

Um Ihnen einen detaillierten Einblick in den Förderbereich **Forschung und Weiterbildung** und das von uns unterstützte Projekt **«Optimierte Diagnostik kindlicher Hirntumoren»** zu geben, erlauben wir uns aus dem Projektbericht von **Herr Dr. Jürgen Hench und Prof. Stephan Frank** zu zitieren.

Optimierte Diagnostik kindlicher Hirntumoren

Auszug aus dem verfassten Projektbericht 2023

Projektziele

Ziel und Hintergrund des geförderten Projekts ist die intraoperative diagnostische Einordnung für einige kindliche Tumorarten. Zentral hierfür ist die molekulare Natur der verschiedenen Krebsarten, die sich insbesondere bei vielen kindlichen Tumorarten mittels klassischer Lichtmikroskopie nur unzureichend differenzieren lässt.

Fortschritt

Die Referenzdatensammlung wurde mittels der Nanoporesequenzierung, auch unter der Bezeichnung "Parallelsequenzierung der 3. Generation" bekannt, begonnen. Hierzu wurde seitens Abt. Neurochirurgie des Unispitals Basel Gewebe einiger kindlicher Hirntumoren im Rahmen von Routineeingriffen asserviert und zusätzlich das bei Operationen anfallende, normalerweise verworfene Hirnwasser aufgefangen. Dieses bietet über das gesteckte Projektziel hinaus die zusätzliche Möglichkeit, eine molekular basierte Diagnosestellung bereits vor einer Operation zu versuchen, um damit das operative Prozedere (insbesondere hinsichtlich Radikalität der Tumorentfernung) anzupassen.

Methodenanpassung

Wie in der Projektbeschreibung ausgeführt, musste 2023 die Änderung an der Nanoporenchemie seitens des Herstellers der Sequenzierer in der hausintern entwickelten Ansteuerungs- und Datenanalysesoftware NanoDiP implementiert werden. Diese Arbeiten erwiesen sich aufgrund stetiger herstellerseitiger Änderungen von Jan. bis Nov. 2023 als schwierig und zeitaufwendig, so dass erst im Dez. 2023 wieder ein funktionierendes System für die aktuelle "R10"-Porenchemie aufgebaut werden konnte, das im wesentlichen den Funktionsumfang der Vorläufer "R9"-Chemie umfasst. Wie herstellerseitig bestätigt, liegt die R10-Sequenzierereffizienz bei lediglich 10-20% im Vergleich zur im Jan 2024 auslaufenden R9-Chemie. Dieser Umstand war bei Projektplanung nicht bekannt. Mit einigen Optimierungsschritten ist es uns gelungen, die Sequenzierereffizienz wieder in den Bereich von etwa 50% zu rücken; dennoch bleibt das aktuelle R10-System deutlich hinter den Erwartungen zurück. Es gibt derzeit nur dieses eine Verfahren der 3. Generation am Markt, so dass wir weiterhin für die intraoperative Diagnostik darauf aufbauen müssen.

Für die Erhebung von Referenzdaten, die nicht unter intraoperativem Zeitdruck erfolgen muss, haben wir aufgrund der bereits erwähnten ständigen Software-Updates bereits 2022 eine Alternative in Erwägung gezogen. Diese beruht auf Parallelsequenzierung der 2. Generation und wurde im Prototypenstadium 2022 durch uns getestet. Hersteller der Reagenzien ist die Firma TWIST (USA).

Hier werden anstatt von bisher rund 400'000 Methylierungsstellen des menschlichen Epigenoms im TWIST-Methylierungspanel rund 3.84 Millionen erfasst. Damit liegt die Datendichte für unser Vorhaben rund 10x höher als bei den konventionellen Microarrays, und der Datenbedarf intraoperativ dürfte auf 20% bis 10% fallen. Parallel dazu sinkt der nötige Zeitbedarf, so dass wir - wie geplant - einen intraoperativen Zeitrahmen von wenigen Minuten Sequenzierzeit erreichen dürften. Dies wird auch dadurch unterstützt, dass wir planmässig die aktuelle Generation (P2 Solo) von Nanoporesequenzierern mit unserem NanDiP-System ansteuern können, wobei der P2 Solo je nach Auslegung 5-10x mehr Nanoporen gleichzeitig nutzen kann im Vergleich zum aktuell noch diagnostisch genutzten MinION Mk1B-System.

