



TLRC
Translational Lung Research
Center Heidelberg



Deutsches Zentrum für
Lungenforschung

SCHLUSSBERICHT

Deutsches Zentrum für Lungenforschung (DZL)

STANDORT

Translational Lung Research Center Heidelberg

FÖRDERKENNZEICHEN

82DZL004B1

PARTNER

Universitätsklinikum Heidelberg &
Universität Heidelberg

FÖDERPERIODE

01.01.2021 – 31.12.2023

AUTORINNEN UND AUTOREN

Jürgen Biederer, Alexander Dalpke, Urs Eisenmann, Mascha Fiedler, Uwe Haberkorn, Katharina Hellbach, Hans-Ulrich Kauczor, Daniel Kazdal, Petra Knaup-Gregori, Thomas Kuner, Rory Morty, Martina Muckenthaler, Olaf Sommerburg, Albrecht Stenzinger, Birgit Teucher, Willi Wagner, Oliver Weinheimer, Mark Wielpütz.

GEFÖRDERT DURCH



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFT, FORSCHUNG UND KUNST

HINWEIS

Die Abschnitte I und III/1 beschreiben übergreifende Aspekte und sind bei allen DZL-Partnern weitgehend textgleich.

Schlussbericht zum Verwendungsnachweis für das Vorhaben FKZ 82DZL004B1

Zuwendungsempfänger: Universität Heidelberg und Universitätsklinikum Heidelberg

Laufzeit des Vorhabens: von 01.01.2021 bis 31.12.2023

Vorhabenbezeichnung: Deutsches Zentrum für Lungenforschung - "Translationale Forschung zur Bekämpfung weitverbreiteter Lungenerkrankungen"

I. Kurzbericht**– Aufgabenstellung und Zielsetzung**

Lungenkrankheiten stellen weltweit eine der Haupttodesursachen dar. Es wird erwartet, dass die Inzidenz und die daraus resultierende Belastung des Gesundheitssystems in den nächsten Jahrzehnten weiter zunehmen werden. Durch den Zusammenschluss der fünf führenden deutschen Lungenzentren (Airway Research Center North, **ARCN**; Biomedical Research in End-Stage and Obstructive Lung Disease Hannover, **BREATH**; Comprehensive Pneumology Center Munich, **CPC-M**; Translational Lung Research Center Heidelberg, **TLRC**; Universities of Giessen & Marburg Lung Center, **UGMLC**) wurde im November 2011 das **Deutsche Zentrum für Lungenforschung (DZL)** gegründet. Alle Partner haben sich auf eine konzertierte Zusammenarbeit und eine ehrgeizige Forschungsstrategie geeinigt, um die Mission des DZL zu erfüllen: **Translationale Forschung zur Bekämpfung weitverbreiteter Lungenkrankheiten.**

Zu den zentralen Merkmalen des DZL gehören die Zusammenführung komplementärer Institutionen (EMBL, Fraunhofer, Helmholtz, Leibniz, Max Planck, Universitätskliniken, Pneumologische Zentren), die Bereitstellung finanzieller Ressourcen (institutionelle Budgets an Universitäten, Wissenschaftsorganisationen, Lungenkliniken; das DZL-Budget; Drittmittel aus verschiedenen Quellen), die gemeinsame Nutzung von Ressourcen (Wissen, Technologien, Biobanken, Patientenkohorten etc.) und Anreize für DZL-weite Kooperationen und Austauschprogramme. Im September 2022 umfasst das DZL 263 leitende Wissenschaftler aus 29 führenden deutschen Forschungseinrichtungen und deren Arbeitsgruppen, von denen die überwiegende Mehrheit an den fünf DZL-Standorten tätig ist.

Das DZL-Programm fokussiert sich auf folgende **Krankheitsbereiche (DA – disease areas)**: Asthma und Allergie (AA), Chronische Obstruktive Lungenerkrankung/Emphysem (COPD), Zystische Fibrose (CF), Pneumonie und Akute Lungenschädigung (ALI), Diffuse Parenchymale Lungenerkrankungen (DPLD), Lungenhochdruck (PH), Lungenerkrankungen im Endstadium (ELD) und Lungenkrebs (LC). Für jede der untersuchten Krankheiten gilt, dass sich DZL-Forscher mit dem gesamten translationalen Forschungsprozess *from bench to bedside* („vom Labor bis zum Krankenbett“) befassen: Von der Untersuchung der molekularen Charakteristika und Mechanismen der Krankheit in humanem Biomaterial, humanen/experimentellen Zellsystemen und Tiermodellen bis hin zur Verwendung dieser Daten in der Praxis – z.B. als Grundlage für innovative klinische Studien oder in der praktischen Anwendung in der Patientenversorgung. Umgekehrt werden Erkenntnisse aus dem klinischen Bereich genutzt, um neue Grundlagenforschung anzuregen (*from bench to bedside to bench*). Ein übergeordnetes wissenschaftliches Konzept verbindet die verschiedenen Krankheitsbereiche. Die Forschung ist in kooperativen Programmen organisiert und wird von zentralen Plattformen (Management, Biobank und Datenmanagement, Bildung) sowie einer Vielzahl von eigenen oder assoziierten Kohorten und Registern sowie dem **Clinical Trial Board** ergänzt.

Das **DZL-Technologietransfer-Konsortium** unterstützt die Verwertung innovativer Erkenntnisse. In der **DZL Academy** werden junge Wissenschaftler durch zielgerichtete Programme wie die Finanzierung von Forschungsaufenthalten an anderen DZL-Standorten, lungenspezifische Vorlesungsreihen, Workshop zum Schreiben von Förderanträgen und wissenschaftliche Symposien, sowie dem Angebot des Mentorings gefördert.

Verschiedene Maßnahmen wie internationale Symposien, eine starke Internetpräsenz, Pressemitteilungen über DZL- und Standort-Websites sowie den Informationsdienst Wissenschaft, DZL-geförderte Publikationen und der patientenbezogene **Lungeninformationsdienst (LID)** sorgen für die öffentliche Wahrnehmung des DZL.

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

Das DZL wurde im Herbst 2011 als eines von sechs Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung (DZG) gegründet. Es ist als eingetragener Verein mit Sitz und Geschäftsstelle in Gießen organisiert. Die Mitgliedsorganisationen gliedern sich in fünf Standortverbünde (siehe „Zusammenarbeit mit anderen Stellen“, unten). Das DZL wird durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und die Bundesländer, in denen die jeweiligen Standortverbünde angesiedelt sind, gefördert. Die Finanzverwaltung im Auftrag des BMBF (90% der Mittel) und der Länder (10%) erfolgt durch das Helmholtz Zentrum München, das Mittel an die Zuwendungsempfänger weiterleitet.

Das DZL wurde in den Jahren 2021-23 aufbauend auf den Ergebnissen der ersten (2011-15) und zweiten Förderperiode (2016-20) fortgeführt. Mit der Evaluierung im Jahr 2022 wurde das ursprüngliche Programm basierend auf den Vorschlägen von Gutachtern und Gutachterinnen sowie Wissenschaftlichem Beirat in einzelnen Punkten angepasst, um aktuellen wissenschaftlichen und strukturellen Entwicklungen Rechnung zu tragen.

– **Planung und Ablauf des Vorhabens**

Genaue Planung und Ablauf des Vorhabens sind im Meilensteinplan in Anhang 1 detailliert dargelegt.

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

Grundlage für die dritte Förderperiode des DZL waren insbesondere die förderpolitischen Ergebnisse der ersten beiden Förderperioden. Dabei sind zu nennen:

- Einbindung von über 240 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, Ärzten und Ärztinnen in das DZL-Netzwerk
- Beschäftigung von 525 Personen (344 VZÄ) aus DZL-Mitteln; hiervon 69 % weiblich
- Finanzierung von 21 Professuren und Nachwuchsgruppenleitungen; hiervon 44 % weiblich
- Kooperation zwischen 29 führenden deutschen Forschungseinrichtungen an fünf Standorten
- Über 700 Publikationen mit Impact-Faktor >10 und über 50 Patente aus DZL-mitfinanzierten Projekten
- Anbindung weiterer Institutionen, Kohorten und Register als assoziierte DZL-Partner (RKI, NAKO, Berliner Institut für Gesundheitsforschung (BIH), PROGNOSES, ped-CAPNETZ, PROGRESS, COSYCONET)
- Assoziierung großer Thorax-Kliniken (ARCN, TLRC, CPC-M)
- Rekrutierung von international ausgewiesenen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus dem In- und Ausland
- Erweiterung des internationalen Beirats, bestehend aus renommierten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, um einen Vertreter der Industrie
- Durchführung von Jahrestreffen mit bis zu 500 Lungenforscherinnen und -forschern

- Fortführung der Förderung aus kompetitiven Mitteln für frühe klinische Studien (*investigator initiated*) und Etablierung der Förderlinie zur Erstellung von Anträgen für solche Studien beim DZL und weiteren öffentlichen Förderern (BMBF, DFG).
- Beteiligung an mehr als 250 klinischen Studien der Phasen I – IV
- Ausbau der zentralen Daten-, Gewebe-, und Bilddatenbanken mit einheitlichen SOPs
- Einverständniserklärungen von bis dato >37.000 Patienten für Daten- und Biomaterial-nutzung
- Integration erster Omics-Datensätze im Bereich Datenmanagement
- Etablierung periodischer Updates im DZL Data Warehouse
- Entwicklung eines *Broad Informed Consent* für pädiatrische Studien
- Aufbau der DZL Academy zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses mit entsprechenden Förder- und Fortbildungsveranstaltungen (in Präsenz und digital); Abschluss der Programms „Deutsch-Französische Lungenschule“; jährliche Munich International Autumn School for Respiratory Medicine (MIAS)
- Informationen für Patientinnen und Patienten über den Lungeninformationsdienst des DZL (www.lungeninformationsdienst.de)
- Aufbau und Gestaltung einer DZL-Website
- Etablierung der stärkeren Vernetzung der Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung und Beginn erster gemeinsamer Projekte im Bereich Öffentlichkeitsarbeit (Zeitschrift SYNERGIE, Patientenbeteiligung, etc.) und Forschung (Bereich Medizinalchemie)
- Empfehlung des Wissenschaftsrats zur Institutionalisierung der DZG
- Erhalt des renommierten Balzan-Preises im Jahr 2019
- DZL-Beteiligung an klinischen Kohorten und Registern

Im **Bereich der Translation** (vom Forschungsergebnis zum Patienten) konnten in den ersten beiden Förderperioden bereits Ergebnisse erzielt werden:

- Weltweite Zulassung einer neuen Therapie für Pulmonal-arterielle Hypertonie (Riociguat) (PH)
- Erfolgreiche erste Studie eines neuen Therapieansatzes am Menschen (GM-CSF-Inhalation) bei akutem Lungenschaden (ALI)
- Weltweit erste präventive Studie (hypertone Kochsalzlösung) bei Kleinkindern mit Mukoviszidose (CF)
- Erste Anwendung neuer diagnostischer Methoden am Patienten (morpho-funktionelles MRI der Lunge (PLI), funktionale Bestimmung des CTFR durch intestinale Messung (CF))
- Entwicklung neuer pharmakologischer Ansätze und klinische Studie (GATA-3-DNAzym) zur Behandlung von Asthma, COPD und Akutem Lungenversagen
- Maßgebliche Fortschritte in der Früherkennung und Behandlung von Säuglingen mit Mukoviszidose (CF)
- Identifizierung von Troponin I als Biomarker für die Vorhersage der Sterblichkeit bei COPD
- Identifizierung genetischer Marker für die Entstehung von Fibrose und deren Krankheitsverlauf (DPLD)
- Abbauprodukt aus Kollagen 4/Tumstatin als neuer potenzieller diagnostischer Serum-Biomarker für die Atemwegsverlegung bei Asthmapatienten und -patientinnen identifiziert (AA)

- Nachweis der Reduktion negativer klinischer Ereignisse bei CTEPH bei Kombinations-therapie mit Ambrisentan und Tadalafil von Beginn an im Vergleich zur Monotherapie (PH)
- Nachweis der Zunahme der Anfälligkeit für *P. aeruginosa*-Infektionen durch Verringerung der Mikrobiomdiversität nach Antibiotikabehandlung (ALI)
- Nachweis der EML4-ALK-Fusionsvariante V3 als Hochrisiko-Faktor für ALK-positive NSCLC-Patienten und -Patientinnen, der mit beschleunigter Metastasierung, frühem Therapieversagen unter Tyrosinkinaseinhibitoren und Chemotherapie sowie kürzerem Gesamtüberleben einhergeht (LC).
- Wirkstoffe, die mTORC1 dauerhaft aktivieren und damit die Autophagie von therapieresistenten Tumorzellen hemmen, sind ein vielversprechender neuer Ansatz für Patienten und Patientinnen mit Tumoren, deren Resistenz von mTOR abhängt (LC).
- Etablierung und erfolgreicher erster Einsatz der Wach-ECMO (extrakorporale Membranoxygenierung) bei Lungenerkrankungen im Endstadium (ELD)
- Entwicklung innovativer Wege zu einer implantierbaren Lunge (ELD)
- Anwendung neuer Bildgebungsverfahren am Menschen (PLI)
- Identifizierung neuer therapeutischer Targets in allen Krankheitsbereichen und Überführung in die vorklinische Testung
- Entwicklung neuer Zell- und Tiermodelle
- Etablierung neuer Patientenkohorten und -register
- Ausbau der Kooperationen mit der Industrie im Bereich der Plattform Imaging
- Durchführung verschiedener IITs mit Industriebeteiligung (z.B. GI HOPE, RELIEF, GATA-3)

Die Entwicklungen in der **Plattform Biobanking** waren von wissenschaftlichem Nutzen für das gesamte DZL. Der Zugriff auf Biomaterialien und klinische Daten aus den Bereichen aller Disease Areas stellt für die DZL-weite und darüber hinaus gehende Lungenforschung einen absoluten Mehrwert dar. Des Weiteren stellen die geleisteten Arbeiten einen wichtigen Schritt zur Vernetzung des Biobankings zwischen den DZGs und weiteren nationalen Biobankstrukturen (z.B. AG Biobanken der Technologie- und Methodenplattform für die vernetzte medizinische Forschung, TMF, und German Biobank Node, GBN) dar.

– **Inhalte und Ergebnisse**

Zu den **herausragenden translationalen Errungenschaften** zählen die weltweite Zulassung neuer, vom DZL geförderter PH-Therapien, die Entwicklung neuartiger diagnostischer und pharmakologischer Ansätze zur Bekämpfung von allergischem Asthma, COPD und akuter Lungenschädigung, große Fortschritte bei der Früherkennung und kausalen Behandlung von Mukoviszidose, die Etablierung der ECMO im Wachzustand und weiterer Lungenersatzverfahren bei Lungenerkrankungen im Endstadium sowie neuartige bildgebende Verfahren, die erstmals beim Menschen angewandt wurden. In allen Krankheitsbereichen wurden neue therapeutische Zielmoleküle identifiziert und in die präklinische Prüfung gebracht, neue Zell- und Tiermodelle etabliert und neue Patientenkohorten/Register innerhalb des DZL oder in Verbindung mit diesem eingerichtet. Seit der Gründung haben DZL-Wissenschaftler **mehr als 1.400 begutachtete Artikel in der Lungenforschung oder lungenrelevanten Grundlagenforschung in hochrangigen internationalen Fachzeitschriften veröffentlicht (Impact-Faktor >10)**, haben mehr als 50 Patente angemeldet, waren an mehr als 300 klinischen Studien auf allen Ebenen (Phasen I-IV) beteiligt und kooperieren derzeit mit fast 300 internationalen kommerziellen Partnern, u.a. in Projekten der Grundlagenforschung und angewandten Forschung sowie bei der Durchführung klinischer Studien.

Die Schwerpunkte der **8 Disease Areas, der 2 Plattformen und der assoziierten wissenschaftlichen Partner** (Berlin, CAPNETZ, COSYCONET) innerhalb des DZL blieben in der dritten Förderperiode (2021-2023) unverändert, während die spezifischen Ziele innerhalb jeder DZL-Einheit entsprechend dem medizinischen Bedarf und dem wissenschaftlichen Fortschritt aktualisiert oder modifiziert wurden.

Eine wichtige Neuerung zum Zweck der gegenseitigen Befruchtung von Ideen und Fachwissen war die Einführung von Arbeitsgruppen in **krankheitsübergreifenden Forschungsbereichen (Disease-Spanning Working Groups, DSWG)**. Im Gegensatz zu den bestehenden Plattformen konzentrieren sich die DSWG nicht auf methodische/technische Aspekte, sondern befassen sich mit innovativen Ideen, die für die meisten, wenn nicht sogar für alle Krankheitsbereiche relevant sind. Es wurden flexible Mittel für DSWG-Sitzungen (zweimal jährlich) bereitgestellt, die allen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen/Ärztinnen/Ärzten aus den verschiedenen DZL-Standorten und Krankheitsbereichen offenstehen, die in dem jeweiligen Forschungsbereich tätig sind. Die DSWG-Mitglieder wählten zwei Personen als DSWG-Leitung, die sich um die Organisation und den Informationsfluss kümmerten. Für DZL 3.0 wurden drei Forschungsbereiche ausgewählt: **Lung Environment Interaction (LEI), Microbiome-Metagenome (MM) und Single-Cell Analysis (SCA)**, letzteres auf Empfehlung des Scientific Advisory Board (SAB) während der Evaluierung des Neuantrags für die dritte Förderperiode. Alle drei DSWG begannen ihren regelmäßigen Austausch während der Pandemie mit digitalen Auftakt- und Folgetreffen im Jahr 2021. Die jüngsten Berichte der DSWG an den DZL-Vorstand haben gezeigt, dass interdisziplinäre Forschungsideen und -projekte weiter ausgebaut werden können. Daher wurde beschlossen, ein spezifisches Budget für die Fortführung der DSWG in der vierten Förderperiode bereitzustellen. Das Konzept der DSWG steht in vollem Einklang mit der ursprünglichen Strategie des DZL, Forschung nicht in "separaten Krankheitssilos" zu organisieren, sondern ein vereinheitlichendes wissenschaftliches Konzept anzustreben, das allen Krankheitsbereichen zugutekommt, und unterstützt diese weiter.

Während das DZL bereits im Rahmen der zweiten Förderperiode mit mehreren anderen Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung (DZG) kooperierte, insbesondere mit dem Deutschen Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), dem Deutschen Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) und dem Deutschen Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK), erhielt die Initiative im Rahmen von DZL 3.0 durch die Festlegung eines Budgets für gemeinsame Aktivitäten eine echte Dynamik, die zwar sehr begrenzt ist, aber den Stellenwert, den das Bundesministerium der DZG-Kooperation beimisst, erfolgreich signalisiert. Ein Drittel der von den Mittelgebern ab 2021 gewährten jährlichen Aufstockung um 3% wird derzeit für den Ausbau der Forschungszusammenarbeit zwischen den verschiedenen DZG verwendet.

Das DZL ist seit seiner Gründung Teil mehrerer Forschungsnetzwerke mit dem Schwerpunkt Lungenerkrankungen und hat das **Instrument der Assoziierten Partnerschaften** mit verschiedenen Forschungsorganisationen zum gegenseitigen Nutzen aller Beteiligten entlang der translationalen Kette, auch unter Einbeziehung der Patientenvertretung, kontinuierlich genutzt. Die Partnerschaften sind nicht notwendigerweise finanziell abgesichert, sondern beruhen seit jeher auf der Verpflichtung, Forschungskonsortien bilateral zu öffnen und wissenschaftlichen Austausch, Sachleistungen für gemeinsame Forschungsprojekte und gemeinsame Anträge für zusätzliche Drittmittel zu ermöglichen.

Mehrere assoziierte Partner sind über die fünf DZL-Standorte angebunden: **ARCN**: PRI – Pulmonary Research Institute an der LungenClinic Grosshansdorf, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein - Campus Kiel & Lübeck; **BREATH**: CAPNETZ Stiftung, PROGNOSIS - The Prospective German Non-CF-Bronchiectasis Registry; **UGMLC**: COSYCONET - German COPD and SYstemic Consequences-COMorbidities NETwork. Weitere nationale Partner sind mit dem DZL auf der Basis gegenseitiger Vereinbarungen zu übergreifenden Lungenforschungszielen assoziiert (NAKO - Nationale Gesundheitsstudie; RKI - Robert Koch-Institut). Schließlich ist mit dem **assoziierten Standort Berlin** (Charité/BIH - Berlin Institute of Health; PROGRESS - Pneumonia Research Network on Genetic Resistance and Susceptibility for the Evolution of Severe Sepsis) ein starker Partner in der Bundeshauptstadt ansässig.

Die COVID-19- und Post-COVID-19-Forschung wurde schon sehr früh im Verlauf der Pandemie zu einem Schwerpunkt der regionalen, bundesweiten und europäischen Fördereinrichtungen. Insbesondere das **Netzwerk Hochschulmedizin (NUM)** wurde im April 2020 nach Ausbruch der COVID-19-Pandemie gegründet, um einen Zusammenschluss aller 36 deutschen Universitätskliniken zu etablieren. Unmittelbar danach wurden alle DZL-Standorte zentral in diese Forschungsaktivitäten eingebunden. Ziel dieser Zusammenarbeit war es, die entstehenden, dringend notwendigen Pandemieforschungsprojekte im Kampf gegen die Pandemie zu koordinieren und die Zukunftsvorsorge zu fördern. Dazu gehört die Bündelung vorhandener Kompetenzen und Ressourcen innerhalb der verschiedenen deutschen Universitätskliniken und die Analyse diagnostischer und therapeutischer Strategien, um eine optimale Patientenbehandlung zu gewährleisten.

Das **Nationale Pandemie-Kohorten-Netzwerk (NAPKON)** stellt das zentrale Rückgrat des NUM dar, indem es eine Plattform und Infrastruktur für die Sammlung von Daten und Bioproben bereitstellt. Es wird durch eine Reihe weiterer Projekte ergänzt (z. B. mit Schwerpunkt auf Epidemiologie, Autopsie, (Epi-)Genetik, Bildgebung usw.). Die PIs und Teams des DZL sind federführend bei der Planung und Durchführung von standortübergreifenden Grundlagen- und translationalen Forschungsprojekten und klinischen Studien. Mit dieser breit angelegten Forschungsinfrastruktur hat NUM den Grundstein für weitere Pandemieforschungsprojekte gelegt, bei denen die rechtzeitige Koordinierung von Spitzentechnologie und klinischer Kompetenz von zentraler Bedeutung ist.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die in den ersten drei Förderperioden geleistete Zusammenführung der leitenden deutschen Lungenzentren zu einem nationalen Zentrum mit einer kohärenten Forschungsstrategie und starken kooperativen Aktivitäten einen messbaren Mehrwert für die Lungenforschung in Deutschland generiert und die internationale Sichtbarkeit erheblich gestärkt hat. Das DZL geht mit den gewonnenen Erkenntnissen in die **vierte Förderperiode (2024-27)**.

– **konkreter Nutzen und Anwendungsmöglichkeiten der Ergebnisse**

Die Forschungsergebnisse des DZL haben zu zahlreichen hochrangigen Publikationen geführt und Eingang in Leitlinien gefunden (siehe Abschnitt „Inhalt und Ergebnisse“). Um die Nutzung unserer Forschungsergebnisse zu fördern, wurden sie auf nationalen und internationalen Kongressen vorgestellt. Zahlreiche angemeldete Patente und Ergebnisse klinischer Studien bieten Anwendungsmöglichkeiten unserer Forschung zur Verbesserung von Prävention, Diagnostik und Therapie von Lungenerkrankungen. Einen konkreten Nutzen hatten auch Patientinnen und Patienten, die an unseren größtenteils gemeinsam mit dem Lungeninformationsdienst durchgeführten Informationsveranstaltungen – entweder an den Standorten oder während des DGP-Kongresses – teilgenommen haben.

– **Zusammenarbeit mit anderen Stellen**

Im DZL arbeiten rund 260 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler und ihre Arbeitsgruppen aus 29 universitären und nicht-universitären Forschungseinrichtungen sowie Kliniken an fünf deutschen DZL-Standorten und weiteren Standorten der assoziierten Partner zusammen. Ein intensiver Austausch sowohl der DZL-Forschenden zwischen den Standorten als auch des gesamten Verbundes ist daher von immenser Bedeutung für das gemeinsame Ziel, Lungenerkrankungen bestmöglich zu erforschen und bekämpfen zu können. Neben wöchentlichen Telefon-/Videokonferenzen und zahlreichen regelmäßigen Treffen der Arbeitsgruppen, Gremien und administrativen Einheiten ist insbesondere das DZL-Jahrestreffen ein wichtiges Instrument, diese Kooperation zu befördern.

Mit zuletzt ca. 550 Teilnehmerinnen und Teilnehmer, mehr als 350 Posterpräsentationen und fast 100 Teaservorträgen ist das Jahrestreffen ein erfolgreiches Forum zur Darstellung der Forschungsfortschritte und der Vernetzung. Das Jahrestreffen wechselt zwischen den Standorten und trägt somit auch zur Vernetzung der Forschung zwischen den Standorten und Kooperationsanbahnung mit externen/internationalen Partnern bei. Die Mitglieder des

wissenschaftlichen Beirates des DZL stehen dem Vorstand hinsichtlich der Ausgestaltung des Forschungsprogramms und der Weiterentwicklung des Zentrums beratend zur Seite.

Die Mitglieder und zuwendungsberechtigten assoziierten Mitglieder des DZL sind:

ARCN	LungenClinic Grosshansdorf	Ghd
	Forschungszentrum Borstel	FZB
	Christian-Albrechts-Universität Kiel	CAU
	Universität zu Lübeck	UzL
	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck	UKSH HL
	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel	UKSH KI
BREATH	Medizinische Hochschule Hannover	MHH
	Fraunhofer-Institut ITEM	ITEM
	Leibniz-Universität Hannover	LUH
UGMLC	Justus-Liebig-Universität Gießen	JLU
	Philipps-Universität Marburg	UMR
	Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung Bad Nauheim	MPI-BN
TLRC	Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg	RKU
	Universitätsklinikum Heidelberg	UKHD
	Thoraxklinik Heidelberg	Thorax
	European Molecular Biology Laboratory	EMBL
	Deutsches Krebsforschungszentrum	DKFZ
CPC-M	HelmholtzZentrum für Gesundheit und Umwelt	HMGU
	Ludwig-Maximilians-Universität München	LMU
	Klinikum der Universität München	KUM
	Asklepios Fachkliniken Gauting	ASK

Das DZL hat sich seit seiner Gründung an mehreren **Netzwerken zu Erforschung verschiedener Lungenkrankheiten** beteiligt und ist mit weiteren Organisationen assoziiert, die zur Realisierung der Forschungsvorhaben beitragen. Die Erweiterung und der Ausbau der Partnerschaften in den Bereichen Wissenschaft und Forschung, Nachwuchsförderung, Patienteninformation und -interessen, klinische Studien, Industrie und Aufklärungsarbeit werden aktiv verfolgt.

Das DZL kooperiert eng mit dem bei Helmholtz Munich ansässigen **Lungeninformationsdienst (LID)** und unterstützt das Angebot allgemeinverständlich aufbereiteter Information aus Forschung und Klinik rund um Lungenerkrankungen. Die Wissenschaftler, Wissenschaftlerinnen, Ärztinnen und Ärzte der DZL-Standorte übernehmen für die redaktionellen Beiträge des LID und individuelle Anfragen an den LID eine beratende Funktion. Gemeinsam mit dem DZL richtete der Lungeninformationsdienst Patientenforen an verschiedenen Standorten des Zentrums aus.

II. Eingehende Darstellung des Vorhabens (Verwertungscode siehe Anhang 1)

- Das UKHD hat zum Forschungsprogramm der Krankheitsbereiche COPD und Lungenkrebs beigetragen. Im Folgenden eine Zusammenfassung zu den jeweiligen Meilensteinen.

Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD)**AG Dalpke/Boutin/ Cheaib**

COPD-2.1: Frühkindlicher Ursprung und nachfolgende Risikofaktoren, Identifizierung und Validierung neuer funktionaler und mechanistischer Ansätze und die Untersuchung der Assoziation zwischen fortschreitender Erkrankung / Schweregrad und dem Lungenmikrobiom.

Die 2021 in Zusammenarbeit mit Dr. Dario Frey begonnene Studie zur Korrelation der Entzündungsmarker im Sputum und im Mikrobiom bei Patienten mit COPD (n=18), aber auch bei CF (n=38) und gesunden Kontrollpersonen (n=10) ist jetzt abgeschlossen. Unsere Ergebnisse zeigen auf, dass die Mikrobiomprofile in drei Pulmotypen geclustert werden könnten. Der erste Pulmotyp ist der vielfältigste Mikrobiomtyp und umfasst die gesunden Kontrollpersonen sowie einige CF- und COPD-Patienten. Der zweite Pulmotyp besteht aus CF- und COPD-Patienten und zeigte eine geringere Diversität im Mikrobiom. Der dritte Pulmotyp war durch eine hohe Dominanz von *Pseudomonas aeruginosa* gekennzeichnet und umfasste ausschließlich CF-Patienten. Ein Vergleich der Krankheitsgruppen innerhalb desselben Pulmotyps zeigte, dass COPD-Patienten trotz eines ähnlichen Mikrobioms einen höheren IL-5, IL-6 und IL-10 Spiegel aufwiesen als die anderen Gruppen, während die CF-Kohorte höhere TNF- α -Konzentrationen zeigte und mehr TGF- β 1 produzierte. Die Befunde weisen auf krankheitsspezifische Entzündungsprozesse hin. Um die Daten zu stärken, wurde im Jahr 2023 auch ein proteomischer Ansatz verwendet. Dieser zeigte, dass das Proteom die drei Krankheitsgruppen mit einer nahezu perfekten Klassifizierung klar unterscheidet. Aufgrund des Wechsels von Dr. Boutin vom TLRC zum ARCN konnte die Analyse erst im Jahr 2023 abgeschlossen werden. Das Manuskript soll nun im ersten Quartal 2024 beim ERJ eingereicht werden.

Für die Analyse des Mikrobioms bei COPD wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Judith Brock (Partner Thoraxklinik-Anschubfinanzierung) eine „cross area activity microbiome“ gestartet. Ziel des Projektes ist die Bewertung der Dynamik der Mikrobiomzusammensetzung und -struktur in Lungenbronchiolen vor und nach endoskopischen Eingriffen bei 35 Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung (COPD). Ergänzend werden Metabolomikprofile des Blutkreislaufs untersucht. Die Probenentnahme wurde in 2023 begonnen und eine Analyse wird in 2024 möglich sein.

Eine weitere Studie wurde in Zusammenarbeit mit Dr. A. Ciardo (UKHD) durchgeführt, um unser Verständnis des Zusammenhangs zwischen dem Fortschreiten der COPD und dem Lungen- und Mundmikrobiom zu verbessern. Es wurden 52 Patienten mit COPD (Gold III/IV) rekrutiert und es wurden Bronchiallavagen (n=52) und subgingivale Biofilmprouben (n=52) sowie subgingivale Biofilmprouben (n=52) von gesunden Spendern entnommen. In 2023 erfolgte die bioinformatische und statistische Analyse. Der Vergleich des subgingivalen Mikrobioms zeigt eine erhöhte Häufigkeit anaerober Bakterien in der subgingivalen Flüssigkeit von Patienten mit COPD, was auf starke Unterschiede in den Nischen zwischen den beiden Kohorten hinweist. Gleichzeitig wurde aber auch eine 8-fache Zunahme der Häufigkeit der Gattung *Haemophilus* in der subgingivalen Flora der Patienten mit COPD beobachtet, was von hoher Relevanz ist, da *Haemophilus influenzae* die häufigste Ursache für bakterielle Infektionen in der Lunge von COPD-Patienten ist. Das Manuskript wird derzeit verfasst.

COPD-2.3: Detaillierte Phänotypisierung der Immunantwort, Krankheitsverlauf und Exazerbation anhand von Kohorten (COSYCONET)

AG Mall / Paulsen

Erste Arbeiten wurde im November 2021 in Nature Communications publiziert (Hey, J., Paulsen, M., Toth, R. et al. Epigenetic reprogramming of airway macrophages promotes polarization and inflammation in muco-obstructive lung disease. Nat Commun 12, 6520 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26777-9>). Im Jahr 2021, wurde an der Überarbeitung der zuvor erwähnten Publikation gearbeitet. Hierfür wurden die Lungen von Scnn1b-transgenen und Wildtyp Mäusen mit bis zu 15 Antikörpern gegen Oberflächenmarker zur Charakterisierung der Makrophagen-polarisierung im Mall Labor gefärbt. Die bioinformatische Analyse der Einzelzelldaten wurden im Plass Labor durchgeführt. Zusätzlich, wurden Makrophagen von Scnn1b-transgenen und Wildtyp Mäusen mit Mucus in unterschiedlichen Konzentrationen und für unterschiedliche Dauer behandelt, um molekulare und funktionelle Veränderungen der Makrophagen zu detektieren. Die Behandlung fand im TLRC-RKU Labor statt, während der Nachweis von inflammatorischen Proteinen, sowie die Messung der der Efferozytose- und Phagozytosekapazität von Makrophagen im Plass Labor durchgeführt wurde.

Dieser Meilenstein wurde ehemals von der AG Mall und AG Plass (DKFZ) gemeinsam bearbeitet und war eine Fortsetzung von wiss. Arbeiten aus dem DZL2.0. In 2021 wurden die Ergebnisse in Nature Communications publiziert. Da auch mit DZL3.0 die Förderung von der AG Mall durch das TLRC endete, wurden in 2021 nur noch die notwendigen Arbeiten zur Publikation fertiggestellt und der Meilenstein damit abgeschlossen.

COPD-4.1: Translation etablierter Bildgebungsbiomarker für den Bereich COPD

AG Wielpütz

Im Sinne einer ‚umgekehrten Translation‘ wurde am TLRC das Mausmodell der beta-ENaC-transgenen Maus mittels microCT genauer charakterisiert, um die quantitativen Marker des Lungenemphysems und der Bronchiektasie, welche im Patienten bereits gut etabliert sind, auch im Mausmodell für potentielle Therapiestudien anwenden zu können. Hierzu wurden Lungenpräparate von beta-ENaC überexprimierenden Mäusen auch in Kombination mit einem Knock-out der Neutrophilen Elastase mit den entsprechenden Kontrollgruppen mittels micro-CT im Alter von 0, 5, 14 und 60 Tagen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die aus der humanen Situation bekannten quantitativen Parameter auch im Mausmodell zur Charakterisierung von Atemwegsveränderungen und dem Lungenemphysem geeignet sind, und auch Therapieeffekte durch den Knock-out der Neutrophilen Elastase messen können (Zhu et al. *AJP Lung* 2022).

Basierend auf dieser Vorarbeit wurde in einem zweiten experimentellen Ansatz versucht, den Biomarker „Airtrapping“ auf das micro-CT im Mausmodell rückzuübertragen. Hierzu wurden am TLRC erwachsene beta-ENaC-transgene Mäuse *in vivo* in freier Atmung mittels micro-CT und Atemgating untersucht. Ziel war es, Aufnahmen in unterschiedlichen Atemzuständen zu acquirieren, um hieraus die Volumen- und Dichteänderungen der Lunge zu gewinnen und „Airtrapping“ zu berechnen. Die Experimente werden voraussichtlich 2024 abgeschlossen und zur Publikation vorbereitet werden können (Doktorandin Dipl.-Pharm. Claudia Benke).

COPD-4.3: Maschinelles Lernen und Künstliche Intelligenz

AG Kauczor / Weinheimer / Wielpütz /Biederer

Für die automatisierte Auswertung auch der **MRT-Perfusionsdaten**, wurde in einem Kooperationsprojekt mit der Firma Boehringer Ingelheim im Rahmen eines Promotionsvorhabens durch die Sektion Pulmonale Radiologie (PI Prof. Dr. Mark Wielpütz) eine neuartige Software entwickelt, die die Perfusionsstörungen in der 4D-Perfusions-MRT bei COPD-Patienten automatisch in Prozent des gesamten Lungenvolumens beziffern kann. Dieser neuartige bildgebende Biomarker korrelierte zudem gut mit den visuellen MRT-Perfusions-Scores, mit der Spirometrie (FEV1%) sowie auch mit dem Anteil abnormaler Lunge in der quantitativen CT (parametric response mapping, Summe aus Emphysem und small airways disease). Diese Arbeit wurde in 2022 veröffentlicht (Schiwek et al. *Eur Radiol* 2022), und die Dissertationsschrift erfolgreich angenommen (Prädikat Summa cum laude). Eine weitere Arbeit

zur Reproduzierbarkeit der neuartigen bildbasierten Biomarker im Zeitraum von einem Monat bei 35 Patienten mit COPD und Mukoviszidose wurde ebenfalls in 2022 publiziert (Konietzke [geb. Schiwiek] et al. Front Med 2022). Eine dritte Arbeit unter Verwendung der o.g. Software konnte nun erstmals die kontrastmittelgestützte Perfusions-MRT mit dem echozeitabhängigen T1-Mapping zur non-contrast funktionellen Lungenbildgebung (Triphan et al. JMIR 2020 und 2021) durch erfolgreiche Registrierung lokal und voxelbasiert korrelieren. Die Gruppe konnte zeigen, dass Perfusionsdefekte gut mit T1-Absenkungen übereinstimmen und der lokale Blutfluss (PBF) gut mit dem T1-Mapping korreliert. Die Arbeit wurde 2023 zur Publikation angenommen (Triphan et al. Front Med 2024).

Für ein weiteres Follow-up mit klinischen Parametern (BODE, PFT) nach 6 Jahren werden noch mindestens bis 2024 Patientenuntersuchungen durchgeführt, um den Wert der CT- und MRT-Bildgebung für die Prognose und das Monitoring des Fortschreitens der COPD zu ermitteln.

Im Rahmen einer Kooperation mit dem Institut für Informatik am Universitätsklinikum Heidelberg (PI Prof. Petra Knaup-Gregori, Dr. Urs Eisenmann) hat die Sektion Pulmonale Radiologie (PI Prof. Mark Wielpütz) ein Projekt zur künstlichen Intelligenz-assistierten Auswertung der MRT der Mukoviszidose (zystische Fibrose, CF) entwickelt. Hierbei soll die umfassende klinische und Bildgebungsdatenbank zur CF mit mittlerweile über 1.200 standardisierten MRT-Untersuchungen aus den letzten 15 Jahren aus allen Altersstufen genutzt werden. Zudem liegen zu jedem Untersuchungszeitpunkt die MRT-Scores u.a. aus den laufenden Auswertungen im Rahmen der vorangegangenen DZL-Projekte (nach Eichinger et al. Eur J Radiol 2012, Wielpütz et al. AJRCCM 2014 und 2019, Stahl et al. AJRCCM 2017, 2020 und 2021) als „ground truth“, sowie eine Reihe von klinischen Parametern zur Korrelation vor. Ziel ist es, eine vollautomatisierte Auswertung der MRTs für alle morphologischen und funktionellen Merkmale der CF-Lungenerkrankung auf Basis von „convolutional neural networks (CNN)“ zu etablieren, welche dann für eine multizentrische Auswertung im Rahmen aller DZL-Standorte, welche MRTs bei CF durchführen, zur Verfügung gestellt werden kann. Für diese Projekte wurde erfolgreich zusätzliche Förderung durch flexible DZL-Mittel (2022-2023), durch den Mukoviszidose e.V. über 20.000 € (Förderzeitraum 2020-2022) und dem Vertex Innovation Award über fast 400.000 € (Förderzeitraum 2022-2024) eingeworben. Erste vorläufige Ergebnisse wurde in Form von Abstracts auf den entsprechenden Fachkongressen präsentiert. Eine erste Publikation wurde 2023 zur Veröffentlichung angenommen (Ringwald FG et al. *Stud Health Technol Inform* 2024). In Fortführung der Arbeiten soll die KI-basierte Quantifizierung und Annotation (explainable AI-Ansatz) der Perfusionsdefekte in der Lungenperfusions-MRT auch auf andere Krankheitsbilder übertragen und das Einsatzspektrum so deutlich erweitert werden. Hierzu werden seit 2023 multizentrische standardisierte Datensätze zu COPD, CF, pulmonaler Hypertonie und CTEPH und primäre Ziliendyskinesie PCD gesammelt. Als ground truth dient weiterhin der MRT-Perfusions-Score sowie die Lungensegmentierung und Annotationen der Perfusionsdefekte. Die Sektion Pulmonale Radiologie hat hierzu mit ihren Partnern (Dr. Eisenmann, IMI Heidelberg; Prof. Vogel-Claussen, BREATH; Prof. Stahl und Prof. Mall, BIH) erfolgreich eine Förderung im Rahmen des Disease Spanning Working Groups-Programms zur Förderung 2024-2027 eingeworben.

Die genaue Quantifizierung von **Air Trapping (AT)** in der Computertomographie (CT) der Lunge ist für den Radiologen eine schwierige und zeitintensive Aufgabe. Da AT meist bereits in einem sehr frühen Stadium einer Atemwegserkrankung auftritt, ist es ein wichtiger Faktor, um pathologische Auffälligkeiten früh zu erkennen und zu behandeln. Eine Deep Learning (DL) Methode zur AT Detektion und Quantifizierung in expiratorischen CT-Bildern wurde in der Arbeitsgruppe um Prof. Craig Galban an der Universität Michigan, mit der wir schon länger kooperieren, entwickelt (Sundaresh Ram et al. Plos One 2021). Aufbauend auf dieser Methode haben wir eine Deep Learning (DL) Methode zur AT Detektion und Quantifizierung in gepaarten inspiratorischen/ expiratorischen CT-Bildern entwickelt. Erste vielversprechende Ergebnisse wurden auf zwei Konferenzen vorgestellt, (Sarah Muller et al, ECR, 2022 (Konferenz)) und (Sarah Muller et al, ESTI, 2022 (Konferenz)) und als Kongresspublikation beim MICCAI 2023 angenommen (Muller et al. MICCAI Proceedings 2023). Eine Originalpublikation wird voraussichtlich 2024 eingereicht. Die entwickelte Methodik wird in ihrer finalen Version in unsere CT-Auswertesoftware YACTA integriert.

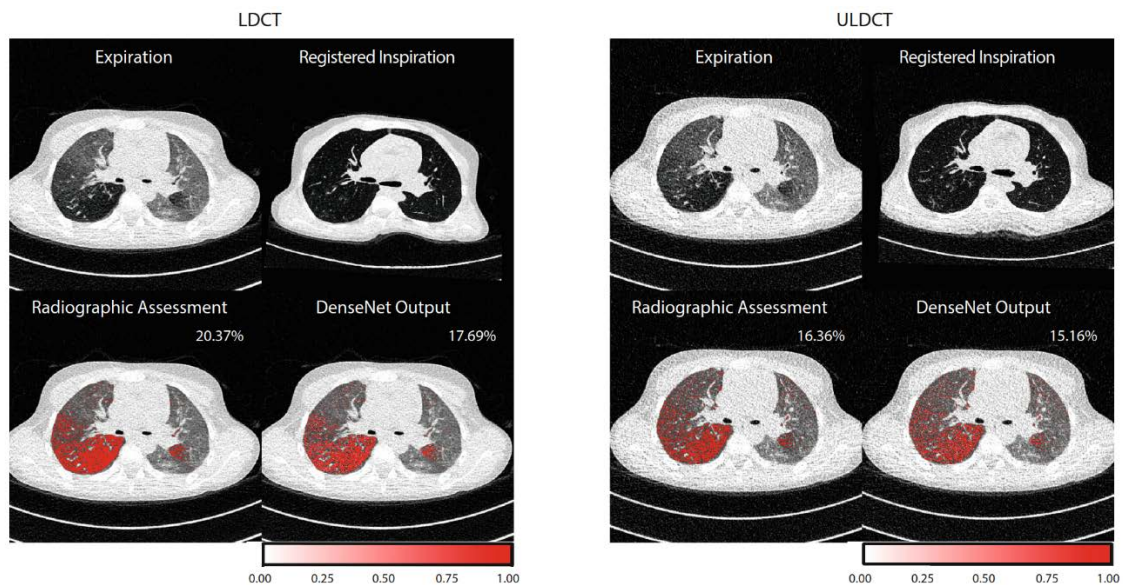


Figure 1 Obere Reihe: Repräsentative CT Bilder in Expiration und die entsprechenden registrierten CT Bilder in Inspiration. Darunter die von Radiologen erzeugten Ground-Truth Daten (Air Trapping rot) und die von dem trainierten DenseNet erzeugten Ausgabewahrscheinlichkeitskarten für ein Low-Dose (LD) und den entsprechenden Ultra-Low-Dose (ULD) Scan. Das DenseNet wurde auf LD mit einem Zweikanaleingang trainiert. (Abbildung aus Muller, S. M, MICCAI 2023)

Basierend auf den o.g. Software-Ansätzen zur Quantifizierung der Perfusions-MRT sowie YACTA incl. Airtrapping und Parametric Response Mapping wurden 2023 außerdem die multizentrischen Datensätze der MR-COPD-I-Studie vergleichend ausgewertet. Ziel ist einerseits die Software-basierte Phänotypisierung der COPD. Hierbei konnte die Sektion Pulmonale Radiologie nachweisen, dass die Atemwegsparameter, wie z.B. Wanddicke, sich nur bis zum GOLD-Stadium II pathologisch verändern, während das Emphysem durchgängig über alle GOLD-Stadien zunimmt. Diese Arbeit ist zur Publikation eingereicht (Konietzke et al.). Zudem beschäftigt sich die Gruppe mit der Co-Registrierung der gepaarten MRT und CT-Datensätze, so dass voxelbasiert multiparametrische Auswertungen von Perfusion, Emphysem und Airtrapping erstmals möglich werden (Doktorandin Yiling Xu). Erste Ergebnisse werden für 2024 erwartet.

COPD-4.4: Neue CT-basierte Bildgebungsbiomarker für COPD

AG Kauczor / Biederer / Wielpütz

Die Informationen aus der quantitativen CT wurden als so wertvoll angesehen, dass diese in die Stellungnahme der Fachgesellschaften als notwendige Maßnahme bei interventioneller Emphysembehandlung aufgenommen wurden (Gesierich WJ, et al. Joint Statement of the German Respiratory Society and German Society of Thoracic Surgery in Cooperation with the German Radiological Society: Structural Prerequisites of Centres for Interventional Treatment of Emphysema Respiration 2021; Quantitative Imaging Metrics for the Assessment of Pulmonary Pathophysiology: An Official American Thoracic Society and Fleischner Society Joint Workshop Report, Ann Am Thorac Soc 2023). Sie sind damit translational in der klinischen Routine angekommen und in den Emphysemboards verpflichtend vorzulegen.

Parallel wird an der Vereinfachung der teilweise komplexen quantitativen regionalen Biomarker u.a. aus in- und expiratorischer CT und MRT weitergearbeitet (Schiwek et al. Eur Radiol 2022, Konietzke et al. Front Med 2022).

In einem Projekt mit 251 Patienten mit Rundherden und teils gesichertem Lungenkrebs konnte die Arbeitsgruppe am TLRC (PI Prof. Wielpütz) nun belegen, dass die Malignitäts-wahrscheinlichkeit eines entdeckten Rundherds in der CT auch mit quantitativen Markern des

Lungenemphysems korreliert und so die Vorhersagegüte verbessert werden kann (Peters et al. Eur Radiol 2023).

Aus der MRT ist die inflammatorische Kontrastmittelanreicherung in den Atemwegen klinisch bekannt. Jedoch konnten die kleinen Strukturen in der MRT nicht genauer quantitativ analysiert werden. Bisher konnte ebenfalls in der CT das Kontrastmittel (KM) Enhancement der Atemwege ebenfalls nicht systematisch untersucht werden, da hierfür Aufnahmen vor und nach KM nötig waren, deren Vergleich durch Atembewegungen erschwert werden. Die spektrale CT mittels Dual Layer Detektor (IQon und Spektral CT 7500, Philips, Best, Niederlande) ermöglicht die routinemäßige Akquisition von Multienergie-Bilddaten mit nur einer Röntgenquelle in einem Atemanhalt. Hiermit können CT-Serien erzeugt werden, bei denen das jodhaltige Kontrastmittel ein deutlich höheres Enhancement erzielt, d.h. der Unterschied zwischen Aufnahmen vor und nach KM-Gabe verdoppelt sich. In einer Studie mit 234 lungengesunden Patienten konnte die Sektion Pulmonale Radiologie (PI Prof. Wielpütz) erstmalig zeigen, dass die Differenz der Dichte der Atemwegswand von und nach KM-Gabe nach der Formel $(40 \text{ kV} - 100 \text{ kV}) / 60 \text{ kV}$ die Stärke des Enhancements der Wand widerspiegelt und somit erstmals quantifizierbar macht (Bodenberger et al. Eur Radiol 2023, Dissertation Bodenberger). In einer Folgestudie wurden Patienten mit entzündlichen Atemwegserkrankungen und Pneumonien verglichen. Interessanterweise zeigen Patienten mit COVID-19-Pneumonie eine starke Kontrastmittelaufnahme der Atemwege, welches wahrscheinlich ein Surrogat der histologisch beschriebenen Neovaskularisation (Ackermann Eur Respir J 2020) ist. Die Dissertation und die Publikation werden voraussichtlich 2024 fertiggestellt.

COPD-4.5: Dunkelfeld Radiographie

AG Abbasi Dezfouli

Das Röntgen mittels Dunkelfeldtechnik ist eine neue Bildgebungsmethode, die insbesondere für Erkrankungen, die das Lungenparenchym betreffen, neue Erkenntnisse bringen kann. Wichtige Vorteile dieser Technologie gegenüber der konventionellen Röntgenbildgebung sind zusätzliche bildliche Informationen über die Mikrostruktur der Lunge, dies allerdings bei deutlich niedriger Strahlenbelastung verglichen mit der low-dose Computertomographie. Zurzeit findet diese Technologie für die Forschung am Menschen ausschließlich in München Anwendung (AG Professor Pfeiffer, TUM). Ein zweiter Dunkelfeld-Prototyp soll in Kooperation mit der TUM an der Thoraxklinik Heidelberg aufgestellt werden, um die Forschung in Bezug auf unterschiedlichste, auch seltenere Lungenerkrankungen, zu beschleunigen. Im Jahr 2021 hat man sich auf eine Kooperation verständigt. Es stellte sich heraus, dass die Einwerbung erheblicher zusätzlicher Mittel notwendig ist, um die Dunkelfeldtechnik am TLRC zu etablieren, da ein Industriepartner seine Unterstützung zurückgezogen hat. Daher verzögert sich der Start weiter. Ein entsprechender Antrag an die DFG wird aktuell finalisiert.

Cystische Fibrose (CF)

CF-1: Multizentrische pädiatrische und erwachsenen CF Patienten Kohorten, Biobank, Beobachtungsstudien und Prüfarzt-initiierte Studien.

CF-1.1: Beobachtungsstudien zu vererbten und nicht-vererbten Risikofaktoren des Einsetzens und Fortschreitens der CF Lungenerkrankung in TRACK CF und Erwachsenen CF Kohorten, inklusive der longitudinalen Bestimmung von quantitativen und qualitativen Parameter der Lungenstruktur und -funktion (MRT, MBW, und PFT) sowie die Sammlung und Analyse von Biomaterialien (DNA, RNA, Serum, Atemwegsproben) (T, C).

AG Sommerburg

In diesem klinischen Forschungsprogramm werden in einem allgemeinen Datenbankregister klinische Informationen und in einer Biobank Biomaterialien (Blut, Sputum, Nasenabstriche) von allen teilnehmenden Patienten mit CF am Standort erfasst. Aufgrund eines monatelangen Personalausfalls im Bereich der Dokumentation im Jahr 2022 wurden (wie bereits berichtet) damals nicht alle Jahresuntersuchungen in der Datenbank vollständig dokumentiert. Dieses entstandene Defizit wurde in 2023 zum größten Teil wieder aufgeholt. Insgesamt konnte der

Anteil nicht zeitgerecht dokumentierter Visiten somit deutlich reduziert werden. Die restlichen Visiten werden nun in 2024 nach dokumentiert.

In der Datenbank werden zu den Kohorten die anthropometrischen Daten, umfangreiche klinische Laborparameter, die Ergebnisse von MRT-Untersuchungen der Lunge und der Nasennebenhöhlen, sofern aufgrund des Lebensalters bereits möglich, Lungenfunktionsparameter und der Lung Clearance Index, welcher mittels Gasauswaschverfahren erhoben wird (MBW – multiple breath washout) erfasst. Ferner werden Befunde der mindestens ¼-jährlich durchgeführten Mikrobiologie-Kulturen der unteren und oberen Atemwege erfasst. Die erfassten Datenparameter (Access-Datenbank) sind seit 2021 unverändert. Jedoch wurden Importfunktionen für erhobene Daten und die Abfragemöglichkeiten verbessert. Gleichzeitig wurden die technischen Grundlagen für einen Umzug der Datenbank von einem Access-Software-basiertem Projekt in eine RedCap-Umgebung gelegt. Dieser Umzug ist nun für 2024 vorgesehen.

Inhaltlich wurden im Detail im Jahr 2023 folgende Datensätze zu den einzelnen Projekten/Studien hinzugefügt:

- Einschluss von 18 neuen Patienten in die Studie „Aufbau einer Bio- und DNA-Bank mit Register bei Patienten mit Mukoviszidose“. Stand 31.12.2023 waren abzüglich der Patienten, bei denen das Einverständnis zurückgezogen wurde, somit 403 Patienten erfasst.
- Für die Track-CF-Kohorte konnten 7 neue Patienten eingeschlossen werden. Stand 31.12.2023 waren abzüglich der Patienten, bei denen das Einverständnis zurückgezogen wurde, 117 Patienten erfasst.

In der CF-Datenbank wurden 2023 insgesamt 642 Visiten (Jahresuntersuchungen, ambulante Visiten, Telefoninterviews und Lebensqualitätsfragebögen) erfasst. Zudem wurden in 2023 190 weitere Visiten aus Vorjahren erfasst bzw. validiert.

Für die CF-Biobank konnten 2023 von 99 Patienten Blut-Proben (n=1.245), von 123 Patienten Sputum-Proben (n=338), von 127 Patienten Nasenabstrich-Proben (n= 353), von 213 Patienten Rachenabstrich-Proben (n=553), von 38 Patienten Nasale Lavage-Proben (n=42) und von 18 Patienten Rektumschleimhautbiopsie-Proben (n=142) für die CF-Biobank erhoben werden. 476 Proben wurden für Kooperationspartner zur Verfügung gestellt (25 BREATH und 451 BIH).

Informationen aus der Datenbank sind in die folgenden Publikationen eingeflossen, welche im Jahr 2023 erschienen sind: Steinke E et al. Front Med (Lausanne) 2023, Wucherpfennig L et al. Front Pharmacol. 2023, Berges et al. Front Pharmacol. 2023, Steinke E. et al. J Cyst Fibros. 2023, Wucherpfennig L, Wuennemann F. et al. et al. Ann Am Thorac Soc. 2023, Meißner M et al. Klin Padiatr 2023. Zudem erhielten folgende PI und Wissenschaftler aus dem DZL Daten aus dieser Datenbank: S. Boutin (ARCN), Frau Al Omari (ARCN), AG Stahl M (BIH), AG Wielpütz M (TLRC), PD Dr. rer. nat. Frauke Stanke (BREATH).

CF-1.2: Beobachtungsstudie zum Ansprechen auf die seit kurzem in der Klinik eingesetzten hoch effektiven CFTR-Modulatoren, inklusive der Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor Dreifachtherapie (T, C).

AG Sommerburg / Wielpütz

Mittlerweile können fast 90% der Patienten mit CF mit neu entwickelten, hocheffektiven CFTR-Modulatoren behandelt werden. Die oben beschriebene etablierte Daten- sowie Biobank wurde weiter genutzt, um klinische Daten und Biomaterial zu sammeln und das Ansprechen der mit CFTR-Modulatoren behandelten Patienten mit CF zu untersuchen. Im Dezember 2023 wurde zu diesem Projekt ein Amendment in die Ethikkommission eingereicht, um folgende Zielkriterien mit auswerten zu können: nasales NO, mikrobielles Metagenom der Atemwege im Cough Swab, mikrobielles Metagenom, Inflammationsmarker der Atemwege in der nasalen Lavage, mikrobielles Metagenom der Atemwege im induziertem Sputum, mikrobielles Metagenom im Stuhl, Pankreas-Elastase, Calprotectin, systemischer Inflammationsmarker im Blut, Lebensqualität.

