analysiert.

WP4: Zusammenführung der Daten und Publikation

Patientendaten und Daten aus der epigenetischen und RNA-Analyse sollen zusammengeführt und durch das Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Campus Lübeck) statistisch ausgewertet werden. Anschließend ist eine gemeinsame Manuskripterstellung und Publikation geplant.

Meilensteinplanung

Tabelle 1: Meilensteinplanung der Studie

Meilenstein	2018			2019			2020			2021		
WP1: Vorbereitung der Studiendokumentation und Set-up												
WP2: Rekrutierung und Nachbeobachtung												
WP3: Analysen												
WP4: Zusammenführung der Daten und Publikation												

- **wissenschaftlich und technischer Stand, an den angeknüpft wurde (Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte sofern relevant)**

Die Konzipierung der Studie beruht maßgeblich auf der kooperativen Zusammenarbeit im DZL und hat Vorarbeiten der vorherigen Förderperiode im Rahmen der Disease Area Lungenkrebs zur Grundlage (Entwicklung eines epigenetischen Tumormarkerpanels).

Lungenkrebs bleibt weltweit eine der häufigsten Todesursachen durch Krebs, mit jährlich 1,6 Millionen Todesfällen. Bei Patienten und Patientinnen mit Lungenkrebs im Frühstadium wird die Operation als empfohlene Behandlung angesehen. Es wird empfohlen, dass Patienten und Patientinnen im Stadium I-II alle 3 bis 6 Monate in den ersten 3 Jahren nach der Operation nachuntersucht werden. Bisher basieren diese Empfehlungen auf Studien zur Nachsorge oder auf den Vorgaben der Ärztinnen und Ärzte. Um jedoch die Erkennung von rezidivierenden

Erkrankungen zu verbessern, sollten zusätzliche Methoden zur Ergänzung der bildgebenden Verfahren entwickelt und bewertet werden.

Bisher gibt es keine Daten, die darauf hinweisen, wie häufig Nachuntersuchungen nach der Operation durchgeführt werden sollten, um Rezidive frühzeitig zu erkennen und eine angemessene Behandlung so früh wie möglich zu ermöglichen. Dennoch zeigen Studien, dass 30% bis 55% der Patientinnen und Patienten trotz einer erfolgreich durchgeführten Operation ein Rezidiv entwickeln und sterben. Aus diesem Grund werden derzeit Nachuntersuchungen alle 3 bis 6 Monate empfohlen.

Um die Früherkennung und Behandlung von Patientinnen und Patienten mit Lungenkrebs in den Stadien I bis III zu verbessern, wird in dieser Studie eine Kombination aus epigenetischer Analyse von Flüssigbiopsien und einer RNA-Analyse von ausgeatmetem Atemkondensat durchgeführt. Zirkulierende zellfreie DNA (cfDNA) wird im peripheren Blut von Krebspatienten freigesetzt oder ausgeschieden. Aufgrund dieser Tatsache könnten diese wenig invasiven Flüssigbiopsien zur Erkennung und Überwachung von Lungenkrebs eingesetzt werden.

Die EMoLung-Studie soll zeigen, ob diese kombinierten Analysen eine bessere Früherkennung von Lungenkrebs ermöglichen und eine engmaschigere Überwachung der Patienten ermöglichen können. Die Ergebnisse könnten dazu beitragen, die Nachsorgeintervalle für Patienten mit Lungenkrebs nach der Operation zu optimieren und die Effektivität der Behandlung zu verbessern. Durch die Früherkennung von Rezidiven könnten rechtzeitig geeignete Maßnahmen eingeleitet werden, um die Prognose der Patienten zu verbessern.

Eigene Vorarbeiten umfassen eine publizierte Arbeit zum Nachweis von *GATA6*- und *NKX2-1*-Isoformen in Atemluftkondensaten (Mehta *et al.*, EMBO Mol Med 2016) sowie umfangreiche bislang unpublizierte Arbeiten zu epigenetischen Signaturen in DZL-Kohorten von Ammerpohl *et al.* Diese betreffen die Unterscheidung von Tumor- und Nicht-Tumorgewebe (OP-Material und Biopsien) sowie die Differenzierung des Tumorstadiums und der Tumorart anhand von Liquid Biopsies anhand unterschiedlicher Methylierungsmuster.

