

The background of the entire page is a bright yellow color. Overlaid on this background are numerous circular and oval shapes, each filled with a dense, black-and-white stippled pattern. These shapes resemble microscopic views of cells or biological structures, scattered across the page. At the top, there are two white rectangular boxes containing text.

**ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHUNG  
FORSCHUNGSBERICHT 2019/2020**

**ST. ANNA CHILDREN'S CANCER RESEARCH  
INSTITUTE SCIENCE REPORT 2019/2020**



**St. Anna Kinderkrebsforschung**  
CHILDREN'S CANCER RESEARCH INSTITUTE

**ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHUNG  
FORSCHUNGSBERICHT 2019/2020**

***ST. ANNA CHILDREN'S CANCER RESEARCH  
INSTITUTE SCIENCE REPORT 2019/2020***

**EINLEITUNG / INTRODUCTION**

Vorwort Institutsleiter <i>Editorial Director of the Institute</i>	8
Vorwort Wissenschaftlicher Direktor <i>Editorial Scientific Director</i>	10
Vorwort Managing Direktor <i>Editorial Managing Director</i>	14

**DATEN & FAKTEN / FACTS & FIGURES**

Personelle Zusammensetzung <i>Staff Composition</i>	20
Nationen <i>Nations</i>	21
Forschungsnetzwerk <i>Research Network</i>	22
Kinderkrebsinzidenz in Österreich <i>Childhood Cancer in Austria</i>	24
Kinderkrebsüberlebensrate in Österreich <i>Survival after Childhood Cancer in Austria</i>	25
Kinderkrebsüberleben Früher & Heute <i>Childhood cancer survival in the past and today</i>	26

**NEWS TICKER**

Mit Killerzellen gegen Kinderkrebs – eine Immunologin startet durch <i>Killer cells against childhood cancer – an immunologist hits the ground running</i>	30
„Bessere Chancen für krebskranke Kinder!“ <i>“Better chances for children with cancer!”</i>	32
Fischlarven für die Forschung <i>Fish larvae that drive research</i>	34
Art4Science: die Kunst, Kinderkrebsforschung zu kommunizieren <i>Art4Science: The art of communicating childhood cancer research</i>	36
Drei Pioniere der Kinderkrebsforschung <i>Three pioneers in childhood cancer research</i>	38
Drei COVID-19-Förderpreise gehen an St. Anna Kinderkrebsforscher <i>St. Anna CCRI earns three COVID-19 grants</i>	40
Neues Christian Doppler Labor beforscht CAR-T-Zelltherapie gegen Kinderkrebs <i>New Christian Doppler Laboratory investigates CAR T cell therapy against childhood cancer</i>	42
Harvard-Forscher wird Principal Investigator an der St. Anna Kinderkrebsforschung <i>Harvard scientist becomes Principal Investigator at St. Anna CCRI</i>	44

**SCIENCE REPORTS**

<b>SOLIDE TUMOREN / SOLID TUMORS</b>	<b>47</b>
Caroline Hutter Group	48
Heinrich Kovar Group	52
Sabine Taschner-Mandl Group	56
Eleni Tomazou Group	60
Publikationen / Publications	65
<b>KLINISCHE STUDIEN / CLINICAL STUDIES</b>	<b>89</b>
Ruth Ladenstein Group	90
Publikationen / Publications	99
<b>IMMUNOLOGIE, HÄMATOLOGIE &amp; IMMUNOTHERAPIE / IMMUNOLOGY, HEMATOLOGY &amp; IMMUNOTHERAPY</b>	<b>117</b>
Kaan Boztug Group	118
Wolfgang Holter Group	122
The Christian Doppler Laboratory	126
Eva König Group	130
Publikationen / Publications	135
<b>LEUKÄMIEN &amp; LYMPHOME, MOLEKULARE MIKROBIOLOGIE / LEUKEMIAS &amp; LYMPHOMAS, MOLECULAR MICROBIOLOGY</b>	<b>169</b>
Michael Dworzak Group	170
Oskar Haas Group	174
Thomas Lion Group	178
Sabine Strehl Group	184
Publikationen / Publications	189
<b>BIOINFORMATIK, MODELLE &amp; CORE FACILITIES / BIOINFORMATICS, MODELS &amp; CORE FACILITIES</b>	<b>197</b>
Martin Distel Group	198
René Geyeregger Group	204
Florian Halbritter Group	212
Publikationen / Publications	217

**FINANZBERICHT / FINANCIAL REPORT**

Richtlinien zur Spendenverwendung <i>Guidelines for the Use of Donations</i>	224
Mittelherkunft <i>Source of Funds</i>	226
Mittelverwendung <i>Use of Funds</i>	227
Kompetitive Drittmittel im Jahr 2020 <i>Competitive Third-Party Funds in 2020</i>	228
Zuweisung der Geldmittel im Jahr 2020 <i>Allocation of Funds in 2020</i>	229
<b>ANHANG / ANNEX</b>	
Karriere <i>Career</i>	232
Administrative Abteilungen <i>Administrative Departments</i>	234
Wissenschaftlicher Beirat <i>Scientific Advisory Board</i>	235
International und national fremdgeförderte Projekte <i>International and National Grants</i>	236
Danksagung <i>Acknowledgements</i>	238
Bachelor- und Diplom(Master)arbeiten, Dissertationen <i>Bachelor-, Master(Diploma)- and PhD-Theses</i>	240
Publikationen <i>Publications</i>	242
Spenden <i>Fundraising</i>	250
Impressum <i>Imprint</i>	254

**EINLEITUNG**

***INTRODUCTION***

## VORWORT INSTITUTSLEITER

Ich würde Ihnen gerne Hunderte von Dingen erzählen, die Sie über die St. Anna Kinderkrebsforschung wissen sollten. Das eine oder andere haben Sie vielleicht schon gehört, vieles werden Sie im vorliegenden Jahresbericht lesen. Wie in diesem Bericht ersichtlich, gab es in unserem Institut zahlreiche Ereignisse, die zu neuen Fortschritten geführt haben. Viele konkrete Projektberichte und Erfolge werden Ihnen in diesem Band anschließend durch meine Kolleginnen und Kollegen präsentiert.

Hinter all dem steht unser Ziel, durch geeignete Forschung die Aufklärung von Krankheitsmechanismen, verbesserte Diagnosemöglichkeiten und die Entwicklung neuer Behandlungsmöglichkeiten für krebskranke Kinder und Jugendliche voranzutreiben.

Ich bin stolz darauf, dass die St. Anna Kinderkrebsforschung als gemeinnützige Institution zu den weltweit führenden Organisationen in der pädiatrischen Krebsforschung gehört und auf den mit dieser Krankheit verbundenen wichtigsten Forschungsgebieten Pionierarbeit leistet. Ein entscheidender Faktor ist der unmittelbare Austausch zwischen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern mit Ärztinnen und Ärzten,



## EDITORIAL DIRECTOR OF THE INSTITUTE

*I would love to tell you hundreds of things that you should know about St. Anna Children's Cancer Research Institute. You may have already heard one or two of them, some can be read in the current report. A lot has happened in recent years that has enabled further development of our institution, as is evident in this report. Many specific project reports and success stories are presented subsequently by my colleagues.*

*Behind all this is our constant goal to develop better understanding of pathomechanisms through appropriate research methods and to advance improved diagnosis options and treatment possibilities for children and young adults suffering from cancer.*

*I am proud of the fact that St. Anna Children's Cancer Research Institute, a charity-based institute, is among the leading organizations for pediatric cancer research worldwide, pioneering in the major research fields associated with this disease. A crucial asset in this regard is the immediate exchange between scientists and affiliated clinicians and thereby being able to research directly on questions deriving from the individual disease process. This close interaction*

sodass Fragen beforscht werden, die sich aus dem Krankheitsgeschehen identifizieren lassen. Diese enge Zusammenarbeit basiert auf der Geschichte des Instituts, das von Klinikerinnen und Klinikern sowie Forscherinnen und Forschern gemeinsam mit betroffenen Eltern ins Leben gerufen wurde.

Von Anfang an haben wir also die Direktive „Zusammenarbeit ist der Schlüssel“ umgesetzt. Dies beschränkt sich natürlich nicht nur auf die nationale Ebene, sondern inkludiert einen ständigen engen Dialog mit gleichgesinnten Forscherinnen und Forschern auf der ganzen Welt.

Aktuell deckt die St. Anna Kinderkrebsforschung mit Forschungsgruppen in den Bereichen Molekular- und Zellbiologie, Molekulargenetik, Genomik und Epigenomik, Immunologie, zelluläre Therapien und klinische Forschung alle notwendigen Fachebenen ab.

Um für das passende Forschungsumfeld zu sorgen, entwickelt die St. Anna Kinderkrebsforschung ihre umfangreiche wissenschaftliche Infrastruktur kontinuierlich weiter. Dazu gehören z. B. eine hochmoderne Durchflusszytometrie-Core-Facility, eine zentrale Einrichtung zur Isolierung humaner adulter Stammzellen, eine Zebrafisch-Anlage zur Generierung von In-vivo-Krebsmodellen und eine Bioinformatik-Einheit, die uns bei der Analyse, Integration und Interpretation großer genomischer Datenmengen unterstützt.

Und deshalb möchte ich mich, auch im Namen aller Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, heuer wieder sehr herzlich bei den vielen Unterstützerinnen und Unterstützern, den Mitgliedern des Ehrenkomitees, den Vorstandsmitgliedern, dem wissenschaftlichen Beirat und unseren zahlreichen Spenderinnen und Spendern bedanken.

Univ. Prof. Dr. Wolfgang Holter  
Institutsleiter / Director of the Institute

*has arisen from the history of the institute, which was founded by clinicians and scientists in cooperation with affected parents.*

*From the very beginning, therefore, the Institute has implemented its directive „collaboration is key“. This is of course not limited to the national level, but includes an ongoing close dialogue with like-minded researchers and organizations all over the world.*

*In our current setup, St. Anna Children's Cancer Research Institute covers all levels of expertise with scientific groups in the areas of molecular and cellular biology, molecular genetics, genomics and epigenomics, immunology, cellular therapies and clinical research.*

*To sufficiently promote our research groups, St. Anna Children's Cancer Research Institute provides and develops further an extensive scientific support infrastructure, including a state-of-the-art flow cytometry core facility, a human adult stem cell isolation facility, a zebrafish facility for generating in vivo cancer models, and a bioinformatics unit that supports our researchers with the analysis, integration and interpretation of large-scale genomics data.*

*I would like to express my sincere thanks once again this year, also on behalf of all employees at the Institute, to the many supporters, the members of the honorary committee, of the board of directors, the scientific advisory board and our numerous donors, who have faithfully accompanied us for many years.*



**VORWORT  
WISSENSCHAFTLICHER  
DIREKTOR**

**EDITORIAL  
SCIENTIFIC DIRECTOR**

**GEMEINSAM AUF ZU NEUEN UFERN!**

Durch die Nutzung neuer Technologien, das Herangehen an neue Themen und den Aufbau neuer Kooperationen bricht die St. Anna Kinderkrebsforschung zu neuen Ufern auf. Dabei bauen wir auf ein starkes Fundament, das historisch über Jahrzehnte gewachsen ist.

Trotz der Pandemie und den damit verbundenen Einschränkungen, deren Ausmaß wohl alle überrascht hat, sind die Jahre 2019 und 2020 für uns äußerst erfolgreich verlaufen. Der Platz reicht bei weitem nicht aus, um alle Höhepunkte der vergangenen zwei Jahre gebührend zu würdigen, aber lassen Sie mich dennoch einige nennen.

So wurden zahlreiche hochrangige wissenschaftliche Arbeiten veröffentlicht, diesmal vor allem in den Bereichen Immunologie, solide Tumore und klinische Forschung. Dies ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass der für die Krebserkrankung im Kindesalter so wichtige Forschungsbereich der Immunologie gestärkt wurde, indem zwei neue Immunologie-Forschungsgruppen am Institut eröffnet wurden. Dazu gehören mein Labor

**HEADING FOR NEW SHORES TOGETHER!**

*Exploiting new technologies and approaching new topics and collaborations, St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI) is now heading off to new shores. In doing so, we build upon a strong foundation that has grown historically over decades.*

*Despite the pandemic and the limitations coming along with it, the extent of which probably took everyone by surprise, the years 2019 and 2020 have been extremely successful for St. Anna CCRI. There is far too little space to give due credit to all the highlights over the past two years, but still let me name a few.*

*For example, numerous high-ranking scientific papers were published, this time in particular in the fields of immunology, solid tumors and clinical science. Among other things, this is due to the fact that the research area of immunology, which is so important for childhood cancer, has been strengthened to the extent that two new immunology research groups have been established at the Institute. This includes my own research laboratory on the topic of "Immune*

*„Immundefizienz, Krebsprädisposition und Präzisionsonkologie“ und die Gruppe von Eva König, „Tumor Immunoediting“. Darüber hinaus wurde Manfred Lehner zusammen mit Kollegen ein Grant für die Einrichtung eines Christian-Doppler-Labors zugesprochen, das sich mit der Entwicklung innovativer Werkzeuge für die CAR-T-Zell-Immuntherapie beschäftigt. Wie in der Liste geförderter Projekte nachzulesen ist, erhielten wir eine beachtliche Anzahl zusätzlicher prestigeträchtiger nationaler und internationaler Grants, nicht nur zu pädiatrischen Krebsthemen, sondern zum Beispiel auch zu SARS-CoV-2 und der multidisziplinären Interaktion zwischen Wissenschaft und Kunst.*

Auch im Bereich der soliden Tumoren gab es einen Wechsel: Inge und Peter Ambros gingen in den wohlverdienten Ruhestand und überließen die zukünftige Leitung der Gruppe ihrer engagierten Nachfolgerin Sabine Taschner-Mandl. Im Einklang mit ihren Vorgängern ist es ihr gelungen, das Labor optimal zu positionieren und rezent mit mehreren wissenschaftlichen Drittmittelförderungen weiter zu stärken.

Auf dem Gebiet der Leukämie haben wir mit Renate Panzer-Grümayer eine weitere bewährte Mitarbeiterin in den Ruhestand verabschiedet. Sie widmete ihre herausragende berufliche Laufbahn der Frage, warum und wie sich Leukämie entwickelt und wie man dieses Wissen nutzen kann, um die Behandlung zu verbessern und die Heilung betroffener Kinder voranzutreiben. Mit dem Ziel, inspirierende neue Forschung in diesem Themenbereich zu initiieren, konnten wir den hochtalentierten jungen Wissenschaftler Davide Seruggia vom Boston Children's Hospital und der Harvard Medical School gewinnen, der in seiner Forschungsgruppe nicht-kodierende regulatorische Faktoren im Kontext von Leukämie und anderen pädiatrischen Malignomen untersuchen wird.

*Deficiencies, Cancer Predisposition and Precision Oncology“ and the group of Eva König, “Tumor Immunoediting”. In addition, Manfred Lehner together with colleagues was awarded a grant to establish a Christian Doppler Laboratory dedicated to the development of innovative tools for CAR T cell immunotherapy. We also received a remarkable number of other prestigious national and international grants, not only on pediatric cancer topics, but also, for example, on SARS-CoV-2 and the multidisciplinary interaction between science and arts.*

*There was also a change in the Solid Tumor focus area, with Inge and Peter Ambros entering into their well-deserved retirement and leaving the future management of the group to their dedicated successor, Sabine Taschner-Mandl. In line with her predecessors, she has succeeded in positioning the laboratory in the best possible way, strengthening it with several scientific grants recently.*

*In the field of Leukemia, we have seen another apt veteran, Renate Panzer-Grümayer, retire. She dedicated her distinguished professional career to the question of why and how leukemia evolves and how to use this knowledge to improve treatment and advance cure of affected children. With the aim to launch inspiring new research in this area, we were able to recruit the highly talented young scientist Davide Seruggia from Boston Children's Hospital and Harvard School of Medicine, who will study non-coding regulatory factors in the context of leukemia and other pediatric malignancies in his research group.*

Ebenfalls erwähnenswert ist die Eröffnung unserer neuen Core Facility, der Zebrafish Platform Austria for Preclinical Drug Screening (ZANDR), mit dem Ziel, Erkenntnisse über die Tumorentstehung und -progression zu gewinnen, indem wir die etablierte Zebrafish-Pipeline für das Drug-Screening von Krebs und seltenen Störungen der Blutbildung ausbauen. Damit wird unser bereits gut ausgestatteter Bereich Core Facilities, Models & Bioinformatics mit einem speziell auf die moderne pädiatrische Krebsforschung zugeschnittenen Portfolio weiter ausgebaut.

Ich möchte auch Ruth Ladenstein, Leiterin der Abteilung Klinischen Studien und Statistik (S<sup>2</sup>IRP), zu ihrer Berufung in das „EU Horizon Europe Mission Board for Cancer“ gratulieren. Eine wohlverdiente Position, nachdem sie sich jahrelang gegen die Ungleichheit der Überlebensraten für junge Menschen mit Krebs in Europa eingesetzt hat. Ich erwarte von ihr, dass sie mit internationalen Leuchtturmprojekten und durch den politischen Dialog mit den Mitgliedsstaaten weitere relevante Veränderungen auf der klinisch-translationalen Ebene herbeiführen wird.

Wenn ich auf unsere wissenschaftlichen Leistungen in den vergangenen zwei Jahren zurückblicke, sehe ich die St. Anna Kinderkrebsforschung als eine stabile Insel, von der aus wir uns nun aufmachen, neue Inseln zu erforschen in unserem ständigen Bemühen, krebserkrankten Kindern zu helfen. Dabei bauen wir auf einen soliden Kern, um die allerneuesten Technologien gegen Kinderkrebs zu nutzen. Wenn Sie sich einen umfassenden Überblick über weitere Highlights und unsere wissenschaftlichen Projekte verschaffen möchten, wünsche ich Ihnen viel Vergnügen beim Durchblättern dieses Forschungsberichts.

*Implicitly noteworthy as well is the opening of our new core facility, Zebrafish Platform Austria for Preclinical Drug Screening (ZANDR), with the aim to gain insights into tumor initiation and progression by upgrading the established zebrafish cancer and rare hematopoiesis disorder model drug-screening pipeline. This further expands our distinctive area of Core-Facilities, Models & Bioinformatics with portfolios specifically tailored to state-of-the-art pediatric cancer research.*

*I would also like to congratulate Ruth Ladenstein, head of Clinical Studies and Statistics (S<sup>2</sup>IRP) on her appointment to the EU Horizon Europe Mission Board for Cancer. A well-deserved position after years of campaigning against inequalities in survival rates in Europe for young people with cancer. With international lighthouse projects and by seeking political dialogue with member states, I expect her to bring about further relevant changes at the translational clinical level.*

*Looking back to our scientific achievements in the past two years, I see St. Anna CCRI as a solid island from which we are now setting out to explore new islands in our constant effort to help children with cancer. In this, we build on a solid core to leverage the very latest technologies against pediatric cancer. To get a comprehensive overview of other highlights and our scientific projects, please enjoy browsing through this research report.*

Abschließend möchte ich noch kurz auf meine persönlichen Erfahrungen in diesen zwei Jahren als Wissenschaftlicher Leiter eingehen. Es ist eine anspruchsvolle und gleichzeitig sehr befriedigende Aufgabe, bei der ich jeden Tag neue Erfahrungen sammeln kann. Mein Ziel ist es, gemeinsam mit meinen wissenschaftlichen Kolleginnen und Kollegen am Institut präzisionsonkologische Ansätze zu etablieren. Dazu möchte ich alle Forschungsgruppen systematisch fördern. Manchmal fühle ich mich wie eine Art Dirigent, der ein buntes Forschungsorchester dirigieren darf, in dem die Zusammenarbeit der Schlüssel zum Erfolg ist. Denn gemeinsam kann man mehr erreichen als alleine.

Deshalb möchte ich dem gesamten Orchester und allen Menschen hinter den Kulissen für die großartige Arbeit in den vergangenen zwei Jahren herzlich danken und hoffe, dass wir im gleichen frischen Geist weitermachen und die entstehende Musik auch weit über Wien hinaus gehört wird.



**Assoc.-Prof. Dr. Kaan Boztug**

Wissenschaftlicher Direktor / Scientific Director

*Finally, I would like to briefly reflect on my personal experiences during these two years as Scientific Director. It is a demanding and at the same time satisfying task, where I can gain new experiences every day. My goal is to establish precision oncology approaches together with the other scientists at the Institute. This includes systematically promoting all research groups. Sometimes, I feel like some kind of conductor aiming to orchestrate a colorful research orchestra, in which collaboration is the key to success. Because together you can achieve more than alone.*

*For this reason, I would like to express my heartfelt thanks to the entire orchestra and to all the people behind the scenes for their great work over the past two years. I hope that we will carry on in the same fresh spirit and that the resulting music will be heard far beyond Vienna.*



## VORWORT MANAGING DIREKTOR

Das Umfeld der Wissenschaft und Forschung zieht neugierige Menschen an, die sich nicht damit zufriedengeben, das Bestehende für gegeben hinzunehmen. Unsere Leidenschaft ist es, nicht nur Neues zu entdecken, es anwendbar und nutzbar zu machen, sondern auch damit die Welt ein kleines Stück besser zu machen – gerade für krebserkrankte Kinder. Das langjährige Vertrauen unserer Unterstützer gibt uns zusätzlichen Mut, diesen Weg mit Selbstvertrauen gemeinsam zu gehen.

Die letzten zwei Jahre waren zweifelsohne geprägt von einem Geist des Aufbruchs, der Veränderungen in vielen Bereichen der St. Anna Kinderkrebsforschung ermöglicht hat, der sich in vielen Initiativen auch konkret manifestiert hat.

Mit der Initiative „CCRI 2020+“ haben wir eine Erneuerung in strategisch wichtigen Bereichen der administrativen Fundamente des Forschungsinstitutes ins Leben gerufen. Zielsetzung ist es, die Möglichkeiten in den Bereichen Digitalisierung, Prozessoptimierung und Organisationsentwicklung zu nutzen, um die Forschungsbereiche in

## EDITORIAL MANAGING DIRECTOR

*A scientific research environment attracts curious people who are not content with taking for granted what already exists. Our passion is not only to discover new things, to make them applicable and usable, but also to make the world a little bit better – especially for children with cancer. The long-standing trust of our supporters gives us an additional incentive to go our way together with self-confidence.*

*The last two years have undoubtedly been characterized by a spirit of optimism that has enabled changes in many areas of St. Anna Children's Cancer Research Institute, which have manifested in many initiatives.*

*With the initiative "CCRI 2020+" we have launched a renewal in strategically important areas of the administrative foundations of the research institute. The objective is to use new possibilities in the areas of digitalization, process optimization and organizational development to relieve the scientists from unnecessary administrative tasks and thus also to ensure that donations are used to an even greater extent for the appropriate purpose, namely research.*

administrativen Aufgaben zu entlasten und somit auch abzusichern, dass Spendengelder in noch höherem Ausmaß dem entsprechenden Zweck zugeführt werden.

Aus dieser Initiative entstand die Neugestaltung der Bereiche Informationstechnologie (IT) mit der Etablierung einer Digitalisierungsoffensive, die nicht nur die Zusammenarbeit in der eigenen Organisation erleichtert und diese effizienter macht, sondern auch die Kooperation in unseren internationalen Projekten kosten-, zeit- und ressourcen-effizienter ermöglicht.

Erfolg, Qualität und innovative Erkenntnisse der Forschung sind wie in kaum einem anderen Bereich davon abhängig, die intelligentesten, besten „Köpfe“ zu finden und diese mit Leidenschaft für die Mission der St. Anna Kinderkrebsforschung über alle Disziplinen hinweg zu einem „produktiven Miteinander“ zu motivieren. Im Rahmen unserer Initiative „CCRI 2020+“ wurde daher der Bereich Human Resources neu strukturiert, da der schon eingesetzte Generationswechsel am Forschungsinstitut die Chance eröffnet, auf einer globalen Ebene wissenschaftliche Potenzialträger und Talente zu identifizieren, für unsere Vision zu begeistern und in unser Forschungsinstitut zu holen. Die Zuerkennung von hochkarätigen und prestigeträchtigen Forschungsförderungen unterstreicht den Erfolg des eingeschlagenen Weges, wissenschaftliche Exzellenz als Aufnahmekriterium konsequent einzufordern.

Die neuen Möglichkeiten der Digitalisierung von Prozessen in der Administration und darüber hinaus haben uns ermutigt, auch im Bereich der Finanzverwaltung mit der Einführung eines neuen ERP-Systems diese Potenziale greifbar zu machen und damit den Grundstein zu setzen, um Standardabläufe durch schrittweise Automatisierung noch effizienter und damit kostenoptimal zu gestalten.

*This initiative resulted in the redesign of the information technology (IT) areas, with the establishment of a digitalization offensive that not only facilitates more efficient collaboration within our own organization, but also enables cooperation in our international projects to be more cost-, time- and resource-efficient.*

*More than in almost any other field, the success, quality and innovative findings of research depend on recruiting the brightest minds and motivating them to "work together productively" across all disciplines with passion for the mission of St. Anna CCRI. Within the framework of our initiative "CCRI 2020+", the area of Human Resources was therefore restructured, as the generational change that has already begun at the institute opens up the opportunity to identify scientific high-potential talents on a global level, to inspire them for our vision and to attract them into our organization. The approval of high-profile and prestigious research grants underscores the success of the path we have taken of consistently demanding scientific excellence as an admission criterion.*

*The new possibilities for digitalizing processes in administration and beyond have encouraged us to also make these potentials tangible in the area of financial administration with the introduction of a new ERP system, thus laying the foundation for making standard processes even more efficient and thus more cost-effective through step-by-step automation.*

*As we are committed to the donors in that the highest possible share of the donations is used for research, it is essential to provide directions from early on. In 2019, less than 5 cents of every euro entrusted to us by donations was used for non-research administrative expenses (as calculated according to the Austrian Donation Certificate). These administrative expenses, audited and reported according to the Austrian Donation*



Da wir uns dem Spender gegenüber verpflichtet fühlen, dass ein möglichst hoher Anteil der Unterstützungen in der Forschung verwendet wird, ist es essenziell, frühzeitig Richtungen vorzugeben. Im Jahr 2019 wurden aus jedem Spendeneuro, der uns anvertraut wurde, weniger als fünf Cent für entsprechende Verwaltungsausgaben (gemäß der Berechnung laut Spendegütesiegel) verwendet. Diese gemäß Spendegütesiegel geprüften und ausgewiesenen Verwaltungsausgaben sind auch über die letzten Jahre stets in einem Bereich von unter 4,5 % und beweisen die Effizienz des Mitteleinsatzes in der St. Anna Kinderkrebsforschung. Über unsere Initiativen und die Möglichkeiten der Digitalisierung wollen wir diesen Spitzenwert auch zukunftsorientiert absichern und damit das Vertrauen der Spenderinnen und Spender rechtfertigen.

Erfolg zeigt sich auch oftmals in organischem, gesundem Wachstum. Das Forschungsinstitut der St. Anna Kinderkrebsforschung hat über die letzten Jahre, auch dank unserer Förderer, eine Größe, Komplexität und Dimension erreicht, die einen Strukturwandel notwendig machte. Mit der Gründung der St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH, einer gemeinnützigen Tochtergesellschaft des Vereins, und der Einbringung des Forschungsinstitutes in diese Gesellschaft, ist der Forschungsbereich nun stabiler, effizienter und beweglicher aufgestellt, während die ehrenamtlich agierenden Organe des Vereins ihren Kontroll- und Aufsichtspflichten in für beide Seiten klaren Strukturen entsprechend nachkommen können. Die GmbH, die mit November 2020 etabliert wurde, ermöglicht zudem den Zugang zu Fördermöglichkeiten, die in der vorhergehenden Anordnung verschlossen waren. Dies erleichterte die Investitionen in IT-Infrastruktur, den Ausbau der Forschungsinfrastruktur und die Anschaffung von Großgeräten, auch dank der Großzügigkeit unserer Unterstützerinnen und Unterstützer.

*Certificate, are also consistently in the range of less than 4.5% over the past years and prove the efficiency of the use of funds at St. Anna CCRI. Through our initiatives and the possibilities of digitalization, we want to secure this top numerical value in the future and thus justify the trust of our donors and supporters.*

*Success is also often reflected in organic, healthy growth. St. Anna CCRI has reached a size and complexity over the last years, also thanks to our donors, which made a structural change necessary. With the foundation of St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH, a non-profit subsidiary of the association, and the incorporation of the research institute into the legal form of a company, the research area is now more stable, efficient and flexible, while the honorary bodies of the association can fulfill their supervisory duties in clear structures for both sides. The St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH, which was established by November 2020, also enables access to funding opportunities that were closed in the previous organizational arrangement. This facilitated investments in IT infrastructure, the expansion of the research infrastructure and the acquisition of large-scale equipment, also thanks to the generosity of our donors and supporters.*

*The year 2020 was dominated by major challenges. In particular, the COVID-19 pandemic took all by surprise, allowing almost no preparation time and providing no clear course of action. As of mid-March 2020, we had to shut down all research operations for a few days, except in system-relevant areas, and define alternative modes of operation in order to nevertheless ensure the highest possible productivity during the first weeks of the crisis. However, the crisis has shown us that cohesion, flexibility, willingness to perform – even under difficult conditions – as well as optimism are among our strengths. At the same time the crisis offered opportunities and possibilities to develop new*

Das Jahr 2020 war dominiert von großen Herausforderungen, vor die uns die COVID-19 Pandemie sehr plötzlich, ohne Vorbereitungszeit und mit unklaren Handlungsalternativen gestellt hat. Mit Mitte März 2020 mussten wir den Forschungsbetrieb bis auf die systemrelevanten Bereiche in wenigen Tagen stilllegen, alternative Tätigkeitsbereiche definieren, um in den ersten Wochen der Krise trotzdem die höchstmögliche Produktivität zu sichern. Die Krise hat uns aber gezeigt, dass Zusammenhalt, Flexibilität, Leistungsbereitschaft – auch unter schwierigen Bedingungen – wie auch Optimismus zu unseren Stärken zählt und die Krise gleichzeitig Chancen und Möglichkeiten bietet, neue Arbeitsformen und Arbeitsmethoden zu adaptieren und deren Vorteile zu erleben. Die St. Anna Kinderkrebsforschung war in dieser Zeit nicht nur sehr aktiv im wissenschaftlichen Umfeld, wie die Anzahl der Publikationen, eingereichten Drittmittelprojekte und Forschungsinitiativen beweist, sondern auch durch die absichernden Maßnahmen eine sichere Betriebsstätte. Wenn auch die Pandemie noch nicht überwunden ist, konnten wir viel über unsere Fähigkeiten lernen und blicken gestärkt in eine wenig volatile Zukunft.

Unserem Vorstand sei für sein Engagement vor allem im vergangenen Jahr recht herzlich gedankt; neben dem großzügigen Zeiteinsatz auch für viele Stunden der engagierten, leidenschaftlichen Zusammenarbeit, der Unterstützung in den diversen Projekten und für den Mut, neue Wege zu gehen. Danke auch Ihnen, unseren Unterstützerinnen und Unterstützern für Ihre Treue, Ihr Vertrauen in unsere Arbeit und Ihre Bereitschaft, uns durch Ihre Spenden zu ermöglichen, gemeinsam unsere Mission zu leben.



**Mag. Jörg Bürger**  
Managing Direktor / Managing Director

*forms of advantageous working methods and environments. During this time, St. Anna CCRI was not only very active in science, as evidenced by the number of publications, externally funded projects submitted and research initiatives, but also a safe place to operate due to our excellent safeguarding measures. Even if the pandemic is not yet over, we were able to learn a lot about our capabilities and look strengthened into a less volatile future.*

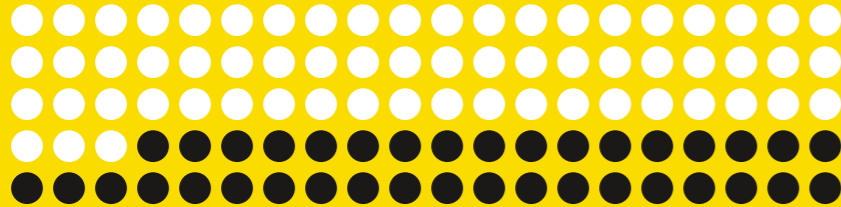
*Finally, we would like to express our sincere thanks to our Board of Directors for their commitment, especially in the past year; in addition to their generous commitment of time, also for many hours of dedicated, passionate cooperation, support in various projects and for the courage to break new ground. Thank you also to you, our donors, for your loyalty, your trust in our work and your willingness to enable us, through your donations, to live our mission together.*

**DATEN & FAKTEN**

***FACTS & FIGURES***

**PERSONELLE  
ZUSAMMENSETZUNG**

**STAFF COMPOSITION**



63% Weiblich / *Female*

37% Männlich / *Male*

**NATIONEN**

**NATIONS**



**FORSCHUNGSNETZWERK**

**RESEARCH NETWORK**

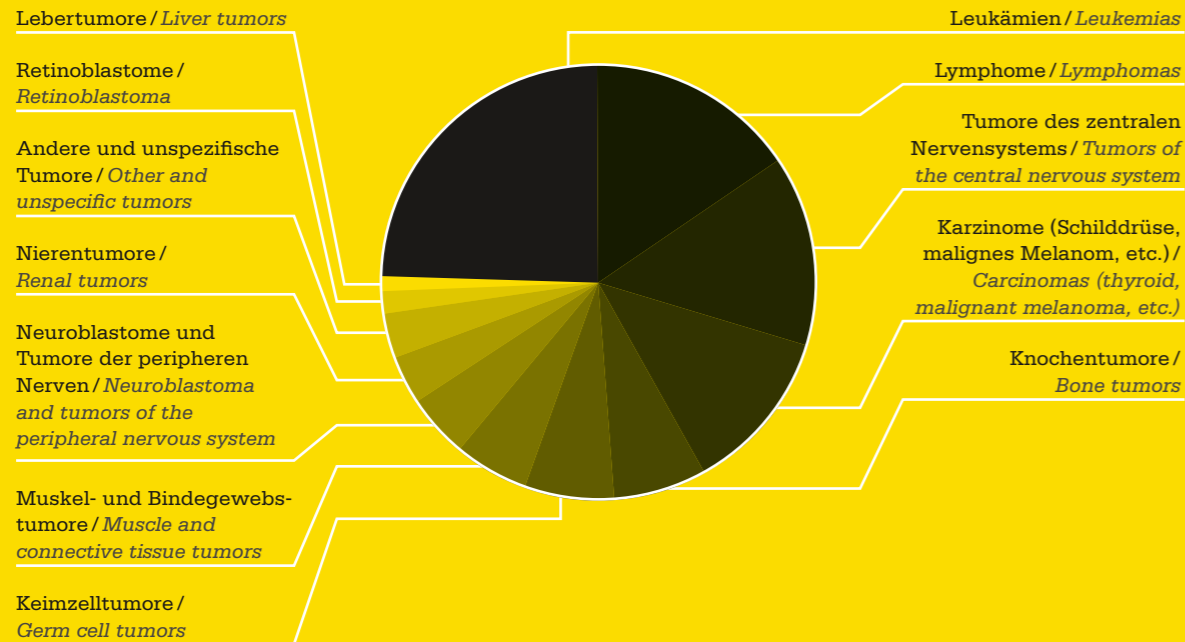


- ALBANIA
- ARGENTINA
- AUSTRALIA
- AUSTRIA
- BELARUS
- BELGIUM
- BOLIVIA
- BOSNIA AND HERZEGOVINA
- BRAZIL
- BULGARIA
- CANADA
- CHILE
- CHINA
- CROATIA
- CZECH REPUBLIC
- DENMARK
- FINLAND
- FRANCE
- GERMANY
- GREECE
- HONG KONG
- HUNGARY
- ICELAND
- INDIA
- IRELAND
- ISRAEL
- ITALY
- JAPAN
- NETHERLANDS
- NEW ZEALAND
- NORWAY
- POLAND
- PORTUGAL
- ROMANIA
- RUSSIA
- SERBIA
- SINGAPORE
- SLOVAKIA
- SLOVENIA
- SOUTH KOREA
- SPAIN
- SWEDEN
- SWITZERLAND
- TANZANIA
- TURKEY
- UKRAINE
- URUGUAY
- UNITED KINGDOM
- U.S.A.

## KINDERKREBSINZIDENZ IN ÖSTERREICH

- Selten (<1 % aller Krebskranken)
- Neuerkrankungen pro Jahr:  
Kinder bis 14 Jahre: ~200  
Jugendliche 15–19 Jahre: ~100
- Häufigste Krebsarten: Leukämien, Lymphome und Hirntumore

Die St. Anna Kinderkrebsforschung setzt alles daran, die Diagnose und Behandlung durch innovative Forschung und internationale Zusammenarbeit zu verbessern.



## CHILDHOOD CANCER IN AUSTRIA

- Rare (<1% of all cancer cases)
- New occurrences per year:  
Children up to 14: ~200  
Adolescents: ~100
- Most common cancers: leukemia, lymphoma, brain tumors

St. Anna CCRI strives to improve diagnosis and treatment through innovative research and international cooperation

Krebsinzidenz (Neuerkrankungen) im Kindes und Jugendalter, Österreich 2009-2018  
Cancer incidence (new occurrences) in children and adolescents, Austria 2009-2018

Statistik Austria, 2021

## ÜBERLEBEN NACH KINDERKREBS IN ÖSTERREICH

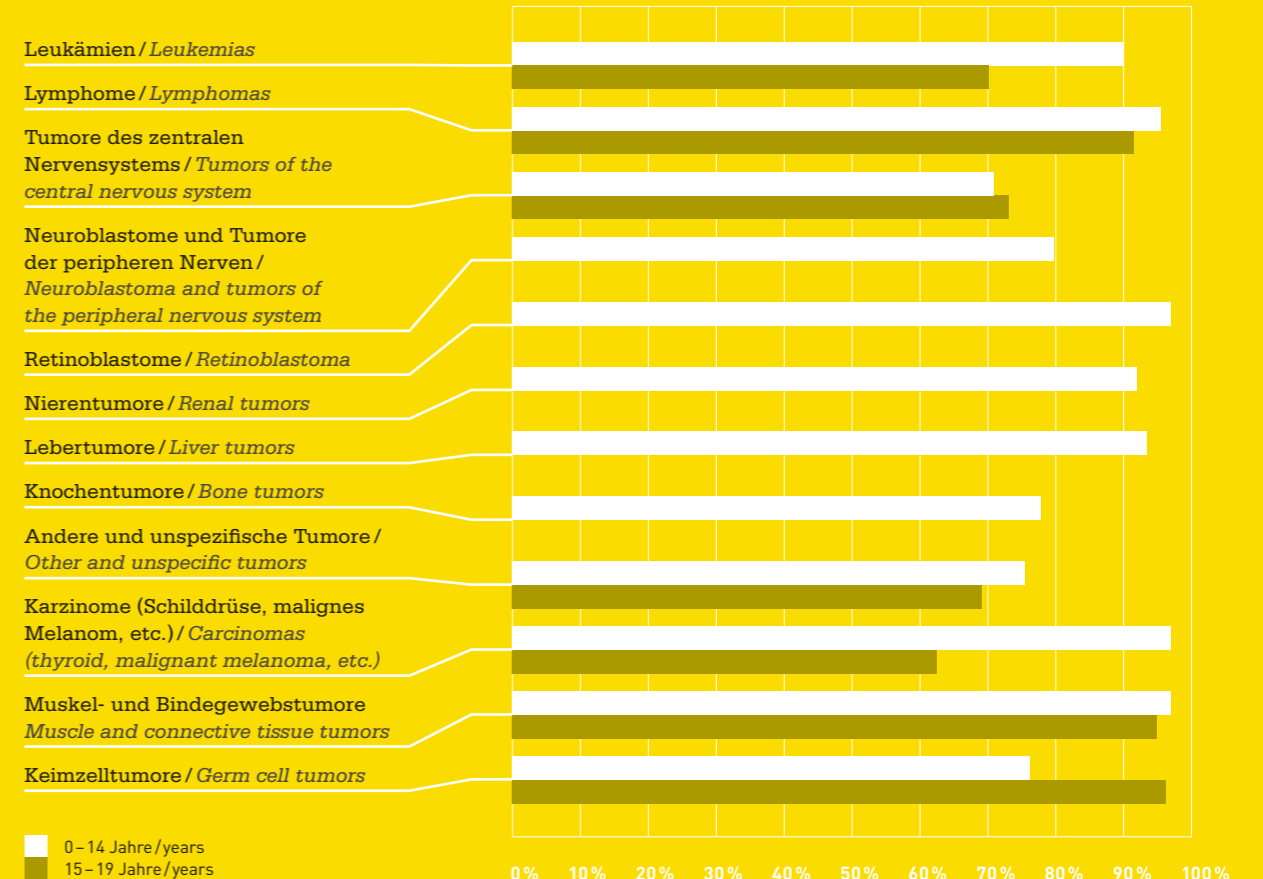
- 5-Jahres-Überleben insgesamt: 85 %
- ~30 Kinder und 15 Jugendliche sterben jährlich in Österreich an Krebs.

Durch die Weiterentwicklung seines pädiatrischen Präzisions-Onkologie-Programms will die St. Anna Kinderkrebsforschung die Heilungsrate und Lebensqualität von krebskranken Kindern und Jugendlichen erhöhen.

## SURVIVAL AFTER CHILDHOOD CANCER IN AUSTRIA

- Total 5-year-survival: 85%
- ~30 children and 15 adolescents in Austria die annually from cancer.

By advancing its pediatric precision oncology program ever further, St. Anna CCRI aims to increase the cure rate and the quality of survivorship for children and adolescents suffering from cancer.



# KINDERKREBSÜBERLEBEN FRÜHER & HEUTE

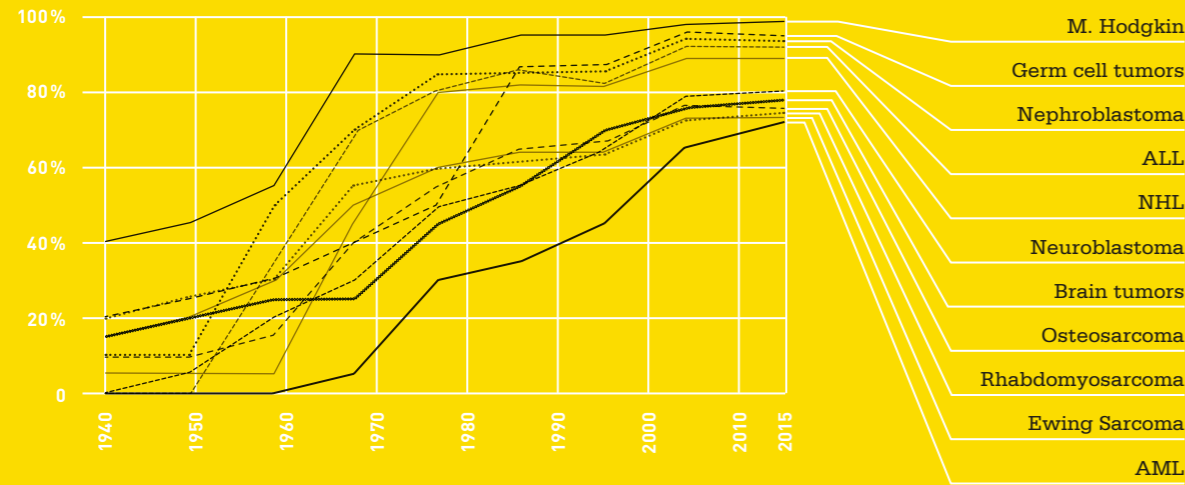
## CHILDHOOD CANCER SURVIVAL IN THE PAST AND TODAY

### KINDERKREBS-ÜBERLEBENS RATEN IN DEUTSCHLAND, 1940 BIS 2015.

2-Jahres-Überleben bis 1980,  
ab 1980 5-Jahres-Überleben.

### CHILDHOOD CANCER SURVIVAL RATES IN GERMANY, 1940 TO 2015.

2-year survival until 1980,  
5-year survival from 1980.



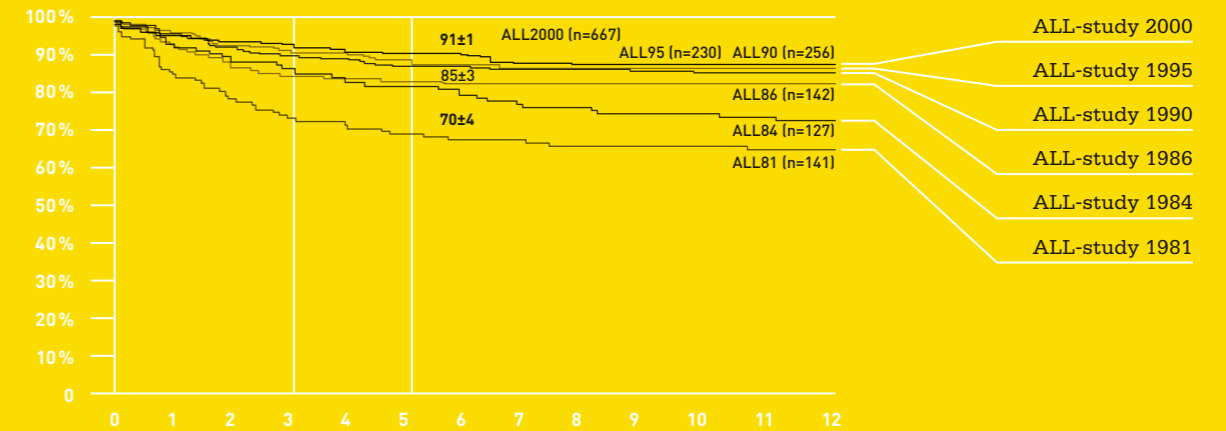
Burdach et al., Mol Cell Pediatr 2018

### ALL: ANSTIEG DES LANGZEIT-ÜBERLEBENS IN ÖSTERREICH VON 70 AUF 91%

1.563 Kinder mit akuter lymphoblastischer  
Leukämie (ALL), eingeschlossen in Studien seit  
1981 bis heute (AUSTRIAN ALL-BMF 1981-2009).

### ALL: INCREASE IN LONG-TERM SURVIVAL IN AUSTRIA FROM 70 TO 91%

1,563 children with acute lymphoblastic leukemia  
(ALL) treated in studies from 1981 until today  
(AUSTRIAN ALL-BMF 1981-2009).



Eigene Daten/Own data

**NEWS TICKER**

***NEWS TICKER***



Die Anfang 2019 initiierte Tumor-Immunoediting-Gruppe besteht mittlerweile aus fünf engagierten Forscherinnen (v. l. unten): Susanne Stofner, BSc, Michelle Buri, MSc, Hayeon Baik, PhD, Eva König, PhD, und Faith Herbold, PhD.

The Tumor Immunoediting Group, initiated in early 2019, now consists of five dedicated researchers (from left, below): Susanne Stofner, BSc, Michelle Buri, MSc, Hayeon Baik, PhD, Eva König, PhD, and Faith Herbold, PhD.

## MIT KILLERZELLEN GEGEN KINDERKREBS – EINE IMMUNOLOGIN STARTET DURCH

(Wien, 24.01.2019) Dr. Eva König bringt mit ihrer Tumor-Immunoediting-Forschungsgruppe einen völlig neuen Ansatz in die St. Anna Kinderkrebsforschung, der die Heilung von Leukämie in Aussicht stellt.

Anfang 2019 startet die Immunologie-Expertin Dr. Eva König als Principal Investigator der Gruppe „Tumor Immunoediting“ an der St. Anna Kinderkrebsforschung. Sie hat sich zum Ziel gesetzt, bestimmte Immunzellen, sogenannte natürliche Killerzellen, für die Tumorthherapie zu nutzen.

## KILLER CELLS AGAINST CHILDHOOD CANCER – AN IMMUNOLOGIST HITS THE GROUND RUNNING

(Vienna, 24.1.2019) Starting her Tumor Immunoediting research group, Eva König, PhD, introduces a completely new approach at St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI), which holds out the prospect of curing leukemia.

In early 2019, immunology expert Eva König, PhD, is starting as Principal Investigator of the Tumor Immunoediting group at St. Anna CCRI. She has set her goal of exploiting certain immune cells, called natural killer cells, in tumor therapy.

Das körpereigene Immunsystem bekämpft alles, was nicht in unseren Körper gehört. Dazu zählen auch sogenannte „entartete“ körpereigene Zellen, also Krebszellen. Wenn es allerdings auch nur einer einzigen Krebszelle gelingt, sich so zu verändern, dass sie für Immunzellen harmlos erscheint, kann sie durch das dichte körpereigene Abwehrnetz schlüpfen und sich ungehindert vermehren. Diesen Vorgang nennt man Immunoediting. König: „Bisherige Ansätze in der Krebsimmuntherapie sind schon sehr vielversprechend. Aber erst das Verständnis der grundlegenden Mechanismen des Immunoeditings kann zu neuen therapeutischen Ansätzen führen, die einen nachhaltigen Erfolg zeigen.“

### WISSEN, WIE SICH TUMORZELLEN TARNEN

Gemeinsam mit ihrem Team untersucht König die Langzeiteffekte einer Leukämie-Behandlung mit natürlichen Killerzellen. Erste Versuche im Labor zeigten, dass die natürlichen Killerzellen eine Leukämie zwar sehr lange in Schach halten, irgendwann bricht die Krankheit aber trotzdem aus.

Mittels der Technik „Cellular Barcoding“ markieren die Forscherinnen Leukämiezellen und konfrontieren sie mit natürlichen Killerzellen. Jene Leukämiezellen, die den Killerzellen entweichen, kann man dank der Markierung wiederfinden und molekulargenetisch untersuchen. „Wenn wir verstehen, wie diese Leukämiezellen resistent gegen die körpereigene Immunabwehr werden, können wir Strategien entwickeln, um die Angriffskraft der natürlichen Killerzellen so zu präzisieren, dass sich kein resistenter Tumorzell-Klon mehr bilden kann“, sagt König. Das könnte eine dauerhafte Heilung der Leukämie in Aussicht stellen.

*The immune system fights everything that does not belong in our body including cancer cells. However, if a single cancer cell manages to change in a way that it appears harmless to immune cells, it can slip through the body's dense defense network and expand without restraint. This process is called immunoediting. Dr. König: "Although current cancer immunotherapies are very promising, a detailed understanding of the basic mechanisms of immunoediting will open innovative therapeutic approaches with the great potential to show more sustainable success."*

### LEARNING HOW TUMOR CELLS CAMOUFLAGE THEMSELVES

*Together with her team, Dr. König is investigating the long-term effects of leukemia treatment with natural killer cells. Initial lab experiments showed that although those immune cells can keep leukemia in check for a long time, the cancer eventually evades the natural killer cells and the disease manifests.*

*Leukemic cells are labelled using a technique called "cellular barcoding", which allows the tracking of individual cancer cells throughout the experiment. Barcoded tumor cells are confronted with natural killer cells and those leukemic cells that escape the killer cells can be identified and analyzed applying molecular genetics methods. "If we understand how individual leukemic cells become resistant to the body's own immune defense, we can develop ways to fine-tune the killing capacity of natural killer cells to stop resistant tumors from taking over the body," says Eva König. This could mean a lasting cure for leukemia.*





**„BESSERE CHANCEN FÜR KREBSKRANKE KINDER!“**

**“BETTER CHANCES FOR CHILDREN WITH CANCER!”**

(Wien, 5.9.2019) **Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein ist nicht nur eine herausragende Forscherin. Auch ihr politischer Einsatz für bessere Überlebenschancen bei Kinderkrebs ist außergewöhnlich. Das zeigt sich einmal mehr an der Bestellung der Forscherin in das „Mission Board for Cancer“. Wir gratulieren herzlich!**

Die Europäische Kommission wählt Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein als Expertin in das „Mission Board for Cancer“. In dieser Aufgabe unterstützt Ladenstein die Kommission in der Entwicklung von brandneuen Initiativen zur Optimierung der Krebsforschung. Darüber hinaus war Ladenstein an der Entwicklung des Österreichischen und des Europäischen Krebsplans beteiligt. „Einer seiner

Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein lässt nicht locker und fordert u. a. den Zugang zu innovativen Krebsmedikamenten für Kinder und Jugendliche.

Univ.-Prof. Ruth Ladenstein, M.D., makes the case for requiring access to innovative cancer drugs for children and adolescents.

(Vienna, 5.9.2019) **Univ.-Prof. Ruth Ladenstein, MD, is not only an outstanding researcher. Her political commitment for better chances of survival in childhood cancer is also exceptional. This is once again evident in the appointment of the researcher to the “Mission Board for Cancer”. Congratulations!**

The European Commission is electing Univ.-Prof. Ruth Ladenstein, MD, as an expert to the „Mission Board for Cancer“. In this role, Prof. Ladenstein advises the Commission in the development of brand new initiatives to optimize cancer research. Furthermore, she contributed to the development of the Austrian and Europe's Beating Cancer Plan. “One of its flagships focuses

Eckpfeiler konzentriert sich ausschließlich auf die Erkennung, Diagnose und Behandlung von Kinderkrebs“, erklärt Ladenstein.

Jedes von insgesamt fünf „Mission Boards“ besteht aus 15 Expertinnen und Experten, die aus über 2.100 Bewerberinnen und Bewerbern ausgewählt wurden. Sie definieren bis Ende 2019 die ersten spezifischen Missionen zu Krebs, Klimawandel, gesunden Ozeanen, klimaneutralen Städten sowie Bodengesundheit und Lebensmitteln.

#### **ENGAGIERT IM EUROPaweITEN KAMPF GEGEN KINDERKREBS**

Darüber hinaus repräsentiert Ladenstein, Leiterin der Gruppe „Studies & Statistics for Integrated Research and Projects“, die St. Anna Kinderkrebsforschung bei zahlreichen Gelegenheiten. So wird sie etwa gleich zweimal vom Europäischen Parlament in das Special Committee on Beating Cancer (BECA) eingeladen in „Public Hearings“ zu sprechen, um ihre Expertise einzubringen, sowohl zur Verbesserung grenzüberschreitender Versorgung im Kampf gegen Krebs als auch was den Zugang zu Medikamenten, Behandlungen und klinischen Studien bei seltenen Krebsarten und Kinderkrebs betrifft.

Ladenstein ist zudem European Board Member der Internationalen Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie in Europa (SIOPE) und ehemalige Präsidentin von SIOPE sowie Koordinatorin des Europäischen Referenznetzwerks für pädiatrische Onkologie (ERN PaedCan). In diesen Funktionen unterstützt sie Maßnahmen zur Reduzierung von Ungleichheiten in der Kinderkrebsversorgung und steht in engem Kontakt mit der Europäischen Kommission.

*exclusively on the detection, diagnosis and treatment of childhood cancer,” says Prof. Ladenstein.*

*Each of five “Mission Boards” consists of 15 experts selected from more than 2,100 applicants. They are defining the first specific missions on cancer, climate change, healthy oceans, climate-neutral cities, and healthy soil and food by the end of 2019.*

#### **ENGAGED IN EUROPE-WIDE FIGHT AGAINST CHILDHOOD CANCER**

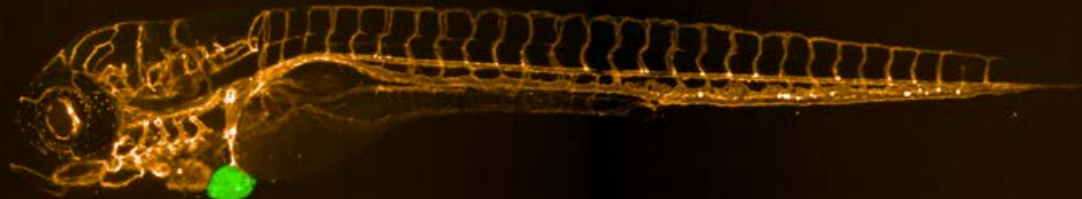
*Prof. Ladenstein, head of the group “Studies & Statistics for Integrated Research and Projects”, also represents St. Anna Children’s Cancer Research Institute on numerous other occasions. For example, the Special Committee on Beating Cancer of the European Parliament (BECA) invited her twice to speak at public hearings to share her expertise on improving cross-border care to beat cancer and on access to medicines, treatments and clinical trials for rare cancer and paediatric cancer patients.*

*Besides that, Prof. Ladenstein serves as a board member of the International Society of Pediatric Oncology in Europe (SIOPE) being former president of SIOPE and coordinator of the European Reference Network for Paediatric Cancer (ERN PaedCan). In these functions, she supports actions to reduce inequalities in childhood cancer care and interacts closely with the European Commission.*

Eine Zebrafischlarve ist durchsichtig.  
Das erlaubt eine genaue Beobachtung  
der Krebszellen (grün).

A zebrafish larva is transparent.  
- This allows the precise observation  
of cancer cells (green).

Credit: Sarah Grissenberger



## FISCHLARVEN FÜR DIE FORSCHUNG

(Wien, 11.10.2019) **Dr. Martin Distel eröffnet eine Zebrafisch-Plattform an der St. Anna Kinderkrebsforschung. Zebrafische haben mit Menschen mehr gemeinsam, als man vielleicht denkt, aber nicht nur das macht sie für die Krebsforschung besonders geeignet.**

Im Oktober 2019 lädt die St. Anna Kinderkrebsforschung zu einem internationalen Eröffnungssymposium der Zebrafisch Plattform Austria für präklinisches Medikamenten-Screening (ZANDR). Dr. Martin Distel, ZANDR-Initiator und Leiter der Forschungsgruppe „Innovative Krebsmodelle“, erklärt: „Wir forschen daran, Krebs bei Kindern in Zebrafischlarven nachzubilden und auf diesem Weg detaillierter zu untersuchen. Das ist ein vielversprechender Ansatz, um zu verstehen, wie einzelne Krebsarten entstehen und wie es zur Ausbildung von Metastasen kommt.“

## FISH LARVAE THAT DRIVE RESEARCH

(Vienna, 11.10.2019) **Martin Distel, PhD, is starting a zebrafish platform at St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI). Zebrafish larvae have more in common with humans than you might think, but that's not the only thing that makes them particularly suitable for cancer research.**

*In October 2019, St. Anna CCRI is presenting its new Zebrafish Platform Austria for Preclinical Drug Screening (ZANDR) in an international inaugural symposium. Martin Distel, PhD, ZANDR initiator and head of the research group "Innovative Cancer Models", explains, "We aim to replicate childhood cancer in zebrafish larvae, which allows us to examine it in great detail. This is a promising approach to understanding how individual cancers start, develop and how metastases form."*



Warum gerade Fische in der Krebsforschung eingesetzt werden? Trotz offensichtlicher Unterschiede sind sich Mensch und Zebrafisch erstaunlich ähnlich. „Rund 80 Prozent der Gene, die bei menschlichen Erkrankungen relevant sind, gibt es auch beim Zebrafisch“, so Distel. Um Krankheiten in einem Modell nachzubilden, bieten Zebrafische mehrere Vorteile: Zebrafischlarven entwickeln sich sehr schnell, innerhalb von wenigen Tagen sind ihre Organe funktionsfähig. Diese Entwicklung, aber auch die Entstehung eines Tumors, lässt sich im Mikroskop gut beobachten, da Zebrafischlarven durchsichtig sind.“

### ENTDECKUNG NEUER THERAPIEN

Darüber hinaus ermöglichen Zebrafischlarven ein schnelles und kostengünstiges Screening von neuen Medikamenten gegen Kinderkrebs. Die ZANDR-Plattform wurde speziell entwickelt, um Wirkstoffe an Zebrafisch-Krankheitsmodellen fast vollständig automatisiert zu screenen. Distels Arbeitsgruppe nutzt nun sogenannte Xenograft-Modelle, also mit menschlichen Tumorzellen transplantierte Zebrafisch-Larven, um nach Wirkstoffen und Wirkstoffkombinationen mit möglichem therapeutischem Nutzen gegen das Ewing-Sarkom zu suchen. Beim Ewing-Sarkom handelt es sich um einen aggressiven Tumor bei Kindern und Jugendlichen, der in Kooperation mit Prof. Heinrich Kovars Gruppe „Molecular Biology of Solid Tumors“ intensiv beforscht wird.

Die ZANDR-Plattform wurde von der Österreichischen Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) gefördert und kann von der Wissenschaftscommunity auch außerhalb des Instituts genutzt werden.

*But why are zebrafish in particular being used in cancer research? Despite obvious differences, humans and zebrafish are surprisingly similar. "Around 80 percent of the genes that are relevant in human diseases also exist in zebrafish," says Dr. Distel. For disease modeling, zebrafish provide several advantages: zebrafish larvae develop very quickly; within a few days their organs are functional. This development, but also the formation of a tumor can be easily observed under the microscope because zebrafish larvae are transparent.*

### DISCOVERY OF NEW THERAPEUTICS

*Another opportunity the zebrafish model offers: Zebrafish larvae allow for quick and cost-effective screening of new drugs for pediatric cancer. Here, the ZANDR platform was specifically designed to screen small compounds on zebrafish disease models in an almost completely automated way. Dr. Distel's group uses zebrafish larvae transplanted with human tumor cells, so-called xenograft models, to screen for compounds and compound combinations with potential therapeutic benefit against Ewing sarcoma. Ewing sarcoma is an aggressive tumor in children and adolescents, which is being intensively researched in cooperation with Prof. Heinrich Kovar's group "Molecular Biology of Solid Tumors".*

*The ZANDR platform is funded by the Austrian Research Promotion Agency (FFG) and is open to the scientific community.*

Wenn Zellen sich auf Kleidung zeigen – das Ergebnis der Zusammenarbeit von Modedesignerin Romana Zöchling und Wissenschaftlerin Dr. Sabine Taschner-Mandl.

When cells are shown on clothes. – The result of the collaboration between fashion designer Romana Zöchling and scientist Sabine Taschner-Mandl, PhD.

Credit: FERRARI ZÖCHLING; foto: geli goldmann; model: mariam @ wiener models; grooming: karta goldoni; location: f-6.atGeli Goldmann



## ART4SCIENCE: DIE KUNST, KINDERKREBSFORSCHUNG ZU KOMMUNIZIEREN

(Wien, 25.11.2019) **Wenn Künstlerinnen und Künstler auf Kinderkrebsforscherinnen und -forscher treffen, dann kann etwas Neues entstehen. Etwas Kunstvolles, das die Wissenschaft den Menschen näherbringt und vor allem einen Diskurs anregt.**

Das Projekt Art4Science nutzt die Kunst, um damit das sperrige Thema Kinderkrebsforschung einer breiten Öffentlichkeit zugänglich zu machen. „Denn wissenschaftliche Errungenschaften werden in Fernsehen und anderen Medien oft in Schwarz-Weiß-Aussagen präsentiert. So läuft Wissenschaft aber nicht, denn Schwarz-Weiß-

## ART4SCIENCE: THE ART OF COMMUNICATING CHILDHOOD CANCER RESEARCH

(Vienna, 25.11.2019) **When artists meet pediatric cancer researchers, something new can emerge. Something artistic that brings science closer to people and, above all, stimulates discourse.**

*The Art4Science project uses art to make the cumbersome subject of childhood cancer research accessible to a broad public. “Because scientific achievements are often presented in black and white messages on television and other media. But that’s not how science works, because black and white statements are always only half-truths.*

Aussagen sind immer nur Halbwahrheiten. Dazwischen gibt es viele Graustufen. Und das zu kommunizieren ist schwierig“, erklärt Univ.-Prof. Dr. Heinrich Kovar, Leiter der Gruppe „Molekularbiologie solider Tumore“, der mit der Künstlerin Univ.-Prof. Dr. Ruth Mateus-Berr ein Art4Science-Team bildet.

### VON DER MUSIK BIS ZUR MALEREI

Um diese und andere Hürden zu nehmen, Wissenschaft begreifbar zu machen und vor allem Fragen aufzuwerfen, arbeiten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler mit Künstlerinnen und Künstlern zusammen. Dabei entstehen Kunstwerke aller Art wie etwa Musikstücke, Videos, Malerei, Modekollektionen oder Fotos. Jeweils eine Forscherin bzw. ein Forscher bildet mit einer Künstlerin bzw. einem Künstler ein Team. Der gemeinsame Arbeitsprozess drückt sich aber nicht nur in Kunstwerken aus, sondern kann auch über Radiosendungen, Blog- und Social-Media-Beiträge sowie Podiumsdiskussionen mitverfolgt werden.

„Als Forscherin möchte ich Hypothesen überprüfen und Neues entdecken. Die Zusammenarbeit mit dem Künstler ermöglicht es mir, über den Tellerrand hinaus zu blicken“, erzählt etwa Dr. Eva König, Leitern der Gruppe Tumor-Immunoediting, in einem Radiobeitrag gemeinsam mit ihrem Art4Science-Partner, dem Musiker Franz Reisecker.

Weitere Infos zum Projekt sowie den Forscherinnen und Forschern sowie Künstlerinnen und Künstlern finden Sie hier: [www.art4science.at](http://www.art4science.at)

Art4Science wird gefördert durch den Österreichischen Wissenschaftsfonds FWF.

*There are many shades of gray in between. And communicating that is difficult,” explains Univ.-Prof. Heinrich Kovar, PhD, head of the “Molecular Biology of Solid Tumors” group, who forms an Art4Science team with artist Univ.-Prof. Dr. Ruth Mateus-Berr.*

### FROM MUSIC TO PAINTING

*To overcome these and other hurdles, to make science comprehensible and, above all, to raise questions, scientists work together with artists. This results in works of art of all kinds, such as compositions, videos, paintings, fashion collections or photographs. In each case, a scientist forms a team with an artist. The joint work process is not only expressed in artworks, however, but can also be followed via radio broadcasts, blog and social media posts, as well as panel discussions.*

*“As a scientist, I want to test hypotheses and discover new things. The collaboration with the artist enables me to think out of the box,” says Eva König, PhD, head of the Tumor Immunoediting Group, in a radio report together with her Art4Science partner, the musician Franz Reisecker.*

*All information about the project as well as the scientists and artists can be found here: [www.art4science.at](http://www.art4science.at)*

*Art4science is funded by the Austrian Science Fund FWF.*



**DREI PIONIERE DER KINDERKREBSFORSCHUNG**

**THREE PIONEERS IN CHILDHOOD CANCER RESEARCH**

(Wien, 30.06./30.11.2019) Vor mehr als 30 Jahren gelang einer Gruppe motivierter Menschen etwas, das seinesgleichen sucht: Sie gründeten die St. Anna Kinderkrebsforschung. Forscherinnen und Forscher der ersten Stunde waren unter anderen Dr. Inge Ambros und Univ.-Doz. Dr. Peter Ambros.