Ende 2023 wurde zudem die Zulassung für den hocheffektiven CFTR-Modulator Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor auch auf die Altersgruppe der 2-5-jährigen Patienten mit CF erweitert. Dadurch waren bis Ende 2023 Daten von 142 Patienten mit CF erfasst, die CFTR-Modulatoren erhalten hatten, sowie Datensätze von 7 CF-Patienten, die von der ersten auf die nächste Generation von CFTR-Modulatoren umgestellt wurden.

Informationen aus der Datenbank bildeten die Basis für eine Reihe von Veröffentlichungen (Wucherpfennig L et al. Front Pharmacol. 2023, Berges et al. Front Pharmacol. 2023, Steinke E. et al. J Cyst Fibros. 2023, Stahl M et al. Ann Am Thorac Soc. 2023, Wucherpfennig L, Wuennemann F. et al. et al. Ann Am Thorac Soc. 2023 ein).

In Zusammenarbeit mit der AG Wielpütz wurden insbesondere Arbeiten zur Therapie mit CFTR-Modulatoren und deren Wirkung auf die CF-Lungenerkrankung und die chronische Rhinosinusitis bei CF durchgeführt: In einer monozentrischen retrospektiven Beobachtungsstudie mit 19 Erwachsenen mit CF verbesserte die kurzfristige Therapie mit Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor deutlich entzündliche Atemwegsveränderungen und Mucus plugging, gemessen durch den MRT-Score (Wucherpfennig et al. J Cyst Fibros 2022). In einer multizentrischen Studie mit DZL-Partnern (TLRC, BREATH, BIH, ARCN) bei 91 Kinder im Alter von 12 Jahren und älter ergaben sich sehr ähnliche Ergebnisse nach kurzfristiger Therapie (Graber et al. Am J Respir Crit Care Med 2022). Interessanterweise verbesserte die Kombinationstherapie mit Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor zwar die strukturellen Lungenveränderungen in beiden Arbeiten, nicht aber den MRT Perfusions-Score. Unsere Arbeitsgruppe konnte in weiteren Arbeiten nachweisen, dass diese Therapie allerdings die Brochialarteriendilatation bei 35 Erwachsenen partiell verbessert, während sie in einer Kontrollgruppe stabil blieb, und so möglicherweise doch einen Einfluss auf die pulmonale Zirkulation hat (Leutz et al. ERJ Open Res 2023, Wucherpfennig et al. Ann Am Thorac Soc 2023). Das Ausmaß der Reversibilität korrelierte dabei auch mit den Verbesserungen im MRT-Score.

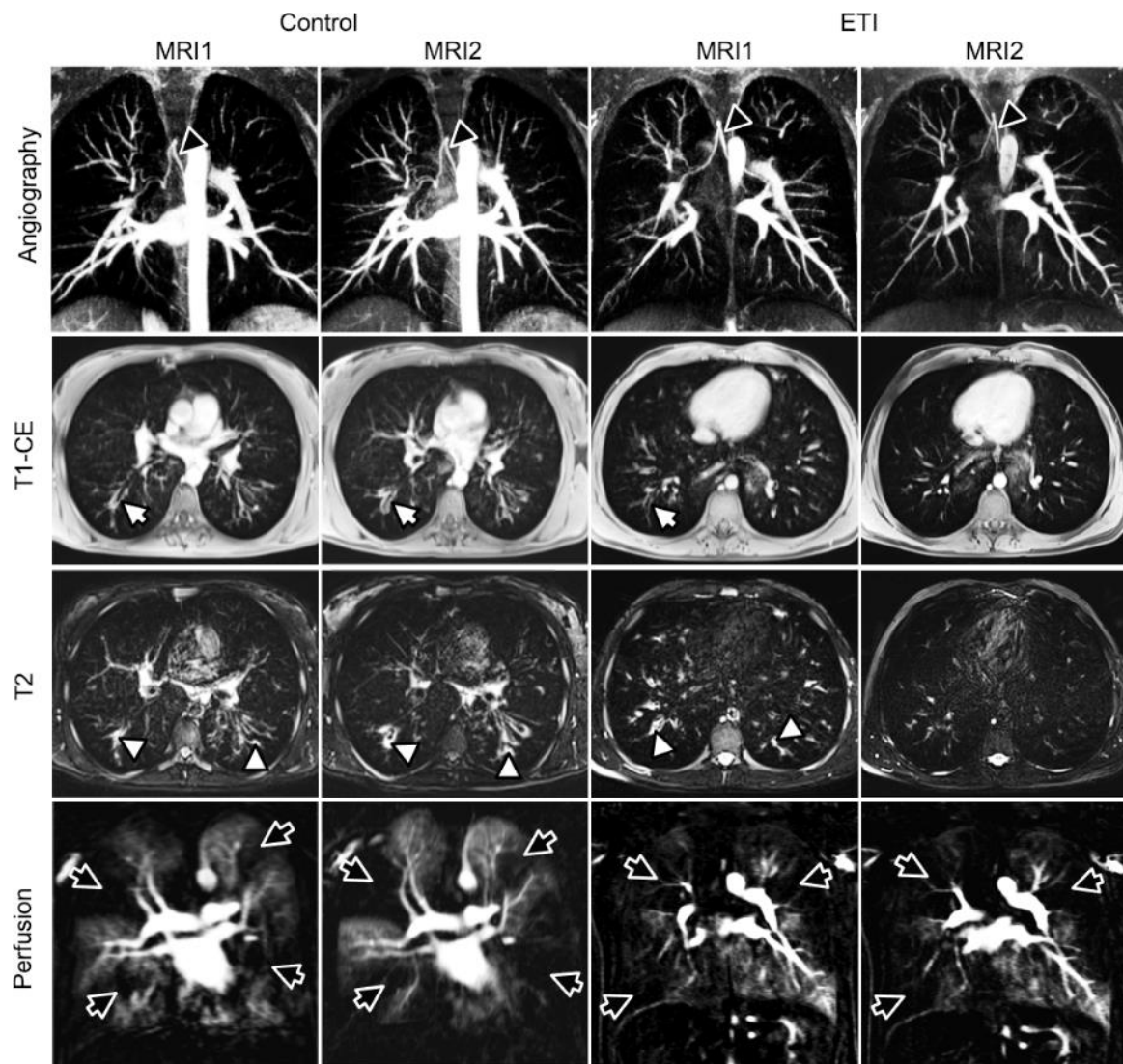


Abbildung: Wirkung der Therapie mit Elaxacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor auf die Bronchialarteriendilatation in der MRT. Weiße Pfeile markieren Bronchialwandverdickungen, weiße Pfeilköpfe Mucus Plugging, und schwarze Pfeile Perfusionsdefekte. Beachte die Stabilität der Perfusionsdefekte auch unter Therapie, jedoch die sichtbare Größenabnahme einer dilatierten Bronchialarterie nach rechts.

Des Weiteren wurden mehrere monozentrische Beobachtungsstudien zur Wirkung der kurz- und längerfristigen Therapie mit Lumacaftor/Ivacaftor auf die chronische Rhinosinusitis (Wucherpennig et al. Ann Am Thorac Soc 2023, Wucherpennig et al. Front Pharmacol 2023) bei Kleinkindern und Kindern im Schulalter sowie bei Erwachsenen durchgeführt und mittels dem CRS-MRT-Score semiquantitativ ausgewertet. Zudem wurde die stärkere Wirksamkeit der triple Kombinationstherapie mit Elaxacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor auf die chronische Rhinosinusitis in weiteren Arbeiten bei Kindern im Schulalter, Jugendlichen und Erwachsenen untersucht und mit der dualen Kombinationstherapie verglichen (Wucherpennig et al. J Cyst Fibros 2022, Wucherpennig et al. J Cyst Fibros 2024).

CF-1.3: Klinische Studie der CFTR-Modulatoren Therapie in Patienten mit CF, die keine krankheitsverursachende Mutation in der kodierenden und flankierenden intronischen Region des CFTR-Gens aufweisen (C).

AG Sommerburg

Dieser Punkt wird hauptsächlich durch unsere Kooperationspartner BREATH bearbeitet. Im Rahmen der Kooperation und unter CF-1.1. beschriebenen Daten- und Biobanken wurden klinische Daten und Biomaterialien von 12 Patienten den Kriterien gemäß extrahiert und zur Verfügung gestellt werden.

CF-1.4: Klinische Studie zur Verbesserung der NTM (M. abscessus) Lungenerkrankung in CF Patienten (C).

AG Sommerburg

Dieser Punkt wird durch unsere Kooperationspartner BREATH bearbeitet, die diesen unseres Wissens nach jedoch momentan zurückgestellt haben, da viele der betroffenen Patienten aufgrund der Therapie mit CFTR-Modulatoren eine klinische Verbesserung auch in infektiologischer Hinsicht erfahren haben und zum großen Teil die zuvor nachgewiesene Infektion mit NTM nicht mehr nachweisbar ist.

CF-2.1: Kontinuierliche Weiterentwicklung der Atemwegs-Metagenom-Pipeline (Proben-sammlung und -verarbeitung, Sequenzierungen, Datenbanken, Datenverarbeitung and -evaluation) (B, T, C).

AG Boutin/Dalpke/Cheah

Im Zeitraum 2021–2023 haben wir unsere Amplikon-Pipeline weiterentwickelt, um verschiedene Regionen des 16S Gen zu untersuchen und für die Diagnostik anzubieten. Jetzt verfügen wir über Pipelines für die Regionen V1–V2, V3–V4 und 'V4 only'. In Ergänzung zu den bakterienspezifischen Primern haben wir auch einen ITS-basierten Ansatz zur Analyse des Pilz Mikrobioms entwickelt, der in 2023 in Projekten verwendet wurde.

Das Weiteren haben wir eine Metagenom-Pipeline entwickelt, die auf dem DNA-library prep kit von Illumina basiert, um eine in-house Metagenomik durchzuführen. Der Analyse-Workflow verwendet Human 3 und Metaphlan 4 für die auf Markergenen basierende taxonomische Zuordnung und funktionale Annotation. Ein assemblierungsbasierter Ansatz unter Verwendung von Metaspades und Metabat2 wurde ebenfalls etabliert, um die Erstellung von Metagenom-Assembly-Genomen zu ermöglichen.

In Zusammenarbeit mit dem DRESDEN-concept Genome Center haben wir außerdem eine Meta-Transkriptom-Pipeline aufgebaut. Der Ansatz kombiniert Poly-dT-Reinigungs- und Ribosomenentfernungsansätze, um zwei RNA-Fractionen zu erzeugen, die parallel analysiert werden können. Die Poly-dT-Fraktion lieferte das Transkriptom des menschlichen Teils, während die ribosomal angereicherte Fraktion das Mikrobiom-bezogene Transkript lieferte. Die an 103 Proben durchgeführte Analyse der Pilotdaten zeigte eine gute Anreicherung der mikrobiellen Messwerte in der ribosomalen Fraktion, die die Analyse des mikrobiellen Transkriptoms ermöglichen. Die entwickelten Techniken wurden 2023 in unterschiedlichen Projekten genutzt deren Publikationen noch aussteht.

CF-2.2: Bestimmung des Mikrobiom der oberen und unteren Atemwege in chronischen Atemwegserkrankungen (CRS, CF, Asthma, COPD, non-CF Bronchiektasen) (B, T, C).

AG Boutin/Dalpke/Cheah

Die Sammlung von mikrobiellen Proben in der CF-Biobank wurde weitergeführt. Aktuell sind 14 Tausend Proben von 380 Patienten gesammelt. Die Probensammlung umfasst Nasenabstriche, Rachenabstriche, Sputa und Bronchiallavagen. Ein Aliquot von 20 µl wird mit PMA behandelt, um eine Amplifikation freier extrazellulärer DNA, wie sie aus zerstörten Bakterien kommt, für die 16S-rDNA-Analyse zu vermeiden. Das andere Aliquot (200 µl bis 1 ml) wird in flüssigem Stickstoff eingefroren und steht für Gemeinschaftsprojekte zur Verfügung.

Wir haben unsere Arbeit mit der CF-Kohorte auf die Längsschnittanalyse konzentriert. Ein erstes Manuskript (Metzger et al., 2021) konzentrierte sich auf die Entwicklung des Mikrobioms über einen Zeitraum von 3 bis 5 Jahren bei 12 Jugendlichen mit CF, wobei wir beobachteten, dass die individuelle Dynamik des Lungenmikrobioms mit der longitudinalen Lungenfunktion zusammenhängt. Patienten mit einem dynamischen Mikrobiom zeigten eine höhere und stabilere Lungenfunktion, während Patienten mit einem stabilen Lungenmikrobiom einen stärkeren Rückgang der Lungenfunktion zeigten.

Eine zweite Studie (Frey et al. 2022) wurde ebenfalls durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der zeitlichen Entwicklung des Lungenmikrobioms und der Entzündung zu verstehen. Wir haben 26 erwachsene CF-Patienten über einen Zeitraum von 1 bis > 3 Jahren analysiert und die Konzentrationen von entzündlichen Zytokinen, neutrophiler Elastase und Anti-Proteinasen in den Sputumproben sowie im Mikrobiom gemessen. Die Ergebnisse unserer Studie zeigten eine periodische Variabilität des Mikrobioms, während die Entzündungsmarker eine langsamere Entwicklung zeigten, die nur über einen langfristigen Zeitraum (> 3 Jahre) beobachtet werden kann. Allerdings waren periodische Schwankungen der Biomasse und die Dominanz des Mikrobioms mit Veränderungen der Entzündungsmarker, insbesondere IL-1 β und IL-8, verbunden. Daher zeigt unsere Studie zum ersten Mal, dass die langfristige Etablierung und periodische Variation der Häufigkeit eines dominanten Krankheitserregers mit einem stärkeren Anstieg der Entzündung einhergehen.

In 2023 wurde an einer Querschnittsstudie gearbeitet, die jetzt veröffentlicht wurde (Chung et al. 2024) und in der wir den Zusammenhang zwischen Entzündungen der oberen Atemwege und der Struktur der Mikrobiota untersucht haben, indem wir Nasenabstriche und Nasenspülung als zwei Probennahmemethoden für die oberen Atemwege bei 36 pädiatrischen CF-Patienten mit stabiler Erkrankung verglichen haben. Ziel war es zu evaluieren, welche Methode die Mikrobiota der oberen Atemwege am besten abbildet. Unsere Ergebnisse zeigen, dass das Mikrobiom der Nasenspülung stärker mit der Entzündungsmessung in den Nasennebenhöhlen korreliert und daher möglicherweise ein genaueres Probennahmeinstrument in der klinischen Routine darstellt.

Wir beteiligten uns auch an der Mikrobiomanalyse der von Prof. M. Mall geleiteten Studie zum Einfluss von Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor bei Patienten mit Mukoviszidose (Schaup et al. 2023). Die Verwendung der Dreifachkombination reduzierte die Bakterienlast und die relative Häufigkeit von *P. aeruginosa* bereits nach dreimonatiger Anwendung mit einer langanhaltenden Wirkung, die bisher in keiner anderen Studie beobachtet wurde. Alle anderen Studien zeigten einen Anstieg der relativen Häufigkeit von *P. aeruginosa* nach einem Jahr, dieser erneute Anstieg wurde jedoch in unserer Studie nicht beobachtet.

Unter Nutzung der o.a. Sammlung von Biomaterialien und der 16S Pipeline konnten wir zeigen, dass ein diverses Mikrobiom bei CF mit weniger Reduktion von Lungenfunktion assoziiert ist. Aufbauend auf der Hypothese, dass kommensale Bakterien möglicherweise protektive Funktionen ausüben, wurden mehr als 80 Kommensale isoliert und auf Beeinflussung von *P. aeruginosa* getestet. Wir konnten zeigen, dass einige kommensale Bakterien die durch *P. aeruginosa* induzierte Entzündung in Epithelzellen reduzieren (Tony-Odigie et al., 2022). Aufbauend auf diesen Befunden soll weiter untersucht werden, ob Probiotika oder Postbiotika einen modulierenden Effekt bei CF haben – dazu wurden u.a. Drittmittel von anderer Stelle eingeworben.

In 2023 hat Dr Bachar Cheaib das mikrobiologische Team im TLRC verstärkt und die Arbeit an mehreren Projekten zu Veränderungen des Atemwegmikrobioms übernommen. Insbesondere wurden die „cross area“ Aktivitäten zur übergreifenden Mikrobiomanalyse ausgebaut.

Die Dynamik des Mikrobioms der oberen Atemwege und der Lungenfunktion mithilfe von MRT und Clearance-Indizes bei Patienten mit zystischer Fibrose (CF) im jungen Alter ist ein standortübergreifendes Projekt mit der AG Boutin am ARCN. Diese Studie umfasst aktuell 210 Proben von Nasenabstrichen und 210 Rachenabstrichen von 73 Patienten (Säuglinge und Kinder) mit CF, wobei 57 Säuglinge mindestens zwei aufeinanderfolgende Jahre lang nachuntersucht wurden. Bei 3% der Patienten stieg der MRT-Score mit zunehmendem Alter an ($R^2=0,18$). Allerdings stieg der Mittelwert des Lung Clearance Index (CLI) bei einigen Patienten nur sehr leicht an. Die Analyse der Alpha-Diversitätsindizes, Reichhaltigkeit und Gleichmäßigkeit sind im Rachen im Vergleich zu den nasalen Mikrobiomen signifikant höher (ANOVA-p-Wert < 0,01). Bei der Anpassung eines linearen gemischten Modells mit dem Patienten als Zufallseffekt beobachteten wir mit zunehmendem Alter eine Zunahme des Verhältnisses von

Fülle/Gleichmäßigkeit im Rachen gegenüber einer Abnahme in den Nasennischen. Im Rachen korreliert die Gleichmäßigkeit geringfügig mit dem MRT-Gesamtergebnis, während die Fülle nur eine schwache Korrelation mit letzterem aufweist. Andererseits zeigten sowohl der Reichtum als auch die Gleichmäßigkeit des Nasenmikrobioms eine leichte Korrelation mit dem MRT-Score. Die Analysen der Mikrobiom-Netzwerkdynamik deuten auch darauf hin, dass die Nase im Vergleich zum Rachen-Mikrobiom instabil ist. Die Netzwerkanalyse des Rachen-Mikrobioms über aufeinanderfolgende Proben hinweg zeigte im Vergleich zum Nasen-Mikrobiom eine signifikant höhere Persistenz positiver Wechselwirkungen zwischen Kommensalen wie *Prevotella*, *Selenomonas*, *Alloprevotella*, *Neisseria* und *Streptococcus* trotz der Prävalenz von Krankheitserregern wie *Haemophilus* und *Fusobacterium*. Um ein besseres Verständnis des Kern-Mikrobioms zu erlangen, hat Dr. Cheaib ein weiteres DZL Projekt aufgesetzt, um mittels Shotgun-Metagenomik-Sequenzierung die konservierten Mikrobiomfunktionen zu entschlüsseln. Daten werden in eine Publikation einfließen.

Schließlich untersuchen wir die Rolle des Darmmikrobioms bei der Eisen(mal)absorption bei Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie (Hauptkooperation Christina A. Eichstaedt Zentrum für pulmonale Hypertonien, Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg). Unsere Aufgabe in diesem Projekt ist es zu untersuchen, ob das Mikrobiom zu einer dysregulierten Eisenhomöostase bei PAH-Patienten beiträgt und ob proteomische Eisenhomöostaseregulatoren als Biomarker zur Identifizierung von Patienten dienen können, die von einer Eisenbehandlung profitieren. Für dieses Projekt wurden zur Optimierung der Probenahmemethode erste 4 Stuhlproben untersucht, die mit zwei verschiedenen Methoden isoliert und konserviert wurden: 1) 4N6 FLOQSwabs mit einem aktiven Trockenröhrchen und 2) OMNigene-GUT™-basierte Flüssigkeitskonservierung. Die klinischen Proben werden im April 2024 erwartet.

Entsprechend der Planung des Arbeitsprogramms inkl. der Meilensteine wurde die zuvor entwickelten Analysemethoden für das Mikrobiom in weiteren, über CF hinausgehenden, Lungenerkrankungen angewandt (siehe auch COPD-2.1 und ALI Anschubfinanzierung).

CF-2.3: Implementierung einer RNA-Sequenzierungsplattform für RNA Viren (T, C)

AG Boutin

Wir haben ein auf Anreicherung basierendes Kit von Illumina (Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit) getestet, um das Ergebnis mit der Kultur zu vergleichen. Wir konnten zeigen, dass die meisten in der Kultur gefundenen Krankheitserreger in den Sequenzierungsergebnissen gefunden wurden. Interessanterweise waren die Häufigkeit und Prävalenz von *Streptococcus pneumoniae* bei Verwendung der sequenzierungs-basierten Methode höher. Diese Diskrepanz ist höchstwahrscheinlich auf die Schwierigkeit zurückzuführen, *S. pneumoniae* mit der klassischen mikrobiologischen Diagnostik zu kultivieren. Andererseits konnten mit RPIP-Kits in einigen Fällen *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens* und *Pseudomonas aeruginosa* nicht nachgewiesen werden. Dieses Versagen ist höchstwahrscheinlich auf die Schwierigkeit zurückzuführen, die DNA aus diesen Organismen zu extrahieren. Die Anwendung des Respiratory Pathogen ID/AMR Enrichment Panel Kit hat sich für den bakteriellen Teil als angemessen erwiesen, aber keine der Proben war positiv für RNA-Viren. Daher konnten wir die diesbezügliche Wirksamkeit des Kits nicht nachweisen. Aufgrund der fehlenden Eignung des Panels für das untersuchte Patientenkollektiv erfolgte kein weiteres Verfolgen dieses Ansatzes in 2023.

CF-2.4: Entwicklung von Protokollen zur Bestimmung der Virulenz und Determinanten der antimikrobiellen Resistenz (T, C)

AG Boutin/Dalpke/Chaib

Während des Förderzeitraums haben wir eine bioinformatische Pipeline entwickelt, um Determinanten virulenter und antimikrobieller Resistenz zu identifizieren. In zwei unserer Studien im Jahr 2021 haben wir gezeigt, dass die Verwendung sowohl von Gensequenzen als auch von Proteinsequenzen erforderlich ist, um die phänotypische Resistenz genau vorherzusagen (Nurjadi et al., 2021; PMID: 33519755). Wir haben auch gezeigt, dass die Expression der antimikrobiellen Gene die Vorhersage der phänotypischen Resistenz

beeinträchtigen kann (Kocer et al., 2021; PMID: 34324652). Daher ist es wichtig, auch die Promotorregion der Gene auf mögliche Verzerrungen bei der Expressionsregulation zu analysieren.

Da die Vorhersage anhand genomischer Daten außerdem stark von Datenbanken abhängt, ist es wichtig, die Determinanten der Resistenz gegen neue antimikrobielle Verbindungen zu ermitteln, um unser Verständnis zu verbessern. Zu diesem Zweck haben wir 2021 an der genetischen Resistenzdeterminante gegen Cefiderocol gearbeitet und beobachtet, dass das Gen *cirA*, ein Catecholat-Siderophor-Rezeptor, das Hauptmutationsziel für den Erwerb der Resistenz bei *Enterobacter* war (Nurjadi et al. 2022) und dass das Vorhandensein der Neu-Delhi-Metallo- β -Lactamase (NDM) die Entstehung von Resistenzen erleichtert (Nurjadi et al., 2021; PMID: 34871093). Diese Arbeit führte zur Aktualisierung unserer AMR-Screening-Pipeline, um die *cirA*-Mutation, die die Proteinsequenz beeinflusst, in vorhergesagte resistente Varianten einzufügen. In Fortführung dieser Experimente wurde in 2023 die Bedeutung von definierten Carbapenemasen für die Entwicklung einer Cefiderocol-Resistenz in *Escherichia coli* untersucht. Cefiderocol-resistente Isolate traten nur bei Isolaten auf, die VIM-1- und NDM-5-Metallo- β -Lactamase produzierten und dabei konnten Veränderungen im *tonB*-Gen einhergehend mit dem Phänotyp der Small-Colony-Variante (SCV) beobachtet werden (PMID: 37022155).

Wir nutzten diese Pipeline auch, um das AMR-Gen in Metagenomen zu identifizieren (Anderson et al. 2022). Wir untersuchten 179 Metagenome von Personen mit Karies und Parodontitis: Wir fanden 64 ARGs, die eine Resistenz gegen 36 Antibiotika, insbesondere gegen Tetracyclin, Makrolid-Lincosamid-Streptogramin und Beta-Lactam-Antibiotika, und eine entsprechend hohe Prävalenz phänotypischer Resistenz verleihen. Basierend auf der Zusammensetzung der Mikrobiota gruppieren sich diese ARGs in verschiedene Resistotypen, was zum ersten Mal die Bedeutung der oralen Mikrobiota als Resistenzreservoir demonstriert und den umsichtigen Einsatz von Antibiotika unterstreicht. Arbeiten zu antimikrobieller Resistenz werden fortgeführt sobald wir eine Kohorte identifizieren deren Design eine entsprechende Auswertung unterstützt.

CF-2.9: Training und Translation der Atemwegs-Metagenom-Pipeline zu anderen DZL Standorten (T, C)

AG Boutin/Dalpe/Chaib

Während des Förderzeitraums wurde die DZL-Arbeitsgruppe Mikrobiom/Metagenom gegründet, zu deren Koordinatoren Sebastien Boutin (TLRC-Partner RKU) gehört. Das Hauptziel der Arbeitsgruppe besteht darin, den Austausch und die Zusammenarbeit zu verbessern und dabei die im DZL verfügbaren technologischen Werkzeuge und theoretischen Kenntnisse zu nutzen, um die Interpretation von Mikrobiomdaten zu verbessern. Das translationale Ziel besteht darin, an Mikrobiomstudien interessierte Forscher dabei zu unterstützen, ihr eigenes experimentelles Design zu erstellen und ihre Datensätze zu analysieren. Insgesamt haben sich 45 Kollegen registriert und kommunizieren über ihre eigene E-Mail-Adresse: microbiome.metagenome@dzl.de. Nach dem Wechsel von Dr. Boutin an das ARCN hat Dr. Chaib diese Aktivitäten am TLRC übernommen und ist fest in die AG Mikrobiom/Metagenom eingebunden.

Während des Förderzeitraums waren die Lehraktivitäten der Arbeitsgruppe Mikrobiom/Metagenom aufgrund der Pandemie eingeschränkt, jedoch wurde 2023 ein Workshop in Zusammenarbeit mit dem DZIF durchgeführt (<https://www.dzif.de/de/event/mikroben>). Es wurde Forschern des DZL ein spezieller Lungenbereich angeboten, um Ergebnisse und Ideen mit Kollegen vom DZIF auszutauschen.

CF-6.1: CFTR-Biomarker Studien (inklusive ICM, nPD und Chlorid im Schweiß zur Bestimmung der epithelialen Chlorid-Sekretion), um im klinischen Alltag die Effekte verschiedener zugelassener auf CFTR-zielgerichteter Therapien (lumacaftor-ivacaftor vs. tezacaftor-ivacaftor vs. elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor vs. andere CFTR Modulatoren) auf die CFTR Funktion in CF Patienten unterschiedlichen Genotyps bestimmen und vergleichen zu können (T, C)

AG Sommerburg

Seit Ende 2020 mit Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor die erste Triple-Kombinationstherapie als CFTR-Modulator der zweiten Generation für Patienten mit CF mit mindestens einer F508del-Mutation zunächst für Patienten über 12 Jahre, dann 2021 ab 6 Jahre und Ende 2023 ab 2 Jahre zugelassen. Für das Jahr 2022 wurde angegeben, dass im Rahmen der CFTR-Biomarkerstudie von 26 Patienten vor und nach Therapiebeginn bzw. der Umstellung der CFTR-Modulator-Therapie in einem Real-World-setting das Schweißchlorid als Maß für die epitheliale Chlorid-Sekretion gemessen wurde. Die Messung der wesentlich aufwendigeren nasalen Potenzialmessung (nPD) und/oder der CFTR-Aktivität im Rektumschleimhaut-Biopsat (ICM) gelang 2023 vor bzw. nach Therapiebeginn schon bei 3 CF-Patienten. Im Jahr 2023 wurde die organisatorische Vorbereitung getroffen, die ICM-Messungen auch bei den 2-5-jährigen Patienten mit CF möglichst vollständig durchzuführen, die ab Dezember 2023 Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor entweder erstmalig mit einem CFTR-Modulator oder im Rahmen der Umstellung von einem zuvor zugelassenen, weniger effektiveren CFTR-Modulator Resultate von Messungen vor und nach Erstbehandlung von Patienten mit CF im Alter von 2 – 11 Jahren mit Lumacaftor/Ivacaftor waren Grundlage der Publikation Berges et al. Front Pharmacol. 2023.

CF-6.2: Untersuchung der Assoziation zwischen der CFTR-Restfunktion und Parametern der Lungenstruktur und -funktion (inklusive FEV1%, LCI und MRT) unter Einfluss von verschiedenen Modulator-Therapien (T, C)

AG Sommerburg

Um den Zusammenhang der Aktivierung von CFTR durch verschiedene CFTR-Modulatoren zum klinischen Outcome bei den behandelten Patienten mit CF zu untersuchen wurden 2023 klinische Daten und Biomaterialien von 142 mit CFTR-Modulatoren behandelten Patienten mit CF in der unter CF-1.1. beschriebenen Datenbank und Biobank gewonnen und archiviert. Hier ist anzumerken, dass Ende 2023 die übergroße Mehrheit der Patienten mit CF mit CFTR-Modulatoren behandelt werden kann. Diese Daten und das Biomaterial stehen für gemeinsame Analysen mit anderen DZL-Standorten zur Verfügung.

AG Sommerburg / Wielpütz

Der Effekt von Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor (ETI) auf die strukturellen und funktionellen Lungenveränderungen in der MRT, den LCI und das Mikrobiom wurde 2021/2022 in einer aufwendigen multizentrischen Studie unter Beteiligung des TLRC (PI Wielpütz, Sommerburg), Charite Berlin (PI Mall, Stahl, Graeber), BREATH (PI Dittrich) und UGMLC (PI Nährlich) untersucht. Zu diesem Zeitpunkt wurden 91 Patienten mit CF ≥ 12 Jahre und mindestens einer F508del-Mutation mittels MRT und MBW vor und nach 8-16 Wochen Therapie mit Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor betrachtet. Es konnte gezeigt werden, dass diese neuartige Therapie mit hochaktiven CFTR-Modulatoren die Lungenmorphologie sowie den LCI signifikant verbessert, nicht aber die Lungenperfusion im MRT (Graeber et al. Am J Respir Crit Care Med 2022). Seit Zulassung der ETI-Therapie auch für 5-11-jährige wurden diese multizentrische Studie analog in dieser Altersgruppe durchgeführt und mittlerweile auch zur Publikation vorbereitet. Im Weiteren gilt dies auch für die jetzt zur Untersuchung anstehende Kohorte der 2-5-jährigen Patienten mit CF, die seit Dezember 2023 Zugang zu diesen Medikamenten haben. Darüber hinaus werden fortlaufend Untersuchungen für eine Langzeitbeobachtungsstudie aller genannten Kohorten gesammelt.

CF-6.3: Untersuchung der Assoziation zwischen der CFTR-Restfunktion und Entzündungsbiomarker unter Einfluss von verschiedenen Modulator-Therapien (T, C)

AG Sommerburg

Im Rahmen dieses Teilprojekts ist die Arbeit auch 2023 fortgeführt worden. Während in 2022 die Untersuchungen von Carotinoiden als Bestandteil der antiinflammatorisch wirkenden, lipidlöslichen Mikronährstoffe im Vordergrund standen, wurden 2023 Vorbereitungen getroffen, ein neues Unterprojekt zu alpha- und gamma-Tocopherol zu bearbeiten. Die Ergebnisse der Carotinoid-Untersuchungen bei insgesamt 45 Patienten wurden ausgewertet. Die Publikation

wird derzeit erstellt, um voraussichtlich 2024 veröffentlicht zu werden (Chung J et al.). Die Verzögerung kam aufgrund der Priorisierung anderer Projekte zustande.

Im Weiteren wurden die Arbeiten zur Erfassung des Mikrobioms und der Inflammation der oberen Atemwege fortgesetzt. Erste Ergebnisse wurden zur Publikation eingereicht und Ende in der letzten Dezemberwoche 2023 angenommen (Chung J et al. J Cyst Fibros 2024).

Wie beschrieben, wurde auch in 2023 weiteres Daten- und Biomaterial von mit CFTR-Modulatoren behandelter Patienten gewonnen, mit dem die Aufgabenstellung mit einer ausreichenden Fallzahl in Zukunft bearbeitet werden kann.

CF-6.5: Implementierung eines Protokolls für den Schweißtest zur Validierung seiner Biomarkertauglichkeit in Bezug auf CFTR-Modulatoren Studien (T, C)

AG Sommerburg

Unser Kooperationspartner BREATH hat 2021 eine unkomplizierte Methode des "Sweat secretion test" mit einem praktikablen Protokoll entwickelt. Bisher konnte diese Methode noch nicht in Heidelberg etabliert werden. Es ist jedoch vorgesehen, das Protokoll nach unabhängiger Prüfung in den nächsten Jahren auch am Standort TLRC zu etablieren.

CF-6.6: Bestimme CFTR-Biomarker und CF-modifizierende Genvarianten, die auf die CFTR-vermittelte Restfunktion Einfluss haben, um Faktoren zu identifizieren, die für die Heterogenität des klinischen Ansprechens auf CFTR-Modulator Therapie in Patienten mit identischen Genotyp (z.B. F508del homozygous) verantwortlich sind (B, T, C)

AG Sommerburg

Mit den unter CF-1.1. beschriebenen Daten- und Biobank sowie mit den unter CF-6.1. beschriebenen Verfahren werden weiter Daten (klinische Parameter, ICM, nPD, Schweißchlorid etc.) von CF-Patienten mit seltenen Mutationen für gemeinsame Analysen im Hinblick auf das Ansprechen auf die Therapie gewonnen. Die Daten werden gesammelt bis wir statistische Teststärke für eine Publikation erreicht haben.

Akutes Lungenversagen (ALI)

Anschubfinanzierung (2022-2023): Einfluss eines Endotrachealtubus mit subglottischer Absaugung und kontinuierlicher Cuff-Druckmessung auf das pulmonale Mikrobiom von beatmeten Intensivpatienten.

AG Fiedler

Bei dem „Tubomic Trail“ handelt es sich um eine prospektive, randomisierte Studie, die anhand einer Mikrobiomuntersuchung zwei unterschiedliche Tubussysteme miteinander vergleicht. Es werden der hausinterne Standardtubus und das Venner Pneux® Tubus System untersucht. Das Venner Pneux® Tubus System besteht aus Endotrachealtubus mit subglottischen Öffnungen, die zur subglottischen Absaugung dienen und es beinhaltet einen Cuffdruck Regler für eine kontinuierliche Cuffdruckkontrolle. Es werden chirurgische Patienten auf der Intensivstation des Universitätsklinikums Heidelberg eingeschlossen, die im akuten respiratorischen Versagen während ihres klinischen Aufenthalts reintubiert werden müssen. Insgesamt ist geplant 50 Patienten einzuschließen, 25 in je Gruppe. Mit der Rekrutierung wurde im Dezember 2022 begonnen. Der Rekrutierungszeitpunkt hatte sich verzögert, da die hauseigene Medizintechnik die Prüfung der Cuff-Druckmesser vornahm und erst Ende November 2022 freigab. Seitdem konnten bisher 44 Patienten eingeschlossen werden, 6 Patienten müssen demnach noch rekrutiert werden. Davon wurden 24 mit einem Standardtubus und 20 mit dem Venner Pneux® Tubus System versorgt.

Zur mikrobiologischen Analyse werden folgende Proben entnommen: Innerhalb der ersten 24h nach Intubation wird eine Bronchoskopie durchgeführt, dabei werden mittels Bronchiallavage Proben aus dem rechten Lungenoberlappen, dem rechten Lungenunterlappen und dem linken Lungenunterlappen gewonnen. Außerdem wird Trachealsekret abgenommen und ein Rachenabstrich durchgeführt. Dieses Prozedere wird nach 72-96 Stunden wiederholt. Nach Extubation wird zusätzlich ein Abstrich aus der Tubusspitze entnommen. Hier konnte bisher bei 22 Patienten ein vollständiger Probensatz entnommen werden, 14 Patienten wurden aufgrund einer suffizienten Atmung frühzeitig extubiert, drei haben die Einwilligung zurückgezogen und bei fünf Patienten konnte aufgrund von gesundheitlichen Komplikationen /frühzeitiges

Versterben keine zweite Probenentnahme durchgeführt werden. Zwölf dieser vollständigen Probensätze wurde bei Patienten mit Standardtubus, zehn bei denen mit Venner Pneux® Tubus System entnommen.

Die Proben wurden nach Entnahme schnellstmöglich bei -80°C weggefroren und zur mikrobiologischen Analyse mittels Next Generation Sequencing PCR der AG Dalpke (Mikrobiologischen Institut) übergeben.

AG Dalpke / Cheaib

Für das Projekt Tubomic (Kooperation Dr. Mascha Fiedler – TLRC ALI Anschubfinanzierung 2023) wird der Einfluss zweier endotrachealer Intubationsmethoden oder einer Tracheotomie auf das respiratorische Mikrobiom mechanisch beatmeter Intensivpatienten untersucht. Für dieses Projekt wurden bisher 180 Proben aus der Lunge, der Luftröhre, dem Rachen und Trachealkanülen gewonnen. Die Mikrobiomanalysen zeigten signifikante Veränderungen zwischen den oberen und unteren Atemwegen, es wurde jedoch keine signifikante Veränderung in der Struktur der Mikrobiota zwischen den Lungenlappen beobachtet. Die Bakterienvielfalt war in der Lunge deutlich geringer als im Rachen und in der Luftröhre. Obwohl der Reichtum in der Luftröhre deutlich geringer war als im Rachen, unterschied sich die Gleichmäßigkeit, die die Gemeinschaftsstruktur widerspiegelte, zwischen beiden Standorten nicht wesentlich. Interessanterweise zeigten die vorläufigen Ergebnisse keinen signifikanten Einfluss der Intubation auf den Reichtum und die Gleichmäßigkeit des Mikrobioms an jeder der untersuchten Stellen. Allerdings wurde auf der rechten Seite der Lunge eine signifikante Abnahme der Alpha-Diversität zwischen dem Tag der Intubation und 96 Stunden nach der Intubation mit der Venner-Methode beobachtet. Es ist geplant die Studie nach Abschluss der Rekrutierung und Datenanalyse bis Ende 2024 zu publizieren.

Anschubfinanzierung (2023): Implementierung eines unilateral geschädigten Lungenschweinmodells, um Beatlungsmaßnahmen zu testen, die die gesunde Lunge nicht schädigen.

AG Fiedler

Die Entwicklung einer akuten Lungenschädigung aus einer unilateralen Schädigung ist bei ca. 23% der ARDS-Patienten beschrieben. Positiver end-expiratorischer Druck (PEEP) könnte die regionale systemische Compliance der Lunge verbessern, den regionalen transpulmonalen driving pressure herabsetzen und die Homogenität zwischen der geschädigten und der nicht geschädigten Lunge verbessern. Bisher gibt es keine Untersuchungen beim unilateralen ARDS-Modell zur Optimierung der PEEP Einstellung nach Messung des transpulmonalen Druckes. Deshalb entwickelten wir ein tierexperimentelles Schweinmodell bei dem wir mit zwei unterschiedlichen PEEP Niveaus beatmeten mit der Absicht die gleiche mechanical power (MP) zu erreichen.

Durch die Einlage eines speziellen Doppellumentubus konnten wir an den beatmeten Schweinen die rechte von linker Lunge trennen. Die akute Lungenschädigung wurde durch eine Lavage mit 0,9%iger NaCl Lösung und Triton-X-100 induziert. Nach der Lungenschädigung wurden die Schweine randomisiert in zwei Gruppen eingeteilt. Gruppe A: Beatmung mit PEEP 5 cmH₂O; Gruppe B: Einstellung des PEEP nach Messung des transpulmonalen Druckes und Einstellung nach einem transpulmonalen positiven end-expiratorischen Druck (TPPEsExp) zwischen 1-3 cmH₂O und Gruppe C: sham Gruppe, Beatmung ohne Lungenschädigung. Die Schweine wurden für 6h mit einem Tidalvolumen von 6ml/kg Körpergewicht beatmet. Die Charakterisierung der Lungenschädigung erfolgte nach der Lungenmechanik und der histologischen Untersuchung von Lungenproben nach dem lung injury score (LIS) durch unsere Kollegen der Pathologie, die verblindet waren bzgl. der Seite der Lungenschädigung und der Randomisierung. Vor der Euthanasierung des Tieres und der Entnahme der Lunge, erfolgte eine CT Thorax Untersuchung. Die Auswertung der CT Bilder ist noch ausstehend. Die Ergebnisse sind angegeben in Mittelwert (95% Konfidenzintervall).

Wir konnten 11 Schweine einschließen (49kg (45;52)). Zwei Schweine der Gruppe B entwickelten jeweils einen Pneumothorax nach der Induktion der Lungenschädigung und mussten für die finale Analyse ausgeschlossen werden. Schließlich waren 4 Schweine in Gruppe A, 3 in Gruppe B und 2 Schweine in Gruppe C. Die baseline mechanical power (MP) war 10.3 J/min (9.4; 11.1), statische Compliance (Cstat) 40 ml/cmH₂O (33;47), TPPEsExp -1.3 cmH₂O (-4.0; -0.3). Zum Zeitpunkt t6 war die MP in A 18.7 J/min (15.6;21.8) vs. 17.6 J/min (14.8;

20.4) in B, Cstat war 21.5 ml/cmH₂O (15.1; 27.9) in A vs. 32.0 ml/cmH₂O (26.1; 37.9) in B, TPPEsExp war -2.0 (-3.8; -0.2) in A vs. 0.9 (-2.0; 4.0) in B. LIS in der unteren rechten nicht verletzten Lunge war 0.27 (0.14; 0.39) in A vs. 0.25 (0.15; 0.35) in B, reflecting the same LIS as in sham pigs C with 0.24 (0.24; 0.24). Linksseitig war der LIS bei 0.47 (0.21; 0.72) in A vs. 0.52 (0.41; 0.62) in B, in C bei 0.24 (0.24; 0.24).

Wir konnten in unserem Modell ein unilaterales Lungenschädigungsmodell etablieren. PEEP Management mit einem positive TPPEsExp resultierte nicht in einem niedrigeren LIS der geschädigten Lunge. Wir konnten keine negativen Effekte der nicht geschädigten Lunge beobachten. Das Manuskript ist in Bearbeitung.

Anschubfinanzierung (2022-2023): Analyse des pulmonalen Mikrobioms bei Patienten mit respiratorischem Versagen

AG Weigand/Schmitt; AG Dalpke/CheaiB

In einem weiteren Projekt in 2023 mit der Klinik für Anästhesiologie werden ARDS assoziierte Krankheitserreger untersucht und der Mikrobiom-Fingerabdruck als prognostisches und diagnostisches Instrument analysiert. In der explorativen klinischen Studie wurden bei 50 Patienten mit akutem Atemversagen und 10 lungengesunden Patienten, die sich einer thorako-abdominalen Ösophagusresektion unterzogen, mithilfe von Next-Generation-Sequenzierung anhand von Sekret-, Stuhl- und Plasmaproben Krankheitserreger diagnostiziert. Für dieses Projekt haben wir jetzt DNA-Extrakte von 204 BAL-Proben und 37 Stuhlproben erhalten. Die Mikrobiombibliotheken wurden vorbereitet und sequenziert. Die Analysen werden aktuell durchgeführt, erste Ergebnisse liegen vor.

Anschubfinanzierung (2023; Anzeige 13): Einfluss einer neuen Ventilationsstrategie auf die Hämodynamik in Patienten mit schwerem akuten Atemwegssyndrom (ARDS)

AG Weigand/Katzenschlager

Die korrekte Durchführung eines neuen Beatmungsprotokolles, time-controlled adaptive ventilation (TCAV) – wurde in klinischen Studien bislang nicht erreicht (<https://doi.org/10.1186/s13054-023-04340-w>). In diesem Projekt soll der Einfluss des TCAV Beatmungsprotokolls bei Erwachsenen im mittleren bis schweren ARDS auf die Hämodynamik untersucht werden. Hierfür werden Patient:innen auf zwei Intensivstationen gescreent und eingeschlossen. Die hämodynamischen Messungen umfassen einerseits die Echokardiographie als auch Parameter des Pulskontur-Herzeitvolumen (Pulse Contour Cardiac Output; PICCO). Die Messungen werden zu Beginn des Einschlusses (Baseline), nach 2h, nach 6h und nach 24h durchgeführt. Ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Heidelberg liegt bereits vor. Die Studie ist in einem WHO Studienregister registriert. Der Projektstart hat sich aufgrund von unerwarteten organisatorischen Veränderungen verzögert. Wir werden das Projekt in Q2 2024 begonnen, werden aber die meisten Arbeiten im ersten Halbjahr 2024 durchführen. Die TLRC Geschäftsstelle wird die Mittel für dieses Projekt als SBM in das Jahr 2024 übertragen.

Interstitielle (diffus parenchymatöse) Lungenerkrankung (DPLD)**DPLD-1. Entschlüsselung des Beitrags von den Faktoren epitheliale Alterung, Verletzung, phänotypische Plastizität und gestörte Signalgebung zum Krankheitsverlauf (b, t).**

DPLD-1.3: Auswirkung einer zweiten exogenen Exposition (viral, bakteriell, Sauerstoff, Microbiom, Giftstoff) auf schon bestehende endogene Gewebeschäden

AG Boutin/ Cheaib /Dalpke

Es zeigte sich, dass die AE-IPF-Studie für Mikrobiomstudien nicht verwendbar ist, da die empfohlenen Tupfer nicht in allen Zentren verwendet werden. Die verschiedenen Zentren verwendeten unterschiedliche Tupfer (Eswabs [wie empfohlen], Agarose-Tupfer oder gefrorene Tupfer), was zu einer technischen Verzerrung führte, mit der eine ordnungsgemäße Analyse des Mikrobioms nicht möglich war.

AG Morty

Die Hauptziele dieser Studie verfolgen ein besseres Verständnis darüber zu erlangen, wie Sauerstofftoxizität bei Neugeborenen ein günstiges Umfeld für virale Replikationen und eine Verschlimmerung von Lungenschäden schaffen könnte. Hintergrund dieser Fragestellung ist, dass menschliche Frühgeborene, die zur Behandlung des akuten Atemversagens nach der Geburt mit zusätzlichem Sauerstoff behandelt werden, deutlich anfälliger für virale und andere Infektionen der Atemwege sind. Im Zwischenbericht 2021 wurde die Etablierung und vorläufige Charakterisierung eines neuen Modells für Virusinfektionen bei neugeborenen Mäusen beschrieben, das auf dem Erreger Pneumonievirus der Maus (PVM) beruht. Der Zwischenbericht 2022 beschrieb den Abschluss einer Phase dieser Studien, in der die Wechselwirkung einer supraphysiologischen Sauerstoffunterstützung bei jungen (jetzt neugeborenen) Mäusen untersucht wurde, um so die Notwendigkeit einer Sauerstoffunterstützung bei Kindern während und nach einer Virusinfektion der Atemwege zu modellieren, wie sie bei Kindern mit Bronchiolitis, die zu einer Lungenentzündung fortschreitet, auftreten würde.

Die Arbeiten im Jahr 2023 befassten sich mit Atemwegsvirusinfektionen bei neugeborenen Mäusen unter Sauerstoffzufuhr. Wie in den Zwischenberichten von 2022 dargelegt, gehen diese Arbeiten parallel in zwei verschiedene Richtungen. Zum einen wurde untersucht, wie Sauerstoff die Geographie der Entzündungszellen in der Lunge verändert. Die im Jahr 2023 durchgeführte Einzelzell-RNA-Seq-Studie zeigte signifikante Veränderungen der Entzündungszellpopulationen in der sich entwickelnden Lunge, die supraphysiologischen Sauerstoffkonzentrationen oder Atemwegsviren oder einer Kombination davon ausgesetzt waren. Insbesondere wurde eine deutliche Verzerrung der Makrophagen-Phänotypen festgestellt. Um dies zu korrigieren, wurden die Makrophagen mit Clodronat-Liposomen verarmt, was einen deutlichen Einfluss auf den Schweregrad der Erkrankung hatte und die Makrophagen als Schlüsselmediatoren für die Fähigkeit der sauerstoffgeschädigten Lunge zur Bekämpfung von Virusinfektionen hervorhob. Nachfolgende Arbeiten haben ein einzigartiges Muster von Chemokin-Reaktionen aufgedeckt, dass die Chemokin-Produktion als Reaktion auf eine Virusinfektion dereguliert und wahrscheinlich einen "Zytokin-Sturm" verursacht, der unter den Bedingungen einer Kombination von Virusinfektion und Sauerstofftoxizität zu einer exzessiven Pathologie führt. Zum anderen wurden transgene Mausstämme, die zur Untersuchung der Eosinophilenrekrutierung entwickelt und etabliert wurden, verwendet, um eine Rolle von Eotaxin-1 und Eotaxin-2 bei der Rekrutierung von Eosinophilen in sauerstoffgeschädigten Lungen auszuschließen. In ähnlicher Weise schlossen Studien zur Abreicherung der Eosinophilen mit pharmakologischen Mitteln eine Rolle der Eosinophilen bei der erhöhten Anfälligkeit sauerstoffgeschädigter Lungen für virale Infektionen aus. Diese Studien zeigten jedoch auch eine wichtige Rolle der Eosinophilen bei der Umgestaltung der Lungenarchitektur unter den Bedingungen der Sauerstofftoxizität. Um dies weiter zu erforschen, wurden in Einzelzellstudien deutliche Veränderungen der Eosinophilenhäufigkeit und des Phänotyps in sauerstoffgeschädigten Lungen festgestellt, was den Weg für weiterführende Studien in der folgenden Förderperiode ebnete, die sich mit der Frage befassen, wie Eosinophile die Lungenentwicklung unter normalen und pathologischen Bedingungen steuern. Die Manuskripte zur Veröffentlichung dieser Arbeiten sind in Bearbeitung.

DPLD-2: Die physiologische Rolle und therapeutische Anwendbarkeit von Stammzellen

DPLD-2.3 In diesem Kontext Untersuchung der Rolle von kritischen / für die Entwicklung wichtigen Signalwegen (e.g. Wnt, Notch, SHH, FGF, PDGF, STAT)

AG Morty

Wie in den Zwischenberichten 2021 und 2022 dargelegt, konzentrierte sich die Arbeit in diesem Projekt auf die Rolle der FoxO1- und Wnt-Signalwege in der normalen und gestörten postnatalen Lungenentwicklung. Der Zwischenbericht 2021 berichtete über die erste Erkenntnis, dass Sauerstofftoxizität bei Neugeborenen zu einer ausgeprägten Deregulierung der Wachstumsfaktorsignalisierung in der Lunge führt, wobei zwei Signalwege für weitere Untersuchungen identifiziert wurden: der FoxO1-Signalweg und der Wnt-Signalweg. Im Bericht von 2021 wurde auch hervorgehoben, dass die Signaldefekte in verschiedenen Lungenkompartimenten auftraten. Der FoxO1-Signalweg ist im vaskulären Endothel und der Wnt-Signalweg im Epithel dereguliert. Die in 2022 durchgeführten Studien mit den transgenen Linien Tie2-CreERT2/StopFloxFoxO1AAA und Tie2-CreERT2/StopFloxFoxO1fl/fl bestätigten, dass die FoxO1-Signalübertragung im vaskulären Endothel durch Sauerstofftoxizität gestört ist und dass FoxO1 wahrscheinlich ein attraktives pharmakologisches Ziel darstellt. In 2023 wurden diese transgenen Mauslinien in radiologischen Studien eingesetzt, um eine dreidimensionale Visualisierung des Gefäßbaums zu ermöglichen und die Funktionalität des endothelialen FoxO1 in der normalen und aberranten späten Lungenentwicklung zu validieren. Zusätzlich wurde eine Tie2-CreERT2/mTmG-Linie eingesetzt, um die Zelltyp-Beschränkung der Cre-Funktionalität zu bewerten, die für die Interpretation der Daten der transgenen Linien unerlässlich war. Aufbauend auf diesen Studien wurde Albumin-komplexiertes Paclitaxel, ein bekannter Aktivator der FoxO1-Signalübertragung, in einem experimentellen Tiermodell der bronchopulmonalen Dysplasie eingesetzt, um den Nutzen der Aktivierung von FoxO1 zur Steuerung der verkümmerten Lungenentwicklung unter den Bedingungen der Sauerstofftoxizität zu demonstrieren.

Diese Studien über das Endothel wurden in den Fachzeitschriften Am J Respir Cell Mol Biol. 2021 Jul;65(1):81-91 und Histochem Cell Biol. 2022 Nov;158(5):435-445 veröffentlicht. Jeweils ein weiteres Manuskript ist im Review Prozess bei Cytometry Part A (Manuskriptnummer 23-117.R1) und wurde bei Histochem Cell Biol. eingereicht (Einreichungsnummer fe5e89c3-c90a-4dbb-b774-f82f75e06c06), das derzeit von Fachkollegen geprüft wird.

Zum Wnt-Signalweg: microRNA-497 wurde durch in-vitro-Transfektion von primären Alveolarepithelzellen mit Viren validiert, die eine Überexpression oder einen Knockdown von microRNA-497 bewirkten. Aufbauend auf diesen Studien wurde eine umfassende methodische Entwicklung der mikroRNA-497-Modulation durch mikroRNA-Mimics in vivo unternommen, wobei nicht nur die Lunge, sondern auch Gehirn, Herz, Niere und Leber untersucht wurden, um Tierversuche zu reduzieren und zu optimieren. . Unsere Studie war die erste, in der der Nutzen von microRNA-Mimics in vivo bei neugeborenen Versuchsmäusen systematisch untersucht wurde. Aufbauend auf der von uns entwickelten Methodik haben wir ein Versuchsprotokoll verwendet, um den Nutzen eines microRNA-497-Mimics zur spezifischen Wiederherstellung der durch Sauerstofftoxizität in der Lunge erniedrigten microRNA-497-Spiegel zu prüfen. Unsere Studien verdeutlichen die bestehenden technischen Schwierigkeiten bei der Wiederherstellung funktioneller microRNA-Spiegel unter pathologischen Bedingungen.

DPLD-3: Die mesenchymale Zelle: ein aktiver und wichtiger Modulator des Lungen-Gerüsts.

DPLD-3.7. Analyse alters- und krankheitsspezifischer Fibroblast-Aktivierung, Matrix Komposition, Modifikation und Produktion; Identifizierung von neuen Inhibitoren und molekularen Zielstrukturen in vitro / in vivo zur therapeutischen Korrektur.

AG Morty

Wie im Zwischenbericht 2021 dargelegt, wurde eine Familie von microRNAs, die während der Lungenentwicklung in fibrogenen Zellen aktiv sind, als stark dereguliert in den Lungen

neugeborener Mäuse unter Bedingungen der Sauerstofftoxizität identifiziert. Hervorzuheben ist die aus drei Mitgliedern bestehende microRNA-Familie 29, die durch in situ-Hybridisierung und fluoreszenzaktivierte Zellsortierung im sich entwickelnden Lungenmesenchym lokalisiert wurde. Die Expression dieser microRNA korrelierte mit einer strukturell unterschiedlichen extrazellulären Matrix in der sich entwickelnden Lunge. Im Zwischenbericht 2022 wurde die Nützlichkeit transgener Mauslinien zur Unterscheidung zwischen den drei Mitgliedern der microRNA-29-Familie hervorgehoben, wobei microRNA-29c als interessanter Kandidat identifiziert wurde. Vorläufige Studien mit microRNA-Inhibitoren haben gezeigt, dass microRNA-29c "druggable" ist.

