

Next Generation Biobanking: Die Zukunft der personalisierten Medizin

VON GÜNTHER WINDE, HERFORD; ENRICO PELZ, VIERSEN;
CHRISTIAN STEPHAN, BOCHUM UND ARNOLD M. RAEM, MÜNSTER

Biobanken, die unterschiedlichste biologische Materialien und/oder Daten für Forschungszwecke sammeln, gibt es schon lange. Einen entscheidenden Wandel in ihrer Bedeutung für die Medizin erfuhren sie jedoch zuletzt durch den prospektiven oder sogar präventiven Gedanken der personalisierten Medizin.

Was hat *Biobanking* mit personalisierter Medizin zu tun? Gerade in der Onkologie werden Therapieschemata zum Teil entsprechend individueller molekularer Tumor-Charakteristika geplant. Ein bekanntes Beispiel ist die Antihormonrezeptor-Therapie beim Mammakarzinom. Die Erforschung individueller Tumormarker oder Resistenz-Gene gegen Therapeutika wird diesen Trend in Zukunft weiter bestimmen.

Biobanken liefern eine Vielzahl an Gewebeproben, die von unterschiedlichsten Patienten mit Erkrankungen in verschiedenen Stadien stammen. Werden diese im Hinblick auf deren Biomarker-Expression analysiert und die pseudonymisierten Patientendaten damit in Verbindung gebracht, etwa bezüglich Anamnese, Therapie und *Outcome*, lassen sich Rückschlüsse auf die Wirksamkeit von Therapien ziehen – oder abhängig vom Biomarker-Status neue Therapieansätze finden. Die gegenwärtigen, mit Unikliniken verknüpften Bioban-

ken sammeln Gewebeproben jedoch meist nur für den eigenen Gebrauch und geben nur wenige Proben nach außen. In Deutschland existiert derzeit nur eine offene Biobank, entsprechend rar sind Gewebeproben für die Forschung, sowohl in öffentlichen Instituten wie in der Industrie. Um mithilfe konservier-

»Die offene Biobank soll sowohl einen medizinischen Mehrwert liefern, als auch den Patienten mehr in den Mittelpunkt rücken.«

ter Gewebeproben die personalisierte Medizin weiter voranzutreiben, riefen wir ein Kooperations-Projekt für eine offene Biobank ins Leben. Diese soll sowohl einen medizinischen Mehrwert liefern, als auch den Patienten mehr in den Mittelpunkt rücken. Erste Vo-

raussetzung für ihren Betrieb ist ein genehmigter Ethikantrag. Zusätzlich sind aber auch zahlreiche sogenannte Standardarbeitsanweisungen (SOPs) nötig, da verschiedene Probentypen mit unterschiedlichen Anforderungen eingelagert werden müssen.

Werden frühzeitig genügend Patientendaten gesammelt, lassen sich mit diesen Vorhersagen für die nächsten fünf bis zehn Jahre treffen. Ein Beispiel hierfür ist das SepsisData-Net, bei dem Patienten anhand verschiedener Biomarker in Risikogruppen für den Verlauf einer Sepsis eingeteilt werden, um die Therapie entsprechend anpassen zu können. Die Daten der offenen Biobank sollen nicht nur kurativ, sondern auch prospektiv im sogenannten *Predictive Support* eingesetzt werden, um beispielsweise ein onkologisches Rezidiv vorherzusagen. Besonders wichtig ist es, die Patientengeschichte im Datenverlauf möglichst vollständig abzudecken, also auch *Outcomes* nach einer Therapie zu dokumentieren, um daraus Rückschlüsse für andere Patienten mit ähnlichen Parametern ziehen zu können.

Bereits heute verwendet man künstliche Intelligenz, um die gespeicherten Daten den eingelagerten Proben und deren Verwendung zuzuordnen – etwa beim sogenannten Septin-9-Test, mit dem man von absterbenden Tumorzellen freigesetzte zellfreie DNA im Blut nachweist, um ein Rezidiv bei Kolorektalkarzinomen zu erkennen. Die Biomarker-Untersuchung erfolgt zeitnah und schnell, um die Diagnose für die Patienten möglichst rasch abzusichern. Auch bei einer Blutvergiftung lässt sich anhand von Daten, die innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Einlieferung erfasst wurden, bereits mit einer 83-prozentigen Wahrscheinlichkeit vorhersagen, welche Patienten die folgenden dreißig Tage überleben werden.