„Es waren unglaublich spannende Tage und eine aufregende Erfahrung, auch wenn unser Labor einer Besenkammer glich“, erinnert sich Peter Ambros an die Anfangszeit.

Das Ehepaar Ambros gründete die Gruppe Tumorbiologie und untersuchte das Neuroblastom, einen Tumor des Nervengewebes, der mit den unterschiedlichsten Ausprägungen einhergeht. Er befällt meist Kinder unter fünf Jahren und wird anhand von definierten prognostischen Markern wie Alter, Tumorhistologie und genetischen Veränderungen in Risikogruppen eingeteilt. Dieses ausgeklügelte Staging-System wurde zusammen mit internationalen Partnern mitentwickelt. Dass das Neuroblastom heute mit einer auf die Kinder maßgeschneiderten Strategie behandelt wird und

(30.06./30.11.2019) More than 30 years ago, a group of highly innovative people managed to complete a quest like no other: they established a facility for the systematic study of childhood cancer, the St. Anna Children's Cancer Research Institute. Scientists involved right from the very start included Inge Ambros, MD, and Univ.-Doz. Peter Ambros, PhD.

“Those were incredibly exciting days,” Peter Ambros recalls the first days at the newly established research institute. “For every one of us this was an exciting experience, even though our lab space resembled a broom closet.”

The Ambros couple founded the Tumor Biology Group, focusing on neuroblastoma, a highly versatile tumor derived from nerve tissue. It mostly affects children under the age of five and is divided into different risk groups based on defined prognostic markers like age, tumor histology and genetic changes. This sophisticated staging system was co-developed by Inge and Peter Ambros, together with international colleagues. The fact that neuroblastoma is now tackled with a patient-tailored treatment strategy, and that

die Überlebensrate von etwa 50 Prozent in den 80er-Jahren auf heute 80 Prozent gestiegen ist, verdanken wir nicht zuletzt ihrer Forschung.

**VORREITER IN DER LEUKÄMIEFORSCHUNG**

Ein weiteres Gründungsmitglied ist Univ.-Prof. Dr. Renate Panzer-Grümayer, die sich auf die akute lymphoblastische Leukämie (ALL) im Kindesalter spezialisierte. Ihr und ihren wissenschaftlichen Partnern ist es zu verdanken, dass die ALL-Diagnostik durch eine PCR-basierte Messung der minimalen Resterkrankung erweitert wurde, obwohl man das damals für unnötig hielt. Es wurde ein enormer Erfolg und ist heute Grundlage aller aktuellen Behandlungszertifizierungen in Europa. Und das ist nur ein Teil ihres enormen wissenschaftlichen Beitrags auf dem Gebiet der kindlichen ALL. Eine ehemalige Kollegin beschrieb sie als: „Dynamisch, aufmerksam, mitfühlend, praktisch und humorvoll in der Zusammenarbeit. Sie hat mein Denken geprägt und ich bin ihr unglaublich dankbar für ihre Liebenswürdigkeit und das Vorbild, das sie war.“

Liebe ehemalige Kolleginnen und Kollegen, wir schätzen und vermissen Euch!

survival has increased from about 50% in the eighties to 80% today, is due in no small part to their research.

**INNOVATIVE LEUKEMIA RESEARCHER**

Another founding member of St. Anna CCRI is Univ.-Prof. Renate Panzer-Grümayer, MD, who specialized in childhood acute lymphoblastic Leukemia (ALL). It was to her credit, along with colleagues, that ALL diagnostics was significantly extended by a PCR-based method for measuring minimal residual disease, although this was generally thought to be unnecessary at the time. Unsurprisingly, it was an enormous success and became the basis for all the current treatment certifications in Europe. And this is only one part of her enormous scientific contribution in the field of childhood ALL. A former colleague described her as: “Energetic, thoughtful, compassionate, practical, and simply a lot of fun. She shaped my thoughts and I remain eternally grateful to her for her graciousness, her intelligent guidance and the role model she has been.”

Dear colleagues, we really appreciate all of your hard work and effort and we miss you very much!

Dank Univ.-Prof. Dr. Renate Panzer-Grümayer (links) und Kolleginnen bzw. Kollegen lässt sich heute auch eine minimale Resterkrankung einer Leukämie feststellen.

Thanks to Univ.-Prof. Renate Panzer-Grümayer, MD (on the left), and colleagues, even minimal residual disease can be detected in case of leukemia.

Univ.-Doz. Dr. Peter Ambros und Dr. Inge Ambros (rechts) haben dazu beigetragen, Neuroblastome in Risikogruppen einzuteilen, um sie gezielter zu behandeln.

Univ.-Doz. Peter Ambros, PhD, and Inge Ambros, MD (on the right), contributed to defining neuroblastoma risk groups, which facilitates personalized therapy.

Credit: Harald Eisenberger



## DREI COVID-19-FÖRDERPREISE GEHEN AN ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHER

## ST. ANNA CCRI EARNS THREE COVID-19 GRANTS

(Wien, 06.04.2020) **Das in der St. Anna Kinderkrebsforschung über Jahrzehnte aufgebaute Know-how auf dem Gebiet der Virologie und Immunologie soll nun auch der Bekämpfung der Corona-Pandemie dienen. Drei Forschungsprojekte erweitern das Wissen rund um SARS-CoV-2.**

Zur Erforschung der epidemiologischen und klinischen Bedeutung von SARS-Coronavirus-(CoV)-2-Infektionen bei Kindern erhält Univ.-Prof. Dr. Thomas Lion, MSc, Leiter der Forschungsgruppe Molekulare Mikrobiologie, eine Förderung durch den Bürgermeister-Fonds der Stadt Wien. COVID-19-Verläufe bei Kindern sind meist mild oder sogar symptomlos. Die Viren werden über längere Zeit auch im Stuhl ausgeschieden, aber ihre mögliche Infektiosität ist noch nicht ausreichend untersucht. Es ist daher nicht bekannt, ob Kinder auf diesem Weg eine wesentliche Quelle für die Infektionsübertragung darstellen könnten. In dem geförderten Projekt werden Kinder mit molekularen Tests systematisch untersucht. „Die Aufklärung der Übertragungswege ist essenziell für aktuelle und zukünftige Ansätze zur Eindämmung der Virusverbreitung“, erklärt Lion.

(Vienna, 06.04.2020) **The expertise in the field of virology and immunology built up over decades at St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI) will now contribute to combating the Corona pandemic. Three research projects are expanding the knowledge about SARS-CoV-2.**

*To investigate the epidemiological and clinical significance of SARS-coronavirus(CoV)-2 infections in children, Prof. Thomas Lion, MD, PhD, MSc, head of the research group Molecular Microbiology, receives funding awarded by the City of Vienna (Medical Scientific Fund of the Mayor of the City of Vienna). COVID-19 courses in children are usually mild or even asymptomatic. However, prolonged intestinal virus shedding has been reported in children, thus rendering the pediatric population a potentially important source of virus transmission. In the funded project, children will be systematically screened by molecular testing. "Elucidating the modes of transmission is essential for current and future approaches to the containment of coronavirus spreading," Dr. Lion explains.*



Univ.-Prof. Dr. Thomas Lion, MSc (links), analysiert die Rolle von vorerkrankten Kindern in der Verbreitung des Coronavirus.

Univ. Prof. Dr. Thomas Lion, MSc (on the left), analyzes the role of children at risk in the spread of coronavirus.

Dr. René Geyeregger (rechts) untersucht in zwei Förderprojekten die Immunabwehr gegen das Coronavirus.

Dr. René Geyeregger (on the right) is investigating the immune defense against coronavirus in two projects.

Credit: Gilbert Novy

### DAS VIRUS VERSTEHEN UND BEKÄMPFEN

Dr. René Geyeregger, Leiter der Gruppe Klinische Zellbiologie und FACS Core-Unit, erhält gleich zwei Förderungen: „Wir untersuchen die Immunantwort von T-Lymphozyten auf SARS-CoV-2 und wollen herausfinden, welche Teile des Virusproteins spezifisch für SARS-CoV-2 sind und welche für eine einfache Erkältung aufgrund harmloser Coronaviren.“ Das Team rund um Geyeregger erforscht somit entscheidende Parameter, um den Krankheitsverlauf vorherzusagen und den Weg für neue Therapien zu ebnen. Dieses Projekt wird unterstützt durch den Wiener Wissenschafts-, Forschungs- und Technologiefonds (WWTF).

„In einem weiteren Projekt wollen wir neue Oberflächenmoleküle von T-Lymphozyten identifizieren, die sich spezifisch gegen SARS-CoV-2 richten. Darauf basierend detektieren wir diese T-Lymphozyten mittels Durchflusszytometrie im Blut. Damit ließe sich auch nach Jahren noch feststellen, ob eine Person einmal eine Infektion hatte.“ Dieses Projekt wird durch die Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) ermöglicht.

### UNDERSTANDING AND COMBATING THE VIRUS

*René Geyeregger, PhD, head of the Clinical Cell Biology and FACS Core Unit, is receiving two grants at once: "We are studying the immune response of T lymphocytes to SARS-CoV-2 and strive to figure out which parts of the virus protein are specific for SARS-CoV-2 and which are specific for a simple cold due to harmless coronaviruses." Hence, Dr. Geyeregger and his team are studying crucial parameters to predict the course of the disease and pave the way for new therapies.*

*"In another project, we aim to identify new surface molecules of T lymphocytes that specifically target SARS-CoV-2. Based on this, we aim to detect these T lymphocytes via flow cytometry. This would allow us to determine whether a person underwent an infection, even after years." These projects are funded by the Vienna Science and Technology Fund (WWTF) and the Austrian Research Promotion Agency (FFG).*



## NEUES CHRISTIAN DOPPLER LABOR BEFORSCHT CAR-T-ZELLTHERAPIE GEGEN KINDERKREBS

## NEW CHRISTIAN DOPPLER LABORATORY INVESTIGATES CAR T CELL THERAPY AGAINST CHILDHOOD CANCER

(Wien, 29.04.2020) In einem neu gegründeten Christian Doppler Labor entwickeln Dr. Manfred Lehner von der St. Anna Kinderkrebsforschung und sein Team CAR-T-Zelltherapien der nächsten Generation für kindliche Hochrisikotumoren.

In der CAR-T-Zelltherapie werden körpereigene Abwehrzellen mit sogenannten chimären Antigen-Rezeptoren (CARs) ausgestattet, damit sie Krebszellen gezielt ausschalten können. Trotz beeindruckender klinischer Erfolge, können CAR-T-Zellen auch gesundes Gewebe schädigen. Mit dem Ziel, diese Technologie kontrollierbarer zu machen und noch präziser gegen den Tumor, nicht aber gegen gesundes Gewebe zu richten, wurde nun das Christian Doppler (CD) Labor für CAR-T-Zellen der nächsten Generation eröffnet.

### KREBSBEHANDLUNG LENKEN UND BREMSEN

Das neue CD-Labor vereint mit seinem Leiter, Dr. Manfred Lehner von der St. Anna Kinderkrebs-

DI Dr. Michael Traxlmayr (links) und Dr. Manfred Lehner entwickeln molekulare Werkzeuge, um CAR-T-Zellen gezielter gegen Krebs einzusetzen.

DI Dr. Michael Traxlmayr (on the left), and Manfred Lehner, PhD develop molecular tools to apply CAR T cells more precisely to fight tumors.

Credit: Gilbert Novy

(Vienna, 29.04.2020) In a newly established Christian Doppler Laboratory, Manfred Lehner, PhD, from St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI) and colleagues are developing next-generation CAR T cell therapies for high-risk childhood tumors.

In CAR T cell therapy, the body's own immune cells are equipped with so-called chimeric antigen receptors (CARs) allowing them to specifically eliminate cancer cells. Despite impressive clinical success, CAR T cells can also damage healthy tissue. With the goal of adapting this technology by equipping CAR T cells more precisely to fight tumors while sparing healthy tissue, the Christian Doppler (CD) Laboratory for Next-Generation CAR T Cells has been introduced.

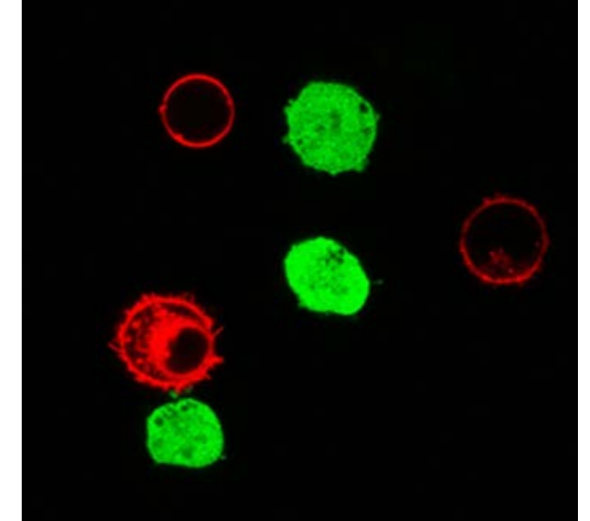
### CANCER TREATMENT UNDER (TIGHT) CONTROL

The new CD lab combines outstanding expertise in cancer immunotherapy using CAR T cells with its coordinator, Manfred Lehner, PhD, from

Eine CAR-T-Zelle (rot) attackiert eine Leukämiezelle (grün).

CAR T cell (red) attacks leukemia cell (green).

Credit: Benjamin Salzer, Manfred Lehner/St. Anna Kinderkrebsforschung/St. Anna CCRI



forschung, und DI Dr. Michael Traxlmayr, Leiter des externen CD-Labor-Moduls an der Universität für Bodenkultur, herausragende Expertise in der Krebsimmuntherapie mittels CAR-T-Zellen. Das Projekt erfolgt in Zusammenarbeit mit dem Partnerunternehmen Miltenyi Biotec.

„Unser Ziel ist es, molekulare Werkzeuge zu entwickeln, mit denen CAR-T-Zellen besser kontrolliert werden können, um sie als gezielte Lenk Waffen gegen solide Tumoren einsetzen zu können“, erklärt Traxlmayr.

Lehner ergänzt: „Genau wie bei einem Auto brauchen wir auch bei CAR-T-Zellen quasi ein Gaspedal und eine Bremse, um die Aktivität der Therapie zu steuern. Ansonsten kann es zu gefährlichen Überreaktionen bzw. Nebenwirkungen kommen.“

### 3 MIO. EURO FÜR DIE GRUNDLAGENFORSCHUNG

Das CD-Labor wird in seinen sieben Forschungsjahren mit rund drei Millionen Euro, davon 50 Prozent von öffentlicher Hand, gefördert. Wichtigster öffentlicher Fördergeber ist das Bundesministerium für Digitalisierung und Wirtschaftsstandort (BMDW). „CD-Labors öffnen den Kooperationspartnern das Tor zu gemeinsamer anwendungsorientierter Grundlagenforschung“, betont die Bundesministerin für Digitalisierung und Wirtschaftsstandort Dr. Margarete Schramböck. „Bei diesem Labor bedeutet das, Grundlagenforschung zu den Patientinnen und Patienten zu bringen. Gleichzeitig profitiert der Standort Österreich durch das hier entstehende neue Wissen.“

St. Anna CCRI, and DI Dr. Michael Traxlmayr, head of the external CD lab module at the University of Natural Resources and Life Sciences. The project is carried out in collaboration with the partner company Miltenyi Biotec.

“Our goal is to develop molecular tools to better control CAR T cells in order to use them as specific guided weapons against solid tumors,” Dr. Traxlmayr explains.

Dr. Lehner adds, “Just like in a car, we need an accelerator and a brake to control the activity of CAR T cells. Otherwise, dangerous overreactions or side effects can occur.”

### 3 MILLION EUROS FOR BASIC RESEARCH

In its research period of seven years, the CD lab will be funded with approximately 3 million euros, of which 50% will come from the public sector. The most important public funding source is the Federal Ministry for Digital and Economic Affairs (BMDW). “CD labs open the door for cooperation partners to conduct joint application-oriented basic research,” emphasizes Federal Minister for Digital and Economic Affairs Dr. Margarete Schramböck. “In this case that means bringing basic research to patients. At the same time, Austria as a business location benefits from the new knowledge generated here.”



ERC-Grant-Preisträger Dr. Davide Seruggia nimmt das Angebot an, in Wien eine Forschungsgruppe zu leiten.

ERC Grant awardee Davide Seruggia, PhD, accepts the invitation to start his own research group in Vienna.

Credit: Harald Eisenberger

## HARVARD-FORSCHER WIRD PRINCIPAL INVESTIGATOR AN DER ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHUNG

(Wien, 01.09.2020) Der vielversprechende Epigenetik-Forscher und ERC-Starting-Grant-Preisträger Dr. Davide Seruggia gründet eine neue Forschungsgruppe an der St. Anna Kinderkrebsforschung. Seruggia wird epigenetische Mechanismen der Genregulation bei Leukämie im Kindesalter untersuchen, um innovative Behandlungsansätze zu entdecken.

Dr. Davide Seruggia, Postdoktorand an der Harvard School of Medicine, übermittelt seine Zusage, ab Jänner 2021 die Forschungsgruppe „Biologie der pädiatrischen Leukämie“ an der St. Anna Kinderkrebsforschung zu leiten. Der talentierte Jungforscher hat bereits einen hochdotierten Starting Grant des Europäischen Forschungsrates (ERC) im Gepäck. Damit will Seruggia insbesondere nicht-kodierende Regionen in der DNA bei der Blutbildung und bei Leukämie untersuchen.

### HOFFNUNG AUF HÖHERE HEILUNGSRATE

Assoc.-Prof. Dr. Kaan Boztug, wissenschaftlicher Leiter der St. Anna Kinderkrebsforschung, hofft auf neue Erkenntnisse aus Seruggias Forschung: „In den letzten Jahrzehnten haben wir viel über Leukämie gelernt. Um noch mehr Kinder zu heilen, eröffnet die Entschlüsselung der epigenetischen Kontrolle völlig neue Möglichkeiten.“

## HARVARD SCIENTIST BECOMES PRINCIPAL INVESTIGATOR AT ST. ANNA CCRI

(Vienna, 01.09.2020) Promising epigenetics scientist and ERC Starting Grant awardee Davide Seruggia, PhD, is establishing a new research group at St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI). Dr. Seruggia will study epigenetic mechanisms of gene regulation in childhood leukemia to discover innovative treatment approaches.

*Dr. Davide Seruggia, PhD, a postdoctoral scientist at Harvard School of Medicine, confirms to lead the research group "Biology of Pediatric Leukemia" at St. Anna CCRI starting in January 2021. The talented young researcher brings with him a highly endowed Starting Grant assigned by the European Research Council (ERC). In particular, Dr. Seruggia is interested in investigating non-coding regions in DNA in hematopoiesis and leukemia.*

### HOPE FOR HIGHER CURE RATE

*Assoc. Prof. Kaan Boztug, MD, scientific director of St. Anna CCRI, is looking forward to new insights from Seruggia's research: "In the last decades, we have learned a lot about leukemia. To cure even more children, deciphering epigenetic control opens up entirely new possibilities."*



## KURZ NACHGEFRAGT – DAVIDE SERUGGIA GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Ich bin neugierig, welcher der beste Bezirk zum Leben in Wien ist!

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Für meine Masterarbeit ins Ausland zu gehen, zum ersten Mal außerhalb meiner Komfortzone, weg von Freunden und Familie eine neue Stadt zu entdecken. Dank dieser Arbeit habe ich seither immer wieder neue Städte und Kulturen erkundet.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Ich habe das Gefühl, dass ich immer noch 16 bin. Ich bedauere nichts.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Sei fokussiert und vorbereitet.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Arbeite hart, aber genieß auch das Leben!

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Reisen nach Island, Peru... und natürlich in meine Heimat Italien.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Strategien zur Heilung von Krankheiten, die auf dem nicht-kodierenden, unbekanntem und unerforschten Teil unserer DNA beruhen.

## DAVIDE SERUGGIA – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*I am most curious to learn which is the best district to live in Vienna!*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*Moving abroad for my master thesis, for the first time outside my comfort zone, away from friends and family, in a new city to discover. Thanks to this job, I have kept exploring new cities and cultures since then.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I feel like I am still 16, no regrets!*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Be focused and be prepared.*

### MY MOTTO IN RESEARCH IS:

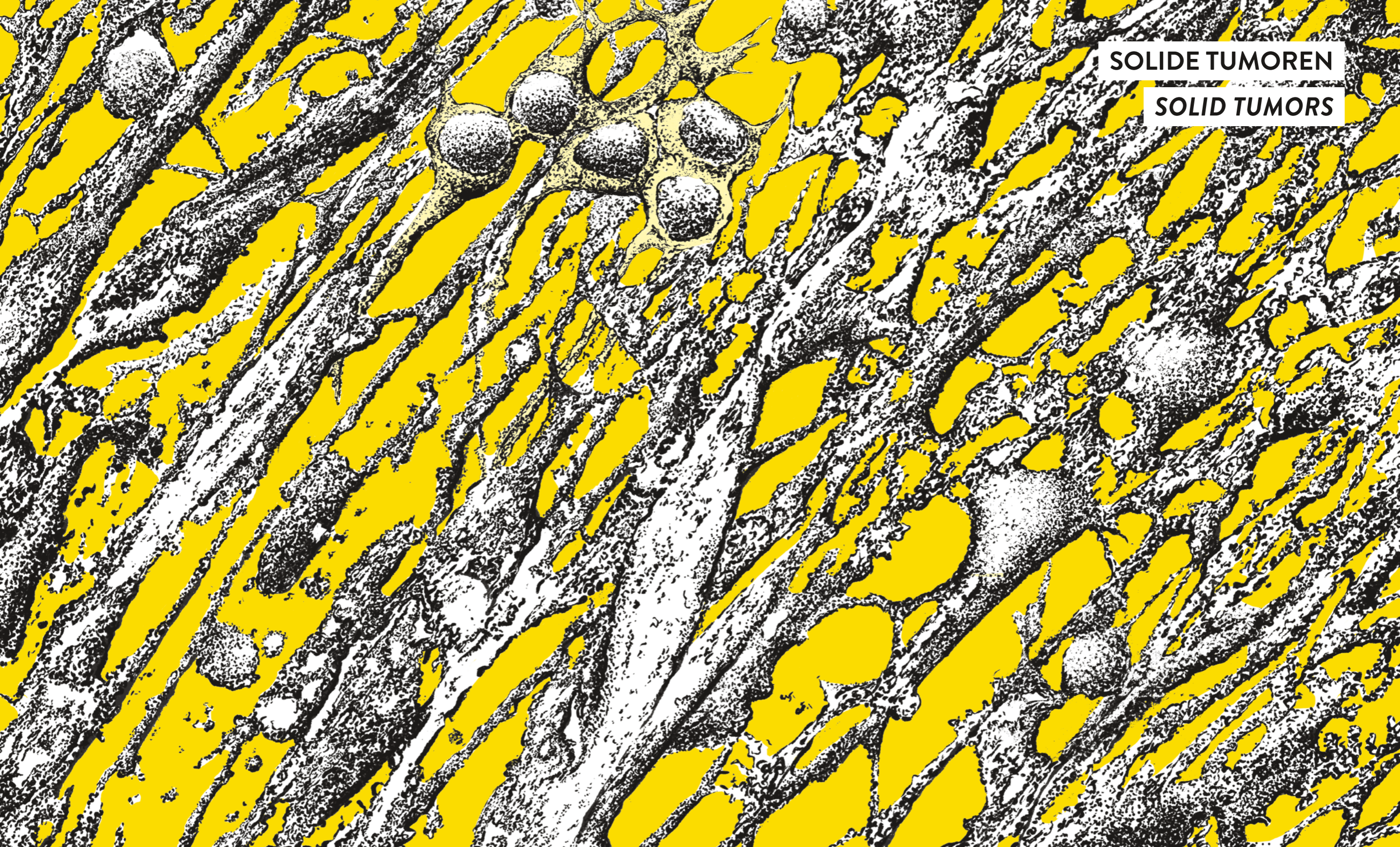
*Work hard, play hard!*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST „AFTER CORONA“:

*Travel to Iceland, Peru... and my home Italy of course.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*Strategies to cure disease that are based on the non-coding, unknown and unexplored part of our DNA.*



SOLIDE TUMOREN

SOLID TUMORS



# CAROLINE HUTTER GROUP

LCH Biology

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Caroline Hutter

## STAFF SCIENTIST

Raphaela Schwentner

## POSTDOCTORAL FELLOW

Giulio Abagnale

## PHD STUDENTS

Philipp Ben Soussia

## TECHNICIANS

Gunhild Jug (until 2019)

Thomas Schöller (until 2020)

## CLINICIAN, BIOINFORMATICIAN

Sebastian Eder



*„Warum die Langerhanszell-Histiozytose manchmal von selbst ausheilt, in anderen Fällen aber eine umfassende Chemotherapie erfordert, das möchte ich herausfinden.“*

**“I want to figure out why Langerhans cell histiocytosis sometimes heals on its own, and at other times seems to require extensive chemotherapy.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – CAROLINE HUTTER GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Das „Nature“-Cover.

**DIESES EREIGNIS HAT MEIN  
FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:**

Mir als junge Medizinstudentin einen Vortrag von Paul Nurse über den Zellzyklus anzuhören.

**WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:**

Ich würde wahrscheinlich immer noch beides, Ärztin und Wissenschaftlerin, werden wollen. Oder Botanik studieren.

**DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:**

Kim Nasmyth's Rat, Interesse über die eigene Arbeit hinaus zu kultivieren und Probleme mit Menschen außerhalb des eigenen Fachgebietes zu diskutieren. Denn das führt dazu, dass Sie Ihre Probleme aus einer anderen Perspektive betrachten.

**DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“  
AM MEISTEN:**

Ein Abendessen mit der ganzen Familie bei meinen Eltern, ein Abend im Theater an der Wien und natürlich eine Party! Aber Corona könnte uns auf die eine oder andere Weise noch eine Weile begleiten.

**DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:**

Ich möchte unsere Arbeit noch besser in die klinische Anwendung übertragen. Und herausfinden, warum die Langerhanszell-Histiozytose manchmal von selbst wieder verschwindet, in anderen Fällen aber eine ausgedehnte Chemotherapie erfordert.

## CAROLINE HUTTER – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

**THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:**  
*The “Nature” cover.*

**THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE  
AS A RESEARCHER:**

*As a young medical student listening to Paul Nurse giving a talk about the cell cycle.*

**IF I COULD BE 16 AGAIN:**

*Probably I would still want to become a physician-scientist. Or study botany.*

**THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:**

*Kim Nasmyth's advice that you should cultivate interest beyond your own work and discuss your problems with people outside your field as this will lead to approaching your problems from a different perspective.*

**THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST  
“AFTER CORONA”:**

*Having dinner with the whole family at my parents' house, an evening out at the Theater an der Wien, and having a party of course! But Corona might stay with us in one way or the other.*

**THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE  
TO ACHIEVE/INVENT:**

*I want to translate our work even better into clinical application. And I want to figure out why Langerhans cell histiocytosis sometimes heals on its own, and at other times it requires extensive chemotherapy.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Die Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH) ist eine ungewöhnliche Erkrankung. Aufgrund des unkontrollierten Zellwachstums in verschiedenen Teilen des Körpers und dem Vorhandensein einer onkogenen Treibermutation (meist BRAF<sup>V600E</sup>) wird sie oft als Krebs eingestuft. Sie hat aber auch Merkmale einer Immunerkrankung. So enthalten LCH-Läsionen große Mengen verschiedener Immunzellen und Erkrankte können Zeichen einer systemischen Hyperinflammation aufweisen.

Ziel unseres Labors ist es, die Pathobiologie von LCH besser zu verstehen, um neue Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln. Wir zeigten bereits, dass LCH-Zellen in einer hierarchischen Weise organisiert sind. Wir fanden auch heraus, dass einige Zell-Subtypen in LCH-Läsionen Moleküle exprimieren, die Immunzellen stimulieren können. Wir konzentrieren uns nun auf den möglichen Crosstalk zwischen LCH-Zellen und ihren Nachbarzellen, um zu klären, wie die unmittelbare Umgebung die Tumorbildung beeinflusst.

In einem weiteren Projekt untersuchen wir, wie die BRAF<sup>V600E</sup>-Expression periphere Blut- und Knochenmarkzellen beeinflusst. Bei vielen Patienten mit LCH findet sich mutiertes BRAF in einem Teil ihrer Blutzellen, aber bisher ist unklar, wie und in welchem Ausmaß dies den Krankheitsphänotyp beeinflusst. Unser experimenteller Ansatz inkludiert die Verwendung von induzierten pluripotenten Stammzellen und die Einzelzell-RNA-Sequenzierung von Patientenproben.

## RESEARCH FOCUS

*Langerhans cell histiocytosis (LCH) is an unusual disease. While considered as neoplasm because of uncontrolled cell growth in different parts of the body and the presence of an oncogenic driver mutation (in most cases BRAF<sup>V600E</sup>), it also has features of an immune disease. Thus, LCH lesions contain large amounts of different immune cells and patients can present with signs of systemic hyperinflammation.*

*The goal of our laboratory is to better understand the pathobiology of LCH in order to develop new treatment options. We have previously shown that LCH cells are organized in a hierarchal manner. We also found that some subtypes of lesional cells express molecules that can stimulate immune cells. We are now focusing on the potential crosstalk between LCH cells and their neighboring cells, to explain how the immediate environment influences tumor formation.*

*In another project, we aim to find out how BRAF<sup>V600E</sup> expression influences peripheral blood and bone marrow cells. In many patients with LCH, mutated BRAF is found in some of their blood cells, but it is unclear so far how and to which extent this drives the disease phenotype. Our experimental approach is the use of induced pluripotent stem cells and single cell RNA sequencing of patient-derived cells.*

## HEINRICH KOVAR GROUP

Molecular Biology of Solid Tumors

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Heinrich Kovar

### STAFF SCIENTISTS

Dave Aryee  
Jozef Ban

### POSTDOCTORAL FELLOW

Branka Radic Sarikas

### PHD STUDENTS

Lisa Bierbaumer  
Marion Janschitz (until 2019)  
Rahil Noorizadeh

### MASTER STUDENT

Mathias Eduard Ilg

### TECHNICIAN

Karin Mühlbacher

*„Ich möchte mit einer bahnbrechenden Entdeckung zu signifikantem Fortschritt in der Therapie von Ewing-Sarkom-Patientinnen und -Patienten beitragen.“*

**“I want to contribute to significantly improved therapy of Ewing sarcoma patients with a ground-breaking discovery.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – HEINRICH KOVAR GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Der entwicklungsabhängig zeitlich begrenzte Einfluss spezifischer Gewebefaktoren aus der Umgebung auf die Wirksamkeit von tumor-treibenden Mutationen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Zum richtigen Zeitpunkt am richtigen Platz gewesen zu sein, um die Gelegenheit zur Aufklärung der Zielstruktur eines neuartigen Antikörpers gegen das Ewing-Sarkom bekommen zu haben.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Würde ich versuchen, die Welt zu verändern (und nie damit aufzuhören).

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Lass nie außer Acht, dass alles auch ganz anders sein könnte, als es scheint.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Immer zu zweifeln.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Unbeschwert Familie und Freunde zu treffen und wieder zu reisen.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Mit einer bahnbrechenden Entdeckung zu signifikantem Fortschritt in der Therapie von Ewing-Sarkom-Patientinnen und -Patienten beigetragen zu haben.

## HEINRICH KOVAR – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*The influence of environmental tissue factors on the activity of tumor driving mutations restricted to a developmental time window.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*Having been at the right time at the right place to get the opportunity to discover the target structure of a novel antibody against Ewing sarcoma.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I would try hard to change the world (and never stop again).*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Always keep in mind that things may be different from what they seem.*

### MY MOTTO IN RESEARCH IS:

*Never stop doubting.*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*To meet family and friends without restrictions and to travel again.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*A groundbreaking discovery contributing to significantly improved therapy of Ewing sarcoma patients.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Metastasen sind die häufigste Todesursache bei Kinderkrebs. Die Fähigkeit von Tumorzellen, sich an verschiedene Gewebeumgebungen anzupassen, verschiedene funktionelle Zustände anzunehmen und der Immunabwehr zu entgehen, steht an der Basis der Metastasierung. Um die Streuung von Krebszellen und Therapieresistenz zu bekämpfen, gilt es, auf die Plastizität von Tumorzellen zu zielen. Mit Fokus Ewing-Sarkom untersuchen wir funktionelle Interaktionen zwischen dem onkogenen Treiber des Tumors und modifizierenden Faktoren aus dem Gewebeumfeld. Für präklinische Medikamententestung widmeten sich 2019/2020 unsere Projekte der Entwicklung von Krankheitsmodellen. Wir entdeckten neue Mechanismen der Umschaltung zwischen proliferativen und invasiven, metastasierenden Stadien des Ewing-Sarkoms und erbrachten den konzeptionellen Beweis für die antimetastatische Wirkung der Blockade dieser Mechanismen. Wir erforschten das Wechselspiel zwischen der Aktivität des Ewing-Sarkom-Onkogens EWS-FLI1 und dem hormonellen Umfeld im Knochen für die Pathogenese des Tumors. Zuletzt etablierten wir erfolgreich ein 3D-bioprinted Kultursystem von Tumorzellen von Patienten für die Hochdurchsatz-Medikamententestung.

## RESEARCH FOCUS

*Metastasis is the major cause of death for pediatric cancer patients. At the basis of metastasis is the ability of tumor cells to adapt to varying tissue environments, adopt different functional states and escape immune surveillance. We aim at therapeutically targeting this tumor cell plasticity to fight cancer cell dissemination and treatment resistance. Focusing on Ewing sarcoma in children and adolescents, we study functional interactions between the oncogenic driver EWS-FLI1 and microenvironmental modifiers. In 2019/2020, our projects addressed the development of models to recapitulate the human disease for pre-clinical drug testing. We discovered novel mechanisms switching Ewing sarcoma from a proliferative to a highly migratory, invasive and metastatic phenotype, and provided proof of concept for anti-metastatic efficacy of targeting key components of these pathways. We explored the interplay between activity of the Ewing sarcoma oncogene EWS-FLI1 and the hormonal microenvironment in the bone niche in driving Ewing sarcoma pathogenesis. Finally, a novel 3D bioprinted culture system of patient-derived tumor cells for high-throughput drug testing was successfully established.*

## SABINE TASCHNER-MANDL GROUP

Tumor Biology

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Sabine Taschner-Mandl

### STAFF SCIENTIST

Marie Bernkopf (Senior staff scientist  
& Team Leader Diagnostics/Labdia)  
Fikret Rifatbegovic

### POSTDOCTORAL FELLOW

Polyxeni Bozatzki  
Eva Bozasky  
Irfete Fetahu  
Florian Kromp  
Dora Clara Tarlungeanu (until 2020)

### PHD STUDENTS

Teresa Gerber  
Daria Lazic

### MASTER STUDENTS

Donya Esmaeilgoudarzi (until 2020)  
Virág Gehl  
Filip Mivlat (until 2019)

### BACHELOR STUDENTS

Victoria Six (until 2020)  
Christina Walter (until 2020)

### TECHNICIANS

Bettina Brunner-Herglotz (Labdia)  
Andrea Ziegler (Labdia)  
Anja Zimmer (Labdia)

### GROUP LEADER EMERITUS

Peter Ambros (until 2019)

### TEAM LEADER DIAGNOSTICS EMERITA

Ingeborg Ambros (until 2019)

### INTERNSHIP

Johannes Temme

*„Ich möchte für Kinder und Jugendliche mit Neuroblastom bessere Diagnostik, zum Beispiel mittels „Liquid Biopsies“ und bessere Therapiekonzepte entwickeln.“*

**“I want to develop better diagnostics, e.g. liquid biopsies, and therapy concepts for children and adolescents with neuroblastoma.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – SABINE TASCHNER-MANDL GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Die ungeheure Plastizität von Tumorzellen und Zellen in der Umgebung von Tumoren, z. B. Schwann-Zellen. Diese Zellen sind in der Lage, ihren zellulären Zustand zu verändern, also in verschiedene Rollen zu schlüpfen. Da möchte ich verstehen, wie das funktioniert.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Mein erster Kontakt mit Genetik und Neurowissenschaften in der Schule.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Würde mich mein Weg hoffentlich auch wieder in die St. Anna Kinderkrebsforschung führen!

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Es gibt immer Ausnahmen von der Regel – so wahr in der Biologie!

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Mutig sein und über den Tellerrand blicken.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Mit Kolleginnen und Kollegen einen Abend im Pub um die Ecke verbringen.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Ich möchte für Kinder und Jugendliche mit Neuroblastom und anderen soliden Tumoren bessere Diagnostik, zum Beispiel mittels „Liquid Biopsies“ und bessere Therapiekonzepte entwickeln.

## SABINE TASCHNER-MANDL – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*The immense plasticity of tumor cells and the cells of the tumor microenvironment, e.g. Schwann cells; these cells are able to change their cellular state, i.e. to slip into different roles. That makes me wonder how cells manage to accomplish this!*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*First contact – with genetics and neuroscience in high school.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I hopefully would manage to direct my career towards leading research at St. Anna Children's Cancer Research Institute!*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*There are always exceptions to the rule – so true in biology!*

### MY MOTTO IN RESEARCH IS:

*Be bold and brave and think outside the box!*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST

#### “AFTER CORONA”:

*An evening with my colleagues in the pub around the corner.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*To develop better diagnostics, e.g. liquid biopsies, and therapy concepts for children and adolescents with neuroblastoma and other cancers.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Wir widmen uns ungelösten Fragen der Neuroblastom-Pathogenese und entwickeln neue diagnostische und therapeutische Ansätze für die präzisionsmedizinische Behandlung von Kindern mit bösartigen Tumoren.

Das Neuroblastom ist die häufigste solide Krebserkrankung im frühen Kindesalter und entsteht während der Embryogenese aus dem sich entwickelnden peripheren Nervensystem. Es ist eine genetisch heterogene Erkrankung mit unterschiedlichem klinischen Verlauf von spontaner Tumoregression bis hin zu bösartiger metastasierender Erkrankung mit schlechtem Therapieansprechen.

Eines unserer Hauptforschungsinteressen ist es, die Heterogenität der metastasierten Tumorzellen und ihre klinische Relevanz besser zu verstehen. Wir haben kürzlich entdeckt, dass sich Tumorzellen in Knochenmarkmetastasen wesentlich vom Primärtumor unterscheiden. Wir führen nun molekulare Kartierungen von Neuroblastom-Tumoren und -Metastasen durch, um die Interaktion von Tumorzellen mit ihrer Umgebung mittels automatisierter Mikroskopie, optimiert durch Deep Learning, zu verstehen. Ein weiterer Schwerpunkt ist die Entwicklung einer besseren Diagnostik und die Identifizierung von Risikofaktoren. Wir analysieren Flüssigbiopsien, im besonderen Tumormarker im Blut, um den Therapieerfolg von Krebspatienten besser zu überwachen und Rückfälle frühzeitig zu erkennen. Dieser Ansatz wird derzeit in europäischen klinischen Studien für Hochrisiko-Neuroblastome umgesetzt.

## RESEARCH FOCUS

*We tackle unresolved questions of neuroblastoma pathogenesis and develop new diagnostic and therapeutic approaches to facilitate precision medicine for children with malignant tumors.*

*Neuroblastoma is the most common solid cancer early in life and arises from the developing peripheral nervous system during embryogenesis. It is a genetically heterogeneous disease with diverse clinical outcome ranging from spontaneous tumor regression to malignant metastatic disease and poor response to current therapy.*

*One of our main research interests is to better understand heterogeneity of metastasized tumor cells and its clinical relevance. We recently discovered that tumor cells in bone marrow metastases substantially differ from the primary tumor. We now molecularly map neuroblastoma tumors and metastases to understand the interaction of tumor cells with their surroundings using automated microscopy improved by deep learning. Another focus is the development of better diagnostics and identification of risk factors. We investigated liquid biopsies, specifically tumor markers in the blood, to better monitor cancer patients and detect relapse early. This approach is currently implemented in European clinical trials for high-risk neuroblastoma.*

## ELENI TOMAZOU GROUP

Epigenome-based Precision Medicine

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Eleni M Tomazou

### POSTDOCTORAL FELLOW

Stefan Terlecki-Zaniewicz

### PHD STUDENTS

Peter Peneder

Marcus Tötzl

### MASTER STUDENT

Abdelrahman Abdelgawad

### TECHNICIAN

Adrian Stütz

*„Das ideale Experiment wird unser  
Verständnis der Biologie voranbringen,  
egal wie das Ergebnis aussieht.“*

**“The ideal experiment will  
advance our understanding  
of biology no matter what  
the result is.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – ELENI TOMAZOU GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Ich bin neugierig darauf, herauszufinden, wie Zellen der Tumormikroumgebung zur Therapie-resistenz und zum Fortschreiten der Erkrankung bei kindlichen Sarkomen beitragen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Der Kontakt zu Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern auf der ganzen Welt mit unterschiedlichen Hintergründen und Fachkenntnissen.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Ich würde einen ähnlichen Weg einschlagen und Molekularbiologin werden. Die Arbeit an einem Institut für Kinderkrebsforschung ist sehr motivierend und erfüllend.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Das ideale Experiment wird unser Verständnis der Biologie voranbringen, egal wie das Ergebnis aussieht.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Wissenschaft ist eine Kunst. Sie erfordert Kreativität und Perspektive.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Mit meinem vierjährigen Sohn zu reisen. „Nach Corona“ werden wir Afrika bereisen, um Löwen zu sehen.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Ich möchte eines unserer wichtigsten Ergebnisse so weit bringen, dass es Patientinnen und Patienten nützt.

## ELENI TOMAZOU – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*I am curious to know how cells of the tumor microenvironment contribute to therapy resistance and disease progression in pediatric sarcomas.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*My exposure to scientists from around the world with diverse backgrounds and expertise.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I would follow a similar path becoming a molecular biologist. Working at a children's cancer research institute is very motivating and fulfilling.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*The ideal experiment will advance our understanding of biology no matter what the result is.*

### MY MOTTO IN RESEARCH IS:

*Science is an art. It requires creativity and perspective.*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*Traveling with my 4-year-old boy. ‘After Corona’ we are going to Africa to see lions.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*I want to bring one of our key results to the point that it benefits patients.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

### AM WEG ZUR EPIGENOM-BASIERTEN PRÄZISIONS- MEDIZIN GEGEN KINDLICHE SARKOME

Unsere Gruppe hat sich zum Ziel gesetzt, die Rolle der epigenetischen Deregulierung als onkogenen Mechanismus sichtbar zu machen. Dabei fokussieren wir uns auf fusionsbedingte pädiatrische Tumoren des Binde- und Stützgewebes (Sarkome). Wir untersuchen, wie Fusionsproteine gesunde Zellen auf Bösartigkeit umprogrammieren, um dieses Wissen zur Verbesserung der pädiatrischen Sarkomtherapie zu nutzen.

### Wir erforschen derzeit:

- nicht-genetische Mechanismen der Tumorbildung, die von onkogenen Fusionsproteinen orchestriert werden
- Welchen Beitrag der zelluläre Zustand der Ursprungszelle bei der Krebsentstehung spielt.
- die epigenetische Heterogenität als Quelle der zellulären Plastizität, was neue therapeutische Paradigmen ermöglicht.
- nicht-genetisch basierte Biomarker zur Stratifizierung der Patientinnen und Patienten und zur Echtzeit-Krankheitsüberwachung

Wir haben kürzlich einen integrierten Ansatz für die Analyse von Flüssigbiopsien entwickelt, der die nicht-genetischen Eigenschaften der zellfreien DNA ausnutzt. So ermöglicht die Analyse von Fragmentierungsmustern zirkulierender TumordNA auf mehreren Ebenen und in Folge die Entwicklung eines bioinformatischen Tools, LIQUORICE, eine genaue Erkennung und Klassifizierung des Ewing-Sarkoms, eines pädiatrischen Tumors mit geringer Mutationslast (siehe Abbildung S. 64).

## RESEARCH FOCUS

### TOWARD AN EPIGENOME-BASED PRECISION MEDICINE PROGRAM FOR PEDIATRIC SARCOMAS

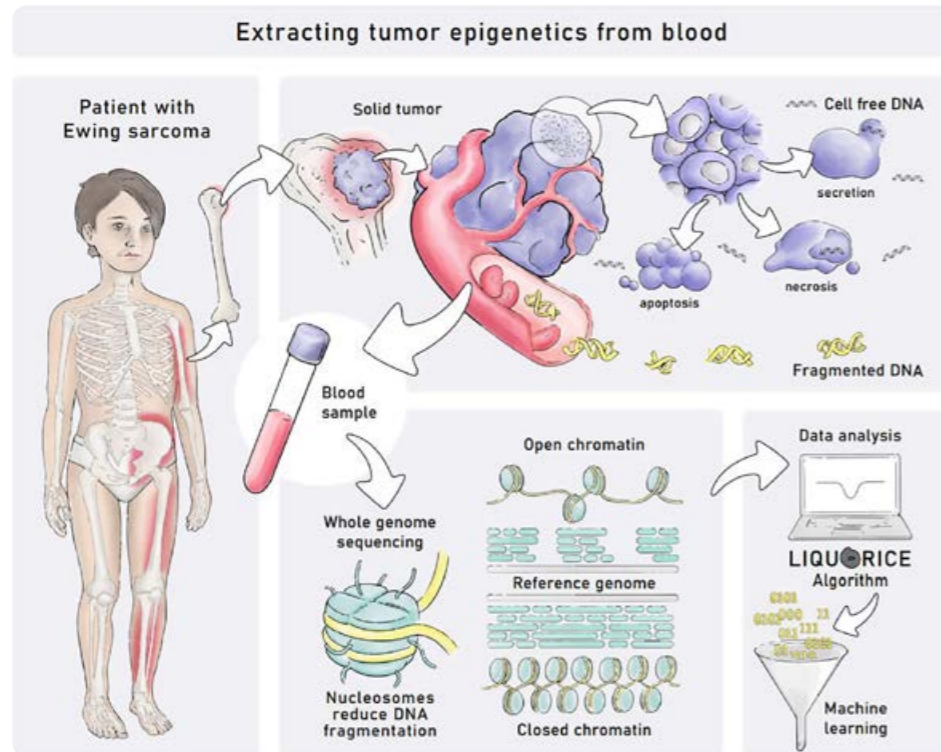
*Our group aims to uncover the roles of epigenetic deregulation as an oncogenic mechanism, with a focus on fusion-driven pediatric sarcomas. We study how fusion proteins rewire healthy cells for malignancy, with the perspective of exploiting this knowledge for improving pediatric sarcoma therapy.*

### We currently investigate:

- Non-genetic mechanisms of tumor formation orchestrated by oncogenic fusion proteins.
- Contribution of the cellular state of the corresponding cell of origin to cancer development.
- Epigenetic heterogeneity as a source of cellular plasticity providing novel therapeutic paradigms.
- Non-genetic based biomarkers for patient stratification and real-time disease monitoring.

*We have recently developed an integrated approach for liquid biopsy analysis that exploits non-genetic properties of cell-free DNA. By analyzing fragmentation patterns of circulating tumor DNA on multiple levels, and by developing a bioinformatic tool, LIQUORICE, we have achieved accurate detection and classification of Ewing sarcoma, a pediatric tumor with low mutational burden (see figure, p. 64).*





**ABBILDUNG/FIGURE**

Ein neuer Ansatz analysiert die charakteristischen epigenetischen Fragmentierungsmuster von Tumor-DNA im Blut, um kindliche Tumore zu erkennen, zu klassifizieren und zu überwachen.

*A new approach analyzes the characteristic epigenetic fragmentation patterns of tumor DNA in the blood to detect, classify and monitor childhood tumors.*

Credit: Tatjana Hirschmugl

## DIE ENTWICKLUNGSHIERARCHIE DER LANGERHANS-ZELL-HISTIOZYTOSE

Die Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH) ist eine seltene Erkrankung, die vor allem junge Kinder betrifft. Aufgrund des unkontrollierten Zellwachstums in verschiedenen Teilen des Körpers wird sie oft als Krebskrankung eingestuft. Sie weist aber auch Merkmale einer Autoimmunerkrankung auf, da LCH-Läsionen Immunzellen anziehen und eine charakteristische Gewebeentzündung aufweisen. Interessanterweise kann LCH bei einigen Patienten ohne Behandlung von selbst abheilen, während andere eine intensive Chemotherapie benötigen und unter Langzeitfolgen leiden oder sogar der Krankheit erliegen können. Die Gründe für diese Unterschiede bei der Schwere der Krankheit sind kaum verstanden und standen im Mittelpunkt einer neuen Studie der St. Anna Kinderkrebsforschung und des CeMM Forschungszentrums für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften.

Bei der Untersuchung von LCH-Läsionen unter dem Mikroskop beobachtete Caroline Hutter – Gruppenleiterin an der St. Anna Kinderkrebsforschung, pädiatrische Onkologin am St. Anna Kinderspital und Co-Leiterin dieser Studie – eine auffallende Heterogenität der LCH-Zellen. Um diese Vielfalt auf molekularer Ebene zu untersuchen, stellte sie ein interdisziplinäres Team zusammen, zu dem neben experimentellen und computergestützten Forscherinnen und Forscher der St. Anna Kinderkrebsforschung und des CeMM auch Ärztinnen und Ärzte des St. Anna Kinderspitals und des Wiener Allgemeinen Krankenhauses gehörten. Ihr Ziel war es, zwei grundlegende Fragen zu beantworten: Was sind die Mechanismen hinter LCH und wie können wir die Behandlung von Kindern verbessern, die von dieser Krankheit betroffen sind?

## A DEVELOPMENTAL HIERARCHY IN LANGERHANS CELL HISTIOCYTOSIS

*Langerhans cell histiocytosis (LCH) is a rare disease affecting primarily young children. Often classified as a cancer because of uncontrolled cell growth in different parts of the body, it also has features of an autoimmune disease, as LCH lesions attract immune cells and show characteristic tissue inflammation. Curiously, while LCH may heal by itself without treatment in some patients, others require intensive chemotherapy and suffer from long-term consequences, or may even succumb to the disease. The reasons for these differences in disease severity are poorly understood and have been the focus of a new study from the St. Anna Children's Cancer Research Institute (CCRI) and the CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences.*

*Studying LCH lesions under the microscope, Caroline Hutter – principal investigator at St. Anna CCRI, pediatric oncologist at St. Anna Children's Hospital, and co-lead investigator of this study – observed striking heterogeneity among LCH cells. To investigate this diversity in full molecular detail, she assembled an interdisciplinary team including experimental and computational researchers from St. Anna CCRI and CeMM, as well as medical doctors from St. Anna Children's Hospital and Vienna General Hospital. Her aim was to answer two fundamental questions: What are the mechanisms behind LCH, and how can we improve treatment of children affected by this disease?*

## MOLEKULARE UNTERSUCHUNG DER VERSCHIEDENEN ZELLTYPEN, AUS DENEN LCH-LÄSIONEN BESTEHEN

Unter Verwendung modernster Einzelzell-RNA-Sequenzierungstechnologie im Labor des Co-Leiters Christoph Bock (CeMM) wurde die molekulare Zusammensetzung von LCH-Läsionen auf Einzelzell-Ebene untersucht. Unter der Leitung von Florian Halbritter (seit 2018 Principal Investigator, PI, für Entwicklungsbiologie und Genomik am CCRI) und Matthias Farlik (jetzt PI an der Medizinischen Universität Wien) analysierte das Team die molekularen Profile von LCH-Läsionen und entwickelte eine umfassende Landkarte der zellulären Heterogenität bei LCH.

In dieser molekularen LCH-Karte identifizierte das Team mehrere, wiederkehrende LCH-Zell-Subtypen. Einer dieser Subtypen umfasste sich aktiv teilende Zellen, aus denen die anderen LCH-Zell-Subtypen hervorzugehen scheinen. Die mutmaßlichen derivativen LCH-Zelltypen wiesen unterschiedliche Genexpressionssignaturen auf, die sie in ein Spektrum verschiedener immunologischer Funktionen einbeziehen – mit möglichen Auswirkungen auf ihre biologische und klinische Bedeutung.

## A MOLECULAR SURVEY OF DIVERSE CELL TYPES COMPRISING LCH LESIONS

*Utilizing state-of-the-art single-cell RNA sequencing technology in the laboratory of co-lead investigator Christoph Bock (CeMM), LCH lesions were analyzed for their molecular composition at the level of individual cells. Spearheaded by one computational postdoc, Florian Halbritter (note: since 2018 PI for Developmental Cancer Genomics at St. Anna CCRI), and one wet-lab postdoc, Matthias Farlik (now PI at Medical University of Vienna), the team analyzed the molecular profiles of LCH lesions and developed a comprehensive map of cellular heterogeneity in LCH.*

*In this molecular map of LCH, the team identified multiple, recurrent LCH cell subtypes. One of these subtypes comprised actively dividing cells, which appear to give rise to the other LCH cell subtypes. Putative derivative LCH cell types displayed distinct gene expression signatures implicating them in a spectrum of diverse immunological functions – with possible implications to their biological and clinical significance.*

### PLASTIZITÄT VON LCH-ZELLEN INNERHALB DER LÄSIONEN

In weiteren Experimenten setzte das Team epigenomische Assays ein, um Profile des Chromatins von LCH-Zellen zu erstellen und die gen-regulatorischen Mechanismen zu entschlüsseln, die der Entwicklung der beobachteten zellulären Heterogenität zugrunde liegen. Dies ermöglichte die Identifizierung mehrerer molekularer Signalwege, die in verschiedenen Zweigen dieser unerwarteten Entwicklungshierarchie aktiv sind, was ein Zusammenspiel von entwicklungsbedingten, immunologischen und onkogenen Mechanismen bei LCH bestätigte. In Folgeexperimenten könnte die Stimulation dieser Signalwege es ermöglichen, die Entwicklung von LCH-Zellen in verschiedene Zelldifferenzierungen zu lenken.

Die Studie ist ein bedeutender Schritt vorwärts im Verständnis dieser rätselhaften Krankheit. In Zukunft könnten diese Erkenntnisse helfen, schwere von weniger schweren Krankheitsfällen besser zu unterscheiden und neue Behandlungsmöglichkeiten zu eröffnen.

### FÖRDERUNG

Die Studie wurde teilweise vom Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF), der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), dem Europäischen Forschungsrat (ERC), der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (ÖAW) und der Histiocytosis Association finanziert.

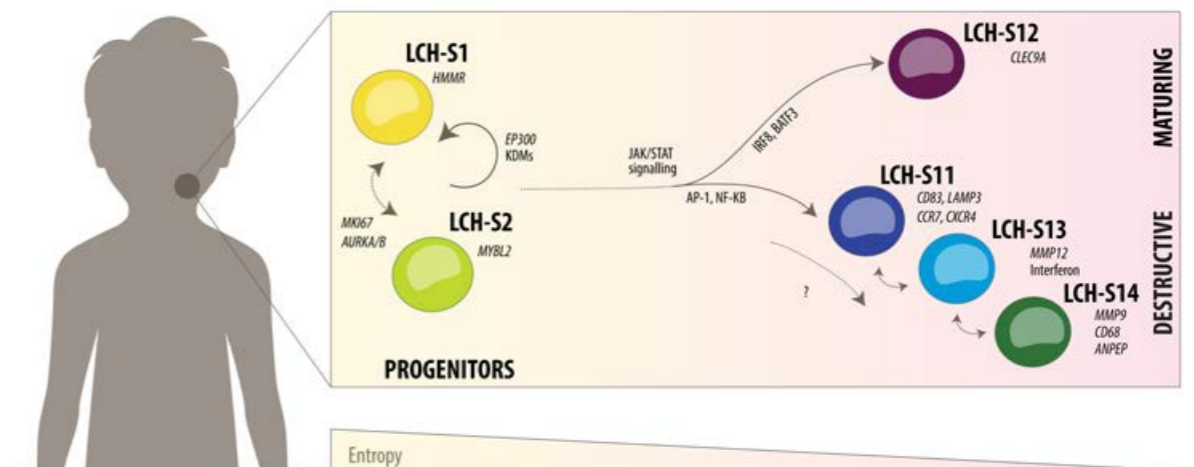
### INTRA-LESIONAL PLASTICITY OF LCH CELLS

*In further experiments, the team utilized epigenomic assays to profile the chromatin of LCH cells and to unravel the gene-regulatory mechanisms underlying the development of the observed cellular heterogeneity. This allowed identification of multiple molecular pathways that are active in different branches of this unexpected developmental hierarchy, which corroborated an interplay of developmental, immunological, and oncogenic mechanisms in LCH. In follow-up experiments, stimulation of these pathways may enable nudging LCH cell development into different cell fates.*

*The study is a significant step forward in the understanding of this enigmatic disease. In future, these findings may help devise better ways of distinguishing severe from less severe disease cases, and they may even open up new treatment possibilities.*

### FUNDING

*The study was partly funded by the Austrian Science Fund (FWF), the German Research Foundation (DFG), the European Research Council (ERC), the Austrian Academy of Sciences (OeAW), and the Histiocytosis Association.*



### ABBILDUNG / FIGURE

LCH-Zellen entwickeln sich innerhalb von Läsionen aus einem Pool von sich teilenden Vorläuferzellen (LCH-S1, LCH-S2) zu unterschiedlich ausreifenden und potenziell destruktiven Tochterzellen.

*LCH cells develop within lesions from a pool of dividing progenitors (LCH-S1, LCH-S2) toward different maturing and potentially destructive cellular offspring.*

Modifiziert nach / modified from: Halbritter et al., Cancer Discov. 2019

### PUBLIKATION / PUBLICATION

Halbritter F\*, Farlik M\*, Schwentner R, Jug G, Fortelny N, Schnöller T, Pisa H, Schuster LC, Reinprecht A, Czech T, Gojo J, Holter W, Minkov M, Bauer WM, Simonitsch-Klupp I, Bock C#, Hutter C#. Epigenomics and Single-Cell Sequencing Define a Developmental Hierarchy in Langerhans Cell Histiocytosis. *Cancer Discov.* 2019 Oct;9(10):1406-1421. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-0138. Epub 2019 Jul 25.

\* = equal contribution, # = corresponding authors

## MASCHINEN BEIBRINGEN, WIE SIE ZELLEN IN TUMORGEWEBE ERKENNEN

Komplexe Gewebeanordnungen sind ein Engpass bei der Analyse von Krebs-Biomarkern in der Mikroskopie. Da Zellen oft dicht gepackt sind, ist es bei der Anwendung von automatisierten Methoden eine Herausforderung, jede Zelle und jeden Zellkern zu erkennen. Tiefe neuronale Netze können trainiert werden, um diese Aufgabe mit hoher Genauigkeit zu lösen. Sie benötigen aber Expertinnen und Experten, die Zellen und deren Bestandteile auf mikroskopischen Bildern für das Training kennzeichnen. Solche annotierten Datensätze waren bisher nicht verfügbar.

### DIE AUTOMATISIERTE MIKROSKOPIE IST EIN WICHTIGES WERKZEUG IN DER KREBSFORSCHUNG UND -DIAGNOSTIK.

Die Quantifizierung von genetischen oder Protein-Biomarkern in Gewebe- und Zellpräparaten ist unerlässlich, um pathogene Mechanismen zu untersuchen und Kinder mit soliden Tumoren zu diagnostizieren. Wir konnten zeigen, dass die Kombination der zwei verschiedenen Bildgebungstechnologien, automatisierte Immunfluoreszenz plus Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, eine sensitive und genaue Methode ist, um metastasierende/disseminierende Tumorzellen im Knochenmark von Patientinnen und Patienten mit Neuroblastom oder anderen pädiatrischen Krebserkrankungen zu erkennen. Das unterstreicht die Bedeutung von bildgebenden Verfahren zur Überwachung des Therapieerfolgs, d. h. der Effektivität der Elimination von Tumorzellen aus dem Knochenmark.

Die Fluoreszenzmikroskopie wird häufig in der Forschung und Diagnostik eingesetzt, da sie den multiplexen Nachweis von Biomarkern, die Untersuchung der morphologischen Eigenschaften

## TEACHING MACHINES TO RECOGNIZE CELLS IN TUMOR TISSUE

*The bottleneck in analyzing cancer-related biomarkers in microscopy images is complex tissue arrangements, as cells are often packed tightly and it is therefore challenging for automated methods to recognize each cell or cell nucleus. Deep neural networks can be trained to address this task with high accuracy, but need experts to label cell nuclei on microscopy images for training. Such annotated datasets were not available previously.*

### AUTOMATED MICROSCOPY IS AN IMPORTANT TOOL IN CANCER RESEARCH AND DIAGNOSTICS.

*Quantification of genetic or protein biomarkers in tissue and cell preparations is essential to investigate pathogenic mechanisms and diagnose patients with pediatric solid tumors. We have previously shown that the combination of two different imaging technologies, automated immunofluorescence plus fluorescence in situ hybridization is a sensitive and specific method to detect metastasizing/disseminating tumor cells in the bone marrow of patients with neuroblastoma or other pediatric cancers. This example highlights the importance of imaging approaches to monitor the success of therapy, as tumor cells are eliminated from the bone marrow if therapy is effective.*

*Fluorescence microscopy is often applied in research and diagnostics as it allows multiplexing of biomarker detection, investigation of morphological properties of cells and cell nuclei as well as localization of proteins within the cell. By using automated imaging, cells in tumor tissues can be characterized precisely and with high statistical power based on the potential to analyze thousands of cells.*

von Zellen und Zellkernen sowie die Lokalisierung von Proteinen innerhalb der Zelle ermöglicht. Durch den Einsatz von automatisierter Bildgebung können Zellen in Tumorgeweben präzise und mit hoher statistischer Aussagekraft charakterisiert werden, basierend auf dem Potenzial, Tausende von Zellen zu analysieren.

### ERKENNUNG VON ZELLEN IN GEWEBEN – EINE HERAUSFORDERUNG.

Ein kritischer Schritt in der mikroskopischen Bildanalyse ist die genaue Erkennung von Zellen auf Mikroskopie-Bildern, die sogenannte Segmentierung. Eine ungenaue Segmentierung führt zu falschen biologischen Schlussfolgerungen. Daher verwendet unser Team Methoden, die auf maschinellem Lernen basieren, um automatisierten Systemen beizubringen, wie sie Zellkerne in Bildern segmentieren und trennen können. Diese Deep-Learning-Methoden sind jedoch stark auf Expertenannotationen von Zellkernen angewiesen, um die Parameter der automatisierten Modelle anzupassen. Insbesondere die Trennung benachbarter Zellkerne in großen Zellklumpen ist problematisch, wenn die Zellklumpen sehr dicht sind und die Zellmorphologie nicht eindeutig beurteilt werden kann (Abbildung 1).

Zur Lösung solcher Probleme setzt man heute tiefe neuronale Netze ein. Es handelt sich hierbei um maschinelle Lernmodelle, die vom Aufbau und der Funktionsweise von Neuronen im menschlichen Gehirn inspiriert sind. Sie können so trainiert werden, dass sie ihre Parameter anpassen, um Zellen genau zu segmentieren. Sie benötigen aber von Experten annotierte Datensätze als Goldstandard für das Training. Leider sind die bis dato

### THE CHALLENGE OF RECOGNIZING CELLS IN TISSUES.

*A critical step in microscopy image analysis is the accurate detection, called segmentation, of cells on microscopy images, as inaccurate segmentation will lead to wrong biological conclusions. Thus, our team uses machine learning-based methods to teach automated systems how to segment and separate cell nuclei in images. These deep learning methods, however, heavily rely on expert annotations of nuclei, to adjust the parameters of automated models. Especially the separation of neighboring nuclei in large cell clumps is problematic when cell clumps are very dense and cell morphologies cannot be assessed clearly (figure 1).*

*The technology used to tackle such problems nowadays is deep neural networks. These are machine learning models inspired by the design and functionality of neurons in the human brain. They can be trained to adjust their parameters to segment cells accurately, but need expert-annotated datasets as a gold standard for training. Unfortunately, datasets that are currently available are limited in size and complexity and thus cannot be used to sufficiently train deep neural networks for accurate segmentation and separation of cells in previously unseen new images.*

verfügbaren Datensätze in Bezug auf Größe und Komplexität begrenzt und können daher nicht verwendet werden, um tiefe neuronale Netze für die genaue Segmentierung und Trennung von Zellen in neuen, zuvor ungesehenen Bildern ausreichend zu trainieren.

#### EIN UMFANGREICHER, VON EXPERTEN ANNOTIERTER MIKROSKOPISCHER BILDDATENSATZ VERBESSERT DIE DEEP-LEARNING-BASIERTE ERKENNUNG VON ZELLKERNEN.

In dieser Studie sammelten wir eine breite Palette von Bildern unterschiedlicher Qualität und Präparationsart und annotierten jeden Zellkern auf halbautomatische Weise. Der Datensatz bestand aus 7.813 Zellen von 79 Bildern, die in Bezug auf Diagnose, Probenvorbereitung, Bildvergrößerung, Qualität und Bildgebungsmodalitäten unterschiedlich waren (Abbildung 2). Er enthielt auch sehr komplexe Bilder mit stark aggregierten Zellkernen. Der Datensatz ist öffentlich zugänglich für das Training von auf maschinellem Lernen basierenden Kernsegmentierungsalgorithmen. So wird er alle Zielgruppen weltweit dabei unterstützen, die mikroskopische Bildanalyse zum Nutzen von Forschung und Diagnostik vollständig zu automatisieren.

An der St. Anna Kinderkrebsforschung nutzen wir diesen Datensatz, um unsere automatisierten Bildanalysemethoden wie z. B. Multiplex-Bildgebungsansätze weiter zu verbessern, sodass wichtige neue Erkenntnisse über Eigenschaften und Mechanismen pädiatrischer solider Tumoren gewonnen werden können.

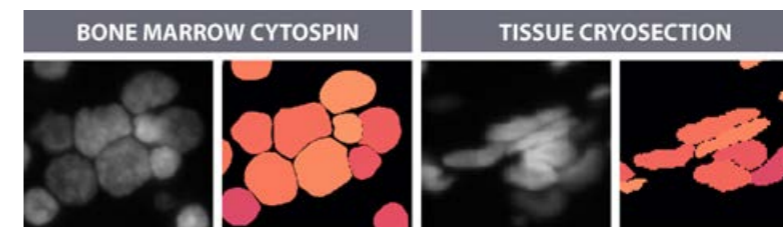
#### A LARGE AND COMPLEX EXPERT-ANNOTATED MICROSCOPY IMAGE DATASET IMPROVES DEEP LEARNING-BASED CELL NUCLEUS DETECTION.