Aufbauend auf den Arbeiten, über die in den Zwischenberichten 2021 und 2022 berichtet wurde, wurden im Zeitraum 2023 die Wirkungen von microRNAs untersucht, die die Produktion und den Umbau der extrazellulären Matrix modulieren. Im Fokus standen zwei microRNAs, die beide an den pro-fibrotischen Signalwegen TGF-beta und BMP beteiligt sind: microRNA-29c und microRNA-135b. Für die erstgenannte microRNA-29c haben wir in Zusammenarbeit mit unserem lokalen DZL-Partner, dem European Laboratory for Molecular Biology (EBML), ein state-of-the-art Proteomics-Screening eingesetzt, um die Veränderungen in den extrazellulären Matrixstrukturen der sich entwickelnden Lunge bei normaler und abnormaler Lungenentwicklung zu charakterisieren. Dies hat uns eine Signatur geliefert, die es uns ermöglicht, das Gleichgewicht zwischen der Produktion von Matrixbestandteilen und dem Umbau der Matrix zu verstehen. Ergänzende Untersuchungen an isolierten Fibroblasten in vitro haben gezeigt, dass die mRNAs, die für die Matrixbestandteile selbst kodieren, im Gegensatz zu den Enzymen, die die Matrix umwandeln, unterschiedlich empfindlich auf vorübergehende Veränderungen der microRNA-29c-Spiegel reagieren. In einer parallelen Studie wurden die TGF-beta- und BMP-abhängigen Smad-Signalwege auf ihre Beeinflussung durch microRNA-135b untersucht, wobei ein deutlicher Einfluss der Hyperoxie auf die microRNA-135b-Spiegel festgestellt wurde. Diese Studien wurden mit einem Target-Site-Blocker-Ansatz vertieft, bei dem die Interaktionen zwischen einer mikroRNA und einem spezifischen mRNA-Target blockiert werden können. Unsere methodischen Studien haben die Komplexität der Arbeit mit mikroRNA-Imitaten aufgezeigt und Daten geliefert, die für andere Forscher, die versuchen, miR-135b-Target-Site-Blocker in vivo einzusetzen, von großem Nutzen sein werden. Darüber hinaus deuten unsere Daten darauf hin, dass microRNA-135b die BMP-Signaltransduktion durch Sauerstofftoxizität in der sich entwickelnden Lunge dereguliert. Von den zahlreichen Manuskripten, die in Vorbereitung sind, wurde bisher eines veröffentlicht, das einen Teil dieses Forschungsprojektes abdeckt: Thorax. 2022 Dec;77(12):1176-1186.

DPLD-4: Auf „Big Data“ basierender integrativer DZL DPLD ATLAS der zell-spezifischen Signaltransduktion im mikrostrukturellen Kontext (b, t)

DPLD-4.3: Visualisierung von intra- und interzellulären Kommunikationswegen in Abhängigkeit von der Mikrostruktur (inklusive μ -CT, korrelativer Licht- und Elektronenmikroskopie)

NWG Wagner

Aufbauend auf unseren Arbeiten zur Glycocalyx oder „Mesopolysaccharidschicht“ (MPS) der Lungenoberfläche (Wagner et al., 2020; doi.org/10.1371/journal.pone.0238798) ist es uns nun erstmals gelungen das System durch Aufbringen von pflanzenbasierten Biomaterialien zu manipulieren und die zugrundeliegende Interaktion darzustellen. Wie geplant haben wir in Kooperation mit dem physikalischen Institut und Forschungszentrum SCoPE der Universität Stuttgart mithilfe von hyperspektraler stimulierter 3D Raman-Streuungsmikroskopie (SRS) am nativen Präparat den Wassertransport zwischen hydrierter Mesothelzellschicht und dem Biomaterial zeitlich aufgelöst nachweisen können (Abb. 1). Die Ergebnisse wurden im April 2023 publiziert (Floess et al., 2023).

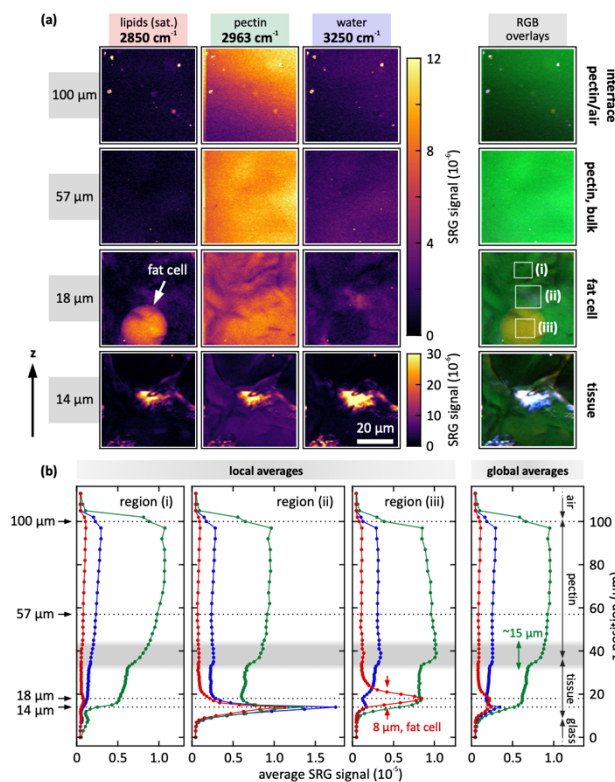


Abbildung 1

Zusammensetzung der Schnittstelle zwischen mesothelialer Oberfläche und Pektin-Biomaterial. (a) Hyperspektraler 3D-SRS-Scan durch die Probe. Das Pleuragewebe ($z = 14 \mu\text{m}$) weist Strukturen im Pektinkanal auf, die hauptsächlich von der nahe gelegenen Proteinbande bei 2950 cm^{-1} herrühren. Das Pektin-Volumenmaterial bei $z = 57 \mu\text{m}$ verursacht eine homogene Signalverteilung, die sich bis zur Pektin-Luft-Grenzfläche bei $z = 100 \mu\text{m}$ erstreckt. (b) Signalquerschnitte entlang der z-Achse für jede der drei Raman-Banden. Die Verbindungslänge (grau schattierter Bereich) zwischen Gewebe und Pektin beträgt im Durchschnitt $\sim 15 \mu\text{m}$.

Der Mechanismus ist maßgebend für die Funktion des Biomaterials und damit einhergehende therapeutische Anwendungen. Die relativ limitierte räumliche Auflösung der SRS bedingt Folgeversuche auf ultrastruktureller Ebene. Auch hier konnten wir wesentliche Fortschritte in der Etablierung innovativer Fixierungsmethoden verzeichnen, die nicht nur eine Stabilisierung der Pektin-basierten Biomaterialien, sondern auch erstmals die Schnittstelle zur Glycocalyx der Mesothelzellschicht mittels Elektronmikroskopie ermöglicht (Abb.2). Eine Publikation der Fixierungsmethode und der Ergebnisse ist für 2024 geplant.

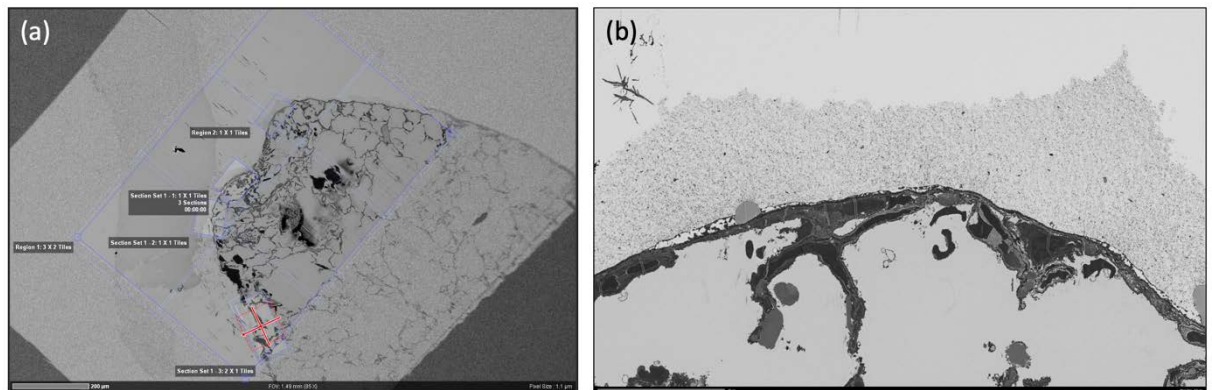


Abbildung 2 Ultrastrukturelle Darstellung Schnittstelle zwischen pflanzenbasiertem Pektin-Biomaterial und mesothelialer Glycocalyx der Lunge.

Pulmonale Hypertonie (PH)

PH-3.1 DPLD assoziierte PH: Grundlagenwissenschaftliche (experimentelle Modelle) und klinische Studien zum vaskulären Gewebeumbau und seiner Reversion in der Lunge (z.B. Kinase-Inhibitoren) (T, C)

AG Muckenthaler

Eisenüberladung verstärkt eine pulmonale arterielle Hypertonie in einem Mausmodell mit genetischer Eisenüberladung als Folge einer Mutation im Hpcidin/Ferroportin Regulationssystem

Die pulmonale Hypertonie (PH) zählt weltweit zu einer der häufigsten Todesursachen. Sie ist gekennzeichnet durch einen erhöhten Blutdruck aufgrund eines erhöhten pulmonalen Gefäßwiderstands, der häufig mit einer rechtsventrikulären Hypertrophie und Herzinsuffizienz einhergeht. In den letzten Jahren wurde deutlich, dass die Kontrolle des Eisenspiegels eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der PH spielt. Eisenmangel, insbesondere in den glatten Muskelzellen der Lungenarterien (PASMCs), verändert die Lungengefäßfunktion. Die Rolle der Eisenüberladung bei einer PH ist bisher schlecht untersucht.

Wir untersuchten FpnC326S-Knock-in-Mäuse, ein Erkrankungsmodell der hereditären Hämochromatose Typ 4, um zu verstehen, wie sich eine systemische Eisenüberladung auf die PH und die kardiale Umgestaltung auswirkt. Im Alter von 17 Wochen zeigen FpnC326S-Mäuse eine systemische Eisenüberladung und Eisenablagerung in verschiedenen Lungenzellsubtypen wie glatten Lungenmuskelzellen (PASMCs), Flimmerepithel der Atemwege, Alveolarzellen vom Typ 2 und Alveolarmakrophagen. Die Eisenwerte im Herzen dagegen ähneln denen der Wildtyp-Kontrollen, mit Ausnahme der SMC, die mit Eisen überladen sind. In diesem Alter weisen FpnC326S-Tiere keine Veränderungen der Herzparameter auf, was durch ein unverändertes rechtsventrikuläres Herzzeitvolumen, Herzindex, Lungenbeschleunigungs-/Auswurfzeit, rechtsventrikulären Innendurchmesser und Wanddicke gezeigt ist.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Norbert Weissmann (Gießen) wurden im Jahr 2023 FpnC326S-Mäuse und Wildtyp-Kontrollen 4 Wochen lang entweder einer Hypoxie (10 % O₂) ausgesetzt, um PH zu induzieren, oder unter normoxischen Bedingungen gehalten. Danach wurden Parameter, die eine PH kennzeichnen analysiert. Sowohl Wildtyp als auch FpnC326S Mäuse vergrößern das rechte Ventrikel (erhöhter Fulton-Index, erhöhte Wanddicke und Gewicht des rechten Ventrikels) und weisen eine beeinträchtigte rechtsventrikuläre Funktion (erhöhter systolischer Druck, verringertes Herzzeitvolumen, verringerte systolische Trikuspidalauslenkung und verringerte Beschleunigungs-/Auswurfzeit der Lunge) auf. Interessanterweise sind der Fulton-Index und die rechtsventrikuläre Masse bei FpnC326S-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Kontrollen signifikant höher. Eine Wiederholung des Experiments, welche die Ergebnisse bestätigte wurde im Januar/Februar 2024 durchgeführt und eine dritte Wiederholung des Experiments ist im Verlauf des Jahres 2024 geplant.

PH-5.8: Klinische Studie zur Untersuchung des Effekts der Eisen-Supplementierung auf die BMPR2 Signalwegaktivität und PH-bezogene Morbidität (B, C)

AG Muckenthaler

Hypochrome Erythrozyten als prognostischer Marker in Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie

Eisenmangel betrifft bis zu 50 % der Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie (PAH), aber Eisenmarker wie Ferritin und Serumeisen werden durch mehrere nicht mit der Krankheit zusammenhängende Faktoren wie akute Entzündungen und Ernährung beeinflusst. Das Ziel dieser Studie war es, einen neuen Marker für Eisenmangel und klinischem Outcome bei PAH-Patienten zu identifizieren. In Kooperation mit der AG Grünig/Eichstaedt (TLRC Partner Thoraxklinik) führten wir eine monozentrische, retrospektive Studie durch, um Indikatoren für den Eisenstatus und klinische Parameter zu analysieren, die die Zeit bis zur klinischen Verschlechterung (TTCW) und das Überleben bei PAH-Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose und bei der Nachbeobachtung nach 1 Jahr spezifizierten. Insgesamt wurden 150 Patienten mit einer invasiv bestätigten PAH und vollständigen Daten zum Eisenstoffwechsel eingeschlossen. Der Anteil hypochromer Erythrozyten > 2 % bei Erstdiagnose wurde als unabhängiger Parameter identifiziert, der eine kürzere TTCW ($p = 0,0001$) und ein schlechteres Überleben ($p = 0,002$) bei Erstdiagnose sowie ein schlechteres Überleben ($p = 0,016$) nach einem Jahr Nachverfolgung vorhersagen kann. Nur ein Teil dieser Patienten (64 %) litt an Eisenmangel. Niedriges Ferritin oder niedriges Serumeisen korrelierten weder mit TTCW noch mit dem Überleben. Ein schwerer Hämoglobinmangel zu Studienbeginn war signifikant mit einer kürzeren TTCW assoziiert ($p = 0,001$). Das Vorhandensein von hypochromen Erythrozyten > 2 % war ein starker und unabhängiger Prädiktor für Mortalität und kürzere TTCW in dieser Kohorte von PAH-Patienten. Daher kann es auch bei Patienten ohne Eisenmangel oder Anämie als wertvoller Indikator für die Eisenhomöostase und Prognose dienen. Weitere Studien sind erforderlich, um die Ergebnisse zu bestätigen und therapeutische Implikationen zu untersuchen (Theobald et al., 2022).

Verursachen BMPR2-Mutationen oder Funktionsstörungen einen Eisenmangel bei Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie?

Eisenmangel betrifft häufig Patienten mit idiopathischer und erblicher pulmonaler arterieller Hypertonie (I/HPAH). Ein früherer Bericht deutete auf eine Fehlregulation des Eisenhormons Hepcidin hin, das durch BMP/SMAD-Signale gesteuert wird. An diesem Signalweg ist der Bone Morphogenetic Protein Receptor 2 (BMPR-II) beteiligt. Pathogene Varianten im BMPR2-Gen sind die häufigste Ursache für HPAH. Ihre Wirkung auf den Hepcidinspiegel der Patienten wurde bisher nicht untersucht. Ziel dieser Studie war es zu beurteilen, ob der Eisenstoffwechsel und die Regulierung des Eisenregulationshormons Hepcidin bei I/HPAH-Patienten mit oder ohne einer pathogenen Variante im Gen BMPR2 im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen gestört ist. In dieser explorativen Querschnittsstudie wurden die Hepcidin-Serumspiegel mittels ELISA quantifiziert. Zusätzlich analysierten wir den Eisenstatus, Entzündungsparameter und Hepcidin-modifizierende Proteine wie IL6, Erythropoietin, BMP2 und BMP6 zusätzlich zu den BMPR-II-Protein- und mRNA-Spiegeln. Klinische Routineparameter wurden mit den Hepcidinspiegeln korreliert. Insgesamt wurden 109 I/HPAH-Patienten und Kontrollpersonen, aufgeteilt in drei Gruppen, eingeschlossen: 23 Patienten mit BMPR2-Varianten, 56 Patienten ohne BMPR2-Varianten und 30 gesunde Kontrollpersonen. Davon hatten 84 % einen Eisenmangel, der eine Eisensupplementierung erforderte. Die Hepcidin-Werte unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen und korrelierten mit dem Grad des Eisenmangels. Die IL6, Erythropoietin, BMP2 oder BMP6 zeigten keine Korrelation mit der Hepcidin-Expression. Wir schlussfolgerten, dass die Eisenhomöostase und die Hepcidin-Regulierung weitgehend unabhängig von diesen Parametern reguliert ist. I/HPAH-Patienten hatten eine physiologisch normale Eisenregulation und keinen inadäquaten Anstieg des Hepcidinspiegels. Eisenmangel war weit verbreitet, wenn auch unabhängig von pathogenen Varianten im BMPR2-Gen. Diese

Arbeiten wurden in 2023 ausgewertet und publiziert (Theobald et al., 2023; doi: 10.1002/pul2.12242).

Anschubfinanzierung (2022-2023): Entschlüsselung der Rolle des Eisens im vaskulären Gewebeumbau und pulmonaler Hypertonie

AG Muckenthaler

Mit Hilfe der Anschubfinanzierung konnten wir zum einen die unter PH-3.1 beschriebenen Ergebnisse bestätigen, sowie weiterführende Analysen, wie eine detaillierte Charakterisierung von Eisenstoffwechsel-relevanten Parametern durchführen. Um die molekularen Veränderungen zu verstehen, die als Folge einer Eisenüberladung mit der Verschlechterung einer PH einhergehen isolierten wir die PSMCs und analysierten die Genexpressionsmuster mittels einer RNA Sequenzierung (RNAseq). Zusätzlich führten wir RNAseq im rechten Herzventrikel durch. Die Daten werden derzeit ausgewertet und validiert. Abhängig von den Ergebnissen ist eine Publikation der Daten im kommenden Jahr geplant.

Lungenkrebs (LC)

LC-1: Entschlüsselung der Diversität und Plastizität der Mikroumgebung zur Verbesserung immuntherapeutischer Strategien (B, T, C)

LC-1.1: Rolle der zellulären Plastizität (Makrophagen, Fibrozyten, Neutrophile, CD4+/ CD8+ T-Zell Subpopulationen, Mastzellen) und zellulärer TME Komponenten (extrazelluläre Matrix) in der Initiierung, Progression und Metastasierung von Lungentumoren (B, T)

AG Muckenthaler: Supermagnetische Eisenoxid Nanopartikel programmieren die Tumormikroumgebung neu und reduzieren das Lungenkrebswachstum

Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles reprogrammieren die Tumormikroumgebung und verzögern ein Rezidiv des Lungenkarzinoms nach Crizotinib Behandlung

Tumor-assoziierte Makrophagen (TAMs) spielen eine wichtige Rolle in der Tumormikroumgebung (TME) und tragen zum Tumorwachstum und zur Metastasierung bei. Das Einbringen von superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln (SPIONs) in die TME aktiviert spezifisch TAMs und induziert einen Anti-Tumor (proinflammatorischen) Phänotyp. Diese Befunde weisen auf ein Potential für eine therapeutische Entwicklung hin. Im Rahmen unserer Forschung im DZL haben wir neuartige Nanopartikel mit oder ohne Eisenkern entwickelt und getestet (Patentnummer: EP20210176.2). Diese Nanopartikel werden speziell von Knochenmarksmakrophagen der Maus (BMDMs) sowie von menschlichen Makrophagen aufgenommen. Von Bedeutung ist, dass diejenigen Nanopartikel, die einen Eisenkern enthalten, eine TAM-Polarisation zu einem Anti-Tumor-Phänotyp induzieren – und nicht diejenigen Nanopartikel, denen der Eisenkern fehlt. In Makrophagen von Maus und Mensch zeichnet sich der Nanopartikel-induzierte Phänotyp durch eine erhöhte mRNA-Expression von Zytokinen und Chemokinen wie TNF, IL1 β , IL6 und iNOS sowie von Zelloberflächenproteinen wie CD80, CD86 und MHC II aus, was darauf hindeutet, dass SPIONs die Eigenschaft mitbringen, Makrophagen in Richtung eines Anti-Tumor-Phänotyps zu polarisieren. Auf molekularer Ebene induzieren SPIONs eine Makrophagenpolarisation durch die kombinierte Wirkung von Eisen und der Aktivierung des TLR4-abhängiger Signalwegs (Bauer et al, 2021).

In einem Kokultursystem von Makrophagen und Lewis-Lungenkarzinomzellen (LLC) reduzieren SPIONs die Tumorzellteilung und verstärken im Vergleich zu Kontrollnanopartikeln den Tumorzelltod. Ähnliche Beobachtungen wurden in Kokulturen zwischen Makrophagen von Mäusen mit FVB-genetischem Hintergrund und Krebszellen aus dem EML4-Alk+ Lungenkrebs-Mausmodell (in Zusammenarbeit mit Roccio Sotillo, TLRC Partner DKFZ) gewonnen. Dies zeigt die breite therapeutische Anwendbarkeit von SPIONs. Wir beobachten eine Sekretion von toxischen Molekülen aus SPION-aktivierten Makrophagen, welche in den Tumorzellen oxidativen Stress induzieren. Wir gehen davon aus, dass der oxidative Stress zur Zytotoxizität

in den Tumorzellen beiträgt und zu einer erhöhten Phagozytose von Krebszellen durch Makrophagen führt.

Als nächstes applizierten wir SPIONs intratracheal in das EML4-Alk+ Lungenkrebs-Mausmodell in FVB-Mäusen und beobachteten, dass SPIONs das Tumorwachstum im Laufe der Zeit reduzierten. Erhöhte Eisenspiegel wurden ausschließlich in den Lungen von mit SPION behandelten Mäusen nachgewiesen, was darauf hindeutet, dass SPIONs lokal am Ort der Anwendung wirken. Basierend auf unseren Daten postulieren wir, dass die SPION Behandlung von TAMs in der TME Lungentumorzellen anfälliger für eine Tumorbehandlung macht. Unsere Daten stellen eine Grundlage dar für die Entwicklung neuartiger adjuvanter Arzneimittel. Weiterführende Experimente im Jahr 2023 konnten zeigen, dass das erneute Wachstum von EML4-Alk+ Lungenkrebs nach der Behandlung mit Crizotinib durch die Behandlung mit SPIONs signifikant reduziert ist. Die Daten wurden in einem Manuskript zusammengestellt, welches sich derzeit in Revision befindet.

LC-1.2: Einfluss des genetischen Hintergrunds eines Tumors (CIN; Co-Mutationen) auf die Zusammensetzung der Tumormikroumgebung (Nanostring, Massenspektrometrie, Epigenetik) in gut definierten klinischen Kohorten, mittels Untersuchung von FFPE oder Kryopräservierten Gewebe (C)

AG Kazdal / Stenzinger

Wir konnten zeigen, dass die gezielte Erstellung von Genexpressionsprofilen ist ein vielversprechendes Instrument, um Merkmale der Tumormikroumgebung aus diagnostischen Routine-Lungenkrebs-Biopsien zu ermitteln. Signifikante Immunreaktivität, einschließlich spezifischer immunsuppressiver Merkmale bei ALK- und EGFR-positiven Lungen-ADC, aber nicht das völlige Fehlen einer Immuninfiltration, spricht für eine weitere klinische Bewertung von Immunmodulatoren als Partner der ICB bei solchen Tumoren. Die Arbeit basiert auf einer Zusammenarbeit mit der Thoraxklinik; erste Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Budczies et al. **2021** (PMID: 34125345)

Des Weiteren konnten wir zeigen, dass zytotoxische Zellen in EGFR-mutierten Tumoren unabhängig vom betroffenen Exon signifikant niedriger waren, während Th1-Zellen in EGFR-Ex20mut-Tumoren im Vergleich zu EGFR/ERBB2wt-Tumoren signifikant niedriger waren. Signifikant differenziell exprimierte Gene in ERBB2-Ex20mut- und EGFR-Ex20mut-Tumoren waren: hoch reguliert: GUSB, HDAC11, IFNGR2, PUM1, RASGRF1 und RBL2; runter reguliert: CBLC, GBP1, GBP2, GBP4 und MYC. Gezieltes Genexpressionsprofiling ist ein vielversprechendes Instrument, um die Merkmale der Tumormikroumgebung aus diagnostischen Routine-Lungenkrebsbiopsien herauszulesen. Signifikante Immunreaktivität und spezifische immunsuppressive Eigenschaften bei ERBB2-Ex20mut- und EGFR-Ex20mut-Lungen-ADC mit zumindest einem gewissen Grad an Immuninfiltration unterstützen eine weiterführende klinische Bewertung von Immunmodulatoren als Partner von Immun-Checkpoint-Inhibitoren bei diesen Tumoren. Die Ergebnisse wurden gemeinsam mit Kollegen der Thoraxklinik erarbeitet und erste Daten bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Kirchner et al. **2021** (PMID: 34487971)

Defekte der homologen Rekombination (Homologous recombination deficiency, HRD) führen zu DNA-Doppelstrangbrüchen, die durch den Einsatz von PARP-Inhibitoren ausgenutzt werden um eine synthetische Letalität in Tumorzellen zu bewirken. In Erweiterung des ursprünglichen therapeutischen Konzepts wird die Rolle von HRD derzeit in klinischen Studien untersucht, in denen Immun-Checkpoint-Inhibitoren allein oder in Kombination mit PARP-Inhibitoren getestet werden, aber die Beziehung zwischen HRD und dem Kontext der Immunzellen bei Krebs ist nur unvollständig verstanden. Wir analysierten den Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung der Immunzellen, der Genexpression und der HRD in 9.041 Tumoren von 32 soliden Krebsarten (inkl. Pulmonalem ADC und SQCC) aus dem TCGA. Hohe HRD-Werte wurden nur bei einer Minderheit von Krebsarten mit einer immunologisch aktivierten Tumormikroumgebung in Verbindung gebracht. Unsere Daten sprechen dafür, genomische (einschließlich HRDsum und TMB) und andere molekulare Marker zu kombinieren, um ein präzises und umfassendes Bild der Tumorbiologie zu erhalten und eine präzisionsmedizinisch

geführte Behandlung zu ermöglichen. Die Ergebnisse wurden in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Budczies et. al **2022** (PMID: 35384413)

Homologe Reparaturdefizite (HRD) treten bei vielen Krebsarten mit unterschiedlicher Prävalenz auf und können das Ansprechen auf eine platinbasierte Chemotherapie und PARP-Hemmung anzeigen. In dieser Studie wurde ein Tumorklassifizierungssystem entwickelt, das auf dem Funktionsverlust von Genen im Reparaturweg der homologen Rekombination (HRR) basiert. Zu diesem Zweck wurden somatische und Keimbahnveränderungen in BRCA1/2 und 140 weiteren HRR-Genen einbezogen und auf ihre Auswirkungen auf die Genfunktion untersucht. Der HRDsum-Score, der LOH, LST und TAI einschließt, wurde für 8847 Tumoren der TCGA-Kohorte auf der Grundlage von Genotypisierungsdaten berechnet. Krebsübergreifende, schädliche BRCA1/2-Veränderungen wurden bei 4 % der Tumoren festgestellt, während 18 % der Tumoren HRD-positiv waren ($\text{HRDsum} \geq 42$). Bei allen 33 Krebsarten waren sowohl BRCA1/2-Veränderungen als auch HRD-Positivität am zu finden (20 % und 69 %). Krebsübergreifend wurden Tumore mit biallelischen BRCA1/2-Veränderungen deutlich von Tumoren ohne relevante Veränderungen unterschieden ($\text{AUC} = 0,89$), während die Unterscheidung bei Tumoren mit monoallelischen BRCA1/2-Veränderungen schwach war ($\text{AUC} = 0,53$). Unsere Studie identifiziert wichtige Parameter, die die HRD-Messung beeinflussen, und plädiert für eine Integration des HRDsum-Scores mit spezifischen Mutationsprofilen. Die Ergebnisse wurden bereits publiziert: Rempel et al. **2022** (PMID: 35681079)

In einem weiteren Projekt wurde die Entwicklung einer robusten Methode zur Identifizierung von Kopienzahlveränderungen anhand der sogenannten Off-Target-Regionen (OTRs) einer NGS-Analyse, die beispielsweise zur Abschätzung der homologen Rekombinationsdefizienz (HRD) genutzt werden kann. Dafür wurde ein Model der HRDest score entwickelt. Eine starke Korrelation zwischen den so abgeschätzten HRDest scores mit anhand von Ganz-Exom-Sequenzierungen bestimmten HRD-Score in der TCGA-Kohorte und in einer eigenen klinischen Kohorte zeigte, dass es keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der HRD-Scores innerhalb der analysierten Tumorarten gab. Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass OTR-Reads einer Panel-Sequenzierung von Tumoren verwendet werden können, um genomweite CNV-Profile zu erstellen. Die Ergebnisse werden zur Publikation in einer wissenschaftlichen Zeitschrift angenommen Ball et al. **2023** (preprint <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4564682>)

Während zahlreiche wiss. Arbeiten in den letzten Jahren die inter- und intratumorale Heterogenität von Tumorzellen beleuchtet haben, gibt es weit weniger Informationen über die Heterogenität des immunologischen Tumormikromilieus (TME). Es ist anzunehmen, dass das TME sich ebenfalls durch evolutionären Druck plastisch entwickelt, aber die Datenlage ist bisher eingeschränkt. Zu diesem Hintergrund untersuchten wir eine Kohorte von resezierten, therapie-naiven Adenokarzinomen der Lunge, die entweder KRAS-Mutationen oder keine therapierbaren Driver-Alterationen aufweisen. Zu diesem Zweck wurden die Resektate systematisch in ähnlich große Segmente geschnitten und jeweils einzeln mittels DNA- und RNA-Profiling Methoden untersucht. Wir konnten zeigen, dass Lungenadenokarzinome im Frühstadium eine beträchtliche intertumorale, aber nur eine begrenzte intratumorale Heterogenität aufweisen, was klinisch höchst relevant ist, da die Beurteilung vor einer neoadjuvanten Behandlung auf kleinen Biopsien beruht. Darüber hinaus zeigte sich eine signifikante Korrelation von STK11-Mutationen mit einem "kalten" TME, was die Wirksamkeit der perioperativen Immuntherapie beeinträchtigen könnte. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Goldschmid et al. **2023** (PMID: 37141769).

LC-1.8: Neue Multiplex-Immunfluoreszenz-Plattform für die Bestimmung von Molekular- und Immunprofilen des Lungenkrebs (C)

AG Kazdal / Stenzinger

In 2022 haben wir eine Übersichtsarbeit zur einschlägigen Literatur zu KI-Methoden und ihren Anwendungen in der Pathologie verfasst, inklusive den aktuellen Errungenschaften und das, was in Zukunft zu erwarten ist, im Kontext der Anforderungen an Forschung und Routinediagnostik. Die Ergebnisse wurden in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Stenzinger et al. **2022** (PMID: 33631297).

Wir haben unsere Arbeiten auf dem Gebiet weiter optimiert und zusätzlich multiplex IHC Färbungen durchgeführt, um weitere Informationen über die räumliche Konfiguration spezifischer Immunzellen im Verhältnis zueinander und zu den Tumorzellen zu gewinnen (siehe oben Goldschmid et al. 2023). Die Heterogenität dieser Zellkonfigurationen zwischen und innerhalb des Tumors wird derzeit in einer Folgestudie analysiert.

LC-1.10: Untersuchung von ICI-Kohorten auf Responder versus non-Responder mittels detaillierter Phänotypisierung, Bildgebung und Biomaterialsammlung (Epigenom, Transkriptom) (T, C)

AG Kazdal / Stenzinger

Im Gegensatz zu anderen Treibermutationen sind bei ERBB2-mutiertem NSCLC (HER2mu NSCLC) noch keine zielgerichteten Therapien zugelassen. Obwohl die Daten über die Wirksamkeit von Immun-Checkpoint-Inhibitoren (ICI) in der zweiten oder nachfolgenden Behandlungslinie begrenzt und widersprüchlich sind, gibt es praktisch keine Daten über die Patientenergebnisse unter ICI/Platin-Doublett-Kombinationen in der Erstlinienbehandlung. Deshalb haben wir retrospektiv die Ergebnisse von Patienten mit HER2mu NSCLC, die mit ICI allein oder in Kombination mit Chemotherapie behandelt wurden, anhand der Gesamtansprechrate (ORR), des progressionsfreien Überlebens (PFS) und des Gesamtüberlebens (OS) ausgewertet. Bei therapie-naiven Patienten, die ICI in Kombination mit einer Chemotherapie erhielten, lagen die ORR, das mediane PFS und die OS-Rate nach einem Jahr bei 52 %, 6 Monaten bzw. 88 %. In der Zweit- oder Folgelinie war die ICI-Monotherapie mit einer ORR von 16 %, einem medianen PFS von 4 Monaten und einem medianen OS von 10 Monaten verbunden. Die Daten zeigen, dass ICIs sowohl als Monotherapie als auch in Kombination mit einer Platin-Doublett-Chemotherapie wirksam sind. Daher können ICI-basierte Behandlungen als derzeitiger Behandlungsstandard und Maßstab für zielgerichtete Therapien bei HER2mu-NSCLC angesehen werden. Die Ergebnisse wurden gemeinsam mit Kollegen/-innen der Thoraxonkologie bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Saalfeld et al. **2021** (PMID: 34245914).

PD-(L)1-Inhibitoren haben die Prognose von nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) verbessert, aber es werden dringend zuverlässigere Prädiktoren für die Wirksamkeit benötigt. Zytokine sind wichtige Effektormoleküle des Immunsystems, deren potenzieller klinischer Nutzen als Biomarker noch unklar ist. Hier untersuchten wir die mögliche Relevanz von Zytokinen zum Monitoring bei einer Behandlung mit PD-(L)1-Inhibitoren. Dabei zeigte sich, dass unbehandelter nicht-kleinzelliger Lungenkrebs durch erhöhte Blutspiegel mehrerer pro-inflammatorischer und angiogener Effektoren gekennzeichnet ist, die unter ICT abnehmen. Basisspiegel von Serumzytokinen könnten für eine verbesserte Vorhersage des späteren IO-Nutzens (insbesondere TNF-RI) und der Entwicklung von irAE (z. B. IL-1 β oder Angiogenin) genutzt werden, eignen sich aber nicht für eine longitudinale Krankheitsüberwachung. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Schindler et al. **2022** (PMID: 36387148).

In einem weiteren Projekt werden die histologischen Schnittpräparate einer Kohorte von über 1000 Fällen, die mit Immuncheckpoint-Inhibitoren behandelt wurden, digitalpathologisch evaluiert. Ziel ist es morphologische Merkmale zu identifizieren, die mit dem Ansprechen auf eine ICI assoziiert werden können. Aktuell findet die Digitalisierung der Kohorte statt. In Kooperation mit der Thoraxklinik Heidelberg wurde in einer ersten Sub-gruppe ICI bei nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) mit MET-Exon-14-Skipping (MET Δ 14ex) an 110 Patienten untersucht. Die kombinierte Chemo- und Immuntherapie (CHT-IO) übertraf die Chemotherapie Monotherapie und zeigte ein längeres progressionsfreies Überleben (PFS). Die Immuntherapie allein hat ein vergleichbares Gesamtüberleben (OS) und eine vergleichbare Ansprechdauer wie CHT-IO. TP53-mutierte Tumore sprachen besser auf eine Immuntherapie an, und Zweitlinienbehandlungen wie Capmatinib oder Tepotinib zeigen eine längere Überlebensdauer als Crizotinib. Die Studie kommt zu dem Schluss, dass CHT-IO überlegen ist, dass die Immuntherapie wirksam ist, insbesondere bei TP53-Mutationen, unabhängig von der PD-L1-Expression, dass aber Nie-Raucher ein höheres Risiko für eine primär progrediente Erkrankung

haben können. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Blasi et al. **2023** (PMID: 38271745).

In einer weiteren Kooperation mit der Thoraxklinik Heidelberg wurde in einer Studie bei älteren Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (≥ 70 Jahre) eine Behandlung mit Pembrolizumab alleine oder in Kombination mit Chemotherapie verglichen. Pembrolizumab plus Chemotherapie erhöht die Zahl der unerwünschten Ereignisse und Krankenhausaufenthalte, ohne das Überleben im Vergleich zu Pembrolizumab allein zu verbessern. Immunbedingte unerwünschte Ereignisse (irAEs) sind mit einer längeren Überlebenszeit verbunden, andere unerwünschte Ereignisse hingegen nicht. Zu den Prädiktoren für schlechte Ergebnisse gehören ein schlechterer Leistungsstatus, Hirnmetastasen, Plattenepithelhistologie und eine fehlende PD-L1-Expression im Tumor. Die Studie unterstreicht den begrenzten Nutzen der Chemoimmuntherapie bei älteren NSCLC-Patienten und hebt spezifische Faktoren hervor, die schlechtere Ergebnisse vorhersagen. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Blasi et al. **2023** (PMID: 37391339).

Diese Studie konzentriert sich auf die digitalpathologische Profilerstellung bei Lungenkrebs, um Veränderungen zu identifizieren, die das Ansprechen auf Therapien vorhersagen. Bestehende Studien weisen Einschränkungen auf, wie beispielsweise die Abhängigkeit von einzelnen Kohorten und mangelnde Robustheit, trotz Fortschritten beim Deep Learning zur Vorhersage aus ganzen Objektträgerbildern. Diese Lücke soll geschlossen werden, indem sie die Auswirkungen verschiedener Faktoren auf die Vorhersage molekularer Veränderungen bei Lungenkrebs analysierten werden. Hierfür wurde die TCGA-LUAD-Kohorte und eine eigene Heidelberger Lungen-Adenokarzinom-Kohorte (HLCC) digitalisiert. Empfehlungen für die Datenkuration und die Modellbildung wurden im Hinblick auf die klinische Anwendbarkeit gegeben. Es wurde gezeigt, dass das vorgeschlagene Modell robustere Vorhersagen liefert als herkömmliche Ansätze. Das trainierte Modell an der großen HLCC-Kohorte konnte bei der externen Validierung auf den TCGA-Datensatz verallgemeinert werden. Dies weist auf eine potenzielle klinische Anwendung bei der Vorhersage von prädiktiven Alterationen bei nicht-kleinzelligem Lungenkrebs hin. Die Ergebnisse wurden zur Publikation in einer wissenschaftlichen Zeitschrift eingereicht: Dernbach et al. **2023** (under review).

In diesem Projekt werden die histologischen Schnittpräparate einer Kohorte von über 1000 Fällen, die mit Immuncheckpoint-Inhibitoren behandelt wurden, digitalpathologisch evaluiert. Ziel ist es morphologische Merkmale zu identifizieren, die mit dem Ansprechen auf eine ICI assoziiert werden können. Aktuell (**2023**) findet die Digitalisierung der Kohorte statt.

LC-2. Entschlüsselung der Entstehung von Resistenzen gegen die Behandlung in Treibermutation-abhängigen NSCLC

LC-2.1: Identifizierung von Faktoren, die ein Ansprechen auf die Behandlung verhindern mittels FFPE oder Kryo-Gewebe basierter Erstellung von Molekularprofilen verschiedener Treibermutations-abhängiger NSCLC Kohorten (EGFR+, EGFR Exon 20, ALK+ and KRAS+) (T, C)

AG Kazdal / Stenzinger

Patienten mit EGFR-mutiertem (EGFR+) nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC), bei denen Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) versagen, können von zielgerichteten Therapien der nächsten Generation profitieren, doch die Umsetzung ist schwierig. Daher wurden EGFR+ NSCLC-Patienten, die mit TKI der ersten/zweiten Generation (1G/2G) behandelt wurden und deren letzte Nachbeobachtung nach der Zulassung von Osimertinib (Februar 2016) erfolgte, retrospektiv analysiert und die Ergebnisse mit veröffentlichten Daten unter Osimertinib verglichen. Insgesamt erhielten 207 Patienten Erlotinib (37%), Gefitinib (16%) oder Afatinib (47%). Bei 86 % der progressiven Fälle wurde ein T790M-Test durchgeführt, der bei 53 % positiv ausfiel von denen in 94 % die Gabe von Osimertinib erfolgte. Von den 135 verstorbenen Patienten erhielten 70 % eine anschließende systemische Behandlung (43 % Chemotherapie, 39 % Osimertinib), während 30 % ohne diese Behandlung starben. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Osimertinib das Überleben nach Versagen eines 1G/2G-TKI verlängert,

aber etwa 15 % bzw. 30 % der Patienten auf eine molekulare Nachuntersuchung bzw. eine Folgebehandlung verzichten, hauptsächlich aufgrund einer raschen klinischen Verschlechterung. Dies ist ein wichtiger, behebbarer Punkt für die sequentielle TKI-Behandlung von EGFR+ NSCLC. Ähnliches gilt auch für andere therapierbare Resistenzmechanismen, die sich unter 1G/2G-Inhibitoren oder Osimertinib herausbilden, deren Rate für das Ausbleiben einer Folgetherapie ähnlich ist (etwa 35 % in den FLAURA/AURA3-Studien), und unterstreicht die Notwendigkeit einer genaueren Überwachung neben einer breiteren Profilierung von TKI-behandelten EGFR+ NSCLC in der Zukunft. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Magios et al. **2021** (PMID: 34408792).

In einem weiteren Projekt haben wir NGS-basierte Mutations- und Fusionsanalytik von 4172 Patienten retrospektiv ausgewertet. Neben den 24,9 % der Fälle, die für zugelassene zielgerichtete Therapien aufgrund des Vorliegens kanonischer Veränderungen in den EGFR-Exons 18-21, BRAF, ROS1, ALK, NTRK und RET in Frage kamen, wiesen weitere 30. 2 % der Patienten seltene oder nicht-kanonische Mutationen in EGFR, BRAF, ERBB2, KIT, PIK3CA und CTNNB1 auf, für die gezielte Therapien potenziell wirksam sein könnten. Durch eine systematische Literaturrecherche in Verbindung mit einer In-silico-Bewertung wurden 5,5 % der Patienten identifiziert, für die eine Studie mit einer zielgerichteten Behandlung nach den vorliegenden Erkenntnissen gerechtfertigt wäre. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass ein beträchtlicher Teil der NSCLC-Patienten seltene oder nicht-kanonische Veränderungen aufweist, die mit einem klinischen Nutzen der derzeit verfügbaren zielgerichteten Medikamente in Verbindung gebracht werden können. Die systematische Identifizierung und individualisierte Behandlung dieser Fälle kann die Anwendbarkeit der Präzisionsonkologie beim NSCLC erweitern und den klinischen Nutzen etablierter molekularer Ziele erhöhen. Die Ergebnisse wurden bereits mit Kollegen/-innen der Thoraxklinik interdisziplinär in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Volckmar et al. **2021** (PMID: 33667718).

Die Studie untersucht den Nutzen der erweiterten molekularen Profilerstellung bei der Vorhersage von T790M-Mutationen im EGFR-Gen nach der Behandlung mit 1G/2G EGFR-Inhibitoren bei NSCLC. Die vollständige Exom-Sequenzierung von Tumoren vor der Behandlung zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit der T790M-Entwicklung und verschiedenen komplexen genetischen Biomarkern, wie die Mutationslast des Tumors, die Mutationssignatur SBS1 + 5, die Tumorploidie und Marker der Subklonalität. Klinische Merkmale zeigten schwache Assoziationen. Obwohl einzelne Marker die Entwicklung von T790M vorhersagten, muss die Leistung der Kombinationen noch in größeren Studien bestätigt werden, was das Potenzial für die Verfeinerung von Prognosemodellen bei NSCLC-Patienten, die mit EGFR-TKI behandelt werden, unterstreicht. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Menzel et al. **2023** (PMID: 38284983)

In einem weiteren Projekt wurden EGFR-Exon-20-Insertionsmutationen (ex20ins) bei nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) untersucht, die 5-10 % der EGFR-Mutationen ausmachen. Die Identifizierung von ex20ins-Patienten ist aufgrund der begrenzten Reichweite der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und der kürzlichen Einführung der Sequenzierung der nächsten Generation (NGS) schwierig. In der Studie wurden 636 NSCLC-Patienten mit ex20ins analysiert und die Fähigkeit von sechs weit verbreiteten PCR-Kits zum Nachweis dieser Mutationen bewertet. Die Ergebnisse zeigen, dass mehr als 40 % der ex20ins-Patienten von PCR-Tests übersehen würden, was die Überlegenheit von NGS-basierten Gentests zur umfassenden Identifizierung von EGFR-ex20ins-Varianten bei NSCLC unterstreicht. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Ou et al. **2023** (PMID: 36738930)

Die korrekte Diagnose eines Tumors ist entscheidend für die Therapiesteuerung. Unter Einbezug der Immunhistochemie und der Molekularpathologie, können histologische Verfahren in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle die richtige Diagnose generieren. Allerdings existieren nach wie vor diagnostische Grenzbereiche mit einem Unsicherheitsgrad, bspw. die Differenzierung zwischen Primarius/Zweitumor/Metastase oder die Unterscheidung zwischen einer Plattenepithelkarzinommetastase (Primarius HNO/Genitale) und einem primären Plattenepithelkarzinom der Lunge. Klinische und radiologische Befunde unterstützen hier die richtige Zuordnung, aber manchmal gelingt dies auch mit Hilfe dieser Informationen nicht. Wir

entwickeln daher zurzeit einen RNASeq basierten Classifier zur diagnostischen Einordnung von Lungenrundherden, der neben der richtigen Entitätszuordnung per Expressionsprofil auch klinisch relevante biologische Informationen bietet, wie bspw. der Aktivierungszustand relevanter Signaltransduktionspathways, der Nachweis von Virusgenom und die immunologische Landschaft des Tumors. Die Sequenzierungen für dieses Projekt sind abgeschlossen und ein erster Classifier wurde entwickelt. Nach finalen Abstimmungen und Verbesserungen ist die Publikation im Laufe des Jahres geplant (ongoing Stenzinger et al.). Der Classifier wird nach Finalisierung den DZL Zentren zur Verfügung gestellt.

LC-2.4: Tumor Biologie und der treibende Einfluss von p53, EML4-ALK Varianten und EGFR in der Entwicklung von Resistenzen in molekular definierten NSCLC (B, T)

AG Kazdal / Stenzinger

Das anaplastische Lymphomkinase-vermittelte nicht-kleinzellige Lungenkarzinom (ALK+ NSCLC) ist eine Modellkrankheit für den Einsatz zielgerichteter Therapien (TKI), die nacheinander verabreicht werden, um das Überleben der Patienten zu maximieren. Wir analysierten retrospektiv den Verlauf von 145 konsekutiven TKI-behandelten ALK+ NSCLC-Patienten über alle Therapielinien hinweg. Dabei zeigte sich, dass sowohl die Verabreichung eines zusätzlichen TKI (medianes Gesamtüberleben [mOS] 59 vs. 41 Monate für mehrere vs. eine TKI-Linie, logrank $p=0,002$) als auch die Chemotherapie (mOS 41 vs. 16 Monate, logrank $p<0,001$) signifikant mit einem längeren Überleben verbunden waren. Obwohl es keine regulatorischen Hindernisse gab und keine spezifischen Resistenz-vermittelnden Mutationen erforderlich sind, verzichteten 25-30 % der ALK+ NSCLC-Patienten auf eine nachfolgende systemische Therapie aufgrund einer raschen klinischen Verschlechterung, die in mehreren Fällen (etwa 1/3) mit einer unwirksamen ersten Next-Line-Therapie einhergeht. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer engmaschigeren Überwachung der Patienten und einer breiteren Profilierung, um einen früheren und gezielteren Einsatz der verfügbaren Therapien zu ermöglichen. Die Ergebnisse wurden bereits gemeinsam mit Kollegen/-innen des DKFZ und der Thoraxklinik in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Elsayed et al. **2021** (PMID: 33959513).

Aufgrund ihrer überlegenen Wirksamkeit und Verträglichkeit wird die zielgerichtete Therapie derzeit der Chemo- und/oder Immuntherapie bei behandlungsfähigen Genfusionen, die beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC) im Spätstadium auftreten, vorgezogen. Folglich schreiben die aktuellen Leitlinien für die klinische Praxis vor, dass alle Patienten mit neu diagnostiziertem fortgeschrittenem nicht-squamösem NSCLC (NS-NSCLC) auf ALK-, ROS1-, NTRK- und RET-Genfusionen getestet werden. Genfusionen können mit verschiedenen Methoden nachgewiesen werden, doch heute ist die RNA-Sequenzierung die Methode der Wahl. Die Entdeckung weiterer Genfusionen (z. B. NRG1, NUT, FGFR1, FGFR2, MET, BRAF, EGFR, SMARCB1-Fusionen) und ihrer Partner hat in den letzten Jahren immer mehr zugenommen, was zur Entwicklung neuer und vielversprechender Therapien geführt hat und die Entwicklung und Umsetzung umfassender Nachweismethoden erfordert. In dieser Arbeit werden die jüngsten Daten zu den wichtigsten Genfusionen die bei NSCLC identifiziert wurden analysiert und die wichtigsten Herausforderungen für den validen Nachweis im klinischen diagnostischen Feld herausgearbeitet. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Kazdal et al. **2022** (PMID: 34997651).

Seltene Fusionen wurden bei nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) bei 5 von 554 Patienten mittels Sequenzierung der nächsten Generation untersucht. Seltene Fusionen, darunter EGFR, MET, HER2, BRAF, wurden bei 0,5 % der therapienaiven und 2 % der mit TKI behandelten Tumoren gefunden. Ein Drittel dieser Fusionen wies nicht-funktionelle Veränderungen auf, die häufig mit klassischen onkogenen Treibern oder größeren Sequenzierungspanels assoziiert waren. Die Studie deutet darauf hin, dass 1-2 % der fortgeschrittenen NSCLC-Fälle möglicherweise therapeutisch angreifbare seltene Fusionen aufweisen, was die potenzielle diagnostische und therapeutische Bedeutung unterstreicht. Der routinemäßige Einsatz breit angelegter NGS-Assays wird zur Identifizierung präziser Fusionspunkte und konservierter Proteindomänen bei fortgeschrittenem NSCLC empfohlen.

Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Seker-Cin et al. **2023** (PMID: 37586177)

In einer umfassenden Analyse von 24 Krebsarten aus dem TCGA wurden Genexpressionssignaturen identifiziert, die TP53-Mutationstypen und Krebstypen entsprechen und unterschiedliche Expressionsmuster aufzeigen. Während nur wenige Gene eine unterschiedliche Expression zwischen den TP53-Mutationstypen aufwiesen, waren Hunderte von Genen in TP53-Mutationsfällen im Vergleich zu Wildtyp-Tumoren über- oder unterexprimiert. In einer Konsensliste wurden 178 überexprimierte und 32 unterexprimierte Gene in TP53-Mutationstumoren bei verschiedenen Krebsarten identifiziert. Es wurden Mutations-Hotspots und krebspezifische Muster identifiziert, und die Analyse der Immuninfiltration in 32 Krebs-Subtypen ergab unterschiedliche Muster. Diese Ergebnisse legen nahe, dass TP53-Mutationen wertvolle prädiktive Marker für die Immuntherapie und gezielte Therapien sein könnten. Die Ergebnisse wurden bereits in einer wissenschaftlichen Zeitschrift publiziert: Romanovsky et al. **2023** (PMID: 37059713)

LC-3.3: Strategien zur Früherkennung und CT Bildgebung (Eigenschaften pulmonaler Noduli, Fibrose, COPD) (C)

AG Wielpütz/Kauczor Lungenkrebs-Screening

In einem Projekt mit 251 Patienten mit Rundherden und teils gesichertem Lungenkrebs konnte die Arbeitsgruppe am TLRC (PI Prof. Wielpütz) belegen, dass die Malignitätswahrscheinlichkeit eines entdeckten Rundherds in der Computertomographie auch mit quantitativen Markern des Lungenemphysems korreliert. Dieser Befund könnte die Vorhersagewahrscheinlichkeit im Rahmen eines Lungenkrebsscreenings weiter verbessern (Peters et al. Eur Radiol 2023). In einer weiteren Arbeit untersuchte die Arbeitsgruppe anhand eines Lungenphantoms mit 326 künstlichen Rundherden, in wie weit sich das Ergebnis von klinisch zugelassenen Systemen (mit und ohne Verfahren der künstlichen Intelligenz) in der Größenmessung und Volumetrie der Rundherde in Abhängigkeit von Dosisgrößen unterscheiden. Als Ergebnis konnte festgestellt werden, dass in einer relevanten Anzahl von Fällen sich das Ergebnis derart unterschied, dass klinische Entscheidungen zur weiteren Behandlung unterschiedlich ausgefallen wären. Diese Arbeit wurde Anfang 2023 zur Publikation angenommen (Peters et al. Eur Radiol 2023). In einer dritten Studie wies die Arbeitsgruppe des TLRC zusätzlich nach, dass KI-gestützte Tools zur Malignitätsvorhersage inzidenteller Rundherde durch die angewendete CT-Dosis beeinflusst werden. Dabei kommt es zu klinisch relevanten Unterschieden, die das weitere Management unterschiedlich beeinflussen können. Dieser Befund ist mit Blick auf die Niedrigdosis-CT für das Lungenkrebsscreening besonders relevant (Peters et al. Eur Radiol 2023).

Nebenbefunde spielen im Lungenkrebsscreening eine sehr wichtige Rolle. Sie sind häufig, und es bestehen große Unklarheiten, wie mit ihnen zu verfahren ist. Zusammen mit Kollegen aus UK und Brasilien haben wir 2022 eine systematische Check-Liste publiziert (Penha et al. J Bras Pneumol 2022). Weiterhin haben wir in einer Taskforce der entsprechenden europäischen Fachgesellschaften (ERS/ESTS/ESTRO/ESR/ESTI/EFOMP) intensiv an einem Statement zum Management of incidental findings (MILCA) gearbeitet (O'Dowd EL, Tietzova I, Bartlett E, et al. ERS/ESTS/ESTRO/ESR/ESTI/EFOMP statement on management of incidental findings from low dose CT screening for lung cancer. Eur Respir J 2023; 62: 2300533). Diese Aktivität wird ergänzt durch ein Paper zu den technischen Standards für Lungenkrebsscreening unter Führung der ERS / Baldwin DR, O'Dowd EL, Tietzova I, et al. Developing a pan-European technical standard for a comprehensive high-quality lung cancer computed tomography screening programme: an ERS technical standard. Eur Respir J 2023; 61: 2300128).

Unter der wissenschaftlichen Koordination von Prof. Kauczor haben wir 2022 einen Antrag auf Implementierung von Lungenkrebsscreening-Programmen in Europa im Rahmen des Europe's beating cancer plan, Ausschreibung EU4Health gestellt. Das Projekt „Strengthening the Screening of Lung Cancer in Europe“ (SOLACE) mit den Hauptzielen: Richtlinien zur Implementierung von Lungenkrebs-Screening erstellen, Qualität sichern und Lücken schließen wurde von der EU-Kommission zur Förderung ausgewählt. Kick-off war im April 2023, die Dauer der Förderung beträgt 3 Jahre. Unser Ziel ist die Erstellung klarer, prägnanter und praktischer

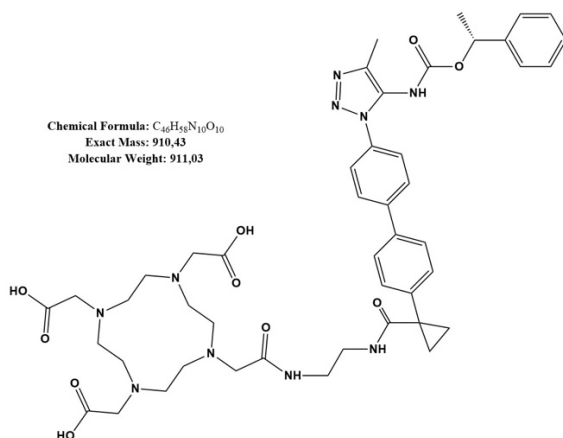
Richtlinien für die Durchführung von Lungenkrebs-Früherkennungsprogrammen in den verschiedenen EU-Ländern. Zugleich sollen bestimmte, sozial oder ethnisch marginalisierte Bevölkerungsgruppen, die derzeit in der Vorsorge unterrepräsentiert sind, identifiziert und gezielt angesprochen werden. Ein weiterer Ansatz von SOLACE ist die Bereitstellung von mobilen Screening-Einheiten. So können beispielsweise Menschen besser erreicht werden, die in abgelegenen Gebieten wohnen. Das SOLACE Projekt wird von zahlreichen Stakeholder Boards begleitet. Hierbei vertreten die European Society of Radiology, die European Respiratory Society und andere Gesellschaften die wissenschaftliche Expertise, ebenso berücksichtigen die European Lung Foundation und Lung Cancer Europe die Perspektive der Patienten. An SOLACE beteiligen sich 36 Einrichtungen mit Vertretern von Forschungseinrichtungen, Universitätskliniken, nationalen Gesundheitsbehörden, Patientenorganisationen und Verbände der Gesundheitsberufe. Neben dem TLRC ist auch ACRN vertreten. Die Pilotprojekte werden in 10 EU Ländern auf den Weg gebracht. Die Projektkoordination erfolgt durch das European Institute für Biomedical Imaging Research (EIBIR) in Wien. In den kommenden drei Jahren wird das Projekt wertvolle Beiträge zur Implementierung von Kosten-Nutzen effizienten Lungenkrebscreening-Programmen liefern sowie Methodiken und Techniken empfehlen, um insbesondere die Bevölkerungsgruppen mit dem höchsten Risiko zu erreichen.