Lange Zeit war man der Auffassung, dass die erforderlichen molekularen Untersuchungen trotz eingeschränkter Probenqualität funktionieren – solange die hierzu eingesetzten Technologien ausgefeilt genug sind. Hier hat sich jedoch ein Paradigmenwechsel vollzogen:

Zu den Autoren

Günther Winde ist Direktor der Universitätsklinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Thoraxchirurgie und Proktologie am Klinikum Herford, Ruhr-Universität Bochum.

Enrico Pelz ist Pathologe und leitet das 1994 von ihm gegründete Institut für Pathologie Viersen.

Christian Stephan ist IT-Leiter (CIO) von KAIROS, einem Anbieter für Biobanking- und Studienmanagement-Software. Er habilitierte in Bioinformatik an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und war Abteilungsleiter für Bioinformatik/Biostatistik am Medizinischen Proteom-Center der Ruhr-Universität Bochum.

Arnold M. Raem ist promovierter Biochemiker und Gründer sowie Geschäftsführer der *arrows biomedical Deutschland GmbH*, Fachlabor für Molekularpathologie, Hämatopathologie & Tumorgenetik im Centrum für Nanotechnologie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.



Nur eine optimale Probenqualität einschließlich eindeutiger Dokumentation führt auch zu einem optimalen Analyseergebnis. Durch technische Neuentwicklungen, wie zum Beispiel *Next Generation Sequencing* und *Laser Capture Microdissection*, die es erlauben, mit recht kleinen Probenmengen hochkomplexe Analysen durchzuführen, wurde die molekulare Analytik deutlich verbessert. Die für diese Methoden benötigte hohe Qualität und Reinheit des Probenmaterials beziehungsweise der Gewebeprobe wird durch viele Faktoren bestimmt. So können aus einem während der Operation entnommenen Tumor mehrere unterschiedliche Proben präpariert werden. Abhängig von Operation und Tumor ist aber oft nicht ausreichend Gewebe für eine Frischgewebe-Probe vorhanden. In den meisten Fällen wird daher nur ein Teil des Gewebes mit Formalin fixiert sowie in Paraffin eingebettet (FFPE-Block) und zusätzlich ein per Hämatoxylin-Eosin-Färbung behandelter Schnitt mit der Lokalisation des Tumors versehen und eingelagert.

Je nach Verwendungszweck und geplanten Analysen müssen Aufbereitung beziehungsweise Fixierung und Lagerung unterschiedlich erfolgen, um eine gute Probenqualität sicherzustellen. Wichtig ist eine zeitnahe, reproduzierbare und hochreine Proben-Asservierung, die den Status quo des biologischen Gewebezustandes zur Entnahmezeit möglichst

physiologisch konserviert. Nur so ist gewährleistet, dass sensible Molekülstrukturen erhalten bleiben, die für das Untersuchungsergebnis entscheidend sind.

Die Zeitspanne zwischen der Isolierung der Gewebeprobe und der (Kryo-)Konservierung wirkt sich ebenfalls stark auf die Probenqualität aus. Die kalte und warme Ischämiezeit sollte aus diesem Grund ebenfalls in den Probandaten dokumentiert werden. Da-

»Hier kommt es also sehr auf die Disziplin und Schulung des Personals an.«

mit die sehr empfindliche mRNA der Proben möglichst intakt bleibt, um beispielsweise eine Genexpressionsanalyse durchführen zu können, muss der Ablauf von Operation und Probenentnahme klar geregelt sein. Der Chirurg spielt hier eine zentrale Rolle, da die in den SOPs festgelegten Ischämiezeiten eingehalten und das Material schnellstmöglich entweder in Stickstoff oder in die Stabilisierungslösung RNAlater verbracht werden muss. Hier kommt es also sehr auf die Disziplin und Schulung des Personals an. Nur wenn die erforderliche Probenqualität gewonnen wird und keine histologisch relevanten Strukturen beein-

trächtigt werden, ist eine korrekte Tumoranalytik möglich. Auch die Zusammenarbeit mit der Pathologie ist essenziell für die morphologische Qualitätskontrolle. Gewebeprobe, die aus nekrotischem statt aus normalem Tumorgewebe stammen, führen bei der Auswertung schnell zu falschen Ergebnissen.