*We therefore collected a wide range of images of various quality and preparation type and annotated each nucleus in a semi-automated way. The dataset consists of 7,813 cells on 79 images that are diverse with respect to diagnosis, sample preparation, image magnification, quality and imaging modalities (figure 2). This comprehensive, annotated dataset also includes very complex imaging with tightly aggregated cell nuclei. It is publicly available for the training of machine learning-based nuclear segmentation algorithms. Our dataset will support imaging groups worldwide towards the overall goal of fully automating microscopy image analysis, for the benefit of research and diagnostics.*

*At CCRI, we will now use this dataset to further improve our automated image analysis methods in e.g. multiplex imaging approaches and thereby gain important new insights into characteristics and mechanisms of pediatric solid tumors.*

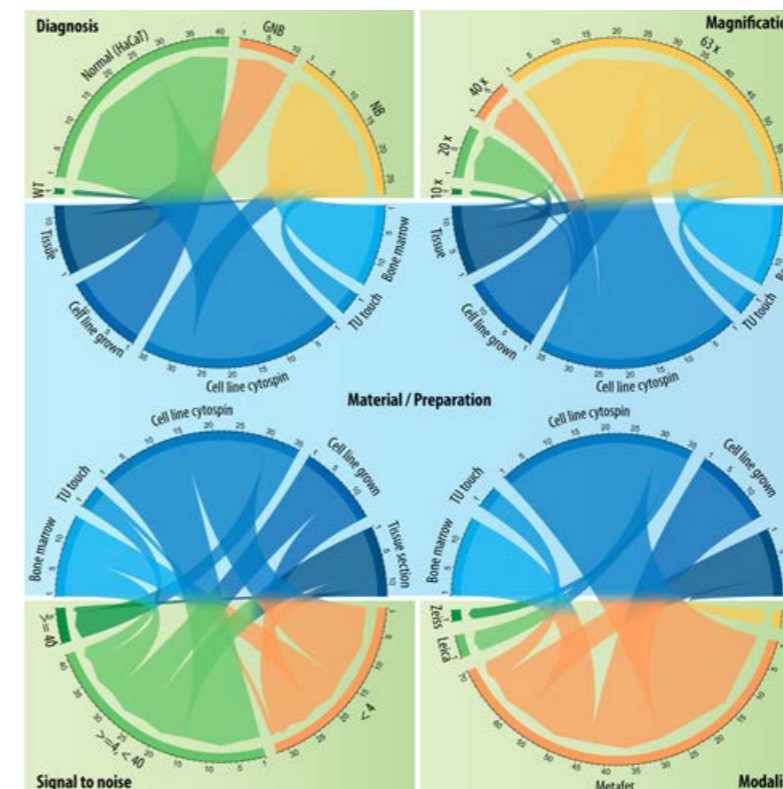
#### PUBLIKATION/PUBLICATION

Kromp F, Bozsaky E, Rifatbegovic F, Fischer L, Ambros M, Berneder M, Weiss T, Lazic D, Dörr W, Hanbury A, Beiske K, Ambros PF, Ambros IM, Taschner-Mandl S. An annotated fluorescence image dataset for training nuclear segmentation methods. *Sci Data*. 2020 Aug 11;7(1):262. doi: 10.1038/s41597-020-00608-w.



**ABBILDUNG / FIGURE 1**  
Die Erkennung einzelner Zellkerne in Tumorgewebe und dichten Zellpräparationen ist eine Herausforderung.

*Recognizing each cell nucleus is challenging in tumor tissues and dense cell preparations.*



**ABBILDUNG / FIGURE 2**  
Der von Experten annotierte Datensatz enthält 79 verschiedene Bilder, die unterschiedliche Gewebetypen, Präparationen, Diagnosen, Bildgebungsmodalitäten, Vergrößerungen und Signal-Rausch-Verhältnisse abdecken.

*The expert-annotated dataset contains 79 diverse images covering different tissue types, preparation, diagnosis, imaging modalities, magnification and signal to noise ratio.*

Modifiziert nach / modified from: Kromp et al., *Sci Data*. 2020

## NEUE RICHTLINIEN FÜR DIE FLÜSSIGBIOPSIE-ANALYSE IN MULTIZENTRISCHEN KLINISCHEN STUDIEN

Unter Flüssigbiopsie-Analyse versteht man die Messung von in Körperflüssigkeiten wie z. B. Blut zirkulierenden molekularen Markern, die von Tumorzellen freigesetzt werden. So können beispielsweise von Tumorzellen freigesetzte DNA-Fragmente analysiert werden, um genomische Informationen aus dem Tumor zu gewinnen. Darüber hinaus sind Flüssigbiopsien minimalinvasiv. Mit ihrer Hilfe kann man genomische Marker zu verschiedenen Zeitpunkten während und nach der Therapie verfolgen und den Krankheitsverlauf überwachen, ohne auf Gewebebiopsien angewiesen zu sein. Derzeit wird die Analyse von Flüssigbiopsien bei krebserkrankten Kindern jedoch durch kleine Blutvolumina erschwert. Internationale klinische Studien erfordern daher Richtlinien für eine harmonisierte Blutentnahme und den Transport der Proben.

### FLÜSSIGBIOPSIE FÜR DIE KRANKHEITS-ÜBERWACHUNG UND MOLEKULARE DIAGNOSTIK

Für die molekulargenetische Diagnostik von soliden Tumoren wird eine Biopsie benötigt, die entweder bei der Erstvorstellung des Kindes im Krankenhaus oder zu späteren Zeitpunkten, nach einer Induktionschemotherapie oder bei einem Krankheitsrezidiv, entnommen wird. Zur Überwachung des Behandlungserfolgs werden derzeit mehrere klinische Parameter in Betracht gezogen, es mangelt jedoch an Spezifität und Sensitivität. Die Messung molekularer Marker wie z. B. vom Tumor ins Blut abgegebene kleine DNA-Fragmente (zellfreie zirkulierende Tumor-DNA) ist ein minimalinvasiver Ansatz, der es Onkologen ermöglicht, das Ansprechen auf die Therapie zu verfolgen oder sogar eine Diagnose zu stellen, falls eine Biopsie

## NEW GUIDELINES FOR LIQUID BIOPSY ANALYSIS IN MULTI-CENTER CLINICAL TRIALS

*Liquid biopsy analysis is the measurement of molecular markers released from tumor cells circulating in body fluids, such as blood. For example DNA fragments released by tumor cells can be analyzed to gain genomic information from the tumor. Further liquid biopsies are minimally invasive and can thus be used to track genomic markers at several time points during and after therapy to monitor the disease course without relying on tissue biopsies. However, currently liquid biopsy analysis for children with cancer is hampered by small blood volumes. Therefore international clinical trials require guidelines for harmonized blood collection and transportation of samples.*

### LIQUID BIOPSIES FOR DISEASE MONITORING AND MOLECULAR DIAGNOSIS.

*For molecular genetic diagnostics of solid tumors a biopsy is required that is either obtained when the patient presents the first time with the disease in the hospital or at later time points, after induction chemotherapy or once a patient experiences recurrent disease. In order to monitor treatment success, several clinical parameters are currently considered, but they lack specificity and sensitivity. Therefore, measuring molecular markers, such as small DNA fragments released from the tumor into the blood, so-called cell-free circulating tumor DNA, is a minimally invasive approach that will enable oncologists to track therapy response or even diagnose a patient in case a biopsy of the tumor is not possible (figure A). By applying highly sensitive techniques, such as digital droplet PCR or next-generation sequencing, monitoring of the disease*

des Tumors nicht möglich ist (Abbildung A). Durch die Anwendung hochsensibler Techniken, wie z. B. der digitalen Tröpfchen-PCR oder Next Generation Sequencing können sowohl die Krankheitslast als auch die Zielmoleküle (Targets) neuer Krebstherapien in pädiatrischen präzisionsonkologischen Studien überwacht werden. Seit der Einführung solcher zielgerichteten Therapieansätze ist es nämlich entscheidend, die molekularen therapeutischen Targets während des Behandlungsverlaufs zu überwachen, um mögliche Resistenzen frühzeitig zu erkennen.

### RICHTLINIEN FÜR HARMONISIERTE PROBENTNAHME UND -TRANSPORT – BEREIT FÜR INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT

Um diese Anforderungen zu erfüllen, befindet sich eine Vielzahl von Flüssigbiopsie-Ansätzen in der Entwicklung. Da derzeit nicht in jedem Land verfügbar, werden für internationale Studien Richtlinien zur Sammlung und Art des Transports von Flüssigbiopsien benötigt, um qualitativ hochwertige Ergebnisse in diagnostischen Assays zu ermöglichen. Dies ist insbesondere wichtig, da ein inadäquater Transport, z. B. bei hoher Temperatur oder langer Transportzeit, dazu führt, dass weiße Blutkörperchen ihre DNA freisetzen. Diese normale DNA verdünnt die zirkulierende Tumor-DNA und beeinträchtigt die Analyse.

In unserer Studie stellen wir Richtlinien für die Handhabung von Blutproben zur Verfügung, um die präanalytischen Prozesse zu harmonisieren und eine hohe Probenqualität sicherzustellen: Wir testeten den Einfluss von häufig verwendeten spezialisierten Blutentnahmeröhrchen (z. B.

*burden and therapeutic targets for precision oncology trials is possible. With the increasing availability and introduction of targeted therapy approaches into pediatric oncology trials, it is crucial to monitor molecular therapeutic targets along the treatment course to detect possible resistances early.*

### GUIDELINES FOR HARMONIZED SAMPLE COLLECTION AND TRANSPORTATION – READY FOR INTERNATIONAL COLLABORATION

*A wide range of liquid biopsy approaches is currently in development to meet these requirements. As these methods are currently not available in every country, international trials require guidelines for the collection and mode of transport of liquid biopsies to enable high quality results in diagnostic assays. This is especially crucial, since inadequate transportation, e.g. high temperature or extended transportation time, will result in white blood cells releasing their DNA. This normal DNA will dilute circulating tumor DNA and compromise further analysis.*

*In our study we provide blood sample handling guidelines for a harmonization of pre-analytical processes to ensure high sample qualities. We therefore tested the impact of commonly used, e.g. EDTA-containing, and several specialized blood collection tubes and transportation conditions, such as temperature and time, on the yield and purity of cell-free DNA for the application in downstream analysis (figure B). For genomic analyses of circulating tumor DNA, EDTA tubes showed good results if transported for a maximum of four hours at room temperature or for*

EDTA-haltig) und den Transportbedingungen (Temperatur, Zeit) auf die Ausbeute und Reinheit der zellfreien DNA für die Anwendung in der nachgeschalteten Analyse (Abbildung B). Für genomische Analysen von zirkulierender Tumor-DNA zeigten EDTA-Röhrchen gute Ergebnisse, wenn sie maximal vier Stunden bei Raumtemperatur oder bis zu 24 Stunden gekühlt transportiert wurden. Spezialisierte Blutentnahmeröhrchen sind für einen längeren Transport geeignet, sind aber teurer und in Krankenhäusern oft nicht verfügbar. Diese Richtlinien bilden die Grundlage für eine qualitativ hochwertige Diagnostik mittels Flüssigbiopsie in multinationalen klinischen Studien.

#### FÜR KLEINE BLUTMENGEN OPTIMIERTER ARBEITSABLAUF

Zusätzlich testeten wir die Durchführbarkeit eines kombinierten Workflows für die Analyse verschiedener Marker aus einer Blutprobe: zirkulierende Tumor-DNA, Tumorzellgenomik und durchflusszytometrische Analyse der weißen Blutkörperchen. Denn gerade bei Kindern können nur geringe Blutmengen entnommen werden und selbst minimalinvasive wiederholte Blutentnahmen sollten vermieden werden. Unser optimierter Arbeitsablauf erlaubt nun die parallele Isolierung von zirkulierender Tumor-DNA, weißen Blutzellen und geringen Mengen zirkulierender Tumorzellen sowie deren Charakterisierung und weitere genomische Analyse durch Ganzgenomsequenzierung.

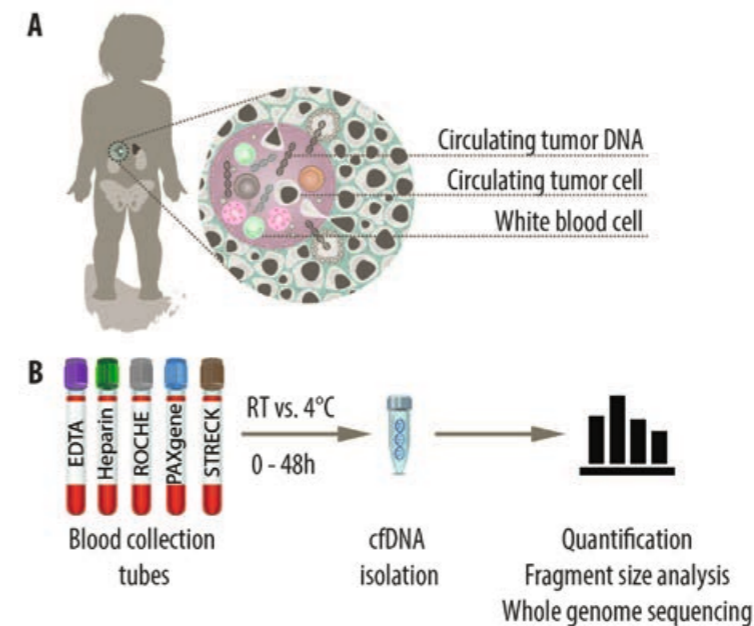
*up to 24 hours when refrigerated. Specialized blood collection tubes are suitable for longer transportation, but are more costly and often not available in hospitals. These guidelines provide the basis for high quality diagnostics using liquid biopsy in multi-national clinical trials.*

#### OPTIMIZED WORKFLOW FOR SMALL BLOOD VOLUMES

*Moreover, we evaluated the feasibility of a combined workflow for the analysis of different markers from one blood sample: circulating tumor DNA, tumor cell genomic testing and parallel flow cytometric analysis of white blood cells. This is important, because especially for children only small amounts of blood can be collected and, although the collection of liquid biopsies is a minimally invasive procedure, repeated blood sampling should be avoided. Our optimized workflow now allows the parallel isolation of circulating tumor DNA, white blood cells, and low amounts of circulating tumor cells and their characterization and further genomic analysis by whole genome sequencing.*

*In conclusion, adhering to time and temperature limits allows the use of routine EDTA blood samples for liquid biopsy analyses. We further provide a workflow enabling the parallel analysis of cell-free and cellular biomarkers for disease monitoring and for studying therapeutic targets for precision oncology. With this protocol, we are able to obtain several levels of information from one single small blood sample.*

Die Einhaltung von Zeit- und Temperaturgrenzen ermöglicht also die Verwendung von routinemäßigen EDTA-Blutproben für Liquid-Biopsy-Analysen. Darüber hinaus stellen wir einen Arbeitsablauf zur Verfügung, der die parallele Analyse von zellfreien und zellulären Biomarkern zur Krankheitsüberwachung und zur Beobachtung von therapeutischen Zielmolekülen für die Präzisionsonkologie ermöglicht. Mit diesem Protokoll sind wir in der Lage, mehrere Informationsebenen aus einer einzigen kleinen Blutprobe zu erhalten.



#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Gerber T\*, Taschner-Mandl S\*, Saloberger-Sindhoring L, Popitsch N, Heitzer E, Witt V, Geyeregger R, Hutter C, Schwentner R, Ambros IM, Ambros PF. Assessment of Pre-Analytical Sample Handling Conditions for Comprehensive Liquid Biopsy Analysis. *J Mol Diagn.* 2020 Aug; 22(8): 1070-1086. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.05.006.

\*Teresa Gerber and Sabine Taschner-Mandl contributed equally as first author.

#### ABBILDUNG / FIGURE

Die Flüssigbiopsie-Analyse misst molekulare Marker, wie z. B. zirkulierende Tumor-DNA, die vom Tumor oder zirkulierenden Tumorzellen freigesetzt werden (A). Unsere Richtlinien für die präanalytische Probenbehandlung empfehlen die Verwendung von EDTA-Blutentnahmeröhrchen und den Transport bei 4°C für bis zu 24 Stunden (B).

*Liquid biopsy analysis measures molecular markers, such as circulating tumor DNA, released by the tumor or circulating tumor cells (A). Our guidelines for pre-analytical sample handling recommend the use of EDTA blood collection tubes and transportation at 4°C for up to 24 hours (B).*

Modifiziert nach / modified from: Gerber et al., *Sci Data.* 2020

**DATEN AUS DREI INTERNATIONALEN STUDIEN ZEIGEN: GENETISCHE MERKMALE UND DAS ALTER BEI DER DIAGNOSE ERLAUBEN EINE GENAUE BEHANDLUNGSZUORDNUNG VON NEUROBLASTOM-PATIENTEN.**

Das Neuroblastom, der häufigste solide Tumor im Säuglings- und frühen Kindesalter, zeichnet sich durch seine einzigartige biologische und klinische Vielfalt aus. Einzigartig für diese Gruppe von Tumoren ist ein überdurchschnittlich hoher Grad an spontaner Rückbildung und Reifung. Bei etwa 20 bis 30 Prozent der Kinder kann sich der Tumor von selbst zurückbilden, auch wenn nach einem chirurgischen Eingriff noch ein Tumorrest vorhanden ist. Bei einer anderen Patienten-Gruppe führt ein durch normale Schwann-Zellen vermittelter Reifungsprozess zu einem Stillstand des Tumorzellwachstums und resultiert in den meisten Fällen in gutartig verlaufenden Tumoren, die auch als Ganglioneurome oder Ganglioneuroblastome bezeichnet werden. Auf der anderen Seite des Spektrums finden sich aber auch Tumoren mit hochaggressivem klinischem und biologischem Verhalten. Diese Gruppe von Tumoren kann bisher nur mit Hochdosis-Chemotherapie, Strahlentherapie, Knochenmarktransplantation, Operation und Immuntherapie mit tumorspezifischen Antikörpern geheilt werden. Diese außergewöhnliche klinische und biologische Heterogenität ist eine diagnostische Herausforderung, da die Behandlung an die Biologie des Tumors angepasst werden sollte, um eine Über- oder Unterbehandlung zu vermeiden. Beides würde zu fatalen Folgen für die Patienten führen. Bereits in den 90er-Jahren wurde bekannt, dass Neuroblastome mit einer Onkogen-Amplifikation (bis zu 200 Kopien des MYCN-Gens pro Zelle) mit einem aggressiven Tumorwachstum und damit einem ungünstigen klinischen Verhalten assoziiert sind. Doch obwohl die MYCN-Amplifikation ein starker Marker für aggressives Tumorverhalten ist, tragen nicht alle Neuroblastome mit einem hochmalignen Phänotyp diese genetische Veränderung.

**DATA FROM THREE INTERNATIONAL STUDIES SHOW: GENOMIC FEATURES AND AGE AT DIAGNOSIS ALLOW AN ACCURATE TREATMENT ALLOCATION OF NEUROBLASTOMA PATIENTS.**

*Neuroblastoma, the most frequent solid tumor in infancy and early childhood is characterized by its unique biological and clinical diversity. Unique to this group of tumors is a higher than average degree of spontaneous regression and maturation. In approximately 20% to 30% of patients the tumor can resolve spontaneously even if a tumor remnant is still present after surgical intervention. In another group of patients, a maturation process mediated by normal Schwann cells leads to a standstill of the tumor cell growth and results in most instances in benignly behaving tumors, also known as ganglioneuromas or ganglioneuroblastomas. On the other side of the spectrum, however, tumors with highly aggressive clinical and biological behaviors are found. So far, this group of tumors can only be cured with high-dose chemotherapy, radiation therapy, bone marrow transplantation, surgery and immune therapy with tumor-specific antibodies. This extraordinary clinical and biological heterogeneity is a diagnostic challenge as treatment should be adapted to the biology of the tumor to avoid over- or undertreatment. Both would lead to fatal results for the patients. Already, in the 1990s, we learned that neuroblastomas with an oncogene amplification (up to 200 copies of the MYCN gene per cell) are associated with an aggressive tumor growth and thus unfavorable clinical behavior. However, although MYCN amplification is a powerful marker for aggressive tumor behavior, not all neuroblastomas with a highly malignant phenotype bear this sign of aggressiveness.*

**WELCHE GENETISCHEN UND BIOLOGISCHEN MERKMALE UNTERSCHIEDEN AGGRESSIVE VON BENIGNEN TUMOREN IN DER GRUPPE DER NICHT-MYCN-AMPLIFIZIERTEN NEUROBLASTOME?**

Die Schlüsselfrage war, wie man die sich gutartig verhaltenden Tumoren von den aggressiven unterscheiden kann. Deshalb wurden zwei europäische Studien gestartet, um jene Faktoren/Marker zu erforschen, die helfen, die verschiedenen prognostischen Untergruppen dieser Tumor-entität zu unterscheiden. Wir fragten uns, welche genetischen Parameter mit einem bestimmten klinischen Verhalten in Verbindung gebracht werden können und welche zusätzlichen Faktoren das klinische Ergebnis der Patienten beeinflussen können.

**STUDIENDESIGN**

Kinder, deren Tumoren nicht MYCN-amplifiziert waren, aber durch chirurgische Eingriffe reseziert werden konnten, wurden nicht mit zytotoxischer Chemotherapie behandelt, auch dann nicht, wenn die Resektion unvollständig war. Insgesamt konnten 247 Tumore mit ausgefeilten molekular-genetischen Techniken nach internationalen Standards analysiert werden. Die angewandten Techniken erlaubten zum einen eine Zell-zu-Zell-Analyse, aber mittels pan-genomischer Techniken auch Einblicke in alle tumorrelevanten genetischen Aberrationen. Die genetischen Daten wurden von einem Panel von Genetikern überprüft, um höchstmögliche Datenqualität zu gewährleisten. Obwohl die ungünstige prognostische Bedeutung bestimmter genomischer Aberrationen, z. B. Deletionen an Chromosom 1 oder 11, bereits bekannt war, zeigte die Studie –

**WHICH GENOMIC AND BIOLOGICAL FEATURES DISCRIMINATE AGGRESSIVE FROM BENIGNLY BEHAVING TUMORS IN THE GROUP OF NON-MYCN AMPLIFIED NEUROBLASTOMAS?**

*The key question was how to discriminate the benignly behaving tumors from the aggressive ones. Therefore, two European studies were launched to explore the factors/markers to help discriminate the different prognostic subgroups of this tumor entity. We asked which genetic parameters can be linked to a certain clinical behavior and which additional factors may influence the clinical outcome of the patients.*

**STUDY DESIGN**

*Patients whose tumors were not MYCN amplified but could be resected by surgical interventions were not treated with cytotoxic agents, also in case the resection was incomplete. All in all, 247 tumors could be analyzed by sophisticated molecular genomic techniques according to international agreements. On the one hand, the applied techniques allowed a cell-to-cell analysis but also insights into all tumor-relevant genomic aberrations by pan-genomic techniques. The genomic data were reviewed by a panel of geneticists to guarantee highest possible data quality. Although the unfavorable prognostic meaning of certain genomic aberrations, e.g. deletions at chromosomes 1 or 11 were already known, the study revealed – after merging all relevant genomic, biological and clinical data – an additional and rather unexpected influencing factor: the age of the patient at diagnosis. Below the age of 18 months, genetic markers of known unfavorable prognostic impact did not*



nach Zusammenführung aller relevanten genetischen, biologischen und klinischen Daten – einen zusätzlichen und eher unerwarteten Einflussfaktor: das Alter der Patienten bei der Diagnose. Unterhalb eines Alters von 18 Monaten hatten genetische Marker mit bekannter ungünstiger prognostischer Wirkung keinen Einfluss auf das Ergebnis, abgesehen von einer einzigen Ausnahme: dem Verlust von Chromosom 1p, der sich als klarer Risikofaktor für einen Rückfall, aber glücklicherweise nicht für ein vermindertes Gesamtüberleben herausstellte. Im Gegensatz dazu waren bei Patienten, die älter als 18 Monate waren, segmentale Chromosomenaberrationen (Zugewinne oder Verluste ganzer Chromosomenarme oder von Teilen davon), insbesondere der Verlust von 11q, statistisch hochsignifikant mit Rezidiven sowie mit einem schlechteren Outcome assoziiert. Diese Befunde konnten durch eine ähnlich behandelte Patientengruppe aus der COG, einer US-amerikanischen Gruppe spezialisierter klinischer Onkologen, verifiziert werden. Die Daten bestätigten den Befund, dass Neuroblastompatienten unter 18 Monaten auch bei ungünstigen genetischen Merkmalen in den meisten Fällen gut abschneiden. Das ereignisfreie und Gesamtüberleben war auch ohne weitere zytotoxische Behandlung hervorragend. Im Gegensatz dazu traten bei Patienten über 18 Monaten, deren Tumoren identische genomische Aberrationen aufwiesen wie in der jüngeren Altersgruppe, häufig Tumorrezidive auf. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass moderne Behandlungsstrategien das Sterberisiko auch in dieser Patientengruppe senken können (Abbildung).

*influence outcome, with only one exception: chromosome 1p loss, which turned out as a clear risk factor for relapse, but fortunately not for diminished overall survival. By contrast, in patients over 18 months segmental chromosomal aberrations (gains or losses of whole chromosome arms or parts thereof), especially loss of 11q were statistically highly significantly associated with relapses as well as with dismal outcome. These findings could be verified by a similarly treated group of patients from the COG, the US group of clinical oncologists. The data confirmed the findings that neuroblastoma patients below 18 months, despite showing unfavorable genomic features, do well in most instances. The event-free and overall survival was excellent even without further cytotoxic treatment. On the contrary, patients above 18 months whose tumors displayed identical genomic aberrations as found in the younger age group frequently experienced tumor recurrence. However, it could be shown that modern treatment strategies can reduce the risk of death also in this group of patients (figure).*

#### **BESSERES ÜBERLEBEN UND WENIGER SPÄTFOLGEN DURCH GENAUERE BEHANDLUNGSZUORDNUNG.**

Diese Daten erlauben eine präzisere Behandlungsallokation von Neuroblastom-Patienten: Der Einfluss des Alters auf die Auswirkungen von genetischen Aberrationen auf das Tumorverhalten wird die Genauigkeit der Behandlungszuweisung erhöhen. Einerseits kann die Intensivierung der Nachsorge oder der Behandlung bei Patienten der kritischeren Altersgruppe bei ungünstigen genetischen Merkmalen helfen, deren Leben zu retten; andererseits kann einer erheblichen Anzahl von Neuroblastom-Patientinnen und -Patienten eine zytotoxische Behandlung erspart werden. Diese Entscheidungen kann der behandelnde Arzt auf der Grundlage der genetischen Merkmale im Kontext der klinischen Parameter, insbesondere des Alters des Kindes bei der Diagnose, treffen.

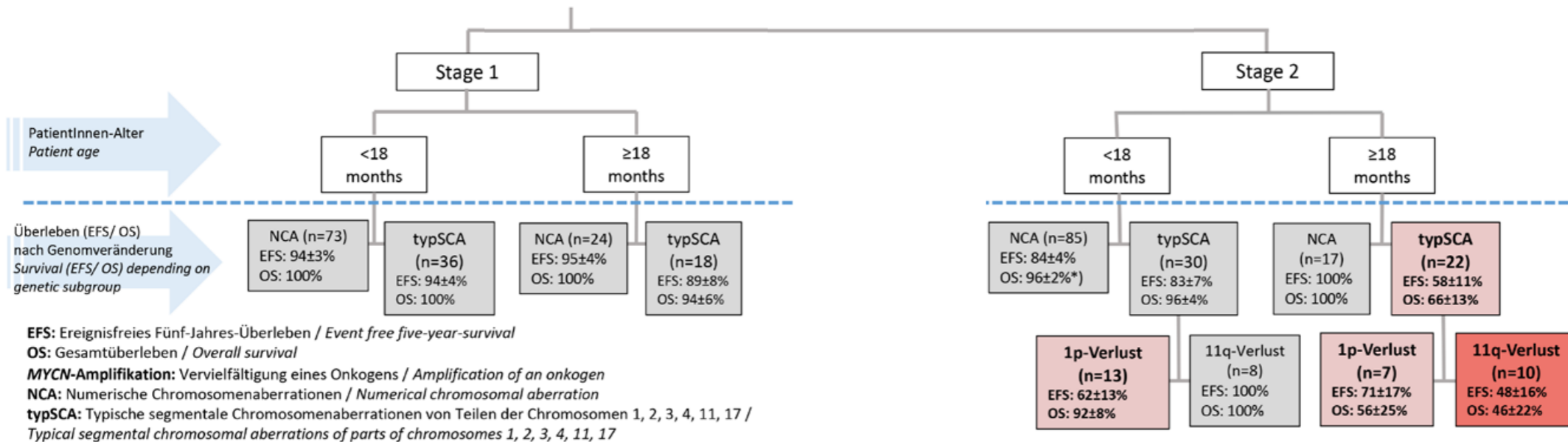
#### **THIS DATA ALLOWS A MORE PRECISE TREATMENT ALLOCATION OF NEUROBLASTOMA PATIENTS.**

*The impact of the age on the effects of genetic aberrations on tumor behavior will increase the accuracy of treatment allocation. On the one hand, intensifying follow-up care or treatment in patients belonging to the more critical age group in case of unfavorable genomic features will help to save their lives; on the other hand, cytotoxic treatment can be spared for a substantial number of neuroblastoma patients. These decisions can be made by the treating physician on the basis of genomic features in the context of clinical parameters of the patient, especially the age of the patient at diagnosis.*

#### **PUBLIKATION / PUBLICATION**

Ambros IM, Tonini GP, Pötschger U, Gross N, Mosseri V, Beiske K, Berbegall AP, Bénard J, Bown N, Caron H, Combaret V, Couturier J, Defferrari R, Delattre O, Jeison M, Kogner P, Lunec J, Marques B, Martinsson T, Mazzocco M, Noguera R, Schleiermacher G, Valent A, Van Roy N, Villamon E, Janousek D, Pribill I, Glogova E, Attiyeh EF, Hogarty MD, Monclair TF, Holmes K, Valteau-Couanet D, Castel V, Tweddle DA, Park JR, Cohn S, Ladenstein R, Beck-Popovic M, De Bernardi B, Michon J, Pearson ADJ, Ambros PF. Age Dependency of the Prognostic Impact of Tumor Genomics in Localized Resectable MYCN-Nonamplified Neuroblastomas. Report From the SIOPEN Biology Group on the LNESG Trials and a COG Validation Group. *J Clin Oncol.* 2020 Nov 1;38(31):3685-3697. doi: 10.1200/JCO.18.02132. Epub 2020 Sep 9

**Fünf-Jahres-Überlebensrate beim operablen Neuroblastom ohne MYCN-Amplifikation**  
*Five-year-survival in localized resectable MYCN-non amplified neuroblastoma*



**EFS:** Ereignisfreies Fünf-Jahres-Überleben / *Event free five-year-survival*  
**OS:** Gesamtüberleben / *Overall survival*  
**MYCN-Amplifikation:** Vervielfältigung eines Onkogens / *Amplification of an onkogen*  
**NCA:** Numerische Chromosomenaberrationen / *Numerical chromosomal aberration*  
**typSCA:** Typische segmentale Chromosomenaberrationen von Teilen der Chromosomen 1, 2, 3, 4, 11, 17 / *Typical segmental chromosomal aberrations of parts of chromosomes 1, 2, 3, 4, 11, 17*

☐ = geringstes Risiko für ein Fortschreiten der Krankheit / *Low risk for disease progression*  
 ☐ = höheres Risiko für ein Fortschreiten der Krankheit / *Medium risk for disease progression*  
 ☐ = größtes Risiko für ein Fortschreiten der Krankheit / *High risk for disease progression*

\*) die drei betroffenen Kinder sind nicht am Tumor verstorben / *The three affected children did not die of the tumor*

Modifiziert nach/modified from:  
 Ambros et al., JCO 2020

## NEUES KREBSMEDIKAMENT GEGEN DAS AGGRESSIVE OSTEOSARKOM

Das Osteosarkom ist ein seltener Knochenkrebs, der aus bösartig veränderten knochenbildenden Zellen entsteht. Es tritt meist bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen auf, mit einem Höhepunkt während des pubertären Wachstums. Ohne entsprechende Behandlung wächst und breitet sich dieser lebensbedrohliche Tumor sehr schnell aus. So sind bei etwa zehn bis 20 Prozent der Patientinnen und Patienten mit Osteosarkom bereits bei der Diagnose Metastasen nachweisbar. Führt das hochinvasive und metastasierende Potenzial des Osteosarkoms zu einer Ausbreitung in der Lunge, endet die Krankheit bei der Mehrzahl der Patientinnen und Patienten tödlich. Die Therapie besteht in der Regel aus Chemotherapie, Operation und ggf. Strahlentherapie.

### KEINE STAGNATION MEHR BEI OSTEOSARKOM-ÜBERLEBENS-RATEN.

Die Überlebensrate bei metastasierter und rezidivierter Erkrankung stagniert seit drei Jahrzehnten. Die letzte große Errungenschaft wurde in den 1980er-Jahren erzielt, als eine kombinierte Therapie, bestehend aus Operation und einer Mehrfach-Chemotherapie mit Methotrexat, Adriamycin/ Doxorubicin und Cisplatin für Patientinnen und Patienten mit metastasiertem hochgradigem Osteosarkom (HGOS) eingeführt wurde. Die Überwindung dieses Mangels an signifikanten Behandlungsverbesserungen bei HGOS-Patientinnen und -Patienten ist daher ein wichtiges Ziel in der pädiatrischen Onkologie.

## TARGETING AGGRESSIVE OSTEOSARCOMA WITH A NOVEL ANTICANCER MEDICATION

*Osteosarcoma is a rare cancer of the bones, arising from malignantly transformed bone-forming cells. It usually occurs in children, adolescents and young adults, with a peak during pubertal growth. Without appropriate treatment, this life-threatening tumor grows and spreads very quickly. In about 10% to 20% of patients with osteosarcoma, metastases are already detectable at diagnosis. If this highly invasive and metastatic potential of osteosarcoma results in pulmonary spread, the outcome is fatal for the majority of the patients. Therapy usually involves chemotherapy, surgery and, if applicable, radiation therapy.*

### OVERCOME STAGNATION IN OSTEOSARCOMA SURVIVAL RATES.

*The survival rates in metastatic and relapsed disease have been stagnant for three decades. The last major achievement was made in the 1980s, when combined therapy, including surgery and multi-agent chemotherapy consisting of methotrexate, adriamycin/doxorubicin, and cisplatin, was introduced for patients with metastatic high-grade osteosarcoma (HGOS). Overcoming this lack of significant improvement in the management of HGOS patients is therefore a key objective in pediatric oncology.*

### NEUES THERAPEUTISCHES ZIEL FÜR DIE METASTASIERTE ERKRANKUNG.

Ein potenzieller Angriffspunkt für erfolgreiche zusätzliche therapeutische Interventionen sind Aminopeptidasen, wie die Aminopeptidase N (ANPEP/CD13). Von ihnen ist bekannt, dass sie an der Pathogenese und Metastasierung verschiedener Krebsarten beteiligt sind, indem sie die Invasion, Motilität und Angiogenese fördern. Beim Osteosarkom wurde ANPEP als Treiber der Zellmigration und -invasion identifiziert, wobei eine hohe ANPEP-Expression mit einem schlechten Überleben assoziiert ist. Daher könnte die gezielte Bekämpfung von Osteosarkomzellen mit einer hohen ANPEP/CD13-Expression eine innovative neue therapeutische Möglichkeit bieten, insbesondere seit der Einführung neuartiger Aminopeptidase-verstärkter zytotoxischer Verbindungen wie Melphalan-Flufenamid (Melflufen).

In dieser Studie untersuchten wir die Rolle der Aminopeptidase-Expression in metastasiertem HGOS und bewerteten die Fähigkeit von Melflufen, aggressive Osteosarkomzellen zu vernichten.

Zu diesem Zweck bestimmten wir die ANPEP/CD13-Expressionslevel und den Einfluss auf das metastasenfremde Überleben von HGOS-Patientinnen und -Patienten.

Außerdem untersuchten wir die Wirksamkeit von Standard-Antineoplastika zusammen mit Melflufen in von Erkrankten abgeleiteten HGOS-Tumorzellkulturen und Zelllinien, einschließlich des Vergleichs der Kinetik von Apoptose und Nekrose,

### NEW THERAPEUTIC TARGET FOR METASTATIC DISEASE.

*Potential targets for successful additional therapeutic interventions are aminopeptidases, such as aminopeptidase N (ANPEP/CD13). They are known to be involved in the pathogenesis and metastasis of several cancer types through enhancing invasion, motility, and angiogenesis. In osteosarcoma, ANPEP has been identified as a driver of cell migration and invasion, with high ANPEP expression linked to poor patient survival. Thus, targeting osteosarcoma cells with a high expression of ANPEP/CD13 may offer an innovative new therapeutic opportunity, given the introduction of novel aminopeptidase-enhanced cytotoxic compounds, such as melphalan flufenamide (melflufen).*

*In this study we evaluated the role of aminopeptidase expression in metastatic HGOS and assessed the ability of melflufen to eradicate aggressive osteosarcoma cells.*

*To this end we determined ANPEP/CD13 expression levels and impact on metastasis-free survival of HGOS patients.*

*We also investigated the efficacy of standard-of-care anti-neoplastic drugs together with melflufen in patient-derived HGOS tumor cell cultures and cell lines, including the comparison of the kinetics of apoptosis and necrosis induced by melflufen and doxorubicin, as well as the anti-neoplastic effects of melflufen in a chicken embryo model in vivo.*

die durch Melflufen und Doxorubicin induziert werden sowie die anti-neoplastischen Effekte von Melflufen in einem Hühnerembryo-Modell in vivo.

### MELFLUFEN ALS ADJUVANS ZUR ERGÄNZUNG DES BEHANDLUNGSPROTOKOLLS.

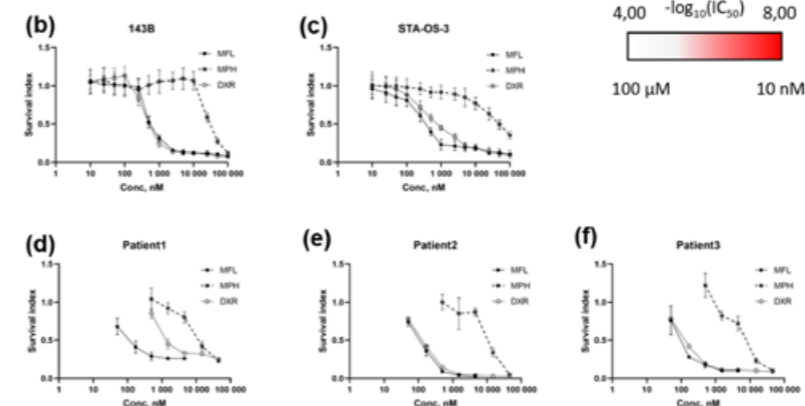
Unsere Daten zeigen, dass eine erhöhte Expression von ANPEP mit einem höheren metastatischen Potenzial von Osteosarkomen verbunden ist. Wichtig ist, dass wir zeigen konnten, dass diese aggressiven malignen Zellen mit Melflufen gezielt behandelt werden können. Im Detail zeigte Melflufen in Medikamentensensitivitätsassays eine anti-proliferative Wirkung in HGOS-Tumorzellkulturen und Zelllinien (Abbildung), einschließlich solcher, die gegen Methotrexat, Etoposid, Doxorubicin und PARP-Inhibitoren resistent sind. HGOS-Zellen, die mit Melflufen behandelt wurden, zeigten ebenfalls eine schnelle Induktion der Apoptose und diese Empfindlichkeit korrelierte mit einer hohen Expression von ANPEP. Darüber hinaus wird die anti-neoplastische Wirkung von Melflufen durch Doxorubicin, einem Langzeit-Erstlinientherapeutikum in der Osteosarkom-Behandlung, potenziert. In Kombination mit dem günstigen Toxizitätsprofil von Melflufen, das in dieser Studie in einem In-vivo-Modell gezeigt wurde, legen wir nahe, dass Melflufen eine wirksame Ergänzung zu Doxorubicin sein kann, um die therapeutische Wirksamkeit bei der Behandlung von metastasiertem HGOS zu verbessern. Daher bietet die zusätzliche Verwendung von Melflufen zum ersten Mal seit 30 Jahren einen potenziellen Fortschritt im aktuellen Behandlungsprotokoll.

### MELFLUFEN AS AN ADJUVANT TO COMPLEMENT TREATMENT PROTOCOL.

*Our data demonstrate that elevated levels of ANPEP expression are linked to a higher metastatic potential of osteosarcoma. Importantly, we could show that these aggressive malignant cells can be targeted with melflufen. In detail, in drug sensitivity assays, melflufen has shown an anti-proliferative effect in HGOS tumor cell cultures and cell lines (figure), including those resistant to methotrexate, etoposide, doxorubicin, and PARP inhibitors. HGOS cells treated with melflufen also displayed a rapid induction of apoptosis and this sensitivity correlated with high expression of ANPEP. In addition, melflufen's anti-neoplastic effect is potentiated by doxorubicin, a long-term first-line agent in osteosarcoma treatment. Combined with the favorable toxicity profile of melflufen shown in this study using an in vivo model, we suggest that melflufen may be an effective adjunct to doxorubicin to improve the therapeutic efficacy for the treatment of metastatic HGOS. Therefore, the additional use of melflufen offers a potential advance in the current treatment protocol for the first time in 30 years.*

(a)

	143B	MNNG	U2OS	SaOS-2	CAL-72	MG-63	STA-OS-1	STA-OS-2	STA-OS-3	STA-OS-5
MFL	6.31	5.74	5.72	6.05	5.82	6.52	6.84	6.39	6.52	6.05
MPH	4.58	4.31	4.03	4.57	4.68	4.09	4.81	5.02	4.27	4.61
BDM	4.82	4.58	4.31	4.92	4.85	5.02	5.21	5.03	4.58	4.87
IFO	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
CPH	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
BUS	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
DXR	6.28	6.02	5.74	6.34	6.00	7.04	6.28	7.05	6.28	6.29
MTX	7.49	8.00	7.58	6.30	6.64	7.27	7.31	6.63	4.00	7.02
CDDP	4.81	5.30	5.18	4.60	4.80	4.98	5.04	4.18	4.28	5.68
ETO	6.12	5.57	5.00	5.30	6.02	5.97	4.00	6.02	4.00	4.99
ARA-C	6.30	6.30	4.82	5.32	6.00	5.98	4.81	4.92	5.03	4.92
TAZP	6.25	4.57	4.00	4.58	5.33	6.30	4.20	6.57	4.35	4.98
OLAP	4.00	4.00	4.00	4.32	4.00	5.05	4.04	4.95	4.00	4.00
NIRA	5.57	5.00	4.57	5.00	4.60	6.00	4.60	5.60	5.00	4.60
PAMI	4.29	4.31	4.22	4.30	4.33	4.58	4.31	4.29	4.05	4.00
DAS	5.00	5.31	4.98	4.89	5.02	5.32	5.25	4.99	4.92	5.02
TRAM	8.03	7.33	7.31	4.29	6.28	4.71	4.49	7.71	4.96	4.82



### ABBILDUNG / FIGURE

Wachstumshemmung der Zelllinien 143B (b) und STA-OS-3 (c) durch Melflufen (MFL), Melphalan (MPH) und Doxorubicin (DXR). (d-f) Wachstumshemmung von ex vivo primären Osteosarkomzellen, die aus kryokonservierten Patientenproben isoliert wurden, einschließlich einer Doxorubicin-resistenten Probe (d) mit nachgewiesener Empfindlichkeit gegenüber Melflufen.

*Growth inhibition of cell lines 143B (b) and STA-OS-3 (c) by melflufen (MFL), melphalan (MPH) and doxorubicin (DXR). (d-f) Growth inhibition of ex vivo primary osteosarcoma cells isolated from cryo-preserved patient samples, including doxorubicin-resistant sample (d) with demonstrated sensitivity to melflufen.*

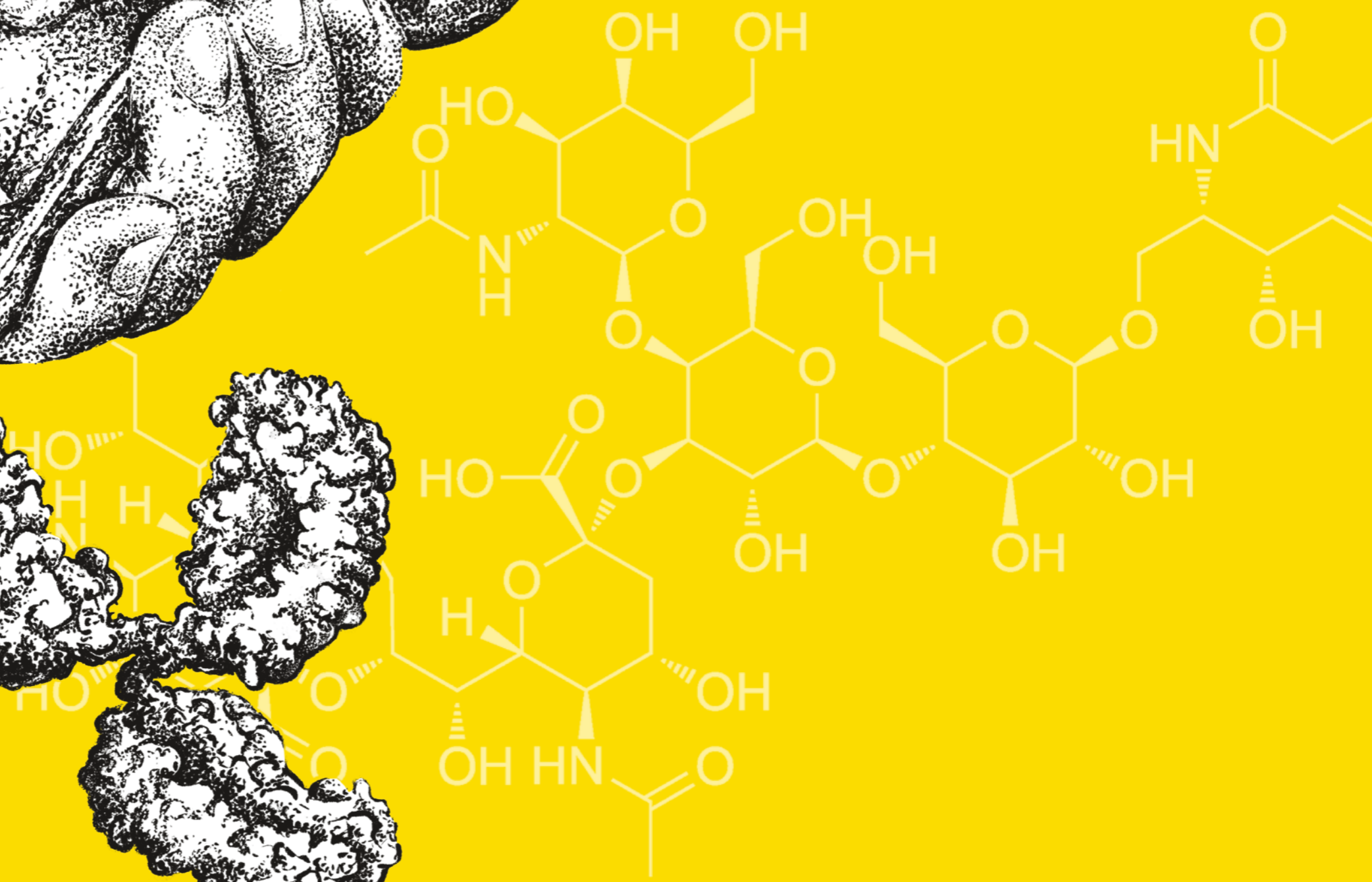
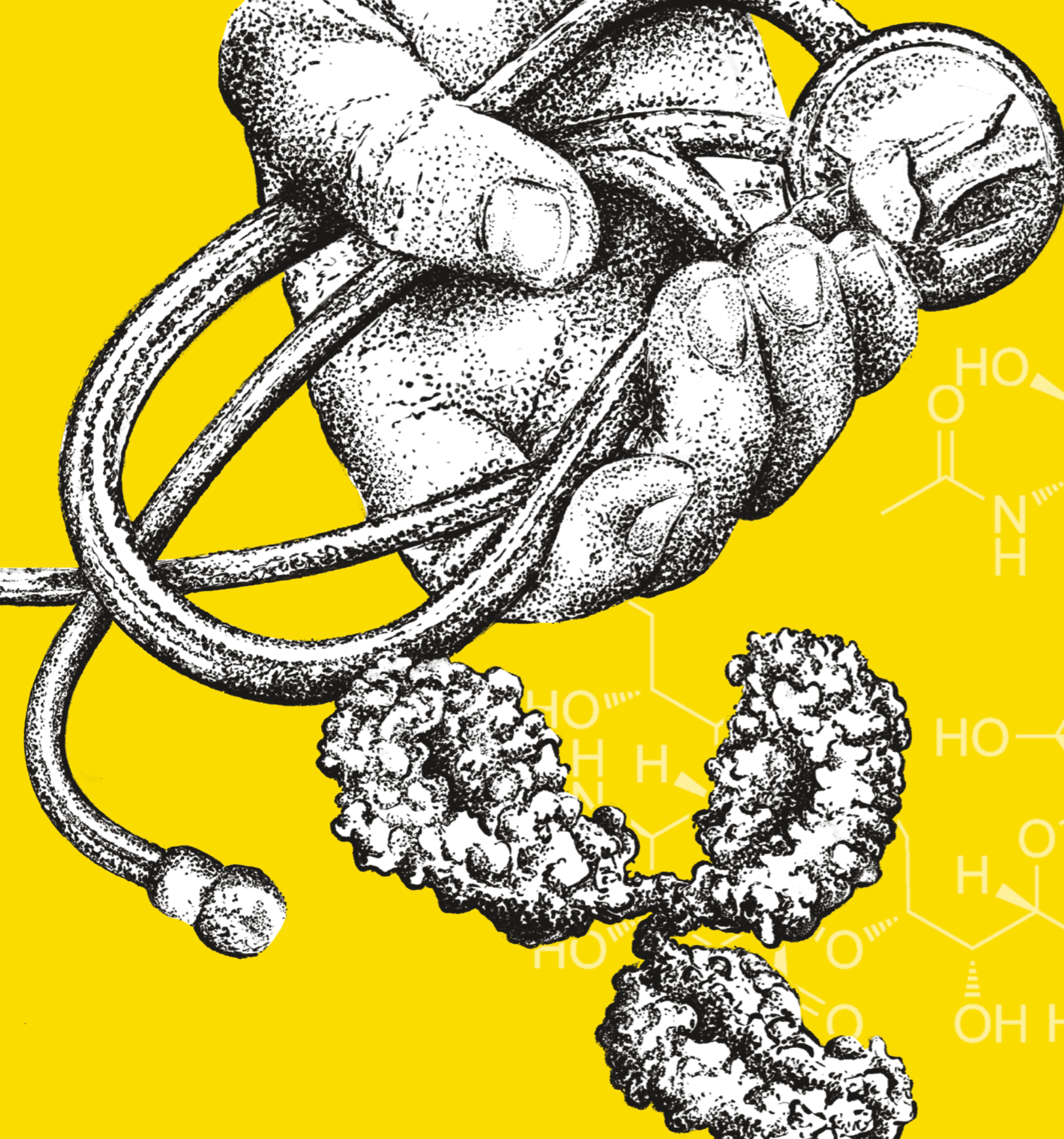
Modifiziert nach/modified from: Byrgazov et al., Ther Adv Med Oncol. 2020

### PUBLIKATION / PUBLICATION

Byrgazov K, Anderson C, Salzer B, Bozsaky E, Larsson R, Gullbo J, Lehner M, Lehmann F, Slipicevic A, Kager L, Fryknäs M, Taschner-Mandl S. Targeting aggressive osteosarcoma with a peptidase-enhanced cytotoxic melphalan flufenamide. Ther Adv Med Oncol. 2020 Jul 29;12:1758835920937891. doi: 10.1177/1758835920937891. eCollection 2020.

**KLINISCHE STUDIEN**

**CLINICAL STUDIES**



# RUTH LADENSTEIN GROUP

Studies & Statistics for Integrated Research and Projects (S<sup>2</sup>IRP)

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Ruth Ladenstein

## SENIOR OPERATIONS MANAGER

Sonja Schneider-Schwarz

## SCIENTIFIC ASSISTANT

Claudia Zeiner-Koglin

## ADMINISTRATIVE SUPPORT

Corinne Grafl

## STATISTICIANS

Helga Björk Arnardóttir

Evgenia Glogova

Paulina Kurzmann

Ulrike Pötschger

Gülsah Sabirli-Goek

## CLINICAL RESEARCH ASSOCIATES

Saelde Baumgartner (until 2019)

Adnan Becirovic

Lena Brandt

Tijana Frank

Dagmar Friede (until 2019)

Dasa Janousek (until 2020)

Susanne Karlhuber

Barbara Kristufek

Jenny Mader

Andrea Madunic (until 2019)

Markus Mair

Ljubica Mandic

Nora Mühlegger

Marek Nykiel

Ingrid Pribill (until 2020)

Emine Sahin-Heco (until 2020)

Marion Sebek (until 2019)

Eva Sorz

Elfriede Thiem

Ekaterina Werderits

## MONITORING

Maria Alz (until 2020)

Alexandra Rüben

Petra Susac (until 2020)

Barbara Tiefenböck

## PHARMACOVIGILANCE

Anna Schlaffer

## FREELANCER

Dorothea Bauer (until 2019)

## PROJECT MANAGER

Andrea Mikolasek



*„Ich möchte ein Langzeitgesamtüberleben für Kinder mit Hochrisikoneuroblastom über 80 Prozent erreichen – vergleichbar mit den Ergebnissen bei akuter lymphatischer Leukämie.“*

**“I want to achieve a long-term overall survival for children with high-risk neuroblastoma above 80 percent – comparable to outcomes in acute lymphoblastic leukemia.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – RUTH LADENSTEIN GANZ PERSÖNLICH

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Als Studentin konnte ich Viktor Frankl noch persönlich hören. Er hat wunderbar die Notwendigkeit eines Sinns im Leben beschrieben, insbesondere, dass die Sinndefinition dem Individuum überlassen werden kann. Kraft seiner Geschichte hat er mich nachhaltig beeindruckt. Ich habe meinen Sinn gefunden und das ist meine Quelle der Energie. Begeisterung macht dich stark.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Kinder sind wichtiger als beruflicher Erfolg!  
Ich habe eine wunderbare Tochter!

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Neugierig und interessiert bleiben! Viele Dinge im Leben sind wie Kinderkriegen. Man braucht etwas Mut am Anfang und dann folgt eine Reise mit vielen Überraschungen.

### HIER KANN ICH ABSCHALTEN:

Im Flugzeug über den Wolken oder mit dem Kopf unter Wasser beim Tauchen in schönen Gewässern!

### ALS ICH JUNG WAR:

Ich habe im Kaufhaus alles Mögliche, z.B. Sofortbildkameras, Kaffeemaschinen, Sprudelbäder, etc. verkauft um während meiner Studentenzeit Geld zu verdienen. Das war eine gute Rhetorikausbildung, danach hast du keine Angst mehr, vor Publikum zu sprechen.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN:

Ein Langzeitgesamtüberleben für Kinder mit Hochrisikoneuroblastom über 80 Prozent – vergleichbar mit den Ergebnissen bei akuter lymphatischer Leukämie.

## RUTH LADENSTEIN – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*As a student I had the opportunity to hear Viktor Frankl in person. He beautifully described the need for meaning in life, especially that the definition of meaning can be left to the individual. By virtue of his story, he made a lasting impression on me. I have found my meaning and that is my source of energy. Enthusiasm makes you strong.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Children are more important than professional success! I have a wonderful daughter!*

### MY MOTTO IN RESEARCH:

*Stay curious and interested! Many things in life are like having children. You need some courage at the beginning and then a journey with many surprises follows.*

### THIS IS WHERE I CAN SWITCH OFF AND RELAX:

*On a plane above the clouds or with my head underwater diving in beautiful waters!*

### WHEN I WAS YOUNG:

*I sold all kinds of things in the department store, e.g. instant cameras, coffee machines, bubble baths, etc. to earn money during my student days. That was a good rhetoric training – afterwards you are no longer afraid to speak in front of an audience.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*A long-term overall survival for children with high-risk neuroblastoma above 80 percent – comparable to the results in acute lymphoblastic leukemia.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Der Forschungsschwerpunkt von S<sup>2</sup>IRP (Studies and Statistics for Integrated Research and Projects) ist die Förderung der klinischen und translationalen Forschung, um die Heilungschancen bei Krebserkrankungen im Kindes- und Jugendalter zu verbessern. S<sup>2</sup>IRP ist jene Einheit für klinische Studien innerhalb der St. Anna Kinderkrebsforschung, die GCP-konforme klinische Forschung ermöglicht, indem sie akademische klinische Studien für die kindliche Zielpopulation entwirft, durchführt und auswertet.

Das Portfolio von S<sup>2</sup>IRP umfasst sogenannte „Investigator Driven Clinical Trials“ (IDCTs), Krebs-Subtyp-Register, eine enge Zusammenarbeit mit dem „Innovative Therapies for Childhood Cancer Consortium“ (ITCC) und dessen Frühphase-Studien, sowie die Zusammenarbeit mit pharmazeutischen Unternehmen, um Therapeutika für Kinderkrebs weiter zu entwickeln. Die St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH agiert hierbei als akademischer Sponsor auf nationaler und internationaler Ebene. Somit ist S<sup>2</sup>IRP berechtigt, alle mit dieser Rolle verbundenen Verpflichtungen zu erfüllen. Das betrifft sowohl insgesamt 36 IDCTs auf nationaler Ebene als auch große internationale klinische Studien mit mehr als 30 teilnehmenden Ländern weltweit, welche in drei Indikationen durchgeführt werden: Stammzelltransplantation nach akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL-SCT FORUM trial, ClinicalTrials.gov, Nummer NCT04785547), Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH IV trial, ClinicalTrials.gov, Nummer NCT02205762) und das Hochrisiko-Neuroblastom mit zwei Studien, (1) HR-NBL1/SIOPEN front line trial, ClinicalTrials.gov, Nummer NCT01704716

## RESEARCH FOCUS

*The research focus of S<sup>2</sup>IRP (Studies and Statistics for Integrated Research and Projects) is to foster clinical and translational research to enable improved outcomes of childhood and adolescent cancer or hematological diseases. S<sup>2</sup>IRP is the clinical trials unit within the Children's Cancer Research Institute (CCRI) to enable GCP-compliant clinical research by designing, setting up, running and analyzing academic clinical trials in the target population as specified.*

*The unit's portfolio encompasses investigator-driven clinical trials (IDCTs), cancer subtype registries, close collaborations with the Innovative Therapies for Childhood Cancer Consortium (ITCC) and its early phase trials and, eventually, interactions with pharmaceutical companies to develop further childhood cancer therapeutics to the next level. St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH acts as an academic sponsor at the national and international level and has entitled S<sup>2</sup>IRP to pursue all associated obligations arising from this role in 36 IDCTs at the national level but also for major international clinical trials with more than 30 countries participating worldwide in three indications, i.e. Acute Lymphoblastic Leukemia Stem Cell Transplantation (ALL-SCT FORUM trial, ClinicalTrials.gov, number NCT04785547), Langerhans Cell Histiocytosis (LCH IV trial, ClinicalTrials.gov, number NCT02205762) and High Risk Neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN front line trial, ClinicalTrials.gov, number NCT01704716) and the Long Term Infusion ch14.18/CHO (dinutuximab beta)*

und (2) SIOPEN-Langzeitinfusionsstudie ch14.18/CHO (Dinutuximab beta) beim rezidivierten/refraktären Neuroblastom (ClinicalTrials.gov; Nummer NCT01701479). Darüber hinaus koordiniert S<sup>2</sup>IRP 28 pädiatrische hämatonkologische Krankheitsregister.

Unterstützt durch das St. Anna CCRI Qualitätsmanagement-Team entwickelte S<sup>2</sup>IRP ein System für die erforderlichen Standardarbeitsanweisungen (Standard Operating Procedures, SOPs). Die Überwachung der Einhaltung erfolgt durch ein zentrales Monitoring, aber auch durch eigene S<sup>2</sup>IRP-Monitore, die regelmäßig Kontrollbesuche in den österreichischen pädiatrischen Hämato-Onkologie-Zentren durchführen (Vor-Ort-Besuche wurden während der COVID-19-Pandemie-Sperrphase ausgesetzt). Die Aufgaben und Verpflichtungen im Bereich der Pharmakovigilanz werden durch eigenes Personal abgedeckt (Verfolgung und Meldung von schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen in den jeweiligen klinischen Studien, Meldung von unerwarteten schwerwiegenden unerwünschten Reaktionen (Suspected Unexpected Serious Adverse Reactions, SUSAR) an die europäischen zuständigen Behörden über das EudraVigilance System und an die österreichischen Ethikkommissionen nach Bedarf sowie die Erstellung eines jährlichen klinischen Studiensicherheitsberichts für die internationalen Studien unter akademischer Trägerschaft der St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH.

Studien- und Registerdaten ermöglichen Publikationen zu klinischen und translationalen Forschungsergebnissen, was, basierend auf einer engen Zusammenarbeit mit internationalen

*SIOPEN Trial for relapsed/refractory neuroblastoma (ClinicalTrials.gov, number NCT01701479). In addition, S<sup>2</sup>IRP coordinates 28 pediatric hemato-oncological disease registries.*

*Supported by CCRI's quality management team, the unit has developed and maintains a system for its standard operating procedures. Monitoring is provided by means of central monitoring but also through S<sup>2</sup>IRP monitors performing monitoring visits on a regular basis in the Austrian pediatric hemato-oncology centers. (On-site visits were suspended during the COVID-19 pandemic lock-down phase). Pharmacovigilance tasks and obligations are covered by dedicated personnel tracking and reporting of severe adverse events in respective clinical trials, reporting of suspected unexpected serious adverse reactions (SUSAR) to European Competent Authorities (CAs) via the EudraVigilance system and to Austrian Ethics Committees (ECs) as required as well as generation of the annual clinical trial safety report for the international trials under the academic sponsorship of St. Anna Kinderkrebsforschung GmbH.*

*Trial and registry data enable publications on clinical and translational research results, which is a paramount scientific objective strongly supported and based on close collaborations with international clinical trial groups and research communities, i.e. national and international clinical principal investigators, translational researchers, postdocs and students. An important part of this activity serves a deeper understanding of new disease profiles, development of stratifying diagnostic markers and ultimately*

klinischen Studiengruppen und Forschungsgemeinschaften, unser vorrangiges wissenschaftliches Ziel ist. Dies inkludiert nationale und internationale klinische Studienleiter, translationale Forscher, Postdocs und Studenten. Ein wichtiger Teil dieser Aktivität dient dem tieferen Verständnis neuer Krankheitsprofile und der Entwicklung von stratifizierenden diagnostischen Markern, um letztlich optimierte, risikoadaptierte Behandlungen mit klassischen Chemotherapie-Ansätzen sowie mit innovativen neuen Medikamenten zu ermöglichen.

#### INTERNATIONALE PROJEKTAKTIVITÄTEN

Ein zusätzliches Asset der S<sup>2</sup>IRP sind europäische Projekte, die auf vielfältigen, langjährigen internationalen Kooperationen mit europäischen und internationalen Gesellschaften und Verbänden basieren und sich dem Thema Krebs und den entsprechenden Bedürfnissen widmen. Diese Projekte sind teilweise finanziert durch Förderungen/Zuschüsse von der Europäischen Kommission, akademischen Verbänden oder vertragsbasierten Kooperationen mit der pharmazeutischen Industrie.

#### EUROPÄISCHE PROJEKTE IM BERICHTSZEITRAUM:

- European Expert Paediatric Oncology Reference Network for Diagnostics and Treatment (ExPO-r-Net, [www.expornet.eu](http://www.expornet.eu))
- European Reference Network on Paediatric Cancer (ERN PaedCan, [paedcan.ern-net.eu](http://paedcan.ern-net.eu))
- European Reference Network on Paediatric Cancer Connecting Facility (ERN-PaedCan-CEF, CEF-TC-2018-4 – eHealth)
- Paediatric Rare Tumours Network – European Registry (PARTNER, [www.raretumors-children.eu/partner-project](http://www.raretumors-children.eu/partner-project))

*facilitates optimized, risk-adapted treatments with classical chemotherapy approaches as well as innovative drugs.*

#### INTERNATIONAL PROJECT ACTIVITIES

*An additional asset of S<sup>2</sup>IRP is European projects based on multifaceted long-standing international co-operations with European and international societies and associations devoted to the cancer field and respective needs. These projects are partly funded by subsidies/grants from the European Commission, academic associations or contract-based collaborations with the pharmaceutical industry.*

#### EUROPEAN PROJECTS DURING THE REPORTING PERIOD:

- European Expert Paediatric Oncology Reference Network for Diagnostics and Treatment (ExPO-r-Net, [www.expornet.eu](http://www.expornet.eu))
- European Reference Network on Paediatric Cancer (ERN PaedCan, [paedcan.ern-net.eu](http://paedcan.ern-net.eu))
- European Reference Network on Paediatric Cancer Connecting Facility (ERN-PaedCan-CEF, CEF-TC-2018-4 – eHealth)
- Paediatric Rare Tumours Network – European Registry (PARTNER, [www.raretumors-children.eu/partner-project](http://www.raretumors-children.eu/partner-project))
- Predictive In-silico Multiscale Analytics (PRIMAGE, H2020-SC1-DTH-2018-2020)
- European Joint Programme on Rare Diseases (EJP RD, [www.ejprarediseases.org](http://www.ejprarediseases.org))
- Integrated and Standardized NGS Workflows for Personalised Therapy (INSTAND-NGS4P, [www.instandngs4p.eu](http://www.instandngs4p.eu))



- Predictive In-silico Multiscale Analytics (PRIMAGE, H2020-SC1-DTH-2018-2020)
- European Joint Programme on Rare Diseases (EJP RD, [www.ejprarediseases.org](http://www.ejprarediseases.org))
- Integrated and Standardized NGS Workflows for Personalised Therapy (INSTAND-NGS4P, [www.instandngs4p.eu](http://www.instandngs4p.eu))
- Optimized Diagnostics for Improved Treatment Stratification in Invasive Fungal Diseases (FUNGITECT, FP7-HEALTH.2013-INNOVATION-1)
- Collaborative Network for European Clinical Trials For Children (conect4children) (OKIDS project, [www.okids-net.at](http://www.okids-net.at))
- Twinning in Research and Education to improve survival in Childhood Solid Tumours in Lithuania (TREL, H2020-EU.4.b.)