AG Haberkorn

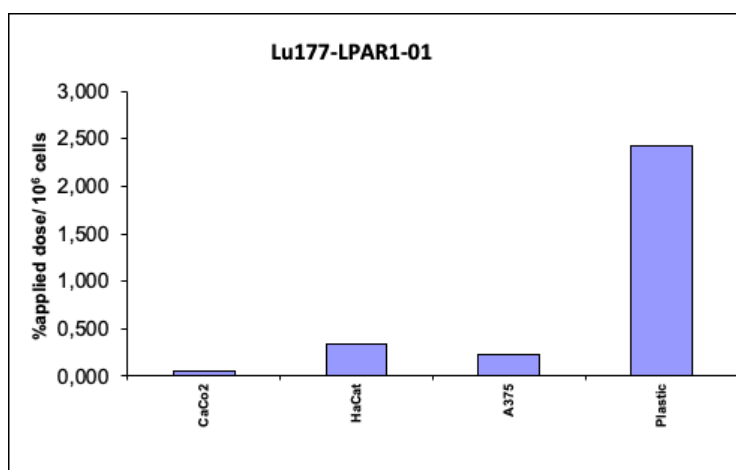
Podoplanin und der Lysophosphatidsäurerezeptor 1 (LPAR1) scheinen sowohl an der Entstehung von Lungenkrebs als auch an der Fibrose beteiligt zu sein. Wir haben versucht, neue Bindungsmoleküle zur Abbildung dieser Prozesse zu etablieren.

LPAR1

Zunächst wurde in Zusammenarbeit mit Martina Benesova (DKFZ) ein Inhibitor für LPAR1 synthetisiert und zur weiteren Markierung an DOTA gekoppelt.



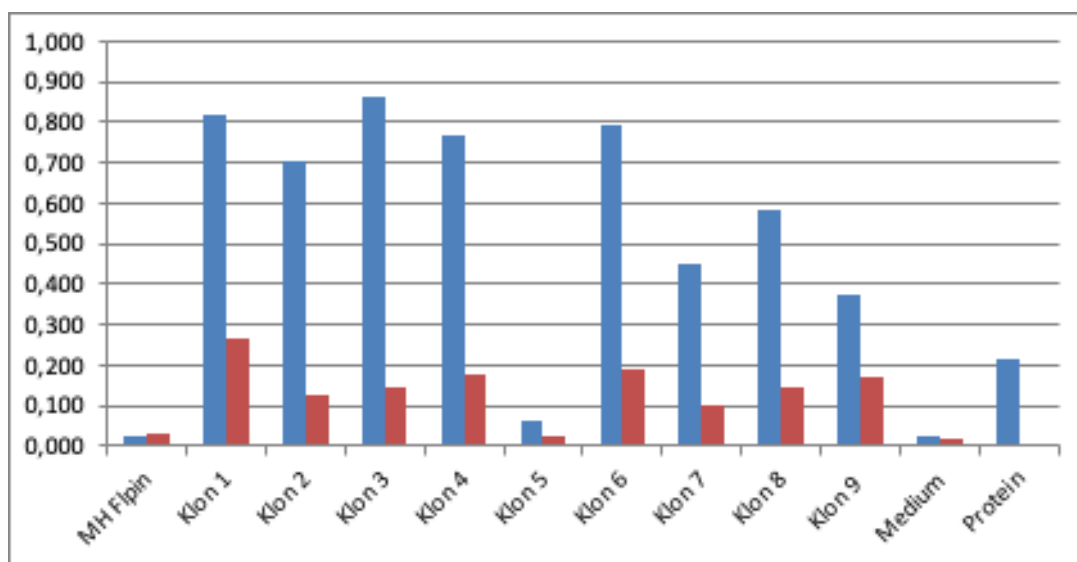
Um diesen Tracer zu bewerten, mussten Zelllinien identifiziert werden, die unterschiedliche Mengen des LPAR1-Rezeptors exprimieren. Daher wurde eine FACS-Analyse in 25 Zelllinien durchgeführt. Exemplarisch werden die Ergebnisse von drei Zelllinien dargestellt: CaCo2, HaCat und A375 mit unterschiedlicher Zielexpression. Anschließend wurden Zellkulturexperimente durchgeführt, um das radioaktiv markierte Molekül in ausgewählten Zelllinien zu bewerten.



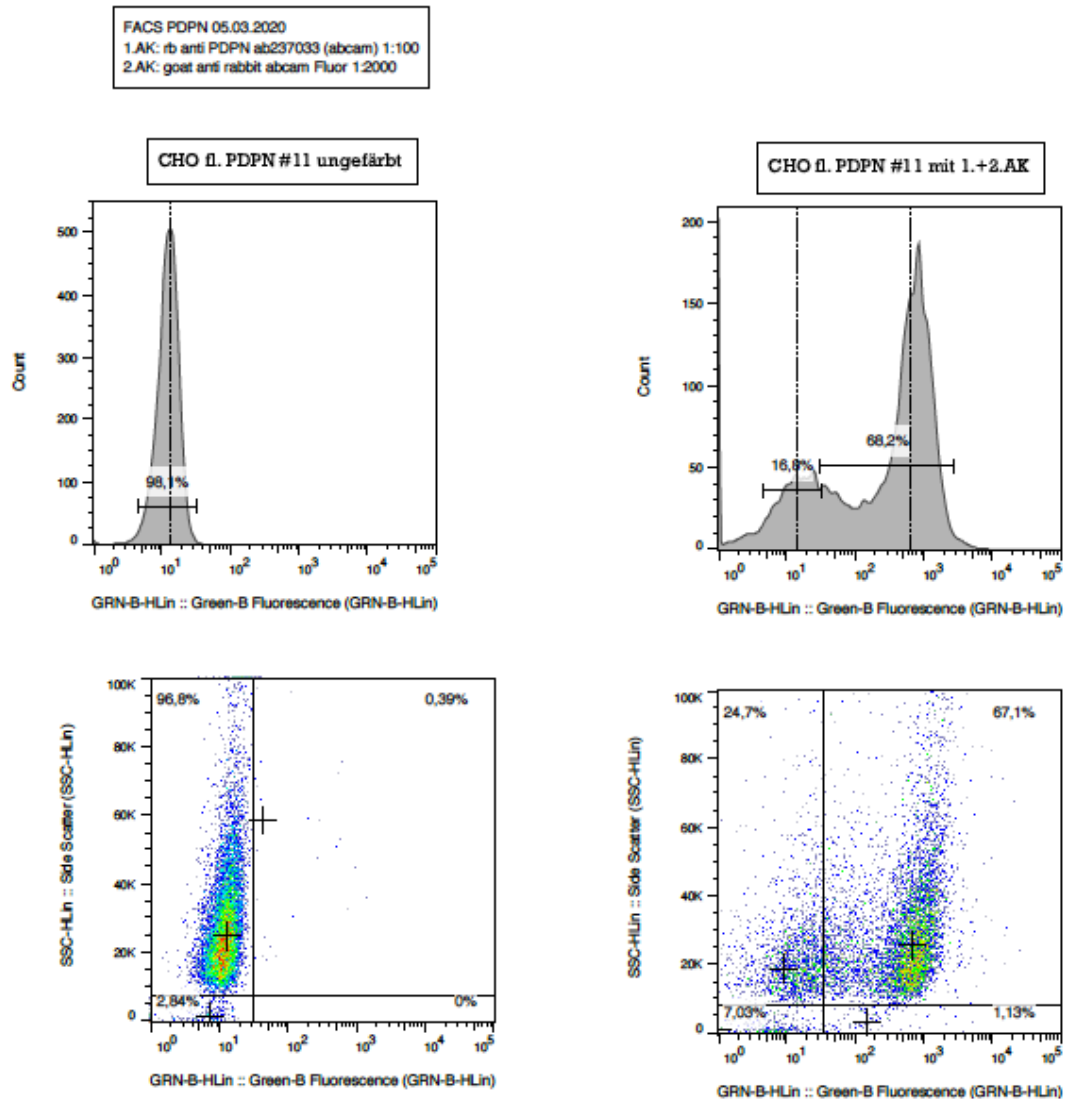
Leider zeigte der Tracer eine starke Bindung an die Kunststoffoberfläche der Zellkulturschalen, aber nur eine schwache Bindung an die LPAR1-exprimierenden Zelllinien. Auch Experimente mit weiteren LPAR1-Inhibitoren ergaben keine Anreicherung in den Tumorzellen. Daher wurde zunächst der Fokus auf andere Projekte gelegt.

Podoplanin (PDPN)

Für das Biopanning (Ribosomen- und Phagen-Display) mit Peptidbibliotheken, die Evaluation der Peptide und Identifizierung möglicher Tracer wurden rekombinante PDPN-exprimierende Zelllinien auf Basis des Flipin-Systems generiert. Die für PDPN kodierende DNA-Sequenz wurde dazu in CHOFlipin- und MH3924AFlipin-Zellen transfiziert. Nach Selektion in Hygromycin-Medium wurden 24 CHOFlipin-PDPN-Klone und 9 MH3924AFlipin-PDPN-Klone evaluiert. Alle CHOFlipin-PDPN-Klone und 8 von 9 MH3924AFlipin-PDPN-Klone exprimierten PDPN.



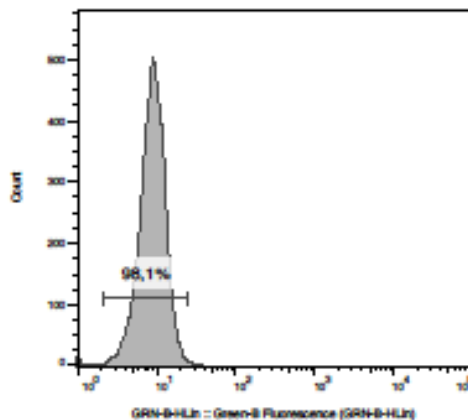
ELISA der MH3924A-Klone: die PDPN-Expression der Zellen wurde mit den PDPN-spezifischen Antikörpern ‚Rabbit anti-PDPN Ab‘ (blau; 237033 abcam) und ‚Mouse anti-PDPN Ab‘ (rot; 10288 abcam) verifiziert. Darüber hinaus wurde eine Durchflußzytometrie von 8 rekombinanten CHOFlipin-PDPN-Zelllinien durchgeführt, die eine gute Expression der Zielstruktur zeigten. Ein Beispiel ist in der folgenden Graphik dargestellt.



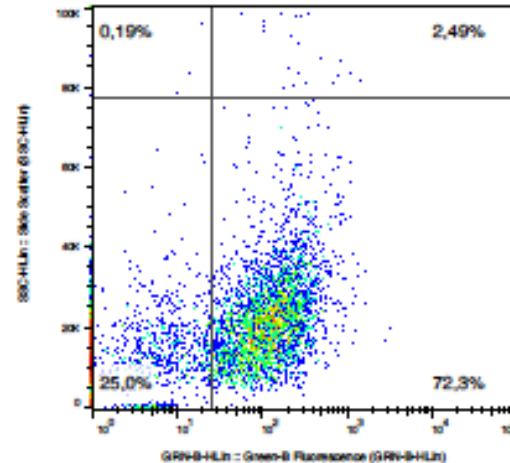
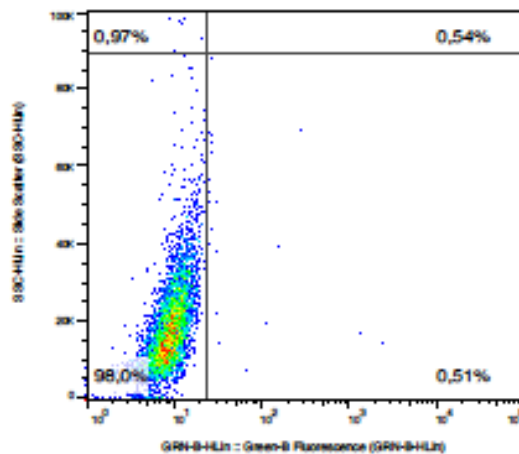
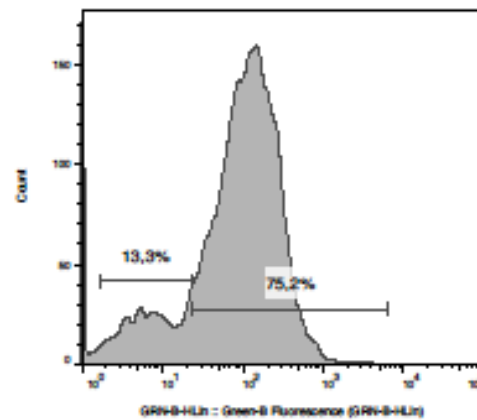
Die konstitutive Podoplanin-Expression wurde auch in 25 Zelllinien verschiedener Tumorentitäten getestet. Die nachfolgende Graphik zeigt die Durchflußzytometrie der Lungen-Ca-Zelllinie A549, die eine hohe PDPN-Expression aufweist.

FACS PDPN 08.07.20
1.AK: rb anti PDPN ab237033 (abcam) 1:100
2.AK: goat anti rabbit Alexa Fluor 1:2000

A549 no staining



A549 1 + 2 Ab

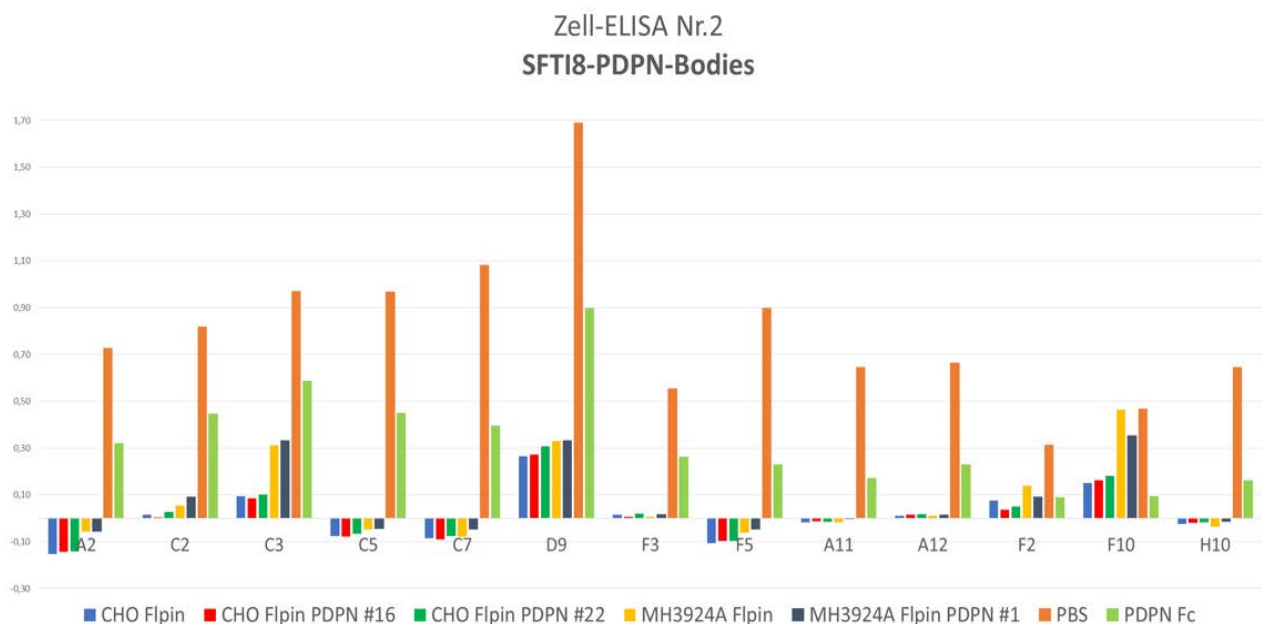


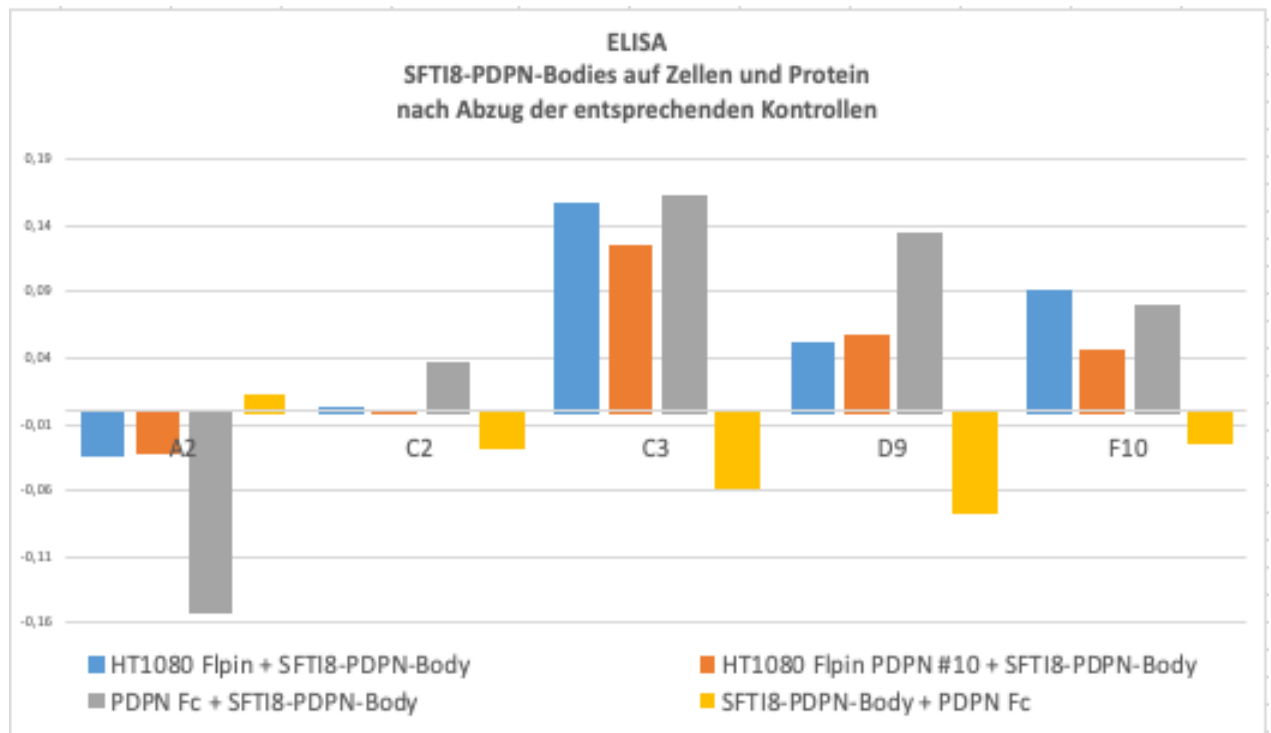
Ribosomen- und Phagen-Display: SFTI8-Peptid-Bibliotheken wurden alternierend mit rekombinantem Protein und CHOFlipin-Zellen (Negativ-Biopanning) bzw rekombinanten CHOFlipin-PDPN-Zellen (Positiv-Biopanning) in mehreren Runden und Ansätzen inkubiert. SFTI8-Peptid-Bibliotheken basieren auf der Gerüst-Struktur des „sunflower trypsin inhibitor (SFTI)-1. Mittels 2 PCR-Reaktionen wurden in die SFTI-1-Struktur zwischen Thr4 und Cys11 der Bindungsschleife 8 variable Triplets kodierend für alle Aminosäuren außer Cystein randomisiert eingebracht. Ferner wurde im Hinblick auf die Markierung der Peptide mit radioaktivem Jod das außerhalb der Bindungsschleife liegende Triplet TTT durch TAT ersetzt, um somit eine Substitution von Phenylalanin¹² durch Tyrosin zu erreichen. Die so klonierten Bibliotheken erreichen beim Biopanning theoretische Diversitäten zwischen 10^9 und 10^{14} . Die DNA aus mehreren dieser PDPN-Panningrunden wurden gepoolt und in den Expressionsvektor pSB_initLPETGFlag kloniert. Anschließend erfolgte die bakterielle Expression der Peptide,

deren PDPN-Bindung zunächst im ‚Colony Lift Assay‘ an PDPN^{Fc} nach Inkubation mit anti-Fc Antikörper evaluiert wurde. Die Kolonien potentiell PDPN-Binder wurden propagiert, die Peptide aus den periplasmatischen Raum der Bakterien isoliert und die bakteriellen Lysate nachfolgend im ELISA hinsichtlich ihrer Spezifität für PDPN^{Fc} und rekombinante PDPN-exprimierende Zellen getestet.

Die Exposition der bakteriell hergestellten SFTI8-Peptide (Bodies) auf mit PDPN^{Fc} gecoateten Platten und Detektion der Bindung mit anti-Flag Antikörper ergab nach Abzug des Untergrunds (humFc, PBS) einige potentiell positive Liganden, deren Bindung anschließend im ELISA an CHOFlpin- und MH3924Aflpin-PDPN-exprimierenden Zellen getestet wurde (Zell-ELISA Nr.2).

Die Bindung der bakteriellen Lysate der Klone A2, C2, C3, D9 und F10 wurden nochmals im ELISA an rekombinanten HT1080Flpin-PDPN- und HT1080Flpin-Zellen getestet.



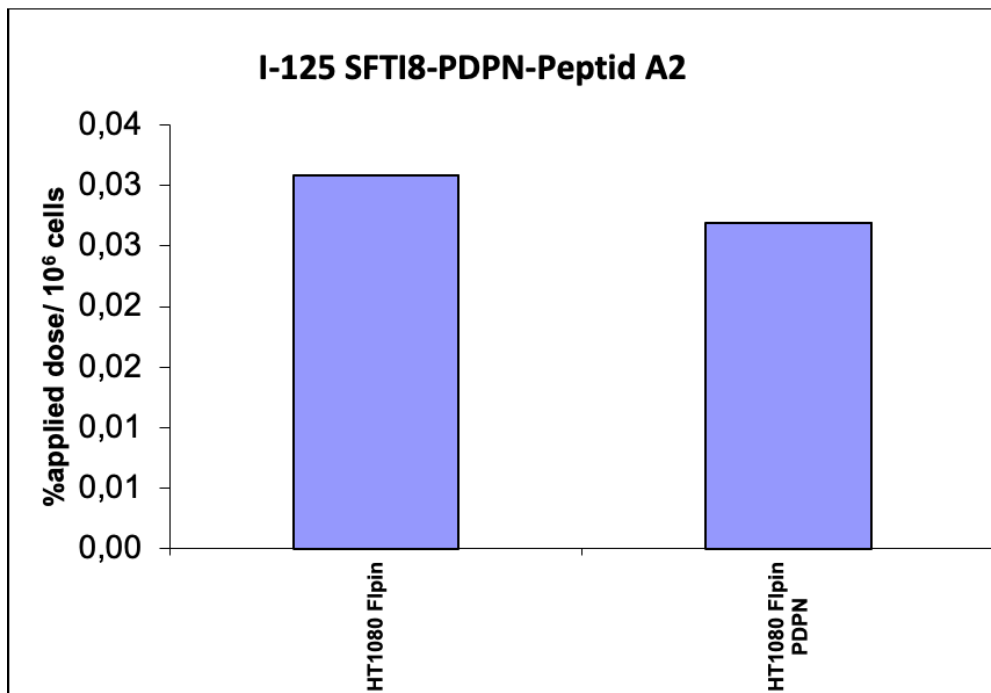


2023: Nach Sanger-Sequenzierung der DNA und Ermittlung der Aminosäuresequenzen wurden folgende Peptide als mögliche Binder in Betracht gezogen und chemisch synthetisiert:

A2	GRCT F E N D R L G K CYPD
C3	GRCT Y W H N K H L V CYPD
D9	GRCT I Q K M R I W A CYPD
C2	GRCT W V G A A R M A CYPD
F10	GRCT W G V Q A W Q I CYPD

Nach radioaktiver Markierung der Peptide mit I-125 wurde ihre Bindung auf HT1080Flpin (Negativzelllinie) und HT1080Flpin-PDPN-Zellen getestet und sollte gegebenenfalls auch im Tumor-tragenden Tier analysiert werden. Dazu wurden die ¹²⁵I-markierten Peptide mit den Zellen für 1 Stunde inkubiert, nicht gebundene Aktivität durch Waschen entfernt und anschließend die Radioaktivität in den Zelllysaten im gamma-Counter ermittelt.

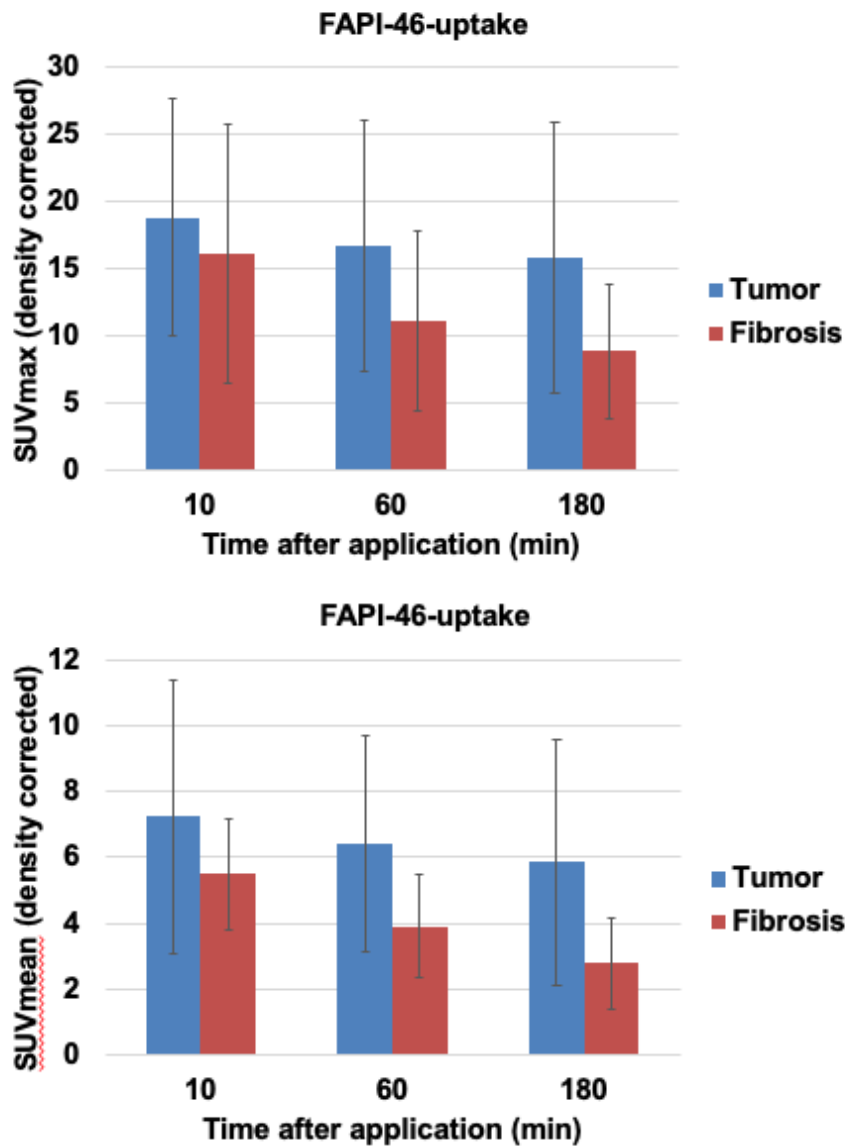
Die Abbildung zeigt exemplarisch die Bindung des Peptids A2 (% applizierte Radioaktivität/10⁶ Zellen).



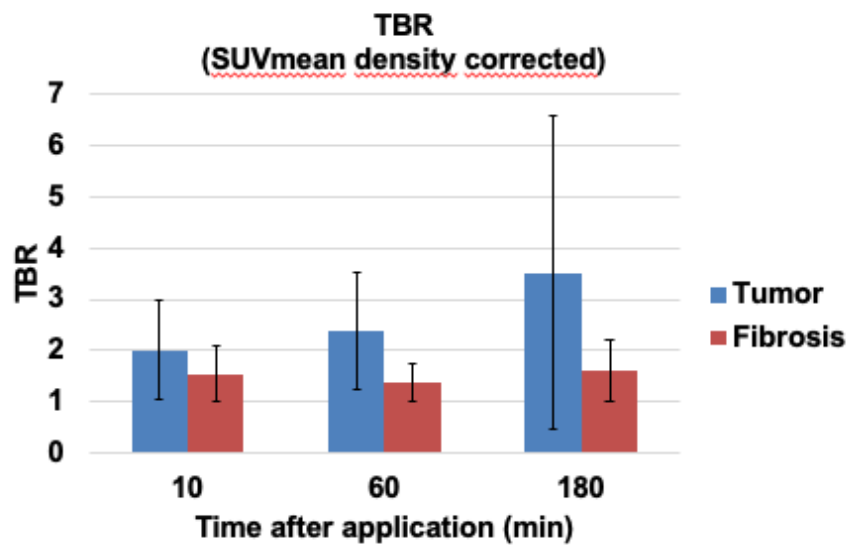
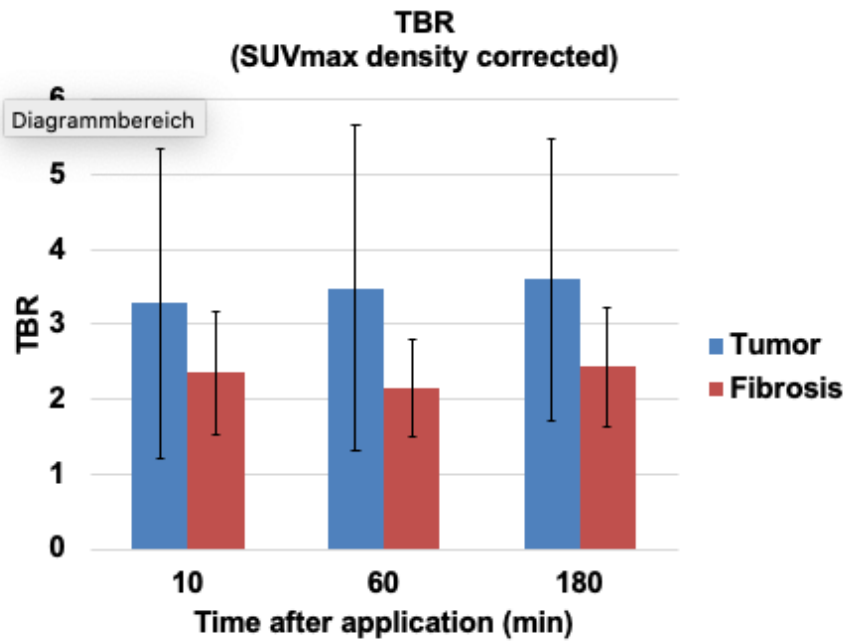
Die Peptide C3, C2, D9 und F10 zeigten im Vergleich zu HT1080Flpin-Zellen ebenfalls keine höhere Bindung an HT1080Flpin-PDPN-Zellen (< 1% der applizierten Dosis/10⁶ Zellen) und damit keine Spezifität für die auf Zellen exprimierte Zielstruktur. Weitere Experimente wurden mit diesen Peptiden daher nicht durchgeführt.

FAPI-PET/CT

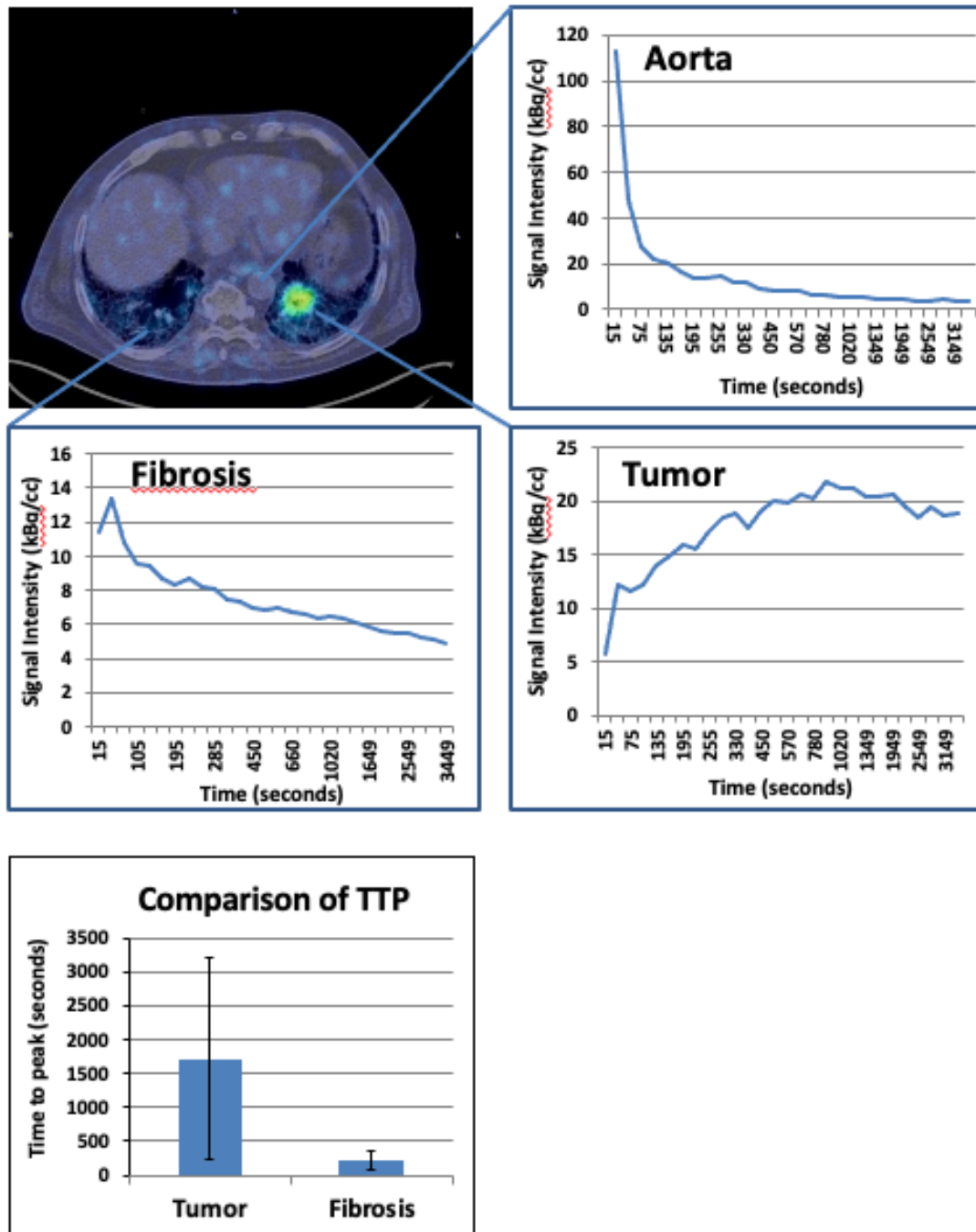
PET-Scans wurden von 15 Patienten mit fibrotischer interstitieller Lungenerkrankung (fILD) und Verdacht auf Lungenkarzinom (LC) 10, 60 und 180 Minuten nach der Verabreichung von 150–250 MBq eines ⁶⁸Ga-markierten FAPI-Tracers (FAPI-46) durchgeführt. Bei drei Patienten wurden dynamische Scans über 40 Minuten statt einer Bildgebung nach 10 Minuten durchgeführt. Standardisierte Aufnahmewerte (SUVmax und SUVmean) von fibrotischen Läsionen und LC wurden gemessen und CT-dichtekorrigiert. Ziel-zu-Hintergrund-Verhältnisse (TBR) wurden berechnet. Die PET-Bildgebung korrelierte mit CT-basierten Fibrose-Scores. Aus der dynamischen Bildgebung abgeleitete Zeit-Aktivitäts-Kurven wurden analysiert. Es wurde eine FAP-Immunhistochemie von 4 menschlichen fILD-Biopsieproben und von fibrotischen Lungen von Nedd4-2/- Mäusen durchgeführt. Sowohl fILD-Läsionen als auch LC zeigten eine deutlich erhöhte FAPI-Aufnahme (dichtekorrigiertes SUVmax / Mittelwerte 60 Minuten nach der Injektion: 11,12 +/- 6,71 und 4,29 +/- 1,61 für fILD-Läsionen und 16,69). +/- 9,35 und 6,44 +/- 3,29 für LC) und hohe TBR (TBR der dichtekorrigierten SUVmax/SUV-Mittelwerte 60 Minuten nach der Injektion: 2,30 +/- 1,47 und 1,67 +/- 0,79 für fILD und 3,90 +/- 2,36 und 2,37 +/- 1,14 für LC). Die SUVmax- und SUVmean-Werte nahmen mit der Zeit ab, wobei die TBR von fILD stabil blieb und die TBR in LC zunahm. Die dynamische Bildgebung zeigte unterschiedliche Zeitaktivitätskurven von fILD und LC. Die FAPI-Aufnahme zeigte eine positive Korrelation mit dem CT-basierten Fibroseindex (FIBI). Die Immunhistochemie menschlicher Biopsieproben und der Lunge von Nedd4-2/-Mäusen zeigte eine fleckige Expression von FAP in fibrotischen Läsionen, vorzugsweise in der Übergangszone zum gesunden Lungenparenchym.



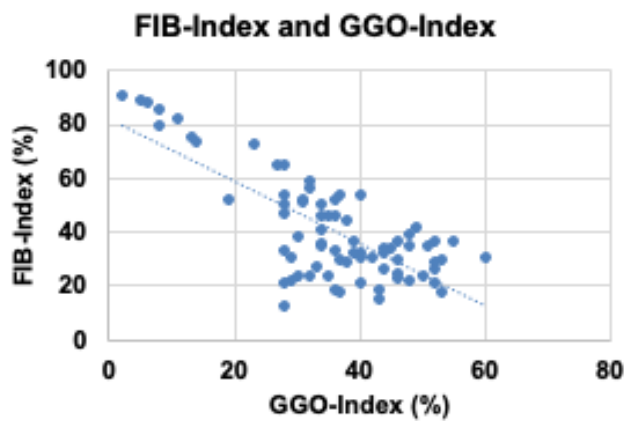
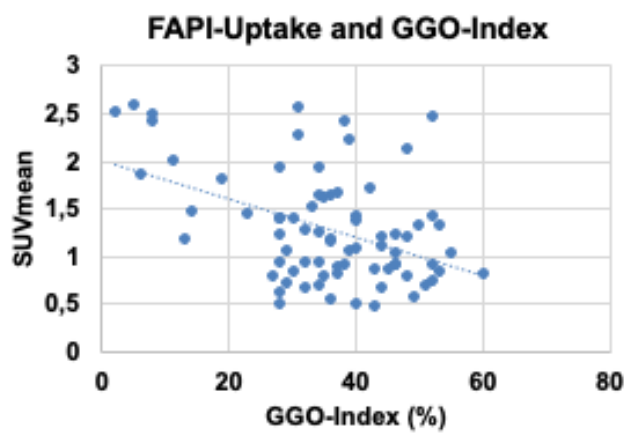
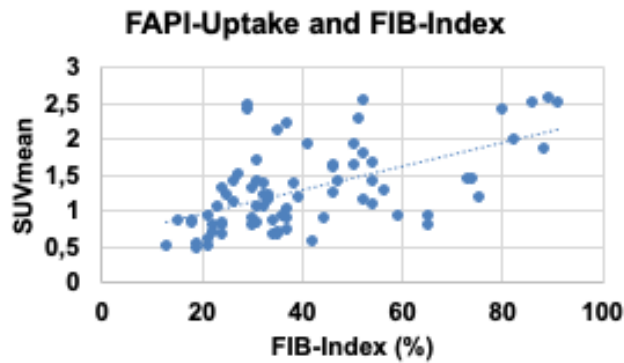
Durchschnittlicher ($\pm$ SD) dichtekorrigierter SUVmax und SUVmean für Tumor und Fibrose bei 15 Patienten 10, 60 und 180 Minuten nach der Anwendung von ^{68}Ga -FAPI-46.



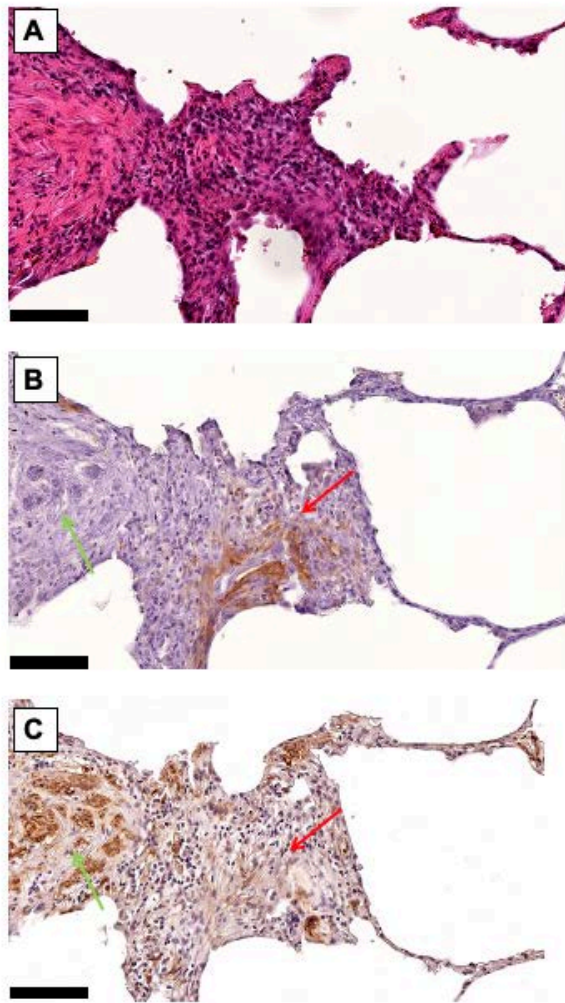
Durchschnittliche ($\pm$ SD) dichtekorregierte TBRs für SUVmax und SUVmean für Tumor und Fibrose bei 15 Patienten 10, 60 und 180 Minuten nach der Anwendung von ^{68}Ga -FAPI-46.



Axiales PET/CT-Bild und entsprechende Zeit-Aktivitäts-Kurven, die die Aufnahme von ^{68}Ga -FAPI über die Zeit in der Aorta, der linksseitigen LC-Läsion und dem fibrotischen Bereich in der rechten Lunge zeigen. Vergleich der durchschnittlichen Zeit bis zum Höhepunkt ($\pm\text{SD}$) von 3 fibrotischen Bereichen und 3 LC-Läsionen, gemessen durch dynamische PET-Bildgebung. TTP 5 Zeit bis zum Peak.



Scatter Plots des SUV-Mittelwerts, abgeleitet aus 68Ga-FAPI-PET/CT und entsprechenden FIB-Indizes und GGO-Indizes in 75 Lappenvolumina von 15 Patienten mit fILD und Verdacht auf LC. Streudiagramm der FIB-Indizes und GGO-Indizes gleicher Lappenvolumina.

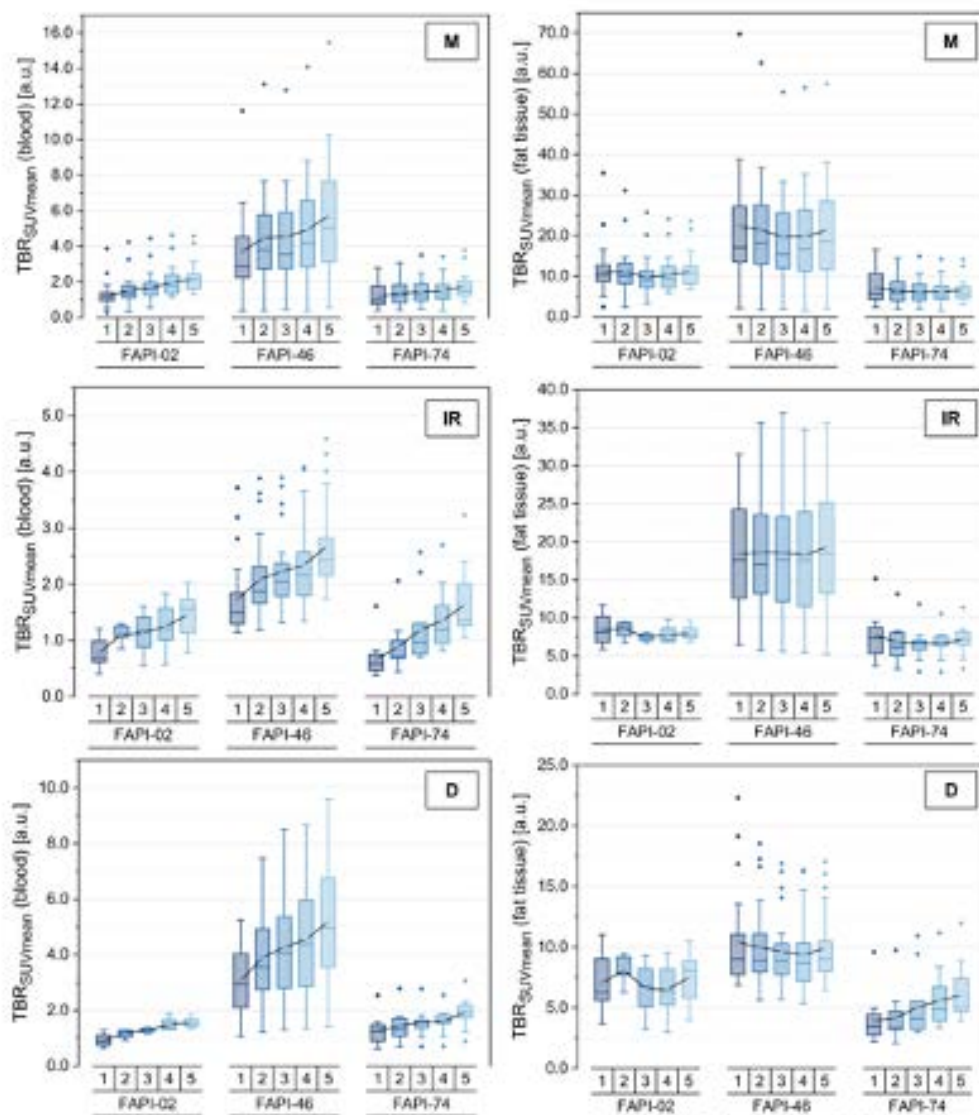


Hämatoxylin- und Eosin-Färbung (A), FAP-Immunhistochemie (B) und a-SMA-Immunhistochemie (C) eines beispielhaften FAP-positiven Flecks in einer fILD-Läsion eines 71-jährigen Mannes (zum Zeitpunkt der Biopsie) mit diagnostizierter IPF mit kleinzelligem Lungenkarzinom nach 68Ga-FAPI PET/CT. Eine hohe FAP-Expression (rote Pfeile) und eine hohe a-SMA-Expression (grüne Pfeile) sind in fibrotischem Gewebe weitgehend umgekehrt verteilt (320; Maßstabsbalken, 50 µm).

Aus diesen klinischen Daten schließen wir, dass die FAPI-PET/CT-Bildgebung eine vielversprechende neue Bildgebungsmodalität für fILD und LC ist. Sein potenzieller klinischer Wert für die Überwachung und Therapiebewertung von fILD sollte in zukünftigen Studien untersucht werden.

Inzwischen hat das von uns entwickelte FAPI-PET/CT weltweit Anerkennung gefunden (seit unseren Erstpublikationen in 2018 bisher 790 Publikationen, Stand 24.1.24) und wird bereits von vielen Institutionen für die onkologische Bildgebung aber auch für kardiologische und rheumatologische Erkrankungen und Fibrosen eingesetzt. Inzwischen gibt es mehrere Publikationen, die beim NSCLC eine Überlegenheit des FAPI-PET/CT gegenüber dem etablierten Tracer FDG zeigen. Gelegentlich kann die Unterscheidung zwischen malignen und nicht-malignen FAPI-positiven Läsionen kommen, insbesondere wenn statische PET Aufnahmen angefertigt werden. Weiterhin ist der optimale Zeitpunkt für die Aufnahme p.i. noch nicht klar. Daher wurde bei 24 Tumorpatienten der diagnostische Wert von repetitiven Akquisitionen für drei FAPI-Tracer (FAPI-02, FAPI-46 und FAPI-74) bezüglich maligner, entzündlicher und degenerativer Läsionen untersucht. Dazu wurden 10, 22, 34, 46 und 58

Minuten nach Gabe von 150-250 MBq der ^{68}Ga -FAPI Tracer PET-Aufnahmen angefertigt (jeweils 8 Patienten für FAPI-02, FAPI-46 und FAPI-74). Bei den meisten Normalgeweben außer Fettgewebe und Spinalkanal ergab die Analyse der Biodistribution einen mit der Zeit abnehmenden Tracer Uptake. Insgesamt wurden 134 maligne, inflammatorische und degenerative Läsionen analysiert. Die Detektionsraten waren bei den ersten beiden Akquisitionszeiten im Vergleich zu den späteren Akquisitionen minimal reduziert, gefolgt von einem konstanten hohen Niveau von 34 zu 58 Minuten p.i. Der Uptake von allen drei Tracern war höher in malignen und inflammatorischen Läsionen verglichen mit degenerativen Läsionen. FAPI-46 zeigte den höchsten Uptake und das höchste Tumor-zu-Untergrund-Verhältnis. Für alle Tracer stieg das Tumor-zu-Untergrund-Verhältnis bezogen auf die Aktivität im Blut für alle Pathologien konstant mit der Zeit an. Die zusätzlichen Frühaufnahmen erwiesen sich als äußerst hilfreich für die Unterscheidung zwischen malignen und nicht-malignen FAPI-positiven Läsionen.



Tumor-zu-Untergrund-Verhältnis für den SUVmean in malignen (M), inflammatorischen/reaktiven (IR) oder degenerativen (D) Läsionen versus Blut und Fettgewebe.

2023: Mehrere Subtypen von Lungenkarzinomen (LC), insbesondere lepidische LC, sind häufig ^{18}F -FDG-PET-negativ, was die Beurteilung einzelner Läsionen mit Verdacht auf LC deutlich erschwert. Wir untersuchten das diagnostische Potenzial der statischen und dynamischen FAPI-PET bei ^{18}F -FDG-negativen Lungenläsionen von 19 Patienten, die sich nach PET-Bildgebung einer Operation oder Biopsie zur histologischen Diagnose unterzogen. Zur Zielvalidierung wurde die FAP-Expression in lepidischen LCs durch FAP-Immunhistochemie untersucht.

Die FAP-Immunhistochemie bestätigte das Vorhandensein stark FAP-positiver CAFs in lepidischen LCs. LCs zeigten im Vergleich zu gutartigen Lungenläsionen eine deutlich erhöhte ^{68}Ga -FAPI-Aufnahme, eine höhere TBR und höhere ^{68}Ga -FAPI/ ^{18}F -FDG-Verhältnisse für alle PET-Parameter. Die dynamische Bildgebungsanalyse ergab unterschiedliche Zeit-Aktivitäts-Kurven für LCs und gutartige Lungenläsionen: Anfänglich steigende Zeit-Aktivitäts-Kurven mit dezenter Steigung waren typisch für LCs und stetig abnehmende Zeit-Aktivitäts-Kurven deuteten auf gutartige Lungenläsionen hin, was sich in einer deutlich erhöhten TTP (time to peak) und Steigung von LCs widerspiegelte. Die relativen (^{68}Ga -FAPI/ ^{18}F -FDG) SUVmax- und TBR-Werte zeigten die höchste Sensitivität und Spezifität bei der Unterscheidung von LC und gutartigen Lungenläsionen.

Somit kann ^{68}Ga -FAPI-PET als ein leistungsstarkes, neues Werkzeug zur Beurteilung einzelner ^{18}F -FDG-negativer Lungenläsionen angesehen werden, dass die Patientenstratifizierung in diesem klinischen Umfeld ermöglicht.

Plattform Imaging (PLI)

PLI-1 - Image-Omics: maschinelles Lernen und künstliche Intelligenz

PLI-1.1: Identifizierung neuer histopathologischer Biomarker und morphologischer Eigenschaften, die mit nicht-neoplastischer Lungenerkrankung assoziiert sind auf Basis der automatisierten Analyse von Lungenbiopsien und Lungenzellprobenmaterial (T).

AG Wielpütz / Kauczor

Wir haben die Möglichkeiten von FAPI-PET/CT nicht nur für Lungenkrebs, sondern auch für DPLD eingesetzt. Aktive Areale einer fibrotischen interstitiellen Lungenerkrankung zeigten eine signifikant erhöhte Aktivität des neuen PET Tracers (Röhrich et al, J Nucl Med 2022). Daher wollen wir den Tracer zukünftig auch in klinischen DPLD-Studien einsetzen.

Des Weiteren haben wir Messdaten aus quantitativer Perfusion und echozeitabhängigem beobachtetem T1 (T1(TE)) kombiniert, um lokale Korrelationen dieser Biomarker zu untersuchen. Dies erfolgt sowohl für COPD als auch DPLD (Triphan et al. Front Med 2024) und wird weiter fortgeführt.

In PH haben wir nicht-EKG-getriggerte CT Aufnahmen der Pulmonalarterien genutzt, um die Herzkammern voll automatisch zu volumetrieren. In einem zweiten Schritt haben wir diese Ergebnisse mit echokardiographischen und CT-Parametern verglichen, um die Diagnose einer PH nach der neuen (2018) hämodynamischen Definition zu stellen. Die Volumetrie war robust möglich und insbesondere die Ergebnisse des rechten Vorhofes erbrachte eine inkrementale Verbesserung der Diagnose. Die automatische Volumetrie der Herzkammern kann also in die klinische Routine übernommen werden und könnte die nicht-invasive Verdachtsdiagnose einer PH erleichtern (Melzig et al. AJR 2022). In einer weiteren Arbeit haben wir die diagnostische Genauigkeit des Verfahrens weiter untersucht und Patienten mit unterschiedlichen Ursachen einer PH verglichen. Wir konnten zeigen, dass die Volumetrie diese Gruppen signifikant besser unterscheiden konnte als die simple Messung der Durchmesser (Melzig et al. Eur Radiol 2022). Bei COVID-19-Patienten haben wir umfangreiche Arbeiten zur Bildanalyse von CT-Aufnahmen vorangetrieben. Die bildbasierten Biomarker aus der quantitativen CT (QCT) haben wir dann gemeinsam mit klinischen und Labor-Daten weiter untersucht. In einer retrospektiven Studie mit 53 Covid-19 Patienten haben wir so aus einer Kombination von QCT-Parametern und Labor-Parametern ein Modell zur Vorhersage entwickelt, ob im Verlauf der Erkrankung eine invasive Beatmung nötig sein wird oder nicht (Thuy Do et al., Plos One, 2022). Auch haben Pathologen und Radiologen ihre Ergebnisse zu COVID-19 Manifestationen in der Lunge und in anderen Organen zusammengeführt und skalenübergreifende Analysen ermöglicht (Jonigk et al Dtsch Arztebl Int 2022).

PLI-1.2: Kooperation mit dem Deutschen Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK), um die notwendige kritische Datenmenge für maschinelles Lernen und KI zu erreichen (B, T, C)

AG Kauczor / Maier-Hein (DKFZ)

Die Plattform Imaging des TLRC hat zahlreiche Kontakte zur Abteilung Medizinische Bildverarbeitung am DKFZ (Leiter Prof. Klaus Maier-Hein, PI im DKTK) aufgebaut. Ziel der Kooperation ist die Verknüpfung von Bilddaten aus verschiedenen Kohorten (z.B. COPD, Lungenkrebs, Lungenkrebscreening, DPLD), um im nächsten Schritt lernende Algorithmen (künstliche Intelligenz), z.B. zur Detektion und Charakterisierung von Lungenrundherden zu trainieren. Diese Kooperation läuft mittlerweile sehr erfolgreich und Prof. Klaus Maier-Hein wurde in 2021 als PI in das DZL aufgenommen. Lernende Algorithmen die hier Anwendung finden wurden in 2021 auf der International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI 2021) vorgestellt (paper accepted). Künstliche Intelligenz wurde auf der dezentralen Joint Imaging Platform des DKTK implementiert, um die Komorbiditäten bei Lungenkrebs automatisch zu erkennen und zu kategorisieren (Palm-V et al. Healthcare 2022).

Gemeinsam mit der DA LC haben wir vorbereitende Studien mit bildbasierten Biomarkern, Radiomics und lernenden Algorithmen und künstlicher Intelligenz durchgeführt. Diese Werkzeuge verbessern nicht nur die Erkennung und Charakterisierung von Lungenrundherden und Lungenkrebs im Rahmen der Erstdiagnose, sondern auch in der Beurteilung des Therapieansprechens und des folgenden Monitorings (Kroschke et al Fortschr Röntgenstr 2022). Diese Werkzeuge können auch im Rahmen klinischer Studien mit neuen Ansätzen, also der Kombination aus Chemo-Immunotherapie und folgender Radiotherapie, eingesetzt werden (Bozorgmehr et al BMC Cancer 2022). Ein vergleichbarer Einsatz ergibt sich aus der frühen Erkennung eines Therapieansprechens im Vergleich zu liquid biopsy mit Nachweis zirkulierender Tumor cDNA (Yaung -SJ et al Cancer (Basel) 2022).