Konventionell werden für die Probenlagerung Gefriertruhen eingesetzt, in denen Proben häufig in RNase- und DNase-freien Spezial-Mikroreaktionsgefäßen aller möglichen Größen eingelagert werden. Bei Ein- oder Auslagerungsvorgängen werden daher immer mehrere Proben einer veränderten Umgebungstemperatur ausgesetzt, wenn die entsprechende Lagerungsfraction bei diesem Prozess bewegt wird. In häufiger geöffneten Lagerorten verhindern vorgelabelte Gefäße, dass sich Beschriftungen durch wiederholtes Auftauen oder erhöhte Luftfeuchtigkeit ablösen. Hierzu ist ein einheitliches System zur Beschriftung nötig, das mit der strukturierten Datenspeicherung harmonisiert. Die zahlreichen Öffnungs- und Schließvorgänge haben aber auch einen beträchtlichen Einfluss auf die Probenqualität. Um eine dauerhafte Wärmeexposition zu vermeiden, ist ein automatisiertes System notwendig, das Einzelproben in einem temperierten Umfeld, in und aus strukturierten Lagerformaten bewegen kann. Die vollautomatisierte Stickstoff-Lagerung bei Tem-



peraturen unter $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ nach dem *Cherry-Picking*-Prinzip ist bereits heute möglich. Bei dieser lagert ein vollautomatisierter Roboterarm einzelne, definierte Proben ein und aus, ohne andere Proben zu bewegen und der Umgebungswärme auszusetzen.

Die Verwaltung der Lagerpositionen übernimmt ein Biobank-Informations- und-Management-System (BIMS), das eine ungeordnete Lagerung der Proben verhindert. Ein sogenanntes *Black-Box*-Verfahren mit einer eindeutigen Zuordnung per 2D-Code auf den Kryoröhrchen reicht hier aus, da die Lagerung an einer Zielposition durch die automatisierten Lager übernommen wird. Die Automatisierung sorgt zudem dafür, dass Mitarbeiter nicht mit flüssigem Stickstoff in Kontakt kommen.

Auch das Datenmanagement ist elementar wichtig, um die in der Biobank lagernden Gewebeproben optimal nutzen zu können. Denn was hilft eine perfekt entnommene und konservierte Probe, wenn die entscheidenden Fragen unklar sind: Woher stammt die Probe? Wie wurde sie entnommen? Wurde sie bereits mehrfach aufgetaut – und damit empfindliche Moleküle potenziell zerstört?

Am Institut für Pathologie Viersen, das Enrico Pelz leitet, werden Gewebeproben für

zehn Jahre verwaltet und danach vernichtet. Gegenwärtig pflegt es Proben von 1.200 bis 1.600 Brustkrebsneuerkrankungen pro Jahr. Um sicherzustellen, dass das *Outcome* einer Therapie der entsprechenden Probe zugeordnet werden kann, ist eine Vernetzung

»Neben krankheitsspezifischen Daten sind auch Informationen, die den Zustand und die Qualität der Probe näher charakterisieren, von großem Interesse.«

mit Datenbanken des Landes, zum Beispiel Krebs- und Sterberegister, ebenso notwendig wie die Nachverfolgung. Die Proben werden pseudonymisiert und sind nicht re-identifizierbar. Auch die Möglichkeit der Spender, die Einwilligung zu widerrufen und die Proben und Daten uneingeschränkt vernichten zu lassen, muss gewahrt bleiben. Die vollständige Anonymisierung ist aufgrund der fortlaufend entstehenden medizinischen Daten und Forschungsergebnisse nicht praktikabel. Mit ihr ließe sich beispielsweise ein positives oder negatives Therapie-*Outcome* nicht mit den dazugehörigen Biomarkern verknüpfen.

Die Rückauflösung des Pseudonyms auf einen primären Identifikator darf aber nur durch einen Treuhänder und in Kombination mit medizinischem Fachpersonal erfolgen.