#### LEITUNG DES VEREINS SIOPEN

Der Verein „International Society of Pediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group“ (SIOPEN) e.V. hat seinen Sitz in Wien und wurde während Ruth Ladenstein's Präsidentschaftsperiode im Jahr 2009 gegründet. Der Verein SIOPEN e.V. fördert die Neuroblastom-Forschung und ermöglicht den langfristigen Fortbestand der Gruppe. Derzeit hat die SIOPEN-Association 432 aktive Mitglieder in 34 Ländern und 29 Länder sind an SIOPEN-Studien beteiligt.

#### NATIONALE PROJEKTAKTIVITÄTEN

##### Leitung der AGPHO (Österreichische Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Hämatologie-Onkologie)

Als Vorsitzende der AGPHO koordiniert Ruth Ladenstein die Aktivitäten dieser Arbeitsgemein-

- *Optimized Diagnostics for Improved Treatment Stratification in Invasive Fungal Diseases (FUNGITECT, FP7-HEALTH.2013-INNOVATION-1)*
- *Collaborative Network for European Clinical Trials For Children (conect4children) (OKIDS project, [www.okids-net.at](http://www.okids-net.at))*
- *Twining in Research and Education to improve survival in Childhood Solid Tumours in Lithuania (TREL, H2020-EU.4.b.)*

#### MANAGEMENT OF THE SIOPEN ASSOCIATION

*The International Society of Pediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group (SIOPEN) Association has its registered office in Vienna and was founded in Ruth Ladenstein's presidency period for SIOPEN in Vienna in 2009. The SIOPEN Association fosters neuroblastoma research and enables long-term sustainability of the group. Currently, the SIOPEN Association has 432 active members in 34 countries and 29 countries are involved in SIOPEN studies.*

#### NATIONAL PROJECT ACTIVITIES

##### Management of AGPHO (Austrian Working Group for Pediatric Hematology-Oncology)

*As chair of the AGPHO, Ruth Ladenstein coordinates the Austrian activities including membership management and organization of biannual meetings to share recent and updated results of past and active trials and registries relevant for Austrian investigators; organization of GCP training in cooperation with the Medical University of Innsbruck; S<sup>2</sup>IRP enables sharing of ongoing clinical trials in the field of hemato-*

schafft, darunter die Mitgliederverwaltung und die Organisation der halbjährlichen Treffen zum Austausch aktueller Ergebnisse aus laufenden und abgeschlossenen Studien und Registern, die für österreichische Prüfarzte relevant sind. Das inkludiert die Organisation von GCP-Schulungen in Kooperation mit der Medizinischen Universität Innsbruck. Des Weiteren ermöglicht S<sup>2</sup>IRP den Austausch in laufenden klinischen Studien im Bereich der Hämato-Onkologie in Österreich inklusive relevanter aktueller Dokumente für die tägliche Praxis (aktuelle Version der jeweiligen Protokolle, altersspezifische Einwilligungserklärungen, Berichte über unerwünschte Ereignisse) im passwortgeschützten AGPHO-Mitgliederbereich auf der Website der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde (ÖGKJ, [www.paediatrie.at](http://www.paediatrie.at)).

#### Organisation OKIDS

Die Organisation Kinderarzneiforschung OKIDS ist ein österreichisches Netzwerk für die Verbesserung von kindgerechten Arzneimitteln, das durch die Vernetzung der fünf Universitätsstandorte und des St. Anna Kinderspitales (zwei in Wien, Linz, Graz, Salzburg, Innsbruck) über eine nationale Zentrale zahlreiche Aufgaben koordiniert. Das übergeordnete Ziel von OKIDS ist es, die Verfügbarkeit von geeigneten Medikamenten für junge Patientengruppen in Österreich zu erhöhen.

Gegründet wurde sie 2012 durch eine Private-Public-Partnership (BMG, Pharmig) und eine kompetitive Förderung mittels „Gesundheitsziele“ (Hauptverband der Sozialversicherungsträger & Pharmig) als Rechtsträgerin (OKIDS GmbH: Geschäftsführerin Ruth Ladenstein; Projektleiterin

*oncology in Austria and their relevant up-to-date documents for daily practice (actual version of respective protocols, age-specific informed consents, adverse events reporting) in the password-protected AGPHO member area on the website of the Austrian Society of Pediatrics and Adolescent Medicine (ÖGKJ, [www.paediatrie.at](http://www.paediatrie.at)).*

#### OKIDS

*OKIDS is the Austrian network for medicines for children coordinating numerous tasks by networking the five university sites and the St. Anna Children's Hospital (2 Vienna, Linz, Graz, Salzburg, Innsbruck) through a national headquarters. The overarching aim is to increase availability of appropriate medicines for young patient groups in Austria.*

*Founded in 2012 through a private-public partnership (Austrian Ministry of Health (BMG), Pharmig (Austrian industrial stakeholder organization)) and a competitive grant of the "Gesundheitsziele" (social security association Hauptverband der Sozialversicherungsträger & Pharmig) as a legal entity (OKIDS GmbH: Director Ruth Ladenstein; project manager Andrea Mikolasek) and as a subsidiary of the Austrian Society of Pediatrics and Adolescent Medicine. It has been maintained through various funding streams as outlined above including European projects (connect4children C4C – IMI2 project) and has become a partner in international collaborations (EM A – EnpreEMA, Connect for Children – IMI2 project).*

## PUBLIKATIONEN

## PUBLICATIONS

Andrea Mikolasek) und Tochter der Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde. OKIDS wurde durch die oben beschriebenen Finanzierungsströme aufrechterhalten, einschließlich europäischer Projekte (connect4children C4C – IMI2-Projekt) und als Partnerin in internationalen Kollaborationen (EMA – EnpreEMA, connect4children – IMI2-Projekt).

In enger Zusammenarbeit mit der jeweiligen Standortleitung stellt OKIDS ihren jeweiligen Standorten Studienassistentenkapazitäten zur Verfügung, um die industriegeführte und akademische Arzneimittelentwicklung für Kinder zu fördern. Als solches unterstützt sie auch S<sup>2</sup>IRP-Studien mit Bedarf an Studienassistentenkapazitäten im St. Anna Kinderspital. OKIDS reagiert damit auf Machbarkeitsanfragen und unterstützt den Aufbau und das Management von klinischen Studien (industriegetrieben, IDCT oder krankheitsspezifische Register). Seit seiner Gründung hat es 130 Machbarkeitsanalysen durchgeführt (CROs, Pharmaunternehmen, Enpr-EMA und c4c) und 220 Studien und Register mit über 700 rekrutierten Kindern unterstützt.

OKIDS zielt auch darauf ab, das öffentliche Bewusstsein durch Verbreitungs- und Aufklärungsaktivitäten zu schärfen: Kongresse, Webpage, Broschüren, Publikationen, Pressekonferenzen, moderne Medien. Es erleichtert auch die Interaktion zwischen Eltern/Patienten-Interessenvertretungen, medizinischen Expertinnen und Experten, pharmazeutischer Industrie und Politik und fördert die Bereitstellung von Expertenwissen und Behandlungsrichtlinien.

*OKIDS provides study nurse capacity to its respective sites to foster industry-led and academic drug development for children and works closely with the sites' leadership. As such, it also supports S<sup>2</sup>IRP trials in need of study nurse capacity at the St. Anna Children's Hospital. OKIDS responds to feasibility requests and supports set up and management of clinical trials (industry-driven, IDCT or disease-specific registries). Since its initiation, it has run 130 feasibility studies (CROs, pharma companies, Enpr-EMA and c4c) and supported 220 trials and registries with over 700 children recruited.*

*It aims to raise public awareness through dissemination & educational activities: congresses, webpage, brochures, publications, press conferences, modern media and facilitates interactions of parents'/patients' advocacy groups, medical experts, the pharmaceutical industry and politicians and supports provision of expert knowledge, advisory functions and treatment guidelines.*

## NEUROBLASTOM, REZIDIV IM ZENTRALEN NERVENSYSTEM, HOCHDOSIS-CHEMOTHERAPIE, ANTI-GD2

Das Neuroblastom, der zweithäufigste solide Tumor aus dem Nervengewebe im Kindesalter, tritt früh im Leben auf, wobei fast 90 % der Kinder vor dem Schulalter diagnostiziert werden. Hochrisikomerkmale sind definiert durch das Auftreten einer metastasierten Erkrankung im Alter von 12 oder 18 Monaten bzw. durch eine Amplifikation des MYCN-Onkogens, unabhängig vom Alter. Die Einführung der Hochdosis-Chemotherapie, gefolgt von autologer Stammzellerhaltung, hat die Überlebensraten erhöht. Allerdings erleidet etwa die Hälfte der Patienten einen Rückfall. Die Immuntherapie hat die Ergebnisse weiter verbessert, aber die langfristigen Auswirkungen müssen noch evaluiert werden.

Es gibt zunehmende Bedenken hinsichtlich der Auswirkungen neuer Strategien (d. h. Hochdosis-Chemotherapie-Schemata und Immuntherapie) auf das Rezidivmuster, insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, dass Anti-Dialogangliosid (GD2)-Antikörper die Blut-Hirn-Schranke nicht durchdringen. Das könnte möglicherweise dazu führen, dass sich im Zufluchtsort zentrales Nervensystem (ZNS) eine höhere Anzahl an Rezidiven entwickelt. In der Literatur wurden nur wenige Daten über die Häufigkeit von Rezidiven im ZNS in dieser Population berichtet. Eine genaue Analyse der Rezidive des ZNS ist jedoch von großem Interesse, da sie das Design zukünftiger Hochrisiko-Neuroblastom-Therapiestrategien beeinflussen kann.

## NEUROBLASTOMA, CENTRAL NERVOUS SYSTEM, RELAPSE, HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY, ANTI-GD2

*Neuroblastoma, the second most frequent childhood solid tumor originating from nerve cell tissues, occurs early in life with almost 90% of children being diagnosed prior school-age. High risk features are defined by metastatic disease occurring over the age of 12 or 18 months and amplification of the MYCN oncogene at any age. The introduction of high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell rescue has increased survival rates. However, around half of the patients relapse. Immunotherapy has further improved outcomes, but the long-term impact still has to be evaluated.*

*There is rising concern on the impact of new strategies (i.e. high-dose chemotherapy regimens and immunotherapy) on the pattern of relapse, especially taking into account that anti-disialoganglioside (GD2) antibodies do not penetrate the blood-brain barrier, potentially allowing the central nervous system (CNS) to emerge as a sanctuary site leading to a higher proportion of CNS recurrences. Few data have been reported in the literature on the incidence of CNS relapse in this population. The precise analysis of CNS recurrence is of major interest, as it may impact the design of future high-risk neuroblastoma strategies.*

Die European Society of Paediatric Oncology Neuroblastoma Group (SIOPEN) initiierte eine multizentrische, internationale, randomisierte Phase-III-Studie (HR-NBL1/SIOPEN), deren Rekrutierung 2002 begann. Diese prospektiv erhobene Kohorte bietet die einzigartige Möglichkeit, die Inzidenz von Risikofaktoren für ein Rezidiv des ZNS beim ersten Rückfall in einer gut charakterisierten Population zu identifizieren.

In diesem Bericht konzentrierten wir uns auf die Bewertung des Einflusses verschiedener Hochdosis-Chemotherapieschemata und der Verabreichung einer Immuntherapie auf das Risiko einer Beteiligung des ZNS beim Rezidiv. Es wurden Daten von Kindern mit Hochrisiko-Neuroblastom im Stadium-4 analysiert, die von Februar 2002 bis Juni 2015 in die prospektive Hochrisiko-Neuroblastom-Studie der European international Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group aufgenommen wurden. Untersucht wurden Charakteristika bei der Diagnose, der Behandlung und das Muster des ersten Rückfalls. Die Bildgebung des ZNS beim Rezidiv wurde zentral überprüft.

Die 1977 eingeschlossenen Patientinnen und Patienten hatten ein medianes Alter von 3 Jahren (1 Tag -20 Jahre), 1163 waren männlich. Von 1161 Erstrezidiven waren 53 im ZNS, mit einer Gesamtinzidenz von 2,7 %, was 6,2 % aller metastatischen Rezidive entsprach. Das Gesamtüberleben nach einem und drei Jahren nach dem Rezidiv betrug  $25 \pm 6$  % bzw.  $8 \pm 4$  %. Ein höheres Risiko für ein Rezidiv im ZNS war mit dem weiblichen Geschlecht assoziiert.

*The European Society of Paediatric Oncology Neuroblastoma Group initiated a multicenter, international, randomized phase III trial (HR-NBL1/SIOPEN) that started recruitment in 2002. This prospectively collected cohort provides a unique opportunity to identify the incidence of risk factors of CNS recurrence at first relapse in a well-characterized population.*

*In this report, we focus on the evaluation of the impact of different high-dose chemotherapy regimens and the administration of immunotherapy on the risk of CNS involvement at recurrence. Data from patients with stage 4 high-risk neuroblastoma included from February 2002 to June 2015 in the prospective high-risk neuroblastoma trial of the European international Society of Pediatric Oncology Neuroblastoma Group were analyzed. Characteristics at diagnosis, treatment and the pattern of first relapse were studied. Central nervous system imaging at relapse was centrally reviewed.*

*The 1977 included patients had a median age of 3 years (1 day -20 years). 1163 were boys. Among the 1161 first relapses, 53 were in the CNS, with an overall incidence of 2.7% representing 6.2% of all metastatic relapses. One- and three-year post-relapse overall survival was  $25 \pm 6$  % and  $8 \pm 4$  %, respectively. Higher risk of CNS recurrence was associated with female sex. Neither high dose chemotherapy nor immunotherapy was associated with higher risk of CNS recurrence. Stable incidence of central nervous system relapse was reported over time.*

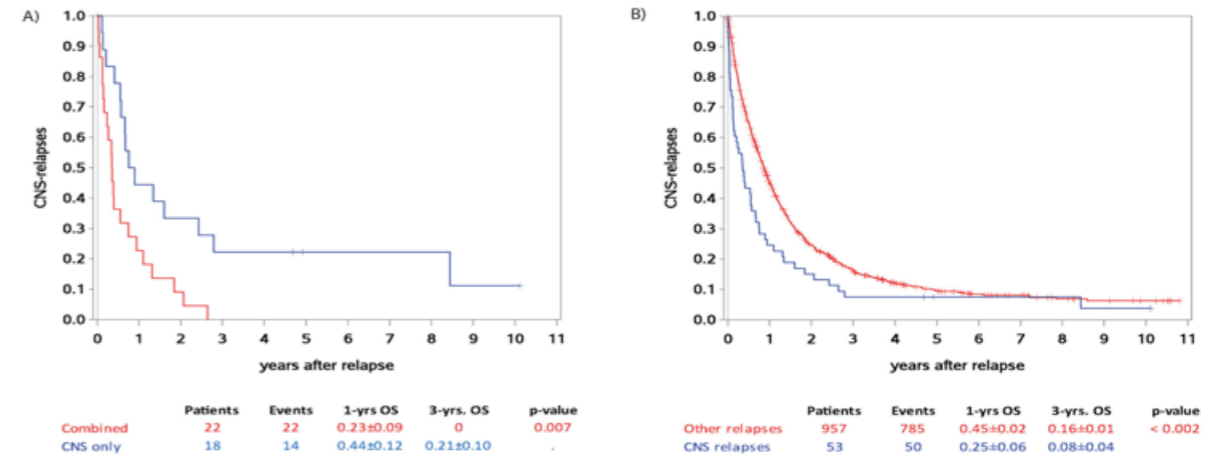
Weder eine Hochdosis-Chemotherapie noch eine Immuntherapie war mit einem höheren Risiko für ein ZNS-Rezidiv assoziiert. Die Inzidenz von Rezidiven des zentralen Nervensystems war über die Zeit stabil.

Diese Studie liefert Daten zur Inzidenz, Risikofaktoren und zum Ausgang eines Rezidivs ZNS beim ersten Rezidiv in einer großen, prospektiven und unselektierten Kohorte von Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom (Abbildung). Die Ergebnisse zeigen weder einen Trend in Richtung eines zunehmenden Risikos eines Rezidivs des ZNS im Laufe der Zeit, noch zeigen sie einen signifikanten Einfluss des Hochdosis-Chemotherapieschemas oder der Immuntherapie, was eine Änderung der derzeitigen Behandlungsstrategie nicht rechtfertigt. Außerdem scheint die geringe Inzidenz von Rezidiven des zentralen Nervensystems in dieser Population auch keine prophylaktische Behandlung in zukünftigen Studien zu rechtfertigen. Schließlich ist es wichtig zu betonen, dass ein Langzeitüberleben immer noch erreicht werden kann, vor allem bei Kindern mit isoliertem Rezidiv im ZNS. Es wird von großer Bedeutung sein, zukünftige Strategien zu identifizieren, die helfen könnten, eine frühere Diagnose einer nicht symptomatischen Beteiligung des ZNS zu erreichen, um eine adäquate multimodale Behandlung zu ermöglichen.

*This study provides data on the incidence, risk factors and outcome of CNS recurrence at first relapse in a large, prospective and unselected cohort of patients with high-risk neuroblastoma (Figure). The results do not show a trend toward an increasing risk of CNS recurrence over time, nor do they display a significant impact of the high-dose chemotherapy regimen or immunotherapy, thus not justifying a change in the current treatment strategy. Moreover, the low incidence of CNS recurrence in this population does not seem to justify prophylactic treatment in future trials either. Finally, it is important to underline that long-term survival can still be achieved, mainly in patients with isolated CNS relapse. It will be of major importance to identify future strategies that might help to achieve an earlier diagnosis of non-symptomatic CNS involvement to allow adequate multimodal treatment.*

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Berlanga P, Pasqualini C, Pötschger U, Sangüesa C, Castellani MR, Cañete A, Luksch R, Elliot M, Schreier G, Kropf M, Morgenstern D, Papadakis V, Ash S, Ruud E, Brock P, Wiczorek A, Kogner P, Trahair T, Ambros P, Boterberg T, Castel V, Valteau-Couanet D, Ladenstein R. Central nervous system relapse in high-risk stage 4 neuroblastoma: The HR-NBL1/SIOPEN trial experience. *Eur J Cancer*. 2021 Feb;144:1-8. doi: 10.1016/j.ejca.2020.10.020. Epub 2020 Dec 11.



#### ABBILDUNG / FIGURE

Post-Rezidiv-Gesamtüberleben von A) Patientinnen und Patienten mit Zentralnervensystem-Rezidiv, entsprechend der Krankheitsausdehnung beim ersten Rezidiv B) Patientinnen und Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom im Stadium-4 in Abhängigkeit von der Rezidivstelle.

*Post-relapse overall survival of A) patients with central nervous system recurrence, according to the disease extension at first relapse B) patients with stage 4 high-risk neuroblastoma in accordance with the site of relapse.*

Berlanga et al., *Eur J Cancer*. 2020

## HOCHRISIKO-NEUROBLASTOM, IMMUNOTHERAPIE UND DINUTUXIMAB BETA

Das Neuroblastom als zweithäufigster solider Tumor im Kindesalter, der von Nervenzellgeweben ausgeht, tritt bereits bei der Diagnose in über 50 % der Kleinkinder mit Hochrisikomerkmale auf, die durch eine metastasierte Erkrankung im Alter von 12 oder 18 Monaten und/oder eine Amplifikation des MYCN-Onkogens unabhängig vom Alter definiert sind. Bis vor kurzem war diese Erkrankung mit einer Langzeitüberlebensrate von nur 40 % assoziiert. Die Behandlungsansätze umfassen eine intensive Induktion, eine Konsolidierung mit Hochdosis-Chemotherapie und autologer Stammzellrettung sowie Isotretinoin als Erhaltungstherapie.

Da das Tumor-assoziierte Antigen Disialogangliosid GD2 auf der Mehrzahl der Neuroblastomzellen exprimiert wird, während es auf normalen Zellen kaum vorhanden ist, ist es ein geeignetes Ziel für eine Immuntherapie. Daher wurde der chimäre Anti-GD2-Antikörper ch14.18, Dinutuximab entwickelt, in SP2/0-Zellen produziert und in klinischen Studien untersucht. Für Europa wurde ch14.18 für klinische Studien der „International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group“, SIOPEN, von Polymun, Wien (Österreich) in einer immortalisierten Zelllinie aus Ovarien des chinesischen Zwerghamsters (CHO-Zellen) rekloniert (Dinutuximab beta). Die Verträglichkeit und Aktivität von Dinutuximab beta wurde zunächst in einem Dosierungsschema von 20mg/m<sup>2</sup> untersucht, verabreicht an fünf aufeinanderfolgenden Tagen in einer 8h-Infusion. Im Jahr 2006 eröffnete SIOPEN eine randomisierte Studie zum Vergleich von Dinutuximab beta und Isotretinoin mit Isotretinoin allein bei Patientinnen und Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom.

## HIGH-RISK NEUROBLASTOMA, IMMUNOTHERAPY AND DINUTUXIMAB BETA

*Neuroblastoma as second most frequent childhood solid tumor originating from nerve cell tissues, presents already at diagnosis in over 50% of young children with high risk features defined by metastatic disease occurring over the age of 12 or 18 months, and/or amplification of the MYCN oncogene at any age. Until recently, it remained associated with long-term survival rates of only 40%. Treatment approaches comprise intensive induction, consolidation with high-dose chemotherapy and autologous stem cell rescue, and isotretinoin as maintenance therapy.*

*As the disialoganglioside GD2, a tumor-associated antigen, is expressed on the majority of neuroblastoma cells, with minimal expression on normal cells, it is a suitable target for immunotherapy. Therefore, human/mouse chimeric anti-GD2 antibody ch14.18, dinutuximab, produced in SP2/0 cells was developed and investigated in clinical trials. For Europe, ch14.18 was re-cloned in Chinese hamster ovarian (CHO) cells (dinutuximab beta) for clinical trials of the International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group SIOPEN by Polymun, Vienna (Austria). The tolerability and activity of dinutuximab beta was first evaluated in a dose schedule of 20mg/m<sup>2</sup>, given on five consecutive days by an 8h-infusion. In 2006, SIOPEN opened a randomised trial to compare dinutuximab beta and isotretinoin with isotretinoin alone in patients with high-risk neuroblastoma.*

Im Jahr 2007 wurden jedoch die Ergebnisse der ANBL0032-Studie der Children's Oncology Group (COG) mitgeteilt und 2010 international publiziert, die zeigten, dass das zweijährige ereignisfreie Überleben und das Gesamtüberleben von Kindern mit Hochrisiko-Neuroblastom, die zusätzlich zu Isotretinoin Dinutuximab und Zytokine (Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor und Interleukin-2) erhielten, signifikant um 20 bzw. 11 % höher war als bei Kindern, die nur Isotretinoin erhielten.

Daher wurde die Fortsetzung der randomisierten SIOPEN-Studie als nicht mehr durchführbar und ethisch nicht vertretbar erachtet, und das Studiendesign wurde so geändert, dass alle Patientinnen und Patienten Dinutuximab beta mit oder ohne Interleukin-2 erhalten konnten. Die geänderte Randomisierung wurde am 22. Oktober 2009 eröffnet, um die Rolle von Dinutuximab beta mit oder ohne subkutanem Interleukin-2 zu untersuchen. Dazu erhielten alle Patientinnen und Patienten hochdosiertes orales Isotretinoin (Vitamin A). Unsere Studie zeigte, dass die Zugabe von subkutanem Interleukin-2 zur Immuntherapie mit Dinutuximab beta, verabreicht als 8h-Infusion, das Ergebnis nicht verbesserte, dafür aber die Toxizität erhöhte.

Zusammenfassend wurde in dieser Publikation der Beitrag der Dinutuximab-beta-basierten Immuntherapie zum Outcome von Patientinnen und Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom in der HR-NBL1/SIOPEN-Studie bewertet, indem das Überleben von Patienten in zwei aufeinanderfolgenden Zeiträumen mit den gleichen Zulassungs-

*However, in 2007, the results of the Children's Oncology Group (COG) ANBL0032 trial were communicated, followed by publication in 2010, demonstrating that two-year event-free survival and overall survival of patients with high-risk neuroblastoma receiving dinutuximab and cytokines (granulocyte-macrophage colony stimulating factor and interleukin-2), in addition to isotretinoin, were significantly higher by 20 and 11%, respectively, compared to those patients receiving isotretinoin alone.*

*Therefore, continuation of the SIOPEN randomised trial was believed to be no longer feasible nor considered ethical, and the study design was modified to allow all patients to receive dinutuximab beta with or without interleukin-2. The altered randomisation opened on 22 October 2009 to investigate the role of subcutaneous interleukin-2 with dinutuximab beta and assigned patients to dinutuximab beta alone or with subcutaneous interleukin-2. All patients received high-dose oral isotretinoin (Vitamin A). The trial showed that the addition of subcutaneous interleukin-2 to immunotherapy with dinutuximab beta, given as an 8h-infusion, did not improve outcome but increased toxicity.*

*In this publication, the contribution of dinutuximab beta-based immunotherapy to the outcome of patients with high-risk neuroblastoma in the HR-NBL1/SIOPEN trial was assessed by investigating the survival of patients in sequential eras with the same eligibility criteria treated with*

kriterien untersucht wurde: einmal mit (Immuntherapie-Population 2009–2013), einmal ohne Immuntherapie (Kontrollpopulation, 2002–2009).

Alle Patienten erhielten eine Standard-Induktions- und Hochdosistherapie mit autologer Stammzellerhaltung. Die lokale Kontrolle bestand aus Operation und Strahlentherapie am Primärtumorort, gefolgt von Isotretinoin.

Dieser Bericht zeigt, dass die Einführung von Dinutuximab beta mit einem deutlichen Überlebensvorteil für Kinder mit Hochrisiko-Neuroblastom verbunden ist. Unsere Ergebnisse liefern eine wichtige Grundlage für den weiteren Aufbau von Immuntherapie-Strategien in dieser schwierigen Patientenpopulation. Angesichts des Fehlens eines vorteilhaften Effekts durch Hinzufügen von subkutanem Interleukin-2 zu einer 8h-Infusion von Dinutuximab beta ist die von SIOPEX empfohlene Standardbehandlung Dinutuximab beta mit Isotretinoin zur Erhaltungstherapie des Hochrisiko-Neuroblastoms (Abbildung).

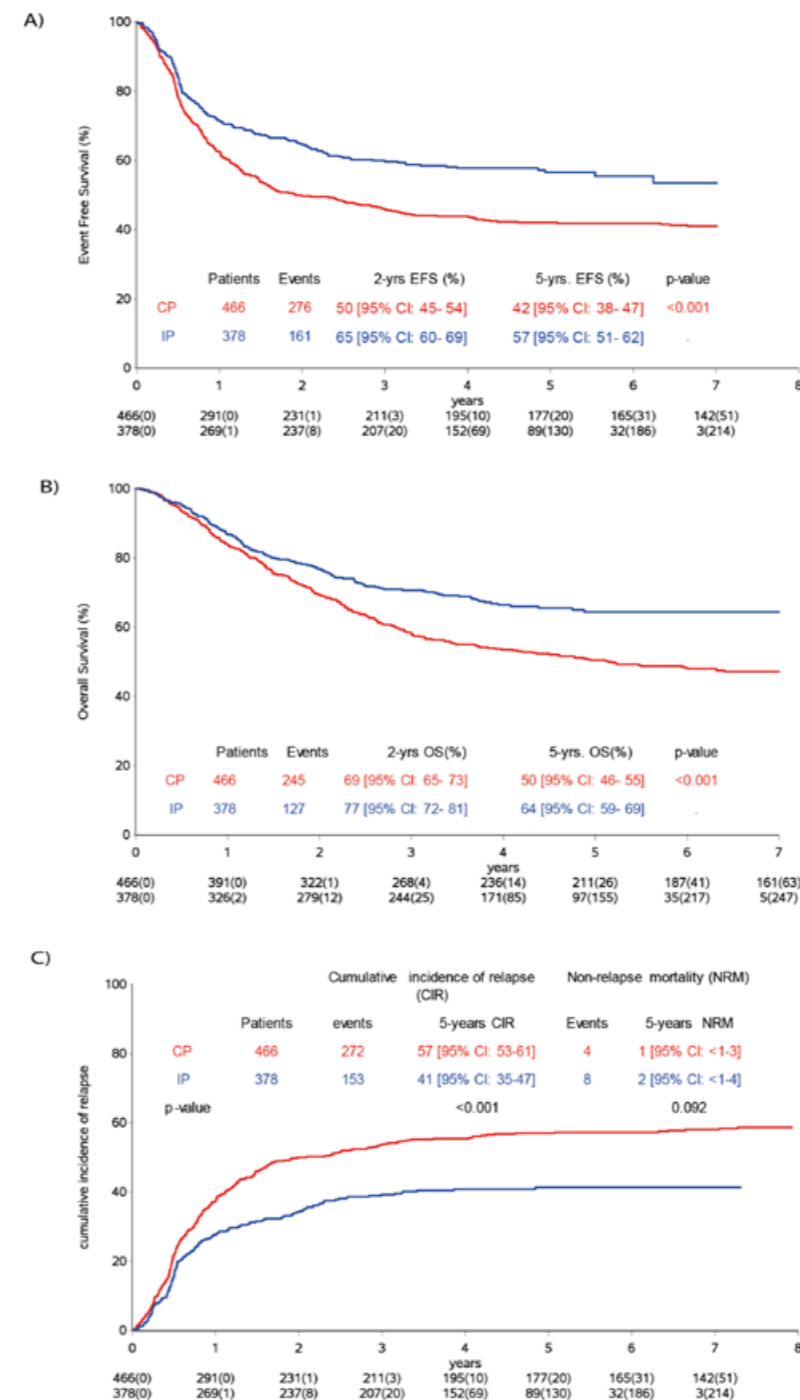
(immunotherapy population 2009–2013) or without immunotherapy (control population, 2002–2009).

All patients received standard induction and high-dose therapy with autologous stem cell rescue; the local control comprised surgery and radiotherapy to the primary tumor site, followed by isotretinoin.

This report shows that the introduction of dinutuximab beta is associated with a clear survival benefit for children with high-risk neuroblastoma. Our results provide an important baseline to further build immunotherapy strategies in this challenging patient population. Given the absence of a beneficial effect by adding subcutaneous interleukin-2 to an 8h-infusion of dinutuximab beta, the standard treatment recommended by SIOPEX is dinutuximab beta with isotretinoin for maintenance therapy of high-risk neuroblastoma (Figure).

**PUBLIKATION / PUBLICATION**

Ladenstein R, Pötschger U, Valteau-Couanet D, Luksch R, Castel V, Ash S, Laureys G, Brock P, Michon JM, Owens C, Trahair T, Chan GCF, Ruud E, Schroeder H, Beck-Popovic M, Schreier G, Loibner H, Ambros P, Holmes K, Castellani MR, Gaze MN, Garaventa A, Pearson ADJ, Lode HN. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEX High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). *Cancers* (Basel). 2020 Jan 28;12(2):309. doi: 10.3390/cancers12020309.



**ABBILDUNG / FIGURE**  
 Analysepopulation im Vergleich: Kontrollpopulation versus Immuntherapiepopulation: (A) Ereignisfreies Überleben, (B) Gesamtüberleben und (C) kumulative Inzidenz von Progression/Rezidiv. CP (Kontrollpopulation), IP (Immuntherapie-Population), CIR (kumulative Inzidenz von Rückfällen) und NRM (Nicht-Rückfall-Mortalität).

Analysis population comparing control population versus immunotherapy population: (A) event-free survival, (B) overall survival and (C) cumulative incidence of progression/relapse. CP (control population), IP (immunotherapy population), CIR (cumulative incidence of relapse) and NRM (non-relapse mortality).

Ladenstein et al., *Cancers* (Basel). 2020

## EINFLUSS DES CHIRURGISCHEN EINGRIFFS AUF DAS ÜBERLEBEN BEIM HOCHRISIKO-NEUROBLASTOM

Das Neuroblastom ist der zweithäufigste solide Tumor aus dem Nervengewebe im Kindesalter. Ein Hochrisiko-Neuroblastom (HR-NBL) liegt dann vor, wenn metastasierende Erkrankungen im Alter von 12 oder 18 Monaten auftreten oder beim Vorhandensein einer Amplifikation des MYCN-Onkogens, unabhängig vom Alter, und das Langzeitüberleben beträgt nach wie vor nur 40%. Es stellt damit eine große klinische Herausforderung in der pädiatrischen Onkologie dar. Trotz der jüngsten therapeutischen Fortschritte haben viele Kinder mit Hochrisiko-Neuroblastom keine langfristigen Überlebenschancen. Ihr Outcome muss daher dringend verbessert werden. Der derzeitige therapeutische multimodale Ansatz umfasst die Induktions-Chemotherapie, die Therapie am Ort des Primärtumors (chirurgische Exzision und Radiotherapie), die Hochdosistherapie mit hämatopoetischer Stammzellerhaltung und die Therapie der Resterkrankung, einschließlich Immuntherapie. Bisher haben sich die klinischen Studien auf die Induktion, die Hochdosistherapie und die Immuntherapie konzentriert, während der lokalen Therapie weniger Aufmerksamkeit gewidmet wurde. So gab es bis jetzt keine randomisierten Studien, die den Effekt des Ausmaßes der chirurgischen Entfernung (Exzision) des Primärtumors untersucht haben. Obwohl anspruchsvoll und zeitaufwendig, kann eine vollständige makroskopische Exzision auch bei großflächigen Tumoren mit geringer Morbidität und Mortalität durchgeführt werden. Allerdings gab es bis dato widersprüchliche Berichte über den Nutzen dieses Verfahrens.

## INFLUENCE OF SURGICAL EXCISION ON SURVIVAL IN HIGH-RISK NEUROBLASTOMA

*Neuroblastoma is the second most frequent childhood solid tumor originating from nerve cell tissues. High-risk neuroblastoma (HR-NBL) is characterized by metastatic diseases over the age of 12 or 18 months, and amplification of the MYCN oncogene at any age remain associated with long-term survival rates of only 40%. It represents a major clinical challenge in pediatric oncology. Despite recent therapeutic advances, many patients with high-risk neuroblastoma will not be long-term survivors and their outcome needs to be improved. The current therapeutic multimodality approach comprises induction chemotherapy, therapy to the site of the primary tumour (surgical excision and radio-therapy), high-dose therapy with hematopoietic stem-cell rescue, and residual disease therapy, including immunotherapy. To date, clinical trials have focused on induction, high-dose therapy and immunotherapy with less attention directed to local therapy and there have been no randomized trials to examine the effect of the extent of excision to the primary tumor. Although challenging and time consuming, complete macroscopic excision can be performed for the most extensive tumors with low morbidity and mortality. However, there were conflicting reports about the benefit of this procedure.*

Diese Studie untersuchte den Einfluss der chirurgischen Exzision auf das klinische Ergebnis in einer großen Kohorte von Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom, die in 128 Institutionen in 18 Ländern aufgenommen wurden. Das primäre Ziel dieser Analyse war es, den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der vom Chirurgen bewerteten primären Tumorresektion und dem ereignisfreien Überleben, dem Gesamtüberleben und der lokalen Progression von Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom im Stadium 4 zu bestimmen, die im Rahmen der International Society of Pediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group High-Risk Neuroblastoma 1 (HR-NBL1/SIOPEN) Studie behandelt wurden.

Eingeschlossen wurden Patienten, die zwischen 2002 und 2015 rekrutiert wurden, mit einer Erkrankung im Stadium 4 < 1 Jahr oder im Stadium 4/4S mit MYCN-Onkogen-Amplifikation > 1 Jahr, die die Induktion ohne Progression abgeschlossen hatten, die Ansprechkriterien für eine Hochdosistherapie erfüllten und bei denen vor der Induktion keine Resektion durchgeführt wurde. Es wurden Daten zum Ausmaß der Primärtumorexzision, zu schweren operativen Komplikationen und zum klinischen Outcome erhoben. Insgesamt wurden 1531 Patienten eingeschlossen. Die mediane Beobachtungszeit betrug 6,1 Jahre.

Sowohl in der Prä- als auch in der Post-Immuntherapie-Ära gab es ein höheres gesamtes und ereignisfreies Überleben und eine geringere kumulative Inzidenz lokaler Progression bei Patienten mit vollständiger, im Vergleich zu

*This study investigated the influence of surgical excision on the outcome of a large cohort of patients, enrolled by 128 institutions in 18 countries, with high-risk neuroblastoma. The primary aim of this analysis was to determine the relationship between the extent of surgeon-assessed primary tumor resection and event-free survival, overall survival, and local progression of patients with stage 4 high-risk neuroblastoma, who were treated in the International Society of Pediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group High-Risk Neuroblastoma 1 (HR-NBL1/SIOPEN) trial.*

*Patients recruited between 2002 and 2015 with stage 4 disease < 1 year or stage 4/4S with MYCN oncogene amplification > 1 year who had completed induction without progression, achieved response criteria for high dose therapy and had no resection prior to induction, were included. Data were collected on the extent of primary tumour excision, severe operative complications and outcome. A total of 1531 patients were included. The median observation time was 6.1 years.*

*In both the pre- and postimmunotherapy eras, there was a higher overall and event-free survival and a lower cumulative incidence of local progression in patients with complete, compared with incomplete, macroscopic excision of the primary tumor. Furthermore, complete macroscopic excision was accompanied by low rates of severe operative complications (9.7%) and mortality (0.46%). This means that in patients with high-risk neuroblastoma in the context of*

inkompletter, makroskopischer Exzision des Primärtumors. Darüber hinaus ging die vollständige makroskopische Exzision mit niedrigen Raten schwerer operativer Komplikationen (9,7 %) und Mortalität (0,46 %) einher. Dies bedeutet, dass bei Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom im Rahmen einer intensiven Chemotherapie, gefolgt von Hochdosistherapie, lokaler Strahlentherapie (21Gy) und Immuntherapie, das Ziel einer Operation die vollständige chirurgische Exzision des Tumors sein sollte.

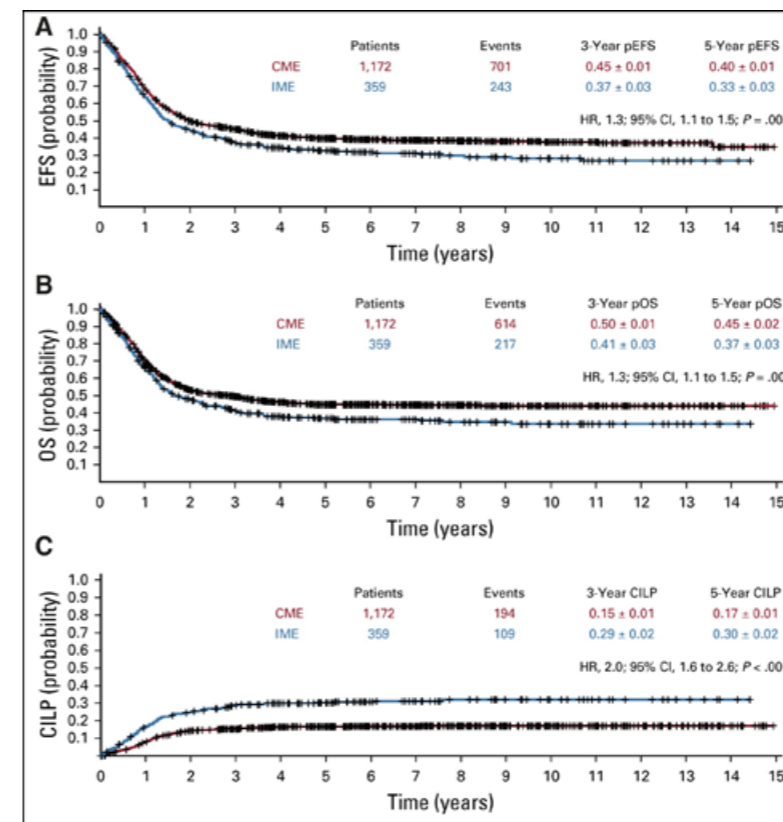
Diese Studie ist die bisher größte Analyse zum Einfluss von chirurgischer Exzision auf das Überleben von Patienten mit Hochrisiko-Neuroblastom im Stadium 4 innerhalb einer einzigen Studie (Abbildung). Ein verbessertes Überleben und eine reduzierte lokale Progression waren assoziiert mit einer kompletten makroskopischen Exzision und einer Strahlentherapie auf das präoperative Volumen des Primärtumors und der beteiligten Lymphknoten. Darüber hinaus blieb der Zusammenhang der vollständigen makroskopischen Exzision mit einem überlegenen Ergebnis auch bei einer Immuntherapie mit Dinutuximab bestehen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die geringen Raten schwerer operativer Komplikationen und die geringe Mortalität die möglichst vollständige makroskopische Exzision des Primärtumors nach entsprechender Chemotherapie rechtfertigen.

*an intensive chemotherapy regimen followed by high-dose therapy, local radiotherapy (21Gy), and immunotherapy, the goal for surgery should be the complete surgical excision of the tumor.*

*This study is the largest analysis of the influence of surgical excision on the survival of patients with stage 4 high-risk neuroblastoma within one single trial to date (Figure). Improved survival and reduced local progression were associated with complete macroscopic excision and radiotherapy to the preoperative volume of the primary tumor and involved lymph nodes. Furthermore, the association of complete macroscopic excision with a superior outcome persisted with immunotherapy using dinutuximab beta.*

*In conclusion, the low rates of severe operative complications and mortality justify determined attempts at complete macroscopic excision of the primary tumor after appropriate chemotherapy.*



#### ABBILDUNG / FIGURE

Ergebnis der Analysepopulation bei kompletter und inkompletter makroskopischer Exzision. (A) Drei- und 5-Jahres-Ereignis-freies Überleben, (B) Gesamtüberleben und (C) kumulative Inzidenz der lokalen Progression. Die Hazard Ratios sind adjustiert für Alter, metastatische Kompartimente und metastatisches Ansprechen am Ende der Induktion.

*Outcome of the analysis population with complete macroscopic excision and incomplete macroscopic excision. (A) Three- and 5-year event-free survival, (B) overall survival, and (C) cumulative incidence of local progression. Hazard ratios are adjusted for age, metastatic compartments, and end-of-induction metastatic response.*

Holmes et al., J Clin Oncol. 2020

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Holmes K, Pötschger U, Pearson ADJ, Sarnacki S, Cecchetto G, Gomez-Chacon J, Squire R, Freud E, Bysiek A, Matthyssens LE, Metzelder M, Monclair T, Stenman J, Rygl M, Rasmussen L, Joseph J-M, Irtan S, Avanzini S, Godzinski J, Björnland K, Elliott M, Luksch R, Castel V, Ash S, Balwierz W, Laureys G, Ruud E, Papadakis V, Malis J, Owens C, Schroeder H, Beck-Popovic M, Trahair T, Forjaz de Lacerda A, Ambros PF, Gaze MN, McHugh K, Valteau-Couanet D, Ladenstein RL, International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group (SIOPEN) Influence of Surgical Excision on the Survival of Patients With Stage 4 High-Risk Neuroblastoma: A Report From the HR-NBL1/SIOPEN Study. J Clin Oncol. 2020 Sep 1;38(25):2902-2915. doi: 10.1200/JCO.19.03117. Epub 2020 Jul 8.



## AKTIVE CHRONISCHE GRAFT-VS.-HOST-ERKRANKUNG KORRELIERT MIT VERÄNDERTER IMMUNREKONSTITUTION BEI KINDERN NACH ALLOGENER STAMMZELLTRANSPLANTATION

Hauptziel dieser Studie war es, zu klären, ob zelluläre und humorale Parameter der Immunrekonstitution (IR) – ein Prozess, bei dem sich das Immunsystem nach einer allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSCT) zu erholen beginnt – mit chronischer „Graft-versus-Host-Disease“ (cGVHD) bei Kindern korrelieren. Die cGVHD ist eine pleiomorphe Multisystem-Immunerkrankung, die vielen Autoimmunerkrankungen ähnelt. Sie tritt bei 20–60 % aller Personen nach HSCT auf und ist Hauptursache für langfristige Morbidität und Mortalität ohne Rezidiv. Bei pädiatrischen Patientinnen und Patienten ist die Inzidenz geringer (5–30 %), aber die Folgeerscheinungen können schädlicher sein, da sie in einem wachsenden Organismus auftreten.

### B-ZELL-REKONSTITUTION ALS POTENZIELLER BIOMARKER FÜR cGVHD.

Wir konzentrierten uns besonders auf die B-Zell-Rekonstitution mit dem Ziel der Identifizierung signifikanter cGVHD-Biomarker, wie kürzlich bei erwachsenen cGVHD-Erkrankten beschrieben wurde. Die IR nach HSCT in Bezug auf die adaptive Immunität mit T- und B-Lymphozyten kann mehrere Monate bis zu einem Jahr dauern und wird von vielen verschiedenen Faktoren beeinflusst. Bisher konzentrierten sich umfangreiche Studien auf die T-Zell-Rekonstitution, während das Wissen über die Erholung der B-Zellen begrenzt ist. B-Zellen tragen zur adaptiven Immunität bei, indem sie Antikörper produzieren, Zytokine freisetzen und Antigene präsentieren. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen.

## ACTIVE CHRONIC GRAFT-VS.-HOST DISEASE CORRELATES WITH ALTERED IMMUNE RECONSTITUTION IN CHILDREN AFTER ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION

*The major aim of this study was to elucidate whether cellular and humoral parameters of immune reconstitution (IR) – a process in which the immune system begins to recover after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) – correlate with chronic graft-versus-host disease (cGVHD) in pediatric patients. cGVHD is a pleomorphic multisystem immune disorder resembling many autoimmune diseases. cGVHD occurs in 20–60% of HSCT patients and is the leading cause of long-term non-relapse morbidity and mortality. In pediatric patients, the incidence is lower (5–30%), but the sequelae may be more detrimental since they occur in a growing organism.*

### B CELL RECONSTITUTION AS A POTENTIAL BIOMARKER FOR cGVHD.

*We particularly focused on B cell reconstitution aiming at the identification of significant cGVHD biomarkers, since it has been described in adult cGVHD patients recently. IR after HSCT regarding adaptive immunity with T and B lymphocytes may take several months up to 1 year and is influenced by various patient, donor, and treatment related factors. So far, extensive studies focused on T cell reconstitution with limited knowledge on B cell recovery. B cells contribute to adaptive immunity by producing antibodies, secreting cytokines, and presenting antigens and play a major role in the pathology of autoimmune diseases.*

Bei einer beträchtlichen Anzahl von HSCT-Patientinnen und Patienten kommt es zu einer beeinträchtigten B-Zell-Wiederherstellung, gekoppelt mit infektiösen Komplikationen und Abhängigkeit von Immunglobulin-Gabe. Darüber hinaus wurde die wesentliche Rolle der B-Zellen in der Immunpathophysiologie der cGVHD deutlich. Die zugrunde liegenden Mechanismen und Korrelationen mit klinischen Phänotypen sind immer noch ungelöst, insbesondere in der Pädiatrie.

### AKTIVITÄT UND SCHWEREGRAD DER cGVHD KORRELIERTEN MIT PARAMETERN EINES DYSFUNKTIONALEN B-ZELL-WIEDERAUFBAUS.

Wir konnten erstmals in einer großen und sehr homogenen pädiatrischen Patientenkohorte (n=146) zeigen, dass sowohl die cGVHD als auch ihre Aktivität mit einer B-Zell-Störung assoziiert waren, einschließlich niedriger Frequenzen von CD19+CD27+-Gedächtnis-B-Zellen und erhöhten Frequenzen von zirkulierenden CD19+CD21low-B-Zellen. Letztere ist eine hyperaktivierte B-Zell-Untergruppe, die häufig bei chronischen Infektionen und Autoimmunität erhöht ist. In der Tat ging die Abheilung der cGVHD mit einer klonalen Expansion von Gedächtnis-B-Zellen und einer Normalisierung der CD21low-B-Zellen einher.

*A substantial number of HSCT patients experience impaired B cell recovery with infectious complications and dependency on immunoglobulin substitution. Furthermore, the substantial role of B cells in the immune pathophysiology of cGVHD became evident. The underlying mechanisms and correlations with clinical phenotypes are still unresolved, in particular in the pediatric setting.*

### ACTIVITY AND SEVERITY OF cGVHD CORRELATE WITH PARAMETERS OF A DYSFUNCTIONAL B CELL COMPARTMENT.

*In our study, we could demonstrate for the first time in a large and highly homogeneous pediatric patient cohort (n=146) that both cGVHD and its activity were associated with B cell perturbation, including low frequencies of CD19+CD27+ memory B cells and increased frequencies of circulating CD19+CD21low B cells. This is a well-known hyperactivated B cell subset frequently found elevated in chronic infection and autoimmunity. Indeed, the resolution of cGVHD was accompanied by clonal expansion of memory B cells and normalization of CD21low B cells.*

Darüber hinaus hatte der Schweregrad der cGVHD einen Einfluss auf verschiedene IR-Parameter und eine schwere cGVHD war mit einer erhöhten CD21low-B-Zellfrequenz verbunden. Beim Vergleich der klinischen Merkmale von aktiven und nicht-aktiven cGVHD-Erkrankten fanden wir eine Korrelation zwischen Aktivität und höherem Gesamtschweregrad der cGVHD. Dies impliziert, dass Kinder mit aktiver cGVHD unter einer höheren Krankheitslast litten trotz ähnlicher Risikoprofile.

#### **EINE FRAGE DER ZEIT**

Wir konnten zeigen, dass sich zelluläre und humorale Parameter noch ein Jahr nach HSCT rekonstituieren. Der Zeitpunkt der Analyse sowohl in Bezug auf das Intervall nach HSCT als auch auf die cGVHD-Krankheitsaktivität ist entscheidend für die Erfassung der Immunregeneration nach pädiatrischer HSCT.

*In addition, the severity of cGVHD had an impact on various IR parameters and severe cGVHD was associated with increased CD21low B cell frequencies. When comparing clinical characteristics of active and non-active cGVHD patients, we found a correlation between activity and higher overall severity of cGVHD. This implies that more patients with active cGVHD suffered from a higher disease burden of cGVHD, despite similar risk profiles.*

#### **A MATTER OF TIME.**

*In general, we could demonstrate that cellular and humoral parameters still reconstitute after one year post-HSCT. Our data provide evidence that the timing of analysis with respect to both interval from HSCT and cGVHD disease activity is critical for the investigation of immune recovery after pediatric HSCT.*

#### **EINE FRAGE DES ALTERS: KINDER SIND ANDERS.**

Wir fanden eine frühe Rekonstitution der zirkulierenden CD19+-B-Zellen mit späterer Normalisierung, wenn keine cGVHD auftrat. Im Falle von cGVHD untermauerten unsere Ergebnisse die mögliche Rolle von Low-Memory-B-Zellen und expandierten CD21low-B-Zellen als cGVHD-Biomarker, ähnlich wie bei Erwachsenen. Überraschenderweise beobachteten wir bei Kindern weitere signifikant veränderte Immunparameter, die im Gegensatz zu publizierten Daten von Erwachsenen stehen: ein signifikanter Anstieg von Leukozyten, Monozyten, Granulozyten, NK-Zellen und sowohl CD3+- als auch CD8+-T-Zellen, aber nicht von CD4+-T-Zellen.

#### **EINE FRAGE, DIE ES ZU BEANTWORTEN GILT: MALIGNE VS. NICHT-MALIGN ERKRANKUNG.**

Nicht zuletzt konnten wir wichtige Unterschiede in Bezug auf Risikofaktoren und IR-Muster zwischen malignen und nicht-malignen Erkrankungen aufzeigen, mit cGVHD als wichtigstem Störfaktor. Diese Ergebnisse erweitern das Feld und können für zukünftige Studien zur Identifizierung neuer cGVHD-Biomarker in Betracht gezogen werden.

#### **A MATTER OF AGE: CHILDREN ARE DIFFERENT.**

*We found an early reconstitution of circulating CD19+ B cells with normalization later on in the absence of cGVHD. In cGVHD patients our results underpinned the potential role of low memory B cells and expanded CD21low B cells as cGVHD biomarkers similar to adult data. Surprisingly, we observed further significantly altered immune parameters contrasting published adult data: a significant increase of leukocytes, monocytes, granulocytes, NK cells, and both CD3+ and CD8+ T cells, but not of CD4+ T cells could be found in pediatric patients.*

#### **A MATTER OF DEBATE: MALIGNANT VS. NONMALIGNANT DISEASES.**

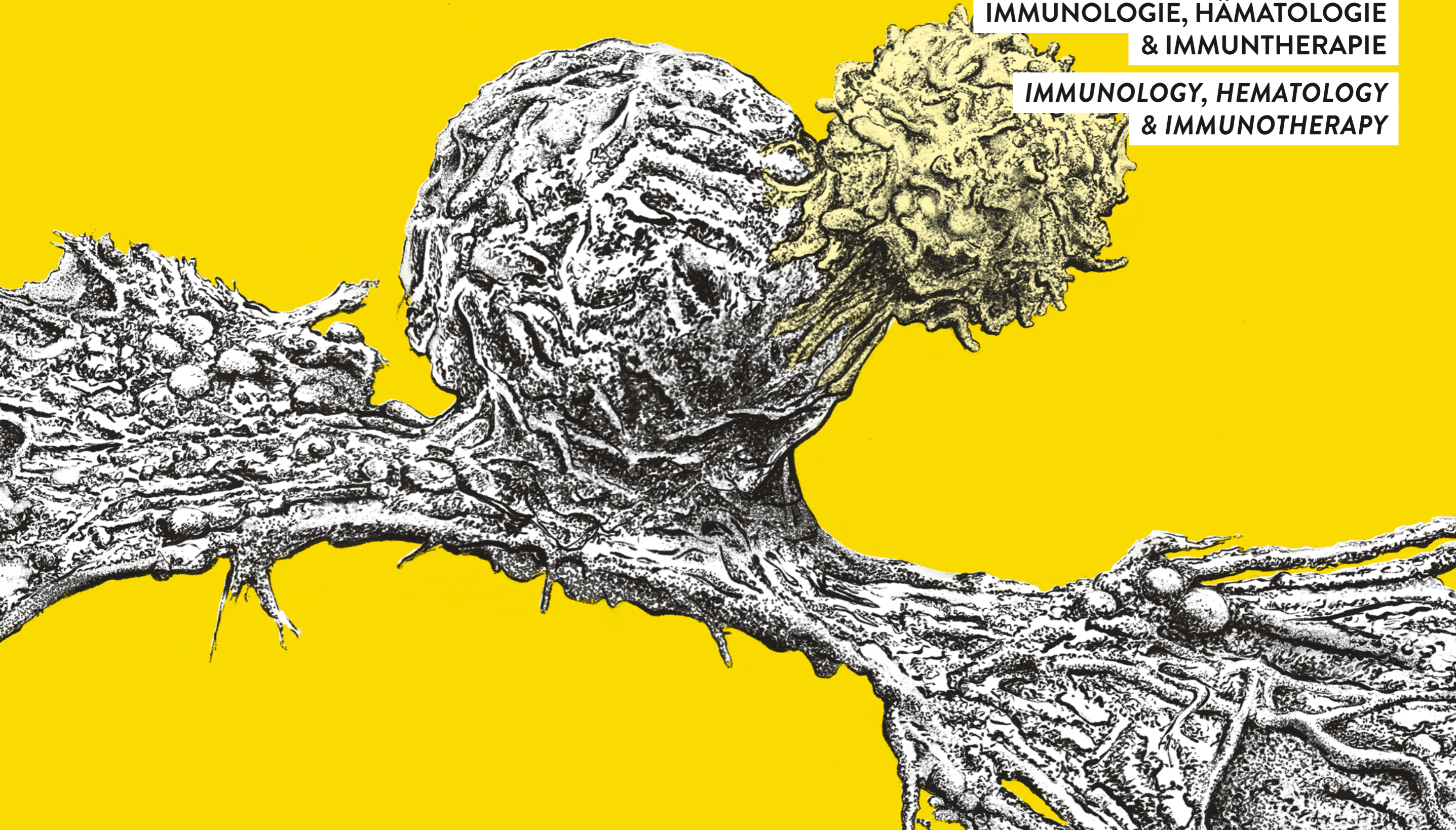
*Last but not least, we could demonstrate important differences regarding risk factors and IR patterns between malignant and nonmalignant diseases, with cGVHD as the most important interfering factor. These results add information to the field and may be considered for future studies aiming at identification of new cGVHD biomarkers.*

#### **PUBLIKATION / PUBLICATION**

Lawitschka A, Gueclue ED, Januszko A, Körmöczi U, Rottal A, Fritsch G, Bauer D, Peters C, Greinix HT, Pickl WF, Kuzmina Z. National Institutes of Health-Defined Chronic Graft-vs.-Host Disease in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients Correlates With Parameters of Long-Term Immune Reconstitution. *Front Immunol.* 2019 Aug 27;10:1879. doi: 10.3389/fimmu.2019.01879. eCollection 2019.

**IMMUNOLOGIE, HÄMATOLOGIE  
& IMMUNTHERAPIE**

**IMMUNOLOGY, HEMATOLOGY  
& IMMUNOTHERAPY**



# KAAN BOZTUG GROUP

Immune Deficiency, Cancer Predisposition  
& Precision Oncology

*„Gute Forschung ist kein Sprint, sondern ein Marathonlauf – und dieser funktioniert im Team viel besser als als Einzelkämpfer!“*

**“Good research is not a sprint, but a marathon – and this works much better in a team than as a lone fighter!”**



## CCRI

### GROUP LEADER

Kaan Boztug

### SENIOR SCIENTIFIC PROJECT MANAGERS

Isabel Griebhammer  
Doris Gangl (until 2020)

### LAB MANAGER

Wojciech Garncarz

### PROGRAM LEADER & DEPUTY LAB HEAD

Alexis Lomakin

### SENIOR POSTDOCTORAL FELLOWS

Artem Kalinichenko  
Michael Kraakman

### POSTDOCTORAL FELLOWS

Juraj Konc  
Elisabeth Salzer\*

### PHD STUDENTS

Jakob Berner  
Jana Block  
Ben Haladik  
Sören Strohmenger

### MASTER STUDENT

Daniel Mayr

### TECHNICIANS

Sarah Giuliani  
Anna Segarra Roca

\* also physician at St. Anna Children's Hospital

## LUDWIG BOLTZMANN INSTITUTE FOR RARE AND UNDIAGNOSED DISEASES (LBI-RUD)

### ADMINISTRATION

Johannes Pfeifenschneider

### STAFF SCIENTIST

Özlem Yuce Petronczki

### SENIOR POSTDOCTORAL FELLOWS

Birgit Höger (until 2020)

### POSTDOCTORAL FELLOWS

Sevgi Köstel Bal  
Samaneh Zoghi (maternity leave)

### PHD STUDENTS

Rico Chandra Ardy (until 2020)  
Jakob Huemer  
Vanessa Hertlein  
Tala Shahin  
Laurence Pfajfer (until 2020)  
Bernhard Ransmayr  
Marini Thian (née Ng)

### TECHNICIANS

Jasmin Dmytrus (until 2020)  
Raúl Jiménez Heredia  
Ana Krolo (until 2020)  
Christina Rashkova

## BIOINFORMATICS UNIT COORDINATED BY KAAAN BOZTUG

Maximilian O Kauer (until 2019)  
Anna R Poetsch (until 2020)  
Niko Popitsch (until 2019)  
Peter Repiscak

## KURZ NACHGEFRAGT – KAAN BOZTUG GANZ PERSÖNLICH

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Dass ich recht früh im Medizinstudium eine sehr spannende Doktorarbeit am Scripps Research Institute in Kalifornien machen durfte – und wusste: Ich möchte auch später weiter in der Forschung arbeiten.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Dann würde ich überlegen, ob ich neben dem Medizinstudium noch Informatik studiere!

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Mache das, was dir am meisten Freude bereitet, darin ist man typischerweise auch gut!

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Gute Forschung ist kein Sprint, sondern ein Marathonlauf – und dieser funktioniert im Team viel besser als als Einzelkämpfer!

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Kolleginnen/Kollegen und Freundinnen/Freunde endlich wieder zu treffen und bei meinem liebsten Fußballverein im Stadion sein zu können!

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Noch mehr Top-Forscherinnen und -Forscher an unser Institut zu holen und damit der Heilung von Kinderkrebs ein Stück näherkommen.

## KAAN BOZTUG – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*That I had the opportunity to do a very exciting doctoral thesis at the Scripps Research Institute in California quite early in my medical studies – and that I knew: I would also like to continue working in research later on.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*Then I would consider studying computer science in addition to my medical studies!*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Do what you enjoy the most – that is typically what you are good at!*

### MY MOTTO IN RESEARCH IS:

*Good research is not a sprint, but a marathon – and this works much better in a team than as a lone fighter!*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*Finally meeting colleagues and friends again, and being with my favorite soccer club at the stadium!*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*Attracting even more top researchers to work at our institute, bringing us one step closer to curing childhood cancer.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Unsere Forschungsgruppe arbeitet an der Schnittstelle von angeborenen Immunstörungen und erblicher Prädisposition für Tumoren im Kindesalter und zielt auf das Verständnis grundlegender Mechanismen der Immunüberwachung ab, welche für die pädiatrische Onkologie und Immuntherapieansätze von Bedeutung sind.

Störungen im Gleichgewicht des Immunsystems (Immundysregulation) können zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionen, Autoimmun- und Krebserkrankungen führen. Angeborene Defekte des Immunsystems (Inborn errors of immunity, IEIs) eröffnen einzigartige Möglichkeiten Beziehungen zwischen Genotyp und Phänotyp aufzudecken und die pathogenen Mechanismen von Störungen des Immunsystems und deren Zusammenhang mit Malignität zu erforschen. Ein weiterer Fokus unserer Arbeitsgruppe liegt hier auf der Erforschung von vererbten Knochenmarkstörungen, um die molekularen Grundlagen der Hämatopoese und der Immunität, sowie die molekularen Ursprünge von angeborenen Knochenmarkserkrankungen zu verstehen, wie z.B. Diamond-Blackfan-Anämie (DBA) oder kongenitalen Neutropenien.

Wir verwenden verschiedene molekularbiologische Methoden, sowie netzwerk- und systembiologische Ansätze, um die Präzisionsonkologie und zielgerichtete Behandlung auf die nächste Stufe zu heben. In Kollaboration mit anderen Forschungsgruppen an der St. Anna Kinderkrebsforschung und dem St. Anna Kinderspital arbeiten wir an präzisionsmedizinischen Ansätzen für Krebserkrankungen im Kindesalter, die darauf abzielen, das Verständnis grundlegender molekularer Mechanismen von Krebs im Kindesalter in maßgeschneiderte Behandlungsoptionen umzusetzen.

## RESEARCH FOCUS

*Our group works at the interface of inborn immune disorders and inherited predisposition to childhood tumors, aiming at the understanding of fundamental mechanisms of immune surveillance relevant to pediatric oncology and immunotherapy approaches.*

*Disorders of the homeostasis of the immune system (immune dysregulation) can lead to an increased susceptibility to infections, autoimmune manifestations, and cancer. Inborn errors of immunity (IEIs) provide unique opportunities to uncover genotype-to-phenotype relationships and to elucidate the pathogenic mechanisms of immune system disorders and their interaction with malignancy. An additional focus of our research group is on the investigation of inherited bone marrow failures to understand the molecular basis of hematopoiesis and immunity, and the molecular origins of bone marrow-associated diseases, such as Diamond-Blackfan-Anemia (DBA) or congenital neutropenia.*

*We utilize various molecular biological methods, as well as network and systems biology approaches to lift precision oncology and targeted therapy to the next level. In collaboration with other research groups at CCRI and the St. Anna Children's Hospital we are working towards precision medicine approaches for childhood cancer aiming at translating the understanding of fundamental molecular mechanisms of childhood cancer into tailored treatment options.*

## WOLFGANG HOLTER GROUP

Development of Cellular Therapeutics & Christian Doppler  
Laboratory for Next Generation CAR T cells

**GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR**  
Wolfgang Holter

**STAFF SCIENTIST**  
Manfred Lehner

**PHD STUDENTS**  
Benjamin Salzer (until 2019)  
Charlotte Zajc (until 2020)

**MASTER STUDENTS**  
Markus Dobersberger (until 2019)  
Michael Schöber (until 2019)

*„Wir denken oft, eine Erkrankung funktioniert so und so. Aber im Grunde könnten wir noch viel mehr verstehen und Kindern mit Krebs noch viel besser helfen.“*

**“We often think we know how a disease works. But basically we could understand much more and help children with cancer much better.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – WOLFGANG HOLTER GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Die Komplexität des Lebens. Wir denken oft, eine Erkrankung funktioniert so und so, aber im Grunde verstehen wir sie nicht genau. Wir könnten noch viel mehr verstehen und Kindern mit Krebs noch viel besser helfen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Das Gefühl der Hilflosigkeit angesichts eines durch nichts zu beeinflussenden Erkrankungsverlaufs. Leider gibt es Kinder, bei denen die Behandlung extrem schwierig ist, was immer wir auch tun.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Würde ich noch mehr Musik machen.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Konzentriere dich auf die Aufgabe, die heute vor dir liegt.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Ein Gespräch ohne Maske. – Die ganze Tiefe der menschlichen Interaktion wieder uneingeschränkt zu erleben.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG LAUTET:

Versuche rauszufinden, was wirklich ist und nicht was du glaubst, was ist.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Gute Weichen zu stellen für die Weiterentwicklung der Behandlung von Kinderkrebs.

## WOLFGANG HOLTER – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*The complexity of life. We often think we know how a disease works, but basically we don't understand it in detail. We could understand much more and help children with cancer much better.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*The feeling of helplessness in the face of an uncontrollable disease course. Unfortunately, there are children for whom the treatment is extremely difficult, no matter what we do.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I would play more music.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Focus on the task at hand today.*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*A conversation without a mask – to enjoy the full depth of human interaction without limitation.*

### MY MOTTO IN RESEARCH:

*Try to figure out what is real and not what you think is real.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*Setting a good course for the further development of pediatric cancer treatment.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Das Hauptziel unserer Forschungsgruppe war die Etablierung neuer adoptiver Immuntherapien basierend auf mit chimären Antigenrezeptoren (CARs) modifizierten T-Zellen gegen pädiatrische Hochrisiko-Tumore. Zusätzlich forschten wir daran eine Immuntherapie basierend auf CAR-T-Zellen oder bispezifischen Antikörpern auch für die Behandlung von Infektionen mit dem Cytomegalovirus (CMV), einer wichtigen Komplikation bei Kindern und Erwachsenen nach Transplantation, zu entwickeln. Unsere Forschung bildete die Basis für die erfolgreiche Einreichung eines Förderantrags bei der Christian Doppler Forschungsgesellschaft, um gemeinsam mit der Universität für Bodenkultur und Miltenyi Biotec ein Christian Doppler (CD)-Labor für „Next Generation CAR T Cells“ zu gründen.