– Inhalte und Ergebnisse

Im Rahmen der EMoLung-Studie wurde ein DZL-Studiennetzwerk aufgebaut, das Patientinnen und Patientinnen rekrutierte, die zustimmten, vor und nach der Operation ihres Bronchialkarzinoms leicht gewinnbare Biomaterialien zu spenden: Ausatemluft, aus der nach Kondensation RNA gewonnen wurde, und Blutplasma, aus dem nach Aufarbeitung DNA gewonnen wurde.

Die mit den Analysen der Proben befassten Partner führten epigenetische Analysen durch. Eine Publikation der Baseline-Proben der Atemluftkondensate ist bereits publiziert (Rubio *et al.*, Discov Oncol 2023). Ein epigenetisches Panel aus dem Blut wurde vor und nach der Operation untersucht und zeigt deutliche Unterschiede.

Aufgrund von Verzögerungen konnte die Studie noch nicht abgeschlossen werden. Ein Teil der Analysen und die verknüpfende Auswertung stehen entsprechend noch aus. Wir planen weitere Publikationen.

II. Eingehende Darstellung des Vorhabens

WP1: Vorbereitung der Studiendokumentation und Set-up

Die Studie konnte erfolgreich an allen Zentren gestartet werden. Allerdings verzögerten nicht vorliegende Ethikvoten sowie verspätete AZA-Stellung zum Teil den planmäßigen Beginn der Rekrutierung. Um die Rekrutierung zu verbessern, wurde die Asklepios-Klinik Gauting (Beginn ab 01.01.2019) als zusätzlicher Partner gewonnen. Bei allen Partnern fand ein Initiierungsbesuch durch die Kollegen der Justus-Liebig-Universität Gießen statt, die das Sammelgerät für die Atemkondensate (Exhaled Breath Condensate Sampler) übergaben und die beteiligten Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen in dessen Nutzung einwiesen. Erste Tests konnten eine gute Probenqualität bestätigen. An mehreren Standorten konnte 2018 mit der Rekrutierung von Patienten begonnen werden.

WP2: Rekrutierung und Nachbeobachtung

Abbildung 2 zeigt die Entwicklung der Rekrutierungszahlen PLAN/IST von Studienbeginn bis Studienende sowie der abgeschlossenen Patienten und Patientinnen auf Basis der Meldungen an die Studienzentrale.