Für den Einsatz von Radiomics und künstlicher Intelligenz sind große Kohorten wichtig. Die Heidelberger Lungenkrebs Screening Kohorte (LUSI) bietet sich daher an. 2022 haben wir das gleichzeitige Auftreten von COPD und Lungenkrebs untersucht. Mehr als ein Drittel der Raucher, die für das Lungenkrebscreening infrage kommen, haben eine COPD oder entsprechende Vorstufen. Daher kann die Spirometrie einen Beitrag leisten, Personen mit einem besonders hohen Risiko für Lungenkrebs zu identifizieren (Kaaks-R et al Transl Lung Cancer Res 2022).

Ein neuer, alternativer Ansatz in diesem Feld ist – anstatt bildbasierter Parameter – den radiologischen Befundbericht zu analysieren. Daher haben wir ein deep natural language processing (NLP) Modell trainiert. Dazu haben wir mittels Datamining, strukturierte und Freitext onkologische Berichte gesucht, um daraus das Therapieansprechen automatisch zu klassifizieren. Das Ergebnis wurde dann mit konventionellen NLP Algorithmen und menschlichen Readern verglichen. Das so entwickelte NLP Modell konnte das Therapieansprechen aus Freitext Berichten genauso gut bestimmen wie Medizinstudenten, aber nicht so gut wie Radiologen (Fink et al Radiology 2022). Darauf aufbauend haben wir ChatGPT und GPT-4 vergleichend zum Data mining von radiologischen Freitext-Befunden bei Lungenkrebs eingesetzt. Der Fokus lag hier auf der automatischen Extraktion der Größe der Läsionen, der Erkennung von Metastasen sowie dem therapeutischen Ansprechen. GPT-4 zeigte sich hier ChatGPT in allen Belangen deutlich überlegen, insbesondere die onkologische Gesamteinschätzung war besser und es fanden sich weniger konfabulierende Aussagen (Fink et al. Radiology 2023).

PLI-1.3: Grundlegende Infrastrukturen für die Translation und Anwendung validierter Bildgebungsbiomarker in klinischen Studien, Entwicklung neuer CT- und MRT-basierter Bildgebungsbiomarker mit dem Schwerpunkt Perfusionsverteilung, Ventilations-/ Perfusions-Raten und Gasaustausch, in Zusammenarbeit mit den Krankheitsbereichen COPD, CF, AA, ELD, PH, DPLD (T, C)

AG Wielpütz

Im Rahmen der Weiterentwicklung der Software für die quantitative Auswertung kontrastmittel-gestützter Perfusionsmessung mittels MRT haben wir deren Reproduzierbarkeit in einer kleinen COPD und CF-Patientenkohorte untersucht (Konietzke, M; Front Med 2022). Wir arbeiten

weiterhin daran, diese Auswertung in einer deutlich größeren Kohorte (der COSYCONET-Bildgebungs-Teilstudie) möglich zu machen.

Um die hierfür nötige Segmentierung robuster zu machen, wurde eine "Super Resolution Reconstruction" implementiert, die aus mehreren MRT-Aufnahmen eine einzelne mit höherer, isotroper Auflösung erzeugt (Grolig, J; ESTI 2022 (Konferenz)).

Des Weiteren haben wir Messdaten aus quantitativer Perfusion und echozeitabhängigem beobachtetem T1 (T1(TE)) kombiniert, um lokale Korrelationen dieser Biomarker zu untersuchen (Triphan et al. Front Med 2024). Diese Arbeiten werden in 2024 fortgeführt.

Eine andere Software erlaubt uns die Herzkammern und Pulmonalarterien zu segmentieren und automatisch ihr Volumen zu bestimmen. In 2022 konnte diese Software weiter validiert werden. Auch konnten wir zeigen, dass die volumetrischen Ergebnisse unterschiedliche Gruppen von Patienten mit PH besser zu unterscheiden als einfache Messungen der Durchmesser (Melzig et al, Eur Radiol 2022).

Wir haben bei 35 Patienten mit COPD und CF die Reproduzierbarkeit der pulmonalen MR-Angiographie visuell semiquantitativ untersucht. Wir konnten zeigen, dass die Untersuchungsqualität über 1 Monat stabil zu wiederholen ist, und dass die diagnostische Qualität nicht von der Schwere der Lungenerkrankung negativ beeinflusst wird (Wucherpfennig et al. Acta Radiol 2023). Dies ist insbesondere im Hinblick auf die Diagnostik der Lungenembolie mittels MRT, aber auch der Bronchialarteriendilatation bei einer Vielzahl von Krankheitsbildern wichtig. Als neuen potentiellen Biomarker in der funktionellen MRT konnten wir kürzlich belegen, dass dilatierte Bronchialarterien in der Perfusions-MRT und MRT-Angiographie sicher diagnostiziert werden können, und dass ihr Auftreten mit dem Schweregrad der CF-Lungenerkrankung korreliert (Leutz et al. ERJ Open Res 2023). Die klinische Bedeutung der Bronchialarteriendilatation liegt im Auftreten von Hämoptysen und lebensbedrohlichen pulmonalen Blutungen. Mittels MRT-Angiographie konnten wir außerdem zeigen, dass die Größe der dilatierten Bronchialarterien durch eine Kombinationstherapie mit CFTR-Modulatoren reduziert werden kann (Wucherpfennig Ann Am Thorac Soc 2023). Weitere Arbeiten werden 2024 fortgesetzt, um die Bronchialarterien in allen Altersgruppen systematisch zu analysieren und den Einfluss der Therapie auf die Hämoptysenfrequenz zu untersuchen.

Zur Verbesserung der Diagnostik der akuten Lungenembolie mittels Kontrast-verstärkter CT haben wir neue Wege beschritten. Aus der detektorbasierten Spektral CT können wir virtuelle monoenergetische Bilder berechnen. Auf der Basis von Dual Energy CT Aufnahmen der Pulmonalarterien haben wir mittels deep learning synthetische monoenergetische Bilder berechnet. Dieser Algorithmus soll helfen die automatische Erkennung einer Lungenembolie auf Bildern von einem konventionellen CT (single energy) insbesondere bei geringem Kontrast zu verbessern (Fink et al, Diagnostics (Basel) 2022).

Parallel dazu haben wir strukturierte radiologische Befunde zur Lungenembolie erfolgreich dazu benutzt, mittels Data Mining automatisch einen Score zur Thrombuslast zu berechnen. Dieser Score lässt sich somit deutlich einfacher berechnen als der bisher verwandte Qanadli Score und erlaubt eine zumindest semiquantitative Abschätzung der Thrombuslast in der Diagnostik der Lungenembolie (Fink et al, Radiology 2022). Darüber hinaus haben wir künstliche Intelligenz eingesetzt, um aus KM-verstärkten CT-Aufnahmen monoenergetische Bilder mit doppelter Kontrastverstärkung zu synthetisieren. Diese wurden verwendet, um die Beurteilung des Schweregrads einer Lungenembolie zu verbessern (Fink et al. Diagnostics 2022).

Anschubfinanzierung (2022-2023), AG Wielpütz/Knaup/Eisenmann: Deep Learning-basierte Visualisierungen von Perfusionsdefekten zur Unterstützung des MRT-basierten Perfusionsscorings der Lunge bei Mukoviszidose

Die Arbeiten der Juniorgruppe „Structural and Functional Airway Imaging“ am Translational Lung Research Centers (TLRC) (Leitung 2012-2020 Mark Wielpütz) in Kooperation mit der Sektion pädiatrische Pneumologie (Leitung bis 2019 Marcus Mall, danach Olaf Sommerburg) haben zur Etablierung der Magnetresonanztomographie (MRT) für die Diagnostik der Lungenerkrankung der Mukoviszidose (CF) geführt. Hierfür wurden zahlreiche Validierungsschritte incl. der Kreuzvalidierung gegen Lungenfunktionstestungen (Spirometrie, Lung Clearance Index) und andere bildgebende Verfahren (Röntgen, Computertomographie) und eine Multicenter-Implementierung innerhalb des Deutschen Zentrums für Lungenforschung

sowie dem assoziierten Partner Charité Berlin durchgeführt. Im Rahmen eines von der Mukoviszidose e.V. mit 20.000€ finanzierten Anschubprojektes in 2020-2021 der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie in Kooperation mit dem Institut für Medizinische Informatik wurde eine umfangreiche Datenbasis bestehend aus >1000 4D-Perfusions-MRT und den zugehörigen Scoringwerten als Ground Truth angelegt. Das übergeordnete Forschungsziel ist es das Perfusionsscoring zu verbessern. Es wurde eine erste auf Convolutional Neural Networks (CNN) basierende Netzwerkarchitektur zur automatischen Bestimmung des Perfusionsscores entwickelt und evaluiert. Es zeigte sich, dass die ersten Ergebnisse vielversprechend sind (gemittelt über alle Klassen: Sensitivität 54,58%, Spezifität 82,54%) allerdings der derzeitige methodische Ansatz und die Größe der Datenbasis nicht ausreichen, um Perfusions-MRTs aller CF-Schwergrade mit der notwendigen diagnostischen Genauigkeit zu klassifizieren.

Im Rahmen des mit 50.000 € an flexiblen DZL-Mitteln in der Periode 2022-2023 geförderten Projektes wurde ein Ansatz entwickelt, der das radiologische Fachpersonal bei der Beurteilung durch ein selbst entwickeltes Softwarewerkzeug basierend auf dem Ansatz der Explainable AI (XAI) bei einer objektiveren Einschätzung des Perfusionsscores unterstützen soll. Dadurch soll die Inter-Reader-Variabilität minimiert werden. Um die im Vorprojekt erzielten Scoringergebnisse nachvollziehbarer und robuster zu machen werden mit XAI-Algorithmen Visualisierungen erzeugt, welche Bereiche hervorheben, die Einfluss auf die Entscheidung für ein Klassifikationsergebnis haben. In der ersten Projektphase wurden die bestehenden Netze angepasst und etablierte XAI-Frameworks angebunden. Bei einer ersten technischen und klinischen Erprobung lieferten zwei Algorithmen (CAM und Grad-CAM) vielversprechende Ergebnisse.

Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen, wurde ein Softwarewerkzeug konzipiert und implementiert, mit dem die generierten Visualisierungen dem radiologisch-ärztlichen Fachpersonal präsentiert werden können. Das entstandene Tool ermöglicht auch die Bewertung der Qualität der XAI-Visualisierungen. Im Detail werden die Originalbilder mit XAI-Visualisierung für jede Schicht eines Datensatzes überlagert und es wird geprüft, ob die Bewertung mit der XAI-Visualisierung übereinstimmt. Die Radiologen können ihre Bewertungsergebnisse eingeben. Die Ergebnisse werden gespeichert und zu Auswertungszwecken verwendet. Diese Informationen können auch zur Verbesserung des Trainings und zur weiteren Optimierung der XAI- und Klassifizierungsansätze verwendet werden. Das Tool kann so konfiguriert werden, dass vergleichbare Datensätze mit etwas höheren und niedrigeren Punktzahlen angezeigt werden (Abbildung 1). Dadurch können Radiologen den aktuellen Datensatz im Vergleich zu früher bewerteten Datensätzen kategorisieren. Diese Funktion könnte zukünftig Radiologen mit weniger Erfahrung beim Scoring unterstützen. Die Evaluation des Tools und der damit verbundenen XAI-Ansätze wurde 2023 durchgeführt. Die Ergebnisse werden dann mit den bereits publizierten Ergebnissen zur Inter-Reader Variabilität verglichen, um die Performance der XAI-basierten Entscheidungsunterstützung zu bewerten. Hierzu ist eine erste Publikation 2023 eingereicht und angenommen worden (Ringwald FG et al. *Stud Health Technol Inform* 2024).



Abbildung 1: Software-Tool für die Bewertung. Die aktuelle Schicht des zu bewertenden Datensatzes wird in der Mitte angezeigt. Vergleichbare Datensätze mit etwas höherem (oben links) und etwas niedrigerem (unten links) Scores werden angezeigt. Auf der rechten Seite kann der Radiologe den Score eingeben. Bei Bedarf können mehrere Scoring-Läufe aktiviert werden, um den Datensatz von verschiedenen Radiologen bewerten zu lassen (oben rechts und unten rechts). Die Transparenz des XAI-Overlays kann für jede Ansicht mit einem Schieberegler eingestellt werden.

Basierend auf den o.g. Vorarbeiten konnte in 2022 außerdem eine größere Summe an industriegesponsorten Drittmitteln eingeworben werden (Vertex Innovation Award 2022, Vertex Pharmaceuticals Inc., an Prof. Dr. Mark O. Wielpütz; siehe COPD-4.3). Zudem wurde die Anschubfinanzierung genutzt, um einen Antrag auf Förderung im Rahmen der Disease Spanning Working Groups des DZL zur Etablierung eines Systems basierend auf künstlicher Intelligenz zur erweiterten Quantifizierung der Lungenperusions-MRT bei CF, CTEPH, COPD und anderen bronchiektatischen Lungenerkrankungen wie PCD zu platzieren. Wir haben die Zusage zur Förderung erhalten und der geplante Förderzeitraum ist 2024-2027 in Kooperation mit BREATH und BIH.

PLI-1.4: Grundlegende Infrastruktur zur verbesserten Bestimmung von Bildgebungsmustern für die Kategorisierung von IPF und zur Unterscheidung von medikamenten-induzierter Lungentoxizität, in Zusammenarbeit mit dem Krankheitsbereich DPLD (B, T)

AG Hellbach, jetzt Abbasi Dezfouli / Kauczor

Auf Grundlage der Datenbasis aus der Thoraxklinik konnten rund 400 Patienten mit non-IPF DPLD identifiziert werden, von denen sowohl eine umfassende klinische Dokumentation sowie mehrere CT-Scans der Lungen zur Verfügung stehen. Letztere wurden in 2022 und 2023 mittels einer automatischen Software (e-Lung, Brainomix, UK) in Bezug auf Quantität und Qualität der fibrotischen Muster hin ausgewertet. Es zeigte sich, dass bereits anhand des Baseline CTs eine valide Aussage bezüglich des späteren Krankheitsverlaufs möglich war. Weitere Analysen, die auch die Follow-up CTs berücksichtigen, sollen folgen. Die klinischen und radiologischen Daten wurden in 2023 statistisch ausgewertet. Ein erstes Manuskript ist in Bearbeitung.

PLI-1.5: Komorbidom: automatisierte Detektion und Quantifizierung der Komorbiditäten von Lungenerkrankungen und Bestimmung von interstitiellen Anomalien des Lungengewebes (B, T)

AG Wielpütz

In einem vom Landesministerium für Wissenschaft und Kunst Baden-Württemberg geförderten Projekt (Förderzeitraum 2020-2022) hat die Arbeitsgruppe des TLRC (PI Prof. Wielpütz, Koordination Dr. von Stackelberg) zusammen mit der Arbeitsgruppe Medical Image Computing

des Deutschen Krebsforschungszentrums dkfz ein Projekt zur umfassenden KI-basierten quantitativen Nachverarbeitung von Computertomographien des Thorax bei Patienten mit COPD auf den Weg gebracht. Ziel war die Vereinigung einer Vielzahl an teils existierenden und zum Teil neuentwickelten automatisierten KI-basierten Algorithmen zur Erfassung der verschiedenen Lungenveränderungen bei COPD (Bronchopathie, Emphysem) wie auch der assoziierten Komorbiditäten (Koronararterienverkalkungen, Aortenverkalkungen, Lungenfibrose, Lungenkrebs und Rundherde, Osteopenie und Frakturen) in eine einzige Softwareplattform. Diese basiert auf dem JIP-Server des DKTK, der von der Arbeitsgruppe des dkfz in 2022 weitgehend lauffertig fertiggestellt. Die Softwareplattform wurde in 2023 mit Datensätzen aus der COSYCONET-Kohorte sowie weiteren klinischen Datensätzen von Patienten mit COPD aus der Thoraxklinik am Universitätsklinikum Heidelberg validiert. Das Konzept hierzu wurde 2022 publiziert (Palm V et al. Healthcare 2022). Weiterhin haben wir das Komorbidom und das Pulmorbdom bei COPD Patienten in der COSYCONET Kohorte unter dem Aspekt geschlechtsabhängiger Unterschiede untersucht. Signifikante Prädiktoren bei Männern waren die Diffusionskapazität und die Überblähung, während es bei Frauen Asthma und Überblähung waren (Trudzinski F et al. *Sci Rep* 2022).

PLI-1.6: Annotation der CT-Bildgebung und Histologien für die nachfolgende Analyse mit KI der digitalen Pathologie und Radiologie (B, T)

AG Weinheimer / Do

In einer retrospektiven Studie mit 53 COVID-19 Patienten haben wir CT Bilder automatisch ausgewertet. Aus den gewonnenen quantitativen CT (QCT) Parametern wurden in Kombination mit Laborparametern Modelle zur Vorhersage, ob im Verlauf der Erkrankung eine invasive Beatmung nötig sein wird, entwickelt (Thuy Do et al., Plos one, 2022). Das bestimmte Modell mit dem höchsten prognostischen Wert besteht aus 2 Laborparametern (Lactate Dehydrogenase (LDH), Procalcitonin) und einem QCT Parameter (Fibrose Index). Somit konnten wir zeigen, dass QCT-Parameter in Kombination mit Laborparametern ein realisierbares prognostisches Werkzeug zur Vorhersage der invasiven Beatmung bei Patienten mit COVID-19 darstellen.

Anschubfinanzierung (2022-2023): Evaluation einer neuen, auf Künstlicher Intelligenz basierten Methode für Rausch- und Dosisreduktion in der konventionellen und spektralen Computertomographie“

AG Thuy Do

Das Hauptziel dieser Studie ist es, Computertomographie (CT)-Aufnahmen des Thorax und des Abdomens mit Lungenmetastasen durch die Anwendung von künstlicher Intelligenz (KI)-gestützten Rauschreduktionsmethoden unter standardmäßiger Strahlendosis sowie dosisreduzierten CT-Aufnahmen für Lungenentzündungen zu bewerten. Patientenkohorten, bestehend aus jeweils 150 Personen wurden identifiziert. Rohdaten zusammen mit einer Referenzbildrekonstruktion wurden anonymisiert, bevor sie zur weiteren Verarbeitung an Philips Healthcare übertragen wurden. Der umfassende Datensatz, der Referenzbilder und sechs zusätzliche KI-abgeleitete Rekonstruktionen umfasste, wurde mittels KI-Algorithmus verarbeitet und anschließend zur eingehenden Bewertung der Bildqualität an das UKHD gesendet. Zwei erfahrene Radiologen, führten eine sorgfältige quantitative Analyse des Bildrauschen und von Dichteunterschieden über alle sieben Rekonstruktionen durch, wobei der Schwerpunkt auf der Abgrenzung des Bildrauschens lag. Diese Bewertung wurde durch eine Region-of-Interest (ROI)-Analyse an zehn festgelegten Positionen innerhalb der thorakalen und abdominalen Regionen durchgeführt. Als vorläufige Erkenntnis wurde festgestellt, dass alle KI-generierten Rekonstruktionen sowie die Referenzbildgebung unter Verwendung iterativer Rekonstruktion verminderte Rauschlevel im Vergleich zur gefilterten Rückprojektion (FBP) aufwiesen. Besonders hervorzuheben ist, dass der als "smoother" bezeichnete KI-Algorithmus eine überlegene Rauschreduktion im Vergleich zur Referenzbildgebung mittels iterativer Rekonstruktion aufwies. Zudem wurde eine qualitative Analyse durch zwei Radiologen für die Referenzrekonstruktion und die AI-basierte Rekonstruktion „smoother“ für alle Patienten durchgeführt. Die statistische Datenanalyse wurde in 2023 abgeschlossen. Das Manuskript wurde erstellt und wird in Kürze eingereicht. Eine Publikation wird im Jahr 2024 erwartet.

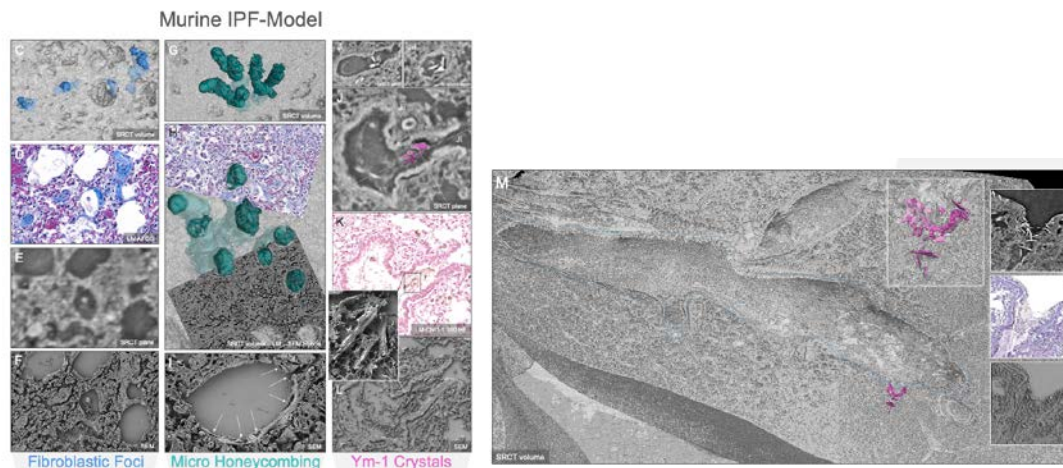
PLI-2: Korrelative 3D multimodale Bildgebung

PLI-2.2: Fluorescence molecular tomography (FMT)/CT von Tiermodellen des Krankheitsbereichs PH, COPD, DLPD, und LC, um neue Biomarker zu identifizieren, molekulare Signaturen zu charakterisieren und die Progression zu erfassen (B, T)

AG Wagner / Wielpütz

Die *ex vivo* μ CT hat sich als empfindlicher Bildgebungsbiomarker für präklinische Studien bei mukoobstruktiven Lungenerkrankungen erwiesen (Zhu L et al. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2022). Um darüber hinaus funktionelle Aspekte der Erkrankungsentstehung und -Progression zu erfassen, wurden erste Arbeiten als *in vivo* micro-CT (μ CT) Studie im Mausmodell ausgeführt. Ziel ist eine longitudinale funktionelle *in vivo* Quantifizierung der mukoobstruktiven Lungenerkrankung bei Mäusen mit β -Epithelalem- Na^+ -Kanal-Überexpression (Scnn1b-TG). Die *in vivo* μ CT mit Atemtriggerung ermöglicht die Darstellung der murinen Lunge in verschiedenen Stadien des Atemzyklus, wodurch funktionelle Aspekte, wie z.B. das Airtrapping analysiert werden können. Veränderungen der kleinsten peripheren Atemwege führen zu pathologischen Ventilmechanismen, die eine lokale Überblähung funktioneller Einheiten des Lungengewebes zur Folge haben. Gewebedichteanalysen und Multiskalenkorrelation sollen diese Mechanismen greifbar machen. In Vorbereitung auf das geplante *in vivo* Projekt zu mukoobstruktiven Lungenerkrankungen wurde Dipl.-Pharm. Claudia Benke mit der Analyse einer Pilotgruppe an Fibrosemäusen aus der NEDD4-2 *in vivo* Kohorte von Konietzke, Leitz et al. betraut. In diesem Pilotprojekt konnten atemzyklusabhängige 3D Dichteanalysen an Lungengewebe aus *in vivo* CT Untersuchungen abgebildet werden. Darüber hinaus konnten Änderungen in der funktionellen Volumenfraktion zwischen In- und Expiration erfasst werden und mit multimodalen „Down-Stream“-Parametern korreliert werden, die aus der gezielten Aufarbeitung der Organproben der Mäuse generiert wurden. Erste *in vivo* Arbeiten wurden 2023 durchgeführt und die Studie wird voraussichtlich in 2024 abgeschlossen und zur Publikation vorbereitet werden.

In einer weiteren Studie im Nedd4-2 Mausmodell (Nedd4-2^{-/-}) (Duerr J et al. *Nat Comm* 2020) haben wir die longitudinale Entwicklung der IPF-ähnlichen Lungenerkrankung mittels μ CT näher charakterisiert. Eine *in vivo* μ CT wurde bei Kontrollmäusen und konditionalen Nedd4-2^{-/-} Mäusen 1, 2, 3, 4 und 5 Monate nach der Doxyzyklin-Induktion wiederholt durchgeführt. Außerdem wurde bei altersgleichen Mäusen ein terminales *in vivo* μ CT in hoher Auflösung mit anschließender Lungenfunktionsprüfung und einem postmortalen μ CT durchgeführt. Die Nedd4-2 Maus zeigt radiologische IPF-ähnliche Merkmale während der progressiven Krankheitsentwicklung, und Schlüsselmerkmale wie honigwabenartige Zysten waren ab 4 Monaten erkennbar. Die Lungenfunktion korrelierte umgekehrt mit den *in vivo* ($r=-0,725$) und post mortem ($r=-0,535$) Mikro-CT-Fibrosewerten. Die Arbeit wurde 2023 eingereicht und ist aktuell in Revision (Leitz DHW und Konietzke P et al.)



Multimodale mikrostrukturelle Merkmale der Lungenfibrose im Mausmodell.

3D-Segmentierung von Fibroblastenfoci im IPF-Modell der Maus (C) zeigt eine nicht zusammenhängende Ansammlung in enger Verbindung mit zystischen Lufträumen. Zystisch erweiterte Lufträume (Mikro-Honeycombing) zeigen sich bei der Maus als dreidimensional zusammenhängende Struktur (G) mit diskontinuierlicher Bewandung, die im REM dargestellt werden können (I). Signalintensive luminal Depots mit z.T. bronchoobstruktivem Charakter (J) wurden durch SRCT entdeckt und durch integrative Immunhistologie und Same-Slide SEM als YM-1-positive Kristalle charakterisiert (K/L). Die gesamte murine Lunge kann mittels SRCT untersucht werden um die Merkmale im Gesamtkontext des Organs zu interpretieren (M).

PLI-2.4: Korrelation der Veränderungen in der Mikrovaskularität, alveolären Elastinverteilung und subzellulären Komponenten in IPF und BPD mittels bildgebender Verfahren (MRT, CT, μ -CT sowie Volumenelektronenmikroskopie, konfokaler Endomikroskopie und anderen mikroskopischen Verfahren), in Zusammenarbeit mit den Krankheitsbereichen DPLD und COPD (B,T,C).

NWG Wagner & AG Kuner

Im Rahmen der Weiterentwicklung unserer multimodalen und multiskalaren Imaging Pipeline haben wir die Verteilungsmuster von Elastin und Kollagen im dreidimensionalen Kontext der Mauslunge bei idiopathischer pulmonaler Fibrose untersucht. Synchrotronstrahlen-basierte microCT wurde verwendet, um strukturelle Veränderungen auf Organebene in Paraffin eingebetteten Lungen zu bewerten. Dies ermöglichte die Identifizierung fibrotischer Herde im 3D-Kontext des gesamten Organs und erleichterte das gezielte Schneiden von Mikrotom-Schnitten in Ebenen von Interesse für die anschließende Histopathologie. Anschließend wurden diese Schnitte mit dem AFM untersucht, um Veränderungen der lokalen Gewebesteifigkeit der zuvor identifizierten Strukturen von Interesse zu bewerten. Die 3D-Analyse des gesamten Organs zeigte deutliche morphologische Unterschiede in der 3D-Gewebeporosität zwischen Lungen von IPF-Mausmodellen mit transienter vs. progressiver Fibrose und Kontrolllungen. Durch die Integration der Ergebnisse aus der gezielten AFM-Analyse war es möglich, mit Hilfe einer agglomerativen Clusteranalyse zwischen den Lungenfibroseformen zu unterscheiden (Abb. 1). Erste Ergebnisse wurden im Januar 2024 publiziert (Dullin et al. Computers in Biology and Medicine, 2024; doi.org/10.1016/j.combiomed.2024.107947), eine weitere Publikation zum Nedd 4-2 Model ist in Vorbereitung.

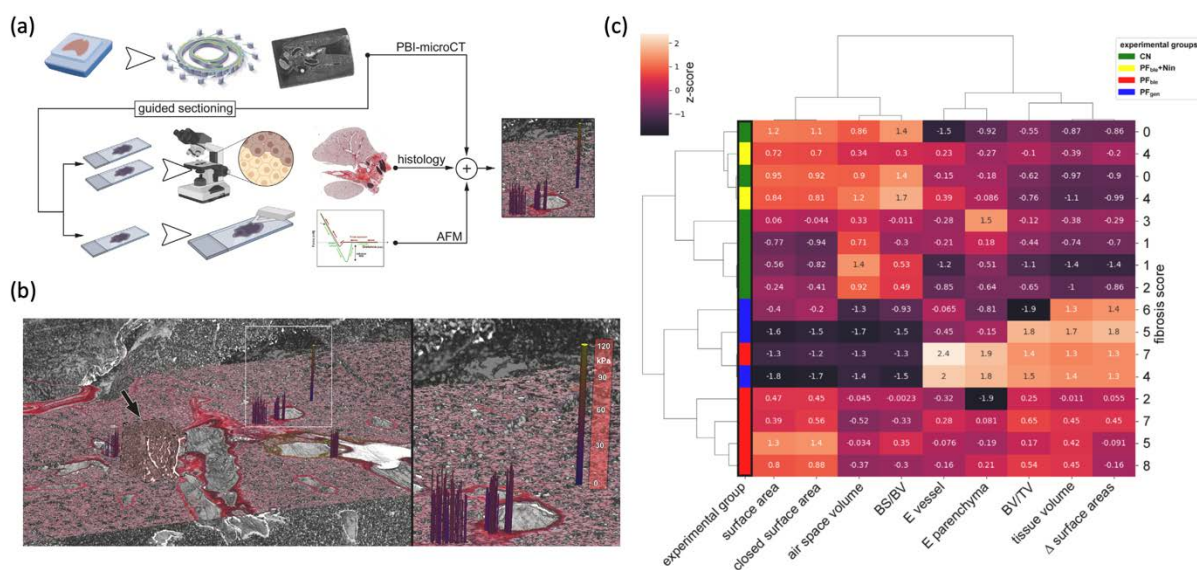


Abbildung 1 (a) Schematische Darstellung der multimodalen und multiskalaren Imaging Pipeline. (b) Integrierte Darstellung von 3D-Struktur, spezifischer histologischer Bindegewebefärbung und der lokalen Gewebesteifigkeit, die mittels 3D-Balken repräsentiert wird. (c) Die agglomerativen Clusteranalyse der integrierten Daten erlaubt eine Unterscheidung zwischen transienter und progressiver Form der Lungenfibrose.

PLI-3: Atlas der humanen Lunge

Das Ziel ist die Bereitstellung von Referenzstrukturen in Form eines Lungenatlas für die Projekte Image-Omics, korrelatives 3D multimodales Imaging sowie andere DZL Arbeitsgruppen, um die strukturellen Veränderungen der erkrankten Lunge besser verstehen zu können. Des Weiteren soll über den humanen Lungenatlas in Open Access Publikationen und auf der DZL Webseite informiert werden.

NWG Wagner

Neben den integrativen Bildgebungsmethoden die auch in PLI-2.4 und DPLD-4.3 erwähnt wurden, reiht sich hier auf humaner Größenskala das „Human Synchrotron Lung-CT Project“ ein, dessen Ziel es ist, in Zukunft die Lunge von Patienten mithilfe von Synchrotronstrahlung ultrahochauflösend bei gleichzeitig niedriger Strahlendosis zu untersuchen, um somit Lungenerkrankungen früher und besser zu diagnostizieren. Zu den im letzten Förderzeitraum zählenden Ergebnissen zählen eine deutliche Verbesserung der Bildqualität bei gleichzeitiger Reduktion der Strahlendosis im März und Juli 2023 (Albers et al., 2023; Dissertation Willi Wagner; doi.org/10.53846/goediss-9971), die Konstruktion eines neuen Rotationstisches für Patientengewicht im Mai 2023 (Dullin et al., 2023) und die Einführung eines neuen Synchrotron-spezifischen Phantoms für frische Lungen auf humaner Größenskala im Januar 2024 (Dullin et al, Eur Res J 2024; DOI: 10.1183/13993003.01604-2023). Eine klinische Bildgebungsstudie befindet sich in der Plaungsphase.

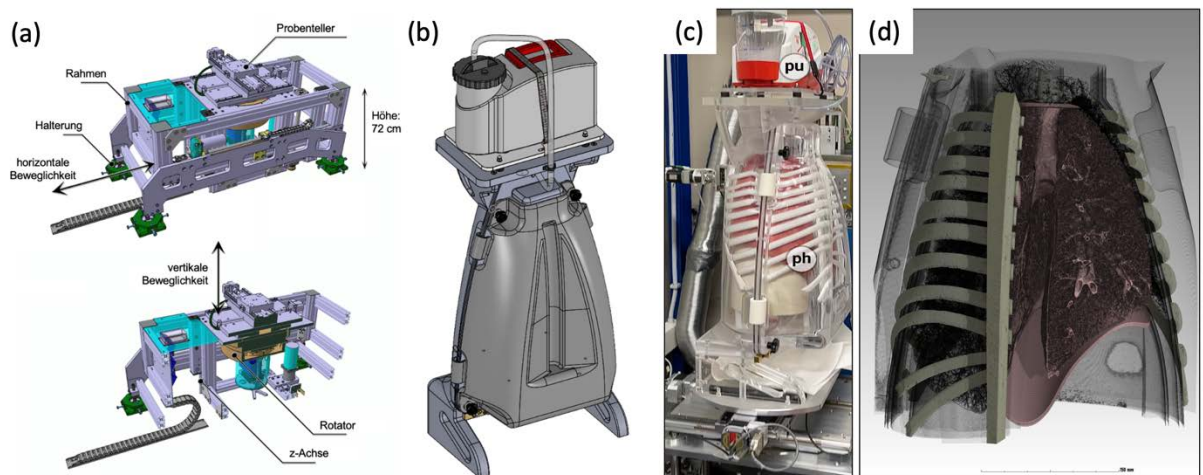


Abbildung: Konstruktion und Implementierung eines spezifischen Phantoms für zur Erforschung der Synchrotronstrahlen-Basierten CT der frischen Lunge auf humaner Größenskala. (a) Plan des neuen Rotationstisches für Patientengewicht. (b) Plan des Phantoms. (c) Neues Phantom auf dem neuen Rotationstisch am Teilchenbeschleuniger. (d) CT-Volumenrekonstruktion einer frischen Lunge im Phantom.

PLI-4: Zentrale Koordinierungsaktivitäten der PLI

Koordination, Validierung und Interpretation verschiedener quantitativer Bildgebungs-biomarker ist Aufgabe der zentralen Koordinierungsstelle der PLI

AG Biederer / Kauczor

Im 2021 wurde in Zusammenarbeit mit dem TLRC Datenmanager erreicht, dass die YACTA-Auswertungsergebnisse zu Bilddaten für MRCOPD-I und MRCOPD-II der multizentrischen Cosyconet Studie als neue Datenquellen für das DWH zur Verfügung stehen. Es war darüber hinaus möglich die primär getrennt gehaltenen Datenbestände aus klinischen Daten (Gießen) und Auswertungsergebnissen zu Bilddaten (Heidelberg) der Cosyconet Studie erstmals im DWH miteinander zu verknüpfen.

In 2022, wurde Zusammen mit den PLI Kollegen in Hannover im Rahmen des 10. International Workshop in Pulmonary Functional Imaging (<https://www.iwpfi2022.com>) der diesjährige DZL PLI Workshop vom 15-17 September in Hannover organisiert. Prof. Kauczor wurde bei diesem Workshop mit dem John West Award for pulmonary functional imaging ausgezeichnet

In 2023 wurde im Rahmen des PLI Workshop 2023 in Lübeck ein Konsens zum Minimaldatensatz radiologischer Parameter für das DWH erarbeitet. Jeder Standort ist aufgrund der unterschiedlichen Infrastrukturen für die Umsetzung der Übermittlung von retrospektiven und prospektiven Daten verantwortlich. Die Umsetzung dieses aufwendigen Vorhabens wird in 2024 fortgeführt.

Anschubfinanzierung (2022), AG Weinheimer: Personalisierte Kalibrierung der quantitativen Computertomographie für chronisch obstruktive Lungenerkrankungen mit Hilfe eines Miniphantoms

Zwecks Reduktion der Anfälligkeit der quantitativen CT (QCT) gegenüber internen (patientenbezogenen) und externen (technischen) Einflüssen untersuchen wir den Einsatz und Nutzen eines Mini-Phantoms. Das eingesetzte Mini-Phantom wurde mit einem 3D Printer gedruckt und kann mit einem Patienten gescannt werden (Henry Guo et al., Journal of Applied Clinical Medical Physics, 2021) ohne die Qualität der CT Bilder zu beeinflussen. Die Auswertungen des Mini-Phantoms sollen in Zukunft helfen, die Qualität eines CTs besser beurteilen zu können. Außerdem werden Algorithmen zur Bildverbesserung entwickelt. In der Thoraxklinik Heidelberg wurden 120 Patienten mit dem Mini-Phantom, platziert auf dem

Brustkorb des Patienten, innerhalb der klinischen Routine gescannt. Zusätzlich wurden experimentelle CT Aufnahmen mit neuen Photon Counting CT Scannern in der Universitätsmedizin Mannheim (UMM) und im Universitätsspital Zürich (USZ) angefertigt. Die Algorithmen zur automatischen Detektion und Auswertung des Mini-Phantoms wurden weiterentwickelt und eine erste Auswertung der Daten aus Thoraxklinik Heidelberg läuft. Alle Algorithmen sind in die CT-Auswertesoftware YACTA integriert. Erste Ergebnisse wurden auf DZL Jahresmeeting 2022 und 2023 und auf dem IWPFI 2022 vorgestellt eine Publikation ist in Bearbeitung.

– **Notwendigkeit und Angemessenheit der Projektarbeiten**

Lungenerkrankungen stellen ein weltweit signifikantes Gesundheitsproblem dar. Die WHO listet vier Lungenerkrankungen unter den ersten zehn Todesursachen. Sie sind damit etwa für ein Sechstel aller Todesfälle verantwortlich. Die ERS schätzt, dass die resultierenden indirekten Kosten allein für Westeuropa mehr als 380 Milliarden Euro betragen. Diese Kosten sollen zukünftig noch steigen. Für die meisten Lungenerkrankungen gibt es jedoch lediglich Behandlungen, die die Symptome bessern. Solche, die zur Heilung führen, fehlen oftmals. Daher ist es angemessen und notwendiger denn je, durch Forschung neue Ansätze zur Bekämpfung von Lungenerkrankungen zu entwickeln – insbesondere Optionen für Prävention, Diagnose und Therapie. Das DZL ist ein Zusammenschluss von führenden Institutionen Deutschlands, die sich der Lungenforschung widmen. Mit seiner Mission, translational zu forschen, um weitverbreitete Lungenerkrankungen zu bekämpfen, strebt das DZL an, gemeinsam neue Ansätze für Prävention, Diagnose und Therapie schwerer Lungenerkrankungen zu entwickeln. Die Gesamtschau der oben dargestellten Ergebnisse zeigt, dass das DZL hierzu einen signifikanten Beitrag geleistet hat.

– **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 Effekten veranlasst hätten.
Falls ja, bitte auflisten.

– **Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse nach Nr. 5 der NABF**

Siehe Appendix 2.

III. Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms

- Kooperation von insgesamt **29 führenden deutschen Forschungseinrichtungen** an den fünf DZL-Standorten (ARCN, BREATH, CPC-M, TLRC, UGMLC) und durch Anbindung weiterer Institutionen, Kohorten und Register als assoziierte DZL-Partner (BIH, CAPNETZ-Stiftung, COSYCONET, NAKO, PRI, PROGNOSIS, PROGRESS, RKI)
- Einbindung von über **270 forschenden Wissenschaftlerinnen und Ärzten** in das DZL-Netzwerk
- **18 DZL-finanzierte Professuren und Nachwuchsgruppenleitungen**; davon 33 % weiblich
- DZL-finanzierte **Beschäftigung von 528 Personen** (315 VZÄ im Jahr 2022); davon 71 % weiblich
- Mehr als **1.400 hochrangige Publikationen mit Impact Factor > 10** in wissenschaftlichen internationalen Journalen der Lungenforschung und für die Lungenforschung relevanten wissenschaftlichen Journalen der Grundlagenforschung (*peer-reviewed*) seit der Gründung des DZL
- Über **50 Patente** aus DZL-mitfinanzierten Projekten
- Beteiligung von DZL-PIs an mehr als **300 klinischen Studien** aller Phasen (I-IV)
- Kooperationen von DZL-PIs mit rund **300 internationalen Industriepartnern** in den Bereichen der Grundlagen-, Translationalen und Klinischen Forschung
- Assoziierung großer **Thorax-Kliniken** (ARCN, TLRC, CPC-M)
- Erfolgreiche **Rekrutierung von international ausgewiesenen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern** aus dem In- und Ausland
- Durchführung von **Jahrestreffen** mit bis zu 600 Lungenforscherinnen und -forschern
- **Förderung aus kompetitiven Mitteln** für frühe klinische Studien (*investigator initiated*) und zur Erstellung von Anträgen für solche Studien beim DZL und weiteren öffentlichen Förderern (BMBF, DFG)
- Erreichen der vollen **Betriebsfähigkeit des zentralen DZL Data Warehouse** als Voll-Implementierung eines zentralisierten, automatisierten, pseudonymisierten Patienten-, Biomaterial-, und Bilddaten-Registers mit einheitlichen SOPs
- Einschluss von **mehr als 40.000 Patientinnen und Patienten** mit mehr als 5 Mio. Parametern auf Grundlage von **harmonisierten Broad Informed Consents** im Bereich der Erwachsenen- und Kinder-Pneumologie
- Volle Implementierung der **DZL Academy** als erfolgreiche Superstruktur eines Ausbildungs- und Karriereentwicklungsprogramms für Doktoranden, Post-Doktoranden und Nachwuchsgruppenleitungen mit mehr als **400 angemeldeten Fellows**
- **DZL-Öffentlichkeitsarbeit** mit interner und externer Kommunikation durch **Online-Portal** (www.dzl.de) mit **über 400 News** seit Gründung), halbjährliche **Newsletter** („DZL Inside“ mit fast 700 Empfängern) und Social Media (u. a. **LinkedIn mit mehr als 1.200 Followern**)
- Bereitstellung aktueller, leicht verständlicher und unabhängiger Informationen für Patientinnen und Patienten und deren Angehörigen über den **Lungeninformationsdienst** des

DZL durch Online-Portal (www.lungeninformationsdienst.de mit **etwa 160.000 eindeutigen Besucherinnen und Besuchern pro Monat**), Social Media (u. a. Facebook mit **rund 4.900 Followern**), **Patientenveranstaltungen** und Publikationen (z. B. **Fact Sheets**)

- **Vernetzung der Deutschen Zentren der Gesundheitsforschung** im Bereich der übergeordneten strategischen Aufgaben (DZG Board und Forum, virtuelle DZG Geschäftsstelle), gemeinsamer wissenschaftlicher Projekte (AGs, **DZG Innovation Fund**) und Public Relations (u. a. **DZG-Magazin Synergie**, Patientenbeteiligung)

Im Bereich der **Translation** (vom Forschungsergebnis zum Patienten) wurden in der dritten Förderperiode (DZL 3.0/2021–2023) exemplarisch folgende Ergebnisse erzielt:

- ***Krankheitsbereich Asthma & Allergie:*** Identifizierung von B-Zellen als Schlüsselakteure in der Asthma-Pathogenese; Charakterisierung von Typ-2-Entzündungen nach Alter und Prüfung von Medikamenten gegen Typ-2-Entzündungen für die Behandlung von Vorschulkindern mit Asthma; Adressierung der Inflammation/IL-1-Zytokin-Achse durch zwei neuartige therapeutische Inhibitoren; Optimierung des Basophilen-Aktivierungstests als diagnostisches Werkzeug; Identifikation entzündungshemmender Mechanismen der subkutanen allergenspezifischen Immuntherapie in den Atemwegen; Identifizierung eines Serum-Neo-Epitop-Biomarkers.
- ***Krankheitsbereich Chronisch Obstruktive Lungenerkrankung (COPD):*** Epidemiologische Untersuchungen zu Risikofaktoren und Interaktionen bei COPD-Multimorbidität; Identifikation des Oxysterol-Metabolismus, der Lymphotoxin-Signalkaskade, der Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) und der NADPH-Oxidase Organisationsfaktor 1 (NOXO1) als vielversprechende therapeutische Targets; Entwicklung und Validierung der 2D- und 3D-Phase-Resolved Functional Lung Imaging (PREFUL) für die klinische Anwendung; Nutzen-Nachweis für den Anti-IL-33-Antikörper Itepekimab für ehemalige Raucherinnen und Raucher mit COPD.
- ***Krankheitsbereich Cystische Fibrose:*** DZL-weite Portfolio-Entwicklung von Biomarkern zur Bewertung der Expression und Funktion des CFTR sowie nicht-invasiver Endpunkte zur quantitativen Bewertung der Lungenstruktur und -funktion bei CF einschließlich MRT; Identifizierung wesentlicher Elemente der Atemwegsdysbiose bei früher und fortgeschrittener CF durch die Etablierung einer umfassenden mikrobiellen Metagenomik- und Metatranskriptomik-Pipeline; Entwicklung neuartiger therapeutischer Ansätze mit Schwerpunkt auf der zellulären Präzisionstherapie; Translationale Studien zur Aufschlüsselung der komplexen Beziehung zwischen CFTR-Dysfunktion, Schleimstau, Atemwegs-entzündung und mikrobieller Infektion. Neuartige MRT-basierte semiquantitative Analysen der Beurteilung der Nasennebenhöhlen von Geburt bis ins Erwachsenenalter. Erstmalige Visualisierung und Quantifizierung der systemischen Perfusion der Lunge (Bronchialarterien) mittels zeitaufgelöster MRT; quantitative Erfassung von Therapie-Effekten.
- ***Krankheitsbereich Pneumonie & Akutes Lungenversagen:*** Neuartige Konzepte zur Impfstoffentwicklung gegen bakteriell-induzierte Pneumonien; Entwicklung innovativer zellbasierter Immuntherapien mithilfe iPSC-abgeleiteter Makrophagen; Nachweis der Gewebereparatur durch bronchioalveoläre Stammzellen (BASCs) und Entwicklung komplexer bronchioalveolärer Lungenorganoide; Phänotypisierung von COVID-19 auf Einzelzellenebene und Bildgebungsbasiert; Entwicklung und Nutzung humaner *ex vivo/in vitro* (Lungenorganoide; hPCLS) und *In-vivo*-Mausmodelle: Arbeiten zur Epithel-Immunzell-Interaktion, CD136+-Lungenmakrophagen, vaskulären Angiogenese, Glykokalix-Schädigung von Endothelzellen; Klinische Studien zu inhalativem liposomalem Cyclosporin A (Phase-II), inhalativem GM-CSF (II), Trimodulin (III) und der Wirkung der Plasmapherese bei Sepsis; zahlreiche weitere Arbeiten u. a. zu COP/Fibrose und immunologischen Langzeitveränderungen nach COVID-19 sowie Biomarkern (2 Patente), Epidemiologie, Risikofaktoren, Mikrobiologie und Management der CAP.

- *Krankheitsbereich Interstitielle Lungenerkrankung:* Genexpression von BAL-Zellen als Marker für den Verlauf und die Beteiligung von Basalzellen der Atemwege bei der idiopathischen Lungenfibrose nachgewiesen; Nachweis eines Übergangszustands von Stammzellen (Krt8+) bei der Alveolaren Regeneration und dessen Persistenz bei Lungenfibrose; Nutzung der metformin-induzierten lipogenen Differenzierung in Myofibroblasten zur Umkehrung der Lungenfibrose; früher Nachweis der Broncho-Pulmonalen Dysplasie mittels neuartiger Biomarker durch proteomisches Screening; Nachweis der Progressionsabschwächung bei Patienten und Patientinnen mit progressiver fibrotischer interstitieller Lungenerkrankung durch Pirfenidon (Phase-IIa).
- *Krankheitsbereich Pulmonale Hypertonie:* Aufklärung epigenetischer Mechanismen bei pulmonaler Hypertonie und Entwicklung neuartiger Interventionsstrategien (u. a. lange nicht-kodierende RNAs); Adressierung der Dysregulation zentraler nachgeschalteter Signalmoleküle, die die Umgestaltung der pulmonalen Blutgefäße vorantreiben (u. a. CDKs, RASSF1A-HIF-Achse, NFkB, FOXO, iNOS, NOXO1, NO-cGMP-Pfad); Klinische Studien u. a. zu Sotatercept (Phase-II/III) und Seralutinib (II); Nutznachweis von inhalativem Iloprost auf Rechtsherz-Kontraktilität (Initiation zu Patent für „spray in the pocket“).
- *Krankheitsbereich Lungenerkrankungen im Endstadium:* Bedeutende Fortschritte bei der Definition der Rolle verschiedener gewebsresidenter Stamm- und Vorläuferzellen in der Lungenbiologie und -krankheit und zum Einsatz humaner induzierter pluripotenter Stammzellen (hiPSC) und primärer muriner Stammzellen für zell- und organoid-basierte Therapien, biohybride Organe, bioingenieurwissenschaftliches Lungengewebe und Krankheitsmodellierung; erfolgreiche Anwendung von ECMO/ECCO2R in der Unterstützung von Patientinnen und Patienten mit schwerem COVID-19-ARDS sowie in der Vorbereitung und Durchführung von Lungentransplantationen; Erfolgreiche LTx bei Kindern und 12 Jahren; Erforschung der Auswirkungen von Hyperkapnie auf endständige Lungenerkrankungen und Nutzung von Nierenersatztherapieplattformen als effiziente Mittel zur ECCO2R; Identifizierung von Cathepsin B als Biomarker u. a. bei humaner CLAD und harmonisierter Kriterien für die Definition von CLAD; multizentrische Studien zur Sicherheit und Effektivität von Immunsuppression durch virales Monitoring bei LTx; Nachweis der protektiven Rolle von *antigen-primed* regulatorischen T-Zellen im Tiermodell und der Klinik.
- *Krankheitsbereich Lungenkrebs:* Klinische Studie zur Heterogenität und Bewältigung von Medikamentenresistenzen bei molekular definiertem Lungenkrebs (Phase II); Untersuchungen zur Vorhersage der Immuntherapieantwort bei Lungenkrebs; Untersuchung der zellulären Interaktion und Signalwege als zentrale Merkmale des Tumor-Mikroenvironments und ihres therapeutischen Nutzen; Adressierung gemeinsamer und unterschiedlicher pathogenetischer Mechanismen von Komorbiditäten und Lungenkrebs; bildbasierte Erfassung und Quantifizierung von Komorbiditäten; Entwicklung und Beteiligung an Strategien der Krebsfrüherkennung durch Populationsscreenings; Implementierung von Pilotprojekten zum Lungenkrebsscreening.
- *Plattform Biobanking & Datenmanagement:* Vollständige Implementierung des DZL Data Warehouse als zentralisiertes, automatisiertes, pseudonymisiertes Register für Patienten-Forschungsdaten und -Bioproben mit einheitlichen SOPs; Bereitstellung hochwertiger Proben und Daten, Einschluss von > 40.000 Patientinnen und Patienten mit > 5 Mio. Parametern auf Grundlage von harmonisierten *Broad Informed Consents* im Bereich der Erwachsenen- und Kinder-Pneumologie, einschließlich Follow-Ups von mehr als 5.000 COVID-19-Patienten und -Patientinnen; Entwicklung eines harmonisierten Katalogs klinischer Parameter.
- *Plattform Imaging:* Wesentliche Verbesserung des Verständnisses der Atemwegsstruktur durch den Einsatz fortgeschrittener mikroskopischer Techniken, u. a. Identifikation von epithelialen Bürstenzellen in den Atemwegen und Lipofibroblasten in der humanen Lunge sowie der Visualisierung von Nanopartikelverteilungen in der gesamten Mauslunge oder des Mucus-Transports im Menschen; Etablierung von Machine Learning und AI in den Bereichen von phänotypischen Wirkstoff-Screening-Plattformen und integrierter Multi-

Omics- und quantitativer Mikroskopie-Anwendungen; Einsatz von MRI als strahlungsfreie Bildgebungstechnologie bei Patienten und Patientinnen mit CF und COPD zur Früherkennung und Verlaufskontrolle; erfolgreiche Anwendung der Niedrig-Dosis-CT zum Lungenkrebs-Screening; Nachweis von Veränderungen im bronchialen und pulmonalen Gefäßsystem bei COVID-19-Patientinnen und -Patienten. Entwicklung und Translation neuer CT- und MRT-basierter Biomarker für CF, DPLD, LC, COPD, PH, ALI (COVID); strukturierte Erfassung von Befunden und Meta-Daten, erstmaliger Einsatz von „natural language processing (NLP) zur automatischen Extraktion von radiologischen Befunden aus Freitext-Inhalten zur Kategorisierung, insbesondere bei Lungenkrebs und -Embolie.

2. Kurzfassung der wissenschaftlich-technischen Ergebnisse des Vorhabens, die erreichten Nebenergebnisse und die gesammelten wesentlichen Erfahrungen

Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD)

- Im Atemwegsmikrobiom können Pulmotypen identifiziert werden, die bei unterschiedlichen Krankheitsbildern (CF und COPD) auftreten, sich aber bezüglich der immunologischen Ausprägung (Entzündungsmarker) unterscheiden (COPD-2.1)
- Nachweis im Mausmodell, dass die starke Verschleimung der Atemwege durch eine epigenetische Umprogrammierung von Atemwegsmakrophagen zur chronischen Entzündung der Atemwege beiträgt und die Symptome von Patienten mit Mukoviszidose und COPD verschlimmert (COPD-2.3)
- Nachweis, dass die aus der humanen Situation bekannten quantitativen Parameter auch im Mausmodell zur Charakterisierung von Atemwegsveränderungen und dem Lungenemphysem geeignet sind (umgekehrte Translation), und auch Therapieeffekte durch den Knock-out der Neutrophilen Elastase messen können (COPD-4.2)
- Nachweis, dass sich in Patienten mit COPD die Wanddicke der Atemwege nur bis zum GOLD-Stadium II pathologisch verändern, während das Emphysem durchgängig über alle GOLD-Stadien zunimmt (COPD-4.3)
- In Kooperation mit der Firma Boehringer Ingelheim wurde eine automatisierte Auswertung der MRT-Perfusionsdaten entwickelt und etabliert, die nachfolgend für verschiedene Fragestellungen eingesetzt und publiziert wurde (COPD-4.3)
- Wir haben eine Deep Learning (DL) Methode zur Air Trapping Detektion und Quantifizierung in gepaarten inspiratorischen/ expiratorischen CT-Bildern entwickelt. Ein wichtiger Faktor zur Unterstützung des Radiologen, um pathologische Auffälligkeiten früh zu erkennen und zu behandeln (COPD-4.3).