CAR-T-Zellen haben bei Patienten mit B-Zell-Malignomen beeindruckende klinische Erfolge gezeigt. Da es sich bei CAR-T-Zellen jedoch um sich selbst replizierende lebende Medikamente handelt, ist es schwierig, ihre Funktion im Patienten zu regulieren, was oft zu schweren Nebenwirkungen führt. So können derzeit eingesetzte CAR-T-Zellen potenziell auch gesundes Gewebe angreifen, da ihre typischen Zielantigene zum Teil auch auf einigen gesunden Zellen vorhanden sind. Dieser Mangel an Tumorspezifität und Kontrollierbarkeit ist bis heute eine große Hürde für die klinische Umsetzung des vollen Potenzials der CAR-T-Zell-Therapie.

Daher forscht das CD-Labor an Lösungen, um die Zerstörung von gesundem Gewebe zu minimieren und die Aktivität von CAR-T-Zellen in Patienten reversibel steuern zu können – mit dem Ziel, neue Therapieoptionen für Hochrisikokrebs im Kindesalter zu entwickeln.

## RESEARCH FOCUS

*The prime goal of our research group was to establish new adoptive immunotherapies based on T cells modified with chimeric antigen receptors (CARs) against pediatric high-risk tumors. Additionally, we worked on the hypothesis, that an immune therapy based on CAR T cells or bi-specific antibodies could also be adapted for the treatment of infections with cytomegalovirus (CMV), which is an important complication in pediatric transplant patients. Our research formed the basis for the successful submission of a grant to the Christian Doppler Research Association to form a Christian Doppler (CD) Laboratory for Next Generation CAR T cells together with the University of Natural Resources and Life Sciences and Miltenyi Biotec.*

*Immunotherapy with CAR T cells has shown impressive clinical success for patients with B cell malignancies. However, since CAR T cells are self-replicating living drugs it is difficult to regulate their function after administration to a patient, often resulting in severe side effects. At the same time, currently used CAR T cells could also potentially attack healthy tissue, since their typical target antigens are always present to some extent on a small fraction of healthy cells. This lack of tumor specificity and the insufficient controllability of CAR T cell function are, to date, major hurdles for the clinical implementation of the full potential of CAR T cell therapy.*

*Therefore, this CD Laboratory is searching for solutions to minimize the destruction of healthy tissue and to be able to reversibly control the activity of CAR T cells in patients – with the ultimate goal of developing new therapeutic options for high-risk childhood cancer.*



## THE CHRISTIAN DOPPLER LABORATORY FOR NEXT GENERATION CAR T CELLS

### ST. ANNA CHILDREN'S CANCER RESEARCH INSTITUTE – CAR BIOLOGY

**PROJECT COORDINATOR**  
Manfred Lehner

**POSTDOCTORAL FELLOW**  
Benjamin Salzer

**PHD STUDENT**  
Elise Sylvander

**MASTER STUDENT**  
Patrick Gano

**TECHNICIAN**  
Katja Nettermann

### MILTENYI BIOTEC

**PROJECT PARTNER INDUSTRY**  
Joerg Mittelstaet

### BOKU – UNIVERSITY OF NATURAL RESOURCES AND LIFE SCIENCES – PROTEIN ENGINEERING

**HEAD OF EXTERNAL MODULE**  
Michael Traxlmayr

**POSTDOCTORAL FELLOW**  
Charlotte Zajc

**PHD STUDENT**  
Magdalena Teufl

**MASTER STUDENTS**  
Alex Alton  
Mara Mitstorfer

**TECHNICIAN**  
Thomas Gabler (until 2020)

## KURZ NACHGEFRAGT – MANFRED LEHNER GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Ein Christian Doppler Labor, das daran forscht, mit der Energie des Sonnenlichts sogenanntes Synthesegas völlig CO<sub>2</sub>-neutral aus Wasser und CO<sub>2</sub> zu gewinnen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Zu erleben, wie viel positive Kraft freigesetzt wird, wenn man in einem menschlich und fachlich tollen, interdisziplinären Team gemeinsam an einer großen Sache arbeiten kann. Dieser Teamspirit und dieses knisternde Gefühl.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Folge deinem Herzen und deiner Intuition. Nimm das wirklich wichtig.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Wenn ich JETZT noch einmal 16 wäre, dann würde ich schon jetzt versuchen, in Auslandsaufenthalten an inspirierenden Orten gute Erfahrungen zu sammeln.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Mit Herz und Hirn für krebserkrankte Menschen etwas bewegen, nicht für Karriere und Erfolg.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Ich möchte mit unseren CAR-T-Zell-Technologien die Heilungschancen von kindlichem Hochrisikokrebs verbessern.

## MANFRED LEHNER – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*A Christian Doppler lab researching to exploit solar energy to produce so-called synthesis gas from water and CO<sub>2</sub> in a completely CO<sub>2</sub>-neutral way.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*To experience how much positive power is released when you work together on a big task in a fantastic interdisciplinary team, both personally and professionally. This team spirit and this exciting feeling.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Follow your heart and intuition. Really attach importance to this.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*If I were 16 again NOW, I would already try to gain valuable experiences in inspiring places abroad.*

### MY MOTTO IN RESEARCH:

*Make a difference for the benefit of people suffering from cancer – not for career and success – using our hearts and minds.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*I want our CAR T cell technologies to increase the chances of curing high-risk childhood cancer.*



Unser Ziel ist es, die technologische Basis für die dringend benötigte klinische Umsetzung potenterer CAR-Strategien zu schaffen. Dafür wenden wir zwei synergistische Strategien an:

### KONFORMATIONSSPEZIFISCHER EIN-SCHALTER ZUR STEUERUNG VON CAR-T-ZELLEN MIT EINEM ORAL VERFÜGBAREN MEDIKAMENT.

Für die Herstellung einer reversiblen Kontrolle der CAR-T-Zellfunktion sollen molekulare EIN (ON)-Schalter entwickelt werden. Molekulare ON-Schalter sind Module, in denen eine Protein-Protein-Interaktion mit einem kleinen Molekül ausgelöst werden kann. ON-Schalter, die auf klinisch anwendbaren Bausteinen basieren, erlauben es, die Funktion zellulärer Therapeutika wie CAR-T-Zellen durch die Verabreichung von oral verfügbaren Medikamenten zu steuern. Im Prinzip basiert unser molekulares ON-Schalter-System auf dem humanen Lipocalin Retinolbindungsprotein 4 (hRBP4), das seine Konformation leicht ändert, wenn seine hydrophobe Bindungstasche mit einem ausgewählten niedermolekularen Wirkstoff beladen wird. Diese Konformationsänderung des hRBP4 ermöglicht es, Bindungsgerüste zu generieren, welche das hRBP4 nur dann spezifisch erkennen, wenn es mit dem niedermolekularen Wirkstoff beladen ist. Dadurch entsteht eine wirkstoffinduzierte Protein-Protein-Interaktion, d. h. ein molekularer ON-Schalter. Die Entwicklung solcher ON-Schalter auf Basis klinisch anwendbarer Komponenten hat somit das Potenzial, die Kontrolle der Funktion von CAR-T-Zellen und anderer zellulärer Therapeutika im Körper der Patientin bzw. des Patienten zu ermöglichen.

*We aim to provide the technological basis for the urgently desired clinical implementation of more potent CAR strategies. For this, we apply two synergistic strategies:*

### **A CONFORMATION-SPECIFIC ON-SWITCH FOR CONTROLLING CAR T CELLS WITH AN ORALLY AVAILABLE DRUG.**

*The lack of reversible control of CAR T cell function is addressed by constructing molecular ON-switches. Molecular ON switches are modules in which a protein-protein interaction can be triggered with a small molecule. ON switches based on clinically applicable components would have the potential to be used for functional control of cellular therapeutics such as CAR T cells by administration of orally available drugs. In principle, our molecular ON switch system is based on the human lipocalin retinol binding protein 4 (hRBP4), which slightly changes its conformation when its hydrophobic pocket is loaded with a selected small molecule drug. Next, binding scaffolds are engineered to specifically recognize hRBP4 only when loaded with the small molecule drug, thereby yielding a drug-induced protein-protein interaction, i.e. a molecular ON switch. The development of such ON-switches based on clinically applicable components thus has the potential to be used for the functional control of CAR T cells and other cellular therapeutics directly in the patient.*

### **AVIDITÄTSGESTEUERTE CARS (AvidCARs) FÜR INDUZIERBARE KOMBINIERTER CAR-KONTROLLE.**

Zusätzlich zu den molekularen ON-Schaltern erforschen wir auch neuartige Strategien, die auf unserer neu entwickelten aviditätsgesteuerten CAR (AvidCAR)-Plattform mit induzierbaren und logischen Kontrollfunktionen basieren. Diese AvidCARs können a) zur Kontrolle der CAR-T-Zell-Aktivität direkt im Körper und b) zur Verbesserung der Tumorspezifität eingesetzt werden. Dabei basiert unser Ansatz auf der Kombination von a) einem verbesserten CAR-Design, das eine kontrollierte Dimerisierung ermöglicht, und b) einer signifikanten Reduktion der Antigenbindungsaffinitäten, um eine Abhängigkeit von bivalenter Interaktion einzuführen. Beides zusammen erlaubt die Ausnutzung von Aviditätseffekten, welche aus der Verstärkung einzelner niedriger Affinitäten resultiert. Wir postulieren, dass ein bispezifischer CAR mit zwei Bindestellen mit ausreichend niedriger Affinität für die Zielantigene A und B nur durch die kombinierte Interaktion mit beiden Antigenen ein Signal erzeugen kann. Für diese aviditätsbasierte sogenannte „AND-Gate-Funktion“ müssen die Antigene A und (AND) B auf derselben Zelle koexprimiert sein.

Durch die Verschmelzung der AvidCARs mit dem ON-Switch-System können wir schaltbare CAR-T-Zellen generieren, die gleichzeitig vom Vorhandensein zweier verschiedener Antigene auf einer Zielzelle abhängen und somit tumorspezifischer sind.

### **AVIDITY-CONTROLLED CARS (AvidCARs) FOR INDUCIBLE AND COMBINATORIAL CAR CONTROL.**

*In addition to molecular ON-switches, we are also exploring novel strategies based on our newly developed avidity-controlled CAR (AvidCAR) platform with inducible and logic control functions. These AvidCARs can be used (i) to control CAR T cell activity in the patient and (ii) to improve tumor specificity of CAR T cells. Here, our approach is based on the combination of (i) an improved CAR design which enables controlled dimerization and (ii) a significant reduction of antigen binding affinities to introduce dependence on bivalent interaction, i.e. the exploitation of the avidity effect resulting from amplification of individual low affinities. For our concept of AvidCARs we postulated that a bispecific CAR with two binders with sufficiently low affinity for target antigens A and B, respectively, generates a signal only by the combined interaction with A AND B. A crucial feature of this AND gate function is the fact that antigens A and B must be co-expressed on the same cell.*

*By merging our concept of AvidCARs with our ON switch system we can generate switchable CAR T cells that, at the same time, depend on the presence of two different antigens on a target cell, thus improving tumor specificity.*

## EVA KÖNIG GROUP

Tumor Immunoediting

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Eva M König

### POSTDOCTORAL FELLOWS

Boris Kovacic (until 2020)

### PHD STUDENTS

Michelle Buri

### TECHNICIANS

Hayeon Baik

*„Probieren geht über Studieren.  
Bleib neugierig und versuche die  
Dinge grundlegend zu verstehen.“*

**“The proof of the pudding  
is in the eating. Stay  
inquisitive and do your  
best to understand the  
processes.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – EVA KÖNIG GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Immunzellen scheinen Gerüche wahrzunehmen und können dadurch in ihrer Aktivität beeinflusst werden – kann ein Geruchsverlust sich auch auf unser Immunsystem auswirken bzw. könnte man durch Riechtherapie unser Immunsystem stärken?

**DIESES EREIGNIS HAT MEIN  
FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:**  
Vor einigen Jahren habe ich unbeabsichtigt einen „falschen“ Analyten in meinem Versuch verwendet, wodurch ich den wohl interessantesten Befund meiner bisherigen Forschung gemacht habe.

**WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:**  
Würde ich unbeschwerter das Hier und Jetzt genießen.

**DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:**  
Fang nie an aufzuhören, hör nie auf anzufangen.  
(Marcus Tullius Cicero)

**MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:**  
„Probieren geht über Studieren“, bleib neugierig und versuche die Dinge grundlegend zu verstehen.

**DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:**  
Ich möchte eine neue und effiziente Methode entwickeln, gewisse Immunzellen, sogenannte Natürliche Killerzellen, in der Tumorthherapie einzusetzen.

## EVA KÖNIG – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

**THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:**  
*Immune cells have surface receptors that resemble olfactory receptors, thus raising the question whether loss of olfaction can affect our immune system or alternatively, can we use smell training to improve our immune system?*

**THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE  
AS A RESEARCHER:**  
*A couple of years ago, by accident I used a “wrong” analyte in my assay, which led to the most interesting result in my entire research career so far.*

**IF I COULD BE 16 AGAIN:**  
*I would jauntily enjoy the “here and now”.*

**THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:**  
*Never start stopping, never stop starting.  
(Marcus Tullius Cicero)*

**MY MOTTO IN RESEARCH:**  
*“The proof of the pudding is in the eating.”  
Stay inquisitive and do your best to understand the processes.*

**THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE  
TO ACHIEVE/INVENT:**  
*I would like to develop a novel method to use immune cells, so-called natural killer cells, as efficient anti-cancer treatment.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Tumor-Immunoediting ermöglicht ein tieferes Verständnis der dualen Wirkung von Immunzellen bei Krebs. Während die meisten Tumorzellen durch ein intaktes Immunsystem effizient zerstört werden, kann der ständige Immundruck eine Umformung („Sculpting“) einzelner Tumorzellen hervorrufen, was ihnen ermöglicht, vor Immunzellen zu flüchten („Immune Escape“). In den letzten Jahren haben viele neue Krebstherapien die Klinik erreicht und vielversprechende Ergebnisse gezeigt. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) sind zytotoxische Zellen des angeborenen Immunsystems und die erste Verteidigungslinie gegen Leukämie. Der Mangel an nachhaltiger therapeutischer Wirksamkeit und die Entwicklung von Therapieresistenzen sind jedoch nach wie vor Herausforderungen, die überwunden werden müssen. Unser Ziel ist es, (i) den Prozess der NK-Zell-vermittelten Leukämie-Immunabwehr zu quantifizieren, (ii) die molekulare Signatur von NK-Zell-resistenten Tumorklonen zu identifizieren und schließlich (iii) neue therapeutische Ziele zu finden, um die Immunogenität von Tumorzellen zu erhöhen und/oder die NK-Zell-Funktionalität zu verbessern. Die Verfolgung („Tracking“) von Einzelzellen durch eine Kombination von DNA-Barcoding und Next Generation Sequencing wird neuartige Mechanismen aufdecken, die dem „Immune Escape“ von Tumoren zugrunde liegen. Das ist unserer Meinung nach von größter Bedeutung, um neuartige therapeutische Angriffspunkte zu finden, die nachhaltigen Erfolg zeigen.

## RESEARCH FOCUS

*Tumor immunoediting allows a deeper understanding of the dual action of immune cells in cancer. Whereas most tumor cells are efficiently destroyed by an intact immune system, the constant immune pressure may evoke tumor cell sculpting, which leads to immune escape. In recent years, novel anti-cancer therapies have reached clinics and shown promising results. Natural killer (NK) cells are highly cytotoxic innate immune cells and the first-line of defense against leukemia. However, the lack of sustained therapeutic efficacy and the development of therapy resistance are still challenges we seek to overcome. We aim to (i) quantify the process of NK cell-mediated leukemia immunoediting, (ii) identify the molecular signature of NK cell-resistant tumor cell clones and ultimately (iii) find novel therapeutic targets to increase the immunogenicity of tumor cells and/or to improve NK cell functionality. The combination of single-cell tracking by DNA barcoding and next-generation sequencing will uncover novel mechanisms underlying tumor immune escape, which we believe to be of the utmost importance for finding novel therapeutic targets that show sustained success.*

**PUBLIKATIONEN**

***PUBLICATIONS***

## DETAILLIERTE IMMUNOLOGISCHE UND KLINISCHE BESCHREIBUNG DES PHÄNOTYPS UND DES OUTCOMES NACH TRANSPLANTATION BEI CD27- UND CD70-MANGEL

Das Immunsystem spielt eine zentrale Rolle in der Homöostase eines Organismus und ermöglicht es dem Körper, Infektionen zu bekämpfen und sich von diesen zu erholen. Der Zusammenhang zwischen dem Immunsystem und der Krebsentstehung ist seit vielen Jahrzehnten bekannt. Im Prinzip erkennt unser Immunsystem „Nicht-Selbst“-Antigene von infektiösen Erregern und bösartigen Zellen, diese werden von unseren Immunzellen bekämpft und zerstört, ohne jedoch den eigenen Körper anzugreifen. In diesem Zusammenhang entwickelt unser Immunsystem nach einer erstmaligen Erreger-Exposition oder Impfung über die adaptive Immunantwort ein „Gedächtnis“, sodass die Auswirkungen einer nachfolgenden Infektion abgeschwächt werden. Genetische Veränderungen (Aberrationen), die die humorale und zelluläre Immunität beeinträchtigen, stören diese Immunüberwachung und können zu einer Veranlagung (Prädisposition) für die Entwicklung von bösartigen Lymphomen führen. Untersuchungen von Patienten mit solchen angeborenen Fehlern der Immunität, die die Entstehung von Lymphomen begünstigen, haben die Identifizierung von sogenannten Checkpoints der Immunregulation ermöglicht, einschließlich Immunität gegen Krebs.

## EXTENDED CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE AND TRANSPLANT OUTCOME IN CD27 AND CD70 DEFICIENCY

*The immune system plays a central role in the homeostasis of an organism, enabling the body to fight and recover from infection. The link between the immune system and cancer development has been established for many decades. In principle, our immune system detects “non-self” antigens from infectious agents and malignant cells; and it fights to specifically target and destroy these cells while preserving our body. Our immune system also develops “memory” of initial pathogen exposure, or vaccination, via the adaptive immune response so that the impact of subsequent infection on the host is mitigated. Genetic aberrations impairing humoral and cellular immunity disrupt immune surveillance and thus may predispose individuals to lymphoma development. Investigations of patients with inborn errors of immunity that result in lymphoma have led to discoveries of checkpoints of immune regulation including anti-cancer immunity.*

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) infiziert bis zu 90 % der menschlichen Bevölkerung. Die EBV-Exposition erfolgt in der Regel in der frühen Kindheit und ist oft asymptomatisch. Im Gegensatz dazu ist eine EBV-Infektion bei immungeschwächten Personen mit erheblicher Morbidität und Mortalität verbunden. Wenn also das Gleichgewicht zwischen Wirt und Virus gestört ist, kann eine Vielzahl von EBV-assoziierten immunpathologischen Zuständen auftreten, einschließlich Lymphoproliferation (= Lymphozyten-Überproduktion) und malignem Lymphom. Rezente Befunde deuten darauf hin, dass Aberrationen in Genen wie CD27 und CD70, die für die EBV-Immunität verantwortlich sind, sehr anfällig für schwere und oft tödliche EBV-induzierte Erkrankungen machen können. Obwohl der erste Bericht über CD27-Mangel im Jahr 2012 veröffentlicht wurde, erschwerte die geringe Anzahl der Betroffenen die eingehende klinische und immunologische Charakterisierung dieser Erkrankung. Entsprechend fehlten Informationen zu klinischen Implikationen und Behandlungsempfehlungen.

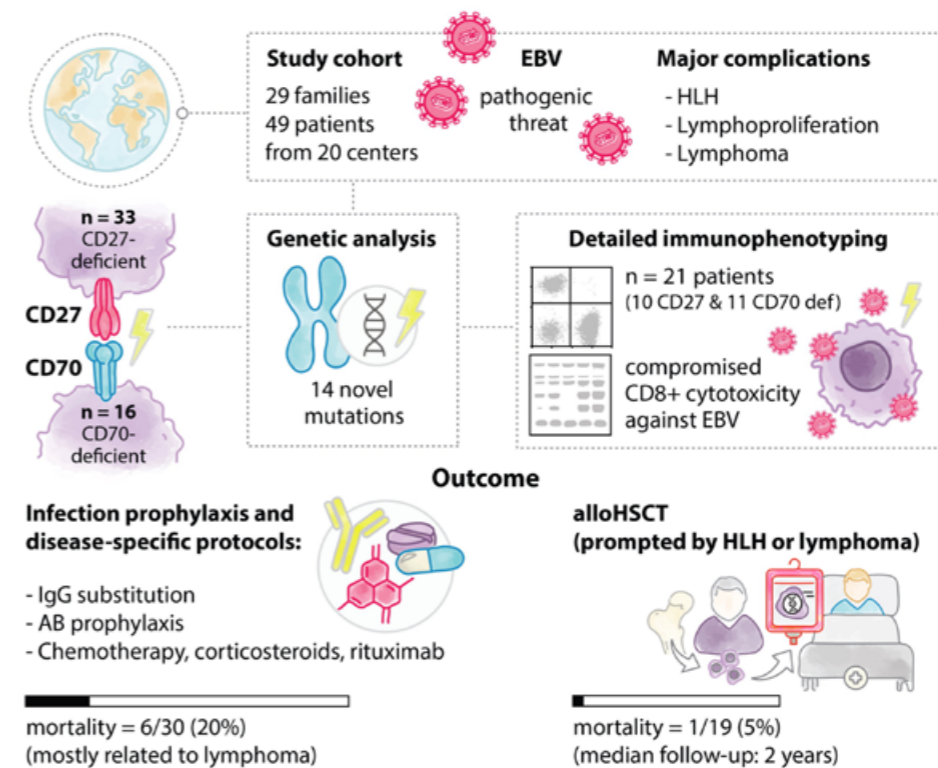
Diese Studie wurde im Auftrag der „Inborn Errors Working Party“ der „European Society for Immunodeficiencies (ESID)“ und der „European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)“ durchgeführt und stellt die weltweit größte multizentrische Kohorte von Patienten mit Mutationen in CD27 oder CD70 dar. Durch die internationale Zusammenarbeit von 20 Zentren wurden 49 Patienten mit CD27-/CD70-Mangel rekrutiert und auf Krankheitsmanifestationen, molekulare Krankheitsursachen, immunologische Abweichungen und Therapieergebnisse untersucht.

*Epstein-Barr virus (EBV) infects up to 90% of the human population. EBV exposure occurs usually during early childhood and is often asymptomatic. In contrast, EBV infection is associated with significant morbidity and mortality in immunocompromised individuals. Thus, when the host-virus balance is disrupted, a wide range of EBV-associated immunopathologic conditions may arise, including lymphoproliferation (extensive production of lymphocytes) and malignant lymphoma. Recent discoveries indicate that aberrations in genes responsible for EBV immunity such as CD27 and CD70 can make patients highly vulnerable to severe and often fatal EBV-induced disease. Although the first report of CD27 deficiency was published in 2012, the paucity of total numbers of these patients has limited in-depth clinical and immunological characterization, as well as determining implications and treatment recommendations, of these conditions.*

*Performed on behalf of the Inborn Errors Working Party of the European Society for Immunodeficiencies (ESID) and the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), this study reports the world's largest multicentric cohort of patients with mutations in CD27 or CD70. Through a worldwide collaboration comprising 20 centers, 49 patients with CD27/CD70 deficiencies have been recruited and investigated for disease manifestations, molecular disease etiologies, immunological abnormalities, and therapy results.*

Im Rahmen unserer Studie konnten wir bei Kindern mit schweren Krankheitsmanifestationen wie z. B. Lymphomen über ausgezeichnete Ergebnisse nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation berichten. Dieses Ergebnis bietet eine starke Rationale für den rechtzeitigen Einsatz dieser kurativen Behandlungsmodalität bei Patienten mit CD27/CD70-Mangel. Zusätzlich schärft diese Studie das Bewusstsein dafür, dass vererbte Immunstörungen für die Krebsentstehung (mit-)verantwortlich sein können. Die genetische und immunologische Diagnostik ist daher von größter Bedeutung für die Optimierung des klinischen Managements von Patientinnen und Patienten mit unklarem Krankheitsursprung.

*In our study, we find an excellent outcome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe disease manifestations, predominantly lymphoma, has been reported, thus providing a strong rationale for timely use of this curative treatment modality in patients with CD27/CD70 deficiencies. This study also raises awareness of the fact that inherited immune disorders may be (partly) responsible for cancer formation. It is therefore of paramount importance to perform genetic and immunological diagnostics and thereby optimize clinical management, in particular in patients with unclear disease origin.*



#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Ghosh S\*, Köstel Bal S\*, Edwards ESJ\*, Pillay B, Jiménez Heredia R, Erol Cipe F, Rao G, Salzer E, Zoghi S, Abolhassani H, Momen T, Gostick E, Price DA, Zhang Y, Oler AJ, Gonzaga-Jauregui C, Erman B, Metin A, Ilhan I, Haskologlu S, Islamoglu C, Baskin K, Ceylaner S, Yilmaz E, Unal E, Karakukcu M, Berghuis D, Cole T, Gupta AK, Hauck F, Kogler H, Hoepelman AIM, Baris S, Karakoc-Aydiner E, Ozen A, Kager L, Holzinger D, Paulussen M, Krüger R, Meisel R, Oommen PT, Morris E, Neven B, Worth A, van Montfrans J, Fraaij PLA, Choo S, Dogu F, Davies EG, Burns S, Dückers G, Perez Becker R, von Bernuth H, Latour S, Faraci M, Gattorno M, Su HL, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Lenardo MJ, Ma CS, Niehues T, Aghamohammadi A, Rezaei N\*\*, Ikinciogullari A\*\*, Tangye SG\*\*, Lankester AC\*\*, Boztug K\*\*. Extended clinical and immunological phenotype and transplant outcome in CD27 and CD70 deficiency. *Blood*. 2020 Dec 3;136(23):2638-2655. doi: 10.1182/blood.202006738.xxx

\* S.G., S.K.B and E.J.E contributed equally. \*\* N.R., A.I., S.G.T., A.C.L. and K.B. contributed equally. Corresponding authors: K.B., A.C.L. and S.G.T.

#### ABBILDUNG / FIGURE

CD27-/CD70 Defizienz, die Studie auf einen Blick

*CD27/CD70 deficiency, the study at a glance*

Image credits: Tatjana Hirschmugl, copyright: ASH publications

## ENTDECKUNG VON NEUEM FAKTOR FÜR DIE ENTSTEHUNG VON KINDLICHEM LYMPHDRÜSENKREBS

Das Immunsystem ist hochgradig komplex und bis heute nicht im Detail entschlüsselt. Nur das reibungslose Zusammenspiel einer Vielzahl von Faktoren garantiert eine zuverlässige und richtige Immunantwort in einem gesunden Körper. Ko-Rezeptoren spielen eine grundlegende Rolle bei der Regulierung und Feinabstimmung der Signalstärke von sogenannten Antigenrezeptoren, mit deren Hilfe Immunzellen Fremdkörper erkennen. Eine fehlerhafte Funktion dieser Immunrezeptoren kann zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionen, Autoimmunkrankheiten und Krebs führen.

In dieser Studie wurden in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern aus Israel, Deutschland, der Türkei, Kolumbien, Argentinien und den USA vier Patientinnen und Patienten aus unabhängigen Familien mit Malignität, Autoimmunität und Immunschwäche untersucht, die auf Mutationen im Co-Rezeptor CD137 zurückzuführen sind.

## NEW FACTOR IN THE PREDISPOSITION OF CHILDHOOD LYMPHOMA

*The immune system is highly complex and a detailed understanding of many underlying mechanisms is still lacking. Only the precise interaction of a variety of factors guarantees a reliable and correct immune response in a healthy body. Antigen receptors play a fundamental role in recognizing foreign bodies with the help of so-called co-receptors responsible for signaling strength fine-tuning. Dysregulated immune responses caused by impaired functions of these immune receptors can lead to an increased susceptibility to infections, autoimmune disorders and cancer.*

*This study investigated – in a collaborative effort with scientists from Israel, Germany, Turkey, Colombia, Argentina and the USA – four patients from independent families with malignant cancers, autoimmunity and immunodeficiency resulting from mutations in the CD137 co-receptor.*

CD137 oder 4-1BB ist ein ko-stimulatorisches Molekül, das häufig auf aktivierten T-Zellen exprimiert wird, um eine gute T-Zell-Funktion zu gewährleisten. Jüngere Studien untersuchen CD137 auch als attraktives Ziel für die Krebstherapie. Mittels Next Generation Sequencing (NGS) identifizierten wir bei allen vier Kindern neue Keimbahnmutationen im Gen, das für CD137 kodiert. Die homozygoten Mutationen führten zu einer Dysfunktion des entsprechenden Co-Rezeptorproteins CD137. Die Untersuchung ergab eine starke Prädisposition für die Entwicklung eines malignen Lymphoms im frühen Kindesalter.

Es zeigte sich, dass Defekte des Co-Rezeptors CD137 entscheidende Faktoren für die Immunüberwachung beeinträchtigen, insbesondere für die Prävention und Eliminierung viraler Infektionen. Das Epstein-Barr-Virus (EBV) ist ein Herpesvirus, das bis zu 90 % aller Menschen infiziert. Bei gesunden Menschen sind EBV-Infektionen asymptomatisch. Bei Personen mit eingeschränkter Immunfunktion kann eine EBV-Infektion jedoch zu Lymphoproliferation (= Lymphozyten-Überproduktion) oder Lymphomen führen. Mit dieser Studie konnten wir nachweisen, dass das Fehlen von funktionellem CD137 die Anfälligkeit erhöht, Lymphome zu entwickeln, die durch eine EBV-Infektion ausgelöst werden.

*CD137 or 4-1BB is a co-stimulatory molecule, which is frequently expressed on activated T cells to ensure proper T cell function. Recent studies have also investigated CD137 as an attractive target for cancer immunotherapy. Using next-generation sequencing (NGS), we identified novel germline mutations in the gene encoding CD137 in all four patients. The homozygous mutations resulted in the dysfunction of the respective co-receptor protein CD137. The research revealed a strong predisposition to the development of malignant lymphoma in early childhood.*

*Defects of the CD137 co-receptor in the patients were shown to impair crucial factors for immune surveillance, especially for the prevention and elimination of viral infections. Epstein-Barr virus (EBV) is a herpes virus that infects up to 90% of individuals. In healthy people, EBV infections are asymptomatic. However, in individuals with impaired immune function, EBV infection may result in lymphoproliferation (extensive production of lymphocytes), or malignant lymphomas. We showed that the lack of functional CD137 predisposes patients to develop lymphomas driven by EBV infection.*

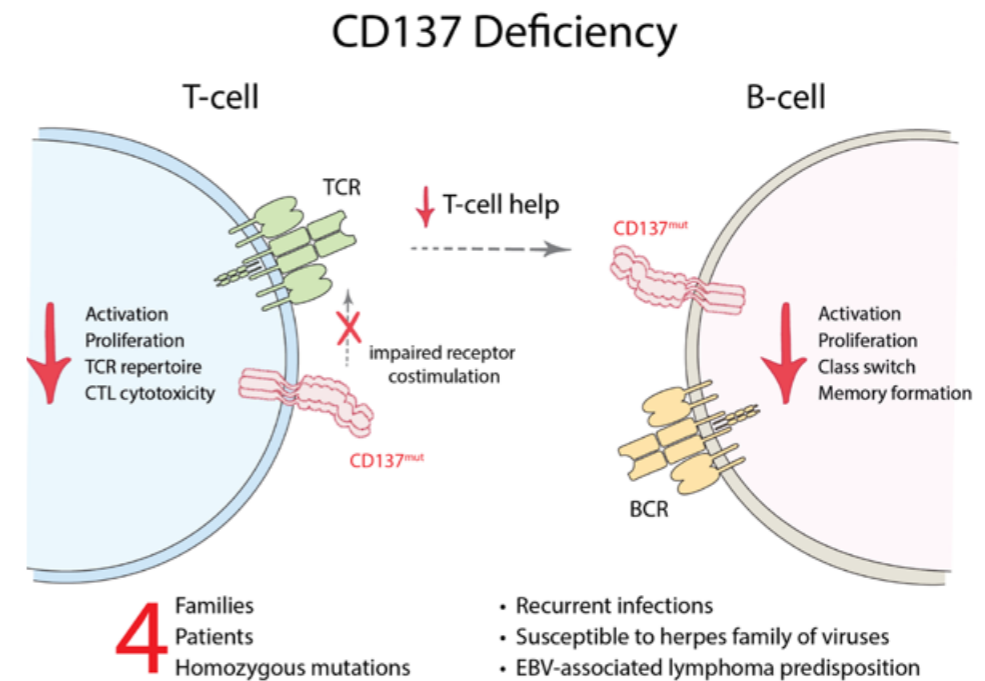
Unsere Ergebnisse verdeutlichen die Rolle von CD137 bei der Kontrolle viraler Infektionen und der Verhinderung der Entwicklung von EBV-assoziierten Lymphomen. Krankheiten, die durch einen Defekt in nur einem Gen wie z. B. jenem für CD137 hervorgerufen werden, bieten einzigartige Möglichkeiten, die Folgen solcher Fehler für den Gesamt-Organismus zu erforschen. So werden mechanistische Einsichten in die, für eine robuste Immunüberwachung des Wirtes gegen EBV notwendigen, Signalwege ermöglicht. In Zukunft wollen wir unsere Erkenntnisse nutzen, um die Frühdiagnose von Kindern mit CD137-Co-Rezeptor-Defekten zu verbessern und gezielt Therapeutika zu entwickeln oder einzusetzen, die den gefährlichen Krankheitsprozess stoppen können.

*These findings clarify the role of CD137 in controlling viral infections and preventing the development of EBV-associated lymphoma. Diseases caused by a defect in a single gene, in this case encoding for CD137, provide unique opportunities to investigate the consequences of such errors for the whole organism. Thus, we gain mechanistic insights into the signal pathways necessary for a robust immune surveillance of the host against EBV. In the future, we aim to use our findings to improve early diagnosis of patients with CD137 co-receptor defects and to develop targeted therapeutics that can stop the progression of the disease.*

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Somekh I\*, Thian M\*, Medgyesi D, Gülez N, Magg T, Gallón Duque A, Stauber T, Lev A, Genel F, Unal E, Simon AJ, Lee YN, Kalinichenko A, Dmytrus J, Kraakman MJ, Schiby G, Rohlf s M, Jacobson JM, Özer E, Akcal Ö, Conca R, Patoroglu T, Karakukcu M, Ozcan A, Shahin T, Appella E, Tatematsu M, Martinez-Jaramillo C, Chinn IK, Orange JS, Trujillo-Vargas CM, Franco JL, Hauck F, Somech R#, Klein C#, Boztug K#. CD137 deficiency causes immune dysregulation with predisposition to lymphomagenesis. *Blood*. 2019 Oct 31;134(18):1510-1516. doi: 10.1182/blood.2019000644.

\* shared first author; # shared corresponding and last author



#### ABBILDUNG / FIGURE

Der Funktionsverlust von CD137 führt zu einer gestörten adaptiven Immunität und erhöht die Anfälligkeit für die Entwicklung von EBV-induzierten Lymphomen.

*The loss of function in CD137 results in defective adaptive immunity and predisposes the development of EBV-driven lymphoma.*

Modifiziert nach/Modified from: Somekh I, Thian M et al., *Blood*. 2020



## VON DER ERFORSCHUNG EINER AUTOIMMUNER-KRANKUNG ZUR POTENZIELLEN KREBSTHERAPIE

Dass die Erforschung selbst seltenster Erkrankungen neue Erkenntnisse und einen tieferen Einblick in grundlegende Prozesse und Mechanismen der menschlichen Physiologie, und im Speziellen des Immunsystems, liefern kann, konnte die Forschungsgruppe von Kaan Boztug bereits mehrfach unter Beweis stellen. In manchen Fällen ermöglichen diese Erkenntnisse erst die Anwendung neuer Therapien, wo konventionelle Ansätze versagen.

Üblicherweise lernen Immunzellen – u. a. die sogenannten T-Zellen – im Laufe ihrer Entwicklung zwischen körpereigenen und körperfremd (z. B. Krankheitserregern oder entarteten Krebszellen) zu unterscheiden –, sie lernen Immuntoleranz. Wenn diese kritische Eigenschaft des Immunsystems gestört ist und T-Zellen ihren eigenen Körper attackieren, leidet die betroffene Person unter einer Autoimmunerkrankung. Je früher im Leben eine (schwere) Autoimmunität auftritt – insbesondere bereits im frühen Kindesalter, umso größer die Wahrscheinlichkeit, dass es sich um eine angeborene Störung des Immunsystems (IEI, Inborn Error of Immunity) handelt.

In Zusammenarbeit mit ForscherInnen aus den USA, Schweden und Großbritannien untersuchte unser Team eine kleine Patientin, die von Geburt an unter einer besonders schweren Autoimmunerkrankung litt, die verschiedene Organe betraf. Mithilfe von Next Generation Sequencing konnte die genetische Ursache der schweren angeborenen Erkrankung identifiziert werden – eine sogenannte Missense-Mutation im Gen, das für das Protein DEF6 kodiert. Diese Mutation führt zu einer

## FROM RESEARCH INTO AN AUTOIMMUNE DISEASE TO POTENTIAL CANCER THERAPY

*Kaan Boztug's research group has repeatedly demonstrated that research into even the rarest of diseases can provide new and in-depth insights into fundamental processes and mechanisms of human physiology, in particular the immune system. In some cases, these insights enable the application of new therapies where conventional approaches fail.*

*In the course of their development immune cells, including so-called T cells, normally learn to distinguish between the body's own and foreign cells, e.g., pathogens or degenerated cancer cells – they train immune tolerance. If this critical property of the immune system is disturbed and T cells attack their own body, the affected person suffers from an autoimmune disease. The earlier in life severe autoimmunity occurs, the greater the likelihood that it is caused by an inborn error of immunity (IEI), especially in early childhood.*

*In collaboration with researchers from the USA, Sweden, and the UK, our team studied a young female patient who suffered from birth from a particularly severe autoimmune disease affecting various organs. Next-generation sequencing identified the genetic cause of this severe congenital disease – a so-called missense mutation in the gene encoding the protein DEF6. This mutation leads to a change in the protein structure and to its premature degradation in the cell.*

Veränderung der Proteinstruktur und zu dessen vorzeitigem Abbau in der Zelle. Eine Aufgabe des Proteins DEF6 ist die Steuerung eines anderen Schlüsselfaktors – CTLA-4 – für die Erhaltung des Gleichgewichts im Immunsystem – ein bis zu diesem Zeitpunkt noch völlig unbekannter Zusammenhang, obwohl CTLA-4 in jüngerer Vergangenheit bereits einen wichtigen Angriffspunkt für Krebs-Immuntherapien darstellte, ausgezeichnet 2018 mit dem Nobelpreis für Physiologie oder Medizin.

### VOM GENDEFEKT ÜBER DEN MOLEKULAREN MECHANISMUS ZUR ZIELGERICHTETEN THERAPIE

Die Symptome der Patientin hatten Ähnlichkeit mit den Symptomen eines bereits bekannten Gendefekts – CTLA-4-Defizienz. Das Team vermutete daher, dass auf molekularer Ebene eine Verbindung zwischen DEF6 und CTLA-4 besteht und untersuchte die Funktionsweise von DEF6 dahingehend.

CTLA-4 spielt eine zentrale Rolle für die Entwicklung einer physiologischen Immuntoleranz und in der Regulierung adäquater Immunantworten gegen Pathogene. CTLA-4 fungiert als eine Art „Schalter“, der Immunsignale von T-Zellen nach erfolgter Immunantwort wieder abschaltet.

Ist CTLA-4 nicht oder nicht ausreichend vorhanden, bleiben die Signale durchgehend angeschaltet, es kommt zu Autoimmunreaktionen. Bei der untersuchten Patientin konnte CTLA-4 nicht korrekt vom Zellinneren zur Oberfläche transportiert und dadurch die aktivierenden Signale

*One task of DEF6 is to control another key factor – CTLA-4 – for maintaining the balance in the immune system. This connection was completely unknown up to this point, although CTLA-4 has already been explored as an important target for cancer immunotherapies in the recent past, resulting in the Nobel Prize in Physiology or Medicine awarded in 2018.*

### FROM GENETIC DEFECT TO MOLECULAR MECHANISM TO TARGETED THERAPY

*The patient showed symptoms similar to those of an already known gene defect – CTLA-4 deficiency. Our team therefore suspected a link between DEF6 and CTLA-4 at the molecular level, and investigated the mechanism of action of DEF6 deficiency accordingly.*

*CTLA-4 plays a central role in the development of physiological immune tolerance, and in the regulation of adequate immune responses against pathogens. CTLA-4 acts as a kind of “switch” that deactivates immune signals from T cells after the occurrence of an immune response.*

*If CTLA-4 is absent, the signals remain permanently activated, resulting in autoimmune responses. In our patient, CTLA-4 could not be transported from the inside to the cell surface, and thus the activating signals of other cells could not be switched off. We found that DEF6 plays an important role in this intracellular transport mechanism. In addition to the newly identified function of DEF6, this also provided further insights into the regulation of CTLA-4.*

anderer Zellen nicht abgeschaltet werden. Das Team fand heraus, dass DEF6 eine wichtige Rolle in diesem intrazellulären Transportmechanismus spielt. Neben der neu identifizierten Funktion von DEF6 konnten so auch weitere Erkenntnisse über die Regulierung von CTLA-4 gewonnen werden.

Als therapeutischer Ansatz bot sich die Verabreichung von CTLA-4 an, um das auf den Zelloberflächen fehlende Protein auszugleichen – ein erfolgreicher Ansatz, der die schweren Symptome der untersuchten Patientin nachhaltig lindern konnte.

#### GESTEIGERTE IMMUNABWEHR ALS STRATEGIE ZUR KREBSBEKÄMPFUNG

CTLA-4 stellt einen vielversprechenden Angriffspunkt für neuartige Krebstherapien dar – in manchen Fällen kann eine Blockade von CTLA-4 und die daraus resultierende gesteigerte Immunabwehr gewünscht sein, um die Bekämpfung von Krebszellen durch das körpereigene Immunsystem zu steigern. Die neu gewonnenen Erkenntnisse über die Regulierung von CTLA-4 durch DEF6 liefern einen weiteren Puzzlestein zur Entwicklung wirksamer und sicherer Krebstherapien.

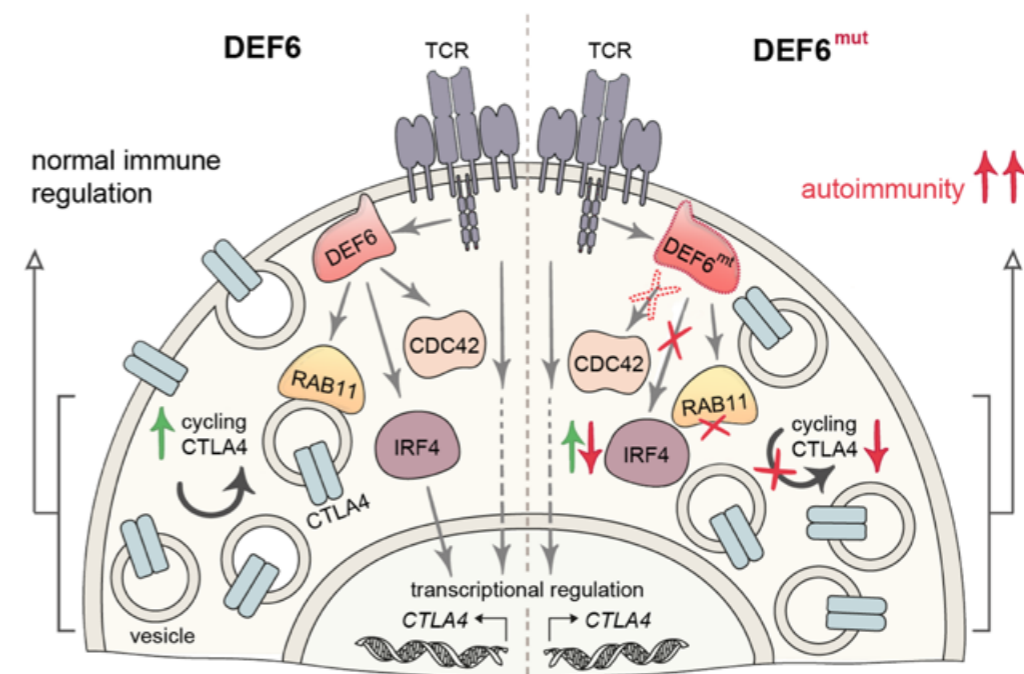
*This clearly suggested the administration of CTLA-4 as a therapeutic approach to compensate for the protein missing on the cell surfaces – and with success, as the patient's severe symptoms could be alleviated in the long term.*

#### ENHANCED IMMUNE DEFENSE AS A STRATEGY TO FIGHT CANCER

*CTLA-4 represents a promising target for novel cancer therapies. In some cases, blockade of CTLA-4 and the resulting enhanced immune response may be desired to increase the body's immune system's fight against cancer cells. The newly gained insights into the regulation of CTLA-4 by DEF6 provide another piece of the puzzle for the development of effective and safe cancer therapies.*

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Serwas NK, Hoeger B, Ardy RC, Stulz SV, Sui Z, Memaran N, Meeths M, Krolo A, Yüce Petronczki Ö, Pfajfer L, Hou TZ, Halliday N, Santos-Valente E, Kalinichenko A, Kennedy A, Mace EM, Mukherjee M, Tesi B, Schrempf A, Pickl WF, Loizou JI, Kain R, Bidmon-Fliegenschnee B, Schickel JN, Glauzy S, Huemer J, Garncarz W, Salzer E, Pierides I, Bilic I, Thiel J, Priftakis P, Banerjee PP, Förster-Waldl E, Medgyesi D, Huber WD, Orange JS, Meffre E, Sansom DM, Bryceson YT, Altman A, Boztug K. Human DEF6 deficiency underlies an immunodeficiency syndrome with systemic autoimmunity and aberrant CTLA-4 homeostasis. *Nat Commun.* 2019 Jul 15;10(1):3106. doi: 10.1038/s41467-019-10812-x.



#### ABBILDUNG / FIGURE

Wirkmechanismus des DEF6-Mangels

*Mechanism of action of DEF6 deficiency*

Copyright: Tatjana Hirschmugl

## DIE RICHTIGE WAHRNEHMUNG IST ENTSCHEIDEND: HEM1, EIN NEUER WÄCHTER ÜBER DIE IMMUNTOLERANZ

### AUTOIMMUNITÄT UND KREBS: ZWEI SEITEN EINER MEDAILLE

Zwischen Fehlregulationen des Immunsystems, mangelhafter Immunüberwachung und der Veranlagung zu Krebs besteht ein enger Zusammenhang. Eine bisher unbekannte Genmutation, die den WAVE-Regulationskomplex betrifft, enthüllte HEM1 als Schlüsselsensor für diesen Prozess.

### WIE IMMUNZELLEN ENTSCHEIDEN, WANN ES ZEIT ZU HANDELN IST

Das menschliche Immunsystem muss schnell und zuverlässig zwischen Selbst und Nicht-Selbst unterscheiden. In diesem Prozess ist die sensible Abstimmung der Immunzell-Antwort von großer Bedeutung. Ein fehlerhaftes „Priming“ (Scharfmachen) während der Entwicklung kann auch in Abwesenheit eines Erregers zu Hyper-Reaktivität führen, wie dies bei Autoimmunerkrankungen zu beobachten ist. Krebszellen hingegen manipulieren diesen Prozess in die gegenteilige Richtung und setzen Toleranzsignale ein, um ihr eigenes Überleben zu sichern. Deshalb ist es entscheidend, dass das Immunsystem seine Umgebung richtig wahrnimmt und entscheidet, wann es Zeit ist, zu handeln. Dabei nutzen Immunzellen eine Vielzahl von flexiblen Ausstülpungen, auch kortikales Aktinnetzwerk genannt, um ständig ihre Umgebung scannen zu können.

## PERCEPTIONS MATTER: HEM1 – A NOVEL GATEKEEPER OF IMMUNE TOLERANCE

### AUTOIMMUNITY AND CANCER – TWO SIDES OF THE SAME COIN

*There is a tight interplay between immune dysregulation, lack of immunosurveillance and predisposition to cancer. A hitherto unknown gene mutation affecting the WAVE regulatory complex revealed HEM1 as a key sensor for this process.*

### HOW IMMUNE CELLS DECIDE WHEN IT IS TIME TO ACT

*The human immune system has to distinguish self from non-self quickly and reliably. Sensitive tuning of immune cell responses is highly important and aberrant priming during development may cause hyper-reactivity, also in the absence of the pathogen, as seen in auto-immune diseases. Cancer cells, on the other hand, hijack this process and use tolerance signals to ensure their own survival. Therefore, it is crucial that the immune system correctly perceives the environment and decides when it is time to act. For this purpose, immune cells use manifold flexible protrusions, also termed the cortical actin network, and constantly scan the surroundings.*

In allen Zellen steuern nur zwei Proteinkomplexe die Bildung dieser Ausstülpungen: Der ARP2/3-Komplex erzeugt verzweigte Filamente und die Formine erzeugen lineare Filamente. Während verzweigte Filamente für Flexibilität sorgen und lamellenartige Strukturen erzeugen, bilden lineare Filamente starre Filopodien. Ein Ungleichgewicht zwischen diesen Filamenten kann die extrazelluläre Wahrnehmung beeinträchtigen.

### VERLUST DES HEM1-PROTEINS BEI ZWEI PATIENTINNEN MIT SCHWERER AUTOIMMUNITÄT UND INFEKTIONEN

Ausgangspunkt der Studie war die Identifikation eines zuvor unbekanntes, seltenen Immundefekt-Syndroms, verursacht durch funktionsschädliche Mutationen im Gen, das für das Protein HEM1 kodiert. Das Protein HEM1 wird in allen Blutzellen, einschließlich Immunzellen, exprimiert und ist essenziell für den WAVE-Regulationskomplex (WRC), einem Hauptregulator der ARP2/3-vermittelten Aktinverzweigung. Ohne HEM1 weisen Immunzellen eine „stachelige“ Anomalie ihrer Form auf (Abbildung).

*Only two protein complexes control the generation of protrusions in all cells: the ARP2/3 complex generates branched filaments and formins generate linear filaments. Whereas branched filaments ensure flexibility and generate lamella-like structures, linear filaments form more rigid filopodia. Any imbalance between these filaments would potentially bias extracellular perception.*

### LOSS OF THE PROTEIN HEM1 IN TWO PATIENTS WITH SEVERE AUTOIMMUNITY AND INFECTIONS

*The starting point of the study was the identification of a previously unknown, rare immunodeficiency syndrome, caused by deleterious mutations in the gene encoding HEM1. The HEM1 protein is expressed in all blood cells, including immune cells and it is essential for the WAVE regulatory complex (WRC), a master regulator of ARP2/3-mediated actin branching. Here we had the unique opportunity to study what are the cellular and immunological consequences of a functional WRC in humans. Without HEM1, immune cells had a pronounced, “spikey” shape abnormality (figure). In an international collaborative effort together with the Tehran University of Medical Sciences and other research institutes, we identified that lack of HEM1 disables immune cell sensing.*

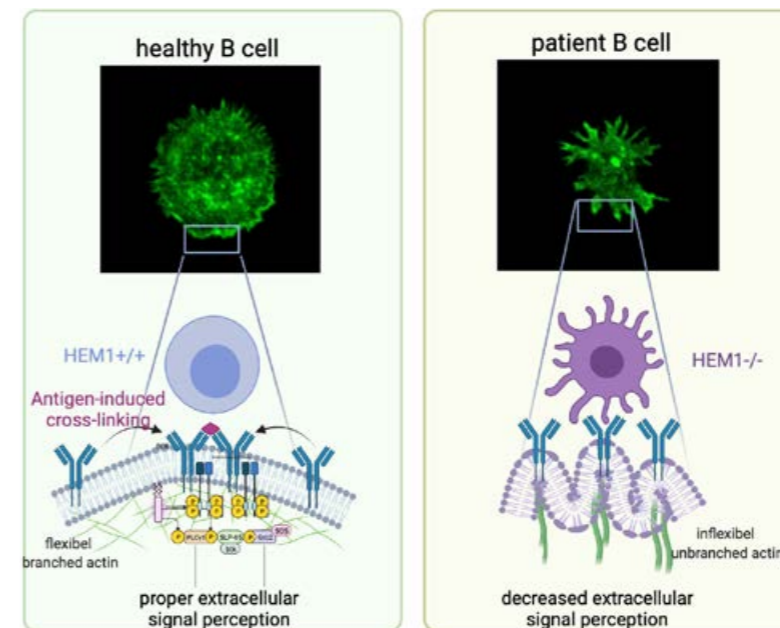
In einer internationalen Zusammenarbeit mit der Tehran University of Medical Sciences und anderen Forschungsinstituten fanden wir also heraus, dass das Fehlen von HEM1 die Erkennung von Immunzellen behindert. Wir konnten zeigen, dass die Funktion von HEM1 unverzichtbar ist für die B-Zell-Entwicklung, bei der diese darauf trainiert werden, Fremd- von Selbstsignalen zu unterscheiden. Während dieser Zeit lernen B-Zellen die Stärke des extrazellulären Signals zu bestimmen, das für eine aktive Immunantwort gegen Krankheitserreger erforderlich ist. Jene B-Zellen, die eine starke Aktivierung gegenüber Selbstantigenen (Autoreaktivität) aufweisen, sollten hingegen eliminiert werden. In Abwesenheit von HEM1 werden die Zellen jedoch starr und unflexibel, was die Signalwahrnehmung in Richtung starker (meist autoreaktiver) extrazellulärer Signale verschiebt. In der Folge überleben autoreaktive B-Zellen und die Betroffenen leiden unter Autoimmunität.

*We uncovered that the function of HEM1 is indispensable during B cell development, where B cells learn to differentiate foreign from self-signals. During that time, B cells learn to determine the strength of the extra-cellular signal required for mounting an active immune response against pathogens and, importantly, B cells that show strong activation towards self-antigens (autoreactivity) should be eliminated. In absence of HEM1, however, cells become rigid and inflexible, which shifts signal perception towards strong (mostly autoreactive) extracellular signals. In consequence, autoreactive B cells survive, and patients suffer from autoimmunity.*

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Salzer E\*, Zoghi S\*, Kiss MG†, Kage F†, Rashkova Ct, Stahnke St, Haimel Mt, Platzner R, Caldera M, Chandra Ardy R, Hoeger B, Block J, Medgyesi D, Sin C, Shahkarami S, Kain R, Ziaee V, Hammerl P, Bock C, Menche J, Dupré L, Huppa JB, Sixt M, Lomakin A, Rottner K, Binder CJ, Stradal TEB, Rezaei N, Boztug K§. The cytoskeletal regulator HEM1 governs B cell development and prevents autoimmunity. *Sci Immunol.* 2020 Jul 10;5(49):eabc3979. doi: 10.1126/sciimmunol.abc3979.

\*These authors contributed equally to this work, †these authors contributed equally to this work, §Corresponding author



#### ABBILDUNG / FIGURE

B-Zelle eines gesunden Spenders mit einem flexiblen verzweigten kortikalen Aktinnetzwerk (links) und eine HEM1-defiziente B-Zelle (rechts) ohne verzweigte Aktinfilamente nach Stimulation mit LPS (oben). Aktinfilamente sind grün gefärbt. Reduzierte Flexibilität des kortikalen Aktin-Netzwerks führt zu verminderter B-Zell-Rezeptor-Vernetzung und verminderter extrazellulärer Signalwahrnehmung und -übertragung in HEM1-defizienten B-Zellen.

*B cell of a healthy donor with a flexible branched cortical actin network (left) and a HEM1-deficient B cell (right) without branched actin filaments after stimulation with LPS (top). Actin filaments are stained in green. Reduced flexibility of the cortical actin network results in decreased B cell receptor cross-linking and decreased extracellular signal perception and transmission in HEM1-deficient B cells.*

Modifiziert nach / Modified from: Salzer E, Zoghi S et al., *Sci Immunol.* 2020

## ZWISCHEN IMMUNITÄT UND KREBSENTSTEHUNG: ENTDECKUNG EINES NEUARTIGEN IMMUNDEFIZIENZ-SYNDROMS

Die DNA und die daraufliegenden Gene sind Grundbausteine jedes Lebewesens und essenziell für deren (Über)Leben – und muss bei jeder Zellteilung und -vervielfältigung auch repliziert und gleichermaßen auf die neu entstehenden Zellen aufgeteilt werden.

Die für die DNA-Replikation verantwortlichen Proteine und Proteinkomplexe sind in fast allen Lebewesen sehr ähnlich gebaut und während Zehntausenden Jahren Evolution fast unverändert (= konserviert) geblieben. Die Ähnlichkeit über Arten hinweg sowie der Grad der Konservierung der DNA- und/oder Protein-Sequenz gibt häufig Aufschluss darüber, wie essenziell ein Protein für einen Organismus und dessen Überleben ist.

Polymerase delta ist ein Enzymkomplex, der nicht nur für die DNA-Replikation, sondern auch für die Stabilisierung des Genoms und die Regulierung des Zellzyklus eine zentrale Rolle spielt. Aufgebaut ist Polymerase delta aus mehreren Elementen: POLD1, POLD2, POLD3 und POLD4. In dieser Studie konnten Wissenschaftler aus dem Team von Kaan Boztug erstmals zwei Kinder mit angeborenen Mutationen in den Genen, die für POLD1 und POLD2 kodieren, identifizieren und genauer untersuchen. Die Erkrankten litten unter einer ausgeprägten Immunschwäche, die sich u. a. in wiederkehrenden Atemwegsinfektionen, Hautproblemen sowie auch neurologischen Entwicklungsstörungen äußerten.

## BETWEEN IMMUNITY AND CARCINOGENESIS: DISCOVERY OF A NOVEL IMMUNODEFICIENCY SYNDROME

*DNA and its genes are the basic building blocks of every living being and essential for their survival. During cell division they have to be replicated and equally distributed into the newly emerging cells.*

*The proteins and protein complexes responsible for DNA replication are built very similarly in almost all living organisms and have remained almost unchanged (= conserved) during tens of thousands of years of evolution. The similarity across species, as well as the degree of conservation of the DNA and/or protein sequences, often provides information about how essential a protein is for the survival of an organism.*

*Polymerase delta is an enzyme complex that plays a central role not only in DNA replication, but also in stabilizing the genome and regulating the cell cycle. Polymerase delta is composed of several elements: POLD1, POLD2, POLD3, and POLD4. In this study, scientists from Kaan Boztug's team were able for the first time to identify and more closely examine two patients with congenital mutations in the genes encoding POLD1 and POLD2. The patients suffered from a pronounced immune deficiency, which manifested itself, among other things, in recurrent respiratory infections, skin problems, and neurodevelopmental disorders.*

Die detaillierte Untersuchung dieser neuartigen Immunschwäche auf molekularer Ebene zeigte, dass in beiden Fällen der Zellzyklus der Lymphozyten beeinträchtigt war, da es während der DNA-Replikation gehäuft zu Kopierfehlern kam. Als Schutzmechanismus werden daraufhin Markierungen auf der fehlerhaften DNA angebracht – ein normaler Ablauf des Zellzyklus und damit normale Vermehrung der Lymphozyten wurde massiv erschwert.

Die gefundenen Mutationen beeinträchtigen in besonderem Maße Immunzellen und äußern sich daher primär als Immunschwäche. Der betroffene Mechanismus – die DNA-Replikation – betrifft jedoch eine Grundfunktion jeder Zelle und jedes Zelltyps und kann daher interessante Informationen auch für andere Krankheitsbilder liefern. Störungen der Genomduplikation können drastische Konsequenzen für das Zellwachstum und das Gleichgewicht zwischen Zellpopulationen haben und damit u. a. für diverse Krebserkrankungen von großer Bedeutung sein.

*Detailed investigation of this novel immunodeficiency at the molecular level showed that in both cases the cell cycle of the lymphocytes was impaired because of frequent copying errors during DNA replication. As a protective mechanism during the normal course of the cell cycle, labels are applied to the faulty DNA, and thus normal reproduction of the lymphocytes was massively impeded.*

*The identified mutations particularly affect immune cells and therefore manifest themselves primarily as immune deficiencies. However, the affected mechanism – DNA replication – is a basic function of every cell and every cell type, and can therefore provide interesting information for other disease patterns. Disturbances in genome duplication can have drastic consequences for cell growth and the balance between cell populations, and can thus be of great importance e.g., for various cancers.*

Für die Polymerase-delta-Untereinheit POLD1 war bereits bekannt, dass bestimmte Mutationen zum sogenannten „Mutator-Phänotyp“ beitragen können, der durch Aktivitätssteigerung der DANN-Polymerase genetische Instabilität und ein erhöhtes Krebsrisiko zur Folge hat. POLD1 ist gemäß internationaler Klassifizierung daher als hochgefährlicher Krebsverursacher eingeordnet.

Die in dieser Studie beschriebenen Mutationen führen hingegen zu einer verminderten intrinsischen Aktivität des Polymerase-delta-Komplexes, was möglicherweise in einer erhöhten Neigung zur Krebsentstehung beitragen könnte (sog. Krebs-Prädispositionssyndrom). In weiteren Studien werden die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler – auch durch Identifikation weiterer Patientinnen und Patienten – ein mögliches Krebsrisiko bei dieser neuartigen Erkrankung genauer untersuchen.

*For the polymerase delta subunit POLD1, it was already known that certain mutations can lead to a so-called „mutator phenotype“, which results in genetic instability and an increased cancer risk due to the increase in the activity of the DNA polymerase. POLD1 is therefore classified as a high-risk carcinogen according to international classification.*

*In contrast, the mutations described in this study lead to decreased intrinsic activity of the polymerase delta complex, which could possibly contribute in an increased propensity to cancer development (so-called cancer predisposition syndrome). In further studies, the scientists will investigate in more detail – also by identifying further patient – a possible cancer risk in this novel disease.*

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Conde CD\*, Petronczki ÖY\*, Baris S\*, Willmann KL\*, Girardi E, Salzer E, Weitzer S, Ardy RC, Krolo A, Ijspeert H, Kiykim A, Karakoc-Aydiner E, Förster-Waldl E, Kager L, Pickl WF, Superti-Furga G, Martínez J, Loizou JI, Ozen A, van der Burg M, Boztug K. Polymerase  $\delta$  deficiency causes syndromic immunodeficiency with replicative stress. *J Clin Invest.* 2019 Oct 1;129(10):4194-4206. doi: 10.1172/JCI128903.

\*equal contribution

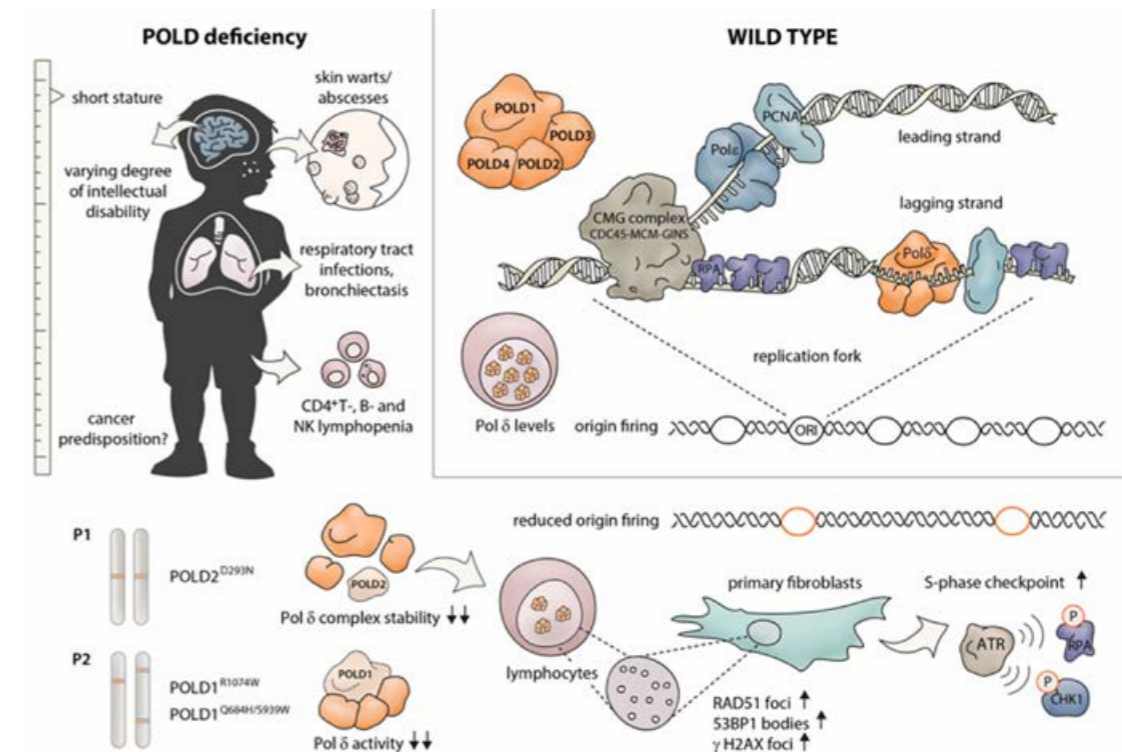


ABBILDUNG / FIGURE

POLD-Defizienz

*POLD* deficiency.

Image credits: Tatjana Hirschmugl, copyright: Conde et al., *J Clin Invest.* 2020

## ES WIRD ENG: WIE KREBSZELLEN AUS TUMOREN FLÜCHTEN

Wie der Mensch, so schützen auch die Zellen im menschlichen Körper ihren persönlichen Raum. Sie scheinen zu wissen, wie viel Platz sie brauchen. Wird es zu eng, versuchen die meisten Zellen, sich mehr Raum zu verschaffen. An dem Mechanismus, der es Zellen ermöglicht, dichtem Gedränge zu entgehen, dürfte ein bisher unerkannter Akteur beteiligt sein – der Zellkern.