Aufbau angepasster hochparalleler Rechner-Infrastruktur

Auf Basis kostengünstiger Rechner, die eigentlich für die Erzeugung von Kryptowährung konzipiert und weltweit verfügbar sind (sog. Bitcoin Miner), konnten wir äusserst rechenstarke, zugleich aber energieeffiziente Sequenzier-Hardware konstruieren. Diese kann ohne Schwierigkeit die nun deutlich grösseren Datenmengen, die sich aus der neuen "R10"-Porenchemie ergeben (ca. 10x mehr Rohdaten), in Echtzeit verarbeiten und liessen sich prospektiv auch global einsetzen. Die Materialkosten bleiben pro System mit ca. 2000 CHF auch für klinisch-diagnostische Anwendungen attraktiv. Wir haben diese Systeme Anfang 2023 aufgebaut; sie sind seither kontinuierlich und stabil im Test-Einsatz. Aus verschiedenen CPU/GPU-Komponenten haben wir bisher 3 Rechner konzipiert. Das am weitesten optimierte Modell kann ca. 10 Millionen Erbgut-Bausteine pro Sekunde verarbeiten (im Vergleich zu ca. 10'000 pro Sekunde beim bisherigen R9-System) und ist damit theoretisch in der Lage, sogar mehrere Patientenproben parallel in Echtzeit zu analysieren, ohne an Leistungsgrenzen zu stossen oder zu Kostensteigerungen zu führen.

Erweiterung des diagnostischen Einsatzbereichs

Aggressive Hirntumoren setzen relativ grosse Mengen ihres Erbguts in das Hirnwasser frei, das man grundsätzlich zu diagnostischen Zwecken vor einer Operation gewinnen könnte. Das Erbgut enthält auch das Hirntumor-Epigenom, das wir in diesem Projekt diagnostisch klassifizieren. Somit ist es realistisch, dass wir zumindest für die aggressiveren Tumortypen bereits ohne Gewebeprobe Wochen bis Tage vor dem neurochirurgischen Eingriff Operationsplanungs-relevante Informationen für unsere chirurgischen Partner generieren können. Dabei kann die gleiche Nanoporesequenzierung zum Einsatz kommen wie intraoperativ mit einem Ergebnis innert Stunden bis zu einem Tag (je nach Gehalt an Erbgut im Hirnwasser). Alternativ, bei nur wenig Tumor-Erbgut im Falle weniger aggressiver Tumoren, könnte wiederum das TWIST-Panel angewandt werden, um die erhobenen Daten dann mit den modellierten Epigenomen diverser kindlicher Hirntumortypen abzugleichen. Durch diesen Projektabschnitt wäre nicht nur die neurochirurgische Operation noch besser planbar, sondern es könnte auch das Risiko postoperativer neurologischer Defizite bei den kleinen Patienten und Patientinnen weiter minimiert werden.

Projektplan 2024

Wir werden parallel zur R10-Nanoporesequenzierung Erbgut-Proben kindlicher Hirntumoren mittels TWIST-Panel erfassen und anschliessend dem epigenetischen Informationsgehalt gegenüberstellen. Je nach Ausfall dieser Analyse werden wir entweder die Referenzdaten-Erhebung von Nanoporen auf TWIST umstellen, einen gemischten Ansatz verfolgen, oder gemäss Projektbeschreibung weiterhin nur mit den Nanoporen arbeiten. Das Resultat dieses unerwartet erforderlich gewordenen Vorgehens lässt sich aktuell nicht vorhersagen. Der Hersteller der Nanoporen hat zwar angekündigt, im 1. Quartal 2024 die R10-Sequenzierer wieder auf Stand der R9-Vorgänger bringen zu wollen, doch aus den Erfahrungen der Vergangenheit heraus ist unklar, wieviel Gewicht dieser Ankündigung beigemessen werden sollte. Die R10-Chemie wurde schliesslich bereits im 1. Quartal 2023 als "ausgereift" bezeichnet.

Ferner werden wir aufgrund der grossen technischen Verzögerung des Projekts erst 2024 die Ausweitung der Referenzdatenerhebung (Einstellung einer technischen Hilfskraft im Labor) vornehmen können. Eine solche hätte 2023 bei der Neuprogrammierung unserer Software und beim Aufbau o.g. neuer Computer keine Unterstützung bieten können.

Herr Dr. Jürgen Hench / Prof. Stephan Frank
Pathologie
Universitätsspital Basel