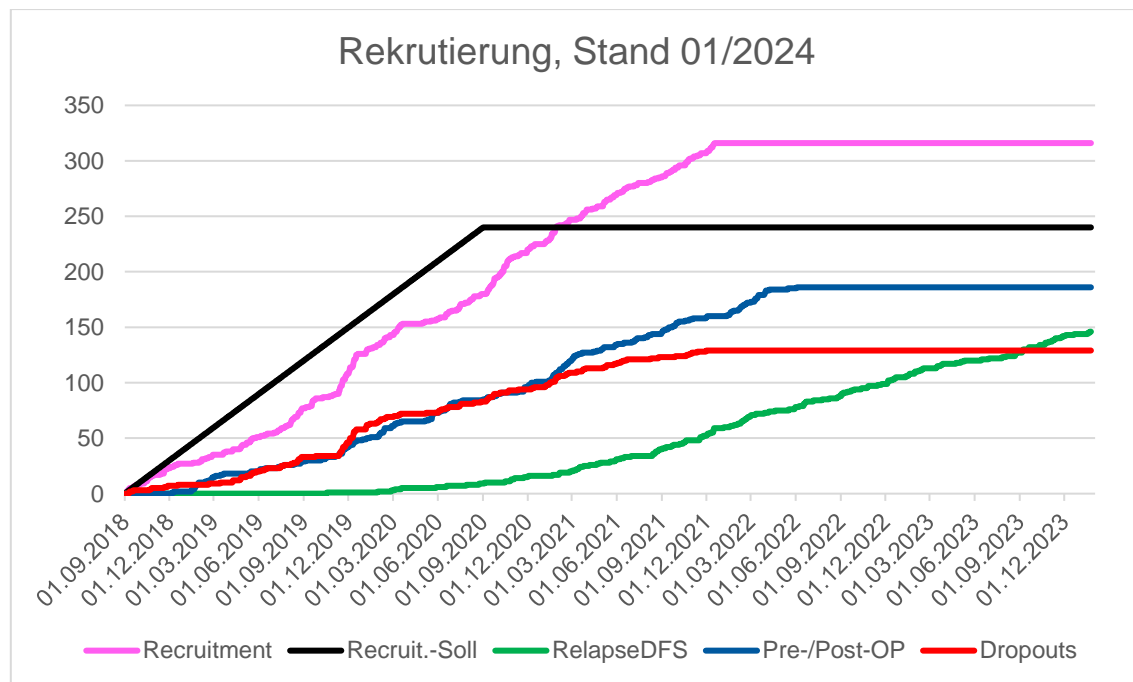


Abbildung 2: Rekrutierung der EMOlung-Studie bis Projektende. (DFS = Disease-free survival; OP = Operation)

Die Rekrutierung lief grundsätzlich planmäßig an, allerdings aufgrund verschiedener administrativer Probleme an manchen Zentren erst verzögert (siehe oben). Es wurden Bioproben (Atemkondensate und Plasmaproben) gesammelt, verarbeitet und zur epigenetischen Analyse an das Universitätsklinikum Ulm und an Standort UGMLC (später nach Wechsel des PIS nach Nancy/Frankreich) verschickt. Klinische Daten wurden von den rekrutierenden Zentren an die Studienzentrale nach Großhansdorf übermittelt. Entsprechend erfolgte die Freigabe der Fallpauschalen, die einen Großteil der Fördersumme ausmachen. An einigen Studienzentren war die Zahl der Follow-ups aufgrund unerwartet hoher Dropout-Quoten geringer als ursprünglich geplant, weswegen nachrekrutiert werden musste. Ein Grund hierfür war der oftmals zu schlechte Gesundheitszustand vieler Patienten und Patientinnen. Zudem wurde an der LungenClinic im Laufe des Studienzeitraums keine ambulante Nachsorge mehr angeboten. Diese erfolgte dann stattdessen oftmals außerhalb der Klinik bei niedergelassenen Onkologen. Nichtsdestotrotz wurde versucht, die teilnehmenden Patientinnen und Patienten weiterhin für die Studienteilnahme zu

gewinnen. Da viele Patientinnen und Patienten in frühen Stadien rekrutiert wurden, war die Zahl der Rezidive geringer, als anfänglich erwartet, sodass Patientinnen und Patienten mehr Follow-ups durchliefen. Aufgrund dieser Umstände verzögerte sich auch die Auswertung der Proben. Die Studie wurde zudem im ersten Halbjahr des Jahres 2020 negativ durch die Corona-Pandemie beeinflusst.

Im Jahr 2023 wurden noch 58 Follow-up-Visiten beim Partner Thoraxklinik Heidelberg durchgeführt. Proben wurden aufgearbeitet und an die Analysepartner (Ulm bzw. Bad Nauheim oder Nancy) versandt. 78 Visiten wurden abgerechnet. Zwei letzte Patienten sind zum Berichtszeitpunkt noch aktiv. Somit ergibt sich der in Tabelle 2 dargestellte Rekrutierungsstatus. Auch bei anderen Partnern wurden im Jahr 2023 noch Fallpauschalen für Visiten der Vorjahre abgerechnet.

Tabelle 2: Rekrutierungsstatus der EMOlung-Studie zum Berichtszeitpunkt.
(OP= Operation; DFS = Disease-free survival; FUP = Follow-up)

	Baseline	Pre / Post OP	Relapse	DFS 24	Dropout	Active FUP	Plan
ARCN	137	59	11	29	78	0	100
BREATH	2	2	0	0	1	0	35
CPC-M ASK	39	17	4	4	28	0	35
CPC-M LMU	3	1	1	1	1	0	
TLRC	135	112	20	79	21	2	35
UGMLC	0	0	0	0	0	0	35
Total	316	191	36	113	129	2	240

Gegenüber der geplanten Rekrutierung ergaben sich Abweichungen, die allerdings durch die konkurrierende Rekrutierung abgefangen werden konnten. Aufgrund der oben beschriebenen Umstände konnten statt der geplanten 240 nur 149 analysierbare Patientinnen und Patienten den primären Endpunkt erreichen, wenngleich eine sehr große Anzahl die Baseline-Visite absolvierte. Daher soll bei der Analyse auch verstärktes Augenmerk auf die Unterschiede vor und nach der Operation gelegt werden. Dieses Patientenkollektiv umfasst 191 Patientinnen und Patienten.

WP3: Analysen

Aufgrund der Verzögerungen in WP2 und der Minderrekrutierung konnte auch mit den Analysen erst verspätet begonnen werden. Sie dauerten noch im Jahr 2023 an.

Das Universitätsklinikum Ulm bestimmte das DNA-Methylierungsmuster von cfDNA/ctDNA im Blutplasma. Dafür wurden die Proben von den rekrutierenden Zentren eingeschickt. Die aus dem Plasma isolierte cfDNA zeigte weitgehend gute Qualität. Anschließend erfolgte eine Anreicherung der Zielsequenzen mit Hilfe des projektspezifisch erstellten SeqCap-Epi-Systems von Roche. Während dieses Prozesses wurden 638 Sequenzen, die im Rahmen des DZL-Projekts selektioniert wurden, angereichert. Abschließend wurden Libraries erstellt und sequenziert. Die Sequenzierungen erfolgten mittels NextSeq550. Sie werden bioinformatisch ausgewertet. Da die Produktion des Anreicherungs-systems für methylierte Ziel-DNA-Sequenzen von Roche eingestellt wurde, musste schrittweise auf ein System von IDT umgestellt werden. Da die Protokolle sich aber nur geringfügig unterscheiden, war dies weitgehend problemlos möglich.

Der Vergleich DNA-Methylierungsmuster der cfDNA vor und nach Therapie, also der chirurgischen Entfernung des Tumors, zeigte in allen Fällen Veränderungen. Der Fokus der Untersuchungen verschob sich von kompletten sequentiellen „Probensets“ (d.h. Patienten, die neben Baseline-Proben auch mehrere Follow-Ups bis hin zum Rezidiv durchlaufen haben) hin zu Veränderungen vor und nach Therapie („Tumornachweis“). Dieses hängt neben der Materialverfügbarkeit auch mit der Fragestellung einer frühen Diagnose zusammen. Die epigenetische Analyse von DNA aus Plasma zeigt unterschiedliche Muster an epigenetischen Veränderungen beim Rezidiv: Teilweise entsprach der Rezidiv-Tumor dem ursprünglichen resektierten Tumor, in manchen Fällen

entsprach er dem ursprünglichen Tumor nur teilweise und in den restlichen Fällen überhaupt nicht. Soweit vorhanden, werden die sequentiellen Proben jedoch auch weiterhin analysiert.

Die aus den Atemluftkondensaten gewonnenen RNAs wurden vom Projektpartner Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung Bad Nauheim (DZL-Standort UGMLC) analysiert. An Analysen und Auswertung der Atemluftkondensate der ersten Publikation wurden auch die externen Partner Université de Lorraine, dkfz, LMU München und Universität Köln beteiligt. Die Baseline-Daten konnten in einem Manuskript publiziert werden (Rubio *et al.*, 2023). In dieser Studie zeigte sich, dass es möglich ist, einen Lungenkrebsdiagnostest, der auf der Analyse verschiedener RNA-Isoformen basiert, die von den Genloci *GATA6* und *NKX2-1* exprimiert werden, in klinischen Umgebungen zu validieren. Die auf einem LC-Score basierende Klassifizierung erreichte eine Sensitivität von 95,7%, 91,3% bzw. 84,6% für den Nachweis von Lungenkrebs in den Stadien I-III. Der LC-Score ist somit eine genaue und nicht-invasive Option für die LC-Frühdiaagnose von Rezidiven und eine wertvolle Ergänzung zu den auf Computertomographie basierenden LC-Screeningverfahren.

WP4: Zusammenführung der Daten und Publikation

Die Zusammenführung der Daten konnte aufgrund der beschriebenen Verzögerungen nicht vollständig stattfinden. Die Kolleginnen des UKSH (Lübeck) unterstützen die bioinformatische Auswertung der Studiendaten mit statistischer Expertise. Allerdings laufen noch letzte Analysen bei den Partnern. Die Auswertung der Daten aus den Atemluftkondensaten wird parallel zu den Messungen und nach Ende der Messungen durchgeführt. Außerdem werden diese Daten zusammen mit den Ergebnissen aus den anderen Bereichen der klinischen Studie EMoLung mit dem Ziel analysiert, potentielle Korrelationen zu erkennen, die zum Erreichen der Ziele der Studie beitragen können. Klinische Daten – wie CT-Befunde – sollen noch mit Ergebnissen der epigenetischen Analysen der Atemgaskondensate und Plasmaproben abgeglichen werden (sekundärer Endpunkt). Aus diesem Grund fanden und finden regelmäßige Videokonferenzen zum Austausch statt. Aus den Auswertungen und Analysen werden neben der bereits erfolgten (Rubio *et al.*, Discov Oncol 2023) weitere wissenschaftliche Publikationen erwartet.

– **der voraussichtliche Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses**

Sollten sich die Ergebnisse aus der Atemluftanalyse bestätigen und sich die Sensitivität des LC-Score durch Hinzuziehung der Blutparameter verbessern lassen, würde ein zusätzliches wenig invasives Instrument zur Rezidivkontrolle zur Verfügung stellen. Dieses würde Ärztinnen und Ärzten helfen, ein Rezidiv frühzeitiger zu erkennen und könnte dazu beitragen, die Nachsorgeintervalle für Patienten Patientinnen mit Lungenkrebs nach der Operation zu optimieren und die Effektivität ihrer Behandlung zu verbessern. Durch die Früherkennung von Rezidiven könnten rechtzeitig geeignete Maßnahmen eingeleitet werden, um die Prognose der Patienten und Patientinnen zu verbessern.

Es müsste geprüft werden, inwieweit sich ein entsprechender Test patentieren und kommerzialisieren ließe. Auch hier ergeben sich Möglichkeiten im Sinne einer fortgeschriebenen Verwertung.

Wir gehen jedoch bereits jetzt davon aus, mit der Studie einen wichtigen Beitrag zur Untersuchung neuer Instrumente zur Rezidivkontrolle geleistet zu haben. Nach Publikation der Ergebnisse steht dieser der wissenschaftlichen Community zur Verfügung, um darauf aufbauend weiterarbeiten zu können.

- **auch konkrete Planungen für die nähere Zukunft – im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans**

In der näheren Zukunft planen wir zunächst den Abschluss der Analysen, der Auswertung und deren Publikation. Wir erwarten den Abschluss der Analysen im Jahr 2024. Abhängig davon werden weitere Maßnahmen ergriffen, die Ergebnisse zu verwerten.

- **Notwendigkeit und Angemessenheit der Projektarbeiten**

Lungenkrebs bleibt weltweit eine führende krebsbedingte Todesursache. Die Operation wird für Patienten im Frühstadium als bevorzugte Behandlung angesehen, und es wird empfohlen, sie alle 3 bis 6 Monate in den ersten 3 Jahren nach der Operation nachzuuntersuchen. Aktuelle Empfehlungen basieren auf Studien oder ärztlichen Vorgaben, jedoch gibt es keine klaren Daten darüber, wie häufig Nachuntersuchungen durchgeführt werden sollten. Etwa 30% bis 55% der Patienten entwickeln trotz erfolgreicher Operation ein Rezidiv und sterben. Um die Früherkennung zu verbessern, kombiniert die EMoLung-Studie eine epigenetische Analyse von Flüssigbiopsien und eine RNA-Analyse von Atemkondensat. Die Untersuchung von zirkulierender zellfreier DNA im Blut könnte minimalinvasive Flüssigbiopsien für die Erkennung und Überwachung von Lungenkrebs ermöglichen. Die Studie zielt darauf ab, die Früherkennung zu optimieren, Überwachungsintervalle nach Operationen anzupassen und die Behandlungseffektivität zu steigern, um rechtzeitig geeignete Maßnahmen für Patienten mit Lungenkrebs zu ergreifen und die Prognose zu verbessern.

- **Während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen und deren Effekt auf das Vorhaben**

Literaturrecherchen erfolgten regelmäßig. Nach unserem Wissen sind keine neuen Erkenntnisse bekannt geworden, die zu einer Änderung der Zielsetzungen oder anderen Maßnahmen veranlasst hätten.

- **Erfolge oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse nach Nr. 5 der NABF**

Rubio K, Müller JM, Mehta A, Watermann I, Olchers T, Koch I, Wessels S, Schneider MA, Araujo-Ramos T, Singh I, Kugler C, Stoleriu MG, Kriegsmann M, Eichhorn M, Muley T, Merkel OM, Braun T, Ammerpohl O, Reck M, Tresch A, Barreto G (2023) Preliminary results from the EMoLung clinical study showing early lung cancer detection by the LC score. *Discover Oncology* 14: 181 (ARCN, CPC-M, TLRC, UGMLC) <https://doi.org/10.1007/s12672-023-00799-9>

Weitere Publikationen sind geplant, sobald weitere Analyseergebnisse vorliegen.

III. Erfolgskontrollbericht

1. Kurzfassung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen
 - Im Rahmen des DZL wurde ein Studiennetzwerk aus klinischen Partnern (LungenClinic Grosshansdorf, Thoraxklinik Heidelberg, Medizinische Hochschule Hannover, Justus-Liebig-Universität Gießen, Klinikum der LMU, Asklepios-Klinik Gauting) und analysierenden Partnern (Universitätsklinikum Ulm, Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung Bad Nauheim, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (Campus Lübeck), LungenClinic Grosshansdorf) aufgebaut.
 - Patientinnen und Patienten konnten gemäß Einschlusskriterien rekrutiert und nachverfolgt werden, wenngleich in geringerer Zahl als geplant, als auch mit Verzögerungen.
 - Die Sammlung vom Atemluftkondensat lässt sich in einem klinischen Setting auf Station gut umsetzen.
 - Ergebnisse konnten bereits publiziert werden (Rubio *et al.*, Discov Oncol 2023). Demnach erreicht die auf einem LC-Score basierende Klassifizierung eine Sensitivität zwischen 84 und 95% für den Nachweis von Lungenkrebs in den Stadien I-III. Der LC-Score ist eine genaue und nicht-invasive Option für die LC-Frühdiaagnose und eine wertvolle Ergänzung zu den auf Computertomographie basierenden LC-Screeningverfahren. Er kann unter Hinzuziehung der Ergebnisse aus den Plasmauntersuchungen voraussichtlich noch verbessert werden.
 - Die epigenetische Analyse von DNA aus Plasma, die auf einem zuvor im DZL entwickelten und patentierten Tumorpanel basiert, zeigte eine deutliche Unterscheidbarkeit von Proben vor und nach der Operation.
 - Die epigenetische Analyse von DNA aus Plasma zeigt unterschiedliche Muster an epigenetischen Veränderungen beim Rezidiv: Teilweise entsprach der Rezidiv-Tumor dem ursprünglichen resektierten Tumor, in manchen Fällen entsprach er dem ursprünglichen Tumor nur teilweise und in den restlichen Fällen überhaupt nicht.

2. Fortschreibung des Verwertungsplans. Diese soll, soweit im Einzelfall zutreffend, Angaben zu folgenden Punkten enthalten (Geschäftsgeheimnisse des ZE brauchen nicht offenbart zu werden):
 - Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte (eigene oder andere, die in Anspruch genommen wurden), sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u.a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten,

Bis Ende der Projektlaufzeit konnten keine Schutzrechte in Anspruch genommen werden, allerdings ist dies nach Abschluss der Auswertung möglich (siehe II.).
 - Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - z.B. auch funktionale Vorteile, Nutzen für verschiedene Anwendergruppen am Standort Deutschland, Umsetzungs- und Transferstrategien (Angaben, soweit die Art des Vorhabens dies zulässt),

Nach erfolgreichem Abschluss des Projekts ist es möglich, dass eine Verwertung im Rahmen einer Patentierung erfolgt (Zeithorizont: ca. zwei Jahre). Das DZL arbeitet in diesem Bereich mit seinem Technologietransferkonsortium zusammen. Eventuell könnten Gesundheitskosten reduziert werden, so das im Rahmen des Projekts entwickelte Verfahren etablierte Verfahren ersetzt oder beispielsweise die Nachsorgezyklen optimiert.

- Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) - u.a. wie die geplanten Ergebnisse in anderer Weise (z.B. für Netzwerke, Transferstellen etc.) genutzt werden können. Dabei ist auch eine etwaige Zusammenarbeit mit anderen Forschungsstellen, Netzwerken oder Institutionen u.a. einzubeziehen,

Nach Abschluss des Projekts könnten Ergebnisse in Form von Publikationen für die Generierung von Folgeprojekten genutzt werden. Dies ist aber maßgeblich von der Art der erzielten Ergebnisse abhängig.

- Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung und Verwertung der Ergebnisse

Es besteht die Möglichkeit, erworbenes Know-how in Folgeprojekten (insbesondere des DZL zu nutzen). Zudem könnte nach einer möglichen Patentierung in Kontakt mit Mittelgebern diskutiert werden, wie sich ein möglicher Assay kommerzialisieren ließe. Außerdem ist der Eingang der gewonnenen Erkenntnisse in Behandlungsleitlinien möglich.

3. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben (Kurzdarstellung einschließlich Konsequenzen für die Zielerreichung)

Da das Projekt noch nicht abgeschlossen ist, kann diese Frage nicht final beantwortet werden. Die beschriebenen ersten Ergebnisse deuten allerdings darauf hin, dass das Projektziel erreicht werden kann.

4. Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung mit entsprechenden Erläuterungen bei Abweichungen vom ursprünglichen Plan und wesentlichen Umwidmungen.

Es kam zu Verzögerungen und Ungleichgewichten zwischen den Zentren bezüglich der Rekrutierung. Daher mussten im Rahmen der konkurrierenden Rekrutierung Mitteltransfers durchgeführt werden.

EMoLung sollte ursprünglich zum Ende des Jahres 2021 abgeschlossen werden. Angesichts zu weniger Patienten, die bereits den Studien-Endpunkt erreicht hatten, konnten die Studienziele im geplanten Zeitraum nicht erreicht werden. Aus diesem Grund wurde eine kostenneutrale Verlängerung über 24 Monate beantragt, die vom Clinical Trial Board des DZL, dem DZL-Direktorium und dem Fördermittelmanagement bestätigt wurde. Die Justus-Liebig-Universität hatte keine Verlängerung beantragt, da keine Patienten eingeschlossen werden konnten. Hier endete EMoLung zum 31.12.2021.

Ansonsten wurde die Ausgaben- und Zeitplanung im Allgemeinen eingehalten. Innerhalb des Berichtszeitraums gab es wissenschaftlich begründete Mittelverschiebungen, die durch entsprechende Umwidmungsanträge vorab durch das Fördermittelmanagement am HelmholtzZentrum München bewilligt wurden.

Heidelberg, den 27.02.2024

Prof. Dr. Martin Eichhorn
Studienleiter