### KÖRPERZELLEN SCHÜTZEN IHREN „PERSÖNLICHEN RAUM“.

Der menschliche Körper besteht aus Billionen von Zellen, die in begrenztem Raum wachsen, was häufig zu einer Zellverdichtung führt. Diese Verdichtung spitzt sich zu, wenn Zellwachstum und -proliferation während der Tumorbildung außer Kontrolle geraten. Dadurch sind die beteiligten Zellen Druckbelastungen aus ihrer Mikroumgebung ausgesetzt. Das betrifft sowohl die konstituierenden Gewebezellen als auch Immunzellen, die den Tumor als Teil ihres Immunüberwachungsprogramms infiltrieren. Bei dem Versuch, sich an eine solche Mikroumgebung anzupassen, durchlaufen die Zellen Formveränderungen. Obwohl die Veränderung der Zellform in der Tumorumgebung von Pathologinnen und Pathologen seit dem 19. Jahrhundert als wichtiges diagnostisches Merkmal zur Identifizierung und Klassifizierung von Tumoren verwendet wird, sind die zugrunde liegenden Mechanismen und die spezifischen Funktionen weiterhin unklar.

## HOW CANCER CELLS ESCAPE CROWDED TUMORS

*Like people, cells in the human body protect their personal space. They seem to know how much space they need, and if it gets too tight, most cells prefer to break free. The mechanism enabling cells to evade crowded environments, as we discovered here, appears to involve an unusual player – the cell nucleus.*

### TISSUE CELLS PROTECT THEIR “PERSONAL SPACE”.

*The human body consists of trillions of cells growing in confined volumes, which often leads to tissue crowding. The crowding effect is exacerbated when cell growth and proliferation are out of control during tumor formation. This creates a compressive microenvironment for both the constituent tissue cells and immune cells infiltrating the tumor as a part of their immune surveillance program. Trying to adapt to such microenvironments, cells undergo shape transformations. Although cell shape change in the tumor environment has been used by pathologists as a key diagnostic trait to identify and classify tumors since the 19th century, its underlying mechanisms and specific roles remain unclear.*

Wir stellten die Hypothese auf, dass Zellen Mechanismen entwickelt haben, um den Grad ihrer Formkompression zu erkennen und als „Gefahrensignal“ zu interpretieren, sobald die Kompression zu stark wird. Dies kann den Zellen helfen, mechanisch belastenden und potenziell schädlichen Mikroumgebungen zu entkommen, was wiederum ihre Fitness verbessern sollte. Diese Hypothese in vivo zu testen, ist eine Herausforderung, da die natürliche Mikroumgebung im Gewebe unvorhersehbar schwankt. Wir nutzen daher Zell- und Gewebemikrofabrikationstechniken, die es uns ermöglichten, den mechanisch restriktiven Zellkontext in vivo auf kontrollierte und quantitative Weise nachzubilden.

Unsere systematischen Analysen zeigten, dass Zellen in der Lage sind, die Kompression der Umgebung wahrzunehmen. Um das zu bewerkstelligen, nutzen sie ihre größte und rigideste Untereinheit, den Zellkern. Wir fanden heraus, dass der Zellkern seine Form verändert, sobald er unterhalb seiner Ruhekerndicke komprimiert wird. Das wiederum ist mit Veränderungen der räumlichen und physikalischen Eigenschaften der Kernmembranen verbunden. Die Veränderungen der Kernmembranen schienen an der Steuerung der Freisetzung von Kalzium aus den internen Membranspeichern und der Aktivierung eines kalziumabhängigen Enzyms, der Phospholipase cPLA2, beteiligt zu sein (Abbildung). Letztere produziert die Omega-6-Fettsäure Arachidonsäure (ARA), ein wichtiges Vorläufermolekül im Fettsäurestoffwechsel und ein Signallipid, das an vielen kritischen Zell- und Gewebefunktionen beteiligt ist.

*Here, we hypothesized that cells have evolved mechanisms to detect the degree of their shape compression and interpret it as a “danger” signal once the compression becomes excessive. This can help the cells to escape mechanically stressful and potentially damaging microenvironments, which in turn should enhance their fitness. Testing this hypothesis in vivo is challenging, because natural tissue microenvironments are unpredictably fluctuating. Therefore, we employed cell and tissue microfabrication techniques enabling us to recreate the mechanically restrictive in vivo cell context in a controlled and quantitative manner.*

*Our systematic analyses revealed that tissue cells can measure the degree of their own shape deformation upon compression. To do so, the cells utilize their largest internal compartment, the nucleus. We found that once cells are compressed to heights below resting nucleus size, the nucleus changes its shape, which in turn is associated with alterations in spatial and physical properties of nuclear membranes. The changes at the level of nuclear membranes appeared to be involved in controlling the release of calcium from internal membrane stores and the activation of a calcium-dependent enzyme, phospholipase cPLA2 (figure). The latter produces the omega-6 fatty acid arachidonic acid (ARA), an important precursor molecule in fatty acid metabolism and a signaling lipid involved in many critical cell and tissue functions.*

Entsprechend setzten wir cPLA2 und ARA ein, um ihren Einfluss auf den Prozess der Zellmigration und des Entkommens aus einer Umgebung, die enger als die Kerngröße ist, zu untersuchen (Abbildung).

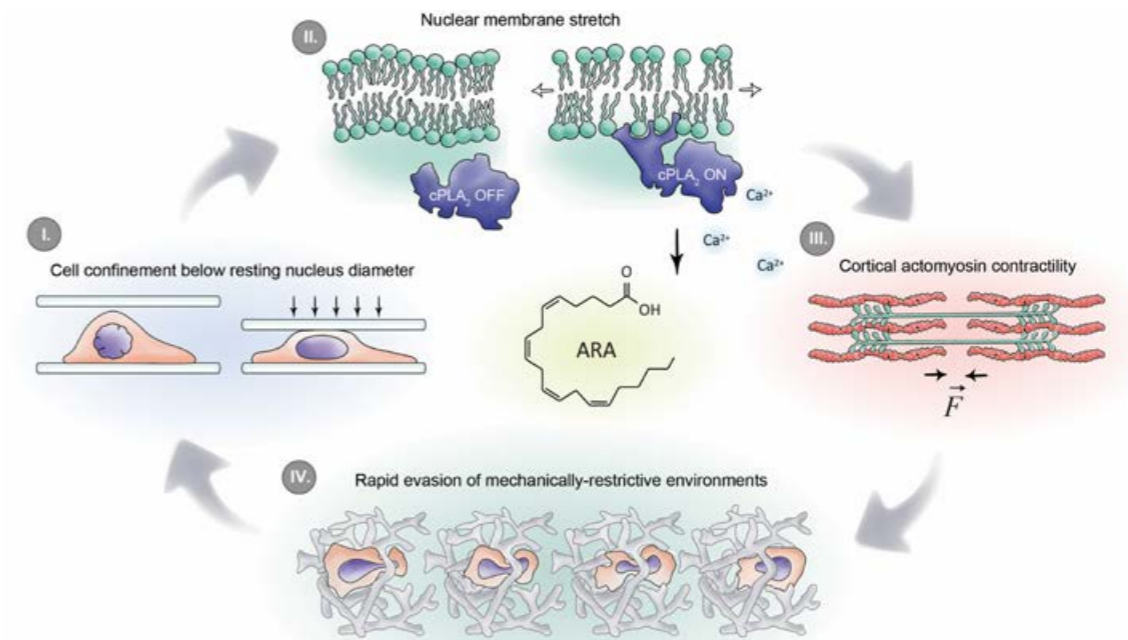
### FETTARME KOST, UM SCHWÄCHEN IM KREBS-STOFFWECHSEL ANZUGREIFEN?

Bisher wurde der Zellkern als passiver Speicher für genetisches Material betrachtet. Diese Studie identifiziert ihn jedoch als aktiven Akteur, der mechanische Einflüsse von außen schnell in biochemische Signale oder Stoffwechselleistungen übersetzt. Die daran hauptsächlich beteiligte Phospholipase cPLA2 stellt ein mit Medikamenten angreifbares Ziel dar. Pharmazeutische Unternehmen testen derzeit niedermolekulare Inhibitoren von cPLA2. cPLA2-Inhibitoren verhindern die Produktion von Arachidonsäure (ARA), was sich in der Folge auf die Zellwanderung, das Wachstum und das Überleben der Zellen auswirkt. Zellen können ARA jedoch auch aus ihrer Umgebung gewinnen. Die westliche Ernährung ist zum Beispiel eine potente Quelle für Omega-6-Fettsäuren wie ARA. Die Einschränkung der Fettzufuhr über die Nahrung und die Aufnahme von Omega-3 anstelle von Omega-6-Fettsäuren könnte mit cPLA2-Inhibitoren synergistisch wirken, um das Entkommen von Tumorzellen aus überfüllten Gebieten einzuschränken. Die Prüfung dieser Hypothese ist eine sehr spannende Aufgabe in unserer zukünftigen Forschung.

*In our work, we implicated cPLA2 and ARA in the process of cell migration and escape from the environmental confines whose dimensions are smaller than nuclear size (figure).*

### FAT RESTRICTION TO TARGET METABOLIC VULNERABILITY IN CANCER?

*While the nucleus is traditionally considered as a passive storage of genetic information in the cell, our work illuminates it as an active compartment converting mechanical inputs into metabolic outputs. The key player in these processes, the phospholipase cPLA2, represents a druggable target. Pharmaceutical companies are currently testing small molecule inhibitors of cPLA2. The cPLA2 inhibitors prevent the production of ARA, which subsequently affects cell migration, growth, and survival. However, ARA can also be obtained by cells from their environment. The Western diet, for instance, is a potent source of omega-6 fatty acids. Therefore, dietary fat restriction and consumption of omega-3 instead of omega-6 fatty acids could synergize with cPLA2 inhibitors to effectively attenuate tumor cell escape from overcrowded areas. Testing these hypotheses is an exciting direction for future research.*



### ABBILDUNG/FIGURE

Die Verformung des Zellkerns löst eine Signalkaskade für das Entkommen von Krebszellen aus.

*Cell nucleus deformation triggers a signaling cascade for cancer cell escape*

Copyright: Alexis Lomakin/  
Tatjana Hirschmugl

### PUBLIKATION / PUBLICATION

Lomakin AJ\*†‡, Cattin C J†, Cuvelier D, Alraies Z, Molina M, Nader GPF, Srivastava N, Sáez PJ, Garcia-Arcos JM, Zhitnyak IY, Bhargava A, Driscoll MK, Welf ES, Fiolka R, Petrie RJ, De Silva NS, González-Granado JM, Manel N, Lennon-Duménil AM, Müller DJ\*, Piel M\*‡. The nucleus acts as a ruler tailoring cell responses to spatial constraints. *Science*. 2020 Oct 16;370(6514):eaba2894. doi: 10.1126/science.aba2894.

\*Corresponding authors. †These authors contributed equally to this work. ‡These authors contributed equally to this work.



## AVIDITÄTSKONTROLLIERTE CARs (AvidCARs) ZUR VERBESSERUNG DER TUMORZELLERKENNUNG IN DER CAR-T-ZELLTHERAPIE

Die Entwicklung von Strategien zur gezielteren Erkennung von Tumorzellen ist von größter Bedeutung, um die klinische Anwendung potenterer CAR-T-Zell-Therapien zu ermöglichen. Mit diesem Ziel haben Dr. Manfred Lehner, unter der Begleitung von Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter, St. Anna Kinderkrebsforschung und Dr. Michael Traxlmayr, Universität für Bodenkultur, Wien, eine Plattform mit völlig neuartigen CAR-Prototypen entworfen. Mit diesen neuen CARs können Immunzellen noch gezielter gegen Tumorzellen gerichtet und auch zuverlässig an- und abgeschaltet werden. Das reduziert das Risiko, dass CAR-T-Zellen gesundes Gewebe angreifen. Eine sichere und breite Anwendung bei vielen Krebsarten rückt damit näher.

CARs sind künstlich hergestellte Rezeptormoleküle. Um CAR-T-Zellen zu erzeugen, werden Immunzellen, sogenannte T-Lymphozyten, eines Patienten genetisch so verändert, dass sie diese Rezeptormoleküle auf ihrer Oberfläche tragen. Bei der CAR-T-Zelltherapie werden die mit dem CAR „bewaffneten“ T-Zellen in den Patienten injiziert, wo sie Tumorzellen erkennen und angreifen können, die die entsprechenden Andockstellen für den CAR besitzen. Diese Andockstellen, nämlich tumorassoziierte Antigene, sind oft auch auf gesunden Körperzellen vorhanden. In der Folge können CAR-T-Zellen auch gesunde Zellen angreifen. Diese Nebenwirkung wird als „On-Target/Off-Tumor-Toxizität“ bezeichnet und frühere klinische Studien haben gezeigt, dass eine solche Toxizität tödlich sein kann.

Um CAR-T-Zellen gezielter gegen Krebszellen zu richten, entwickelten die Wissenschaftler aviditätsgesteuerte CARs (AvidCARs). Dazu nutzten sie

## AVIDITY-CONTROLLED CARs (AvidCARs) TO IMPROVE TUMOR CELL RECOGNITION IN CAR T CELL THERAPY

*The development of strategies for more targeted tumor cell recognition is of utmost importance to enable the clinical application of more potent CAR T cell therapies. With this goal Dr. Manfred Lehner, under the supervision of Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter, St. Anna Children's Cancer Research Institute and Dr. Michael Traxlmayr, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, designed a platform with completely novel CAR prototypes. With these new CARs, immune cells can be directed even more specifically against tumor cells and can also reliably be switched on and off. This reduces the risk of CAR T cells attacking healthy tissue. A safe and broad application in many types of cancer is thus coming closer.*

*CARs are artificially produced receptor molecules. To generate CAR T cells, immune cells, the so-called T lymphocytes, of a patient are genetically modified so that they carry these receptor molecules on their surface. In CAR T cell therapy, these T cells "armed" with the CAR are injected into the patient where they can recognize and attack tumor cells that have the corresponding docking sites for the CAR. These docking sites, namely tumor-associated antigens, are often also present on healthy body cells. As a consequence, CAR T cells can also attack healthy cells. This side effect is called "on-target/off-tumor toxicity" and past clinical studies have shown that such toxicity can be fatal.*

*In order to direct CAR T cells more specifically against cancer cells, the scientists developed avidity-controlled CARs (AvidCARs). For this purpose, they used antigen binding sites for their CARs, whose binding strength (affinity) to the*

Antigen-Bindungsstellen für ihre CARs, deren Bindungsstärke (Affinität) zum Antigen deutlich reduziert ist. Diese reduzierte Bindungsstärke erfordert eine zweifache (=bivalente) Interaktion, d. h. eine Bindung des Rezeptors an zwei Antigenmoleküle, um aktiviert zu werden. Dieses Verfahren nutzt die sogenannte Avidität, d. h. die stark vervielfachte Bindungsstärke, die sich aus der Doppelbindung zwischen den Bindungspartnern ergibt. Darüber hinaus wurde das CAR-Design so verbessert, dass bestimmte Untereinheiten der CARs kontrolliert kombiniert (dimerisiert) werden können. Dies ermöglicht ein gezieltes An- und Abschalten der CAR-Funktion.

**Diese kontrollierte Verbindung und die Nutzung der Avidität ermöglicht mehrere Kontrollmechanismen:**

- **Schaltbare AvidCARs** sind CARs, deren Funktion durch die Gabe eines Medikaments, das zur Dimerisierung zweier CAR-Untereinheiten führt, eingeschaltet werden kann.
- **AND-Gate-AvidCARs** bestehen aus zwei verschiedenen CAR-Untereinheiten, die spezifisch Kombinationen von zwei verschiedenen Antigenen erkennen. Diese AvidCARs werden nur aktiviert, wenn sie auf eine Zelle treffen, die beide Antigene gleichzeitig auf der Oberfläche aufweist. Der neue Mechanismus dieser CARs macht es erstmals möglich, gezielt nur Tumorzellen abzutöten, ohne benachbarte gesunde Zellen anzugreifen, die nur eines der beiden Antigene tragen. Außerdem können die beiden unterschiedlichen Untereinheiten durch Gabe eines Medikaments kombiniert (heterodimerisiert) und so zusätzlich in ihrer Funktion kontrolliert werden (siehe Abbildung).

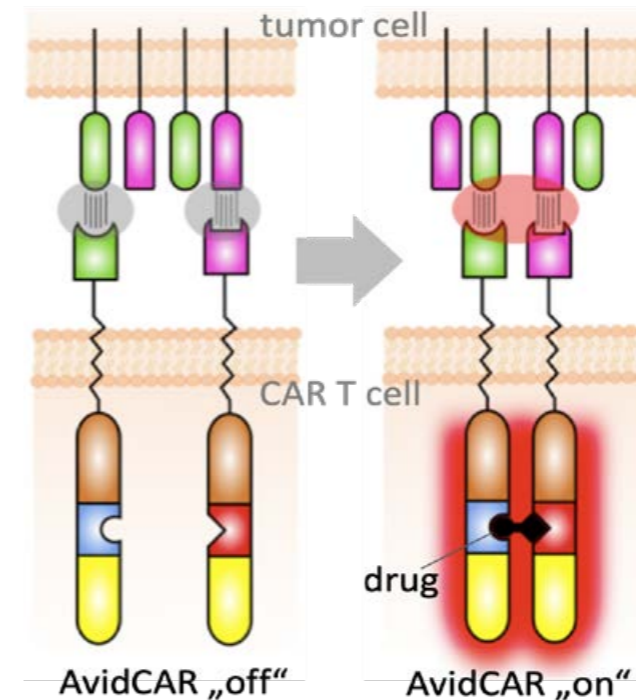
*antigen is significantly reduced. This reduced binding strength requires a two-fold (=bivalent) interaction, i.e. a binding of the receptor to two antigen molecules in order to be activated. This procedure makes use of the so-called avidity, i.e. the greatly multiplied binding strength that results from double binding between the binding partners. In addition, the CAR design has been improved so that certain subunits of the CARs can be combined (dimerized) in a controlled manner. This enables a targeted on and off-switching of the CAR function.*

**This controlled assembly and the use of avidity enables several control mechanisms:**

- **switchable AvidCARs** are CARs whose function can be switched on by the administration of a drug that leads to dimerization of two CAR subunits.
- **AND-gate AvidCARs** consist of two different CAR subunits that specifically recognize combinations of two different antigens. These AvidCARs are only activated when they encounter a cell that shows both antigens on the surface simultaneously. The new mechanism of these CARs makes it possible for the first time to specifically kill only tumor cells without attacking neighboring healthy cells that carry only one of the two antigens. In addition, the two different subunits can be combined (heterodimerized) by administration of a drug and thus additionally controlled in their function (see figure).

In ihrer Proof-of-Concept-Studie zeigen die Forscher das hohe Potenzial ihrer neuartigen CAR-Plattform. Es wird erwartet, dass diese aviditätsgesteuerten CARs in Zukunft eine wichtige Rolle spielen werden, um die dringend benötigte klinische Anwendung von potenteren CAR-T-Zellen zu ermöglichen. Die Forscher des CD-Labors setzen sich dafür ein, diese AvidCAR-Strategie für die Entwicklung von CAR-T-Zell-Therapien für Hochrisikokrebs im Kindesalter voranzutreiben.

*In their proof of concept study the researchers demonstrate the high potential of their novel CAR platform. In the future, these avidity-controlled CARs are expected to play an important role in enabling the much-needed clinical application of more potent CAR T cells. The researchers at the CD Laboratory are committed to advancing this AvidCAR strategy for the development of CAR T cell therapies for high-risk childhood cancers.*



#### ABBILDUNG / FIGURE

Schematische Darstellung eines schaltbaren AvidCAR mit AND-Gate-Funktion. Zwei CAR-Moleküle mit zwei unterschiedlichen Antigenbindungsdomänen, die gegen die Antigene A und B gerichtet sind, können durch ein Medikament dimerisiert werden, was dann eine bivalente Interaktion des CAR mit der Tumorzelle und damit die Aktivierung der T-Zelle ermöglicht.

*Schematics of a switchable AvidCAR with AND-gate function. Two CAR molecules with two different antigen binding domains directed against antigens A and B can be dimerized by a drug which then enables bivalent interaction of the CAR with the tumor cell and thereby activation of the T cell.*

Modifiziert nach / modified from:  
christian-doppler.ccri.at

#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Salzer B, Schueller CM, Zajc CU, Peters T, Schoeber MA, Kovacic B, Buri MC, Lobner E, Dushek O, Huppa JB, Obinger C, Putz EM, Holter W, Traxlmayr MW, Lehner M. Engineering AvidCARs for combinatorial antigen recognition and reversible control of CAR function. *Nat Commun.* 2020 Aug 20;11(1):4166. doi: 10.1038/s41467-020-17970-3.

## EIN KONFORMATIONS-SPEZIFISCHER EINSCHALTER ZUR STEUERUNG VON CAR-T-ZELLEN

In Fällen, in denen die CAR-T-Zelltherapie bereits sehr effektiv ist, wie z.B. bei der Behandlung von B-Zell-Leukämie, führt eine übermäßige Aktivierung der T-Zellen oft zu schweren, manchmal sogar tödlichen Toxizitäten. Denn leider lässt sich die Funktion von CAR-T-Zellen nach ihrer Verabreichung nur sehr schlecht kontrollieren. Einmal mehr erwies sich daher die interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Dr. Lehner und Dr. Traxlmayr innerhalb des CD-Labors mit Unterstützung durch Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter als ideale Basis, um auch auf diesem Gebiet innovative Lösungen zu entwickeln. So konnte das CDL-Team eine neuartige Plattform von molekularen Einschaltern (On-Switches) schaffen, die in Zukunft eine präzise Steuerung der verabreichten Zellen direkt in der Patientin/dem Patienten durch die Gabe von gut verträglichen Medikamenten ermöglichen wird.

Molekulare On-Switches sind Module, in denen die Interaktion zweier Proteine mittels eines kleinen Moleküls ausgelöst werden kann. Für die funktionelle Kontrolle von CAR-T-Zellen werden On-Switches dringend benötigt, die auf klinisch anwendbaren Komponenten basieren. Trotz massiver Bemühungen auf diesem Gebiet gab es bis vor kurzem keine Systeme, die für den klinischen Einsatz gut geeignet waren. Erst in jüngster Zeit wurden Module vorgestellt, die ein gewisses klinisches Anwendungspotenzial haben. Eine Schwäche selbst dieser neuen molekularen Schalter ist jedoch nach wie vor die Abhängigkeit von Medikamenten, die für eine breite klinische Anwendung nicht gut geeignet sind.

## A CONFORMATION-SPECIFIC ON-SWITCH FOR CONTROLLING CAR T CELLS

*In cases where CAR T cell therapy is already very effective, such as in the treatment of B cell leukemia, excessive activation of T cells often results in severe, sometimes even fatal, toxicity. Unfortunately, the function of CAR T cells can still be very poorly controlled once they have been administered. Once again, the interdisciplinary collaboration between Dr. Lehner and Dr. Traxlmayr within the CD lab, under the supervision of Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter, proved to be an ideal basis for developing innovative solutions also in this area. In fact, the CDL team was able to create a novel platform of molecular on-switches that in the future will allow precise remote control of infused cells directly in the patient through the administration of well-tolerated drugs.*

*Molecular on-switches are modules in which the interaction of two proteins can be triggered with a small molecule. On-switches based on clinically applicable components are urgently needed for functional control of CAR T cells. Despite massive efforts in this area, until recently there were no systems that were well suited for clinical use. Only recently have systems been introduced that have some clinical application potential. However, a weakness of even these new molecular switches is still the dependence on drugs, which are not well suited for broad clinical application.*

Das Team entwickelte eine Plattform, die eine wesentlich größere Flexibilität bei der Auswahl der zu steuernden Medikamente bietet. Ihr neuartiges molekulares Einschaltssystem basiert auf dem humanen Retinolbindungsprotein 4 (hRBP4), einem Transportprotein für Vitamin A im menschlichen Blut. Dieses Protein hat eine becherartige Struktur, die es ihm ermöglicht, eine Reihe verschiedener kleiner Moleküle aufzunehmen. Darüber hinaus ist seine Struktur sehr mutationstolerant, was es auch ermöglicht, das Protein für eine bessere Aufnahme ausgewählter niedermolekularer Medikamente zu verändern. Schließlich ändert es seine Struktur (d. h. seine Konformation) geringfügig, wenn seine tiefe Bindungstasche mit bestimmten Medikamenten beladen wird. Diese Eigenschaften sind die perfekte Grundlage für die Schaffung von molekularen Schaltern, die mehr Flexibilität bei der Auswahl von Medikamenten für die Kontrolle bieten, was erstmals den Einsatz sehr gut verträglicher Medikamente ermöglichen wird.

Die Forscher postulierten, dass es möglich ist, einen Bindungspartner zu generieren, der nur dann an hRBP4 binden kann, wenn er mit einem bestimmten Medikament beladen ist. Mit Hilfe der sogenannten zielgerichteten Evolution in Hefe, also der ultraschnellen Evolution einer Proteinstruktur in vitro, gelang es ihnen tatsächlich, einen solchen spezifischen Bindungspartner zu konstruieren. Anschließend integrierten die Forscher beide Teile des Schalters (hRBP4 und den Bindungspartner) in einen CAR. In diesem

*The team developed a platform that offers much greater flexibility in the selection of drugs for control. Their novel molecular on-switch system is based on the human retinol binding protein 4 (hRBP4), the transport protein in human blood for vitamin A. This protein has a cup-like structure allowing it to accommodate a number of different small molecules. In addition, its structure is highly mutation-tolerant, which also allows the protein to be engineered for better uptake of selected small molecule drugs. Finally, it changes its structure (i.e. conformation) slightly when its deep binding pocket is loaded with certain drugs. These properties are the perfect basis for creating molecular switches that provide more flexibility in the choice of drugs for control, which will allow control for the first time by very well-tolerated drugs.*

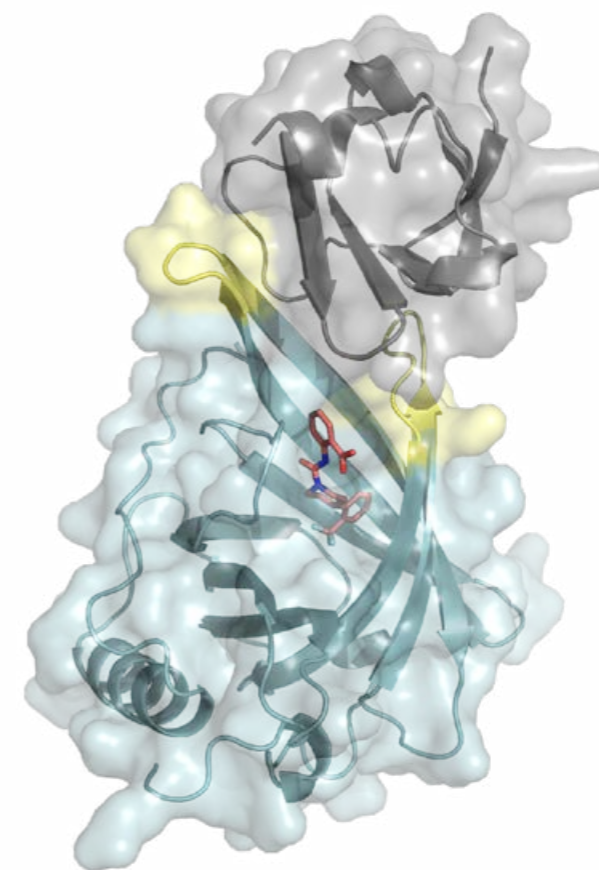
*The researchers postulated that it is possible to generate a binding partner that can bind to hRBP4 only when loaded with a certain drug. Using so-called directed evolution in yeast, i.e. ultrafast evolution of a protein structure in vitro, they were indeed able to engineer such a specific binding partner. Subsequently, the researchers integrated both parts of the switch (hRBP4 and the binding partner) into a CAR. In this CAR, the antigen binding part was separated from the signal transducing part and could only be linked by the interaction of hRBP4 with its binding partner by addition of the drug. In their proof of concept, the researchers were able to successfully demonstrate that the CAR with this integrated*

CAR war der antigenbindende Teil vom signalübertragenden Teil getrennt und konnte nur durch die Interaktion von hRBP4 mit seinem Bindungspartner durch Zugabe des Medikaments verknüpft werden. In ihrem Proof-of-Concept konnten die Forscher erfolgreich zeigen, dass der CAR mit diesem integrierten molekularen Schalter die T-Zellen bei Bindung an Tumorzellen tatsächlich nur in Anwesenheit des Medikaments aktivieren kann.

Mit dieser neuartigen On-Switch-Plattform haben die Forscher einen weiteren kritischen Baustein für zukünftige, sicherere CAR-T-Zellen geschaffen. Derzeit arbeiten die Forscher daran, gut verträgliche Medikamente für diesen Schalter zu identifizieren, wobei der nächste Schritt darin besteht, den Schalter so zu gestalten, dass er auf diese Moleküle reagiert. Diese neuartigen molekularen Schalter können nicht nur zur Regulierung der Funktion von CAR-T-Zellen eingesetzt werden, sondern haben letztlich das Potenzial, ein völlig neues Feld des Zell-Engineerings zu eröffnen.

*molecular switch can indeed activate the T cells upon binding to tumor cells only in the presence of the drug.*

*With this novel on-switch platform, the researchers created another critical component of future safer CAR T cells. Currently, the researchers are working to identify well-tolerated drugs for this switch, with the next step being to engineer the switch to respond to these molecules. These novel molecular switches can not only be used to regulate the function of CAR T cells, but ultimately have the potential to open up an entirely new field of cell engineering.*



#### ABBILDUNG / FIGURE

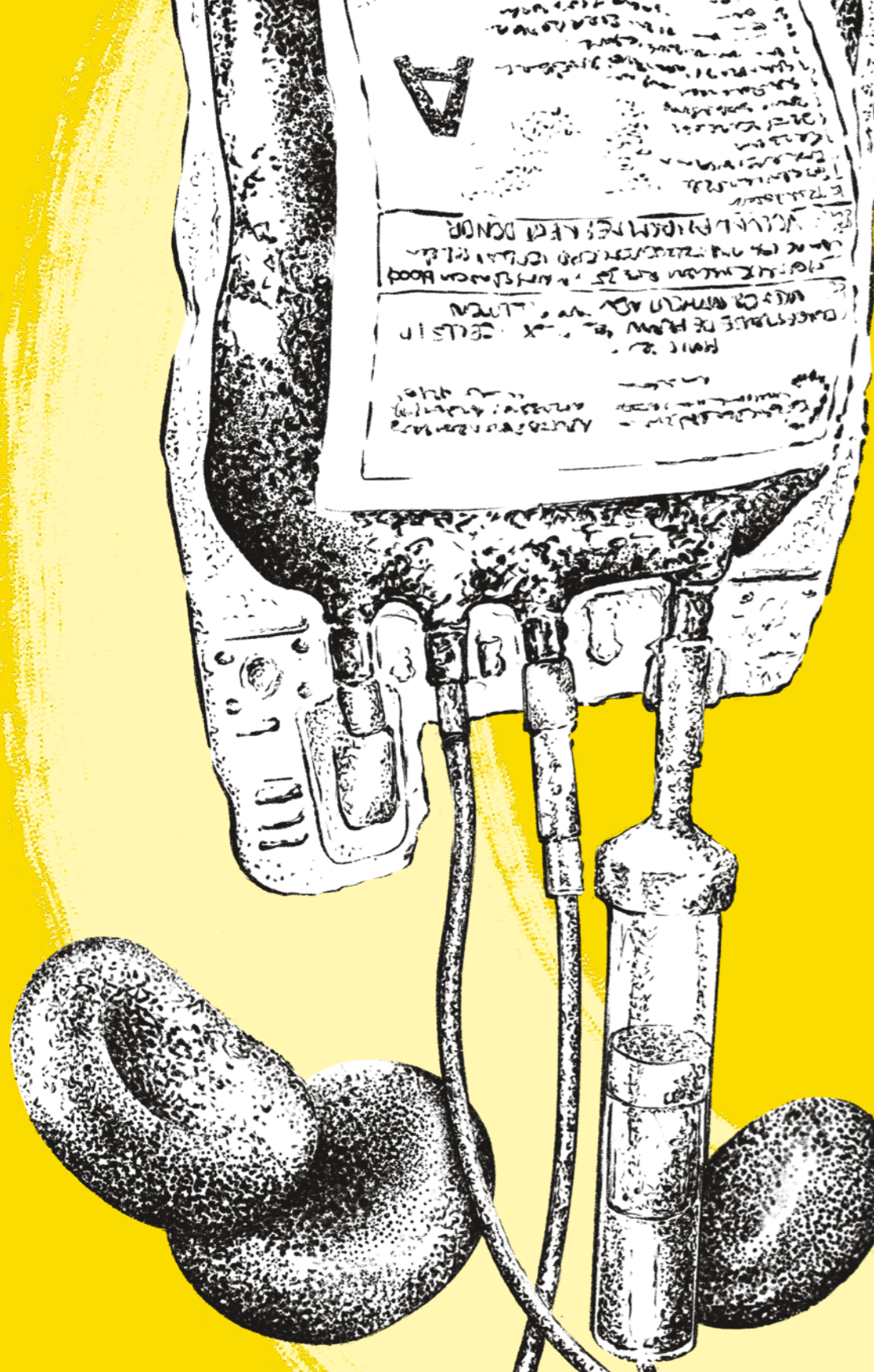
Kristallstruktur eines konformationsspezifischen Bindungspartners (schwarz) im Komplex mit hRBP4 (cyan), beladen mit einem kleinen Molekül. Die Regionen von hRBP4, die durch die Aufnahme des kleinen Moleküls Konformationsänderungen erfahren, sind gelb dargestellt.

*Crystal structure of a conformation-specific binding partner (black) in complex with hRBP4 (cyan) loaded with a small molecule. The regions of hRBP4 that undergo conformational changes due to the uptake of the small molecule are shown in yellow.*

Modifiziert nach / modified from: christian-doppler.ccri.at

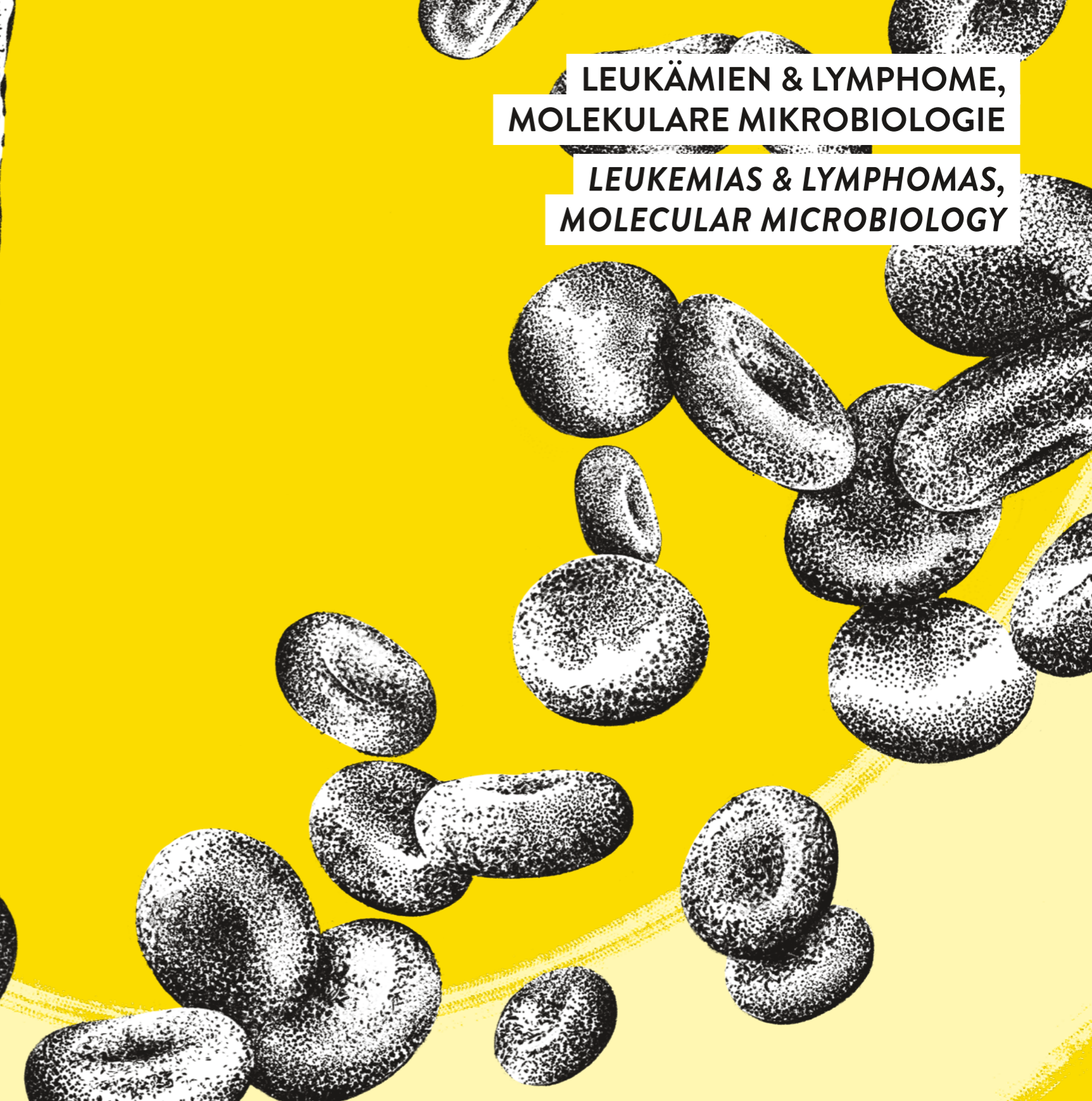
#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Zajc CU, Dobersberger M, Schaffner I, Mlynek G, Pühringer D, Salzer B, Djinović-Carugo K, Steinberger P, De Sousa Linhares A, Yang NJ, Obinger C, Holter W, Traxlmayr MW, Lehner M. A conformation-specific ON-switch for controlling CAR T cells with an orally available drug. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 Jun 30;117(26):14926. doi: 10.1073/pnas.1911154117.



**LEUKÄMIEN & LYMPHOME,  
MOLEKULARE MIKROBIOLOGIE**

**LEUKEMIAS & LYMPHOMAS,  
MOLECULAR MICROBIOLOGY**



## MICHAEL DWORZAK GROUP

Immunological Diagnostics

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Michael N Dworzak

### STAFF SCIENTISTS

Margarita Maurer-Granofszky  
Zvenyslava Husak

### PROJECT TEAM MEMBERS

Markus Diem  
Michael Reiter  
Daniel Üblagger  
Matthias Wödlinger (External, TU Wien)

### DIPLOMA STUDENTS

Filip Marjan Gallob (until 2019)  
Manfred Visagie

### TECHNICIANS

Claudia Mitteregger  
Daniela Scharner  
Angela Schumich  
Susanne Suhendra-Chen

*„Ich möchte eine Methode entwickeln, um die Heilung jedes Kindes mit akuter myeloischer Leukämie in einem individualisierten Therapieansatz möglich zu machen.“*

**“I want to develop a method to make it possible to cure every child with acute myeloid leukemia in an individualized therapy approach.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – MICHAEL DWORZAK GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Die Frage, wie man jahrzehntelange Erfahrung als Arzt und Forscher in Computeralgorithmen abbilden kann, um für Kinder mit Leukämie weltweit die bestmögliche Diagnostik verfügbar zu machen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Ein Zufall am 8. Februar 1994 spätabends: Ich habe erstmals und unerwartet mittels Durchflusszytometrie Leukämiezellen im vermeintlich gesunden Knochenmark entdeckt.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Ich würde wieder werden wollen, wer ich bin.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Du brauchst „courage and interest“.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Eine knusprige Stelze und ein kühles Blondes im Kreise meiner Freunde – und die Elefanten in Botswana.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Ich möchte eine Methode entwickeln, um die Heilung jedes Kindes mit akuter myeloischer Leukämie in einem individualisierten Therapieansatz möglich zu machen.

## MICHAEL DWORZAK – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*The question of how to reproduce decades of experience as a physician and scientist in computer algorithms to make the best possible diagnostics available for children with leukemia worldwide.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*A coincidence late in the evening on February 8, 1994: For the first time and unexpectedly I discovered leukemia cells in supposedly healthy bone marrow using flow cytometry.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I would want to become who I am again.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*You need courage and interest.*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*A crispy pork knuckle and a cool beer among my friends - and the elephants in Botswana.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*I want to develop a method to make it possible to cure every child with acute myeloid leukemia in an individualized therapy approach.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Unsere Forschungsgruppe beschäftigt sich mit der Erforschung und Weiterentwicklung innovativer diagnostischer Methoden auf Basis der Durchflusszytometrie. Unsere Themen sind hauptsächlich Leukämien und Lymphome, die wir mithilfe der Durchflusszytometrie diagnostizieren und auch im Verlauf verfolgen können. Dies ist besonders wichtig, da die Anzahl der Leukämiezellen, die nach einer bestimmten Therapiedauer noch vorhanden sind (Minimale Resterkrankung, MRD), Aufschluss über das Therapieansprechen geben kann. Damit soll erreicht werden, dass jedes einzelne Kind ganz gezielt behandelt werden kann. Das Aufspüren dieser, oftmals sehr wenigen Leukämiezellen ist eine besondere Herausforderung, insbesondere bei der akuten myeloischen Leukämie. Wir versuchen, durch eine starke internationale Vernetzung die durchflusszytometrische Erkennung der MRD zu standardisieren, um eine durchgehend gute Qualität dieser Methode zu erreichen. Des Weiteren arbeiten wir an einer Software, die die MRD automatisch erkennen kann. Wir erforschen auch krankheitsassoziierte Besonderheiten der Proteinexpression, die in Zukunft ebenso für eine individuelle Behandlung genutzt werden könnten.

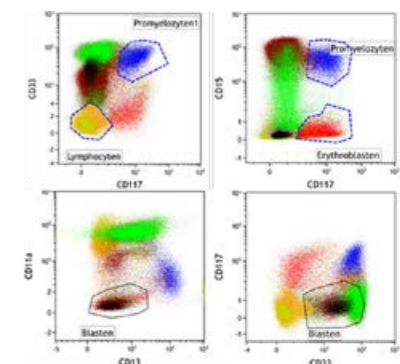
## RESEARCH FOCUS

*Our scientific group is engaged in research and further development of innovative diagnostic methods based on flow cytometry. Our topics are mainly leukemias and lymphomas, which we can diagnose with the help of flow cytometry, and also follow the course of the disease. This is particularly important because the number of leukemia cells that are still present after a certain duration of therapy (minimal residual disease, MRD) can provide information about the response to therapy. This is to ensure that each individual child can be treated in a very targeted manner. The detection of these, often very few, leukemia cells is a particular challenge, especially in acute myeloid leukemia. We are trying to standardize flow cytometric detection of MRD through strong international networking to achieve consistently good quality of this method. Furthermore, we are working on software that can automatically detect MRD. We are also investigating disease-associated specifics of protein expression, which could also be used for individual treatment in the future.*

### ABBILDUNG / FIGURE

Durchflusszytometrische Detektion von leukämischen Zellen bei pediatriischer akuter myeloischer Leukämie (AML).

*Flow cytometric detection of leukemic cells in pediatric acute myeloid leukemia (AML).*



# OSKAR HAAS GROUP

Clinical Genetics

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Oskar A Haas

## Research Scientists

Reza M Abbasi\* (until 2020)

Sören Mai\*

Gerda Modarres\*\*\*

Karin Nebral\*

Petra Zeithofer\*

## TECHNICIANS

Clemens Brunner\*\* (until 2019)

Ulrike Engel\*\*

Brigitte Grimm\*\*

Sabrina Haslinger\*

Anrea Inthal\*

Michael Kainz\*\* (until 2019)

Margit König\*

Katharina Mattes\*\* (until 2020)

Bettina Nocker\*\*

Maya-Marisol Plank\*\*

Michaela Pregesbauer\*\*

Julia Richter\*\*

Eva Winkler\*\*

Sven Wohlmacher\*\*

\* Forschung und Diagnostik / Research and Diagnostics

\*\* nur Diagnostik / Diagnostics only

\*\*\* nur Forschung / Research only



*„Die Forschung fordert von uns, selbst lieb gewonnene Erklärungsmechanismen zu hinterfragen und stattdessen neue, alternative in Betracht zu ziehen.“*

**„Research requires questioning even beloved explanatory mechanisms and considering new, alternative ones instead.“**



## KURZ NACHGEFRAGT – OSKAR HAAS GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Die Frage, wie sich das Fehlen von sozialen Interaktionen auf die zukünftige Entwicklung der Forschung auswirken wird. Ein florierender wissenschaftlicher Diskurs ohne direkten persönlichen Austausch ist für mich kaum vorstellbar.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Die Erkenntnis, wie sehr sich die Muster und Verhaltensweisen vieler physikalischer, biologischer und sozialer Phänomene ähneln. Eine Erkenntnis, die sich in meinen Versuchen, Wissenschaft und Forschung interdisziplinär und global zu erfassen, widerspiegelt.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Hinterfrage alles; eine unumgängliche Anforderung, die Forschung nicht nur interessant macht, sondern jeglichen Fortschritt auch erst ermöglicht. Überlege daher immer: Wie könnte es sonst sein?

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Mich beschäftigt bereits jahrzehntelang die Frage, wie bestimmte Kinderkrebsformen mit sehr speziellen Chromosomenmustern entstehen. Meine Vorstellung dazu ist, dass solche Malignome ursprünglich aus einer Zellfusion hervorgehen. Ich würde mir daher wünschen, dass diese Idee verifiziert wird.

## OSKAR HAAS – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*The question of how the lack of social interactions will affect the development of future research. I can hardly imagine a flourishing scientific discourse without direct personal exchange.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*The realization of how much the patterns and behaviors of many physical, biological and social phenomena resemble one another. A finding that is reflected in my attempts to understand science and research in a more interdisciplinary and global manner.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Question everything. This is an absolute necessity that not only makes research especially interesting but that essentially enables all progress in the first place. So always think about: how else could it be?*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*For decades, I have been eager to find out the origin of particular forms of childhood cancer with unique chromosome patterns. My idea is that such malignancies originally arise from a cell fusion. I would therefore like to see this idea verified.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der diagnostischen Bewertung, Klassifizierung und Erforschung von angeborenen und erworbenen genetischen Erkrankungen, vor allem von lymphatischen und myeloischen Leukämien bei Kindern. Im Laufe der Jahre haben wir die diesen Untersuchungen zugrunde liegenden molekularen und zytogenetischen Methoden kontinuierlich weiterentwickelt und verfeinert, sie an den aktuellen Stand der Technik angepasst und optimiert. Wir haben neuartige Strategien entwickelt, die eine schnelle und effiziente Auswertung aller für die Leukämiebehandlung entscheidenden genetischen Parameter ermöglichen. In enger Zusammenarbeit sowohl mit internen Gruppen als auch mit Verantwortlichen nationaler und internationaler Studien konnten wir die biologische, funktionelle und klinische Bedeutung einer Reihe von neu identifizierten subgruppenspezifischen genetischen Markern definieren. In enger Zusammenarbeit mit klinisch tätigen Kolleginnen und Kollegen führen die Ergebnisse unserer Untersuchungen zu einer verbesserten Risikostratifizierung und Behandlung der Erkrankten. Ein weiterer Schwerpunkt unserer Forschung ist die Aufklärung von genetischen Faktoren, die für maligne Erkrankungen prädisponieren, nicht nur bei Kindern mit Leukämien und soliden Tumoren, sondern auch bei anderen hämatopoetischen und immunologischen Erkrankungen.

## RESEARCH FOCUS

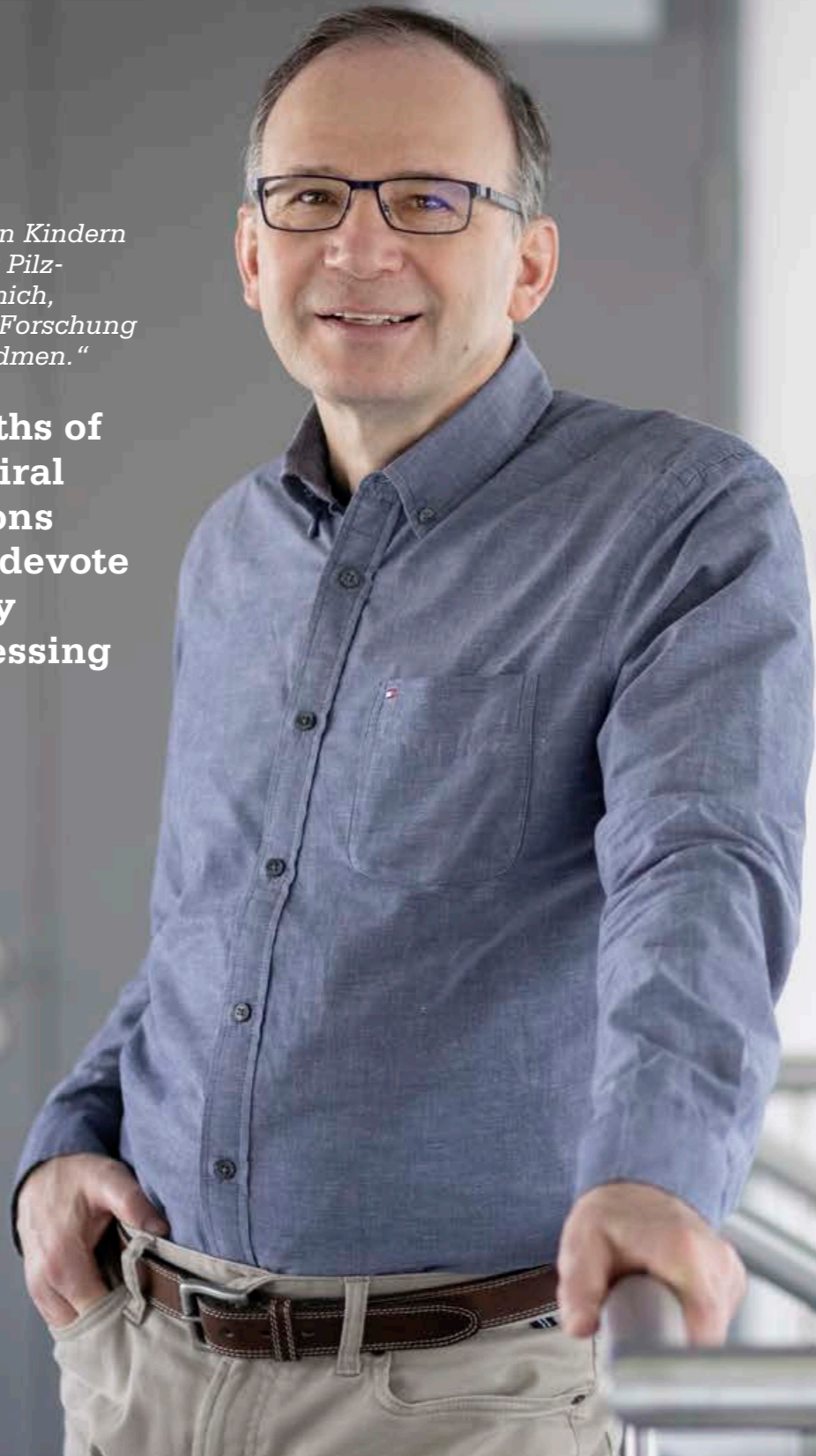
*Our group focuses on the diagnostic evaluation, classification and research of congenital and acquired genetic diseases, primarily lymphatic and myeloid leukemias in children. Over the years, we have continuously developed and refined the molecular and cytogenetic methods underlying these investigations, adapting and optimizing them according to any given state of the art, and have devised novel strategies to facilitate the rapid and efficient evaluation of any genetic parameter crucial for leukemia treatment. Working closely with both internal groups and those in charge of national and international studies, we were able to define and clarify the biological, functional and clinical significance of a number of newly identified subgroup-specific genetic markers. In close cooperation with clinically active colleagues, the results of our investigations lead to improved risk stratification and treatment of the respective patients. Another focal point of our research interest is the elucidation of genetic factors predisposing to malignant diseases, not only in children with leukemias and solid tumors but also in those with non-malignant diseases of the hematopoietic and immunological system.*

### PROJEKTE / PROJECTS

CLOSER [www.closerleukemia.eu](http://www.closerleukemia.eu)  
LEGEND [www.legend-cost.eu](http://www.legend-cost.eu)

„Miterlebte Todesfälle von Kindern aufgrund von Virus- oder Pilzinfektionen motivierten mich, einen großen Teil meiner Forschung dieser Problematik zu widmen.“

“Witnessing deaths of children due to viral or fungal infections motivated me to devote a large part of my research to addressing this problem.”



## THOMAS LION GROUP

Molecular Microbiology

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Thomas Lion

### RESEARCH

#### SENIOR POSTDOCTORAL FELLOW

Karin Kosulin (until 2020)

#### POSTDOCTORAL FELLOWS

Konstantin Byrgazov (until 2019)  
Maria Filomena De Almeida Nogueira  
Narakorn Khunweeraphong (until 2020)  
Klara Obrova  
Marlene Remely (until 2019)

#### PHD STUDENTS

Petra Pusic  
Triin Laos

#### MASTER STUDENTS

Armin Fejzic (until 2020)

#### RESEARCH ASSOCIATES

Nora Geissler (until 2019)  
Temeida Graf (until 2019)

#### TECHNICIANS

Michaela Fortschegger\*  
Sandra Preuner\*  
Isabella Sponseiler

### DIAGNOSTICS

#### TECHNICIANS

Helga Daxberger  
Lisa Größlinger  
Meryl Haas  
Gisela Hofmann (until 2019)  
Dragana Jugovic  
Olenka Klimscha  
Susanna Koskela  
Christina Walter

#### SUPPORT

Brigitte Glatz  
Claudia Gras  
Erika Lakatos (until 2019)

#### TEAM LEADER DIAGNOSTICS LEUKEMIA BIOLOGY / LABDIA

Stefan Köhrer

#### TECHNICIANS

Susanna Fischer  
Nadine Hartl (until 2019)  
Merit Alwine Hildebrandt (until 2019)  
Astrid Mecklenbräucker

\* Forschung und Diagnostik/Research and Diagnostics

## KURZ NACHGEFRAGT – THOMAS LION GANZ PERSÖNLICH

### DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:

Eine Impftechnik, die bereits vor mehr als 500 Jahren in China zum Schutz gegen Pocken eingesetzt wurde. Das Prinzip beruhte auf dem Einblasen von getrocknetem und pulverisiertem Pockenschorfmaterial in die Nasenlöcher. Diese nicht-invasive Technik könnte eine Immunität gegen respiratorische Viren an den Schleimhäuten der oberen Atemwege erzeugen.

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Als junger Arzt war das Miterleben von Todesfällen bei Kindern aufgrund von Virus- oder Pilzinfektionen, die – zumindest teilweise – auf das Fehlen von ausreichendem Wissen und geeigneter Diagnostik zurückzuführen waren, die Motivation, einen großen Teil meiner Forschungstätigkeit dieser Problematik zu widmen.

### WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:

Würde ich statt Medizin, Genetik und Sport ein Studium der Philosophie, Kunstgeschichte und Linguistik anstreben, um eine völlig andere Denkweise und Karriere zu erleben, möglicherweise als Schriftsteller.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

A lion (Lion in that case) never gives up ...

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Andere dabei zu unterstützen, ihr Potenzial zu entwickeln und auszuschöpfen.

## THOMAS LION – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*A vaccination technique against smallpox practiced in China over 500 years ago. The principle was based on blowing dried and powdered smallpox scab material into the nostrils. This non-invasive technique could stimulate immunity against respiratory viruses on mucous membranes of the upper respiratory tract.*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*As a young physician, witnessing deaths of children due to viral or fungal infections, which were – at least partially – attributable to the lack of adequate knowledge and appropriate diagnostics, provided the motivation to devote a large part of my research to addressing this problem.*

### IF I COULD BE 16 AGAIN:

*I would aim at majoring in philosophy, art history and linguistics, rather than in medicine, genetics and sports to experience an entirely different mindset and career, possibly as a writer.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*A lion (Lion in that case) never gives up.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*Support others in developing and living up to their potential.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Die 1989 gegründete Abteilung Molekulare Mikrobiologie der St. Anna Kinderkrebsforschung forscht hauptsächlich auf dem Gebiet der Mikrobiologie und der myeloischen Leukämien. So wurden neue diagnostische Assays und Methoden, die aus unserer F&E-Arbeit hervorgegangen sind, erfolgreich an unsere diagnostische Serviceeinrichtung Labdia Labordiagnostik übertragen. Ein großer Teil unserer Arbeit konzentriert sich auf Komplikationen durch Infektionen bei onkologischen Patienten, die sich einer allogenen Stammzelltransplantation oder Chemotherapie unterziehen. Eine frühe und sichere Diagnose ist hierbei eine wesentliche Voraussetzung für die erfolgreiche Therapie. Wir haben daher für viele pathogene Viren und klinisch relevante Pilzarten quantitative molekulare Nachweisverfahren entwickelt und zum Teil patentiert. Wir konnten zeigen, dass die klinische Umsetzung verschiedener in unserer Abteilung entwickelter Methoden eine frühzeitige Einschätzung drohender infektiöser Komplikationen erlaubt und die Grundlage für eine optimierte Diagnostik darstellt. In einem aktuellen europäischen Projekt, das von unserer Gruppe koordiniert wurde, konnten wir beweisen, dass molekular diagnostische Ansätze zu verbesserten Behandlungsstrategien gegen lebensbedrohliche Infektionen bei schwer immunsupprimierten Patientinnen und Patienten beitragen.

(Nogueira MF et al. *Sci Rep* 2019, 9:2018; Kosulin K et al. *Front Microbiol* 2019, 10:414; Lion T Febs Letters 2019 593: 3571; Nogueira MF et al, *Microorganisms* 2019, 7:459; Vankova E et al. *PeerJ* 2020, 8:10259)

## RESEARCH FOCUS

*Research in the field of microbiology and myeloid leukemias is the major area of activity in the Molecular Microbiology Division established in 1989. The exploitation of diagnostic assays emanating from our R&D work and the performance of specific developmental tasks were successfully transferred to our diagnostic institution Labdia Labordiagnostik. A major part of our work is focused on infectious problems in oncological patients undergoing allogeneic stem cell transplantation or chemotherapy. Early and reliable diagnosis is an essential prerequisite for successful therapy. We have therefore developed and, in part, patented quantitative molecular detection assays for many pathogenic viruses and clinically relevant fungal species. We were able to demonstrate that the clinical implementation of various methods developed in our division permits early assessment of impending infectious complications and provides a basis for optimized diagnostics. In a recent European project coordinated by our group, we have demonstrated that molecular diagnostic approaches contribute to improved treatment strategies against life-threatening infections in severely immunocompromised patients.*

(Nogueira MF et al. *Sci Rep* 2019, 9:2018; Kosulin K et al. *Front Microbiol* 2019, 10:414; Lion T Febs Letters 2019 593: 3571; Nogueira MF et al, *Microorganisms* 2019, 7:459; Vankova E et al. *PeerJ* 2020, 8:10259)

Die KMU Labdia Labordiagnostik GmbH wurde im Jahr 2006 (mit Prof. Thomas Lion, MD, PhD, MSc, als medizinischem Direktor) als gemeinnützige Tochtergesellschaft der St. Anna Kinderkrebsforschung mit dem Ziel gegründet, neue innovative diagnostische Ansätze zu entwickeln und anzubieten. Die Hauptbereiche unserer Tätigkeit sind Hämatologie/Onkologie und Infektiologie. Derzeit widmen sich mehr als 50 Mitarbeiter in Teil- oder Vollzeit der Entwicklung und Diagnostik von Labdia.

In enger Zusammenarbeit mit der St. Anna Kinderkrebsforschung und anderen nationalen und internationalen Forschungszentren etablieren und validieren wir kontinuierlich neue Assays und führen diese in die klinische Diagnostik ein. Alle angebotenen diagnostischen Tests, die zum Teil patentiert wurden, basieren auf unserer eigenen Forschung und Entwicklung. Wir arbeiten aktiv in nationalen und internationalen Gremien mit, die sich mit der Standardisierung verschiedener diagnostischer Methoden befassen, und haben in von der Europäischen Kommission geförderten Projekten internationale Aktivitäten auf dem Gebiet der diagnostischen Entwicklung koordiniert. Durch die etablierte Vernetzung mit anderen führenden diagnostischen Zentren in Europa, die regelmäßige Teilnahme an nationalen und internationalen Ringversuchen und die enge Verzahnung mit Forschung und Entwicklung hat Labdia Zugang zu neuestem technischem Know-how und bietet hohe Kompetenz in der Spezialdiagnostik.

*The SME Labdia Labordiagnostik GmbH was established in the year 2006 (with Prof. Thomas Lion, MD, PhD, MSc, as Medical Director) as a nonprofit subsidiary of the St. Anna Children's Cancer Research Organization, with the aim of promoting development and offering innovative diagnostic approaches. The main areas of our activity include hematology/oncology and infectiology. Currently, more than 50 part-time or full-time co-workers support the diagnostic and developmental activities of Labdia.*

*In close cooperation with the St. Anna Children's Cancer Research Institute (CCRI) and other national and international research centers, we are continuously establishing and validating new assays and introducing them into clinical diagnostics. All diagnostic tests provided are based on our own developments, some of which have been patented. We actively participate in national and international boards focusing on the standardization of different diagnostic methodologies, and have coordinated European activities in the field of diagnostic development in projects supported by the European Commission. Owing to the established network with other leading diagnostic centers in Europe, our regular participation in national and international control rounds, and our tight links with research and development, Labdia has access to the latest technical know-how and offers high competence in specialized diagnostic services.*

Neben unserer Tätigkeit als diagnostisches Referenzzentrum für nationale und internationale Therapiestudien bietet Labdia ihre Leistungen auch für einzelne Patientinnen und Patienten an, die in Österreich und anderen Ländern behandelt werden. Zu den wichtigsten diagnostischen Methoden, die Labdia derzeit anbietet, gehören molekulargenetische Tests, zytogenetische Analysen, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs (FISH)-Assays, pharmakokinetische Analysen, Durchflusszytometrie und Zellsortierung mittels FACS sowie die Untersuchung von DNA-Mutationen mittels verschiedener Techniken. Labdia ist ein international zertifiziertes Kompetenzzentrum für die umfassende Diagnostik von pädiatrischen soliden Tumoren und akuten Leukämien sowie der chronischen myeloischen Leukämie (CML), die einen wichtigen Schwerpunkt innerhalb unseres diagnostischen Spektrums darstellt. Das aktuelle Angebot an diagnostischen Tests umfasst außerdem vererbte genetische Erkrankungen. Eine umfassende Zusammenstellung der von den einzelnen Abteilungen der Labdia Labordiagnostik angebotenen Analysen findet sich auf unserer Website [www.labdia.at](http://www.labdia.at).

*In addition to our activities as a diagnostic reference center for national and international therapeutic trials, Labdia also offers its services to individual patients treated at various centers in Austria and other countries. The most important diagnostic methodologies currently offered by Labdia include molecular genetic testing, cytogenetic analyses, fluorescence in situ hybridization (FISH) assays, pharmacokinetic analyses, flow cytometry and cell sorting by FACS, as well as investigation of DNA mutations by various techniques. Labdia is an internationally certified competence center for comprehensive diagnostics of pediatric solid tumors and acute leukemias as well as chronic myeloid leukemia (CML), which is an important focus within our spectrum of diagnostic activities. The current range of diagnostic tests also covers inherited genetic disorders, and a comprehensive compilation of analyses offered by individual divisions of Labdia Labordiagnostik is displayed on our website [www.labdia.at](http://www.labdia.at).*

# SABINE STREHL GROUP

Genetics of Leukemias

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Sabine Strehl

## STAFF SCIENTIST

Klaus Fortschegger

## POSTDOCTORAL FELLOW

Dagmar Schinnerl

## PHD STUDENT

Clara Hechenberger (until 2020)

## DIPLOMA STUDENT

Sophie Charlotte Knoll

## TECHNICIANS

Margit König  
Marion Riebler

*„Ich möchte Wege finden, krebserkrankten Kindern eine hochtoxische Behandlung zu ersparen, ohne die Überlebensraten zu beeinträchtigen.“*

**“I want to find ways to spare children with cancer from highly toxic treatment without compromising survival rates.”**



Vorsicht!  
Biogefährdung

## KURZ NACHGEFRAGT – SABINE STREHL GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Die Frage, welchen Einfluss – positiv oder negativ – die COVID-19-Pandemie auf die Krebsforschung haben wird.

**DIESES EREIGNIS HAT MEIN  
FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:**  
Ein Ehepaar zu sehen, das den Verlust seines an Leukämie verstorbenen Kindes betrauert.

**WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:**  
Ehrlich gesagt, möchte ich nicht wieder 16 sein.

**DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:**  
Erhalte dir deinen Humor und lerne auch über dich selbst zu lachen.

**MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:**  
Bleib neugierig!

**DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“  
AM MEISTEN:**  
Menschen wieder persönlich zu treffen.

**DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:**  
Ich möchte Wege finden, krebserkrankten Kindern eine hochtoxische Behandlung zu ersparen, ohne die Überlebensraten zu beeinträchtigen.

## SABINE STREHL – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

**THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:**  
*The question of what impact – positive or negative – the COVID-19 pandemic will have on cancer research.*

**THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE  
AS A RESEARCHER:**  
*Seeing a couple grieving the loss of their child who died of leukemia.*

**IF I COULD BE 16 AGAIN:**  
*Honestly, I don't want to be 16 again.*

**THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:**  
*Keep your humor and learn to laugh at yourself.*

**MY MOTTO IN RESEARCH:**  
*Stay curious!*

**THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST  
“AFTER CORONA”:**  
*Meeting people in person.*

**THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE  
TO ACHIEVE/INVENT:**  
*I want to find ways to spare children with cancer from highly toxic treatment without compromising survival rates.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Akute Leukämie ist die häufigste bösartige Erkrankung im Kindesalter und macht etwa 30% aller bei Kindern diagnostizierten Krebserkrankungen aus.