Neben der Diagnose zählen zu den wichtigen Daten auch das Alter und Geschlecht der Patienten sowie die prä- und intraoperative Medikation. Bei Tumorgewebe sind unter anderem das TNM-Stadium, mit dem das Fortschreiten des Tumors bewertet wird, das *Grading* des Tumors, das klinische Tumorstadium sowie Daten zu bereits durchgeführten Therapien zu dokumentieren. Neben diesen krankheitsspezifischen Daten sind auch Informationen, die den Zustand und die Qualität der Probe näher charakterisieren, von großem Interesse. Zu diesen gehören die Dokumentation der kalten Ischämiezeit, die Art der Lagerung – und im Falle einer Gewebeprobe ein histologisches Bild zur Dokumentation des eingelagerten Gewebes. Außerdem sollten zusätzliche Daten wie zum Beispiel die Anzahl der Auftauzyklen und die Temperaturdokumentation mit der Probe verbunden sein.

Die wichtigste verknüpfte Information, die auch in einem Verwaltungssystem sicher und reproduzierbar hinterlegt und einsehbar sein muss, ist der Status der Einwilligung in die Forschung mit der Gewebeprobe. Hier sind unter-

schiedliche Stufen und Alternativen möglich, etwa ein Ausschluss von Industrieforschung. Diese Einwilligungen sollten möglichst weitreichend gefasst sein, um auch zukünftige Forschungsfragen abdecken zu können.

Die lückenlose Dokumentation erfolgt über einen sogenannten *Audit-Trail*, der jede Erstellung, Änderung und Löschung von Informationen festhält – etwa das Datum, die Uhrzeit, den Datenpunkt, den Benutzer sowie die geänderten Werte. Sinnvollerweise könnte die Software einer automatisierten Biobank gleichzeitig wichtige Informationen wie die Temperatur der Proben erfassen und dokumentieren. Die Dokumentation der Daten sollte standardisiert sein, damit sie international vergleichbar ist, etwa in der Erforschung seltener Erkrankungen. Es ist zum Beispiel einfacher, aus stark strukturierten Daten im Anschluss wieder schwach strukturierte herzustellen, etwa einen Arztbrief, als umgekehrt. Die Daten sollten also möglichst wenig über Freitext-Felder dokumentiert werden und zur Fehlervermeidung bei der manuellen Dokumentation direkt aus den vorhandenen Primärsystemen der klinischen Versorgung stammen.

»Die Organisation einer Biobank ist aufgrund der vielen beteiligten Parteien sehr komplex.«

Auch wenn Krankenhausinformations- und Laborsysteme weiter benötigt werden, müssen alle Datenmanagement-Systeme über geeignete Schnittstellen in das Biobank-Informations-Management-System (BIMS) integriert werden. Wo noch keine sinnvolle Datenerfassung stattfindet, kann ein entsprechendes Softwaresystem eingerichtet werden. Das Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum ist zum Beispiel auf mehrere Standorte verteilt, entsprechend müssen die Daten von insgesamt acht Kliniken vereint werden. Die hierfür nötige Dachstrategie zur Datenerhebung wird von dem Anbieter von Biobanking- und Studienmanagement-Software KAIROS entwickelt.

Die Organisation einer Biobank ist aufgrund der vielen beteiligten Parteien sehr komplex. Um allen Anforderungen gerecht zu werden, wollen sich die vier Initiatoren der offenen Biobank mindestens alle drei Monate zusammenfinden, um ihre Biobank-Strategie an aktuelle Gegebenheiten anzupassen. Aber auch schon vor Inbetriebnahme müssen sowohl ein positives Ethik-Votum der zuständigen Ethik-Kommission als auch eine positive Stellungnahme durch den zuständigen Datenschutzbeauftragten vorliegen. Natürlich muss auch feststehen, welche Zuständigkeiten bei

welchem der beteiligten Partner liegen, wie die Verbindung zu bestehenden Strukturen abläuft und wie das Nutzungskonzept aussieht. Letzteres regelt, welche Proben primär gesammelt werden und wie der *Turnover* optimal umgesetzt wird. Ein Vergabegremium entscheidet über die Priorisierung der Sammlung und die Vergabe von Proben an Studienbeziehungsweise Arbeitsgruppen.