Cystische Fibrose (CF)

- Nachweis erbracht, dass die Kombinationstherapie mit Elaxacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor über ein weites Altersspektrum hinweg die strukturellen Lungenveränderungen verbessert und bei Erwachsenen die Bronchialarteriendilatation partiell verbessert und so möglicherweise einen Einfluss auf die pulmonale Zirkulation hat (CF-1.2)
- Unsere Ergebnisse zeigen, dass die longitudinale Nasennebenhöhlen-MRT bei Kindern mit Mukoviszidose einen frühen Beginn und ein Fortschreiten des Schweregrads der chronischen Rhinosinusitis sowie ein Ansprechen auf die Lumacaftor/Ivacaftor-Therapie erkennt (CF-1.2)
- Nachweis, dass bei CF-Patienten eine mit kommensalen Bakterien einhergehende höhere Diversität sowie eine höhere mikrobielle Volatilität/Dynamik in den unteren Atemwegen mit einer geringeren Entzündungsreaktion assoziiert sind (CF-2.2)

- Identifikation von kommensalen Bakterien mit entzündungsmodulierenden Eigenschaften für pathogene Erreger bei CF (CF-2.2)
- Nachweis, dass die Triple Therapie Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor bei Patienten mit Mukoviszidose die Bakterienlast und die relative Häufigkeit von *P. aeruginosa* bereits nach dreimonatiger Anwendung mit einer langanhaltenden Wirkung reduziert (CF-2.2)
- Nachweis erbracht, dass Lumacaftor/Ivacaftor die F508del-CFTR-Funktion bei Kindern mit Mukoviszidose, die homozygot für F508del sind, im Alter von 2-11 Jahren teilweise wiederherstellt, und zwar auf ein Niveau der CFTR-Aktivität, dass bei Patienten mit CFTR-Varianten mit Restfunktion zu beobachten ist (CF-6.1)
- Ersten Daten weisen darauf hin, dass die Besiedlung mit dem CF-typischen Erreger *S. aureus* die Entzündungsaktivität in den oberen Atemwegen hochreguliert und dadurch möglicherweise die für chronische Rhinosinusitis charakteristischen morphologischen Veränderungen beeinflusst. Die Entzündung der Nasennebenhöhlen steht in einem positiven Zusammenhang mit strukturellen Anomalien im MRT (CF-6.2)

Pneumonie und akutes Lungenversagen (ALI)

- Ein unilaterales ARDS Schweinmodell wurde erfolgreich etabliert. Mit dem Modell werden im Verlauf der DZL4.0 Förderphase verschiedene Ventilationsstrategien getestet, um eine Konzept für eine multizentrischen klinische Studie zur Bewertung der mit dem Schweregrad verbundenen Veränderungen von extrazellulären Vesikeln in verschiedenen Subphänotypen des akuten Lungenversagens / ARDS zu entwickeln und durchzuführen (ALI).
- Für die prospektive, randomisierte Tubomic-Studie, die anhand einer Mikrobiom-untersuchung zwei unterschiedliche Tubussysteme miteinander vergleicht wurde 44 von 50 Patienten bisher rekrutiert. Die Mikrobiomauswertung wird in 2024 abgeschlossen.

Interstitielle (Diffuse Parenchymale) Lungenerkrankung (DPLD)

- Sauerstoffschäden in der sich entwickelnden Mauslunge führen zu einer dramatischen Umstrukturierung der entzündlichen, mit besonderen und für die Pathogenese relevanten Auswirkungen auf Lungenmakrophagen und Eosinophile. Die Auswirkungen der Sauerstofftoxizität auf die Makrophagen schaffen ein günstiges Umfeld für die virale Replikation. (DPLD-1.3)
- Lungenendotheliales FoxO1 und microRNA-497 werden durch Sauerstoffschäden in der sich entwickelnden Lunge dereguliert, allerdings in verschiedenen Lungenkompartimenten: FoxO1 im Gefäßendothel und microRNA-497 im Lungenepithel. Unsere vorläufigen Daten zeigen, dass sowohl die FoxO1- als auch die microRNA-497-Deregulierung pharmakologisch korrigiert werden kann und experimentelle Arbeiten werden in nächster Zukunft die Verfeinerung von Interventionsansätzen zu diesem Zweck beinhalten (DPLD-2.3)
- Fibroblasten-microRNA-29c und microRNA-135b wurden als pathogene Regulator der extrazellulären Matrixproduktion und des Umbaus in sauerstoffgeschädigten sich entwickelnden Mäuselungen validiert. Sowohl microRNA-29c als auch microRNA-135b können pharmakologisch beeinflusst werden. Wie bei jeder verallgemeinerten microRNA-Inhibition erfordern die Off-Target-Effekte, dass sich experimentelle Studien in der unmittelbaren Zukunft auf die Verbesserung der Spezifität des Eingriffs konzentrieren, wofür wir die Target-Site-Blocker-Technologie einsetzen wollen (DPLD-3.7)
- 3D-Mikroskopie mit stimulierter Raman-Streuung wurde eingesetzt um die optimalen Haft Eigenschaften von Pektin auf Organoberflächen und deren Hydratationsgrad zu ermitteln. Diese Erkenntnisse sind vor allem für die Wundheilung von Bedeutung, da die strukturellen und physikalischen Eigenschaften dieses Hydrogelnetzes stark von seinem Wassergehalt abhängen (DPLD-4.3)

Pulmonale Hypertonie (PH)

- Wir zeigten, dass eine Eisenüberladung eine pulmonale arterielle Hypertonie in einem Mausmodell mit genetischer Eisenüberladung als Folge einer Mutation im Hepcidin/Ferroportin Regulationssystem verstärkt (PH-3.1))
- Wir etablierten hypochrome Erythrozyten als prognostischen Marker in Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie (PH-5.8)
- Wir zeigten, dass BMPR2-Mutationen nicht den Eisenmangel bei Patienten mit pulmonaler arterieller Hypertonie erklären (PH-5.8)

Lungenkrebs (LC)

- Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles reprogrammieren die Tumormikroumgebung und verzögern ein Rezidiv des Lungenkarzinoms nach Crizotinib Behandlung (LC-1.1)
- Die gezielte Erstellung von Genexpressionsprofilen in Routinebiopsien von Lungenkrebs zeigt wichtige Merkmale der Mikroumgebung des Tumors auf und deutet auf mögliche Angriffspunkte von Immunmodulatoren in bestimmten Fällen hin. (LC-1.2)
- Eine geringere Anzahl zytotoxischer Zellen in EGFR-mutierten Tumoren, eine geringere Anzahl von Th1-Zellen speziell Exon 20 mutierten Fällen sowie spezifische Genexpressionsprofile deuten auf einen möglichen Effekt von Immunmodulatoren bei der Behandlung von Lungenkrebs hin. (LC-1.2)
- Darstellung der direkten klinischen Relevanz des weit verbreiteten Einsatzes von insuffizienter PCR-Kits für den molekulardiagnostischen Nachweis von EGFR-Exon-20-Insertionsmutationen und der Überlegenheit von NGS-Ansätzen (LC-2.1)
- Identifizierung von Genexpressionsmustern, die mit TP53-Mutationstypen assoziiert sind, und als prädiktive Marker für Immuntherapie und zielgerichtete Therapien relevant sein können. (LC-2.4)
- Nachweis einer starken Assoziation zwischen der Entwicklung von T790M Mutationen und komplexen genetischen Biomarkern, der Tumorploidie und Markern der Subklonalität von unbehandelten Tumoren, was potentiell zur Verbesserung von Prognosemodellen bei NSCLC Patienten beitragen könnte (LC-2.1)
- In der Analyse von 5.554 NSCLC-Patienten wurden seltene Fusionen (z.B. EGFR, MET) bei NSCLC in 0,5% der unbehandelten und 2% der mit TKI behandelten Tumoren gefunden, welche die Diagnose verbessern bzw. therapeutisch relevante Informationen liefern. (LC-2.4)
- Die von uns entwickelte FAPI-PET/CT-Bildgebung ist eine vielversprechende neue Bildgebungsmodalität für fILD und LC. Ihr potenzieller klinischer Wert für die Überwachung und Therapiebewertung von fILD sollte in zukünftigen Studien untersucht werden (LC-3.3)
- Das von uns im Verlauf von DZL3.0 entwickelte 68Ga-FAPI-PET ist ein leistungsstarkes, neues Werkzeug zur Beurteilung einzelner 18F-FDG-negativer Lungenläsionen, dass die Patientenstratifizierung in diesem klinischen Umfeld ermöglicht (LC-3.3).
- Nachweis erbracht, dass die Malignitätswahrscheinlichkeit eines entdeckten Rundherds in der Computertomographie auch mit quantitativen Markern des Lungenemphysems korreliert. Dieser Befund könnte die Vorhersagewahrscheinlichkeit im Rahmen eines Lungenkrebs-screenings weiter verbessern (LC-3.3)
- Nachweis erbracht, dass KI-gestützte Tools zur Malignitätsvorhersage inzidenteller Rundherde durch die angewendete CT-Dosis beeinflusst werden, dabei zu klinisch relevant

unterschiedlichen Ergebnissen kommen und daher das weitere Management unterschiedlich beeinflussen können (LC-3.3)

- Vorbereitung eines Lungenkrebscreening-Programms, Verfahren zur Beurteilung des Malignitätsrisikos von Rundherden, automatische Erfassung von Komorbiditäten; Empfehlungen zum Umgang mit Zufallsbefunden (LC-3.3).

Plattform Imaging

- In einer retrospektiven Studie mit 53 Covid-19 Patienten haben wir aus einer Kombination von QCT-Parametern und Labor-Parametern ein Modell zur Vorhersage entwickelt, ob im Verlauf der Erkrankung eine invasive Beatmung nötig sein wird oder nicht (PLI-1.1)
- Die Entwicklung einer Software mit der die Herzkammern und Pulmonalarterien zu segmentieren und automatisch ihr Volumen zu bestimmen ist, konnten wir zeigen, dass die volumetrischen Ergebnisse unterschiedliche Gruppen von Patienten mit PH besser unterscheiden als einfache Messungen der Durchmesser (PLI-1.1)
- Entwicklung eines Score zur Thrombuslast mittels Data Mining der die deutlich einfacher berechnet werden kann als der allg. angewandte Qanadli Score und eine zumindest semiquantitative Abschätzung der Thrombuslast in der Diagnostik der Lungenembolie ermöglicht (PLI-1.1)
- Zur Unterstützung des MRT-basierten Perfusionsscorings der Lunge bei Mukoviszidose wurde eine erste auf Convolutional Neural Networks (CNN) basierende Netzwerkarchitektur zur automatischen Bestimmung des Perfusionsscores entwickelt und evaluiert und ein Tool zur Visualisierung des Scorings entwickelt (PLI-1.1)
- Entwicklung von deep natural language processing (NLP) Modellen (ChatGPT, GPT-4) zum Datamining, um aus strukturierten und Freitext Berichten, automatische Krebsdiagnosen, Staging und Therapieansprechen zu extrahieren (PLI-1.2).
- Die Untersuchung des Komorbidom und das Pulmorbidom bei COPD Patienten in der COSYCONET Kohorte unter dem Aspekt geschlechtsabhängiger Unterschiede, identifizierte bei Männern die Diffusionskapazität und die Überblähung und bei Frauen Überblähung als signifikante bildbasierte Prädiktoren (PLI-1.5)
- Erstellen eines KI-Algorithmus („Smoother“) der anderen Methoden für die Rauschreduktion im Rahmen der CT-Erwerbung für Lungenentzündungen, überlegen ist (PLI-1.6)
- Die Nedd4-2 Maus zeigt radiologische IPF-ähnliche Merkmale während der progressiven Krankheitsentwicklung, und Schlüsselmerkmale wie honigwabenartige Zysten (PLI-2.2)
- Entwicklung eines neuen Arbeitsablaufs zur räumlichen 3D-Korrelation des Phasenkontrast micro-CT, Histologie und Rasterkraftmikroskopie an FFPE-Lungengewebe. Dieses Verfahren ist mit FFPE-Proben aus diagnostischen Biopsien kompatibel und beeinträchtigt den etablierten diagnostischen Arbeitsablauf nicht, so dass eine zusätzliche detaillierte 3D- und mechanische Charakterisierung des Patientenmaterials möglich ist. Darüber hinaus ist diese Methode ein geeigneter Indikator für das therapeutische Ansprechen auf Medikamente oder genetische Eingriffe (PLI-2.4)

Im Rahmen der DZL3.0 Förderperiode haben die DZL Wissenschaftler des UKHD insgesamt 298 Publikationen veröffentlicht, davon 278 (93%) mit Nennung der DZL Affiliation, was aufgrund von Journal Vorschriften bzw. Begrenzung der Anzahl Affiliationen nicht immer möglich ist. Unsere zahlreichen - größtenteils im Open-Access-Verfahren herausgebrachten - Publikationen stehen der wissenschaftlichen Community zur Verfügung und bilden die Grundlage für darauf aufbauende Forschungsprojekte.

3. Fortschreibung des Verwertungsplans.

- **Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen** und erteilte Schutzrechte (eigene oder andere, die in Anspruch genommen wurden), sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u.a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten

Patentnummer EP20210176.2 (27.11.2020): „Nanoparticles comprising iron oxide particles embedded in polymeric micelles“ (Gleichberechtigte Erfinder: Martina Muckenthaler, Matthias Hentze, Natalie Horvarth, Tobias Bauer, Matthias Barz; LC-1.1).

- **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).
 - Wir haben eine künstliche Intelligenz-assistierte Auswertung der MRT der Mukoviszidose (zystische Fibrose, CF) entwickelt, auf Basis derer wir für weiterführende Arbeiten zusätzliche Drittmittel einwerben konnten (Mukoviszidose e.V (20.000€); Vertex Innovation Fund (400.000€))
- **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.
 - Die von uns veröffentlichten Informationen zu quantitativen CT-Parametern wurden in die Stellungnahmen der Fachgesellschaften als notwendige Maßnahme bei interventioneller Emphysembehandlung aufgenommen (COPD-4.4)
 - Eine potenzielle Weiterentwicklung ist die Anwendung des KI-basierten Algorithmus auf die niedrig-dosierten CT-Bilder im Rahmen des nationalen Lungenkrebs-screening (PLI-1.6).
 - Die in DZL3.0 erreichte Weiterentwicklung der superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel für eine zukünftige Anwendung in der Klinik waren die Voraussetzung für einen DFG-Forschungsantrag (LC-1.1).
 - Entwicklung eines RNA-basierten Classifiers zur Differenzierung zwischen einem pulmonalen Primarius und einer pulmonalen Metastase eines extra-pulmonalen Primarius der den DZL Standorten zur Verfügung gestellt wird (LC-2.1)
 - Inzwischen hat das von uns entwickelte FAPI-PET/CT weltweit Anerkennung gefunden (seit unseren Erstpublikationen in 2018 bisher 790 Publikationen, Stand 24.1.24) und wird bereits von vielen Institutionen für die onkologische Bildgebung aber auch für kardiologische und rheumatologische Erkrankungen und Fibrosen eingesetzt. Inzwischen gibt es mehrere Publikationen, die beim NSCLC eine Überlegenheit des FAPI-PET/CT gegenüber dem etablierten Tracer FDG zeigen (LC-3.3).
 - Aufbauend auf unseren Arbeiten zum Lungenkrebscreening haben wir mit den entsprechenden europäischen Fachgesellschaften in zwei Taskforces intensiv an Empfehlungen gearbeitet, einerseits zum Management of incidental findings (MILCA), andererseits zu den technischen Standards für Lungenkrebscreening (LC-3.3).
 - Implementierung von Lungenkrebscreening Pilotprogrammen in verschiedenen europäischen Ländern (SOLACE-Projekt), Förderung im EZ4 Health Programm, Gesamtfördervolumen 11 M€ (LC-3.3).

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

Grundsätzlich bilden die DZL3.0 Arbeiten und Ergebnisse die Grundlage für das DZL4.0 Forschungsprogramm. Insbesondere die in DZL3.0 für diverse Lungenerkrankungen fortgeführte Sammlung von Bioproben und klinischen Daten bilden die Basis für zahlreiche neue Projekte. Im Folgenden ausgewählte Entwicklungen von Technologien und / oder Modelle, die in DZL3.0 entwickelt wurden und zum Erreichen der DZL4.0 Meilensteine wesentlich beitragen werden.

- Fortentwicklung und Harmonisierung der Atemwegs Mikrobiom/Metagenom Analyse Pipeline für standortübergreifende Projekte.
- Erweiterung der mikrobiologischen Biobank für CF zur Durchführung weiterer Studien in der DZL4.0 Förderperiode.
- Entwicklung einer translationalen Mikrobiomforschungsplattform und Ausweitung der Mikrobiomanalyse auf andere Krankheitsentitäten (CF, COPD, DPLD, AA)
- Entwicklung einer bioinformatischen Pipeline, um Determinanten virulenter und antimikrobieller Resistenz zu identifizieren die in der DZL4.0 Förderperiode Anwendung finden.
- Gründung der DZL-Arbeitsgruppe Mikrobiom/Metagenom und Durchführung von standortübergreifenden Fortbildungsaktivitäten zur Verbreitung und Harmonisierung der technologischen Werkzeuge für Mikrobiomanalysen.
- Das neu etablierte unilaterale ALI Schweinmodell wurde als Poster beim ATS Congress 2024 in San Diego vorgestellt. Ziel ist nun der Ausbau der Nutzung des Modells im DZL Netzwerk. Aktuell erfolgten bereits die Aufbereitung und anschließende Untersuchung von extrazellulären Vesikeln in Kooperation mit dem DZL-Standort Marburg.

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

AG Boutin/ Cheaib /Dalpke

Es zeigte sich, dass die AE-IPF-Studie für Mikrobiomstudien nicht verwendbar ist, da die empfohlenen Tupfer nicht in allen Zentren verwendet werden. Die verschiedenen Zentren verwendeten unterschiedliche Tupfer (Eswabs [wie empfohlen], Agarose-Tupfer oder gefrorene Tupfer), was zu einer technischen Verzerrung führte, mit der eine ordnungsgemäße Analyse des Mikrobioms nicht möglich war (DPLD-1.3)

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

Abweichungen zum ursprünglichen Ausgaben- und Zeitplan wurden vorgenommen um Anschubfinanzierung für neue Projekte bereitzustellen und um ein wichtiges Zellsortiergerät für knapp unter 200.000€ anzuschaffen. Diese wissenschaftlich begründeten Mittelverschiebungen, wurden durch entsprechende Umwidmungsanträge und Anzeigen vorab durch das Fördermittelmanagement am Helmholtz Zentrum München bewilligt.

Heidelberg den, 20.03.2024

Prof. Hans-Ulrich Kauczor (Projektleiter)

Anlage

- Appendix 1 Meilensteintabellen mit Verwertungskodierung
- Appendix 2 Publikationsverzeichnis

Appendix 1 Plattform Imaging Meilensteintabelle mit Verwertungskodierung

Meilensteinplan & Verwertungskodierung

Die Verwertungspläne lehnen sich im Einzelnen an die Vorhabenbeschreibungen und die Meilensteinpläne an, so dass im Folgenden für die geplante Verwertung in den Krankheitsbereichen in die Meilensteinpläne folgende **Kodierungen in Spalte VK** für unterschiedliche (wissenschaftliche und wirtschaftliche) Verwertungen eingetragen werden:

- 0 = keine direkte Verwertung
- 1 = Publikation
- 2 = Patentanmeldung
- 3 = Konzept zur Überführung in klinische Studien Phase I/II
- 4 = Durchführung einer zulassungsrelevanten Phase III-Studie
- 5 = Eingang in Leitlinien Diagnostik/Behandlung
- 6 = Ausgründung
- 7 = essentielle Infrastruktur (z.B. Biomaterialbank)

Meilensteinplanung COPD

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity **Microbiome-Metagenome/Single Cell Analysis/Lung Environment Interaction**

	2021				2022				2023				VK
COPD-1 Transition from lung health to COPD: Combining population-based and clinical cohorts including cohort-associated basic research and health economics (T, C) (funding: all DZL sites)													
COPD-1.1: Overarching assessments to study disease trajectories, driving mechanisms and predictors for transition from respiratory health to COPD and its progression in population-based (KORA, HCHS, NAKO) and clinical cohorts (COSYCONET-1 & -2) and data analysis including healthcare utilization and patient-reported outcomes (Bavarian DMP, BeoNet) .													
ARCN: Goldmann, Rabe, Watz, Waschki													
BREATH: Kuhlmann [Budget LC], Lingner													

CPC-M: Leidl, Schwarzkopf													
TLRC: Trinkmann, Herth													
UGMLC: Vogelmeier													
COPD-2 To elucidate the molecular mechanisms and biomarkers of preventing, treating and curing COPD (B,T) (funding: all DZL sites)													
COPD-2.1: Early life origins and subsequent risk factors, the identification of and validation to provide novel functional and mechanistic targets as well as study of the relationship between disease progression/severity with the lung microbiome													
ARCN: Fehrenbach, Goldmann, Krauss-Etschmann, Watz													
BREATH: Janciauskiene, Ringshausen													
CPC-M: Hilgendorff, Meiners, Yildirim													
TLRC: Boutin/Dalpke	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
UGMLC: Ahlbrecht, Morty, Schmeck, Weissmann													
COPD-2.2: Identify and functionally characterize age-related defective cell function, tissue repair capacity and epigenetic programming													
ARCN: Fehrenbach, Roeder													
CPC-M: Meiners, Yildirim													
UGMLC: Schmeck, Weissmann													
COPD-2.3: Utilizing cohorts (COSYCONET) for deep phenotyping of the immune response, disease progression and exacerbation													
BREATH: Hohlfeld, Holz													
CPC-M: Königshoff, Meiners													
TLRC: Paulsen, Plass	€	€	€	€									1
UGMLC: Kenn, Koczulla, Schmeck, Vogelmeier													

COPD-2.4: Innovative experimental (<i>Drosophila</i>) model systems will be utilized for genetic/genomic studies and analysis of compounds of interest													
ARCN: Krauss-Etschmann, Roeder													
CPC-M: Meiners, Yildirim													
COPD-3 Clinical trials: focus on trials with a high potential for innovation and translation (T) (funding: TLRC, CTB)													
COPD-3.1: COPD progression and adaptive immunity: targeting immunometabolism to reverse COPD Interventional treatment													
CPC-M: Yildirim													
UGML: Weissmann													
COPD-3.2: Interventional treatment													
TLRC: Herth, Heußel, Trinkmann													
COPD-3.3: Proof-of-concept study on inhaled surfactant preparation (BREATH and further DZL partners)													
BREATH: Hohlfeld													
COPD-4 Imaging biomarkers (T) (funding: BREATH, CPC-M, TLRC)													
COPD-4.1: Translation of established Imaging biomarkers for COPD													
ARCN: NN													
BREATH: Vogel-Claussen													
TLRC: Biederer, Heußel, Kauczor, Wielpütz	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
COPD-4.2: Novel MRI-based Imaging Biomarkers for COPD													
BREATH: Vogel-Claussen													
CPC-M: NN													

COPD-4.3: Machine Learning and Artificial Intelligence													
ARC�: NN													
BREATH: Vogel-Claussen													
CPC-M: NN													
TLRC: Biederer, Heußel, Kauczor, Wielpütz	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
COPD-4.4: Novel CT-based Imaging Biomarkers for COPD (TLRC and further DZL partners)													
TLRC: Biederer, Heußel, Kauczor, Wielpütz	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1,5
COPD-4.5: Darkfield radiography													
ARC�: NN													
BREATH: Vogel-Claussen													
CPC-M: NN													
TLRC: Biederer, Heußel, Kauczor, Wielpütz	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	0
UGMLC: NN													

Meilensteinplanung CF

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity Microbiome-Metagenome/Single Cell Analysis/Lung Environment Interaction

Milestone	2021	2022	2023	VK
CF-1: Multi-center pediatric and adult CF patient cohorts, biobanks, observational studies and investigator initiated trials				
CF-1.1: Observational studies on inherited and non-inherited risk factors of onset and progression of CF lung disease in TRACK CF and adult CF cohorts including longitudinal monitoring of quantitative outcome measures of lung structure and function (MRI, MBW and PFT) and collection and analysis of biomaterials (DNA, RNA, serum, airway samples) (T, C)				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-1.2: Observational study on response to therapy with emerging highly effective CFTR modulator drugs including elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor triple combination therapy (T, C)				
ARC�:				

BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-1.3: Clinical trial of CFTR modulator therapy in patients with CF who carry no disease-causing mutation in the coding and flanking intron regions of the CFTR gene (C)				
ARCN:				
BREATH:				
CPC-M:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	0
UGMLC:				
CF-1.4: Clinical trial to improve treatment of NTM (M. abscessus) pulmonary disease in CF patients (C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	0
UGMLC:				
CF-2: Elucidation of the pathogenetic role of the microbial airway metagenome in chronic lung disease				
CF-2.1: Continuous improvement of the airway metagenome pipeline (sampling, processing, sequencing, databases, data processing and evaluation) (B, T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Boutin	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-2.2: Assessment of the upper and lower airway microbiome in chronic airways diseases (CRS, CF, asthma, COPD, non-CF bronchiectasis) (B, T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Boutin/Dalpke/Cheaib	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-2.3: Implementation of a RNA sequencing platform for RNA viruses (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Boutin	€	€	€	7

UGMLC:				
CF-2.4: Development of protocols to identify virulence and antimicrobial resistance determinants (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Boutin	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-2.5: Development of protocols to identify clone types, subclonal variants and quasi species (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-2.6: Development of protocols to assess the replication of bacterial communities in human airways (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
ARCN:				
CF-2.7: Development of a software package to describe dysbiosis of chronic lung disease by machine learning classifiers, neural networks and deep learning approaches (B, T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-2.8: Optimization and standardization of a clinically applicable pipeline to perform metagenome analysis within a turnaround time from bed to bench and back to bed within less than 30 hours with cost-efficient sequencing-by-synthesis technologies and within a working day with nanopore sequencing (C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-2.9: Teaching and translation of the airway metagenome pipeline to DZL sites (T, C)				
ARCN:				
BIH:				

BREATH:				
TLRC: Boutin	€	€	€	7
UGMLC:				
CF-3: Evaluate modifier genes such as the alternative chloride channel SLC26A9 as modifiers and novel therapeutic targets of CF				
CF-3.1 Validation of hits from HTS drug screen (NIH approved drug library) for activation of SLC26A9 in CF cell lines, primary epithelial cultures and animal models (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-3.2: Validation of hits from HTS siRNA screen for activation of SLC26A9 in CF cell lines, primary epithelial cultures and animal models (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-3.3: Elucidation of the role of druggable kinases in SLC26A9 trafficking and regulation in CF model systems (B)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-3.4: Assessment of the haplotype and diagnostic variants of major genetic modifiers of CF in the German CF population (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-3.5: Set-up of a marker panel of diagnostic SNPs in CF modifier genes for major CF co-morbidities and the severity of CF lung disease (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				

CF-3.6: Prospective pilot study of genetic risk stratification in CF modifier genes to develop severe lung disease or co-morbidities in children with CF (C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4: Gene and cell transfer in CF				
CF-4.1: Growth of different iPSC cells from CF patients, healthy controls and gene-corrected CF patient iPSCs in vitro (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4.2: Functional assessment of genetically corrected p.Phe508del-CFTR homozygous CF donor-derived iPSC cells in vitro including phagocytosis and killing of common CF pathogens (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4.3: iPSC cell transfer in CF mice and humanized CF mouse models (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4.4: Single cell analysis of ex vivo isolated human airway cells and confirmation in murine models (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4.5: Readout of cell transfer or directed deletion: outcome of murine airway infection experiments with common bacterial CF pathogens (B, T)				
ARCN:				

BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-4.6: Genetic correction of p.Phe508del-CFTR homozygous CF donor-derived iPSC cells in vitro (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5: Use model systems and patient tissues for studies of disease mechanisms and evaluation of novel therapeutic strategies targeting airway mucus plugging and inflammation in CF				
CF-5.1: Elucidation of role and mechanisms of neutrophil, macrophage and ILC activation by hyperconcentrated CF mucus in vitro and in vivo model systems (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.2: Study role of epigenetic alterations in macrophage and ILC dysfunction in CF airways (B)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.3: Preclinical evaluation of novel mucolytic therapies (reducing agents) on airway mucus plugging and inflammation in mice with CF-like lung disease (B, T)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.4: Evaluation of role of surface-bound protease activities (e.g. NE, CatG, MMP-12) on airway neutrophils and macrophages as biomarkers of CF lung disease severity and response to therapy (T, C)				
ARCN:				

BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.5: Assessment of role of degradation products of the extracellular matrix on airway neutrophils and macrophages as biomarkers of CF lung disease severity and response to therapy (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.6: Assessment of role of IL-1 signaling as driver of mucus hypersecretion and airway inflammation in CF (T; C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-5.7: Role of IL-17 in CF airway inflammation: triggers, cellular sources and pathogenic consequences (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-6: Use of sensitive biomarkers of CFTR function and quantitative outcome measures of lung structure & function for implementation of precision medicine with emerging CFTR modulators				
CF-6.1: CFTR biomarker studies (including ICM, nPD and sweat chloride for epithelial chloride secretion) to determine and compare effects of different approved CFTR-directed therapeutics (lumacaftor-ivacaftor vs. tezacaftor-ivacaftor vs elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor vs other emerging CFTR modulators) on CFTR function in CF patients with different genotypes in post approval real world setting (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	1
UGMLC:				

CF-6.2: Study relationship between levels of functional rescue of CFTR achieved by different modulator drugs and effects on outcome measures of lung structure and function (including FEV1%, LCI and MRI) (T, C)				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-6.3: Study relationship between levels of functional rescue of CFTR achieved by different modulator drugs and effects on biomarkers addressing inflammation				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	1
UGMLC:				
CF-6.4: Use CFTR biomarkers to make a diagnosis in individuals with symptoms suggestive of CF but inconclusive sweat test and CFTR genetics (C)				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				
CF-6.5: Set-up of a protocol for the sweat secretion test and assess assay as a biomarker for CFTR modulator studies (T, C)				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	0
UGMLC:				
CF-6.6: Use CFTR biomarkers and variants in CF modifying genes that influence CFTR-mediated residual function to elucidate factors that determine heterogeneity in clinical response to CFTR modulator therapy across patients carrying the same CFTR genotypes (e.g. F508del homozygous) (B, T, C)				
ARC�:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC: Sommerburg	€	€	€	0
UGMLC:				

CF-6.7: Use CFTR biomarkers for n of 1 studies to determine response to therapy in CF patients with rare mutations with unknown functional consequences (T, C)				
ARCN:				
BIH:				
BREATH:				
TLRC:				
UGMLC:				

Meilensteinplanung DPLD

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity **Microbiome-Metagenome/Single Cell Analysis/Lung Environment Interaction**

	2021				2022				2023				VK
DPLD-1 Deciphering the triggering role of epithelial ageing, injury, phenotypic plasticity and disturbed signaling to the environment (B, T, C) Verwertung: 1,3													
DPLD-1.1: involvement and crosstalk of epithelial surveillance systems / subcellular compartments (e.g. lysosome – proteasome - ER – mitochondrium – nucleus) and integration of different epithelial response patterns (inflammation, ER-/lysosomal/mitochondrial stress, DNA – damage) into the evolution of different DPLDs (B, T)													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M: HMGU													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-1.2: gene-editing and small molecule-based correction of causative mutations in AT2 (B, T)													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M: HMGU													

TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-1.3: role of 2nd (exogenous) hits (viral, bacterial, microbiome, oxygen, toxicants) 'on top' of endogenous injury (B, T, C)													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M: HMGU													
TLRC: RKU/UKHD	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
UGMLC:													
DPLD-1.4: novel in vivo, ex vivo and in situ models (*p) of epithelial-injury – triggered DPLDs and their therapeutic correction (T)													
BREATH: MHH													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD -1.5: characterization of epithelial plasticity / dysregulated epithelial differentiation in dependency of immune changes and age (B, T)													
BREATH: MHH													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-1.6: altered epithelial-to- mesenchymal and epithelial-to- immune cell signaling in DPLD, including exosomes, FXII and others (B, T)													
BREATH: MHH													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-1.7: role of ageing and senescence in epithelial-driven lung fibrosis (B, T, C)													
BREATH: MHH													
CPC-M:													
TLRC:													

UGMLC:													
DPLD-1.8: mechanistic overlap between lung fibrosis and lung cancer and/or systemic diseases such as diabetes (B, T, C)													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-2 Physiological role and therapeutic applicability of stem cells (B, T) Verwertung: 1,2,3,6													
DPLD-2.1: stem cell niche in normal and defective alveolar/bronchial-epithelial regeneration / repair in DPLD across age and across stage of disease, including 3D deconvolution, single cell based signaling in a spatial context on RNA and protein level, cellular heterogeneity of progenitor populations and determination of single cell fate trajectories under human and experimental disease conditions (B, T)													
ARCN:													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-2.2: impact of epigenetic modifications and senescence on stem cell function / malfunction (B, T)													
ARCN:													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-2.3: role of critical / developmental pathways (e.g.													

Wnt, Notch, SHH, FGF, PDGF, STAT) in this context (B, T)														
ARCN:														
BREATH: MHH, ITEM														
CPC-M:														
TLRC: RKU/UKHD	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
UGMLC:														
ARCN: Ghd														
DPLD-2.4: role of exaggerated epithelial proliferation in different epithelial populations and sub-populations in development of lung fibrosis (B, T, C)														
ARCN:														
BREATH: MHH														
CPC-M:														
TLRC:														
UGMLC:														
DPLD-2.5: ex vivo / in vitro models of epithelial regeneration and alveologenesis (organoid formation *p) employing SCs derived from normal and DPLD lungs (B, T, C)														
ARCN:														
BREATH: MHH, ITEM														
CPC-M:														
TLRC:														
UGMLC:														
DPLD-2.6: development of re-cellulariza-tion models in human scaffolds (*p), defining impact of the matrix for stem cell responses and stem cell plasticity (B, T, C)														
ARCN:														
BREATH: MHH, ITEM														
CPC-M:														
TLRC:														
UGMLC:														
DPLD-2.7: re-programming of adult skin/lung cells into pluripotent stem cells and therapeutic assessment (B, T, C)														
ARCN:														

BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-2.8: stem cell labeling and lineage tracing in vivo and therapeutic modification of stem cell responses (B, T)													
ARCN:													
BREATH: MHH													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-2.9: gene-editing based correction SFTPC mutations in alveolar progenitors, evaluation of their therapeutic potential in vivo (B, T)													
ARCN:													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC-M:													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-3 The mesenchymal cell: an active and powerful modulator of the pulmonary scaffold (B, T) Verwertung: 1													
DPLD-3.1: definition of mesenchymal sub-populations, their potentially reversible trans-differentiation and their specific role across age and DPLD category in a spatial context (#) (B, T, C)													
ARCN													
BREATH: MHH													
CPC													
TLRC													
UGMLC: JLU (Bellusci, ElAgha, Günther, Korfei, Morty, Pullamsetti)													

DPLD-3.2: epigenetic changes in fibroblasts over time and their role in progression in DPLDs (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-3.3: fibroblast-epithelial crosstalk and role of mesenchymal-epithelial contacts (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-3.4: role of specific, developmentally relevant pathways in fibrosis development such as e.g. FGF (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-3.5: cellular reprogramming of primary lung fibroblasts using epigenetic modifications (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
ARCN													
DPLD-3.6: impact of environmental injury (nanoparticles, oxygen, radiation) on the mesenchyme and epithelial-mesenchymal crosstalk employing enabling technologies													

(e.g. high throughput in vitro imaging) (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-3.7: analysis of age- and disease-specific fibroblast activation, matrix composition, modification and production; identification of novel inhibitors and druggable molecular targets in vitro / in vivo for therapeutic correction (*p) (B, T, C)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC: RKU/UKHD	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
UGMLC													
DPLD-3.8: (post-injury) mesenchymal-endothelial crosstalk (PH development in DPLD, #) (B, T, C)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-3.9: Role of monocyte / macrophage recruitment and signaling in fibrosis development (across age and disease stages), role of environmental insults (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-4 Integrative “DZL DPLD ATLAS of cell-specific signaling in the microstructural context”													

employing big data analysis (B, T) Verwertung: 1													
DPLD-4.1: single cell RNAseq (*p) data from human tissues (including PCLS) and experimental models of DPLD including across-disease approaches (pediatric to adult, #) (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-4.2: multiplexed in situ hybridization, in situ proteomics and in situ imaging of cellular subtypes in defined cellular niches of the neonatal / pediatric / adult normal and fibrotic lung (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-4.3: visualization of intra- and intercellular communication pathways in dependency of microstructure (including μ -CT, correlative light and electron microscopy (CLEM, *p)) (B, T)													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC: RKU/UKHD	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
DPLD-5 Integrative, big data analysis of deep phenome, genome, epigenome, proteome, metabolome, volatolome, and imaginome from different DPLDs employing													

unsupervised machine learning and clustering (T, C) Verwertung: 1													
DPLD-5.1: Integration of all DZL-linked registry and biobanks such as European ILD Registry / Biobank, ChildEU, BPD Cohort (AIRR, Attention to Infants with Respiratory Risks, collaboration with German Neonatal Network (GNN)), summarizing 5000 patients across all ages with DPLD (#) to employ unsupervised machine learning and clustering via the DZL data warehouse (DWH, *p) (C), including													
ARCN													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-5.2: Exome sequencing in 800, WGS in 100 familial cases, plus already analysed samples - Deep phenome including patient centered measurements of spirometry, oxygen saturation, exercise capacity, QoL questionnaires (T, C)													
ARCN													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-5.3: Deep phenome including patient centered measurements of spirometry, oxygen saturation, exercise capacity, QoL (C)													
ARCN													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-5.4: Co-morbidome and co-medication captured by DRG and WHO catalogues (C)													

ARCN													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-5.5: imaginome (HRCT, histology) and exhaled breath based ~omics (proteome, volatolome, transcriptome) (T, C)													
ARCN													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-5.6: Develop AI strategies for new integrative analysis approaches, i.e. integration of metabolome, imaginome, proteome and epigenome in cross-age analysis (T, C)													
ARCN													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-5.7: Implement advanced deep clinical phenotyping using novel and verification of previously described mutations and variants in DPLD (T, C)													
ARCN													
CPC													
TLRC													
UGMLC													
DPLD-5.8: Health care utilization, patient pathways and QoL assessment to guide future decision making (C)													
ARCN													
CPC													
TLRC:													
UGMLC													
DPLD-6 Development of novel diagnostic and treatment modalities for patients with													

DPLDs (T, C)													
Verwertung: 1													
DPLD-6.1: circulating autoantibodies, AT2-based signatures (extracellular vesicles and other), immune-phenotyping including MHC-I antigen presentation and immune proteasome (T, C)													
CPC-M:													
ARCN													
BREATH: MHH, ITEM													
CPC													
TLRC:													
DPLD-6.2: novel biomarkers based on proteome, transcriptome and metabolome data from early childhood and imaging strategies in neonatal chronic lung disease (AIRR, collaboration GNN) to adult (IPF) disease) (T, C)													
CPC-M: KUM (Hilgendorff, Fernandez, Ahmidi)													
CPC-M:													
ARCN:													
BREATH: MHH, ITEM													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-6.3: novel therapeutic biomarkers indicating response to therapy upfront or during (e.g. circulating CEMIP) medical treatment (T, C)													
CPC-M:													
ARCN:													
BREATH: MHH													
TLRC:													
UGMLC:													
DPLD-6.4: new imaging strategies to allow for risk stratification and structural characterization of the DPLD patients across all ages including													

machine learning approaches (T, C)													
CPC-M:													
ARC�:													
BREATH: MHH													
TLRC:													
UGMLC:													
CPC-M:													
DPLD-6.5: biomarker and imaging strategies for co-morbidities in neonatal and adult DPLD (T, C)													
CPC-M: KUM (Hilgendorff, Kneidinger, Ahmidi)													
ARC�:													
BREATH:													
TLRC:													
DPLD-6.6: structural analysis of elastin using probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE), resulting in alveolography (T, C)													
BREATH: MHH, ITEM													
ARC�:													
CPC-M:													
DPLD-6.7: Early phase I/II clinical trials: a) HDAC inhibition, PPARg agonists, FGF10, FKBP10 (C) b) combination therapy including antifibrotic, anti-inflammatory, vasoactive treatment based on multidimensional stratification (genetic, immunologic, proteomic) in progressive fibrotic ILD (#) (C) c) phase II clinical trial of surfactant treatment in acute exacerbation (C) d) phase II clinical trial in management of acute exacerbation (C) e) phase II clinical trial in diagnostic applications in													

BPD (implementation of biomarkers kits) (C)													
f) physical exercise training trial													
g) virtual randomized controlled trials in the field of end-stage disease and neonatal chronic lung disease (C)													
CPC-M:													
ARCN:													
BREATH: MHH, ITEM (7c)													
TLRC: Thoraxklinik													
UGMLC:													

Meilensteinplanung PH

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity **Microbiome-Metagenome/Single Cell Analysis/Lung Environment Interaction**

	2021				2022				2023				VK
PH-1 Understanding the epigenetic landscape of PH – development of novel intervention strategies UGMLC													
PH-1.1 DNA methylome analysis in lung vascular cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from PAH patients and experimental models of PH to gain disease specific information (B, T, C)													
PH-1.2 RNA-seq analysis in lung vascular cells and PBMCs of coding and multiple non-coding RNAs (miRNA, lncRNA, piRNA), followed by chromatin accessibility assays to get inside into regulatory networks under different experimental conditions (B, C)													
PH-1.3 ChIP-seq analysis of histone marks and footprinting of transcription factors, followed by targeting disease specific transcription factors in pulmonary vascular cells from PAH patients													

in vitro and experimental models of PH in vivo to characterize the cellular phenotype and the identification of novel regulated genes (B, T, C)													
PH-1.4 Analysis and exploitation of epigenetic mechanisms and signaling cascades underlying the beneficial effects of chronic exercise training in PH investigating miRNA and DNA-methylation changes from blood samples of PH patients (T, C)													
PH-2 Kinome and phosphoproteome in PH UGMLC													
PH-2.1 Tyrosine kinase and serine-threonine kinase activity analysis in lung vascular cells and circulating blood mononuclear cells (PBMCs) from PAH patients to gain disease specific information and to identify novel kinases as putative pharmacological targets (B, T, C)													
PH-2.2 Nanoflow liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)-based quantitative phosphoproteomic analysis of lung vascular cells with the goal to develop a high resolution tissue-and cell specific proteome and phosphoproteome atlas (B, T)													
PH-2.3 Kinase-inhibitor screens in cells and functional experiments employing specific inhibitors (e.g. p38 Map Kinase) in cells addressing efficacy on proliferation, apoptosis and migration (B, T)													
PH-2.4 Animal experiment in clinically relevant animal models of pulmonary hypertension (e.g.													

monocrotaline injection in rats, SU5416 in combination with hypoxia in rats, hypoxia in mice) addressing the efficacy of novel kinase inhibitors on hemodynamics and remodeling (B, T)													
PH-3 Identification and characterization of key molecular and cellular players driving vascular remodeling in non-PAH forms of PH BREATH, CPC-M, UGMLC													
PH-3.1 DPLD associated PH: Basic (experimental models) and clinical studies in lung vascular remodeling and its reversal (e.g. kinase inhibitors) (T, C)	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1
PH-3.2 e-cigarette induced pulmonary vascular remodeling – establishment of the model, followed by assessment of impact of e-liquid flavors on remodeling processes (T, C)													
PH-3.3 Cigarette smoke induced pulmonary vascular remodeling – impact of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 4i2 and Notch effector recombining binding protein suppressor of hairless (RBPJ) (T, C)													
PH-3.4 Intermittent and chronic hypoxia induced PH – comparative analysis of different vascular cell types (B, T)													
PH-3.5 TRP channelopathies in PH: hypoxia- and hypoxia-independent regulatory mechanisms and functions in-vivo and in-vitro (B, T)													
PH-3.6 Phenotypic characterization of a mouse model of PH due to systemic													

sclerosis (SSc) and development of novel treatment regimens to reverse vascular, heart and lung remodeling (B, T)													
PH-3.7 Vascular changes in Bronchopulmonary Dysplasia: growth factor interplay, prevention and therapy in preclinical models (B, T)													
PH-3.8 Phenotypic characterization of a rat model of pulmonary venous banding as model for pulmonary hypertension due to left heart disease – understand the differences of pulmonary vein versus artery remodeling (B, T)													
PH-3.9 CTEPH: impact of myeloproliferative diseases and genetic predisposition on CTEPH development: thrombosis diagnostics, PAH and thrombosis gene panel (B, C)													
PH-3.10 Prospective characterization of enzymes and inflammatory composition in samples from PH patients to discriminate PVOD from PAH using neuronal network approaches (C)													
PH-4 Genetics in PAH: Identification and functional characterization of candidate genes BREATH, TLRC, UGMLC													
PH-4.1 Identification of novel (KLF2, JAK2, TBX1, BMP9, ABCC8) and verification of previously established (BMPR2, SOX17, KLF2) mutations in PAH via gene panel analysis and whole exome sequencing (B, C)													
PH-4.2 Animal experiments (chronic hypoxia induced PH in mice) addressing pharmacological													

(small molecule inhibitors/activators) and genetic manipulation (AAV mediated overexpression/ silencing) of novel and previously described mutations and its efficacy on hemodynamics and remodeling (B, T)													
PH-4.3 Derivation of PH-specific iPSCs, differentiation into ECs and SMCs and employment of gene-editing technologies for targeted integration or correction of mutations and to manufacture iPS-derived endothelial cells with reverse-remodeling potency (e.g. enhanced BMPR2 signaling) (B, T)													
PH-4.4 Identification of second hits and search for genetic modifiers in iPSCs with similar BMPR2 mutations but with different PH phenotype (B, T) – Verwertung 1													
TLRC: Thoraxklinik													
PH-5 Biomarker, autoantibodies and personalized treatment concept BREATH, CPC-M, TLRC, UGMLC													
PH-5.1 Identification of circulating functional autoantibodies in PH patients of different entities. The pattern of disease-relevant functional autoantibodies in SSc will be analyzed in different phenotypes of PH (B, T)													
PH-5.2 Search for novel biomarkers (peptides, miRome, microvesicles) discriminating between the different classes of PH (T, C)													
PH-5.3 Search for novel biomarkers (peptides, miRome, microvesicles) predicting													

response to single therapies or combination therapies (T, C)													
PH-5.4 Biomarker detection and imaging strategies for PH in Bronchopulmonary Dysplasia (T, C)													
PH-5.5 Kinase activity and transcriptome profiling of PBMCs isolated from PH patients of different categories (T, C)													
PH-5.6 Deep phenotyping (hemodynamics, PV loops for assessment of right ventricular systolic and diastolic function, high resolution echocardiography, CT/MRI-based analysis, vasoreactivity testing) of patients of different P(A)H etiologies, asking for predictive traits for individual responsiveness to pharmacological therapy (C)													
PH-5.7 iPSC-based HT Screening for potentiators /correctors of TGFβ/BMPR2 signaling (T)													
PH-5.8 Clinical trial to assess the impact of iron supplementation on BMPR2 pathway activity and PH related morbidity (B, C)													
TLRC: UKHD/RKU - Muckenthaler	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	€	1

Meilensteinplanung LC

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity **Microbiome-Metagenome/Single Cell**

Analysis/Lung Environment Interaction

Milestone	2021	2022	2023	VK
LC-1				
Deciphering diversity and plasticity of the microenvironment to improve immunotherapeutic strategies (B, T, C) (funding: all DZL sites)				
LC-1.1: Role of cellular plasticity (macrophages, fibrocytes, neutrophils, CD4+/ CD8+ T-cell subpopulations, mast cells) and cellular TME elements (extracellular matrix) in lung tumor initiation, progression and metastasis (B, T)	€	€	€	1
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC/RKU: Muckenthaler				
UGMLC				
LC-1.2: Impact of the tumor genetic background (CIN; Co-mutations) on the composition of TME (nanostring, mass spectrometry, epigenetics) in well-defined clinical cohorts by dissection of FFPE or cryo material (C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC: UKHD/RKU - Stenzinger	€	€	€	1
LC-1.3: Noninvasive immunomonitoring (flow cytometry; molecular analysis) and novel quantitative imaging biomarkers for cohort-based deciphering (T, C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC : Thoraxklinik (exploitation: 1, 7)				
UGMLC				
LC-1.4: Metabolic control of lung cancer metastasis growth in microenvironment by the use of complex model systems and focus on promising targets (IL22, alpha Ketoglutarate) (B, T)				
ARCN				
TLRC				
UGMLC				
LC-1.5: Predictive signatures and treatment strategies to characterize dynamic interactions of pirfenidone with TME to unravel the role of TGF- β , glycodeclin, AXL, and p53 along with developmental pathways (B, T, C)				
ARCN				
BREATH				

CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
LC-1.6: Efficacy of re-education/re-programming of TAMs, fibrocytes and CD4+/ CD8+ T cells subpopulations to treat lung cancer (B, T, C)				
ARCN				
TLRC				
UGMLC				
LC-1.7: Targeting of tumor and its microenvironment with small molecule inhibitors of tyrosine kinase, phosphodiesterase, TGFβ and DNA methylation inhibitors (B, T)				
ARCN				
TLRC				
UGMLC				
LC-1.8: Novel Platforms of Multiplexed Immunofluorescence for molecular and immune profiling in lung cancer (C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC: UKHD/RKU - Stenzinger	€	€	€	1
UGMLC				
LC-1.9: In-depth phenotyping of mesothelioma as a model disease to explore and characterize mechanisms of immune suppression in the tumor microenvironment (T, C) 1,3				
ARCN				
CPC-M				
TLRC: Thoraxklinik (exploitation: 1, 3)				
UGMLC				
LC-1.10: Prospective ICI- cohorts for interrogation of responders vs. non-responders based on deep phenotyping, imaging and biomaterial collection (epigenome, genetics, transcriptomics) (T, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC: UKHD/RKU - Stenzinger	€	€	€	1
LC-1.11: In depth analyses of biomaterials according to pre-defined immuno oncology intervention and treatment settings (C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC: Thoraxklinik (exploitation: 1, 7)				
LC-2 Dissecting treatment resistance in molecular driver-dependent NSCLC (funding: all DZL sites)				

LC-2.1: FFPE or cryo tissue based broad molecular profiling of different driver dependent NSCLC populations (i.e. EGFR+, EGFR Exon 20, ALK+ and KRAS+) to identify factors critical for treatment failure (T, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC: UKHD/RKU - Stenzinger	€	€	€	1
LC-2.2: Advancement of existing platforms (imaging; molecular; immunologic) for longitudinal tracking of resistance mechanisms in molecular driver-dependent NSCLC (T, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC: Thoraxklinik (exploitation: 1)				
LC-2.3: Impact of dynamic interactions in the tumor microenvironment (e.g. Role of TGFbeta, AXL, p53, and β -catenin signaling) in the pathogenesis of treatment resistance and molecularly driven NSCLC (B, T, C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
LC-2.4: Tumor biology and impact of p53 variety, EML4-ALK variants and EGFR on driving resistance in molecularly defined NSCLC (B, T)				
ARCN				
TLRC: UKHD/RKU - Stenzinger	€	€	€	1
UGMLC				
LC-2.5: Role of integrin-signaling driven phenotypic transformation (EGFR-NSCLC into SCLC) for developing resistance (B, T)				
ARCN				
TLRC				
UGMLC				
LC-2.6: Overcoming drug resistance in driver dependent lung cancer by phosphodiesterase 5/10 and metabolic inhibitors (B, T)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
LC-2.7: Changing resistance patterns and TME properties longitudinally in cohorts with predefined molecular features using blood- and FFPE or cryo tissue-based assessments and imaging machine learning technologies (T, C)				

ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC: Thoraxklinik (exploitation: 1)				
LC-3				
Early detection of lung tumors and recurrences				
(funding: all DZL sites)				
LC-3.1: Exploration of epigenetic and microbiome patterns and machine learning imaging exploration strategies, utilizing the EMOLung cohort, to decipher interrelations preventing or facilitating relapse (C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
LC-3.2: Early detection strategies and Nucleic acids (ctDNA, epigenetic and RNA expression-based markers) (C)				
ARCN				
BREATH				
TLRC				
UGMLC				
LC-3.3: Early detection strategies and CT Imaging (pulmonary nodule characteristics, fibrosis, COPD) (C)				
ARCN				
BREATH				
TLRC: Haberkorn	€	€	€	1
LC-3.4: Heterogeneity, epigenetic and proteomic alterations in the tissue and blood from patient populations with defined transition risk to lung cancer (e.g. IPF) as indicators for lung cancer development (B, C)				
ARCN				
BREATH				
TLRC				
UGMLC				
LC-3.5: Epigenomic editing of tumor-related genes (Epigening) and exploration of methylation patterns along with genetic alterations (ONT-sequencing) in defined cohorts picking candidate loci impacting on outcome with consecutive functional evaluation (B, C)				
ARCN				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
LC-3.6: Biomarkers in plasma and breath exhalates indicating relapse in lung cancer with curative resection and in comorbid				

conditions with lung cancer transition risk to elucidate suitability for screening approaches (B, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				

Meilensteinplanung Plattform Imaging

basic (B), translational (T), clinical (C) – Cross Area Activity **Microbiome-Metagenome/Single Cell Analysis/Lung Environment Interaction**

Milestone	2021	2022	2023	VK
PLI-1 - Image-Omics: machine learning and artificial intelligence				
PLI-1.1: Automated discovery of novel histopathological biomarkers and morphological features associated with non-neoplastic lung disease based on lung biopsies and lung cell samples (T)				
ARCN:				
BREATH:				
CPC-M:				
TLRC – UKHD: Kauczor, Wielpütz	€	€	€	1
TLRC				
UGMLC				
PLI-1.2: Cooperation with the German Cancer Consortium (DKTK) to meet critical size datasets for machine learning and AI (B, T, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Kauczor (Maier-Hein: DKFZ)	€	€	€	1
UGMLC				
PLI-1.3: Basic infrastructure for translation of validated imaging biomarkers into clinical trials, development of novel CT- and MRI-based imaging biomarkers focusing on perfusion distribution, ventilation/perfusion ratios and gas exchange in collaboration with the DA COPD, CF, AA, ELD, PH, DPLD (T, C)				
ARCN				
BREATH:				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Kauczor, Biederer, Rengier, Hellbach	€	€	€	1
TLRC				
UGMLC				

PLI-1.4: Basic infrastructure for improved pattern analysis for the categorization of IPF and differentiation of drug-induced lung toxicity in collaboration with the DA DPLD (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Kauczor, Hellbach	€	€	€	1
TLRC				
UGMLC				
PLI-1.5: Comorbidome: automated detection and quantitation of comorbidities of lung diseases as well as assessment of interstitial lung abnormalities (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Kauczor		€	€	1
TLRC – Thoraxk				
UGMLC				
PLI-1.6: Annotation of CT and histology to prepare for AI assessment of digital pathology and radiology (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Kauczor	€	€	€	1
TLRC – Thoraxk				
UGMLC				
PLI-2: Correlative 3D multimodal Imaging				
PLI-2.1: Advanced 3D image analysis of cleared tissue samples and core needle biopsies using light sheet microscopy to identify new biomarkers (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
PLI-2.2: Fluorescence molecular tomography/CT of animal models of PH, COPD, DLPD, and lung cancer to identify new biomarkers, characterize molecular signatures and follow disease progression (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				

TLRC - UKHD: Wielpütz , Wagner	€	€	€	1
UGMLC				
PLI-2.3: Endoscopic microscopic OCT to assess mucus transport and obtain targeted virtual biopsies of diseased airways in collaboration with DAAA, CF and COPD (B, T,)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
PLI-2.4: Correlation of changes demonstrated by MRI, CT, μ -CT and volume electron microscopy, probe-based confocal laser endomicroscopy and others with microvasculature, alveolar elastin distribution and subcellular changes using volume electron microscopy in IPF, BPD in collaboration with DA DPLD, COPD (B, T, C)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC – UKHD: Kuner, Wagner	€	€	€	1
TLRC-EMBL: Pepperkok				
UGMLC				
PLI-2.5: Influence of aging on engraftment and differentiation of airway epithelial type II cells using correlative light and electron microscopy in acute lung injury in collaboration with DA ALI (B, T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
PLI-2.6: 129 Xenon and 19F MRI for assessment of lung microstructure, alveolar membrane function and regional ventilation dynamics with DA COPD and AA (T)				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC				
UGMLC				
PLI-3: Human Lung Atlas				
The goal of the project will be to disseminate information via open access publications and via the DZL website to the general public and to serve as reference structure(s) for the projects Image-Omics and Correlative 3D multimodal imaging and for other DZL				

researchers to understand structural changes present in diseased human lungs (B, T).				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC – UKHD: Kauczor, Wagner	€	€	€	1
TLRC-EMBL: Pepperkok				
UGMLC				
PLI-4: Central PLI Coordination Activities Coordination, validation and interpretation of different quantitative imaging biomarkers are an overarching task for the platform imaging.				
ARCN				
BREATH				
CPC-M				
TLRC - UKHD: Stiller, Biederer , Kauczor	€	€	€	7
UGMLC				

Appendix 2: Publikationen 2021-2023 (in alphabetischer Reihenfolge)

1. Alberro-Brage A, Kryvenko V, Malainou C, Gunther S, Morty RE, Seeger W, Herold S, Samakovlis C, Vadasz I. Influenza virus decreases albumin uptake and megalin expression in alveolar epithelial cells. *Front Immunol* 2023; 14: 1260973.
2. Albers J, Wagner WL, Fiedler MO, Rothermel A, Wunnemann F, Di Lillo F, Dreossi D, Sodini N, Baratella E, Confalonieri M, Arfelli F, Kalenka A, Lotz J, Biederer J, Wielpütz MO, Kauczor HU, Alves F, Tromba G, Dullin C. High resolution propagation-based lung imaging at clinically relevant X-ray dose levels. *Sci Rep* 2023; 13: 4788.
3. Alonso de la Vega A, Temiz NA, Tasakis R, Somogyi K, Salgueiro L, Zimmer E, Ramos M, Diaz-Jimenez A, Chocarro S, Fernandez-Vaquero M, Stefanovska B, Reuveni E, Ben-David U, Stenzinger A, Poth T, Heikenwalder M, Papavasiliou N, Harris RS, Sotillo R. Acute expression of human APOBEC3B in mice results in RNA editing and lethality. *Genome Biol* 2023; 24: 267.
4. Altmann A, Haberkorn U, Siveke J. The Latest Developments in Imaging of Fibroblast Activation Protein. *J Nucl Med* 2021; 62: 160-167.
5. Altmann A, Kratochwil C, Giesel F, Haberkorn U. Ligand engineering for theranostic applications. *Curr Opin Chem Biol* 2021; 63: 145-151.
6. Angeles AK, Christopoulos P, Yuan Z, Bauer S, Janke F, Ogradnik SJ, Reck M, Schlesner M, Meister M, Schneider MA, Dietz S, Stenzinger A, Thomas M, Sultmann H. Early identification of disease progression in ALK-rearranged lung cancer using circulating tumor DNA analysis. *NPJ Precis Oncol* 2021; 5: 100.
7. Apitz C, Kozlik-Feldmann R, Eichstaedt CA, Gorenflo M, Lammers AE, Geiger R. [New aspects in pediatric pulmonary hypertension - Commented 2022ERS/ESC-PH guidelines]. *Pneumologie* 2023; 77: 947-955.
8. Ardura-Garcia C, Abellan A, Cuevas-Ocaña S, Freitag N, Lam YT, Makrinioti H, Slaats M, Storti M, Williams EE, Dassios T, Duijts L, Ersu RH, Fustik S, Morty RE, Proesmans M, Schramm D, Saglani S, Moeller A, Pijnenburg MW. ERS International Congress 2021: highlights from the Paediatric Assembly. *ERJ Open Res* 2022; 8.
9. Ardura-Garcia C, Kainz K, Mallet MC, Petrarca L, Rodman Berlot J, Slaats M, Streibel C, Vijverberg S, Williams EE, Goutaki M, Gray DM, Lavizzari A, Morty RE, Proesmans M, Schramm D, Stahl M, Zacharasiewicz A, Moeller A, Pijnenburg MW. ERS International Congress 2022: highlights from the Paediatrics Assembly. *ERJ Open Res* 2023; 9.
10. Arweiler NB, Rahmel V, Alhamwe BA, Alhamdan F, Zemlin M, Boutin S, Dalpke A, Renz H. Dental Biofilm and Saliva Microbiome and Its Interplay with Pediatric Allergies. *Microorganisms* 2021; 9.
11. Baldwin D, O'Dowd E, Tietzova I, Kerpel-Fronius A, Heuvelmans M, Snoeckx A, Ashraf H, Kauczor HU, Nagavci B, Oudkerk M, Putora PM, Rzyman W, Veronesi G, Borondy-Kitts A, Gratacos AR, van Meerbeeck J, Blum TG. Developing a Pan-European Technical Standard for a Comprehensive High-quality Lung Cancer CT Screening Program. An ERS Technical Standard. *Eur Respir J* 2023.
12. Ball M, Christopoulos P, Kirchner M, Allgäuer M, Brandt R, Winter H, Heußel CP, Herth F, Fröhling S, Savai R, Kriegsmann M, Schirmacher P, Peters S, Thomas M, Stenzinger A, Kazdal D. Histological and molecular plasticity of ALK-positive non-small-cell lung cancer under targeted therapy: a case report. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2022; y.
13. Baloglu E, Mairbaurl H. In Search of a Sensor: How Does CO2 Regulate Alveolar Ion Transport? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2021; 65: 571-572.
14. Barben J, Castellani C, Munck A, Davies JC, de Winter-de Groot KM, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, Mayell SJ, McColley S, Ooi CY, Proesmans M, Ren CL, Salinas D, Sands D, Sermet-Gaudelus I, Sommerburg O, Southern KW, European CFSNSWG. Updated guidance on the management of children with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome/cystic fibrosis screen positive, inconclusive diagnosis (CRMS/CFSPID). *J Cyst Fibros* 2021; 20: 810-819.
15. Bauer TA, Horvat NK, Marques O, Chocarro S, Mertens C, Colucci S, Schmitt S, Carrella LM, Morsbach S, Koynov K, Fenaroli F, Blumler P, Jung M, Sotillo R, Hentze MW, Muckenthaler MU,

- Barz M. Core Cross-Linked Polymeric Micelles for Specific Iron Delivery: Inducing Sterile Inflammation in Macrophages. *Adv Healthc Mater* 2021; 10: e2100385.
16. Baum P, Taber S, Erdmann S, Muley T, Kriegsmann M, Christopoulos P, Thomas M, Winter H, Pfannschmidt J, Eichhorn ME. Validation of the T Descriptor (TNM-8) in T3N0 Non-Small-Cell Lung Cancer Patients; a Bicentric Cohort Analysis with Arguments for Redefinition. *Cancers (Basel)* 2021; 13.
 17. Bayfield KJ, Weinheimer O, Boyton C, Fitzpatrick R, Middleton A, Kennedy B, Blaxland A, Jayasuriya G, Caplain N, Issa H, Goetti R, Wielputz MO, Yu L, Galban CJ, Robinson TE, Bartholmai B, Fitzgerald D, Selvadurai H, Robinson PD. Implementation and evaluation of ultra-low dose CT in early cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 2023; 62.
 18. Behr C, Koffijberg H, M IJ, Kauczor HU, Revel MP, Silva M, von Stackelberg O, van Til J, Vliegenthart R. Willingness to participate in combination screening for lung cancer, chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease in four European countries. *Eur Radiol* 2023.
 19. Berges J, Graeber SY, Hammerling S, Yu Y, Krumpelmann A, Stahl M, Hirtz S, Scheuermann H, Mall MA, Sommerburg O. Effects of lumacaftor-ivacaftor therapy on cystic fibrosis transmembrane conductance regulator function in F508del homozygous patients with cystic fibrosis aged 2-11 years. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1188051.
 20. Biederer J. MR imaging of the airways. *Br J Radiol* 2023: 20220630.
 21. Bischoff P, Reck M, Overbeck T, Christopoulos P, Rittmeyer A, Luders H, Kollmeier J, Kulhavy J, Kemper M, Reinmuth N, Roper J, Janning M, Sommer L, Aguinarte L, Koch M, Wiesweg M, Wessler C, Waller CF, Kauffmann-Guerrero D, Stenzinger A, Stephan-Falkenau S, Trautmann M, Lassmann S, Tiemann M, Klauschen F, Sebastian M, Griesinger F, Wolf J, Loges S, Frost N, National Network Genomic Medicine Lung Cancer collaborator g. Outcome of first-line treatment with pembrolizumab according to KRAS/TP53 mutational status for non-squamous PD-L1 high ($\geq 50\%$) NSCLC in the German National Network Genomic Medicine Lung Cancer (nNGM). *J Thorac Oncol* 2023.
 22. Blasi M, Eichhorn ME, Christopoulos P, Winter H, Heußel CP, Herth FJ, El Shafie R, Kriegsmann K, Kriegsmann M, Stenzinger A, Bischoff H, Thomas M, Kuon J. Major clinical benefit from adjuvant chemotherapy for stage II-III non-small cell lung cancer patients aged 75 years or older: a propensity score-matched analysis. *BMC Pulm Med* 2022; 22: 255.
 23. Blasi M, Kazdal D, Thomas M, Christopoulos P, Kriegsmann M, Brandt R, Volckmar AL, Kirchner M, Heussel CP, Stenzinger A, Kuon J. Combination of Crizotinib and Osimertinib in T790M+ EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer with Emerging MET Amplification Post-Osimertinib Progression in a 10-Year Survivor: A Case Report. *Case Rep Oncol* 2021; 14: 477-482.
 24. Blasi M, Kuon J, Shah R, Bozorgmehr F, Eichhorn F, Liersch S, Stenzinger A, Heussel CP, Herth FJ, Thomas M, Christopoulos P. Pembrolizumab Alone or With Chemotherapy for 70+ Year-Old Lung Cancer Patients: A Retrospective Study. *Clin Lung Cancer* 2023.
 25. Blum TG, Vogel-Claussen J, Andreas S, Bauer TT, Barkhausen J, Harth V, Kauczor HU, Pankow W, Welcker K, Kaaks R, Hoffmann H, Deutsche R, Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und B, Deutsche Gesellschaft für T, Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin: Prof. Dr. med. Wolfram Windisch PDmCTPDmTTBPDmAP, Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Thoraxchirurgie: Dr. med. Katrin Welcker DmLHPDmH-SHPDDmHRSdM, Vorstand der Deutschen Röntgengesellschaft: Prof. Dr. med. Konstantin Nikolaou PDmJBPDmCKDrnFADmSNP. [Statement paper on the implementation of a national organized program in Germany for the early detection of lung cancer in risk populations using low-dose CT screening including management of screening findings]. *Pneumologie* 2023.
 26. Bochtler T, Christopoulos P, Schlamp K, Winkler F, Kramer A. Management of a Pregnant ALK-Positive Lung Cancer Patient With Alectinib-Induced Pneumonitis and Bilateral Globus Pallidus Necrosis Postpartum. *Clin Lung Cancer* 2023.
 27. Bodenberger AL, Konietzke P, Weinheimer O, Wagner WL, Stiller W, Weber TF, Heussel CP, Kauczor HU, Wielputz MO. Quantification of airway wall contrast enhancement on virtual monoenergetic images from spectral computed tomography. *Eur Radiol* 2023.

28. Bodine SC, Brooks HL, Bunnett NW, Collier HA, Frey MR, Joe B, Kleyman TR, Lindsey ML, Marette A, Morty RE, Ramirez JM, Thomsen MB, Yosten GLC. An American Physiological Society cross-journal Call for Papers on "Inter-Organ Communication in Homeostasis and Disease". *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L42-L49.
29. Boutin S, Hildebrand D, Boulant S, Kreuter M, Ruter J, Pallerla SR, Velavan TP, Nurjadi D. Host factors facilitating SARS-CoV-2 virus infection and replication in the lungs. *Cell Mol Life Sci* 2021; 78: 5953-5976.
30. Bozorgmehr F, Kazdal D, Chung I, Kirchner M, Magios N, Kriegsmann M, Allgauer M, Klotz LV, Muley T, El Shafie RA, Fischer JR, Faehling M, Stenzinger A, Thomas M, Christopoulos P. De Novo Versus Secondary Metastatic EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *Front Oncol* 2021; 11: 640048.
31. Brown R, Small DM, Doherty DF, Holsinger L, Booth R, Williams R, Ingram RJ, Elborn JS, Mall MA, Taggart CC, Weldon S. Therapeutic Inhibition of Cathepsin S Reduces Inflammation and Mucus Plugging in Adult β ENaC-Tg Mice. *Mediators Inflamm* 2021; 2021: 6682657.
32. Brueckl WM, Reck M, Rittmeyer A, Kollmeier J, Wessler C, Wiest GH, Christopoulos P, Stenzinger A, Tufman A, Hoffknecht P, Ulm B, Reich F, Ficker JH, Laack E. Efficacy of docetaxel plus ramucirumab as palliative second-line therapy following first-line chemotherapy plus immune-checkpoint-inhibitor combination treatment in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) UICC stage IV. *Transl Lung Cancer Res* 2021; 10: 3093-3105.
33. Brunn D, Turkowski K, Gunther S, Weigert A, Muley T, Kriegsmann M, Winter H, Dammann RH, Stathopoulos GT, Thomas M, Guenther A, Grimminger F, Pullamsetti SS, Seeger W, Savai R. Interferon Regulatory Factor 9 Promotes Lung Cancer Progression via Regulation of Versican. *Cancers (Basel)* 2021; 13.
34. Budczies J, Kirchner M, Kluck K, Kazdal D, Glade J, Allgauer M, Kriegsmann M, Heussel CP, Herth FJ, Winter H, Meister M, Muley T, Fröhling S, Peters S, Seliger B, Schirmacher P, Thomas M, Christopoulos P, Stenzinger A. A gene expression signature associated with B cells predicts benefit from immune checkpoint blockade in lung adenocarcinoma. *Oncoimmunology* 2021; 10: 1860586.
35. Budczies J, Kirchner M, Kluck K, Kazdal D, Glade J, Allgauer M, Kriegsmann M, Heußel CP, Herth FJ, Winter H, Meister M, Muley T, Goldmann T, Fröhling S, Wermke M, Waller CF, Tufman A, Reck M, Peters S, Schirmacher P, Thomas M, Christopoulos P, Stenzinger A. Deciphering the immunosuppressive tumor microenvironment in ALK- and EGFR-positive lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2022; 71: 251-265.
36. Budczies J, Kluck K, Beck S, Ourailidis I, Allgauer M, Menzel M, Kazdal D, Perkhofer L, Kleger A, Schirmacher P, Seufferlein T, Stenzinger A. Homologous recombination deficiency is inversely correlated with microsatellite instability and identifies immunologically cold tumors in most cancer types. *J Pathol Clin Res* 2022; 8: 371-382.
37. Buk M, Rengier F, Mokry T, Riffel J, Giannitsis E, Kihm L, Malikova H, Kauczor HU, von Stackelberg O, Weber TF. Appropriateness of CT pulmonary angiograms according to current diagnostic guidelines based on risk stratification: A retrospective single-center study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2021; 165: 51-56.
38. Castellani C, Simmonds NJ, Barben J, Addy C, Bevan A, Burgel PR, Drevinek P, Gartner S, Gramegna A, Lammertyn E, Landau EEC, Middleton PG, Plant BJ, Smyth AR, van Koningsbruggen-Rietschel S, Girodon E, Kashirskaya N, Munck A, Nahrlich L, Raraigh K, Sermet-Gaudelus I, Sommerburg O, Southern KW. Standards for the care of people with cystic fibrosis (CF): A timely and accurate diagnosis. *J Cyst Fibros* 2023.
39. Christopoulos P, Bozorgmehr F, Bruckner L, Chung I, Krisam J, Schneider MA, Stenzinger A, Eickhoff R, Mueller DW, Thomas M. Brigatinib versus other second-generation ALK inhibitors as initial treatment of anaplastic lymphoma kinase positive non-small cell lung cancer with deep phenotyping: study protocol of the ABP trial. *BMC Cancer* 2021; 21: 743.
40. Christopoulos P, Dietz S, Angeles AK, Rheinheimer S, Kazdal D, Volckmar AL, Janke F, Endris V, Meister M, Kriegsmann M, Zemojtel T, Reck M, Stenzinger A, Thomas M, Sultmann H. Earlier extracranial progression and shorter survival in ALK-rearranged lung cancer with positive liquid rebiopsies. *Transl Lung Cancer Res* 2021; 10: 2118-2131.

41. Christopoulos P, Kluck K, Kirchner M, Lüders H, Roeper J, Falkenstern-Ge RF, Szewczyk M, Sticht F, Saalfeld FC, Wessler C, Hackanson B, Dintner S, Faehling M, Kuon J, Janning M, Kauffmann-Guerrero D, Kazdal D, Kurz S, Eichhorn F, Bozorgmehr F, Shah R, Tufman A, Wermke M, Loges S, Brueckl WM, Schulz C, Misch D, Frost N, Kollmeier J, Reck M, Griesinger F, Grohé C, Hong JL, Lin HM, Budczies J, Stenzinger A, Thomas M. The impact of TP53 co-mutations and immunologic microenvironment on outcome of lung cancer with EGFR exon 20 insertions. *Eur J Cancer* 2022; 170: 106-118.
42. Christopoulos P, Prawitz T, Hong JL, Lin HM, Hernandez L, Jin S, Tan M, Proskorovsky I, Lin J, Zhang P, Patel JD, Ou SI, Thomas M, Stenzinger A. Indirect comparison of mobocertinib and real-world therapies for pre-treated non-small cell lung cancer with EGFR exon 20 insertion mutations. *Lung Cancer* 2023; 179: 107191.
43. Christopoulos P, Schlenk R, Kazdal D, Blasi M, Lennerz J, Shah R, Budczies J, Malek N, Frohling S, Rosenquist R, Schirmacher P, Bozorgmehr F, Kuon J, Reck M, Thomas M, Stenzinger A. Real-world data for precision cancer medicine-A European perspective. *Genes Chromosomes Cancer* 2023.
44. Chung J, Wunneemann F, Salomon J, Boutin S, Frey DL, Albrecht T, Joachim C, Eichinger M, Mall MA, Wielputz MO, Sommerburg O. Increased Inflammatory Markers Detected in Nasal Lavage Correlate with Paranasal Sinus Abnormalities at MRI in Adolescent Patients with Cystic Fibrosis. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10.
45. Ciardo A, Simon MM, Eberhardt R, Brock JM, Ritz A, Kim TS. Severe chronic obstructive pulmonary disease is associated with reduced oral health conditions. *Oral Dis* 2023.
46. Colucci S, Carvalho Oliveira T, Muckenthaler MU, Marques O. Iron homeostasis in mice: does liver lobe matter? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2023; 325: G453-G457.
47. Dabir M, Novruzov E, Mattes-Gyorgy K, Beu M, Dendl K, Antke C, Koerber SA, Rohrich M, Kratochwil C, Debus J, Haberkorn U, Giesel FL. Distinguishing Benign and Malignant Findings on [(68) Ga]-FAPI PET/CT Based on Quantitative SUV Measurements. *Mol Imaging Biol* 2022.
48. Degering J, Egenlauf B, Harutyunova S, Benjamin N, Salkic A, Xanthouli P, Eichstaedt CA, Seeger R, Sitbon O, Grunig E. Tolerability, safety and survival in patients with severe pulmonary arterial hypertension treated with intravenous epoprostenol (Veletri((R))) : a prospective, 6-months, open label, observational, non-interventional study. *Respir Res* 2023; 24: 18.
49. Dendl K, Finck R, Giesel FL, Kratochwil C, Lindner T, Mier W, Cardinale J, Kesch C, Rohrich M, Rathke H, Gampp H, Ristau J, Adeberg S, Jager D, Debus J, Haberkorn U, Koerber SA. FAP imaging in rare cancer entities-first clinical experience in a broad spectrum of malignancies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021.
50. Dendl K, Koerber SA, Kratochwil C, Cardinale J, Finck R, Dabir M, Novruzov E, Watabe T, Kramer V, Choyke PL, Haberkorn U, Giesel FL. FAP and FAPI-PET/CT in Malignant and Non-Malignant Diseases: A Perfect Symbiosis? *Cancers (Basel)* 2021; 13.
51. Dendl K, Koerber SA, Tamburini K, Mori Y, Cardinale J, Haberkorn U, Giesel FL. Advancement and Future Perspective of FAPI PET/CT In Gynecological Malignancies. *Semin Nucl Med* 2022; 52: 628-634.
52. Dendl K, Schlittenhardt J, Staudinger F, Kratochwil C, Altmann A, Haberkorn U, Giesel FL. The Role of Fibroblast Activation Protein Ligands in Oncologic PET Imaging. *PET Clin* 2021; 16: 341-351.
53. Desantis M, Lichtenstern C, Hagenlocher JP, Bruckner T, Weigand MA, Kalenka A, Fiedler MO. Implementation of a spontaneous awakening/spontaneous breathing trial protocol in a surgical intensive care unit: a before and after study. *Minerva Anesthesiol* 2023; 89: 306-315.
54. Dettmer S, Weinheimer O, Sauer-Heilborn A, Lammers O, Wielputz MO, Fuge J, Welte T, Wacker F, Ringshausen FC. Qualitative and quantitative evaluation of computed tomography changes in adults with cystic fibrosis treated with elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor: a retrospective observational study. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1245885.
55. Dittich AS, Dumke M, Kapl F, Schneider P, Wege S, Graber S, Stahl M, Herth FJ, Naehrlich L, Mall MA, Sommerburg O, German CFR. Survival-Adjusted FEV1 and BMI Percentiles for Patients with Cystic Fibrosis before the Era of Triple CFTR Modulator Therapy in Germany. *Respiration* 2023: 1-10.

56. Do TD, Melzig C, Kauczor HU, Weber MA, Wielpütz MO. Acquisition of a Dose Management System with Consideration of Medico-Legal and Economic Aspects. *Rofo* 2021.
57. Do TD, Skornitzke S, Merle U, Kittel M, Hofbaur S, Melzig C, Kauczor HU, Wielpütz MO, Weinheimer O. COVID-19 pneumonia: Prediction of patient outcome by CT-based quantitative lung parenchyma analysis combined with laboratory parameters. *PLoS One* 2022; 17: e0271787.
58. Dragani TA, Muley T, Schneider MA, Kobinger S, Eichhorn M, Winter H, Hoffmann H, Kriegsmann M, Noci S, Incarbone M, Tosi D, Franzi S, Colombo F. Lung Adenocarcinoma Diagnosed at a Younger Age Is Associated with Advanced Stage, Female Sex, and Ever-Smoker Status, in Patients Treated with Lung Resection. *Cancers (Basel)* 2023; 15.
59. Eichhorn F, Klotz LV, Kriegsmann M, Bischoff H, Schneider MA, Muley T, Kriegsmann K, Haberkorn U, Heussel CP, Savai R, Zoernig I, Jaeger D, Thomas M, Hoffmann H, Winter H, Eichhorn ME. Neoadjuvant anti-programmed death-1 immunotherapy by pembrolizumab in resectable non-small cell lung cancer: First clinical experience. *Lung Cancer* 2021; 153: 150-157.
60. Eichhorn F, Kriegsmann M, Klotz LV, Kriegsmann K, Muley T, Zgorzelski C, Christopoulos P, Winter H, Eichhorn ME. Prognostic Impact of PD-L1 Expression in pN1 NSCLC: A Retrospective Single-Center Analysis. *Cancers (Basel)* 2021; 13.
61. Eichhorn F, Weigert A, Nandigama R, Klotz LV, Wilhelm J, Kriegsmann M, Allgauer M, Muley T, Christopoulos P, Savai R, Eichhorn ME, Winter H. Prognostic Impact of the Immune-Cell Infiltrate in N1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2023.
62. Eichstaedt CA, Belge C, Chung WK, Graf S, Grunig E, Montani D, Quarck R, Tenorio-Castano JA, Soubrier F, Trembath RC, Morrell NW, for PAHlawtP. Genetic counselling and testing in pulmonary arterial hypertension: a consensus statement on behalf of the International Consortium for Genetic Studies in PAH. *Eur Respir J* 2023; 61.
63. Eichstaedt CA, Bikou O, Sommer N, Schermuly RT, Pullamsetti SS, Weissmann N, Harbaum L, Tabeling C, Wissmuller M, Foris V, Kuebler WM, Hinderhofer K, Olschewski A, Kwapiszewska G. [Genetic diagnostics and molecular approaches in pulmonary arterial hypertension]. *Pneumologie* 2023; 77: 862-870.
64. El Shafie RA, Seidensaal K, Bozorgmehr F, Kazdal D, Eichkorn T, Elshiaty M, Weber D, Allgauer M, König L, Lang K, Forster T, Arians N, Rieken S, Heussel CP, Herth FJ, Thomas M, Stenzinger A, Debus J, Christopoulos P. Effect of timing, technique and molecular features on brain control with local therapies in oncogene-driven lung cancer. *ESMO Open* 2021; 6: 100161.
65. Elsayed M, Bozorgmehr F, Kazdal D, Volckmar AL, Sultmann H, Fischer JR, Kriegsmann M, Stenzinger A, Thomas M, Christopoulos P. Feasibility and Challenges for Sequential Treatments in ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *Front Oncol* 2021; 11: 670483.
66. Engelmann TA, Knudsen L, Leitz DHW, Duerr J, Beers MF, Mall MA, Ochs M. Linking Fibrotic Remodeling and Ultrastructural Alterations of Alveolar Epithelial Cells after Deletion of Nedd4-2. *Int J Mol Sci* 2021; 22.
67. Faltus C, Lahnsteiner A, Barndahl M, Assenov Y, Husing A, Bogatyrova O, Laplana M, Johnson T, Muley T, Meister M, Warth A, Thomas M, Plass C, Kaaks R, Risch A. Identification of NHLRC1 as a Novel AKT Activator from a Lung Cancer Epigenome-Wide Association Study (EWAS). *Int J Mol Sci* 2022; 23.
68. Fiedler MO, Dietrich M, Reuss CJ, Bernhard M, Beynon C, Hecker A, Jungk C, Nussbag C, Michalski D, Weigand MA, Brenner T. [Focus ventilation, oxygen therapy and weaning 2021/2022 : Summary of selected intensive medical care studies]. *Anaesthesiologie* 2023; 72: 199-208.
69. Fiedler MO, Simeliunas E, Deutsch BL, Diktanaite D, Harms A, Brune M, Dietrich M, Uhle F, Weigand MA, Kalenka A. Impact of Different Positive End-Expiratory Pressures on Lung Mechanics in the Setting of Moderately Elevated Intra-Abdominal Pressure and Acute Lung Injury in a Porcine Model. *J Clin Med* 2021; 10.
70. Fink MA, Bischoff A, Fink CA, Moll M, Kroschke J, Dulz L, Heussel CP, Kauczor HU, Weber TF. Potential of ChatGPT and GPT-4 for Data Mining of Free-Text CT Reports on Lung Cancer. *Radiology* 2023; 308: e231362.
71. Fink MA, Kades K, Bischoff A, Moll M, Schnell M, Kuchler M, Köhler G, Sellner J, Heussel CP, Kauczor HU, Schlemmer HP, Maier-Hein K, Weber TF, Kleesiek J. Deep Learning-based

- Assessment of Oncologic Outcomes from Natural Language Processing of Structured Radiology Reports. *Radiol Artif Intell* 2022; 4: e220055.
72. Fink MA, Mayer VL, Schneider T, Seibold C, Stiefelhagen R, Kleesiek J, Weber TF, Kauczor HU. CT Angiography Clot Burden Score from Data Mining of Structured Reports for Pulmonary Embolism. *Radiology* 2022; 302: 175-184.
 73. Fink MA, Seibold C, Kauczor HU, Stiefelhagen R, Kleesiek J. Jointly Optimized Deep Neural Networks to Synthesize Monoenergetic Images from Single-Energy CT Angiography for Improving Classification of Pulmonary Embolism. *Diagnostics (Basel)* 2022; 12.
 74. Finke D, Heckmann MB, Herpel E, Katus HA, Haberkorn U, Leuschner F, Lehmann LH. Early Detection of Checkpoint Inhibitor-Associated Myocarditis Using (68)Ga-FAPI PET/CT. *Front Cardiovasc Med* 2021; 8: 614997.
 75. Fisch D, Bozorgmehr F, Kazdal D, Kuon J, Klotz LV, Shah R, Eichhorn F, Kriegsmann M, Schneider MA, Muley T, Stenzinger A, Bischoff H, Christopoulos P. Comprehensive Dissection of Treatment Patterns and Outcome for Patients With Metastatic Large-Cell Neuroendocrine Lung Carcinoma. *Front Oncol* 2021; 11: 673901.
 76. Fisch D, Christopoulos P. Double trouble: combined large-cell neuroendocrine and small-cell lung carcinoma. *Transl Cancer Res* 2022; 11: 3006-3011.
 77. Forster K, Marchi H, Stocklein S, Dietrich O, Ehrhardt H, Wielputz MO, Flemmer AW, Schubert B, Mall MA, Ertl-Wagner B, Hilgendorff A. Magnetic resonance imaging-based scoring of the diseased lung in the preterm infant with bronchopulmonary dysplasia: UNiforme Scoring of the disEAsed Lung in BPD (UNSEAL BPD). *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2023; 324: L114-L122.
 78. Frey DL, Boutin S, Dittrich SA, Graeber SY, Stahl M, Wege S, Herth FJF, Sommerburg O, Schultz C, Mall MA, Dalpke AH. Relationship between airway dysbiosis, inflammation and lung function in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2021; 20: 754-760.
 79. Frey DL, Bridson C, Dittrich S, Graeber SY, Stahl M, Wege S, Herth F, Sommerburg O, Schultz C, Dalpke A, Mall MA, Boutin S. Changes in Microbiome Dominance Are Associated With Declining Lung Function and Fluctuating Inflammation in People With Cystic Fibrosis. *Front Microbiol* 2022; 13: 885822.
 80. Frey DL, Guerra M, Mall MA, Schultz C. Monitoring Neutrophil Elastase and Cathepsin G Activity in Human Sputum Samples. *J Vis Exp* 2021.
 81. Galy B, Conrad M, Muckenthaler M. Mechanisms controlling cellular and systemic iron homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2023.
 82. Gapp S, Garbade SF, Feyh P, Brockow I, Nennstiel U, Hoffmann GF, Sommerburg O, Gramer G. German newborn screening for Cystic fibrosis: Parental perspectives and suggestions for improvements. *Pediatr Pulmonol* 2023; 58: 844-852.
 83. Giannakis A, More D, Erdmann S, Kintzele L, Fischer RM, Vogel MN, Mangold DL, von Stackelberg O, Schnitzler P, Zimmermann S, Heussel CP, Kauczor HU, Hellbach K. COVID-19 pneumonia and its lookalikes: How radiologists perform in differentiating atypical pneumonias. *Eur J Radiol* 2021; 144: 110002.
 84. Giannakis A, More D, Mangold DL, von Stackelberg O, Rubtsov R, Heussel CP, Kauczor HU, Wielputz MO, Hellbach K. Simultaneous presence of the "bullseye" and "reversed halo" sign at CT of COVID-19 pneumonia: A case report. *Radiol Case Rep* 2021; 16: 2442-2446.
 85. Giesel FL, Adeberg S, Syed M, Lindner T, Jimenez-Franco LD, Mavriopoulou E, Staudinger F, Tonndorf-Martini E, Regnery S, Rieken S, El Shafie R, Rohrich M, Flechsig P, Kluge A, Altmann A, Debus J, Haberkorn U, Kratochwil C. FAPI-74 PET/CT Using Either (18)F-AIF or Cold-Kit (68)Ga Labeling: Biodistribution, Radiation Dosimetry, and Tumor Delineation in Lung Cancer Patients. *J Nucl Med* 2021; 62: 201-207.
 86. Giesel FL, Kratochwil C, Schlittenhardt J, Dendl K, Eiber M, Staudinger F, Kessler L, Fendler WP, Lindner T, Koerber SA, Cardinale J, Sennung D, Roehrich M, Debus J, Sathekge M, Haberkorn U, Calais J, Serfling S, Buck AL. Head-to-head intra-individual comparison of biodistribution and tumor uptake of (68)Ga-FAPI and (18)F-FDG PET/CT in cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021; 48: 4377-4385.

87. Glatting FM, Hoppner J, Kauczor HU, Huber PE, Kratochwil C, Giesel FL, Haberkorn U, Rohrich M. Subclass Analysis of Malignant, Inflammatory and Degenerative Pathologies Based on Multiple Timepoint FAPI-PET Acquisitions Using FAPI-02, FAPI-46 and FAPI-74. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
88. Glatting FM, Hoppner J, Liew DP, van Genabith A, Spektor AM, Steinbach L, Hubert A, Kratochwil C, Giesel FL, Dendl K, Rathke H, Kauczor HU, Huber PE, Haberkorn U, Rohrich M. Repetitive Early (68)Ga-FAPI PET Acquisition Comparing (68)Ga-FAPI-02, (68)Ga-FAPI-46, and (68)Ga-FAPI-74: Methodologic and Diagnostic Implications for Malignant, Inflammatory/Reactive, and Degenerative Lesions. *J Nucl Med* 2022; 63: 1844-1851.
89. Gleeson F, Revel MP, Biederer J, Larici AR, Martini K, Frauenfelder T, Screaton N, Prosch H, Snoeckx A, Sverzellati N, Ghaye B, Parkar AP. Implementation of artificial intelligence in thoracic imaging-a what, how, and why guide from the European Society of Thoracic Imaging (ESTI). *Eur Radiol* 2023; 1-10.
90. Gocebe D, Jansakun C, Zhang Y, Staffer S, Tuma-Kellner S, Altamura S, Muckenthaler MU, Merle U, Herrmann T, Chamulitrat W. Myeloid-specific FATP4 deficiency induces a sex-dimorphic susceptibility for NASH in mice fed with high-fat/high-cholesterol diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2023.
91. Goldschmid H, Kluck K, Ball M, Kirchner M, Allgauer M, Winter H, Herth F, Heussel CP, Pullamsetti SS, Savai R, Yong TTK, Schirmacher P, Peters S, Thomas M, Christopoulos P, Budczies J, Stenzinger A, Kazdal D. Spatial profiling of the microenvironment reveals low intratumoral heterogeneity and STK11-associated immune evasion in therapy-naïve lung adenocarcinomas. *Lung Cancer* 2023; 180: 107212.
92. Gonzalez Maldonado S, Hynes LC, Motsch E, Heussel CP, Kauczor HU, Robbins HA, Delorme S, Kaaks R. Validation of multivariable lung cancer risk prediction models for the personalized assignment of optimal screening frequency: a retrospective analysis of data from the German Lung Cancer Screening Intervention Trial (LUSI). *Transl Lung Cancer Res* 2021; 10: 1305-1317.
93. Gonzalez Maldonado S, Motsch E, Trotter A, Kauczor HU, Heussel CP, Hermann S, Zeissig SR, Delorme S, Kaaks R. Overdiagnosis in lung cancer screening: Estimates from the German Lung Cancer Screening Intervention Trial. *Int J Cancer* 2021; 148: 1097-1105.
94. Graeber SY, Boutin S, Wielputz MO, Joachim C, Frey DL, Wege S, Sommerburg O, Kauczor HU, Stahl M, Dalpke AH, Mall MA. Effects of Lumacaftor-Ivacaftor on Lung Clearance Index, Magnetic Resonance Imaging, and Airway Microbiome in Phe508del Homozygous Patients with Cystic Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc* 2021; 18: 971-980.
95. Graeber SY, Vitzthum C, Pallenberg ST, Naehrlich L, Stahl M, Rohrbach A, Drescher M, Minso R, Ringshausen FC, Rueckes-Nilges C, Klajda J, Berges J, Yu Y, Scheuermann H, Hirtz S, Sommerburg O, Dittrich AM, Tümmler B, Mall MA. Effects of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor Therapy on CFTR Function in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two F508del Alleles. *Am J Respir Crit Care Med* 2022; 205: 540-549.
96. Gramer G, Brockow I, Labitzke C, Fang-Hoffmann J, Beivers A, Feyh P, Hoffmann GF, Nennstiel U, Sommerburg O. Implementing a tracking system for confirmatory diagnostic results after positive newborn screening for cystic fibrosis-implications for process quality and patient care. *Eur J Pediatr* 2021; 180: 1145-1155.
97. Griesse M, Kappler M, Stehling F, Schulze J, Baden W, Koerner-Rettberg C, Carlens J, Prenzel F, Nährlich L, Thalmeier A, Sebah D, Kronfeld K, Rock H, Ruckes C, Wetzke M, Seidl E, Schwerk N. Randomized controlled phase 2 trial of hydroxychloroquine in childhood interstitial lung disease. *Orphanet J Rare Dis* 2022; 17: 289.
98. Griesinger F, Eberhardt W, Nusch A, Reiser M, Zahn MO, Maintz C, Bernhardt C, Losem C, Stenzinger A, Heukamp LC, Buttner R, Marschner N, Janicke M, Fleitz A, Spring L, Sahlmann J, Karatas A, Hipper A, Weichert W, Heilmann M, Sadjadian P, Gleiber W, Grah C, Waller CF, Reck M, Rittmeyer A, Christopoulos P, Sebastian M, Thomas M, Group CR. Biomarker testing in non-small cell lung cancer in routine care: Analysis of the first 3,717 patients in the German prospective, observational, nation-wide CRISP Registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer* 2021; 152: 174-184.
99. Grott M, Wimmer CD, Kreuter M, Prasse A, Eichhorn ME, Eichhorn F, Herth FJF, Seeliger B, Kriegsmann K, Schmidt W, Koenigsfeld K, Zardo P, Winter H. Surgical Lung Biopsy for Interstitial Lung Disease: A Two Center Propensity Score Matching Analysis. *Respiration* 2022; 101: 910-917.

100. Gründing AR, Schneider MA, Richtmann S, Kriegsmann M, Winter H, Martinez-Delgado B, Varona S, Liu B, DeLuca DS, Held J, Wrenger S, Muley T, Meister M, Welte T, Janciauskiene S. Lung Adenocarcinoma Cell Sensitivity to Chemotherapies: A Spotlight on Lipid Droplets and SREBF1 Gene. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
101. Gunjak M, Morty RE. World health day observances in November 2022: pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, preterm birth, and antimicrobial resistance in focus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2022; 323: L603-L610.
102. Guo HH, Persson M, Weinheimer O, Rosenberg J, Robinson TE, Wang J. A calibration CT mini-lung-phantom created by 3-D printing and subtractive manufacturing. *J Appl Clin Med Phys* 2021; 22: 183-190.
103. Hagner M, Albrecht M, Guerra M, Braubach P, Halle O, Zhou-Suckow Z, Butz S, Jonigk D, Hansen G, Schultz C, Dittrich AM, Mall MA. IL-17A from innate and adaptive lymphocytes contributes to inflammation and damage in cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 2021; 57.
104. Harutyunova S, Benjamin N, Eichstaedt C, Marra AM, Xanthouli P, Nagel C, Grunig E, Egenlauf B. Long-Term Safety, Outcome, and Clinical Effects of Subcutaneous and Intravenous Treprostinil Treatment in Patients with Severe Chronic Pulmonary Arterial Hypertension. *Respiration* 2023; 1-12.
105. Heilig CE, Horak P, Kreutzfeldt S, Teleanu V, Mock A, Renner M, Bhatti IA, Hutter B, Hullein J, Frohlich M, Uhrig S, Susse H, Heiligenthal L, Ochsenreither S, Illert AL, Vogel A, Desuki A, Heinemann V, Heidegger S, Bitzer M, Scheytt M, Brors B, Hubschmann D, Baretton G, Stenzinger A, Steindorf K, Benner A, Jager D, Heining C, Glimm H, Frohling S, Schlenk RF. Rationale and design of the CRAFT (Continuous ReAssessment with Flexible ExTension in Rare Malignancies) multicenter phase II trial. *ESMO Open* 2021; 6: 100310.
106. Hellbach K. [Modern tumor therapy and its pulmonary side effects]. *Radiologe* 2021; 61: 955-967.
107. Heuvelmans MA, van Ooijen PMA, Ather S, Silva CF, Han D, Heussel CP, Hickes W, Kauczor HU, Novotny P, Peschl H, Rook M, Rubtsov R, von Stackelberg O, Tsakok MT, Arteta C, Declerck J, Kadir T, Pickup L, Gleeson F, Oudkerk M. Lung cancer prediction by Deep Learning to identify benign lung nodules. *Lung Cancer* 2021; 154: 1-4.
108. Hey J, Paulsen M, Toth R, Weichenhan D, Butz S, Schatterny J, Liebers R, Lutsik P, Plass C, Mall MA. Epigenetic reprogramming of airway macrophages promotes polarization and inflammation in muco-obstructive lung disease. *Nat Commun* 2021; 12: 6520.
109. Heydarian M, Oak P, Zhang X, Kamgari N, Kindt A, Koschlig M, Pritzke T, Gonzalez-Rodriguez E, Förster K, Morty RE, Häfner F, Hübener C, Flemmer AW, Yildirim AO, Sudheendra D, Tian X, Petrera A, Kirsten H, Ahnert P, Morrell N, Desai TJ, Sucre J, Spiekerkoetter E, Hilgendorff A. Relationship between impaired BMP signalling and clinical risk factors at early-stage vascular injury in the preterm infant. *Thorax* 2022; 77: 1176-1186.
110. Hoffmann H, Kaaks R, Andreas S, Bauer TT, Barkhausen J, Harth V, Kauczor HU, Pankow W, Welcker K, Vogel-Claussen J, Blum TG, Deutsche Röntgengesellschaft - Vorstand der Deutschen Röntgengesellschaft: Prof. Dr. med. Konstantin Nikolaou PDmJBPDmCKDrnFADm, Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin - Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin: Prof. Dr. med. Wolfram Windisch PDmCTPDmT, Deutsche Gesellschaft für Thoraxchirurgie - Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Thoraxchirurgie: Dr. med. Katrin Welcker DmLHPDmH-SHPDDm. [Statement Paper on the Implementation of a National Organized Program in Germany for the Early Detection of Lung Cancer in Risk Populations Using Low-dose CT Screening Including Management of Screening Findings]. *Zentralbl Chir* 2023.
111. Hofman P, Berezowska S, Kazdal D, Mograbi B, Ilie M, Stenzinger A, Hofman V. Current challenges and practical aspects of molecular pathology for non-small cell lung cancers. *Virchows Arch* 2023.
112. Hofman P, Calabrese F, Kern I, Adam J, Alarcao A, Alborelli I, Anton NT, Arndt A, Avdalyan A, Barberis M, Begueret H, Bisig B, Blons H, Bostrom P, Brcic L, Bubanovic G, Buisson A, Calio A, Cannone M, Carvalho L, Caumont C, Cayre A, Chalabreysse L, Chenard MP, Conde E, Copin MC, Cote JF, D'Haene N, Dai HY, de Leval L, Delongova P, Dencic-Fekete M, Fabre A, Ferenc F, Forest F, de Fraipont F, Garcia-Martos M, Gauchotte G, Geraghty R, Guerin E, Guerrero D, Hernandez S,

- Hurnik P, Jean-Jacques B, Kashofer K, Kazdal D, Lantuejoul S, Leonce C, Lupo A, Malapelle U, Matej R, Merlin JL, Mertz KD, Morel A, Mutka A, Normanno N, Ovidiu P, Panizo A, Papotti MG, Parobkova E, Pasello G, Pauwels P, Pelosi G, Penault-Llorca F, Picot T, Piton N, Pittaro A, Planchard G, Pote N, Radonic T, Rapa I, Rappa A, Roma C, Rot M, Sabourin JC, Salmon I, Prince SS, Scarpa A, Schuurin E, Serre I, Siozopoulou V, Sizaret D, Smojver-Jezek S, Solassol J, Steinestel K, Stojic J, Syrykh C, Timofeev S, Troncone G, Uguen A, Valmary-Degano S, Vigier A, Volante M, Wahl SGF, Stenzinger A, Ilie M. Real-world EGFR testing practices for non-small-cell lung cancer by thoracic pathology laboratories across Europe. *ESMO Open* 2023; 8: 101628.
113. Hofman P, Ilie M, Chamorey E, Brest P, Schiappa R, Nakache V, Antoine M, Barberis M, Begueret H, Bibeau F, Bonnetaud C, Bostrom P, Brousset P, Bubendorf L, Carvalho L, Cathomas G, Cazes A, Chalabreysse L, Chenard MP, Copin MC, Cote JF, Damotte D, de Leval L, Delongova P, Thomas de Montpreville V, de Muret A, Dema A, Dietmaier W, Evert M, Fabre A, Forest F, Foulet A, Garcia S, Garcia-Martos M, Gibault L, Gorkiewicz G, Jonigk D, Gosney J, Hofman A, Kern I, Kerr K, Kossai M, Kriegsmann M, Lassalle S, Long-Mira E, Lupo A, Mamilos A, Matej R, Meilleroux J, Ortiz-Villalon C, Panico L, Panizo A, Papotti M, Pauwels P, Pelosi G, Penault-Llorca F, Pop O, Pote N, Cajal SRY, Sabourin JC, Salmon I, Sajin M, Savic-Prince S, Schildhaus HU, Schirmacher P, Serre I, Shaw E, Sizaret D, Stenzinger A, Stojic J, Thunnissen E, Timens W, Troncone G, Werlein C, Wolff H, Berthet JP, Benzaquen J, Marquette CH, Hofman V, Calabrese F. Clinical and molecular practice of European thoracic pathology laboratories during the COVID-19 pandemic. The past and the near future. *ESMO Open* 2021; 6: 100024.
 114. Hofmann J, Borchering K, Thiel K, Lingner T, Sommer U, Haberkorn U, Bewersdorf TN, Schmidmaier G, Grossner T. (99m)Tc-HDP Labeling-A Non-Destructive Method for Real-Time Surveillance of the Osteogenic Differentiation Potential of hMSC during Ongoing Cell Cultures. *Int J Mol Sci* 2022; 23.
 115. Horak P, Leichsenring J, Goldschmid H, Kreutzfeldt S, Kazdal D, Teleanu V, Endris V, Geldon L, Allgauer M, Volckmar AL, Dikow N, Renner M, Kirchner M, Penzel R, Ploeger C, Brandt R, Seker-Cin H, Budczies J, Heilig CE, Neumann O, Schaaf CP, Schirmacher P, Frohling S, Stenzinger A. Assigning evidence to actionability: An introduction to variant interpretation in precision cancer medicine. *Genes Chromosomes Cancer* 2021.
 116. Horak P, Leichsenring J, Kreutzfeldt S, Kazdal D, Teleanu V, Endris V, Volckmar AL, Renner M, Kirchner M, Heilig CE, Neumann O, Schirmacher P, Frohling S, Stenzinger A. [Variant interpretation in molecular pathology and oncology : An introduction]. *Pathologie* 2021; 42: 369-379.
 117. Ignatius Ou SH, Hong JL, Christopoulos P, Lin HM, Vincent S, Churchill EN, Soeda J, Kazdal D, Stenzinger A, Thomas M. Distribution and Detectability of EGFR Exon 20 Insertion Variants in Non-small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2023.
 118. Janke F, Angeles AK, Riediger AL, Bauer S, Reck M, Stenzinger A, Schneider MA, Muley T, Thomas M, Christopoulos P, Sultmann H. Longitudinal monitoring of cell-free DNA methylation in ALK-positive non-small cell lung cancer patients. *Clin Epigenetics* 2022; 14: 163.
 119. Janßen C, Boskamp T, Hauberg-Lotte L, Behrmann J, Deininger SO, Kriegsmann M, Kriegsmann K, Steinbuß G, Winter H, Muley T, Casadonte R, Kriegsmann J, Maaß P. Robust subtyping of non-small cell lung cancer whole sections through MALDI mass spectrometry imaging. *Proteomics Clin Appl* 2022; 16: e2100068.
 120. Janssen C, Boskamp T, Le'Clerc Arrastia J, Otero Baguer D, Hauberg-Lotte L, Kriegsmann M, Kriegsmann K, Steinbuss G, Casadonte R, Kriegsmann J, Maass P. Multimodal Lung Cancer Subtyping Using Deep Learning Neural Networks on Whole Slide Tissue Images and MALDI MSI. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
 121. Jesinghaus M, Boxberg M, Schmitt M, Kriegsmann M, Harms A, Lang C, Muley T, Winter H, Kriegsmann K, Warth A, Stenzinger A, Denkert C, Hoffmann H, Safi S, Weichert W. Cellular dissociation grading on biopsies of pulmonary squamous cell carcinoma provides prognostic information across all stages and is congruent with resection specimen grading. *J Pathol Clin Res* 2022; 8: 567-578.
 122. Johkoh T, Lee KS, Nishino M, Travis WD, Ryu JH, Lee HY, Ryerson CJ, Franquet T, Bankier AA, Brown KK, Goo JM, Kauczor HU, Lynch DA, Nicholson AG, Richeldi L, Schaefer-Prokop CM, Verschakelen J, Raouf S, Rubin GD, Powell C, Inoue Y, Hatabu H. Chest CT Diagnosis and Clinical

- Management of Drug-Related Pneumonitis in Patients Receiving Molecular Targeting Agents and Immune Checkpoint Inhibitors: A Position Paper From the Fleischner Society. *Chest* 2021; 159: 1107-1125.
123. Jonigk D, Werlein C, Lee PD, Kauczor HU, Länger F, Ackermann M. Pulmonary and Systemic Pathology in COVID-19. *Dtsch Arztebl Int* 2022; 119: 429-435.
 124. Jurmeister P, Vollbrecht C, Johrens K, Aust D, Behnke A, Stenzinger A, Penzel R, Endris V, Schirmacher P, Fisseler-Eckhoff A, Neumann J, Kirchner T, Buttner R, Merkelbach-Bruse S, Kreipe H, Jonigk D, Jochum W, Rodriguez R, Dietel M, Horst D, Hummel M, von Laffert M. Status quo of ALK testing in lung cancer: results of an EQA scheme based on in-situ hybridization, immunohistochemistry, and RNA/DNA sequencing. *Virchows Arch* 2021; 479: 247-255.
 125. Kaaks R, Christodoulou E, Motsch E, Katzke V, Wielpütz MO, Kauczor HU, Heussel CP, Eichinger M, Delorme S. Lung function impairment in the German Lung Cancer Screening Intervention Study (LUSI): prevalence, symptoms, and associations with lung cancer risk, tumor histology and all-cause mortality. *Transl Lung Cancer Res* 2022; 11: 1896-1911.
 126. Kadouri N, Givony T, Nevo S, Hey J, Ben Dor S, Damari G, Dassa B, Dobes J, Weichenhan D, Bahr M, Paulsen M, Haffner-Krausz R, Mall MA, Plass C, Goldfarb Y, Abramson J. Transcriptional regulation of the thymus master regulator Foxn1. *Sci Immunol* 2022; 7: eabn8144.
 127. Kaemmerer H, Diller GP, Dahnert I, Eichstaedt CA, Eicken A, Freiburger A, Freilinger S, Geiger R, Gorenflo M, Grunig E, Hager A, Herberg U, Huntgeburth M, Kaemmerer AS, Kozlik-Feldmann R, Lammers A, Nagdyman N, Michel S, Schmidt KH, Uebing A, von Scheidt F, Apitz C. [Pulmonary arterial hypertension in congenital heart disease - Part I]. *Pneumologie* 2023; 77: 956-961.
 128. Kahnert K, Fischer C, Alter P, Trudzinski F, Welte T, Behr J, Herth F, Kauczor HU, Bals R, Watz H, Rabe K, Sohler S, Kokot I, Vogelmeier C, Jorres R. [What have we learned from the German COPD cohort COSYCONET and where do we go from here?]. *Pneumologie* 2023; 77: 81-93.
 129. Kahnert K, Jörres RA, Jobst B, Wielpütz MO, Seefelder A, Hackl CM, Trudzinski FC, Watz H, Bals R, Behr J, Rabe KF, Vogelmeier CF, Alter P, Welte T, Herth FF, Kauczor HU, Biederer J. Association of coronary artery calcification with clinical and physiological characteristics in patients with COPD: Results from COSYCONET. *Respir Med* 2022; 204: 107014.
 130. Kahnert K, Jorres RA, Kauczor HU, Alter P, Trudzinski FC, Herth F, Jobst B, Weinheimer O, Nauck S, Mertsch P, Kauffmann-Guerrero D, Behr J, Bals R, Watz H, Rabe KF, Welte T, Vogelmeier CF, Biederer J. Standardized airway wall thickness Pi10 from routine CT scans of COPD patients as imaging biomarker for disease severity, lung function decline, and mortality. *Ther Adv Respir Dis* 2023; 17: 17534666221148663.
 131. Kahnert K, Lutter JI, Welte T, Alter P, Behr J, Herth F, Kauczor HU, Sohler S, Pfeifer M, Watz H, Vogelmeier CF, Bals R, Jorres RA, Trudzinski FC. Impact of the COVID-19 pandemic on the behaviour and health status of patients with COPD: results from the German COPD cohort COSYCONET. *ERJ Open Res* 2021; 7.
 132. Karger A, Nandigama R, Stenzinger A, Grimminger F, Pullamsetti SS, Seeger W, Savai R. Hidden Treasures: Macrophage Long Non-Coding RNAs in Lung Cancer Progression. *Cancers (Basel)* 2021; 13.
 133. Katzenschlager S, Simon CM, Rehn P, Grilli M, Fiedler MO, Muller M, Weigand MA, Neetz B. Time-controlled adaptive ventilation in patients with ARDS-lack of protocol adherence: a systematic review. *Crit Care* 2023; 27: 57.
 134. Kazdal D, Hofman V, Christopoulos P, Ilié M, Stenzinger A, Hofman P. Fusion-positive non-small cell lung carcinoma: Biological principles, clinical practice, and diagnostic implications. *Genes Chromosomes Cancer* 2022; 61: 244-260.
 135. Kazdal D, Rempel E, Oliveira C, Allgauer M, Harms A, Singer K, Kohlwes E, Ormanns S, Fink L, Kriegsmann J, Leichsenring M, Kriegsmann K, Stogbauer F, Tavernar L, Leichsenring J, Volckmar AL, Longuespee R, Winter H, Eichhorn M, Heussel CP, Herth F, Christopoulos P, Reck M, Muley T, Weichert W, Budczies J, Thomas M, Peters S, Warth A, Schirmacher P, Stenzinger A, Kriegsmann M. Conventional and semi-automatic histopathological analysis of tumor cell content for multigene sequencing of lung adenocarcinoma. *Transl Lung Cancer Res* 2021; 10: 1666-1678.
 136. Kellerer C, Jorres RA, Schneider A, Alter P, Kauczor HU, Jobst B, Biederer J, Bals R, Watz H, Behr J, Kauffmann-Guerrero D, Lutter J, Hapfelmeier A, Magnussen H, Trudzinski FC, Welte T,

- Vogelmeier CF, Kahnert K. Prediction of lung emphysema in COPD by spirometry and clinical symptoms: results from COSYCONET. *Respir Res* 2021; 22: 242.
137. Khor YH, Bissell B, Ghazipura M, Herman D, Hon SM, Hossain T, Kheir F, Knight SL, Kreuter M, Macrea M, M JM, Molina-Molina M, Selman M, Wijsenbeek M, Raghu G, Wilson KC. Antacid Medication and Antireflux Surgery in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Am Thorac Soc* 2022; 19: 833-844.
 138. Kirchner M, Kluck K, Brandt R, Volckmar AL, Penzel R, Kazdal D, Endris V, Neumann O, Seker-Cin H, Goldschmid H, Glade J, Allgauer M, Kriegsmann M, Winter H, Muley T, Perner S, Frost N, Reck M, Frohling S, Schirmacher P, Thomas M, Budczies J, Christopoulos P, Stenzinger A. The immune microenvironment in EGFR- and ERBB2-mutated lung adenocarcinoma. *ESMO Open* 2021; 6: 100253.
 139. Klein M, Kaestner L, Bogdanova AY, Minetti G, Rudloff S, Lundby C, Makhro A, Seiler E, van Cromvoirt A, Fenk S, Simionato G, Hertz L, Recktenwald S, Schafer L, Haider T, Fried S, Borsch C, Marti HH, Sander A, Mairbaur H. Absence of neocytolysis in humans returning from a 3-week high-altitude sojourn. *Acta Physiol (Oxf)* 2021; 232: e13647.
 140. Klimovich B, Merle N, Neumann M, Elmshäuser S, Nist A, Mernberger M, Kazdal D, Stenzinger A, Timofeev O, Stiewe T. p53 partial loss-of-function mutations sensitize to chemotherapy. *Oncogene* 2021.
 141. Klotz LV, Gruenewald C, Bulut EL, Eichhorn F, Thomas M, Shah R, Kriegsmann M, Schmidt W, Kofler O, Winter H, Eichhorn ME. Cytoréductive Thoracic Surgery Combined with Hyperthermic Chemoperfusion for Pleural Malignancies: A Single-Center Experience. *Respiration* 2021; 100: 1165-1173.
 142. Klotz LV, Hoffmann H, Shah R, Eichhorn F, Gruenewald C, Bulut EL, Griffo R, Muley T, Christopoulos P, Baum P, Huber P, Safi S, Kriegsmann M, Thomas M, Bischoff H, Winter H, Eichhorn ME. Multimodal therapy of epithelioid pleural mesothelioma: improved survival by changing the surgical treatment approach. *Transl Lung Cancer Res* 2022; 11: 2230-2242.
 143. Koerber SA, Finck R, Dendl K, Uhl M, Lindner T, Kratochwil C, Rohrich M, Rathke H, Ungerechts G, Adeberg S, Herfarth K, Jaeger D, Debus J, Haberkorn U, Giesel FL. Novel FAP ligands enable improved imaging contrast in sarcoma patients due to FAPI-PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021; 48: 3918-3924.
 144. Koerber SA, Rohrich M, Walkenbach L, Liermann J, Choyke PL, Fink C, Schroeter C, Spektor AM, Herfarth K, Walle T, Calais J, Kauczor HU, Jaeger D, Debus J, Haberkorn U, Giesel FL. Impact of (68)Ga-FAPI PET/CT on Staging and Oncologic Management in a Cohort of 226 Patients with Various Cancers. *J Nucl Med* 2023.
 145. Konietzke M, Triphan SMF, Eichinger M, Bossert S, Heller H, Wege S, Eberhardt R, Puderbach MU, Kauczor HU, Heußel G, Heußel CP, Risse F, Wielpütz MO. Unsupervised clustering algorithms improve the reproducibility of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging pulmonary perfusion quantification in muco-obstructive lung diseases. *Front Med (Lausanne)* 2022; 9: 1022981.
 146. Konietzke P, Brunner C, Konietzke M, Wagner WL, Weinheimer O, Heussel CP, Herth FJF, Trudinski F, Kauczor HU, Wielpütz MO. GOLD stage-specific phenotyping of emphysema and airway disease using quantitative computed tomography. *Front Med (Lausanne)* 2023; 10: 1184784.
 147. Konietzke P, Steentoft HH, Wagner WL, Albers J, Dullin C, Skornitzke S, Stiller W, Weber TF, Kauczor HU, Wielpütz MO. Consolidated lung on contrast-enhanced chest CT: the use of spectral-detector computed tomography parameters in differentiating atelectasis and pneumonia. *Heliyon* 2021; 7: e07066.
 148. Kratochwil C, Apostolidis L, Rathke H, Apostolidis C, Bicu F, Bruchertseifer F, Choyke PL, Haberkorn U, Giesel FL, Morgenstern A. Dosing (225)Ac-DOTATOC in patients with somatostatin-receptor-positive solid tumors: 5-year follow-up of hematological and renal toxicity. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021; 49: 54-63.
 149. Kratochwil C, Giesel FL, Rathke H, Fink R, Dendl K, Debus J, Mier W, Jager D, Lindner T, Haberkorn U. [(153)Sm]Samarium-labeled FAPI-46 radioligand therapy in a patient with lung metastases of a sarcoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021; 48: 3011-3013.