Sie ist jedoch keine einheitliche Krankheit, sondern weist eine bemerkenswerte genetische Vielfalt spezifischer Entitäten mit unterschiedlichen klinischen Merkmalen und Ergebnissen auf. Wir untersuchen den Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen und dem Ansprechen auf die Behandlung, um zu ermitteln, ob und welche Veränderungen als Biomarker zur Verbesserung der Risikostratifizierung verwendet werden können. Derzeit konzentrieren wir uns auf DUX4-Umlagerungen („Rearrangements“) bei der B-Zell-Leukämie, einer neuen Entität, deren prognostische Relevanz noch nicht ganz klar ist.

Andererseits wollen wir die kritischen Prozesse der Leukämogenese verstehen und etablieren innovative zelluläre Modellsysteme, die die „Krankheit in der Petrischale“ möglichst originalgetreu rekapitulieren. Zu diesem Zweck untersuchen wir CRISPR/Cas9-Genom-editierte humane induzierte pluripotente Stammzelllinien einer In-vitro-Differenzierung, um den Einfluss spezifischer Onkoproteine auf die Entwicklung und Klonogenität (= die Fähigkeit, Klone zu bilden) hämatopoetischer Vorläuferzellen zu untersuchen.

## RESEARCH FOCUS

*Acute leukemia is the most common childhood malignancy and accounts for roughly 30% of all cancers diagnosed in children.*

*However, it is not just one single disease but has a remarkable genetic diversity, defining specific entities, clinical features, and outcomes. We examine the association between genetic alterations and response to treatment to evaluate whether they may be used as biomarkers to refine risk stratification. Currently, we focus on DUX4-rearranged B-cell leukemia, a novel entity, whose prognostic relevance is not entirely clear yet.*

*On the other hand, we aim to understand the critical processes of leukemogenesis and are establishing innovative cellular model systems, which faithfully recapitulate the “disease in a dish”. To this end, we are subjecting CRISPR/Cas9 genome-edited human induced pluripotent stem cell lines to in vitro differentiation in order to study the impact of specific oncoproteins on the development and clonogenicity of hematopoietic progenitors.*

**PUBLIKATIONEN**

***PUBLICATIONS***

## PROFILERSTELLUNG VON ZELLOBERFLÄCHENMARKERN HILFT BEI DER BESTIMMUNG EINES GENETISCHEN LEUKÄMIE-SUBTYPUS.

### DIE AKUTE LYMPHOBLASTISCHE LEUKÄMIE IST EINE HETEROGENE ERKRANKUNG.

Das letzte Jahrzehnt war geprägt von außerordentlichen Fortschritten bei der Erforschung der genetischen Grundlagen der akuten lymphatischen Leukämie (ALL), der häufigsten bösartigen Erkrankung im Kindesalter. Genomweite Analysen haben gezeigt, dass die B-Zell-Vorläufer-ALL (B-ALL) mehrere Subtypen umfasst, die unterschiedliche Konstellationen von somatischen strukturellen DNA-Umlagerungen und Sequenzmutationen aufweisen, die die lymphatische Entwicklung, entscheidende Signalwege, die Tumorsuppression und die Chromatinmodifikationen beeinflussen können. Diese genetischen Subtypen haben biologische und klinische Krankheitsentitäten zur Folge, die sich auf das Outcome der Patienten auswirken und Konsequenzen für die Risikostratifizierung haben.

### DIAGNOSTISCHE HERAUSFORDERUNGEN IM ZUSAMMENHANG MIT DUX4-UMLAGERUNGEN

Erst vor wenigen Jahren wurde ein neuer genetischer Subtyp der B-ALL entdeckt, der 5–7% aller Fälle ausmacht und durch *DUX4*-Gen-„Rearrangements“ gekennzeichnet ist (Lilljebjörn *et al.*, Nature Communications 2016; Yasuda *et al.*, Nature Genetics 2016; Zhang *et al.*, Nature Genetics 2016). In normalen Zellen ist eine Kopie von *DUX4* innerhalb jeder der bis zu 100 Kopien der D4Z4-Makrosatelliten-Repeats vorhanden, die sich in den telomeren Regionen der Chromosomen 4q35 und 10q26 befinden. In *DUX4*-rearrangierten Leukämien werden ein bis zwei vollständige oder partielle D4Z4-Repeats in den *IGH*-Lokus

## CELL SURFACE MARKER EXPRESSION PROFILING AIDS THE PREDICTION OF A GENETIC SUBTYPE OF LEUKEMIA

### ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IS A HETEROGENEOUS DISEASE.

*The past decade has been marked by extraordinary advances into the genetic basis of acute lymphoblastic leukemia (ALL), which is the most common childhood malignancy. Genome-wide analyses have revealed that B-cell precursor ALL (B-ALL) comprises multiple subtypes harboring distinct constellations of somatic structural DNA rearrangements and sequence mutations, which affect lymphoid development, crucial signaling pathways, tumor suppression, and chromatin modifications. These genetic subtypes constitute biological and clinical disease entities, which have an impact on the outcome of the patients and consequences for risk stratification.*

### DIAGNOSTIC CHALLENGES ASSOCIATED WITH DUX4 REARRANGEMENTS

*Only a few years ago, a novel genetic subtype of B-ALL, accounting for 5–7% of all cases characterized by DUX4 gene rearrangements, has been discovered (Lilljebjörn *et al.*, Nature Communications 2016; Yasuda *et al.*, Nature Genetics 2016; Zhang *et al.*, Nature Genetics 2016). In normal cells, a copy of DUX4 is present within each of the up to 100 copies of the D4Z4 macro-satellite repeat array located in the telomeric regions of chromosomes 4q35 and 10q26. In DUX4-rearranged leukemia, 1–2 complete or partial D4Z4 repeats are inserted into the IGH locus, placing DUX4 under the control of the IGH enhancer, which drives the expression of the usually silenced gene. These rearrangements ultimately result in the expression of C-terminally*

eingefügt, wodurch *DUX4* unter die Kontrolle des *IGH*-Transkriptionsverstärkers („Enhancer“) gerät, was die Expression des normalerweise stillgelegten Gens antreibt. Diese Rearrangements führen letztendlich zur Expression von C-terminal verkürzten *DUX4*-Protein-Isoformen, zu einer sehr ausgeprägten Genexpressionssignatur und entweder zur Deletion oder Deregulation des *ERG*-Gens.

*DUX4*-Rearrangements sind kryptisch und ihr Nachweis entgeht den Standard-Diagnostetechniken. Derzeit sind Genexpressionsprofile mittels Microarray-Analyse oder idealerweise Next-Generation-Sequencing-Ansätzen, insbesondere Whole-Transcriptome-Sequencing, die einzigen Möglichkeiten, diesen Subtyp der Leukämie zu identifizieren. Die Anwendung dieser Technologien ist jedoch zeitaufwendig, teuer und für viele Studienzentren noch nicht in einem diagnostischen Setting durchführbar. Obwohl *ERG*-Deletionen, die durch Single-Nucleotide-Polymorphism (SNP)-Array-Analyse leicht nachweisbar sind, als Surrogatmarker zur Identifizierung dieser Untergruppe der B-ALL dienen können, treten sie nur in etwa der Hälfte der Fälle mit *DUX4*-Rearrangements auf.

### DURCHFLUSSZYTOMETRIE ALS LEICHT ANWENDBARES WERKZEUG ZUR IDENTIFIZIERUNG VON LEUKÄMIE MIT DUX4-REARRANGEMENT

Beim Durchstöbern der Genexpressionsdaten stellten wir fest, dass *CLEC12A*, ein Gen, das für das Zelloberflächenprotein CD371 kodiert, in *DUX4*-positiven Leukämien hochexprimiert wird.

*truncated DUX4 protein isoforms, a highly distinctive gene expression signature, and either deletion or deregulation of the ERG gene.*

*DUX4 rearrangements are cryptic and their detection escapes standard diagnostic techniques. Currently, gene expression profiling by microarray analysis or, ideally, next-generation sequencing approaches, in particular whole transcriptome sequencing, are the only options to identify this subtype of leukemia. However, the application of these technologies is time-consuming, rather expensive, and, for many study centers, not yet feasible in a diagnostic setting. Although ERG deletions, which are easily detectable by single nucleotide polymorphism (SNP) array analysis, may serve as a surrogate marker to identify this subgroup of B-ALL, they occur only in roughly half of the DUX4-rearranged cases.*

### FLOW CYTOMETRY AS SIMPLE TOOL TO IDENTIFY DUX4-REARRANGED LEUKEMIA

*Browsing through gene expression data, we realized that CLEC12A, the gene which encodes the cell surface protein CD371, is highly expressed in DUX4-positive leukemia. This antigen has already attracted attention in another context as its expression is associated with so-called ‘switch’ ALL, which has a propensity to switch to monocyte-like cells upon treatment with corticosteroids (Dworzak *et al.*, Cytometry Part B: Clinical Cytometry 2018). Therefore, a significant number of patients with various genetic subtypes has previously been analyzed*



Dieses Antigen hat bereits in einem anderen Zusammenhang Aufmerksamkeit erregt, da seine Expression mit der sogenannten „Switch“-ALL assoziiert ist, einer Krankheit, die die Neigung hat, bei Behandlung mit Kortikosteroiden zu monozytenähnlichen Zellen zu wechseln (Dworzak *et al.*, Cytometry Part B: Clinical Cytometry 2018). So wurde eine signifikante Anzahl von Erkrankten mit verschiedenen genetischen Subtypen auf die CD371-Antigenexpression untersucht. Um Synergien zu schaffen, schlossen sich daher die Gruppen Leukämiegenetik und Immunologische Diagnostik der St. Anna Kinderkrebsforschung gemeinsam mit Kolleginnen und Kollegen aus Tschechien zusammen.

Durch die Auswertung von Durchflusszytometriedaten und deren Korrelation mit genetischen Subtypen, darunter fast 50 *DUX4*-positive Fälle, die durch RNA-Sequenzierung identifiziert wurden, konnten wir zeigen, dass die CD371-Zelloberflächenexpression typisch für *DUX4*-rearrangierte Leukämien ist (Abbildung). Nur ein geringer Anteil der Fälle mit anderen bekannten genetischen Subtypen, die üblicherweise in der Routinediagnostik erfasst werden und daher ausgeschlossen werden können, erwies sich als nur schwach positiv für dieses Antigen.

Die bemerkenswerte Erkenntnis, dass ein einziges, durch Durchflusszytometrie erfassbares Zelloberflächenprotein als Surrogatmarker zur Identifizierung der *DUX4*-rearrangierten Leukämie dienen kann, wird die Detektion und weitere Untersuchung dieser Krankheitsentität sowie die Bestimmung ihrer prognostischen Bedeutung erheblich erleichtern.

*for CD371 antigen expression. Hence, in order to create synergies, the Genetics of Leukemias and Immunological Diagnostics groups of the St. Anna Children's Cancer Research Institute teamed up and joined forces with colleagues from the Czech Republic.*

*By assessing flow cytometry data and correlating them with genetic subtypes, including almost 50 DUX4-positive cases identified by RNA sequencing, we were able to show that CD371 cell surface expression is typical of DUX4-rearranged leukemia (figure). Only a minor proportion of cases with other known genetic subtypes, which are usually assessed by routine diagnostics and can therefore be excluded, turned out to be just weakly positive for this antigen.*

*The remarkable finding that one single cell surface protein simply analyzed by flow cytometry may serve as a surrogate marker to identify DUX4-rearranged leukemia will considerably facilitate the detection and further investigation of this disease entity as well as the determination of its prognostic relevance.*

#### RISIKOSTRATIFIZIERUNG UND KLINISCHES ERGEBNIS BEI LEUKÄMIE MIT *DUX4*-REARRANGEMENT

Mehrere Studien haben berichtet, dass B-ALL mit *ERG*-Deletionen eine günstige Prognose haben, selbst bei gleichzeitigen *IKZF1*-Deletionen, die in einem anderen genetischen Kontext mit schlechterem Überleben verbunden sind (Clappier *et al.*, Leukemia 2013; Zaliouva *et al.*, Leukemia 2014). Die Verwendung von *ERG*-Deletionen als Surrogatmarker für *DUX4*-rearrangierte Leukämien erfasst jedoch nur einen Teil der Patienten. Daher bleibt zu klären, ob nur Patienten mit *ERG*-Deletionen oder die gesamte Kohorte der *DUX4*-positiven Patientinnen und Patienten ein besseres klinisches Ergebnis hat, und unter welchen Behandlungsbedingungen. Mit einer Kombination aus Zelloberflächenmarker-Profilierung und vollständiger Transkriptom-Sequenzierung zur Identifizierung aller *DUX4*-positiven B-ALL-Kranken wollen wir nun genau diese Fragen beantworten.

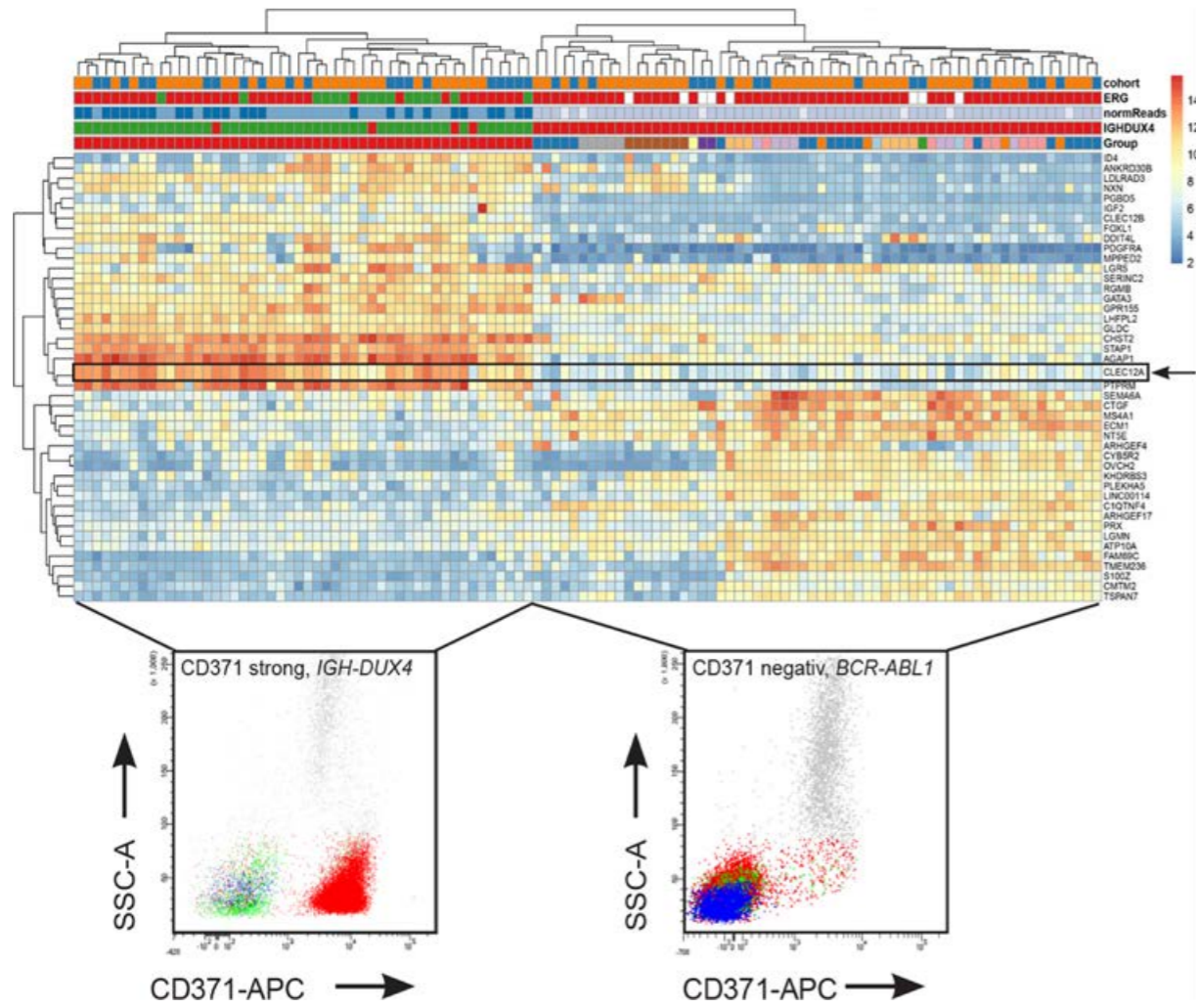
#### PUBLIKATION / PUBLICATION

Schinnerl D\*, Mejstrikova E\*, Schumich A\*, Zaliouva M\*, Fortschegger K, Nebral K, Attarbaschi A, Fiser K, Kauer MO, Popitsch N, Haslinger S, Inthal A, Buldini B, Basso G, Bourquin JP, Gaipa G, Brüggemann M, Feuerstein T, Maurer-Granoszky M, Panzer-Grümayer R, Trka J, Mann G, Haas OA, Hrusak O, Dworzak MN#, Strehl S#. CD371 cell surface expression: a unique feature of *DUX4*-rearranged acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019 Aug;104(8):e352-e355. doi: 10.3324/haematol.2018.214353. Epub 2019 Jan 31.

\*contributed equally as first authors, # shared senior and corresponding authors

#### RISK STRATIFICATION AND OUTCOME OF PATIENTS WITH *DUX4*-REARRANGED LEUKEMIA

*Several studies have reported that B-ALL with ERG deletions has a favorable prognosis, even in the presence of concomitant IKZF1 deletions, which in other genetic contexts are associated with an inferior survival (Clappier et al., Leukemia 2013; Zaliouva et al., Leukemia 2014). However, using ERG deletions as a surrogate marker for DUX4-rearranged leukemia detects only a subset of the patients. Therefore, it remains to be determined whether only patients with ERG deletions or the entire cohort of DUX4-positive patients have a superior outcome, and under which treatment conditions. Using a combination of cell surface marker profiling and whole transcriptome sequencing to identify all DUX4-positive B-ALL patients, we now aim to answer exactly these questions.*



**ABBILDUNG / FIGURE**

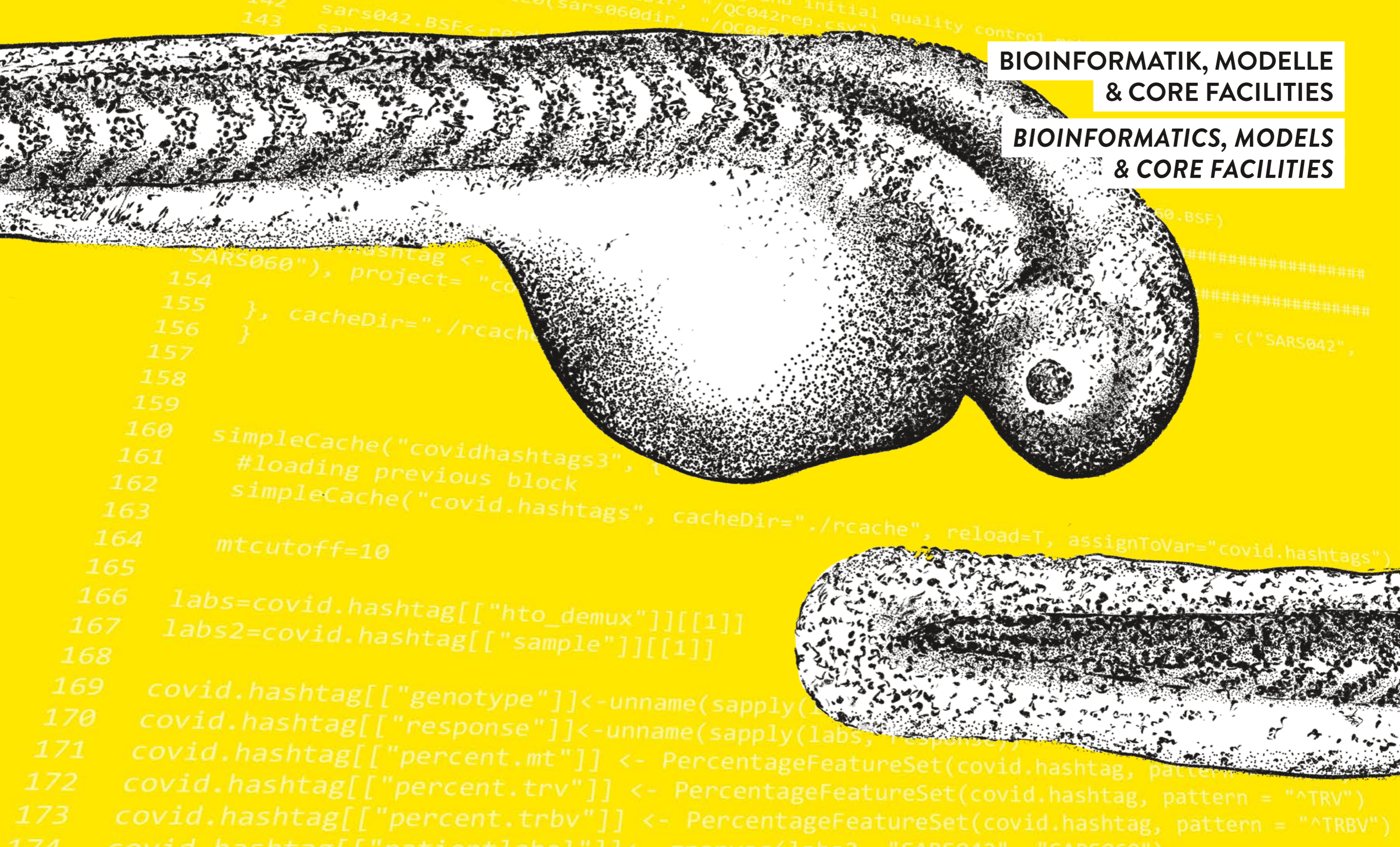
*DUX4*-positive Leukämien zeigen nicht nur eine charakteristische Transkriptomsignatur, sondern auch eine hohe Expression von *CLEC12A* und subtypspezifische Expression des Oberflächenproteins CD371.

*DUX4*-positive leukemia not only shows a characteristic transcriptome signature, but also high expression of *CLEC12A* and concomitant subtype specific expression of CD371 surface protein.

Modifiziert nach/modified from:  
Schinnerl et al., Haematologica. 2019

**BIOINFORMATIK, MODELLE  
& CORE FACILITIES**

**BIOINFORMATICS, MODELS  
& CORE FACILITIES**



```
142 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
143 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
144 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
145 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
146 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
147 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
148 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
149 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
150 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
151 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
152 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
153 sars042.BSF<-read.csv("sars060dir", "QC042rep.csv")
154 "SARS060"), project= "co
155 }, cacheDir="./rcache
156 }
157
158
159
160 simpleCache("covidhashtags3",
161 #loading previous block
162 simpleCache("covid.hashtags", cacheDir="./rcache", reload=T, assignToVar="covid.hashtags")
163
164 mtcutoff=10
165
166 labs=covid.hashtag[["hto_demux"]][[1]]
167 labs2=covid.hashtag[["sample"]][[1]]
168
169 covid.hashtag[["genotype"]]<-unnname(sapply(
170 covid.hashtag[["response"]]<-unnname(sapply(labs, response,
171 covid.hashtag[["percent.mt"]<- PercentageFeatureSet(covid.hashtag, pattern
172 covid.hashtag[["percent.trv"]<- PercentageFeatureSet(covid.hashtag, pattern = "^TRV")
173 covid.hashtag[["percent.trbv"]<- PercentageFeatureSet(covid.hashtag, pattern = "^TRBV")
174 covid.hashtag[["patientlabel"]]<- sapply(labs2, "SARS042", "SARS060")
```

# MARTIN DISTEL GROUP

Innovative Cancer Models

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Martin Distel

## STAFF SCIENTIST

Stefanie Kirchberger

## PHD STUDENTS

Sarah Grissenberger

Elisabeth Steindl (until 2019)

Adam Varady

## MASTER STUDENTS

Marcus Strobl (until 2019)

## STUDENT ASSISTANTS

Luisa Morelli (until 2019)

Anna Pap (until 2020)

Johanna Rohrhofer (until 2019)

Julia Costea (until 2019)

Alexander Kaptejna

Daniya Zakai

## TECHNICIANS

Susana Pascoal (until 2020)

Eva Scheuringer

Caterina Sturtzel

Andrea Wenninger-Weinzierl

## AQUATIC TECHNICIAN

Benjamin Natha



*„Bleibe neugierig und arbeite an Projekten, die dich begeistern!“*

**“Stay curious and work on projects that excite you!”**

## KURZ NACHGEFRAGT – MARTIN DISTEL GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Unter anderem die Landung von Perseverance auf dem Mars und eine steinzeitliche Höhle, in der Neandertaler lebten.

**DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:**  
Als ich zum ersten Mal markierte Zellen eines Zebrafisches unter einem Konfokalmikroskop gesehen habe.

**DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:**  
In Bezug auf wissenschaftliche Forschung: Arbeite an Projekten, die dich begeistern!

**MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:**  
Immer unvoreingenommen und neugierig bleiben.

**DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:**  
Freunde treffen und Reisen.

**DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:**  
Neue therapeutische Strategien für Kinderkrebs entwickeln.

## MARTIN DISTEL – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

**THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:**  
*Among other things, the Mars landing of Perseverance and a Stone Age cave where Neanderthals lived.*

**THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:**  
*The first time I saw labeled cells of a zebrafish under a confocal microscope.*

**THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:**  
*In terms of scientific research: work on projects that excite you.*

**MY MOTTO IN RESEARCH:**  
*Always keep an open mind and stay curious.*

**THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:**  
*Meeting friends and traveling.*

**THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:**  
*To develop new therapeutic strategies for childhood cancer.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Wir nutzen Zebrafischlarven als Modell für pädiatrische Krebsforschung, um Einblicke in die Tumorentstehung und -progression zu gewinnen. Wir nutzen insbesondere die Möglichkeiten der Live-Bildgebung und des Wirkstoffscreenings, die das Zebrafischlarvenmodell bietet, um die der Tumorentstehung zugrunde liegenden Mechanismen zu charakterisieren und neue Krebstherapien zu identifizieren.

Um Krebs in Zebrafischlarven nachzubilden, verfolgen wir zwei komplementäre Strategien: i) Gentechnik zur Expression von menschlichen Onkogenen in Zebrafischen und ii) Xenotransplantation von menschlichen Krebszellen in Zebrafischembryonen.

In den letzten zwei Jahren haben wir erfolgreich Zebrafisch-Xenotransplantationsmodelle für Ewing-Sarkom, Osteosarkom und Neuroblastom etabliert und konnten eine neue Kombinations-therapie-Strategie für das Ewing-Sarkom identifizieren. Darüber hinaus haben wir zusammen mit dem Christian Doppler Labor unter der Leitung von Manfred Lehner den Nachweis erbracht, dass Zebrafisch-Xenotransplantationsmodelle für die präklinische Evaluierung von CAR-T-Zellen eingesetzt werden können. Wir gehen davon aus, dass von Patientinnen und Patienten abgeleitete Zebrafisch-Xenotransplantationsmodelle in Zukunft zur Identifizierung von maßgeschneiderten Therapien eingesetzt werden.

Die Automatisierung des Wirkstoffscreenings an Zebrafischlarvenmodellen war ein weiterer Schwerpunkt der Gruppe, der in der Etablierung der neuen ZANDR-Plattform gipfelte.

## RESEARCH FOCUS

*We are using zebrafish as a model in pediatric cancer research to gain insights into tumor initiation and progression. We especially exploit the live imaging and drug screening opportunities the zebrafish model offers to characterize mechanisms underlying tumorigenesis and to identify new anti-cancer therapies.*

*To model cancer in zebrafish we are following two complementary strategies: i) genetic engineering to express human oncogenes in zebrafish and ii) xenotransplantation of human cancer cells into zebrafish embryos.*

*Over the last two years, we successfully established zebrafish xenotransplantation models for Ewing sarcoma, osteosarcoma and neuroblastoma and were able to identify a new combination therapy strategy for Ewing sarcoma. Furthermore, we provided a proof of principle that zebrafish xenotransplantation models can be applied for preclinical evaluation of CAR T cells together with the Christian Doppler Laboratory coordinated by Manfred Lehner. We envision that patient-derived zebrafish xenotransplantation models will be used in the future to identify patient-tailored therapies.*

*Automation of drug screening on zebrafish models was another focus of the group, which culminated in the establishment of the new ZANDR platform.*

### ZANDR CORE FACILITY

Nach einer fast zweijährigen Aufbauphase wurde im Oktober 2019 unsere neue „Zebrafisch-Plattform Österreich für präklinisches Wirkstoffscreening“ (ZANDR) im Rahmen eines internationalen Eröffnungssymposiums mit ausgezeichneten Vorträgen von Fachexperten eingeweiht. Die Etablierung dieser Infrastruktur war nur durch die großzügige Förderung der Österreichischen Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) möglich. Ein wichtiger Kooperationspartner ist Stefan Kubicek von der Plattform Austria for Chemical Biology, der den Zugang zu Wirkstoff-Bibliotheken ermöglicht.

ZANDR ist eine einzigartige Plattform, die speziell entwickelt wurde, um ein automatisiertes Screening von kleinen Substanzen an Zebrafisch-Krankheitsmodellen mit modernster Ausrüstung zu ermöglichen ([www.zandr-ccri.at](http://www.zandr-ccri.at)).

Wir haben erfolgreich Schlüsselschritte des Wirkstoff-Screening-Workflows automatisiert, um den Durchsatz zu erhöhen, insbesondere das Sortieren der Zebrafische in 96-Well-Platten nach Fluoreszenz, den Transfer der Fische aus 96-Well-Platten, die Bildgebung und Bildanalyse.

Wir konnten bereits die Funktionalität und Leistungsfähigkeit der neuen Plattform für das Screening von kleinen Wirkstoffen gegen das Ewing-Sarkom demonstrieren. Wir waren in der Lage, neue Kombinationstherapiestrategien zu identifizieren, die Ewing-Sarkom-Zellen in unserem Zebrafisch-Ewing-Sarkom-Xenotransplantationsassay vollständig zerstörten.

### ZANDR CORE FACILITY

*After an almost two-year building phase, we inaugurated our new “Zebrafish platform Austria for preclinical drug screening” (ZANDR) with an international opening symposium and fantastic talks by leaders of the field in October 2019. Establishment of this infrastructure was only possible through generous funding by the Austrian Research Promotion Agency (FFG). An important collaborator is Stefan Kubicek at the Platform Austria for Chemical Biology, who provides access to small compound libraries.*

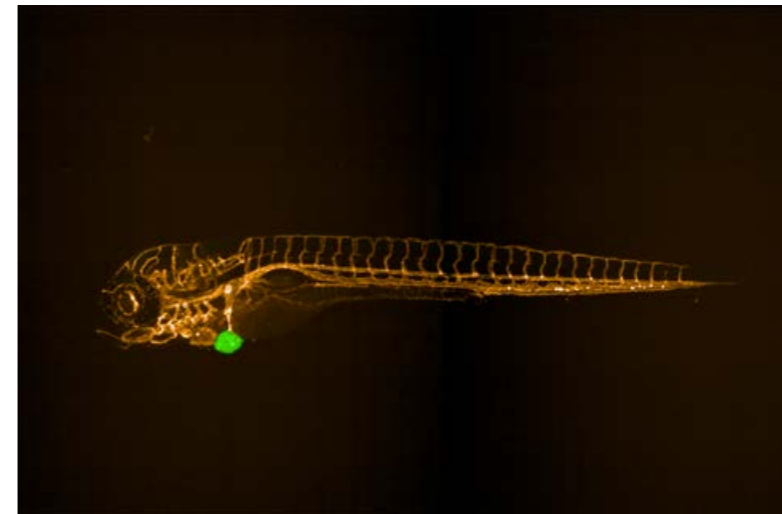
*ZANDR is a unique platform, specifically designed to enable automated small compound screening on zebrafish disease models with cutting-edge equipment ([www.zandr-ccri.at](http://www.zandr-ccri.at)).*

*We successfully automated key steps of the drug screening workflow to increase throughput, including sorting of zebrafish into 96 well plates according to fluorescence, transfer from 96 well plates, imaging and image analysis.*

*We could already demonstrate the functionality and power of the new platform for screening small compounds effective against Ewing sarcoma. We were able to discover new combination therapy strategies, which completely eradicated Ewing sarcoma cells in our zebrafish Ewing sarcoma xenotransplantation assay.*

Unsere Plattform steht der internationalen Forschungsgemeinschaft für gemeinsame Projekte offen und trotz mehrfacher Lockdowns konnten wir im Jahr 2020 an mehr als zehn Kollaborationen teilnehmen, die bereits zu vier Publikationen geführt haben.

*Importantly, the platform is open to the international research community for collaborative projects. Despite multiple lockdowns, we were able to participate in more than ten collaborations in 2020, which already led to four publications.*



### ABBILDUNG / FIGURE

Zebrafisch-Xenotransplantat mit menschlichen Ewing-Sarkom-Zellen: Fluoreszenzbild einer transgenen Zebrafischlarve mit hervorgehobenen Blutgefäßen (rot) und transplantierten Ewing-Sarkom-Zellen (grün).

*Zebrafish xenograft with human Ewing sarcoma cells: Fluorescence image of a transgenic zebrafish embryo with highlighted blood vessels (red) and transplanted Ewing sarcoma cells (green).*

Credit: Sarah Grissenberger/Innovative Cancer Models, St. Anna CCRI



Zebrafisch-Plattform Österreich für präklinisches Wirkstoffscreening

*Zebrafish platform Austria for preclinical drug screening.*

# RENÉ GEYEREGGER GROUP

Clinical Cell Biology and FACS Core Unit

## GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

René Geyeregger

## STAFF SCIENTIST

Gerhard Fritsch (until 2019)

Wolfgang Paster

## MASTER STUDENT

Paula Hofbauer (until 2019)

## TECHNICIANS

Laura Domnanovich

Barbara Haigl

Angela Halfmann (until 2020)

Christine Hoffmann-Freimüller

Anna-Maria Husa

Dieter Printz

Daniela Scharner

Andreas Sparer

Julia Stemberger

Dijana Trbojevic

Elke Zipperer

*„Ich möchte erfolgreiche zelluläre Immuntherapien gegen solide Tumoren bei Kindern entwickeln.“*

**“I want to develop successful cellular immunotherapies against solid tumors in children.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – RENÉ GEYEREGGER GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Die Interaktion des SARS-CoV-2-Virus mit dem Immunsystem.

**DIESES EREIGNIS HAT MEIN  
FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:**  
Freudentränen der Eltern nach erfolgreicher  
Behandlung mittels Virus-spezifischen T-Zellen

**WENN ICH NOCHMALS 16 SEIN KÖNNTE:**  
Will ich nicht!

**DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:**  
Bleib dir treu! Glaube an deine Ideen!  
Und sei kreativ in der Umsetzung!

**MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:**  
„From bench to bedside.“ – Was mich täglich  
antreibt: Ich möchte etwas entwickeln, das  
Patientinnen und Patienten hilft.

**DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“  
AM MEISTEN:**  
Freunde treffen, essen gehen.

**DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:**  
Erfolgreiche zelluläre Immuntherapien gegen  
solide Tumoren bei Kindern entwickeln

## RENÉ GEYEREGGER – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

**THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:**  
*The interaction of the SARS-CoV-2 virus with  
the immune system.*

**THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE  
AS A RESEARCHER:**  
*Parents' tears of joy after a successful treatment  
using virus-specific T cells.*

**IF I COULD BE 16 AGAIN:**  
*I don't want to be 16 again.*

**THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:**  
*Remain true to yourself. Believe in your ideas!  
And be creative in their implementation!*

**MY MOTTO IN RESEARCH:**  
*From bench to bedside. What drives me  
every day is: I want to develop something that  
helps patients.*

**THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST  
“AFTER CORONA”:**  
*Meeting friends, going out for a meal.*

**THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE  
TO ACHIEVE/INVENT:**  
*To develop successful cellular immunotherapies  
against solid tumors in children.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

**UNSER LABOR BESTEHT AUS DEN  
FOLGENDEN BEREICHEN:**

- **Forschung**, thematisch fokussiert auf die Umsetzung von wissenschaftlichen Erkenntnissen in die klinische Praxis:
  - i) Verbesserung der diagnostischen Analysen
  - ii) Entwicklung von innovativen T-Zell-basierten Immuntherapien
- **FACS Core Unit** für die Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Auswertung von Experimenten (sowohl intra- als auch extramural).
- **GMP-Anlage & Diagnostik-Service** für Patienten des St. Anna Kinderspitals (SAK) und andere.

### VIRUS-SPEZIFISCHE IMMUNOTHERAPIE (ABBILDUNG 1)

Wir generieren Virus- (für die klinische Anwendung) – und Aspergillus-spezifische T-Zellen (derzeit in Validierung) für Patienten nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation, solider Organtransplantation und neuerdings auch für Patienten mit Locked-in-Syndrom (BKV T-Zellen).



**ABBILDUNG / FIGURE 1**  
Herstellungserlaubnis für kurzzeitig expandierte virusspezifische T-Zellen  
Manufacturing approval for short-term expanded virus-specific T-cells

## RESEARCH FOCUS

**OUR LABORATORY CONSISTS OF THE  
FOLLOWING AREAS:**

- **Research**, thematically focused on the translation of scientific discoveries into clinical practice:
  - i) Improvement of diagnostic analyses
  - ii) Development of innovative T cell-based immunotherapies
- **FACS Core Unit**, providing assistance during planning, execution and analysis of experiments (both intra- and extramurally)
- **GMP facility & Diagnostic service** for patients at the St. Anna Children's Hospital (SAK) and others.

**VIRUS-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY (FIGURE 1)**  
*We generate virus-specific (for clinical application) and aspergillus-specific T cells (currently in validation) for patients after hematopoietic stem cell transplantation, solid organ transplantation, and recently also for patients with locked-in syndrome (BKV T cells).*



### CHARAKTERISIERUNG DER ZELLULÄREN IMMUNANTWORT AUF SARS-COV-2 (ABBILDUNG 2)

Wir untersuchen außerdem die T-Zell-Immunantwort auf das SARS-Coronavirus (CoV)-2 und wollen u. a. herausfinden, welche Teile des Virusproteins spezifisch für SARS-CoV-2 sind und welche Teile spezifisch für die durch harmlose Coronaviren verursachte Erkältung sind (gefördert durch den Wiener Wissenschafts-, Forschungs- und Technologiefonds WWTF).

In einem zweiten Projekt (gefördert durch die Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft FFG) verwenden wir einen Hochdurchsatz-Screening-Assay (basierend auf DNA-barcodierten pMHC-Multimeren), um neuartige spezifische SARS-CoV-2-T-Zell-Antigene als Basis für den Nachweis von SARS-CoV-2-CD8<sup>+</sup>-T-Zellen mittels Durchflusszytometrie zu identifizieren.

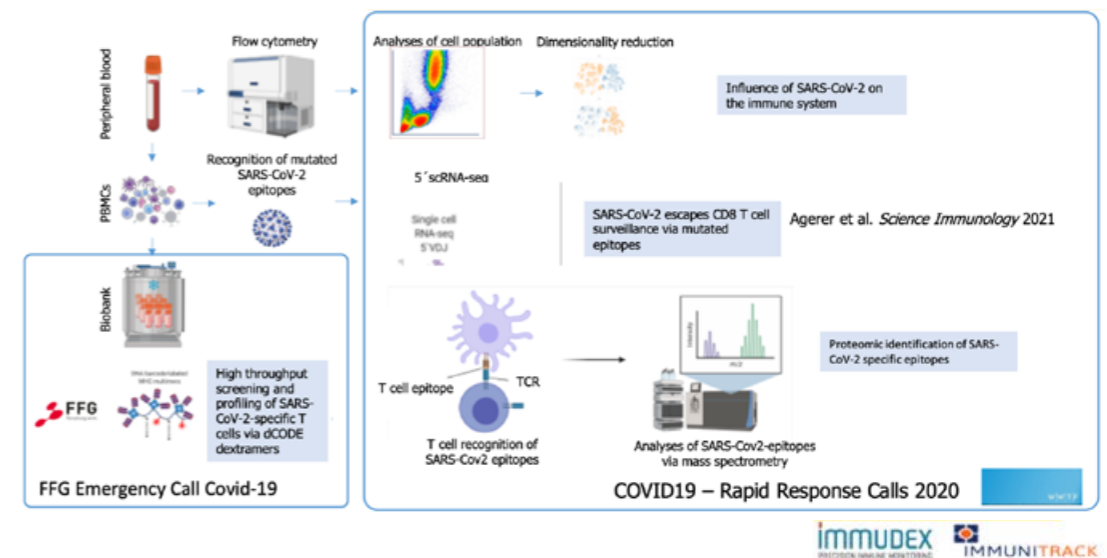
Im Rahmen dieser Projekte kooperieren wir mit Dr. Florian Halbritter (St. Anna Kinderkrebsforschung), Dr. Matthias Farlik-Födinger (Universitätsklinik für Dermatologie, Medizinische Universität Wien), Dr. Andreas Bergthaler (CeMM Zentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften) und Dr. Judith Aberle (Zentrum für Virologie, MedUni Wien) sowie mit den Firmen Immudex Aps und Immunitrack Aps.

### CHARACTERIZATION OF THE CELLULAR IMMUNE RESPONSE TO SARS-COV-2 (FIGURE 2)

*We also investigate the T cell immune response to the SARS-Coronavirus (CoV)-2, and among other things we want to find out which parts of the virus protein are specific for SARS-CoV-2 and which parts are specific for the common cold, caused by harmless corona viruses (funded by the Vienna Science and Technology Fund WWTF).*

*In a second project (funded by the Austrian Research Promotion Agency FFG) we use a high throughput screening assay (based on DNA-barcoded pMHC multimers) in order to identify novel specific SARS-CoV-2 T cell antigens as a basis for the detection of SARS-CoV-2 CD8<sup>+</sup> T cells via flow cytometry.*

*Within these projects, we cooperate with Dr Florian Halbritter (St. Anna CCRI), Dr Matthias Farlik-Födinger (University Clinic for Dermatology, Medical University of Vienna), Dr Andreas Bergthaler (CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences) and Dr Judith Aberle (Center for Virology, MedUni Vienna) as well as the companies Immudex Aps and Immunitrack Aps.*



**ABBILDUNG / FIGURE 2**

Detaillierte Charakterisierung der zellulären Immunantwort auf eine SARS-CoV-2-Infektion (WWTF) und Etablierung eines neuartigen Tests zur Beurteilung von SARS-CoV-2 CD8<sup>+</sup> T-Zellen (FFG)

*Detailed characterization of the cellular immune response to SARS-CoV-2 infection (WWTF) and establishment of a novel test to assess SARS-CoV-2 CD8<sup>+</sup> T-cells (FFG)*

## T-ZELL-BASIERTE IMMUNOTHERAPIE FÜR OSTEOSARKOME

Das Osteosarkom ist ein seltener, meist sehr bösartiger Knochentumor und etwa 70 Prozent der Patienten sprechen auf die erste Behandlung gut an. Allerdings bilden sich bei etwa 30 Prozent Metastasen, vor allem in der Lunge. Für Letztere fehlt es derzeit an langfristig wirksamen Behandlungsmethoden. Unser Ziel ist es, einen neuen Therapieansatz zu entwickeln, der das Immunsystem in seinem Kampf gegen diesen Tumor unterstützt.

Gemeinsam mit Johannes Huppa von der MedUni Wien, Michael Traxlmayr von der Universität für Bodenkultur (BOKU) Wien und Dietmar Rieder von der Medizinischen Universität Innsbruck wollen wir T-Zell-Rezeptoren (TCRs) identifizieren, rekonstruieren und verstärken, die wir aus Tumorresidenten Killer-T-Lymphozyten isolieren können. Dieser Prozess wird durch eine Kombination aus biochemischem Hochdurchsatz-Screening und Deep-Learning-Bioinformatik-Analyse erreicht. Wir werden TCRs auswählen, die hochgradig tumorspezifisch sind und das höchstmögliche Sicherheitsprofil aufweisen. Unsere präklinische Studie wird den Nachweis erbringen, dass solche TCRs in Zukunft eingesetzt werden können, um die eigenen T-Zellen des Patienten im Kampf gegen das Osteosarkom zu bewaffnen.

## T CELL-BASED IMMUNOTHERAPY FOR OSTEOSARCOMA

*Osteosarcoma is a rare, usually very malignant bone tumor, and about 70 percent of patients respond well to the first treatment. However, metastases form in about 30 percent, especially in the lungs. For the latter, there is currently a lack of long-term effective treatment methods. Our aim is to develop a new therapeutic approach that will support the immune system in its fight against this tumor.*

*Together with Johannes Huppa from MedUni Vienna, Michael Traxlmayr from the University of Natural Resources and Applied Life Sciences, BOKU, Vienna, and Dietmar Rieder, from the Medical University of Innsbruck, we want to identify, reconstruct and enhance the T cell receptors (TCRs) isolated from tumor-resident killer T lymphocytes. This process will be achieved by a combination of biochemical high-throughput screening and deep-learning bioinformatics analysis. We will select TCRs that are highly tumor-specific and have the highest possible safety profile. Our pre-clinical study will be a proof of principle that such TCRs can be used in the future to arm the patient's own T cells in the fight against osteosarcoma.*

## DIAGNOSTISCHE LEISTUNGEN

Nur etwa ein Drittel unserer Arbeit besteht aus Forschungsaktivitäten. Ein weiteres Drittel widmet sich der Diagnostik bei Kindern nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, bei der das Immunsystem neu aufgebaut werden muss. In dieser Phase analysieren wir die Immunzellen der Patienten und teilen den Ärzten mit, welche Zellen in welcher Menge vorhanden sind.

Unser Labor verfügt über eine langjährige Erfahrung in der Durchflusszytometrie und ist mit modernsten durchflusszytometrischen Instrumenten ausgestattet. Als Core Facility nehmen wir kontinuierlich an QC-Studien (ÖQUASTA, INSTAND) und klinischen Studien (B-NHL 2013 Studie, Münster, OPTIMIZE Studie, MedUni Wien) teil.

Wir arbeiten auch an der Arzneimittelproduktion im GMP-Labor (Good Manufacturing Practice), wo oft schnelle Routineanalysen oder Produktionen erforderlich sind. Unser Portfolio an zellulären Produkten gemäß Gewebesicherheitsgesetz (GSG) und Arzneimittelgesetz (AMG) umfasst die Kryokonservierung und Lagerung von Stammzellen sowie Leukaphereseprodukte, Alpha/Beta-Depletion, mini-extrakorporale Photopherese und virusspezifische T-Zellen.

Derzeit arbeiten wir daran, die ISO 15189 Zertifizierung zu erhalten.

## DIAGNOSTIC SERVICES

*Only about one third of our work involves research activities. Another third is dedicated to diagnostics in children after hematopoietic stem cell transplantation, where the immune system has to be reconstituted. During this phase, we analyze the immune cells of patients and inform physicians which cells are present in which quantity.*

*Our laboratory has a long-standing history of flow cytometry and is very well equipped with state-of-the-art flow cytometric instruments. As a Core Facility, we continuously participate in QC trials (ÖQUASTA, INSTAND) and clinical trials (B-NHL 2013 trial, Münster, OPTIMIZE study, MedUni Vienna).*

*We also work on drug production in the Good Manufacturing Practice (GMP) laboratory, where rapid routine analyses or productions are often required. Our portfolio of cellular products according to the Tissue Safety Act (GSG) and Medicines Act (AMG) include cryopreservation and storage of stem cells and leukapheresis products, alpha/beta depletion, mini-extracorporeal photopheresis and virus-specific T cells.*

*Currently we are working to fulfill requirements for certification (ISO 15189).*

## FLORIAN HALBRITTER GROUP

Developmental Cancer Genomics

### GROUP LEADER / PRINCIPAL INVESTIGATOR

Florian Halbritter

### POSTDOCTORAL FELLOW

Luis Fernando Montano Gutierrez

### PHD STUDENTS

Hanja Pisa (until 2019)

Mohamed Refaat Elshahaat Shoeb

### MASTER STUDENTS

Martin Koban

Katja Nettermann

*„Gib eine Idee nicht so leicht auf und probiere verschiedene Blickwinkel aus, aber sei auch bereit die Richtung zu ändern.“*

**“Don't give up easily on ideas and try different angles, but also be ready to change direction.”**

## KURZ NACHGEFRAGT – FLORIAN HALBRITTER GANZ PERSÖNLICH

**DAS HAT MICH ZULETZT NEUGIERIG GEMACHT:**  
Romanesco. Das wohl schönste Gemüse und ein so kurioses Beispiel für komplexe Musterbildung aus einfachsten Angaben (ähnlich wie in der Embryonalentwicklung).

### DIESES EREIGNIS HAT MEIN FORSCHERLEBEN GEPRÄGT:

Mein erstes Studiensemester im Ausland (in Schottland). Ich traf so viele inspirierende Charaktere und erfuhr zum ersten Mal von der Existenz der „Bioinformatik“. Sonst würde ich heute vermutlich Roboter programmieren.

### DER BESTE RAT, DEN ICH JE BEKOMMEN HABE:

Beharrlich sein, aber auch nicht beharrlich sein! Viele großartige Ideen funktionieren nicht so, wie man es sich vorgestellt hat; gib nicht so leicht auf und probiere verschiedene Blickwinkel aus, aber sei auch bereit die Richtung zu ändern.

### MEIN MOTTO IN DER FORSCHUNG:

Sei offen und neugierig, höre zu, lerne, verändere und verbessere dich.

### DARAUF FREUE ICH MICH „NACH CORONA“ AM MEISTEN:

Mit Kolleginnen und Kollegen zusammensitzen, unsere Köpfe (eng) über einem Blatt Papier zusammenzustecken und Ideen zu skizzieren.

### DAS MÖCHTE ICH NOCH ERREICHEN / ERFINDEN:

Rezepte, um die Entwicklung von Tumorzellen zu beeinflussen und sie in „gutartigere“ Schicksale umzulenken.

## FLORIAN HALBRITTER – A BRIEF, PERSONAL INTERVIEW

### THIS MADE ME CURIOUS RECENTLY:

*Romanesco. Probably the most beautiful vegetable and such a curious example of complex pattern formation from simple instructions (much like in embryonic development).*

### THIS EVENT HAS SHAPED MY LIFE AS A RESEARCHER:

*My first study term abroad (in Scotland). I met so many inspiring characters and first learnt about the existence of “bioinformatics”. Otherwise, I might be programming robots today.*

### THE BEST ADVICE I HAVE EVER RECEIVED:

*Persevere but also don't persevere! Many great ideas will not work out as you imagined; don't give up easily and try different angles, but also be ready to change direction.*

### MY MOTTO IN RESEARCH:

*Be open and curious, listen, learn, adapt, and improve.*

### THIS IS WHAT I LOOK FORWARD TO MOST “AFTER CORONA”:

*Sitting with colleagues, putting our heads (close) together over a sheet of paper, and scribbling out ideas.*

### THIS IS WHAT I WOULD STILL LIKE TO ACHIEVE/INVENT:

*Formulas for instructing the development of tumor cells and to steer them toward more benign fates.*

## FORSCHUNGSSCHWERPUNKT

Krebs im Kindesalter ist eine Krankheit der Fehlentwicklungen: Mutationen stören Vorläuferzellen, aus denen normalerweise die vielfältigen Zelltypen des menschlichen Körpers entstehen, und führen sie stattdessen in die Irre oder blockieren ihre Differenzierung. Doch wie genau wirken sich Mutationen auf diese Zellen aus, wann und wo treten die ersten nachweisbaren Veränderungen auf, und können wir dieses Wissen nutzen, um den Schaden zu mindern? Um diese Fragen zu klären, kombiniert unsere Forschung die Analyse von klinischen Proben und experimentellen Modellen. Zusammen mit unseren Kolleginnen und Kollegen am Institut und auf der ganzen Welt untersuchen wir mehrere Arten von pädiatrischen Krebserkrankungen, darunter Langerhans-Zell-Histiozytose, Sarkome, Neuroblastome und pädiatrische Leukämien. Unsere Expertise liegt in der Anwendung moderner Genomik-Technologien und in der computergestützten Analyse der dadurch entstehenden riesigen Datenmengen mittels Statistik und maschinellem Lernen, um das molekulare Gerüst der Krebsentstehung zu sezieren. Letztendlich hoffen wir, dass unsere Arbeit dazu beitragen wird, neue Wege für die Erkennung (Diagnose), Vorhersage (Prognose) und Beeinflussung (Therapie) der fehlgeleiteten Entwicklung bei Krebserkrankungen im Kindesalter aufzuzeigen.



## RESEARCH FOCUS

*Childhood cancer is a disease of misguided development: mutations disrupt progenitor cells that usually give rise to the diverse cell types that make up the human body and instead lead them astray or block their differentiation. But how exactly do mutations affect these cells, when and where do the first detectable changes occur, and can we use this knowledge to ameliorate the damage? To elucidate these questions, our research combines analysis of clinical samples and experimental models. Together with our colleagues at the CCRI and across the world, we study multiple types of pediatric cancers, including Langerhans cell histiocytosis, sarcomas, neuroblastoma, and pediatric leukemias. Our expertise is in the application of modern genomics technologies and in the computational analysis of the vast amounts of data produced using these methods -- using statistics and machine learning to dissect the molecular framework of oncogenesis. Ultimately, we hope that our work will help to elucidate new avenues for detecting (diagnosis), projecting (prognosis), and interfering (therapy) with aberrant development in childhood cancers.*

### ABBILDUNG / FIGURE

Wir untersuchen Aberrationen auf dem Weg der Differenzierung, die Stammzellen entweder zu normalem Gewebe oder zu Krebs im menschlichen Körper führen.

*We study aberrations on the path of differentiation that take stem cells to either normal tissue or cancer in the human body.*

**PUBLIKATIONEN**

***PUBLICATIONS***

## ZEBRAFISCH-XENO-TRANSPLANTATE – EIN NEUES MODELL FÜR DIE PRÄKLINISCHE EVALUIERUNG VON CAR-T-ZELLEN

Chimäre Antigenrezeptor-tragende T-Zellen (CAR-T-Zellen) haben sich als eine neuartige zelluläre Immuntherapie herauskristallisiert. CAR-T-Zellen sind gentechnisch veränderte T-Zellen, die spezifische Antigene auf der Oberfläche von Tumorzellen erkennen. Die Bindung des CARs an das Antigen führt zu einer CAR-T-Zell-vermittelten Lyse der Tumorzellen. CAR-T-Zellen, die auf das CD19-Antigen von B-Zellen abzielen, haben sich als wirksame zelluläre Therapie für B-Zell-Leukämie und Lymphome mit bisher unerreichten Heilungsraten erwiesen. Derzeit werden massive Anstrengungen unternommen, um CAR-T-Zellen für die effektive Behandlung vieler weiterer Tumorentitäten, einschließlich solider Tumoren, zu entwickeln.

Aus diesem Grund werden präklinische Modellsysteme benötigt, die es erlauben, die Wirksamkeit neuartiger CAR-Designs in vivo zu testen, idealerweise mit höheren Durchsatzraten. Derzeit sind Maus-Xenotransplantate das Modell der Wahl für die präklinische Evaluierung, aber sie sind leider teuer und sehr zeitaufwändig.

Um ein neues präklinisches Modell zu entwickeln, das eine Evaluierung von CAR-T-Zellen in vivo mit höherem Durchsatz ermöglicht, haben sich die CCRI-Gruppen von Sabine Taschner-Mandl, Manfred Lehner und Martin Distel zusammengesetzt. Sie hatten die Idee, embryonale Zebrafisch-Xenografts einzusetzen, um die CAR-T-Zell-vermittelte Abtötung von Tumorzellen direkt im lebenden Organismus zu untersuchen: Zebrafischlarven, die noch kein funktionierendes adaptives Immunsystem besitzen, können mit menschlichen Krebszellen transplantiert werden.

## ZEBRAFISH-XENOGRAFTS – A NOVEL MODEL FOR PRECLINICAL EVALUATION OF CAR T CELLS

*Chimeric antigen receptor carrying T cells (CAR T cells) have emerged as a novel cellular immunotherapy. CAR T cells are genetically engineered T cells, which recognize specific antigens on the surface of tumor cells. Binding of the CAR to the antigen results in CAR T cell-mediated lysis of the tumor cells. CAR T cells targeting the CD19 antigen on B cells have proven to be a powerful cellular therapy for B cell leukemia and lymphoma with unprecedented cure rates. Massive efforts are now on the way to engineer CAR T cells for effective treatment of many more tumor entities, including solid tumors.*

*Hence, preclinical model systems are needed, which allow for testing the efficacy of novel CAR designs, ideally at higher throughput, in vivo. Currently, mouse xenografts are the model of choice for preclinical evaluation, but they are unfortunately expensive and rather slow.*

*In order to develop a new preclinical model allowing for higher throughput evaluation of CAR T cells in vivo, the CCRI groups of Sabine Taschner-Mandl, Manfred Lehner and Martin Distel teamed up. They envisioned that embryonic zebrafish xenografts can be applied to investigate CAR T cell-mediated killing of tumor cells directly in a living organism: Zebrafish embryos, which do not yet possess a functional adaptive immune system, can be transplanted with human cancer cells.*

Da Zebrafischlarven in frühen Entwicklungsstadien transparent sind, können die Krebszellen auch direkt im Inneren des Organismus per Live-Mikroskopie beobachtet werden.

In einer „Proof-of-Concept“-Studie transplantierte das Team CD19-exprimierende menschliche Leukämiezellen in Zebrafisch-Embryonen und injizierte wenige Stunden nach der Transplantation der Leukämiezellen CD19-spezifische CAR-T-Zellen. In diesem Experiment exprimierten die Leukämiezellen zusätzlich das grün fluoreszierende Protein GFP und die CAR-T-Zellen waren mit einem roten Farbstoff markiert, sodass beide Zellpopulationen mittels Fluoreszenzmikroskopie leicht beobachtet und unterschieden werden konnten (Abbildung).

Etwa 24 Stunden nach der Transplantation der Leukämiezellen zeigten Zebrafische, denen ebenfalls CAR-T-Zellen injiziert worden waren, eine starke Reduktion der Leukämiezellen im Vergleich zu Kontrollen, die nur Leukämiezellen, aber keine CAR-T-Zellen erhalten hatten. Dies deutet darauf hin, dass CAR-T-Zellen tatsächlich gezielt Krebszellen in Zebrafisch-Xenografts abtöten.

Darüber hinaus war das Team in der Lage, diesen Abtötungsprozess im lebenden Organismus mittels Zeitraffermikroskopie über etwa 20 Stunden zu visualisieren.

Diese „Proof-of-Principle“-Studie zeigte, dass embryonale Zebrafisch-Xenografts für die präklinische Evaluierung von CAR-T-Zellen eingesetzt werden können.

*As zebrafish are transparent at early developmental stages, these cancer cells can also be monitored directly inside the organism by live microscopy.*

*In a proof-of-concept study, the team transplanted CD19-expressing human leukemia cells into zebrafish embryos and injected CD19-specific CAR T cells a few hours after transplantation of the leukemia cells. In this experiment, leukemia cells were also expressing the green fluorescent protein GFP and CAR T cells were labeled with a red dye, so that both cell populations could be easily observed and distinguished by fluorescence microscopy.*

*Around 24 hours after transplantation of leukemia cells, zebrafish, which had also been injected with CAR T cells showed a strong reduction in the number of leukemia cells compared to control xenografts, which had only received leukemia cells, but no CAR T cells. This suggested that CAR T cells are indeed killing their target cancer cells in zebrafish xenografts.*

*Furthermore, the team was able to visualize this killing process in the living organism by time-lapse microscopy over around 20 hours.*

*This proof-of-principle study demonstrated that embryonic zebrafish xenografts can be applied for preclinical evaluation of CAR T cells.*

Der Assay bietet also Live-Imaging-Möglichkeiten für die Untersuchung von CAR-T-Zellen, die derzeit in keinem anderen Wirbeltier-Modellsystem erreicht werden können. Zusätzlich ermöglicht der neue Assay das Testen von neuen CAR-Designs bei höherem Durchsatz und zu geringen Kosten. Darüber hinaus eignet sich der neue Assay auch für die Untersuchung von schaltbaren CAR-Designs auf Basis kleiner Substanzen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass embryonale Zebrafisch-Xenografts erfolgreich als Assay etabliert wurden und komplementär zu Maus-Xenografts einzigartige Möglichkeiten für die präklinische Evaluierung von CAR-T-Zellen bieten.

#### FÖRDERUNG

Diese Arbeit wurde großzügig unterstützt von der Österreichischen Forschungsförderungsgesellschaft (FFG), Projekt 7940628 (Danio4Can), dem Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF) Projekt W1224-Doktorandenprogramm zur Biomolekularen Technologie von Proteinen-BioToP), der Christian Doppler Forschungsgesellschaft (Christian Doppler Labor für CAR-T-Zellen der nächsten Generation), dem Wiener Wissenschafts- und Technologiefonds (WWTF, LS18-111) und privaten Spenden an die St. Anna Kinderkrebsforschung.

*The assay offers live imaging opportunities for CAR T cell investigation, which can currently not be achieved in any other vertebrate model system. Furthermore, the new assay allows for testing of new CAR designs at higher throughput and at low cost. In addition, the novel assay is also amenable for investigation of small compound-based switchable CAR designs, like ON or OFF switches, as small molecules can be applied to the fish water and are taken up by the zebrafish.*

*In conclusion, embryonic zebrafish xenografts were successfully established as an assay complementary to mouse xenografts and offer unique opportunities for preclinical evaluation of CAR T cells.*

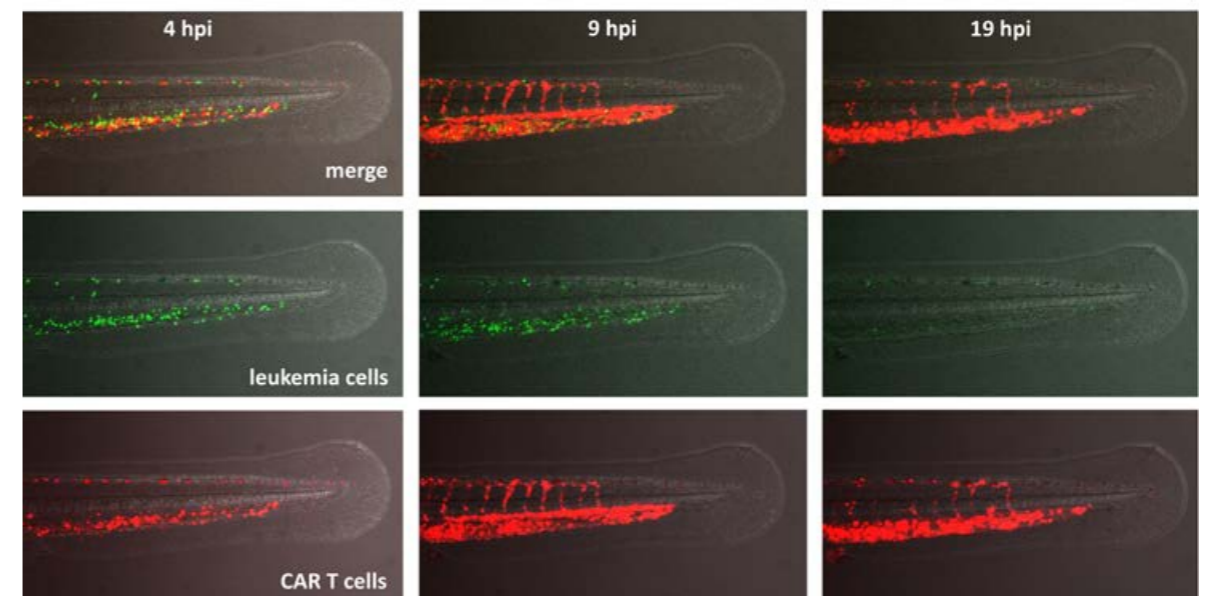
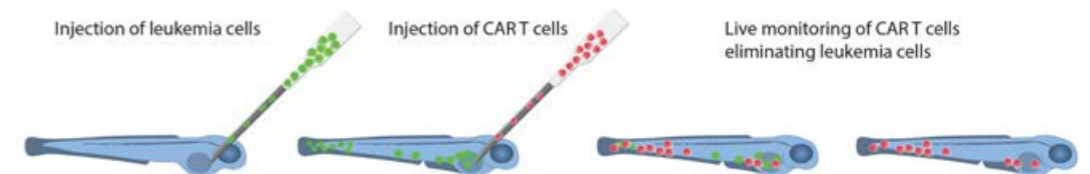
#### FUNDING

*This work was generously supported by the Austrian Research Promotion Agency (FFG), project 7940628 (Danio4Can), the Austrian Science Foundation (FWF) Project W1224-Doctoral Program on Biomolecular Technology of Proteins-BioToP), the Christian Doppler Research Association (Christian Doppler Laboratory for Next Generation CAR T cells), the Vienna Science and technology Fund (WWTF) LS18-111 and private donations to St. Anna CCRI.*

#### PUBLIKATION/PUBLICATION

**Pascoal et al., Cancers (Basel). 2020**

Pascoal S, Salzer B, Scheuringer E, Wenninger-Weinzierl A, Sturtzel C, Holter W, Taschner-Mandl S, Lehner M, Distel M. A Preclinical Embryonic Zebrafish Xenograft Model to Investigate CAR T Cells In Vivo. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 29;12(3):567. doi: 10.3390/cancers12030567



#### ABBILDUNG / FIGURE

Live-Monitoring der CAR-T-Zell-vermittelten Eliminierung von Leukämiezellen im Zebrafisch.

Schematische Darstellung des Assays. Leukämiezellen (grün) werden in ca. 48 Stunden alte Zebrafischlarven injiziert und ca. zwei Stunden später werden CAR-T-Zellen hinzugefügt. Die Eliminierung der Leukämiezellen wird dann mittels Live-Mikroskopie über mehrere Stunden verfolgt. (hpi: Stunden nach der Injektion) Es ist eine Reduktion der Leukämiezellen (grün) über die Zeit zu beobachten.

*Live monitoring of CAR T cell-mediated elimination of leukemia cells in zebrafish.*

*Schematic representation of the assay. Leukemia cells (green) are injected into zebrafish larvae around 48 hours post fertilization and CAR T cells are added around 2 hours later. Elimination of leukemia cells is then monitored by live microscopy over several hours. hpi: hours post injection. A reduction of leukemia cells (green) can be observed over time.*

Modifiziert nach/Modified from: Pascoal et al., *Cancers (Basel)*. 2020 Copyright is under CC BY, see [creativecommons.org/licenses/by/4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

**FINANZTEIL**

***FINANCIAL REPORT***



## RICHTLINIEN ZUR SPENDENVERWENDUNG

Die St. Anna Kinderkrebsforschung wird zum überwiegenden Teil durch private Spenden finanziert. Für den Betrieb des Forschungsinstitutes werden jährlich mehr als zehn Millionen Euro benötigt, der Verein verfügt jedoch über keine Basisfinanzierung durch die öffentliche Hand. Zusätzliche Mittel werden im Rahmen von kompetitiv ausgeschriebenene Projektförderungen von anerkannten nationalen und internationalen Stellen akquiriert.

Wir haben uns gegenüber unseren Spenderinnen und Spendern zu einer sparsamen und effizienten Verwendung der uns anvertrauten Gelder verpflichtet. Aus diesem Grund verwenden wir weniger als 10 % unserer Spendeneinnahmen für Verwaltung und Fundraising.

Die St. Anna Kinderkrebsforschung ist gemäß § 22 Vereinsgesetz als großer Verein zu einer qualifizierten Rechnungslegung und Aufstellung eines Jahresabschlusses verpflichtet. Die Finanzgebahrung und der Jahresabschluss werden zudem jährlich durch einen Wirtschaftsprüfer geprüft und mit einem uneingeschränkten Bestätigungsvermerk versehen. Damit wird der sach- und zweckgemäße Umgang mit den erhaltenen Spenden sichergestellt und bestätigt.

## GUIDELINES FOR THE USE OF DONATIONS

*St. Anna Children's Cancer Research Institute is mainly financed by private donations. For the operation of the research institute more than ten million euros are required annually, whereas the association has no basic funding from the public sector. Additional funds are acquired through competitive project grants from recognized national and international agencies.*

*We are committed to our donors to use the funds entrusted economically and efficiently. For this reason, our expenses for administration, fundraising and marketing amount to less than 10%.*

*The annual financial statement is prepared in accordance with the provisions of § 22 of the Federal Act on Associations. As a large association, the financial management as well as the annual financial statements of the association are audited by a public accountant who provides an independent auditor's certificate. Thus, proper and appropriate handling and allocation of the donations in alignment with the statutes can be assured.*

### SPENDENGÜTESIEGEL UND STEUERLICHE ABSETZBARKEIT

Seit dem Jahr 2002 trägt die St. Anna Kinderkrebsforschung als eine der ersten Organisationen Österreichs das Spendengütesiegel der Kammer der Steuerberater und Wirtschaftsprüfer. Für die jährliche Neuverleihung auditiert ein Wirtschaftsprüfer zusätzlich zur Abschlussprüfung die transparente und ordnungsgemäße Verwendung der Mittel gemäß den strengen Richtlinien des Spendengütesiegels. Auf Grundlage eines vom Bundesministerium für Finanzen erlassenen Bescheides zählt die St. Anna Kinderkrebsforschung zum begünstigten Empfängerkreis, sodass Spenden sowohl von der Lohnsteuer als Sonderausgabe als auch von der Einkommensteuer als Betriebsausgabe steuerlich absetzbar sind.

### QUALITÄTSSICHERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN ARBEIT

Das Forschungsinstitut verfügt über ein Scientific Advisory Board – ein Gremium aus externen Expertinnen und Experten – mit der Aufgabe der laufenden Evaluierung der wissenschaftlichen Arbeiten und Beratung der Institutsleitung. Darüber hinaus werden regelmäßig neue wissenschaftliche Projekte bei renommierten forschungsfördernden nationalen und internationalen Stellen eingereicht und Forschungsergebnisse in international anerkannten, wissenschaftlichen Journalen publiziert. In regelmäßigen Abständen findet zusätzlich eine objektive Beurteilung der wissenschaftlichen Leistung durch ausgewiesene externe Fachleute auf dem Gebiet statt.

### SEAL OF APPROVAL FOR DONATIONS AND TAX DEDUCTIBILITY

*Since 2002, St. Anna Children's Cancer Research Institute has been one of the first organizations in Austria to receive the seal of approval for donations from the Chamber of Public Accountants and Tax Advisors. For the annual re-awarding, an auditor carries out an additional audit to the one already provided for the annual accounts, scrutinizing for transparency and proper use of funds in accordance with the strict guidelines of the Donation Quality Certificate. On the basis of a notice (Bescheid) issued by the Federal Ministry of Finance, St. Anna Children's Cancer Research Institute is classed as a tax-privileged group of recipients, so donations are tax-deductible from either private or corporate income tax.*

### QUALITY ASSURANCE OF SCIENTIFIC WORK

*The research institute has a Scientific Advisory Board - a committee of external experts - with the task of continuously evaluating the scientific work and advising the Institute's management. In addition, new scientific projects are regularly submitted to renowned national and international research funding bodies and research results are published in internationally recognized scientific journals. In addition, an objective assessment of the scientific performance by recognized external experts in the field takes place at regular intervals.*

## MITTELHERKUNFT

### SOURCE OF FUNDS

		2019	2020
I.	Spenden		
	<i>Donations</i>		
	a) ungewidmete	€ 0,00	€ 0,00
	<i>a) undedicated donations</i>		
	b) gewidmete	€ 12.853.579,28	€ 24.898.666,38
	<i>b) dedicated donations</i>		
II.	Mitgliedsbeiträge	€ 540,00	€ 940,00
	<i>Membership fees</i>		
III.	Betriebliche Einnahmen		
	<i>Operating income</i>		
	a) betriebliche Einnahmen aus öffentlichen Mitteln	€ 1.270.111,08	€ 0,00
	<i>a) operating income from public funds</i>		
	b) sonstige betriebliche Einnahmen	€ 4.896.428,13	€ 1.009.922,50
	<i>b) other operating income</i>		
IV.	Subventionen und Zuschüsse der öffentlichen Hand	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Public subventions and subsidies</i>		
V.	Sonstige Einnahmen		
	<i>Other income</i>		
	a) Vermögensverwaltung	€ 0,00	€ 36.610,69
	<i>a) asset management</i>		
	b) sonstige andere Einnahmen sofern nicht in Punkt I bis IV festgehalten	€ 0,00	€ 0,00
	<i>b) other income not included in positions I to IV</i>		
VI.	Auflösung von Passivposten für noch nicht widmungsgemäß verwendete Spenden bzw. Subventionen	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Revenue from release of donations and subsidies not yet used for the intended purpose</i>		
VII.	Auflösung von Rücklagen	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Release of reserves</i>		
VIII.	Jahresverlust	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Annual loss</i>		
<b>TOTAL</b>		<b>€ 19.020.658,49</b>	<b>€ 25.946.139,57</b>

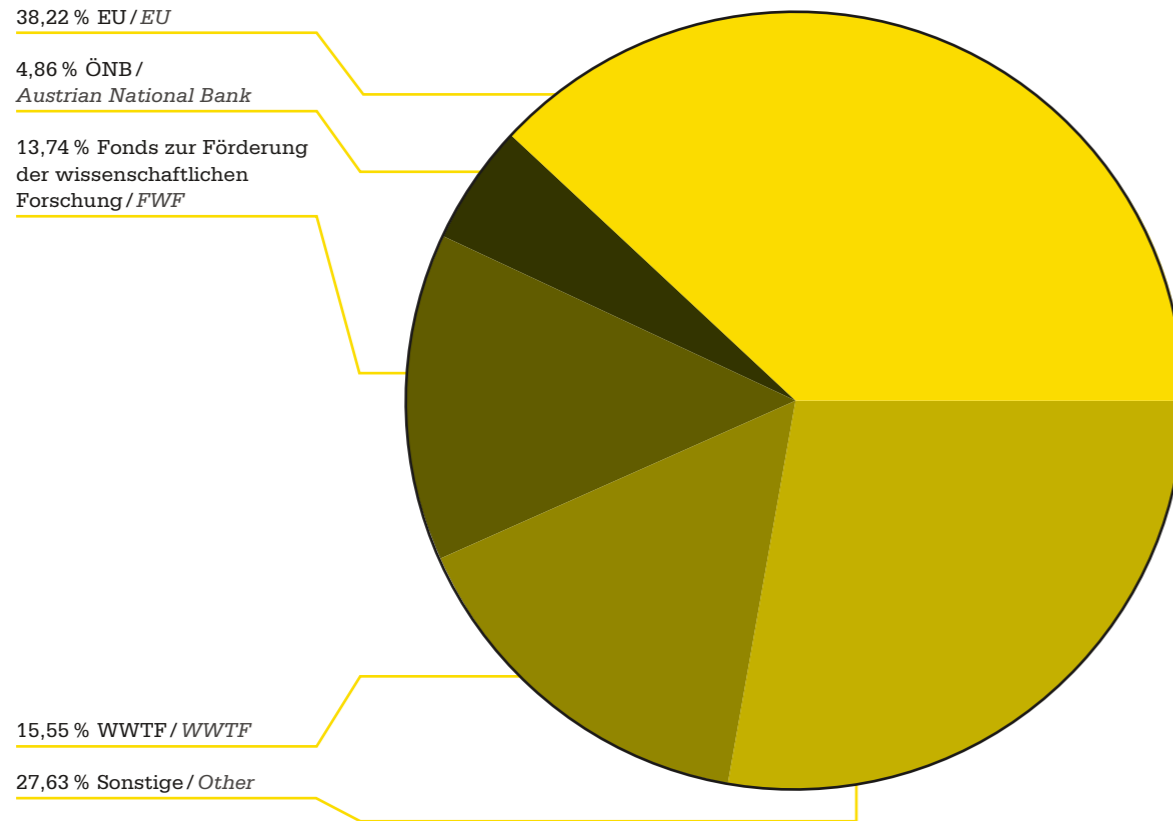
## MITTELVERWENDUNG

### USE OF FUNDS

		2019	2020
I.	Leistungen für die statutarisch festgelegten Zwecke	€ 13.818.871,25	€ 10.481.817,55
	<i>Expenditures for statutorily defined purposes</i>		
II.	Spendenwerbung	€ 803.644,69	€ 892.554,21
	<i>Fundraising</i>		
III.	Verwaltungsaufwand	€ 533.395,86	€ 384.097,91
	<i>Administration</i>		
IV.	Sonstiger Aufwand sofern nicht unter Punkt I bis III festgehalten	€ 60.139,05	€ 58.253,00
	<i>Other expenditures not included in positions I to III</i>		
V.	Zuführung zu Passivposten für noch nicht widmungsgemäß verwendete Spenden bzw. Subventionen	€ 3.804.607,64	€ 14.129.416,90
	<i>Donations and subsidies not yet used for the intended purpose (allocation to liabilities)</i>		
VI.	Zuführung von Rücklagen	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Allocation of funds to reserves</i>		
VII.	Jahresüberschuss	€ 0,00	€ 0,00
	<i>Annual profit</i>		
<b>TOTAL</b>		<b>€ 19.020.658,49</b>	<b>€ 25.946.139,57</b>

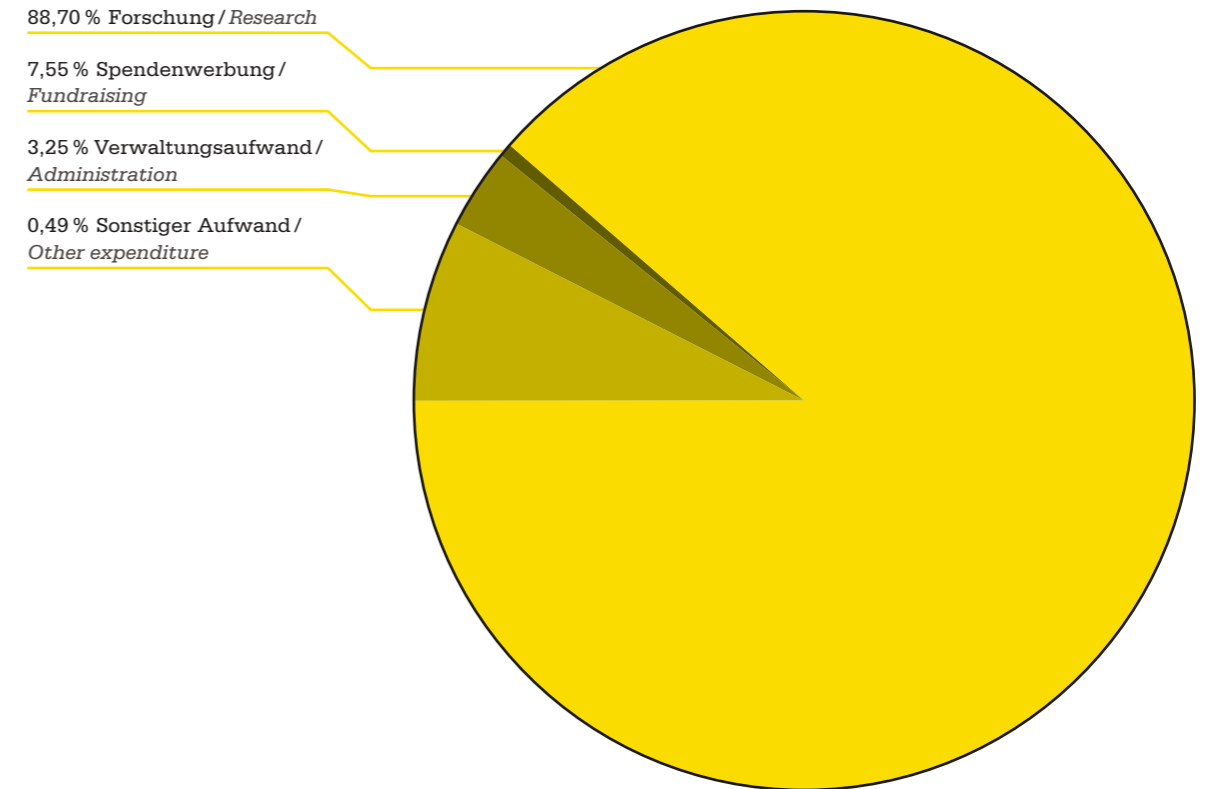
**KOMPETITIVE DRITTMITTEL  
IM JAHR 2020**

**COMPETITIVE THIRD-PARTY  
FUNDS IN 2020**



**ZUWEISUNG DER GELDMITTEL  
IM JAHR 2020**

**ALLOCATION OF FUNDS 2020**



**ANHANG**

**ANNEX**

### ARBEITEN IN DER ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHUNG

In einer Welt, die täglich wächst und sich weiterentwickelt, strebt die St. Anna Kinderkrebsforschung (St. Anna Children's Cancer Research Institute – St. Anna CCRI), ein internationales und interdisziplinäres Kompetenzzentrum, danach, die Behandlung von an Krebs erkrankten Kindern und Jugendlichen durch innovative Forschung diagnostische, prognostische und therapeutische Strategien weiterzuentwickeln und zu verbessern. Durch die enge Zusammenarbeit zwischen Klinik und Forschung bietet die St. Anna Kinderkrebsforschung ein ideales Umfeld für Spitzenforschung und deren Umsetzung in die klinische Praxis.

Unsere Innovation entspringt einem Team von Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, die zusammenarbeiten und ihre eigenen Perspektiven, ihr Wissen und ihre Erfahrung einbringen, um die Forschung zum Wohle krebserkrankter Kinder voranzutreiben. Wir fördern eine Atmosphäre, in der jeder willkommen ist, und erkennen und schätzen, dass Vielfalt und unterschiedliche kulturelle Hintergründe ein klarer Vorteil für erfolgreiche Forschung und Zusammenarbeit sind. Aktuell beschäftigen wir am Institut Personen mit rund 35 verschiedenen Nationalitäten und haben einen Frauenanteil von gut 60 Prozent.

Unsere Forscherinnen und Forscher profitieren davon, in eine starke Kultur der Zusammenarbeit eingebettet zu sein. Unsere 15 sehr erfolgreichen Forschungsgruppen tauschen routinemäßig ihr Wissen und ihre Expertise aus. Durch die Lage im Zentrum von Wien, einer der lebenswertesten Städte der Welt und einem der wichtigsten Orte Europas für biomedizinische Forschung und

### WORKING AT ST. ANNA CCRI

*In a world that is growing and evolving every day, the St. Anna Children's Cancer Research Institute (St. Anna CCRI), an international and interdisciplinary competence center, strives to advance and improve the treatment of children and adolescents with cancer through innovative research diagnostic, prognostic and therapeutic strategies. Due to the close collaboration between clinic and research, St. Anna CCRI provides an ideal environment for cutting-edge research and its translation into clinical practice.*

*Our innovation springs from a team of scientists working together, bringing their own perspectives, knowledge and experience to advance research for the benefit of children with cancer. We foster an atmosphere which is welcoming and inclusive for everyone, and recognize and value that diversity and different cultural backgrounds are a distinct advantage for successful research and collaboration. Currently, we employ people of around 35 different nationalities and have a good 60% female representation at the institute.*

*Our researchers benefit from being embedded in a strong culture of collaboration. The 15 highly successful research groups routinely exchange knowledge and expertise. Being located in the center of Vienna, one of the world's most livable cities and one of Europe's most important places for biomedical research and life sciences, St. Anna CCRI also has excellent collaborative partnerships with external institutions.*

*Communication at St. Anna CCRI is characterized by openness. We enjoy interacting with each other and share ideas with our peers. Through*

Biowissenschaften, verfügt die St. Anna Kinderkrebsforschung auch über ausgezeichnete Kooperationspartnerschaften mit externen Institutionen.

Die Kommunikation am Forschungsinstitut ist geprägt von Offenheit. Wir interagieren gerne miteinander und tauschen Ideen mit unseren Kolleginnen und Kollegen aus. Durch dieses hohe Maß an Interaktion bietet das Forschungsinstitut ein intellektuell anregendes Umfeld mit vielen Möglichkeiten zum wissenschaftlichen Austausch und zur Diskussion in regelmäßigen Seminaren, Retreats und auf nationalen und internationalen Kongressen. Ein Gremium aus internationalen Top-Expertinnen und -Experten überprüft regelmäßig die Qualität der an der St. Anna Kinderkrebsforschung geleisteten Arbeit und garantiert den hohen Standard der Forschungsarbeit.

Die St. Anna Kinderkrebsforschung bietet ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern eine ideale Kombination aus Freiheit und Anleitung, um ihre persönliche und intellektuelle Entwicklung zu fördern und sie gleichzeitig in die Welt der Wissenschaft und des akademischen Wettbewerbs einzuführen.

Wir bieten eine breite Palette von Karrieremöglichkeiten. Werfen Sie einen Blick auf unsere Karriere-seite unter [www.ccri.at/job-openings](http://www.ccri.at/job-openings) und bewerben Sie sich. Wir freuen uns auf Ihre Bewerbung!



*this high degree of interaction, St. Anna CCRI offers an intellectually stimulating environment with lots of opportunities for scientific exchange and discussion in regular seminars, retreats, and national and international congresses. A panel of top international experts periodically reviews the quality of work done at St. Anna CCRI and guarantees the high standard of research work.*

*St. Anna CCRI offers its employees an ideal combination of freedom and guidance to foster their personal and intellectual development while at the same time introducing them to the world of science and academic competition.*

*We offer a wide range of career opportunities. Take a look at our career page at [www.ccri.at/job-openings](http://www.ccri.at/job-openings) and apply. We look forward to receiving your application!*

## ADMINISTRATIVE ABTEILUNGEN

### ADMINISTRATIVE DEPARTMENTS

#### SEKRETARIAT / SECRETARIAT

Marion Zavadil

#### PERSONALVERWALTUNG / HUMAN RESOURCE

Leitung / Head of: Martina Teufner

Jennifer Horvath

Caroline Schmid

#### RECHNUNGSWESEN, CONTROLLING / ACCOUNTING, CONTROLLING

Leitung / Head of: Amelie Szalony

Alexandra Lidy

Yvonne Schnetzinger

Suzana Stanislav (bis/until 31.01.2020)

Anita Polgári

Viktoria Bauer

Alisa Danilova

#### RECHTSABTEILUNG / LEGAL COUNSEL

Sabrina Jevremovic

#### QUALITÄTSMANAGEMENT / QUALITY MANAGEMENT

Leitung / Team lead: Beate Avanesian

Sandra Ehrenhofer-Weinzettl

Daniela Hell-Böckl

#### GEBÄUDEMANAGEMENT & EINKAUF / FACILITY MANAGEMENT & PROCUREMENT

Leitung / Team lead: Kaus Kienzer

Lukas Voglmüller

Ferdinand Knierim

Daniel Dworak

Benno Bretthausen (bis/until 28.02.2021)

#### FORSCHUNGSSUPPORT / RESEARCH MANAGEMENT OFFICE

Leitung / Head of: Nuno Andrade

Caterina Barresi

Zoltán Dobai

Karoline Noworyta (bis/until 31.01.2019)

Martin Schalling

Jellena Vanessa Düster

Ana Pudja

#### IT & DIGITAL TRANSFORMATION

Leitung / Head of: Dominik Achleitner

Senad Mihajlovic (bis/until 28.02.2021)

Mark Rossiwall

Ingomar Schmickl

Gerda Modarres

#### SPENDENSERVICE / FUNDRAISING

Leitung / Head of: Lisa Huto

Andrea Prantl

Elisabeth Tax

Bettina Nistler

Anja Gubits

Reinhard Orense

Vanessa Wally

#### WISSENSCHAFTSKOMMUNIKATION & PR / SCIENCE COMMUNICATION & PR

Leitung / Head of: Lisa Huto

Barbara Brunmair

Anna Egger

#### VERLASSENSCHAFTEN

Monika Gomez-Beran

## WISSENSCHAFTLICHER BEIRAT

### SCIENTIFIC ADVISORY BOARD

St. Anna CCRI wird von einem wissenschaftlichen Beirat aus internationalen Expertinnen bzw. Experten für Kinderonkologie und Immunologie unterstützt, die uns in wissenschaftlichen und strategischen Fragen beraten.

*St. Anna CCRI is supported by a board of international childhood oncology and immunology experts who advise us on scientific and strategic questions.*

**Prof. Dr. Arndt Borkhardt**, Department of Paediatric Oncology, Haematology and Clinical Immunology, University Hospital Düsseldorf, Germany

**Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin**, Director of the Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Ulm University Medical Center, Germany

**Prof. Dr. Shai Izraeli**, Director of the Department of Pediatric Hematology/Oncology, Schneider Hospital, Israel

**Prof. Dr. Mirjam v.d. Burg**, Laboratory for Immunology, Department of Pediatrics, Leiden University Medical Centre, Netherlands

## INTERNATIONAL UND NATIONAL FREMD-GEFÖRDERTE PROJEKTE 2019/2020

### INTERNATIONAL AND NATIONAL GRANTS 2019/2020

#### INTERNATIONAL FREMD-GEFÖRDERTE PROJEKTE / INTERNATIONAL GRANT

**Validation of Actionable Genomic ABerrations in a paediatric Oncology Network for Doctorate students (VAGABOND)**  
CCRI responsible principal investigator: Heinrich Kovar  
Coordinator: Jan Molenaar (Prinses Máxima Centrum, the Netherlands)  
European Commission Grant – Call H2020-MSCA-ITN-2020  
Duration: 01/12/2020 to 30/11/2024

**Integrated and standardized NGS workflows for Personalised therapy (INSTAND-NGS4P)**  
CCRI partners: Ruth Ladenstein, Kaan Boztug  
Coordinator: Kurt Zatlouk (Medical University Graz)  
European Commission Grant – H2020-SC1-BHC-10-2019  
Duration: 01/01/2020 to 31/12/2024

**Charting key molecules and mechanisms of human immune Dysregulation (iDysChart)**  
CCRI responsible principal investigator: Kaan Boztug  
European Commission Grant – ERC-2018-COG  
Duration 06/01/2019 to 31/05/2024

**Childhood Leukemia: Overcoming distance between South America and Europe Regions (CLOSER)**  
CCRI partner: Oskar Haas  
Coordinator: Mireia Camos (Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona)  
European Commission Grant – H2020-SC1-BHC-2018-2020  
Duration: 01/01/2019 to 31/12/2023

**European Joint Programme on Rare Diseases (EJP RD)**  
CCRI responsible principal investigator: Ruth Ladenstein  
European Commission Grant – H2020-SC1-BHC-2018-2020  
Duration: 01/01/2019 – 31/12/2023

**Molecular mechanisms of melflufen in osteosarcoma cells (Oncopeptides)**  
CCRI responsible principal investigator: Thomas Lion  
Oncopeptides Preclinical Grant  
Duration: 01/01/2019 to 31/12/2019

**Comprehensive heatmap for TKI-resistance of mutations in BCR-ABL1 kinase domain**  
CCRI responsible principal investigator: Thomas Lion  
Incyte Corporation - Incyte open calls  
Duration: 01/01/2019 to 31/03/2020

**Developmental hierarchy in LCH**  
CCRI responsible principal investigator: Caroline Hutter  
Histiocytosis Association Grant  
Duration: 01/01/2019 to 31/12/2019

**PRedictive In-silico Multiscale Analytics (PRIMAGE)**  
CCRI responsible principal investigator: Ruth Ladenstein  
European Commission Grant – Call H2020-SC1-DTH-2018-2020  
Duration: 01/12/2018 to 30/11/2022

**ERN-PAEDCAN-CEF-Telecom Y1 & Y2**  
CCRI Coordinator: Ruth Ladenstein  
European Commission Grant – Call CEF-TC-2017-2  
Duration: 01/05/2018 to 31/08/2021

**ERN-PAEDCAN Partner: Paediatric Rare Tumours Network - European Registry (PARTNER)**  
CCRI responsible principal investigator: Ruth Ladenstein  
European Commission Grant – Call CEF-TC-2017-2  
Duration: 01/01/2018 to 30/06/2021

**Paediatric Cancer European Reference Network (ERN PaedCan)**  
CCRI Coordinator: Ruth Ladenstein  
Grant from the European Consumers, Health, Agriculture and Food Executive Agency (CHAFAEA)  
Duration: 01/03/2017 to 28/02/2022

**ITCC Pediatric Preclinical POC Platform (ITCCP4)**  
CCRI partner: Heinrich Kovar  
Coordinator: Stefan Pfister (Deutsches Krebsforschungszentrum DKFZ, Germany)  
European Commission Grant – H2020 Innovative Medicines Initiative  
Duration: 01/01/2017 to 31/12/2021

**Children's Liver Tumour European Research Network (ChILTERN)**  
Scientist in charge (St. Anna Children's Hospital): Heidrun Boztug  
Coordinator: Keith Wheatley (University of Birmingham, UK)  
European Commission Grant – H2020-PHC-2014-2015  
Duration: 01/01/2016 to 31/12/2020

**Optimized diagnostics for improved treatment stratification in invasive fungal diseases (FUNGITECT)**  
CCRI/Labdia Coordinator: Thomas Lion  
European Commission Grant – FP7 Cooperation Project  
Duration: 01/01/2014 to 31/01/2019

**EURO EWING Consortium – International clinical trials to improve survival from Ewing sarcoma (EEC)**  
CCRI partner: Heinrich Kovar  
Coordinator: Jeremy Whelan (University College London, UK)  
European Commission Grant – FP7 Cooperation Project  
Duration: 01/01/2014 to 30/09/2019

#### NATIONAL FREMDGEFÖRDERTE PROJEKTE / NATIONAL GRANTS

**Implementation of the first validated diagnostic peptide-MHC multimer test for measuring Sars-CoV-2 T cell memory (Covid-2-tag)**  
CCRI responsible principle investigator: René Geyeregger  
Grant from the Austrian Research Promotion Agency (FFG), KLIPHA-COVID 19  
Duration: 01/05/2020 to 30/04/2021

**SARS-CoV-2 infections and virus shedding in pediatric patients displaying different risk constellations**  
CCRI responsible principle investigator: Thomas Lion  
Grant from the City of Vienna, Bürgermeisterfonds  
Duration: 01/09/2020 to 28/02/2021

**Detailed characterization of the cellular immune response to SARS-CoV-2 infection**  
CCRI responsible principle investigator: René Geyeregger  
Grant from the Vienna Science and Technology Fund (WWTF), WWTF-Covid 19 Rapide Response  
Duration: 01/06/2020 to 30/06/2021

**Art4Science**  
CCRI responsible principle investigator: Eva König  
Grant from the Austrian Science Fund (FWF), Science Communication  
Duration: 01/05/2020 to 30/12/2021

**A novel gene defect affecting actin dynamics reveals unexplored links between immunodeficiency and autoinflammation**  
CCRI Scientist in charge: Jana Block (supervisor: Kaan Boztug)  
Grant from the Austria Academy of Sciences (ÖAW), DOC fellowship  
Duration: 01/03/2020 to 28/02/2022

**Automated minimal residual disease assessment in childhood acute myeloid leukemia (MYEFLOW)**  
CCRI Scientist in charge: Margarita Maurer-Granofszky (group leader: Michael Dworzak)  
Grant from the Vienna Business Agency, From Science to Products 2019  
Duration: 01/01/2020 to 31/12/2022

**Identifying the Ewing Sarcoma cell-of-origin by cross-species enhancer activity analysis**  
CCRI Scientist in charge: Sarah Grissenberger (supervisor: Martin Distel)  
Grant from the Austria Academy of Sciences (ÖAW), DOC fellowship  
Duration: 01/12/2019 to 31/05/2022

**CD Laboratory for „Next generation CAR T cells“**  
CCRI coordinator: Manfred Lehner  
Christian Doppler Association, Christian Doppler Lab  
Duration: 01/11/2019 to 31/10/2026

**Detection and prognostic relevance of DUX4 rearrangements in childhood leukemia**  
CCRI responsible principal investigator: Sabine Strehl  
Grant from the Austrian National Bank (OeNB), Jubiläumsfonds  
Duration: 01/08/2019 to 31/01/2022

**Advancing Liquid Biopsies for Monitoring and Personalized Treatment of Children with Neuroblastomas (LIQUIDHOPE)**  
CCRI responsible principal investigator: Sabine Taschner-Mandl  
Grant from the Austrian Science Fund (FWF), TRANSCAN-2 JTC 2020  
Duration: 01/04/2019 to 31/03/2022

**Find tumor immune evasion strategies by cellular barcoding**  
CCRI responsible principal investigator: Eva König  
Grant from the Austrian Science Fund (FWF), Stand Alone Project  
Duration: 15/03/2019 to 15/03/2022

**Ultra-high-risk pediatric cancer – combinatorial drivers and therapeutic targets for precision medicine**  
CCRI responsible principal investigator: Sabine Taschner-Mandl  
Grant from the Vienna Science and Technology Fund (WWTF), Life Sciences 2018  
Duration: 01/03/2019 to 28/02/2022

**Targeting the Ewing sarcoma microenvironment to overcome resistance to therapy**  
CCRI responsible principal investigator: Eleni Tomazou  
Grant from the Vienna Science and Technology Fund (WWTF), Life Sciences 2018  
Duration: 01/03/2019 to 28/02/2023

**Analysis of temporal and spatial Ewing sarcoma tumor evolution during chemotherapy and validation of its clinical implication**  
CCRI responsible principal investigator: Eleni Tomazou  
Grant from the Austrian National Bank (OeNB), Jubiläumsfonds  
Duration: 01/09/2018 to 31/08/2021

**Phylogenetic analysis of primary and disseminated tumor cells to reconstruct the metastatic route of relapsed neuroblastomas**  
CCRI Scientist in charge: Reza Abbasi  
Grant from the Ingrid Shaker Nessmann  
Krebsforschungsvereinigung (ISNK), Forschungsförderung 2018  
Duration: 01/02/2018 to 31/01/2019

**Platform supporting an integrated analysis of image and multiOMICs data based on liquid biopsies for tumor diagnostics (VISIOMICs)**  
Labdia Coordinator: Sabine Taschner-Mandl, Peter Ambros  
Grant from the Austrian Research Promotion Agency (FFG), COIN Programme  
Duration: 01/11/2017 to 31/12/2019

**Role of stress granules in Ewing sarcoma susceptibility**  
CCRI responsible principal investigator: Heinrich Kovar  
Grant from the Austrian Science Fund (FWF), Stand Alone Project  
Duration: 01/06/2017 to 31/11/2021

**Establishing a zebrafish disease model drug screening platform, (Danio4Can)**  
CCRI responsible principal investigator: Martin Distel  
Grant from the Austrian Research Promotion Agency (FFG), R&D Infrastrukturförderung, 1st Call  
Duration: 01/05/2017 to 31/05/2019

**Ewing sarcoma – an enhancer disease?**  
CCRI responsible principal investigator: Eleni Tomazou  
Grant from the Austrian Science Fund (FWF), Elise Richter Programme  
Duration: 01/01/2016 to 31/12/2020

**Permanent consequences in childhood Langerhans cell histiocytosis**  
CCRI Scientist in charge: Milen Minkov  
Grant from the Austrian National Bank (OeNB), Jubiläumsfonds  
Duration: 01/09/2015 to 31/05/2019

## DANKSAGUNG

## ACKNOWLEDGEMENTS

- 3. Gesundheitsprogramm der Europäischen Kommission / *3rd Health Programme of the European Commission*
- Abbott Österreich GmbH / *Abbott Austria GmbH*
- Alle der St. Anna Kinderkrebsforschung nahestehenden Institutionen, Verbände und Vereine / *All institutions, associations and societies related to St. Anna Children's Cancer Research Institute*
- Alle MitarbeiterInnen des St. Anna Kinderspitales / *All employees of St. Anna Children's Hospital*
- Bezirksorganisation Alsergrund / *District organisation Alsergrund*
- Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung (BMBWF) / *Federal Ministry Republic of Austria, Education, Science and Research*
- Bundesministerium für Digitalisierung und Wirtschaftsstandort (BMDW) / *Federal Ministry Republic of Austria, Digital and Economic Affairs*
- Bundesministerium Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz / *Federal Ministry Republic of Austria, Social Affairs, Health, Care and Consumer Protection*
- CeMM Forschungszentrum für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften / *CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences*
- Christian Doppler Forschungsgesellschaft / *Christian Doppler Research Association*
- Deutsches Krebsregister Universität Mainz / *German Cancer Registry, University of Mainz*
- EBMT Europäische Gruppe für Blut- und Knochenmarktransplantation / *EBMT European Society for Blood and Marrow Transplantation*
- Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien / *Ethics Commission of the Medical University of Vienna*
- Europäische Exekutivagentur für Verbraucher, Gesundheit, Landwirtschaft und Lebensmittel (CHAFEA) / *European Consumers, Health, Agriculture and Food Executive Agency (CHAFEA)*
- Fonds der Stadt Wien für innovative interdisziplinäre Krebsforschung / *Fund of the City of Vienna for innovative interdisciplinary cancer research*
- Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF) / *Austrian Science Fund (FWF)*
- Forschungsrahmenprogramme der Europäischen Kommission / *Research and Innovation Programmes of the European Commission*
- Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) / *Society for Paediatric Oncology and Haematology*
- Gigax Privatstiftung FL / *Gigax Private Trust FL*
- Herzfeldersche Familienstiftung / *Herzfeldersche Family Foundation*
- Histiozytose Gesellschaft / *Histiocytosis Association*
- Incyte Biosciences Austria GmbH / *Incyte Biosciences Austria GmbH*
- Ingrid Shaker Nessmann Krebsforschungsvereinigung / *Ingrid Shaker Nessmann Cancer Research Association*
- Kapsch AG / *Kapsch AG*
- Liddy Shriver Sarkom Initiative / *The Liddy Shriver Sarcoma Initiative*
- Ludwig Boltzmann Institute für selten e und undiagnostizierte Erkrankungen (LBI-RUD) / *Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases (LBI-RUD)*
- Marinomed Biotech AG / *Marinomed Biotech AG*
- Medac Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH, Deutschland / *Medac Ltd for Specialized Clinical Products*
- Medizinische Universität Wien / *Medical University of Vienna*
- Medizinisch-Wissenschaftlicher Fonds des Bürgermeisters der Stadt Wien / *Medical-Scientific Fund of the Mayor of the capital city of Vienna*
- Novartis Pharma Österreich GmbH / *Novartis Pharma Austria GmbH*
- Oncopeptides AB / *Oncopeptides AB*
- Österreichische Akademie der Wissenschaften (ÖAW) / *Austrian Academy of Sciences (ÖAW)*
- Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) / *Austrian Research Promotion Agency (FFG)*
- Österreichische Gesellschaft für Hämatologie & Medizinische Onkologie (ÖGHO) / *Austrian Society of Haematology and Oncology (ASHO)*
- Österreichische Nationalbank (OeNB) / *Austrian National Bank (OeNB)*
- Österreichischen Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde (ÖGKJ) / *Austrian Society for Paediatric Medicine (ÖGKJ)*
- Österreichisches Stammzell-Register / *Austrian Stem Cell Registry*
- Private FörderInnen, MentorInnen, Vereinsmitglieder und SpenderInnen der St. Anna Kinderkrebsforschung / *Private sponsors, mentors, association members and donors for the St. Anna Children's Cancer Research Institute*
- Stadt Wien / *City of Vienna*
- Stadtrat für Soziales, Gesundheit und Sport / *Senior City Councillor for Social Affairs, Health and Sport*
- Verein für Dermatologie, Wien / *Association for Dermatology Vienna*
- Wiener Wissenschafts-, Forschungs- und Technologiefonds (WWTF) / *Vienna Science and Technology Fund (WWTF)*
- Wirtschaftsagentur Wien / *Vienna Business Agency*



## BACHELOR- UND DIPLOM (MASTER)ARBEITEN, DISSERTATIONEN

### BACHELOR-, MASTER (DIPLOMA)- AND PHD-THESES

#### ABGESCHLOSSEN / GRADUATED IN 2019

##### RICO ARDY

Identification and molecular characterization of monogenetic defects leading to early-onset protein-losing enteropathy and inflammatory bowel disease

> Supervised by Kaan Boztug

PhD thesis (primarily performed at the Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, LBI-RUD)

##### JAKOB BERNER

The immune-regulatory role of tumor-associated Schwann cells

> Supervised by Sabine Taschner-Mandl

MSc thesis

##### MARKUS DOBERSBERGER

Regulating the function of chimeric antigen receptor (CAR) T cells by small molecules

> Supervised by Christian Obinger (University of Natural Resources and Life Sciences, BOKU), Manfred Lehner

MSc thesis

##### FLORIAN KROMP

Machine learning for tissue image analysis

> Supervised by Peter Ambros, Sabine Taschner-Mandl

PhD thesis

##### DARIA LAZIC

Deep Multi-Epitope Imaging of the Bone Marrow Disseminated Disease in Neuroblastoma

> Supervised by Sabine Taschner-Mandl

MSc thesis

##### FILIP MIVALT

Segmentation of Phase Contrast Images in Multi-Epitope Ligand Cartography for Image Quantification at the Single Cell Level

> Supervised by Sabine Taschner-Mandl

MSc thesis

##### PETER PENEDEK

Development and application of a comprehensive workflow for bias correction and coverage analysis of cell-free DNA reveals a Ewing sarcoma-specific epigenetic signature in liquid biopsies

> Supervised by Eleni M. Tomazou

MSc thesis

##### ELENA PLATZER

Durchflußzytometrische Bestimmung der minimalen Resterkrankung (MRD) bei Kindern mit akuter B-Lymphatischer Leukämie (B-ALL) im Wandel der Zeit

> Supervised by Angela Schumich

BSc thesis

##### ULRIKE PÖTSCHGER

Pseudo-value regression in paediatric oncology

> Supervised by Martina Mittlböck, Medical University Vienna

PhD thesis

##### BENJAMIN SALZER

Safety and specificity engineering of chimeric antigen receptor T cells (CAR-T cells) by modulation of avidity

> Supervised by Christian Obinger (University of Natural Resources and Life Sciences, BOKU), Manfred Lehner

PhD thesis

#### ABGESCHLOSSEN / GRADUATED IN 2020

##### ARMIN FEJZIC

Antiviral strategies by interferon-gamma to control intestinal adenovirus infections

> Supervised by Thomas Lion

MSc thesis

##### FILIP MARJAN GALLOB

Functional assessment of novel molecularly targeted drug combinations in pediatric acute myeloid leukemia (AML)

> Supervised by Michael N Dworzak

MSc thesis

##### TERESA GERBER

Liquid biopsies in neuroblastoma circulating tumor DNA analysis for disease monitoring and early relapse detection

> Supervised by Peter Ambros, Sabine Taschner-Mandl

PhD thesis

##### ANNA-MARIA HUSA

In vitro differentiation of human pluripotent stem cells as a model system to study candidate oncogenes

> Supervised by Klaus Fortschegger, Sabine Strehl

PhD thesis

##### MARTIN KOBAN

Machine learning models for quantifying phenotypic signatures of cancer cells based on transcriptomic and epigenomic data

> Supervised by Lars Mehnen (FH Technikum Wien),

Florian Halbritter

MSc thesis

##### KATJA NETTERMANN

Analysis of biomedical phenotypes from functional genomics data using machine learning

> supervisors: Michael Franke (Universität Osnabrück, DE),

Florian Halbritter

MSc thesis

##### LAURENE PFAJFER

The actin cytoskeleton: elucidation of its molecular control in immune cells by studying primary immunodeficiencies

> Supervised by Kaan Boztug, Loïc Dupré (Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, LBI-RUD)

PhD thesis

##### ANA PUDJA

Frequent chromosomal aberrations of chromosome 6 and deletions of genes encoding polycomb repressive complex 2 subunits in the leukemic transformation of chronic myeloid malignancies

> Supervised by Robert Kralovics, Medical University of Vienna

PhD thesis

##### VICTORIA SIX

Implementation of a Diagnostic Workflow for the Detection of Genetic Rearrangements in Ewing Sarcoma and Rhabdomyosarcoma

> Supervised by Marie Bernkopf

BSc thesis

##### ISABELLA SPONSEILER

Biological impact of TKI-resistant BCR-ABL1 kinase domain mutations

> Supervised by Thomas Lion

MSc thesis

##### MARCUS STROBL

Establishing an acute myeloid leukemia model in zebrafish

> Supervised by Martin Distel, Michael N Dworzak

MSc thesis

##### STEFAN TERLECKI-ZANIEWICZ

Biomolecular condensation drives Leukemia caused by NUP98-fusion proteins

> Supervised by Florian Grebrien, Medical University Vienna

PhD thesis

##### MANFRED VISAGIE

Functional testing of pharmacological signal intervention in long-term in vitro and in vivo models of pediatric AML

> Supervised by Michael N Dworzak

MSc thesis

##### CHRISTINA WALTER

Implementierung eines diagnostischen Workflows zur Aufarbeitung und Analyse von zellfreier DNA aus Plasma am Beispiel des Neuroblastoms

> Supervised by Marie Bernkopf

BSc thesis

##### CHARLOTTE ZAJC

Engineering a conformation specific ON switch for the regulation of CAR T cells

> Supervised by Christian Obinger (University of Natural Resources and Life Sciences, BOKU), Manfred Lehner

PhD thesis

1. Andreou D, Ranft A, Gosheger G, Timmermann B, Ladenstein R, Hartmann W, Bauer S, Baumhoer D, van den Berg H, Dijkstra PDS, Dürr HR, Gelderblom H, Harges J, Hjorth L, Kreyer J, Kruseova J, Leithner A, Scobioala S, Streibbürger A, Tunn PU, Wardelmann E, Windhager R, Jürgens H, Dirksen U; GPOH-Euro-EWING99 consortium. Which Factors Are Associated with Local Control and Survival of Patients with Localized Pelvic Ewing's Sarcoma? A Retrospective Analysis of Data from the Euro-EWING99 Trial. *Clin Orthop Relat Res.* 2019 Sep 26. doi: 10.1097/CORR.0000000000000962. [Epub ahead of print]
2. Baccarani M, Iacobucci I, Chiaretti S, Foà R, Balasubramanian P, Paietta E, Foroni L, Jeromin S, Izzo B, Spinelli O, Varma N, Menif S, Terragna C, Seth T, Bidet A, Coriu D, Lunghi F, Mayer J, Scappini B, Langabeer S, Maier J, Burt E, Candoni A, Albano F, Luppi M, Zupan I, Lion T, Zadro R, di Raimondo F, Popak B, Rege-Cambrin G, Annunziata M, Ayala A, Salinas-Viedma V, Ines Prado A, Milner B, Galimberti S, Janssen J, Polli V, Comba L, Borsellino B, Annibaldi O, Crugnola M, Passamonti F. In Ph+BCR -ABL1P210+ acute lymphoblastic leukemia the e13a2 (B2A2) transcript is prevalent. *Leukemia.* 2019 Oct 8. doi: 10.1038/s41375-019-0591-9. [Epub ahead of print]
3. Bal SK, Pazmandi J, Boztug K, Özen S. Rheumatological manifestations in inborn errors of immunity. *Pediatr Res.* 2019 Oct 3. doi: 10.1038/s41390-019-0600-8. [Epub ahead of print]
4. Battin C, De Sousa Linhares A, Paster W, Isenman DE, Wahrman M, Leitner J, Zlabinger GJ, Steinberger P, Hofer J. Neuropilin-1 Acts as a Receptor for Complement Split Products. *Front Immunol.* 2019 Sep 13;10:2209. doi: 10.3389/fimmu.2019.02209. eCollection 2019.
5. Bier J, Rao G, Payne K, Bridgen H, French E, Pelham SJ, Lau A, Lenthall H, Edwards ESJ, Smart JM, Cole TS, Choo S, Joshi AY, Abraham RS, O'Sullivan M, Boztug K, Meyts I, Gray PE, Berglund LJ, Hsu P, Wong M, Holland SM, Notarangelo LD, Uzel G, Ma CS, Brink R, Tangye SG, Deenick EK. Activating mutations in PIK3CD disrupt the differentiation and function of human and murine CD4+ T cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Jul;144(1):236-253. doi: 10.1016/j.jaci.2019.01.033. Epub 2019 Feb 6.
6. Bowden R, Davies RW, Heger A, Pagnamenta AT, de Cesare M, Oikonen LE, Parkes D, Freeman C, Dhalla F, Patel SY, Popitsch N, Ip CLC1, Roberts HE, Salatino S, Lockstone H, Lunter G, Taylor JC, Buck D1, Simpson MA, Donnelly P. Sequencing of human genomes with nanopore technology. *Nat Commun.* 2019 Apr 23;10(1):1869. doi: 10.1038/s41467-019-09637-5.
7. Buldini B, Maurer-Granofszky M, Varotto E, Dworzak MN. Flow-Cytometric Monitoring of Minimal Residual Disease in Pediatric Patients With Acute Myeloid Leukemia: Recent Advances and Future Strategies. *Front Pediatr.* 2019 Oct 11;7:412. doi: 10.3389/fped.2019.00412. eCollection 2019.
8. Calzoni E, Platt CD, Keles S, Kuehn HS, Beaussant-Cohen S, Zhang Y, Pazmandi J, Lanzi G, Pala F, Tahiat A, Artac H, Heredia RJ, Dmytrus J, Reisli I, Uygun V, Uygun D, Bingol A, Basaran E, Djenouhat K, Benhalla N, Bendahmane C, Emiroglu M, Kirchhausen T, Pasham M, Jones J, Wallace JG, Zheng L, Boisson B, Porta F, Rosenzweig SD, Su H, Giliani S, Lenardo M, Geha RS, Boztug K, Chou J, Notarangelo LD. F-BAR domain only protein 1 (FCHO1) deficiency is a novel cause of combined immune deficiency in human subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Jun;143(6):2317-2321.e12. doi: 10.1016/j.jaci.2019.02.014. Epub 2019 Feb 26.
9. Cario G, Leoni V, Conter V, Attarbaschi A, Zaliava M, Sramkova L, Cazzaniga G, Fazio G, Sutton R, Elitzur S, Izraeli S, Lauten M, Locatelli F, Basso G, Buldini B, Bergmann AK, Lentès J, Steinemann D, Göhring G, Schlegelberger B, Haas OA, Schewe D, Buchmann S, Moericke A, White D, Revesz T, Stanulla M, Mann G, Bodmer N, Arad-Cohen N, Zuna J, Valsecchi MG, Zimmermann M, Schrappe M, Biondi A. Relapses and treatment-related events contributed equally to poor prognosis in children with ABL-class fusion positive B-cell acute lymphoblastic leukemia treated according to AIEOP-BFM protocols. *Haematologica.* 2019 Oct 10. pii: haematol.2019.231720. doi: 10.3324/haematol.2019.231720. [Epub ahead of print]
10. Conde CD, Petronczki ÖY, Baris S, Willmann KL, Girardi E, Salzer E, Weitzer S, Ardy RC, Krolo A, Ijspeert H, Kiykim A, Karakoc-Aydiner E, Förster-Waldl E, Kager L, Pickl WF, Superti-Furga G, Martínez J, Loizou JI, Özen A, van der Burg M, Boztug K. Polymerase δ deficiency causes syndromic immunodeficiency with replicative stress. *J Clin Invest.* 2019 Oct 1;129(10):4194-4206. doi: 10.1172/JCI128903.
11. Corallo D, Donadon M, Pantile M, Sidorovich V, Cocchi S, Ori M, De Sarlo M, Candiani S, Frasson C, Distel M, Quattrone A, Zanon C, Basso G, Tonini GP, Aveic S. LIN28B increases neural crest cell migration and leads to transformation of trunk sympathoadrenal precursors. *Cell Death Differ.* 2019 Oct 10. doi: 10.1038/s41418-019-0425-3. [Epub ahead of print]
12. Doz F, Locatelli F, Baruchel A, Blin N, De Moerloose B, Frappaz D, Dworzak M, Fischer M, Stary J, Fuertig R, Riemann K, Taube T, Reinhardt D. Phase I dose-escalation study of volasertib in paediatric patients with acute leukemia or advanced solid tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2019 Oct;66(10):e27900. doi: 10.1002/pbc.27900. Epub 2019 Jul 5.
13. Erhart F, Weiss T, Kligenbrunner S, Fischhuber K, Reitermaier R, Halfmann A, Blauensteiner B, Lötsch D, Spiegl-Kreinecker S, Berger W, Sialana FJ, Lubec G, Felzmann T, Dohnal A, Visus C. Spheroid glioblastoma culture conditions as antigen source for dendritic cell-based immunotherapy: spheroid proteins are survival-relevant targets but can impair immunogenic interferon γ production. *Cytotherapy.* 2019 Jun;21(6):643-658. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.03.002. Epub 2019 Apr 8.
14. Farmer JR, Foldvari Z, Ujhazi B, De Ravin SS, Chen K, Blessing JJH, Schuetz C, Al-Herz W, Abraham RS, Joshi AY, Costa-Carvalho BT, Buchbinder D, Booth C, Reiff A, Ferguson PJ, Aghamohammadi A, Abolhassani H, Puck JM, Adeli M, Cancrini C, Palma P, Bertaina A, Locatelli F, Di Matteo G, Geha RS, Kanariou MG, Lycopolou L, Tzanoudaki M, Sleasman JW, Parikh S, Pinero G, Fischer BM, Dbaibo G, Unal E, Patiroglu T, Karakukcu M, Al-Saad KK, Dilley MA, Pai SY, Dutmer CM, Gelfand EW, Geier CB, Eibl MM, Wolf HM, Henderson LA, Hazen MM, Bonfim C, Wolska-Kuśniercz B, Butte MJ, Hernandez JD, Nicholas SK, Stepensky P, Chandrakasan S, Miano M, Westermann-Clark E, Goda V, Kriván G, Holland SM, Fadugba O, Henrickson SE, Ozen A, Karakoc-Aydiner E, Baris S, Kiykim A, Bredius R, Hoeger B, Boztug K, Pashchenko O, Neven B, Moshous D, Villartay JP, Bousfiha AA, Hill HR, Notarangelo LD, Walter JE. Outcomes and Treatment Strategies for Autoimmunity and Hyperinflammation in Patients with RAG Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019 Jul - Aug;7(6):1970-1985.e4. doi: 10.1016/j.jaip.2019.02.038. Epub 2019 Mar 12.
15. Gleixner KV, Sadovnik I, Schneeweiss M, Eisenwort G, Byrgazov K, Stefanzi G, Berger D, Herrmann H, Hadzijušufovic E, Lion T, Valent P. A kinase profile-adapted drug combination elicits synergistic cooperative effects on leukemic cells carrying BCR-ABL1T315I in Ph+ CML. *Leuk Res.* 2019 Mar;78:36-44. doi: 10.1016/j.leukres.2018.12.013. Epub 2018 Dec 28.
16. Göschl L, Winkler S, Dmytrus J, Heredia RJ, Lagler H, Ramharter M, Scheinecker G, Bonelli M, Schmetterer K, Pickl WF, Grabmeier-Pfistershammer K, Hershfield MS, Boztug K, Förster-Waldl E, Gualdoni GA. Unreported Missense Mutation in the Dimerization Domain of ADA2 Leads to ADA2 Deficiency Associated with Severe Oral Ulcers and Neutropenia in a Female Somalian Patient-Addendum to the Genotype-Phenotype Puzzle. *J Clin Immunol.* 2019 Nov 4. doi: 10.1007/s10875-019-00700-w. [Epub ahead of print]
17. Gotthardt D, Trifinopoulos J, Sexl V, Putz EM. JAK/STAT Cytokine Signaling at the Crossroad of NK Cell Development and Maturation. *Front Immunol.* 2019 Nov 12;10:2590. doi: 10.3389/fimmu.2019.02590. eCollection 2019
18. Groeneveld-Krentz S, Schroeder MP, Reiter M, Pogodzinski MJ, Pimentel-Gutiérrez HJ, Vagkopoulou R, Hof J, Chen-Santel C, Nebral K, Bradtke J, Türkmen S, Baldus CD, Gattenlöhner S, Haas OA, von Stackelberg A, Karawajew L, Eckert C, Kirschner-Schwabe R. Aneuploidy in children with relapsed B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: clinical importance of detecting a hypodiploid origin of relapse. *Br J Haematol.* 2019 Apr;185(2):266-283. doi: 10.1111/bjh.15770. Epub 2019 Feb 3.
19. Haas OA. Primary Immunodeficiency and Cancer Predisposition Revisited: Embedding Two Closely Related Concepts Into an Integrative Conceptual Framework. *Front Immunol.* 2019 Feb 12;9:3136. doi: 10.3389/fimmu.2018.03136. eCollection 2018.
20. Halbritter F, Farlik M, Schwentner R, Jug G, Fortelny N, Schnöller T, Pisa H, Schuster LC, Reinprecht A, Czech T, Gojo J, Holter W, Minkov M, Bauer WM, Simonitsch-Klupp I, Bock C, Hutter C. Epigenomics and Single-Cell Sequencing Define a Developmental Hierarchy in Langerhans Cell Histiocytosis. *Cancer Discov.* 2019 Oct;9(10):1406-1421. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-0138. Epub 2019 Jul 25.
21. Hamadeh L, Enshaei A, Schwab C, Alonso CN, Attarbaschi A, Barbary G, den Boer ML, Boer JM, Braun M, Dalla Pozza L, Elitzur S, Emerenciano M, Fehina L, Felice MS, Fronkova E, Haltrich I, Heyman MM, Horibe K, Imamura T, Jeison M, Kovács G, Kuiper RP, Mlynarski W, Nebral K, Ivanov Öfverholm I, Pastorczak A, Pieters R, Piko H, Pombo-de-Oliveira MS, Rubio P, Strehl S, Stary J, Sutton R, Trka J, Tsaur G, Venn N, Vora A, Yano M, Harrison CJ, Moorman AV; International BFM Study Group. Validation of the United Kingdom copy-number alteration classifier in 3239 children with B-cell precursor ALL. *Blood Adv.* 2019 Jan 22;3(2):148-157. doi: 10.1182/bloodadvances.2018025718.
22. Haveman LM, Ranft A, Vd Berg H, Smets A, Kruseova J, Ladenstein R, Brichard B, Paulussen M, Kuehne T, Juergens H, Klco-Brosius S, Dirksen U, Merks JHM. The relation of radiological tumor volume response to histological response and outcome in patients with localized Ewing Sarcoma. *Cancer Med.* 2019 Mar;8(3):1086-1094. doi: 10.1002/cam4.2002. Epub 2019 Feb 21.
23. Hovestadt V, Smith KS, Bihannic L, Filbin MG, Shaw ML, Baumgartner A, DeWitt JC, Groves A, Mayr L, Weisman HR, Richman AR, Shore ME, Goumnerova L, Rosencrance C, Carter RA, Phoenix TN, Hadley JL, Tong Y, Houston J, Ashmun RA, DeCuyper M, Sharma T, Flasch D, Silkov A, Ligon KL, Pomeroy SL, Rivera MN, Rozenblatt-Rosen O, Rusert JM, Wechsler-Reya RJ, Li XN, Peyrl A, Gojo J, Kirchhofer D, Lötsch D, Czech T, Dorfer C, Haberler C, Geyeregger R, Halfmann A, Gawad C, Easton J, Pfister SM, Regev A, Gajjar A, Orr BA, Slavc I, Robinson GW, Bernstein BE, Suvà ML, Northcott PA. Resolving medulloblastoma cellular architecture by single-cell genomics. *Nature.* 2019 Aug;572(7767):74-79. doi: 10.1038/s41586-019-1434-6. Epub 2019 Jul 24.
24. Humeniuk P, Geiselhart S, Battin C, Webb T, Steinberger P, Paster W, Hoffmann-Sommergruber K. Generation of a Jurkat-based fluorescent reporter cell line to evaluate lipid antigen interaction with the human iNKT cell receptor. *Sci Rep.* 2019 May 15;9(1):7426. doi: 10.1038/s41598-019-43529-4.
25. Karastaneva A, Nebral K, Schlagenhaf A, Baschin M, Palankar R, Juch H, Heitzer E, Speicher MR, Höfler G, Grigorow I, Urban C, Benesch M, Greinacher A, Haas OA, Seidel MG. Novel phenotypes observed in patients with ETV6-linked leukaemia/familial thrombocytopenia syndrome and a biallelic ARID5B risk allele as leukaemogenic cofactor. *J Med Genet.* 2019 Nov 8. pii: jmedgenet-2019-106339. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106339. [Epub ahead of print]
26. Kearns PR, Vassal G, Ladenstein R, Schrappe M, Biondi A, Blanc P, Eggert A, Kienesberger A, Kozhaeva O, Pieters R, Schmiegelow K. A European paediatric cancer mission: aspiration or reality? *Lancet Oncol.* 2019 Sep;20(9):1200-1202. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30487-5.
27. Kosulin K, Pichler H, Lawitschka A, Geyeregger R, Lion T. Diagnostic Parameters of Adenoviremia in Pediatric Stem Cell Transplant Recipients. *Front Microbiol.* 2019 Feb 22;10:414. doi: 10.3389/fmicb.2019.00414. eCollection 2019.

28. Kosulin K. Intestinal HAdV Infection: Tissue Specificity, Persistence, and Implications for Antiviral Therapy. *Viruses*. 2019 Aug 30;11(9). pii: E804. doi: 10.3390/v11090804.
29. Lau A, Avery DT, Jackson K, Lenthall H, Volpi S, Brigden H, Russell AJ, Bier J, Reed JH, Smart JM, Cole T, Choo S, Gray PE, Berglund LJ, Hsu P, Wong M, O'Sullivan M, Boztug K, Meyts I, Uzel G, Notarangelo LD, Brink R, Goodnow CC, Tangye SG, Deenick EK. Activated PI3K $\delta$  breaches multiple B cell tolerance checkpoints and causes autoantibody production. *J Exp Med*. 2020 Feb 3;217(2). pii: e20191336. doi: 10.1084/jem.20191336.
30. Lawitschka A, Gueclue ED, Januszko A, Körmöczy U, Rottal A, Fritsch G, Bauer D, Peters C, Greinix HT, Pickl WF, Kuzmina Z. National Institutes of Health-Defined Chronic Graft-vs.-Host Disease in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients Correlates With Parameters of Long-Term Immune Reconstitution. *Front Immunol*. 2019 Aug 27;10:1879. doi: 10.3389/fimmu.2019.01879. eCollection 2019.
31. Lin M, Nebral K, Gertzen CGW, Ganmore I, Haas OA, Bhatia S, Fischer U, Kuhlen M, Gohlke H, Izraeli S, Trka J, Hu J, Borkhardt A, Hauer J, Auer F. JAK2 p.G571S in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a synergizing germline susceptibility. *Leukemia*. 2019 Sep;33(9):2331-2335. doi: 10.1038/s41375-019-0459-z. Epub 2019 Apr 9.
32. Lion T. Adenovirus persistence, reactivation, and clinical management. *FEBS Lett*. 2019 Aug 14. doi: 10.1002/1873-3468.13576. [Epub ahead of print]
33. Meyer C, Lopes BA, Caye-Eude A, Cavé H, Arfeuille C, Cuccuini W, Sutton R, Venn NC, Oh SH, Tsaur G, Escherich G, Feuchtinger T, Kosasih HJ, Khaw SL, Ekert PG, Pombo-de-Oliveira MS, Bidet A, Djahanschiri B, Ebersberger I, Zaliouva M, Zuna J, Zermanova Z, Juvonen V, Grümayer RP, Fazio G, Cazzaniga G, Larghero P, Emerenciano M, Marschalek R. Human MLL/KMT2A gene exhibits a second breakpoint cluster region for recurrent MLL-USP2 fusions. *Leukemia*. 2019 Sep;33(9):2306-2340. doi: 10.1038/s41375-019-0451-7. Epub 2019 Mar 21.
34. Moll HP, Mohrherr J, Blaas L, Musteanu M, Stiedl P, Grabner B, Zboray K, König M, Stoiber D, Rüllicke T, Strehl S, Eferl R, Casanova E. A Mouse Model to Assess STAT3 and STAT5A/B Combined Inhibition in Health and Disease Conditions. *Cancers (Basel)*. 2019 Aug 22;11(9). pii: E1226. doi: 10.3390/cancers11091226.
35. Neftel C, Laffy J, Filbin MG, Hara T, Shore ME, Rahme GJ, Richman AR, Silverbush D, Shaw ML, Hebert CM, Dewitt J, Gritsch S, Perez EM, Gonzalez Castro LN, Lan X, Druck N, Rodman C, Dionne D, Kaplan A, Bertalan MS, Small J, Pelton K, Becker S, Bonal D, Nguyen QD, Servis RL, Fung JM, Mylvaganam R, Mayr L, Gojo J, Haberler C, Geyerregger R, Czech T, Slavic I, Nahed BV, Curry WT, Carter BS, Wakimoto H, Brastianos PK, Batchelor TT, Stemmer-Rachamimov A, Martinez-Lage M, Frosch MP, Stamenkovic I, Riggi N, Rheinbay E, Monje M, Rozenblatt-Rosen O, Cahill DP, Patel AP, Hunter T, Verma IM, Ligon KL, Louis DN, Regev A, Bernstein BE, Tirosch I, Suvà ML. An Integrative Model of Cellular States, Plasticity, and Genetics for Glioblastoma. *Cell*. 2019 Aug 8;178(4):835-849.e21. doi: 10.1016/j.cell.2019.06.024. Epub 2019 Jul 18.
36. Nogueira F, Sharghi S, Kuchler K, Lion T. Pathogenetic Impact of Bacterial-Fungal Interactions. *Microorganisms*. 2019 Oct 16;7(10). pii: E459. doi: 10.3390/microorganisms7100459.
37. Nogueira MF, Pereira L, Jenull S, Kuchler K, Lion T. Klebsiella pneumoniae prevents spore germination and hyphal development of *Aspergillus* species. *Sci Rep*. 2019 Jan 18;9(1):218. doi: 10.1038/s41598-018-36524-8.
38. Pfeifer H, Cazzaniga G, van der Velden VHJ, Cayuela JM, Schäfer B, Spinelli O, Akiki S, Avigad S, Bendit I, Borg K, Cavé H, Elia L, Reshmi SC, Gerrard G, Hayette S, Hermanson M, Juh A, Jurcek T, Chillón MC, Homburg C, Martinelli G, Kairisto V, Lange T, Lion T, Mueller MC, Pane F, Rai L, Damm-Welk C, Sacha T, Schnittger S, Touloumenidou T, Valerhaugen H, Vandenberghe P, Zuna J, Serve H, Herrmann E, Markovic S, Dongen JJMV, Ottmann OG. Standardisation and consensus guidelines for minimal residual disease assessment in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL) by real-time quantitative reverse transcriptase PCR of e1a2 BCR-ABL1. *Leukemia*. 2019 Aug;33(8):1910-1922. doi: 10.1038/s41375-019-0413-0. Epub 2019 Mar 11.
39. Pichler H, Lawitschka A, Glogova E, Willasch AM, von Luettichau I, Lehrnbecher T, Matthes-Martin S, Lang P, Bader P, Sykora KW, Schrum J, Kremens B, Ehlert K, Albert MH, Kuhlen M, Meisel R, Guengoer T, Strahm B, Gruhn B, Schulz A, Woessmann W, Poetschger U, Peters C. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors is associated with higher infection rates in children with acute lymphoblastic leukemia-A prospective international multicenter trial on behalf of the BFM-SG and the EBMT-PDWP. *Am J Hematol*. 2019 Aug;94(8):880-890. doi: 10.1002/ajh.25511. Epub 2019 May 29.
40. Poyer F, Friesenbichler W, Hutter C, Pichler H, Dworzak M, Peters C, Mann G, Indra A, Attarbaschi A. Rothia mucilaginosa bacteremia: A 10-year experience of a pediatric tertiary care cancer center. *Pediatr Blood Cancer*. 2019 Jul;66(7):e27691. doi: 10.1002/pbc.27691. Epub 2019 Mar 1.
41. Reiter M, Diem M, Schumich A, Maurer-Granofszky M, Karawajew L, Rossi JG, Ratei R, Groeneveld-Krentz S, Sajaroff EO, Suhendra S, Kappel M, Dworzak MN; International Berlin-Frankfurt-Münster (iBFM)-FLOW-network and the AutoFLOW consortium. Automated Flow Cytometric MRD Assessment in Childhood Acute B- Lymphoblastic Leukemia Using Supervised Machine Learning. *Cytometry A*. 2019 Sep;95(9):966-975. doi: 10.1002/cyto.a.23852. Epub 2019 Jul 7.
42. Scheer M, Vokuhl C, Blank B, Hallmen E, von Kalle T, Münter M, Wessalowski R, Hartwig M, Sparber-Sauer M, Schlegel PG, Kramm CM, Kontny U, Spriewald B, Kegel T, Bauer S, Kazanowska B, Niggli F, Ladenstein R, Ljungman G, Jahnukainen K, Fuchs J, Bielack SS, Klingebiel T, Koscielniak E; Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. Desmoplastic small round cell tumors: Multimodality treatment and new risk factors. *Cancer Med*. 2019 Feb;8(2):527-542. doi: 10.1002/cam4.1940. Epub 2019 Jan 16.
43. Scheer M, Vokuhl C, Veit-Friedrich I, Münter M, von Kalle T, Greulich M, Loff S, Stegmaier S, Sparber-Sauer M, Niggli F, