



gefördert von:



Zuwendungsempfänger

Deutsches Krebsforschungszentrum

Thema der Förderung

*Systemmedizinisches Forschungsnetz zur Früherkennung und Prävention von
Leberkrebs LiSyM-Krebs*

Konsortialprojekt:

*Detaillierte Analyse der räumlichen Organisation der Entstehung des
hepatozellulären Karzinoms (DEEP-HCC), Teilprojekt J*

Verantwortliche

Prof. Dr. Benedikt Brors
Abt. Angewandte Bioinformatik
Deutsches Krebsforschungszentrum
Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg
Tel. 06221/42-3614 E-Mail: b.brors@dkfz.de

Förderkennzeichen

031L0258J

Projektlaufzeit:

01.07.2021 - 31.12.2024

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

I. Kurze Darstellung des Projektes

1. Aufgabenstellung

Im LiSym-Cancer-Netzwerk haben Molekular- und Zellbiologen, klinische Forscher und Experten für mathematische Modellierung gemeinsam untersucht, wie Leberkrebs aus Vorerkrankungen wie nichtalkoholischer Fettleber oder Leberzirrhose entsteht. Ziel des gemeinsamen Projekts war es, relevante Biomarker zu identifizieren, um Leberzellkarzinome (HCC) frühzeitig zu diagnostizieren und zu verhindern. LiSym-Cancer umfasst drei Konsortien – SMART-NAFLD, C-TIP-HCC und DEEP-HCC – sowie das Projekt- und Datenmanagement. Das Projekt verfolgte einen integrativen systembiologischen Ansatz, bei dem die Kommunikation, der Stoffwechsel und die Signalübertragung von Leberzellen sowie die Dynamik der verschiedenen Leberzellpopulationen und die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix untersucht wurden. Dazu wurden multi- und räumliche OMICS- und Bildgebungsverfahren eingesetzt. Auf der Grundlage quantitativer Daten haben Mathematiker und Bioinformatiker Modelle entwickelt, die eine frühzeitige Erkennung von Veränderungen ermöglichten, welche die Entstehung von Leberkrebs begünstigen.

Das Konsortium DEEP-HCC hat sich auf Leberkrebs im Frühstadium konzentriert und dabei eine tiefgehende multidimensionale funktionale und räumliche Charakterisierung angestrebt, die von Gewebe bis zur einzelnen Zelle reicht. Es wurde ein umfassender Datensatz erstellt, der aus einer digitalen 3D-Geweberekonstruktion, räumlicher Transkriptomik, Epigenetik, Lipidomik, pseudotemporal geordneten somatischen Mutationen und personalisierten komplexen Leberkrebs-Organoiden besteht.

Das vorliegende Teilprojekt hatte zum Ziel, Sequenzdaten zu somatischen Veränderungen im nicht-malignen Lebergewebe sowie in den korrespondierenden HCC-Tumoren zu generieren sowie das Transkriptom mittels RNA-Sequenzierung zu charakterisieren (Teilprojekt E1). Im Teilprojekt M1 wurden diese Daten bioinformatisch analysiert mit dem Ziel, frühe genetische Läsionen zu detektieren, die dann als Biomarker für die Detektion von HCC getestet und validiert werden sollten.

2. Voraussetzungen für die Projektdurchführung

Bei Projektpartnern in DEEP-HCC bestanden Sammlungen von Gewebeproben hepatozellulärer Tumore aus chirurgischer Resektion, die weiter in Tumoranteile und nicht-malignes Lebergewebe aufgeteilt wurden. Für einen Teil dieser Patienten lagen gleichzeitig Blutproben vor, aus denen DNA-Material für eine Keimbahnkontrolle gewonnen werden konnte. Leider war es nicht möglich, ein gemeinsames Set an Proben zu generieren, das mit allen in LiSym-Krebs zur Verfügung stehenden Methoden charakterisiert worden wäre. Grund dafür waren unterschiedliche Anforderungen an die jeweiligen Bioproben, z.B. war für Plasma- bzw. Serumproben (für Proteom-Untersuchungen) kein zelluläres Material mehr vorhanden, aus denen DNA für Keimbahnkontrollen hätte gewonnen werden können.

Parallel zu Untersuchungen in diesem Teilprojekt wurden Analysen in anderen Teilprojekten mittels Einzelzell- und orts aufgelösten Genexpressionsstudien sowie Proteomanalysen vorgenommen und die Progression von vorgeschädigter Leber zu HCC über Modellierungsansätze beschrieben. Informationen über genetische Aberrationen sollten bereitgestellt werden, um Modellierungsansätze zu informieren.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

In DEEP-HCC wurden zusammen mit der AG Hampe an der Uniklinik Dresden Gewebeproben ausgewählt, für die sowohl HCC-Tumorgewebe als auch nicht-malignes Lebergewebe vorlag, sowie Blutproben derselben Patienten. Das war notwendig, um in der Gesamtgenomsequenzierung eine Keimbahnkontrolle zu haben und prä-maligne somatische Mutationen in Lebergewebe bestimmen zu können. Initial wurden Proben für 6 Patienten aus Rostock ausgewählt. Für jeweils Tumor-, Leber- und Blutproben wurde Gesamtgenomsequenzierung mit hoher Abdeckung (80x) durchgeführt, um somatische Alterationen bestimmen zu können. Für Tumor- und Lebergewebe wurde zusätzlich RNA-Sequenzierung für die Expressionsanalyse und die Detektion von Fusionsgenen durchgeführt. Die DNA- und RNA-Extraktion erfolgte jeweils bei den Projektpartnern. Nach der erfolgreichen Durchführung der Pilotanalysen wurde ein weiteres Set von 10 Patienten ausgewählt (jeweils 5 aus Dresden und 5 aus Rostock), mit denen wie oben beschrieben verfahren wurde. Die Sequenzierdaten wurden bioinformatisch ausgewertet, um normalisierte Expressionsdaten, Kandidaten für Genfusionen, Einzelnukleotidvarianten, kleine Insertionen/Deletionen, Kopienzahlaberrationen und komplexe strukturelle Varianten zu bestimmen. Es wurden am Ende der Förderphase eine weitere Gruppe von Gewebeproben identifiziert, die grundsätzlich für die Analysen geeignet gewesen wären, allerdings konnte aus zeitlichen Gründen die Sequenzierung nicht mehr in der Förderphase durchgeführt werden, so dass keine ausreichenden Projektmittel dafür zur Verfügung standen.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Hepatozelluläre Karzinome (HCC) stellen eine aggressive Gruppe gastrointestinaler Tumore dar, die oft mit einer Vorschädigung der Leber einhergehen. Die wichtigsten ätiologischen Faktoren sind Infektionen mit Hepatitis-B oder Hepatitis-C-Viren, Exposition hinsichtlich Aflatoxinen, chronischer Alkoholabusus und metabolische Erkrankungen, die unter dem Begriff "nicht-alkoholische Fettlebererkrankung" (NAFLD) zusammengefasst werden.

Die wichtigsten rekurrenten Veränderungen bei hepatozellulären Karzinomen wurden bereits durch Gesamtgenom-Sequenzierung im Rahmen des französischen ICGC-Projekts (K. Schulze et al. Nat Genet 47:505-524, 2015) sowie durch das US-amerikanische Cancer Genome Atlas Projekt (TCGA) beschrieben (The Cancer Genome Atlas Research Network, Cell 169:1327-1341, 2017). Dabei wurden insbesondere Veränderungen in Onkogenen wie TP53, CTNNB1, IDH1 und im Promoter von TERT gefunden, sowie Mutationen in Albumin und Apolipoprotein B. Auch Deletionen von Tumorsuppressorgenen (RB1, CDKN2A) sowie Amplifikationen (CCND1) wurden beobachtet. Im Rahmen der TCGA-Studie wurden durch integrative Clusterung von Mutations-, Expressions- und DNA-Methylierungsdaten drei Gruppen definiert, von denen eine (iC1) eine signifikant schlechtere Prognose als die beiden andern aufwies. Zum Zeitpunkt des Beginns der Berichtsphase waren keine Mutationen in prä-maligner Leber bekannt.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen dieses Teilprojekts bestanden enge Zusammenarbeiten in DEEP-HCC mit der AG Hampe/Brosch (Uniklinik Dresden), sowie mit der AG Klingmüller (DKFZ) aus SMART-NFLD und dem zentralen Dateimanagement (W. Müller, HITS).

Zusammenarbeit mit Dritten

keine