150. Kriegsmann K, Lobers F, Zgorzelski C, Kriegsmann J, Janssen C, Meliss RR, Muley T, Sack U, Steinbuss G, Kriegsmann M. Deep learning for the detection of anatomical tissue structures and neoplasms of the skin on scanned histopathological tissue sections. *Front Oncol* 2022; 12: 1022967.
151. Kriegsmann K, Zgorzelski C, Muley T, Christopoulos P, Thomas M, Winter H, Eichhorn M, Eichhorn F, von Winterfeld M, Herpel E, Goeppert B, Stenzinger A, Herth FJF, Warth A, Kriegsmann M. Role of Synaptophysin, Chromogranin and CD56 in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung lacking morphological features of neuroendocrine differentiation: a retrospective large-scale study on 1170 tissue samples. *BMC Cancer* 2021; 21: 486.
152. Kroschke J, von Stackelberg O, Heußel CP, Wielpütz MO, Kauczor HU. Imaging Biomarkers in Thoracic Oncology: Current Advances in the Use of Radiomics in Lung Cancer Patients and its Potential Use for Therapy Response Prediction and Monitoring. *Rofo* 2022; 194: 720-727.
153. Kryvenko V, Alberro-Brage A, Fysikopoulos A, Wessendorf M, Tello K, Morty RE, Herold S, Seeger W, Samakovlis C, Vadasz I. Clathrin-Mediated Albumin Clearance in Alveolar Epithelial Cells of Murine Precision-Cut Lung Slices. *Int J Mol Sci* 2023; 24.
154. Kunz J, Wiedemann C, Grosch H, Kriegsmann K, Gryzik S, Felden J, Hundemer M, Seker-Cin H, Stenzinger M, Leo A, Stenzinger A, Thomas M, Christopoulos P. Early Development of Ubiquitous Acanthocytosis and Extravascular Hemolysis in Lung Cancer Patients Receiving Alectinib. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
155. Labode J, Dullin C, Wagner WL, Myti D, Morty RE, Mühlfeld C. Evaluation of classifications of the monopodial bronchopulmonary vasculature using clustering methods. *Histochem Cell Biol* 2022; 158: 435-445.
156. Lan Y, Moustafa M, Knoll M, Xu C, Furkel J, Lazorchak A, Yeung TL, Hasheminasab SM, Jenkins MH, Meister S, Yu H, Schlegel J, Marelli B, Tang Z, Qin G, Klein C, Qi J, Zhou C, Locke G, Kronic D, Derner MG, Schwager C, Fontana RE, Kriegsmann K, Jiang F, Rein K, Kriegsmann M, Debus J, Lo KM, Abdollahi A. Simultaneous targeting of TGF-beta/PD-L1 synergizes with radiotherapy by reprogramming the tumor microenvironment to overcome immune evasion. *Cancer Cell* 2021; 39: 1388-1403 e1310.
157. Lang M, Kazdal D, Mohr I, Anamaterou C. Differences and similarities of GTF2I mutated thymomas in different Eurasian ethnic groups. *Transl Lung Cancer Res* 2023; 12: 1842-1844.
158. Lederer C, Buschulte K, Hellmich B, Heussel CP, Kriegsmann M, Polke M, Kreuter M. [Interstitial lung diseases : Classification, differential diagnosis and treatment approaches in a heterogeneous group of chronic lung disorders]. *Inn Med (Heidelb)* 2023: 1-12.
159. Lederer C, Mayer K, Somogyi V, Kriegsmann K, Kriegsmann M, Buschulte K, Polke M, Findeisen P, Herth F, Kreuter M. Krebs von den Lungen-6 as a Potential Predictive Biomarker in Fibrosing Interstitial Lung Diseases. *Respiration* 2023; 102: 591-600.
160. Leitz DHW, Duerr J, Mulugeta S, Seyhan Agircan A, Zimmermann S, Kawabe H, Dalpke AH, Beers MF, Mall MA. Congenital Deletion of Nedd4-2 in Lung Epithelial Cells Causes Progressive Alveolitis and Pulmonary Fibrosis in Neonatal Mice. *Int J Mol Sci* 2021; 22.
161. Leutz-Schmidt P, Optazaite DE, Sommerburg O, Eichinger M, Wege S, Steinke E, Graeber SY, Puderbach MU, Schenk JP, Alrajab A, Triphan SMF, Kauczor HU, Stahl M, Mall MA, Wielpütz MO. Magnetic resonance imaging detects onset and association with lung disease severity of bronchial artery dilatation in cystic fibrosis. *ERJ Open Res* 2023; 9.
162. Ley S, Biederer J, Ley-Zaporozhan J, Wielpütz MO, Vogel-Claussen J, Das M, Hamer O. [Chest X-ray: implementation and indication : Recommendations of the thoracic imaging working group of the German Radiological Society]. *Radiologe* 2022; 62: 149-157.
163. Ley-Zaporozhan J, Giannakis A, Norajitra T, Weinheimer O, Kehler L, Dinkel J, Ganter C, Ley S, Van Lunteren C, Eichinger M, Heussel G, Kauczor HU, Maier-Hein KH, Kreuter M, Heussel CP. Fully Automated Segmentation of Pulmonary Fibrosis Using Different Software Tools. *Respiration* 2021; 100: 580-587.
164. Li Q, Zhu L, von Stackelberg O, Triphan SMF, Biederer J, Weinheimer O, Eichinger M, Vogelmeier CF, Jorres RA, Kauczor HU, Heussel CP, Jobst BJ, Wielpütz MO, Group CS. MRI Compared with Low-Dose CT for Incidental Lung Nodule Detection in COPD: A Multicenter Trial. *Radiol Cardiothorac Imaging* 2023; 5: e220176.

165. Liew DP, Rohrich M, Loi L, Adeberg S, Syed M, Gutjahr E, Schlemmer HP, Giesel FL, Bendszus M, Haberkorn U, Paech D. FAP-Specific Signalling Is an Independent Diagnostic Approach in ACC and Not a Surrogate Marker of MRI Sequences. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
166. Lilien TA, Gunjak M, Myti D, Casado F, van Woensel JBM, Morty RE, Bem RA. Long-Term Pulmonary Dysfunction by Hyperoxia Exposure during Severe Viral Lower Respiratory Tract Infection in Mice. *Pathogens* 2022; 11.
167. Lindner T, Altmann A, Giesel F, Kratochwil C, Kleist C, Kramer S, Mier W, Cardinale J, Kauczor HU, Jager D, Debus J, Haberkorn U. (18)F-labeled tracers targeting fibroblast activation protein. *EJNMMI Radiopharm Chem* 2021; 6: 26.
168. Longuespee R, Kunz J, Fresnais M, Foerster KI, Burhenne J, Thomas M, Kazdal D, Stenzinger A, Christopoulos P, Haefeli WE. Therapeutic drug monitoring of osimertinib in non-small cell lung cancer and short bowel syndrome: A case report. *Br J Clin Pharmacol* 2023.
169. Magios N, Bozorgmehr F, Volckmar AL, Kazdal D, Kirchner M, Herth FJ, Heussel CP, Eichhorn F, Meister M, Muley T, Elshafie RA, Fischer JR, Faehling M, Kriegsmann M, Schirmacher P, Bischoff H, Stenzinger A, Thomas M, Christopoulos P. Real-world implementation of sequential targeted therapies for EGFR-mutated lung cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2021; 13: 1758835921996509.
170. Mairbaur H, Kilian S, Seide S, Muckenthaler MU, Gassmann M, Benedict RK. The Increase in Hemoglobin Concentration With Altitude Differs Between World Regions and Is Less in Children Than in Adults. *Hemasphere* 2023; 7: e854.
171. Martini K, Larici AR, Revel MP, Ghaye B, Sverzellati N, Parkar AP, Snoeckx A, Screatton N, Biederer J, Prosch H, Silva M, Brady A, Gleeson F, Frauenfelder T, European Society of Thoracic Imaging tESoR. COVID-19 pneumonia imaging follow-up: when and how? A proposition from ESTI and ESR. *Eur Radiol* 2021.
172. Mathy RM, Kuhn TC, Kappes J, Wielpütz MO, Ruhparwar A, Frankenstein L, Tanner M, Geis N, Fischer C, Kasperk C, Heussel CP, Kreuter M, Wilkens FM. Intracardial PMMA bone cement embolism after kyphoplasty-an unusual cause for sudden chest pain, hemothorax and hemopericardium. *Med Klin Intensivmed Notfmed* 2021; 116: 61-64.
173. Melzig C, Do TD, Egenlauf B, Fink MA, Grünig E, Kauczor HU, Heussel CP, Rengier F. Utility of Automated Cardiac Chamber Volumetry by Nongated CT Pulmonary Angiography for Detection of Pulmonary Hypertension Using the 2018 Updated Hemodynamic Definition. *AJR Am J Roentgenol* 2022; 219: 66-75.
174. Melzig C, Do TD, Egenlauf B, Partovi S, Grünig E, Kauczor HU, Heussel CP, Rengier F. Diagnostic accuracy of automated 3D volumetry of cardiac chambers by CT pulmonary angiography for identification of pulmonary hypertension due to left heart disease. *Eur Radiol* 2022; 32: 5222-5232.
175. Melzig C, Rengier F. [Increased pulmonary arterial and venous pressure]. *Radiologe* 2022; 62: 120-129.
176. Menzel M, Endris V, Schwab C, Kluck K, Neumann O, Beck S, Ball M, Schaaf C, Frohling S, Lichtner P, Schirmacher P, Kazdal D, Stenzinger A, Budczies J. Accurate tumor purity determination is critical for the analysis of homologous recombination deficiency (HRD). *Transl Oncol* 2023; 35: 101706.
177. Metzger MI, Graeber SY, Stahl M, Sommerburg O, Mall MA, Dalpke AH, Boutin S. A Volatile and Dynamic Longitudinal Microbiome Is Associated With Less Reduction in Lung Function in Adolescents With Cystic Fibrosis. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11: 763121.
178. Montani D, Eichstaedt CA, Belge C, Chung WK, Graf S, Grünig E, Humbert M, Quarck R, Tenorio-Castano JA, Soubrier F, Trembath RC, Morrell NW, PVRI P-lawt. [Genetic counselling and testing in pulmonary arterial hypertension - A consensus statement on behalf of the International Consortium for Genetic Studies in PAH - French version]. *Rev Mal Respir* 2023; 40: 838-852.
179. Morty RE. World health day observances in November 2021: advocating for adult and pediatric pneumonia, preterm birth, and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L954-L957.
180. Morty RE. Notable observances in September 2021: sepsis, the lung and heart, pulmonary fibrosis, and peer review in focus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L595-L599.

181. Morty RE, Morris A. World AIDS Day 2021: highlighting the pulmonary complications of HIV/AIDS. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L1069-L1071.
182. Mountzios G, Samantas E, Senghas K, Zervas E, Krisam J, Samitas K, Bozorgmehr F, Kuon J, Agelaki S, Baka S, Athanasiadis I, Gaissmaier L, Elshiaty M, Daniello L, Christopoulou A, Pentheroudakis G, Lianos E, Linardou H, Kriegsmann K, Kosmidis P, El Shafie R, Kriegsmann M, Psyri A, Andreadis C, Fountzilas E, Heussel CP, Herth FJ, Winter H, Emmanouilides C, Oikonomopoulos G, Meister M, Muley T, Bischoff H, Saridaki Z, Razis E, Perdikouri EI, Stenzinger A, Boukovinas I, Reck M, Syrigos K, Thomas M, Christopoulos P. Association of the advanced lung cancer inflammation index (ALI) with immune checkpoint inhibitor efficacy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *ESMO Open* 2021; 6: 100254.
183. Muley T, Herth FJ, Heussel CP, Kriegsmann M, Thomas M, Meister M, Schneider MA, Wehnl B, Mang A, Holdenrieder S. Prognostic value of tumor markers ProGRP, NSE and CYFRA 21-1 in patients with small cell lung cancer and chemotherapy-induced remission. *Tumour Biol* 2023.
184. Munck A, Berger DO, Southern KW, Carducci C, de Winter-de Groot KM, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, Proesmians M, Sands D, Sommerburg O, Castellani C, Barben J, European CFSNSWG. European survey of newborn bloodspot screening for CF: opportunity to address challenges and improve performance. *J Cyst Fibros* 2023; 22: 484-495.
185. Munck A, Southern KW, Castellani C, de Winter-de Groot KM, Gartner S, Kashirskaya N, Linnane B, Mayell SJ, Proesmians M, Sands D, Sommerburg O, Barben J, European CFSNSWG. Defining key outcomes to evaluate performance of newborn screening programmes for cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2021; 20: 820-823.
186. Negrao MV, Araujo HA, Lamberti G, Cooper AJ, Akhave NS, Zhou T, Delasos L, Hicks JK, Aldea M, Minuti G, Hines J, Aredo JV, Dennis MJ, Chakrabarti T, Scott SC, Bironzo P, Scheffler M, Christopoulos P, Stenzinger A, Riess JW, Kim SY, Goldberg SB, Li M, Wang Q, Qing Y, Ni Y, Do MT, Lee R, Ricciuti B, Alessi JV, Wang J, Resuli B, Landi L, Tseng SC, Nishino M, Digumarthy SR, Rinsurongkawong W, Rinsurongkawong V, Vaporciyan AA, Blumenschein GR, Zhang J, Owen DH, Blakely CM, Mountzios G, Shu CA, Bestvina CM, Garassino MC, Marrone KA, Gray JE, Patel SP, Cummings AL, Wakelee HA, Wolf J, Scagliotti GV, Cappuzzo F, Barlesi F, Patil PD, Drusbosky L, Gibbons DL, Meric-Bernstam F, Lee JJ, Heymach JV, Hong DS, Heist RS, Awad MM, Skoulidis F. Co-mutations and KRAS G12C inhibitor efficacy in advanced NSCLC. *Cancer Discov* 2023.
187. Novruzov E, Mori Y, Antke C, Dabir M, Schmitt D, Kratochwil C, Koerber SA, Haberkorn U, Giesel FL. A Role of Non-FDG Tracers in Lung Cancer? *Semin Nucl Med* 2022; 52: 720-733.
188. Nurjadi D, Kocer K, Chanthalangsy Q, Klein S, Heeg K, Boutin S. New Delhi metallo-beta-lactamase facilitates the emergence of cefiderocol resistance in *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2021: AAC0201121.
189. O'Dowd EL, Tietzova I, Bartlett E, Devaraj A, Biederer J, Brambilla M, Brunelli A, Chorostowska J, Decaluwe H, Deruysscher D, De Wever W, Donoghue M, Fabre A, Gaga M, van Geffen W, Hardavella G, Kauczor HU, Kerpel-Fronius A, van Meerbeeck J, Nagavci B, Nestle U, Novoa N, Prosch H, Prokop M, Putora PM, Rawlinson J, Revel MP, Snoeckx A, Veronesi G, Vliegenthart R, Weckbach S, Blum TG, Baldwin DR. ERS/ESTS/ESTRO/ESR/ESTI/EFOMP statement on management of incidental findings from low dose CT screening for lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2023; 64.
190. Ou SI, Hong JL, Christopoulos P, Lin HM, Vincent S, Churchill EN, Soeda J, Kazdal D, Stenzinger A, Thomas M. Distribution and Detectability of EGFR Exon 20 Insertion Variants in NSCLC. *J Thorac Oncol* 2023; 18: 744-754.
191. Paleviciute E, Celutkiene J, Simbelyte T, Gumbiene L, Jureviciene E, Zakarkaite D, Cesna S, Eichstaedt CA, Benjamin N, Grunig E. Safety and effectiveness of standardized exercise training in patients with pulmonary hypertension associated with heart failure with preserved ejection fraction (TRAIN-HFpEF-PH): study protocol for a randomized controlled multicenter trial. *Trials* 2023; 24: 281.
192. Paleviciute E, Simbelyte T, Eichstaedt CA, Benjamin N, Egenlauf B, Grunig E, Celutkiene J. The effect of exercise training and physiotherapy on left and right heart function in heart failure with preserved ejection fraction: a systematic literature review. *Heart Fail Rev* 2023; 28: 193-206.

193. Palm V, Heye T, Molwitz I, von Stackelberg O, Kauczor HU, Schreyer AG. Sustainability and Climate Protection in Radiology - An Overview. *Rofo* 2023; 195: 981-988.
194. Palm V, Molwitz I, Rischen R, Westphalen K, Kauczor HU, Schreyer AG. [Sustainability and climate protection : Implications on patient-centered care in radiology]. *Radiologie (Heidelb)* 2023; 63: 672-678.
195. Palm V, Norajitra T, von Stackelberg O, Heussel CP, Skornitzke S, Weinheimer O, Kopytova T, Klein A, Almeida SD, Baumgartner M, Bounias D, Scherer J, Kades K, Gao H, Jäger P, Nolden M, Tong E, Eckl K, Nattenmüller J, Nonnenmacher T, Naas O, Reuter J, Bischoff A, Kroschke J, Rengier F, Schlamp K, Debic M, Kauczor HU, Maier-Hein K, Wielpütz MO. AI-Supported Comprehensive Detection and Quantification of Biomarkers of Subclinical Widespread Diseases at Chest CT for Preventive Medicine. *Healthcare (Basel)* 2022; 10.
196. Penha D, Pinto E, Monaghan C, Hochegger B, Marchiori E, Taborda-Barata L, Irion K, Ravara S, Kauczor HU. Incidental findings on lung cancer screening: pictorial essay and systematic checklist. *J Bras Pneumol* 2022; 48: e20210371.
197. Peters AA, Christe A, von Stackelberg O, Pohl M, Kauczor HU, Heussel CP, Wielpütz MO, Ebner L. "Will I change nodule management recommendations if I change my CAD system?"-impact of volumetric deviation between different CAD systems on lesion management. *Eur Radiol* 2023.
198. Peters AA, Solomon JB, von Stackelberg O, Samei E, Alsaihati N, Valenzuela W, Debic M, Heidt C, Huber AT, Christe A, Heverhagen JT, Kauczor HU, Heussel CP, Ebner L, Wielpütz MO. Influence of CT dose reduction on AI-driven malignancy estimation of incidental pulmonary nodules. *Eur Radiol* 2023.
199. Peters AA, Weinheimer O, von Stackelberg O, Kroschke J, Piskorski L, Debic M, Schlamp K, Welzel L, Pohl M, Christe A, Ebner L, Kauczor HU, Heussel CP, Wielpütz MO. Quantitative CT analysis of lung parenchyma to improve malignancy risk estimation in incidental pulmonary nodules. *Eur Radiol* 2023; 33: 3908-3917.
200. Probst K, Nurjadi D, Heeg K, Frede AM, Dalpke AH, Boutin S. Molecular Detection of Carbapenemases in Enterobacterales: A Comparison of Real-Time Multiplex PCR and Whole-Genome Sequencing. *Antibiotics (Basel)* 2021; 10.
201. Pühringer R, Muckenthaler M, Burtscher M. Association Between Ferritin Levels and Altitude-Dependent Cardiorespiratory Fitness in Mountain Guides. *High Alt Med Biol* 2023; 24: 139-143.
202. Rajakumar T, Horos R, Kittner P, Kahraman M, Sikosek T, Hinkfoth F, Tikk K, Mercaldo ND, Stenzinger A, Rabe KF, Reck M, Thomas M, Christopoulos P, Steinkraus BR. Brief Report: A Blood-Based MicroRNA Complementary Diagnostic Predicts Immunotherapy Efficacy in Advanced-Stage NSCLC With High Programmed Death-Ligand 1 Expression. *JTO Clin Res Rep* 2022; 3: 100369.
203. Ram S, Hoff BA, Bell AJ, Galban S, Fortuna AB, Weinheimer O, Wielpütz MO, Robinson TE, Newman B, Vummidi D, Chughtai A, Kazerooni EA, Johnson TD, Han MK, Hatt CR, Galban CJ. Improved detection of air trapping on expiratory computed tomography using deep learning. *PLoS One* 2021; 16: e0248902.
204. Reck M, Dettmer S, Kauczor HU, Kaaks R, Reinmuth N, Vogel-Claussen J. Lung Cancer Screening With Low-Dose Computed Tomography. *Dtsch Arztebl Int* 2023; 120: 387-392.
205. Rheinheimer S, Christopoulos P, Erdmann S, Saupe J, Golpon H, Vogel-Claussen J, Dinkel J, Thomas M, Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G. Dynamic contrast enhanced MRI of pulmonary adenocarcinomas for early risk stratification: higher contrast uptake associated with response and better prognosis. *BMC Med Imaging* 2022; 22: 215.
206. Rickert-Zacharias V, Schultz M, Mall MA, Schultz C. Visualization of Ectopic Serine Protease Activity by Förster Resonance Energy Transfer-Based Reporters. *ACS Chem Biol* 2021; 16: 2174-2184.
207. Roehmel JF, Doerfler FJ, Koerner-Rettberg C, Brinkmann F, Schlegtendal A, Wetzke M, Rudolf I, Helms S, Große-Onnebrink J, Yu Y, Nuesslein T, Wojsyk-Banaszak I, Becker S, Eickmeier O, Sommerburg O, Omran H, Stahl M, Mall MA. Comparison of the Lung Clearance Index in Preschool Children With Primary Ciliary Dyskinesia and Cystic Fibrosis. *Chest* 2022; 162: 534-542.
208. Roeper J, Christopoulos P, Falk M, Heukamp LC, Tiemann M, Stenzinger A, Thomas M, Griesinger F. TP53 co-mutations as an independent prognostic factor in 2nd and further line

- therapy-EGFR mutated non-small cell lung cancer IV patients treated with osimertinib. *Transl Lung Cancer Res* 2022; 11: 4-13.
209. Rohrich M, Leitz D, Glatting FM, Wefers AK, Weinheimer O, Flechsig P, Kahn N, Mall MA, Giesel FL, Kratochwil C, Huber PE, Deimling AV, Heussel CP, Kauczor HU, Kreuter M, Haberkorn U. Fibroblast Activation Protein-Specific PET/CT Imaging in Fibrotic Interstitial Lung Diseases and Lung Cancer: A Translational Exploratory Study. *J Nucl Med* 2022; 63: 127-133.
 210. Rohrich M, Syed M, Liew DP, Giesel FL, Liermann J, Choyke PL, Wefers AK, Ritz T, Szymbara M, Schillings L, Heger U, Rathke H, Kratochwil C, Huber PE, von Deimling A, Debus J, Kauczor HU, Haberkorn U, Adeberg S. (68)Ga-FAPI-PET/CT improves diagnostic staging and radiotherapy planning of adenoid cystic carcinomas - Imaging analysis and histological validation. *Radiother Oncol* 2021; 160: 192-201.
 211. Romanovsky E, Kluck K, Ourailidis I, Menzel M, Beck S, Ball M, Kazdal D, Christopoulos P, Schirmacher P, Stiewe T, Stenzinger A, Budczies J. Homogenous TP53mut-associated tumor biology across mutation and cancer types revealed by transcriptome analysis. *Cell Death Discov* 2023; 9: 126.
 212. Roupakia E, Chavdoula E, Karpathiou G, Vatsellas G, Chatzopoulos D, Mela A, Gillette JM, Kriegsmann K, Kriegsmann M, Batistatou A, Goussia A, Marcu KB, Karteris E, Klinakis A, Kolettas E. Canonical NF-kappaB Promotes Lung Epithelial Cell Tumour Growth by Downregulating the Metastasis Suppressor CD82 and Enhancing Epithelial-to-Mesenchymal Cell Transition. *Cancers (Basel)* 2021; 13.
 213. Rower LM, Radke KL, Hussmann J, Malik H, Eichinger M, Voit D, Wielputz MO, Frahm J, Klee D, Pillekamp F. First experience with real-time magnetic resonance imaging-based investigation of respiratory influence on cardiac function in pediatric congenital heart disease patients with chronic right ventricular volume overload. *Pediatr Radiol* 2023.
 214. Rower LM, Uelwer T, Hussmann J, Malik H, Eichinger M, Voit D, Wielputz MO, Frahm J, Harmeling S, Klee D, Pillekamp F. Spirometry-based reconstruction of real-time cardiac MRI: Motion control and quantification of heart-lung interactions. *Magn Reson Med* 2021; 86: 2692-2702.
 215. Rubio K, Muller 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. Preliminary results from the EMOlung clinical study showing early lung cancer detection by the LC score. *Discov Oncol* 2023; 14: 181.
 216. Saalfeld FC, Wenzel C, Christopoulos P, Merkelbach-Bruse S, Reissig TM, Lassmann S, Thiel S, Stratmann JA, Marienfeld R, Berger J, Desuki A, Velthaus JL, Kauffmann-Guerrero D, Stenzinger A, Michels S, Herold T, Kramer M, Herold S, Tufman A, Loges S, Alt J, Joosten M, Schmidtke-Schrezenmeier G, Sebastian M, Stephan-Falkenau S, Waller CF, Wiesweg M, Wolf J, Thomas M, Aust DE, Wermke M, National Network Genomic Medicine Lung C. Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors Alone or in Combination With Chemotherapy in NSCLC Harboring ERBB2 Mutations. *J Thorac Oncol* 2021; 16: 1952-1958.
 217. Salg GA, Ganten MK, Bucher AM, Kenngott HG, Fink MA, Seibold C, Fischbach RE, Schlamp K, Velandia CA, Fervers P, Doellinger F, Luger A, Afat S, Merle U, Diener MK, Pereira PL, Penzkofer T, Persigehl T, Othman A, Heussel CP, Baumhauer M, Widmann G, Stathopoulos K, Hamm B, Vogl TJ, Nikolaou K, Kauczor HU, Kleesiek J. A reporting and analysis framework for structured evaluation of COVID-19 clinical and imaging data. *NPJ Digit Med* 2021; 4: 69.
 218. Salomon JJ, Albrecht T, Graeber SY, Scheuermann H, Butz S, Schatterny J, Mairbaur H, Baumann I, Mall MA. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is associated with impaired TMEM16A-mediated epithelial chloride secretion. *J Allergy Clin Immunol* 2021; 147: 2191-2201 e2192.
 219. Samarin J, Fabrowski P, Kurilov R, Nuskova H, Hummel-Eisenbeiss J, Pink H, Li N, Weru V, Alborzinia H, Yildiz U, Grob L, Taubert M, Czech M, Morgen M, Brandstadter C, Becker K, Mao L, Jayavelu AK, Goncalves A, Uhrig U, Seiler J, Lyu Y, Diederichs S, Klingmuller U, Muckenthaler M, Kopp-Schneider A, Teleman A, Miller AK, Gunkel N. Low level of antioxidant capacity biomarkers but not target overexpression predicts vulnerability to ROS-inducing drugs. *Redox Biol* 2023; 62: 102639.

220. Sands J, Tammemagi MC, Couraud S, Baldwin DR, Borondy-Kitts A, Yankelevitz D, Lewis J, Grannis F, Kauczor HU, von Stackelberg O, Sequist L, Pastorino U, McKee B. Lung Screening Benefits and Challenges: A Review of The Data and Outline for Implementation. *J Thorac Oncol* 2021; 16: 37-53.
221. Schaupp L, Addante A, Voller M, Fentker K, Kuppe A, Bardua M, Duerr J, Piehler L, Rohmel J, Thee S, Kirchner M, Ziehm M, Lauster D, Haag R, Gradzielski M, Stahl M, Mertins P, Boutin S, Graeber SY, Mall MA. Longitudinal Effects of Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor on Sputum Viscoelastic Properties, Airway Infection and Inflammation in Patients with Cystic Fibrosis. *Eur Respir J* 2023.
222. Schiebler ML, Parraga G, Geftter WB, Madore B, Lee KS, Ohno Y, Kauczor HU, Hatabu H. Synopsis from Expanding Applications of Pulmonary MRI in the Clinical Evaluation of Lung Disorders: Fleischner Society Position Paper. *Chest* 2021; 159: 492-495.
223. Schindler H, Lusky F, Daniello L, Elshiaty M, Gaissmaier L, Benesova K, Souto-Carneiro M, Angeles AK, Janke F, Eichhorn F, Kazdal D, Schneider M, Liersch S, Klemm S, Schnitzler P, Stenzinger A, Sülthmann H, Thomas M, Christopoulos P. Serum cytokines predict efficacy and toxicity, but are not useful for disease monitoring in lung cancer treated with PD-(L)1 inhibitors. *Front Oncol* 2022; 12: 1010660.
224. Schiwiek M, Triphan SMF, Biederer J, Weinheimer O, Eichinger M, Vogelmeier CF, Jorres RA, Kauczor HU, Heussel CP, Konietzke P, von Stackelberg O, Risse F, Jobst BJ, Wielputz MO, group Cs. Quantification of pulmonary perfusion abnormalities using DCE-MRI in COPD: comparison with quantitative CT and pulmonary function. *Eur Radiol* 2021.
225. Schutte W, Gutz S, Nehls W, Blum TG, Bruckl W, Buttmann-Schweiger N, Buttner R, Christopoulos P, Delis S, Deppermann KM, Dickgreber N, Eberhardt W, Eggeling S, Fleckenstein J, Flentje M, Frost N, Griesinger F, Grohe C, Groschel A, Guckenberger M, Hecker E, Hoffmann H, Huber RM, Junker K, Kauczor HU, Kollmeier J, Kraywinkel K, Kruger M, Kugler C, Moller M, Nestle U, Passlick B, Pfannschmidt J, Reck M, Reinmuth N, Rube C, Scheubel R, Schumann C, Sebastian M, Serke M, Stoelben E, Stuschke M, Thomas M, Tufman A, Vordermark D, Waller C, Wolf J, Wolf M, Wormanns D. [Prevention, Diagnosis, Therapy, and Follow-up of Lung Cancer - Interdisciplinary Guideline of the German Respiratory Society and the German Cancer Society - Abridged Version]. *Pneumologie* 2023; 77: 671-813.
226. Schwartz U, Llamazares Prada M, Pohl ST, Richter M, Tamas R, Schuler M, Keller C, Mijosek V, Muley T, Schneider MA, Quast K, Hey J, Heussel CP, Warth A, Winter H, Sercin O, Karmouty-Quintana H, Jyothula SS, Patel MK, Herth F, Koch I, Petrosino G, Titimeaua A, Mardin BR, Weichenhan D, Jurkowski TP, Imbusch CD, Brors B, Benes V, Jung B, Wyatt D, Stahl HF, Plass C, Jurkowska RZ. High-resolution transcriptomic and epigenetic profiling identifies novel regulators of COPD. *EMBO J* 2023: e111272.
227. Sebastian M, Eberhardt WEE, Hoffknecht P, Metzenmacher M, Wehler T, Kokowski K, Alt J, Schutte W, Buttner R, Heukamp LC, Stenzinger A, Janicke M, Fleitz A, Zacharias S, Dille S, Hipper A, Sandberg M, Weichert W, Groschek M, von der Heyde E, Rauh J, Dechow T, Thomas M, Griesinger F, Group CR. KRAS G12C-mutated advanced non-small cell lung cancer: A real-world cohort from the German prospective, observational, nation-wide CRISP Registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer* 2021; 154: 51-61.
228. Seker-Cin H, Tay TKY, Kazdal D, Kluck K, Ball M, Neumann O, Winter H, Herth F, Heussel CP, Savai R, Schirmacher P, Thomas M, Budczies J, Allgauer M, Christopoulos P, Stenzinger A, Volckmar AL. Analysis of rare fusions in NSCLC: Genomic architecture and clinical implications. *Lung Cancer* 2023; 184: 107317.
229. Shimoda LA, Bai C, Bartlett NW, Bastarache JA, Feghali-Bostwick C, Gunst SJ, Kuebler WM, Schmidt EP, Morty RE. Promoting our early career members at AJP-Lung: the Editorial Board Fellowship Program and the Next Generation Physiologist Highlights section at our Journal. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L844-L846.
230. Shimoda LA, Bai C, Bartlett NW, Bastarache JA, Feghali-Bostwick C, Kuebler WM, Prakash YS, Schmidt EP, Morty RE. Announcing the Editorial Board Fellowship Program of the American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 321: L116-L118.

231. Siegle A, Unsold L, Deis N, Krug K, Bossert J, Krisam J, Jung C, Junger J, Wensing M, Thomas M, Villalobos M. Communication with patients with limited prognosis-an integrative mixed-methods evaluation study. *Support Care Cancer* 2022; 31: 77.
232. Sin D, McLennan G, Rengier F, Haddadin I, Heresi GA, Bartholomew JR, Fink MA, Thompson D, Partovi S. Acute pulmonary embolism multimodality imaging prior to endovascular therapy. *Int J Cardiovasc Imaging* 2021; 37: 343-358.
233. Skornitzke S, Mergen V, Biederer J, Alkadhi H, Do TD, Stiller W, Frauenfelder T, Kauczor HU, Euler A. Metal Artifact Reduction in Photon-Counting Detector CT: Quantitative Evaluation of Artifact Reduction Techniques. *Invest Radiol* 2023.
234. Skornitzke S, Vats N, Kopytova T, Tong EWY, Hofbauer T, Weber TF, Rehnitz C, von Stackelberg O, Maier-Hein K, Stiller W, Biederer J, Kauczor HU, Heussel CP, Wielpütz M, Palm V. Asynchronous calibration of quantitative computed tomography bone mineral density assessment for opportunistic osteoporosis screening: phantom-based validation and parameter influence evaluation. *Sci Rep* 2022; 12: 20729.
235. Sobol B, Azzam Nieto O, Eberlein EL, Scherr AL, Ismail L, Kessler A, Nader L, Schwab M, Hoffmeister P, Schmitt N, Jäger D, Welte S, Seidensaal K, Christopoulos P, Heilig C, Kriegsmann K, Fröhling S, Kriegsmann M, Hess J, Köhler BC. Specific Targeting of Antiapoptotic Bcl-2 Proteins as a Radiosensitizing Approach in Solid Tumors. *Int J Mol Sci* 2022; 23.
236. Sodhi KS, Ciet P, Vasanawala S, Biederer J. Practical protocol for lung magnetic resonance imaging and common clinical indications. *Pediatr Radiol* 2021.
237. Sommerburg O, Hammerling S, Schneider SP, Okun J, Langhans CD, Leutz-Schmidt P, Wielpütz MO, Siems W, Graber SY, Mall MA, Stahl M. CFTR Modulator Therapy with Lumacaftor/Ivacaftor Alters Plasma Concentrations of Lipid-Soluble Vitamins A and E in Patients with Cystic Fibrosis. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10.
238. Sommerburg O, Stahl M, Hämmerling S, Gramer G, Muckenthaler MU, Okun J, Kohlmüller D, Happich M, Kulozik AE, Mall MA, Hoffmann GF. Final results of the southwest German pilot study on cystic fibrosis newborn screening - Evaluation of an IRT/PAP protocol with IRT-dependent safety net. *J Cyst Fibros* 2022; 21: 422-433.
239. Sommerburg O, Wielpütz MO. [Update on cystic fibrosis : From neonatal screening to causal treatment]. *Radiologie (Heidelb)* 2022; 62: 981-994.
240. Stahl M, Roehmel J, Eichinger M, Doellinger F, Naehrlich L, Kopp MV, Dittrich AM, Lee C, Sommerburg O, Tian S, Xu T, Wu P, Joshi A, Ray P, Duncan ME, Wielpütz MO, Mall MA. Effects of Lumacaftor/Ivacaftor on Cystic Fibrosis Disease Progression in Children 2 through 5 Years of Age Homozygous for F508del-CFTR: A Phase 2 Placebo-controlled Clinical Trial. *Ann Am Thorac Soc* 2023.
241. Stahl M, Steinke E, Graeber SY, Joachim C, Seitz C, Kauczor HU, Eichinger M, Hammerling S, Sommerburg O, Wielpütz MO, Mall MA. Magnetic Resonance Imaging Detects Progression of Lung Disease and Impact of Newborn Screening in Preschool Children with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2021; 204: 943-953.
242. Steinke E, Wielpütz MO, Joachim C, Mall MA, Stahl M. Reanalysis of N(2)-lung clearance index and the comparison to SF(6)-lung clearance index and magnetic resonance imaging. *J Cyst Fibros* 2023.
243. Stenzinger A, Alber M, Allgauer M, Jurmeister P, Bockmayr M, Budczies J, Lennerz J, Eschrich J, Kazdal D, Schirmacher P, Wagner AH, Tacke F, Capper D, Muller KR, Klauschen F. Artificial intelligence and pathology: From principles to practice and future applications in histomorphology and molecular profiling. *Semin Cancer Biol* 2021.
244. Stenzinger A, Cuffel B, Paracha N, Vail E, Garcia-Foncillas J, Goodman C, Lassen U, Vassal G, Sullivan SD. Supporting Biomarker-Driven Therapies in Oncology: A Genomic Testing Cost Calculator. *Oncologist* 2023; 28: e242-e253.
245. Stenzinger A, Kazdal D, Peters S. Strength in numbers: predicting response to checkpoint inhibitors from large clinical datasets. *Cell* 2021; 184: 571-573.
246. Stenzinger A, van Tilburg CM, Tabatabai G, Langer F, Graf N, Griesinger F, Heukamp LC, Hummel M, Klingebiel T, Hettmer S, Vokuhl C, Merkelbach-Bruse S, Overkamp F, Reichardt P, Scheer M, Weichert W, Westphalen CB, Bokemeyer C, Ivanyi P, Loges S, Schirmacher P, Wormann

- B, Bielack S, Seufferlein TTW. [Diagnosis and therapy of tumors with NTRK gene fusion]. *Pathologe* 2021; 42: 103-115.
247. Stögbauer F, Lautizi M, Kriegsmann M, Winter H, Muley T, Kriegsmann K, Jesinghaus M, Baumbach J, Schöffler P, Weichert W, Kacprowski T, Boxberg M. Tumour cell budding and spread through air spaces in squamous cell carcinoma of the lung - Determination and validation of optimal prognostic cut-offs. *Lung Cancer* 2022; 169: 1-12.
 248. Supady A, Lepper PM, Bracht H, Moerer O, Muellenbach RM, Michels G, Fiedler MO, Kalenka A, Kochanek M, Mutlak H, Danziger G, Muenz S, Lunz D, Hoersch S, Staudacher D, Wengenmayer T, Zotzmann V. Conservative management of COVID-19 associated hypoxaemia. *ERJ Open Res* 2021; 7.
 249. Sutharsan S, Dillenhoefer S, Welsner M, Stehling F, Brinkmann F, Burkhart M, Ellemunter H, Dittrich AM, Smaczny C, Eickmeier O, Kappler M, Schwarz C, Sieber S, Naehrig S, Naehrlich L, German CFRotMeV, participating CFs. Impact of elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor on lung function, nutritional status, pulmonary exacerbation frequency and sweat chloride in people with cystic fibrosis: real-world evidence from the German CF Registry. *Lancet Reg Health Eur* 2023; 32: 100690.
 250. Sviridenko A, Boehm A, di Santo G, Uprimny C, Nilica B, Fritz J, Giesel FL, Haberkorn U, Sahanic S, Decristoforo C, Tancevski I, Widmann G, Loeffler-Ragg J, Virgolini I. Enhancing Clinical Diagnosis for Patients With Persistent Pulmonary Abnormalities After COVID-19 Infection: The Potential Benefit of 68 Ga-FAPI PET/CT. *Clin Nucl Med* 2022; 47: 1026-1029.
 251. Theobald V, Benjamin N, Seyfarth HJ, Halank M, Schneider MA, Richtmann S, Hinderhofer K, Xanthouli P, Egenlauf B, Seeger R, Hoeper MM, Jonigk D, Grünig E, Eichstaedt CA. Reduction of BMPR2 mRNA Expression in Peripheral Blood of Pulmonary Arterial Hypertension Patients: A Marker for Disease Severity? *Genes (Basel)* 2022; 13.
 252. Theobald V, Grünig E, Benjamin N, Seyfarth HJ, Halank M, Schneider MA, Richtmann S, Kazdal D, Hinderhofer K, Xanthouli P, Egenlauf B, Harutyunova S, Hoeper MM, Jonigk D, Sparla R, Muckenthaler MU, Eichstaedt CA. Is iron deficiency caused by BMPR2 mutations or dysfunction in pulmonary arterial hypertension patients? *Pulm Circ* 2023; 13: e12242.
 253. Tony-Odigie A, Wilke L, Boutin S, Dalpke AH, Yi B. Commensal Bacteria in the Cystic Fibrosis Airway Microbiome Reduce *P. aeruginosa* Induced Inflammation. *Front Cell Infect Microbiol* 2022; 12: 824101.
 254. Trefzer TB, Schneider MA, Jechow K, Chua RL, Muley T, Winter H, Kriegsmann M, Meister M, Eils R, Conrad C. Intratumoral Heterogeneity and Immune Modulation in Lung Adenocarcinoma in Female Smokers and Never Smokers. *Cancer Res* 2022; 82: 3116-3129.
 255. Triphan SMF, Bauman G, Konietzke P, Konietzke M, Wielpütz MO, International Workshop for Pulmonary Functional I. Magnetic Resonance Imaging of Lung Perfusion. *J Magn Reson Imaging* 2023.
 256. Triphan SMF, Weinheimer O, Gutberlet M, Heussel CP, Vogel-Claussen J, Herth F, Vogelmeier CF, Jorres RA, Kauczor HU, Wielpütz MO, Biederer J, Jobst BJ, Group CS. Echo Time-Dependent Observed Lung T1 in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Correlation With Quantitative Imaging and Clinical Indices. *J Magn Reson Imaging* 2021; 54: 1562-1571.
 257. Trudzinski FC, Jörres RA, Alter P, Walter J, Watz H, Koch A, John M, Lommatzsch M, Vogelmeier CF, Kauczor HU, Welte T, Behr J, Tufman A, Bals R, Herth FJF, Kahnert K. Sex-specific associations of comorbidome and pulmorbidome with mortality in chronic obstructive pulmonary disease: results from COSYCONET. *Sci Rep* 2022; 12: 8790.
 258. Trudzinski FC, Kellerer C, Jorres RA, Alter P, Lutter JI, Trinkmann F, Herth FJF, Frankenberger M, Watz H, Vogelmeier CF, Kauczor HU, Welte T, Behr J, Bals R, Kahnert K. Gender-specific differences in COPD symptoms and their impact for the diagnosis of cardiac comorbidities. *Clin Res Cardiol* 2023; 112: 177-186.
 259. Uhrig S, Ellermann J, Walther T, Burkhardt P, Frohlich M, Hutter B, Toprak UH, Neumann O, Stenzinger A, Scholl C, Frohling S, Brors B. Accurate and efficient detection of gene fusions from RNA sequencing data. *Genome Res* 2021; 31: 448-460.
 260. Vogel-Claussen J, Blum TG, Andreas S, Bauer TT, Barkhausen J, Harth V, Kauczor HU, Pankow W, Welcker K, Kaaks R, Hoffmann H, Deutsche R, Vorstand der Deutschen Gesellschaft

- fur Pneumologie und B, Vorstand der Deutschen Gesellschaft fur T, Vorstand der Deutschen R. [Statement paper on the implementation of a national organized program in Germany for the early detection of lung cancer in risk populations using low-dose CT screening including management of screening findings]. Rofo 2023.
261. Vogel-Claussen J, Lasch F, Bollmann BA, May K, Kuhlmann A, Schmid-Bindert G, Kaaks R, Barkhausen J, Bohnet S, Reck M. Design and Rationale of the HANSE Study: A Holistic German Lung Cancer Screening Trial Using Low-Dose Computed Tomography. Rofo 2022; 194: 1333-1345.
 262. Volckmar AL, Christopoulos P, Kirchner M, Allgauer M, Neumann O, Budczies J, Rempel E, Horak P, Glade J, Goldschmid H, Seker-Cin H, Brandt R, Kriegsmann M, Leichsenring J, Winter H, Faehling M, Fischer JR, Heussel CP, Herth F, Brummer T, Frohling S, Schirmacher P, Thomas M, Endris V, Penzel R, Kazdal D, Bochtler T, Stenzinger A. Targeting rare and non-canonical driver variants in NSCLC - An uncharted clinical field. Lung Cancer 2021; 154: 131-141.
 263. von Kruchten R, Lorbeer R, Schuppert C, Storz C, Mujaj B, Schulz H, Kauczor HU, Peters A, Bamberg F, Karrasch S, Schlett CL. Subclinical cardiac impairment relates to traditional pulmonary function test parameters and lung volume as derived from whole-body MRI in a population-based cohort study. Sci Rep 2021; 11: 16173.
 264. Walter S, Mertens C, Muckenthaler MU, Ott C. Cardiac iron metabolism during aging - Role of inflammation and proteolysis. Mech Ageing Dev 2023; 215: 111869.
 265. Wandernoth P, Kriegsmann K, Kriegsmann J, Kriegsmann M. Detection of SARS-CoV-2 by Mass Spectrometry. Methods Mol Biol 2022; 2452: 183-196.
 266. Ward B, Koziar Vasakova M, Robalo Cordeiro C, Yorgancioglu A, Chorostowska-Wynimko J, Blum TG, Kauczor HU, Samarzija M, Henschke C, Wheelock C, Grigg J, Andersen ZJ, Koblizek V, Majek O, Odemyr M, Powell P, Seijo LM. Important steps towards a big change for lung health: a joint approach by the European Respiratory Society, the European Society of Radiology and their partners to facilitate implementation of the European Union's new recommendations on lung cancer screening. ERJ Open Res 2023; 9.
 267. Weckbach S, Wielputz MO, von Stackelberg O. [Patient-centered, value-based management of incidental findings in radiology]. Radiologie (Heidelb) 2023; 63: 657-664.
 268. Wehrse E, Klein L, Rotkopf LT, Wagner WL, Uhrig M, Heussel CP, Ziener CH, Delorme S, Heinze S, Kachelriess M, Schlemmer HP, Sawall S. Photon-counting detectors in computed tomography: from quantum physics to clinical practice. Radiologe 2021; 61: 1-10.
 269. Weinheimer O, Konietzke P, Wagner WL, Weber D, Newman B, Galban CJ, Kauczor HU, Mall MA, Robinson TE, Wielputz MO. MDCT-based longitudinal automated airway and air trapping analysis in school-age children with mild cystic fibrosis lung disease. Front Pediatr 2023; 11: 1068103.
 270. Welch CL, Aldred MA, Balachandar S, Dooijes D, Eichstaedt CA, Graf S, Houweling AC, Machado RD, Pandya D, Prapa M, Shaikat M, Southgate L, Tenorio-Castano J, ClinGen PV, Chung WK, International Consortium for Genetic Studies in Pulmonary Arterial Hypertension at the Pulmonary Vascular Research I. Defining the Clinical Validity of Genes Reported to Cause Pulmonary Arterial Hypertension. Genet Med 2023: 100925.
 271. Wiedemann C, Kazdal D, Cvetkovic J, Kunz J, Fisch D, Kirchner M, Kriegsmann M, Sultmann H, Heussel CP, Bischoff H, Thomas M, Stenzinger A, Christopoulos P. Lorlatinib and compound mutations in ALK+ large-cell neuroendocrine lung carcinoma: a case report. Cold Spring Harb Mol Case Stud 2022; 8.
 272. Wielputz MO. Commentary: Expert Opinion to "Imaging Bronchopulmonary Dysplasia-A Multimodality Update". Front Med (Lausanne) 2021; 8: 737724.
 273. Wielputz MO. MRI of Pulmonary Nodules: Closing the Gap on CT. Radiology 2021: 212516.
 274. Wielputz MO. Artificial Intelligence for Interstitial Lung Disease: Proudly Supporting Radiologists Since 2021. Radiology 2022; 302: 198-199.
 275. Wielputz MO. The Proton Is Not Enough: Opportunities of Combined Multinuclear MRI for Lung Functional Imaging. Chest 2023; 164: 572-573.
 276. Wucherpfennig L, Kahn N, Preusch MR, Kriegsmann M, Heussel CP, Wielputz MO, Kreuter M, Kriegsmann K, Eichinger M. [Fever, cough, limb pain - a trivial infection?]. Med Klin Intensivmed Notfmed 2021; 116: 454-458.

277. Wucherpfennig L, Kauczor HU, Eichinger M, Wielpütz MO. [Magnetic resonance imaging of the lung : State of the art]. *Radiologie (Heidelb)* 2023; 63: 849-862.
278. Wucherpfennig L, Triphan SM, Weinheimer O, Eichinger M, Wege S, Eberhardt R, Puderbach MU, Kauczor HU, Heussel CP, Heussel G, Wielpütz MO. Reproducibility of pulmonary magnetic resonance angiography in adults with muco-obstructive pulmonary disease. *Acta Radiol* 2023; 64: 1038-1046.
279. Wucherpfennig L, Triphan SMF, Wege S, Kauczor HU, Heussel CP, Schmitt N, Wuennemann F, Mayer VL, Sommerburg O, Mall MA, Eichinger M, Wielpütz MO. Magnetic resonance imaging detects improvements of pulmonary and paranasal sinus abnormalities in response to elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor therapy in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2022; 21: 1053-1060.
280. Wucherpfennig L, Triphan SMF, Wege S, Kauczor HU, Heussel CP, Sommerburg O, Stahl M, Mall MA, Eichinger M, Wielpütz MO. Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor Improves Bronchial Artery Dilatation Detected by Magnetic Resonance Imaging in Patients with Cystic Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc* 2023; 20: 1595-1604.
281. Wucherpfennig L, Wuennemann F, Eichinger M, Schmitt N, Seitz A, Baumann I, Stahl M, Graeber SY, Chung J, Schenk JP, Alrajab A, Kauczor HU, Mall MA, Sommerburg O, Wielpütz MO. Longitudinal Magnetic Resonance Imaging Detects Onset and Progression of Chronic Rhinosinusitis from Infancy to School Age in Cystic Fibrosis. *Ann Am Thorac Soc* 2023; 20: 687-697.
282. Wucherpfennig L, Wuennemann F, Eichinger M, Seitz A, Baumann I, Stahl M, Graeber SY, Zhao S, Chung J, Schenk JP, Alrajab A, Kauczor HU, Mall MA, Sommerburg O, Wielpütz MO. Long-term effects of lumacaftor/ivacaftor on paranasal sinus abnormalities in children with cystic fibrosis detected with magnetic resonance imaging. *Front Pharmacol* 2023; 14: 1161891.
283. Xanthouli P, Gordjani O, Benjamin N, Harutyunova S, Egenlauf B, Marra AM, Haas S, Milde N, Blank N, Lorenz HM, Fiehn C, Ulrich S, Distler O, Grunig E, Eichstaedt CA. Hypochromic red cells as a prognostic indicator of survival among patients with systemic sclerosis screened for pulmonary hypertension. *Arthritis Res Ther* 2023; 25: 38.
284. Xanthouli P, Gordjani O, Benjamin N, Trudzynski FC, Egenlauf B, Harutyunova S, Marra AM, Milde N, Nagel C, Blank N, Lorenz HM, Grunig E, Eichstaedt CA. Oxygenated hemoglobin as prognostic marker among patients with systemic sclerosis screened for pulmonary hypertension. *Sci Rep* 2023; 13: 1839.
285. Xanthouli P, Theobald V, Benjamin N, Marra AM, D'Agostino A, Egenlauf B, Shaukat M, Ding C, Cittadini A, Bossone E, Kogler M, Grunig E, Muckenthaler MU, Eichstaedt CA. Prognostic impact of hypochromic erythrocytes in patients with pulmonary arterial hypertension. *Respir Res* 2021; 22: 288.
286. Yamada Y, Bohnenberger H, Kriegsmann M, Kriegsmann K, Sinn P, Goto N, Nakanishi Y, Seno H, Chigusa Y, Fujimoto M, Minamiguchi S, Haga H, Simon R, Sauter G, Strobel P, Marx A. Tuft cell-like carcinomas: novel cancer subsets present in multiple organs sharing a unique gene expression signature. *Br J Cancer* 2022; 127: 1876-1885.
287. Yamada Y, Simon-Keller K, Belharazem-Vitacolonna D, Bohnenberger H, Kriegsmann M, Kriegsmann K, Hamilton G, Graeter T, Preissler G, Ott G, Roessner ED, Dahmen I, Thomas RK, Strobel P, Marx A. A Tuft Cell-Like Signature Is Highly Prevalent in Thymic Squamous Cell Carcinoma and Delineates New Molecular Subsets Among the Major Lung Cancer Histotypes. *J Thorac Oncol* 2021; 16: 1003-1016.
288. Yaung SJ, Woestmann C, Ju C, Ma XM, Gattam S, Zhou Y, Xi L, Pal S, Balasubramanyam A, Tikoo N, Heussel CP, Thomas M, Kriegsmann M, Meister M, Schneider MA, Herth FJ, Wehnl B, Diehn M, Alizadeh AA, Palma JF, Muley T. Early Assessment of Chemotherapy Response in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer with Circulating Tumor DNA. *Cancers (Basel)* 2022; 14.
289. Yi B, Dalpke AH, Boutin S. Changes in the Cystic Fibrosis Airway Microbiome in Response to CFTR Modulator Therapy. *Front Cell Infect Microbiol* 2021; 11: 548613.
290. Zhang K, Triphan SMF, Wielpütz MO, Ziener CH, Ladd ME, Schlemmer HP, Kauczor HU, Kurz FT, Sedlaczek O. Simultaneous T(1), T(2) and T(2)(*) mapping of the liver with multi-shot MI-SAGE. *Magn Reson Imaging* 2024; 105: 75-81.

291. Zhang X, Schalke B, Kvell K, Kriegsmann K, Kriegsmann M, Graeter T, Preissler G, Ott G, Kurz K, Bulut E, Strobel P, Marx A, Belharazem D. WNT4 overexpression and secretion in thymic epithelial tumors drive an autocrine loop in tumor cells in vitro. *Front Oncol* 2022; 12: 920871.
292. Zheng X, Sarode P, Weigert A, Turkowski K, Chelladurai P, Gunther S, Kuenne C, Winter H, Stenzinger A, Reu S, Grimminger F, Stiewe T, Seeger W, Pullamsetti SS, Savai R. The HDAC2-SP1 Axis Orchestrates Protumor Macrophage Polarization. *Cancer Res* 2023; 83: 2345-2357.
293. Zhu L, Duerr J, Zhou-Suckow Z, Wagner W, Weinheimer O, Salomon J, Leitz D, Konietzke P, Yu H, Ackermann M, Stiller W, Kauczor HU, Mall MA, Wielpütz MO. μ CT to quantify mucobstructive lung disease and effects of neutrophil elastase knockout in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2022; 322: L401-L411.
294. Zylla MM, Merle U, Vey JA, Korosoglou G, Hofmann E, Muller M, Herth F, Schmidt W, Blessing E, Goggelmann C, Weidner N, Fiedler MO, Weigand MA, Kalble F, Morath C, Leiner J, Kieser M, Katus HA, Thomas D. Predictors and Prognostic Implications of Cardiac Arrhythmias in Patients Hospitalized for COVID-19. *J Clin Med* 2021; 10.