Trotz aller Bürokratie kann zentral organisiertes *Biobanking* zu einer wesentlichen Verbesserung der Probenqualität und damit beschleunigter translationaler Forschung führen. Der Aufbau einer hochwertigen Biobank, die Proben in höchster biologischer Qualität mit reproduzierbaren und validierten Daten annotiert vorhält, wird in den nächsten Jahrzehnten einen Standortvorteil für die Biomarkerforschung und die Forschung in der personalisierten, zielgerichteten Medizin darstellen. Das Kompetensteam sieht in der offenen Biobank auch eine interessante Plattform für die pharmazeutische Forschung. Mit Spannung blickt es auf zukünftige molekularpathologische beziehungsweise molekularbiologische Untersuchungen, die bei der *arrows biomedical Deutschland GmbH* im Rahmen einer Kooperation bearbeitet werden können.

Momentan liegen Probanden meist noch isoliert an verschiedenen Stellen. Die offene Biobank soll ihre systematische Speicherung und Analyse ermöglichen und damit den Sprung von einer kurativen allgemeinen Behandlung zu einer präventiven individualisierten Therapie beschleunigen. Ihr Ziel ist nicht, den Arzt zu ersetzen, sondern ihn bei seinen Entscheidungen auf dem Weg zur idealen Diagnostik und Therapie zu unterstützen (*decision support*) – was angesichts komplexer Daten, komplizierter biologischer Systeme und ständig neuer Erkenntnisse dringend geboten ist.

Zusätzlich ließe sich der Datenpool für neue pharmazeutische Entwicklungen nutzen. Liegen bereits Einverständniserklärungen für den Einsatz des Gewebematerials zu Forschungszwecken vor, ist es beispielsweise einfacher, klinische Studien durchzuführen und ihre Ergebnisse zu publizieren. Das Institut für Pathologie Viersen führt anhand solcher Daten zusammen mit der Westdeutschen Studiengruppe regelmäßig Multivarianzanalysen von bis zu 900 Genen durch. Mithilfe der offenen Biobank können auch weitere privat geführte Institute in die Grundlagenforschung integriert werden und Ergebnisse kurzfristig veröffentlichen – bei einer Untersuchung von 119 Genen geschah dies beispielsweise innerhalb von neun Monaten beim Meeting der *American Society of Clinical Oncology (ASCO)*.

Die gesammelten Daten unabhängig von Richt- und Leitlinien personalisiert zu nutzen,

ist das Ziel der offenen Biobank. Übliche Therapie-Leitlinien sind nicht individualisiert, sondern geben nur generalisierte Empfehlungen für die Therapie. Traditionell beginnt der Arzt bei einer Krebstherapie erst über eine individuellere Therapie nachzudenken, wenn ein Tu-

»Wir haben die Vision, dass sich aus den Daten der offenen Biobank zukünftig neue Therapieoptionen generieren lassen.«

mor metastasiert und die Erstlinientherapie versagt hat. Auch in der Erstlinie kann sich jedoch eine Therapie abseits des Standards lohnen. Wir haben die Vision, dass sich aus den Daten der offenen Biobank zukünftig neue Therapieoptionen generieren lassen, die gerade die überarbeiteten Onkologen bei der Auswahl einer möglichst erfolgversprechenden Therapie unterstützen können. Viele Patienten sterben, überspitzt formuliert, aufgrund von Datenschutzbestimmungen, Untätigkeit sowie der Ansicht, man habe etwas schon immer so gemacht. Daher wollen wir Kliniker, Pathologen und Experten aus der Molekularanalytik zusammenführen, um die großen Potenziale ihrer Daten und Auswertungen sektor-übergreifend nutzbar zu machen.

Da Patienten Informationen zu Therapien sehr leicht online finden, fragen sie im Rahmen der Nachbetreuung immer häufiger nach personalisierter, zielgerichteter Medizin und *Off-Label*-Therapien. Es ergibt sich also auch hier eine interessante Perspektive für Patienten, die sich aktuell in der Versorgung befinden. Mithilfe eines großen Datenpools könnte etwa überprüft werden, wie die Behandlung bei vergleichbaren Patienten ablief und welche Therapieoptionen beispielsweise das *Outcome* verbessert haben.

Weitere detaillierte Informationen zum Thema Biobanking finden Sie auch in der zweiten Auflage des Lehrbuchs „Immunoassays – ergänzende Methoden, Troubleshooting, regulatorische Anforderungen“ von Arnold Maria Raem und Peter Rauch (Springer-Verlag Heidelberg), das bald als Paperback & eBook in einer deutschen und englischen Version erscheinen wird.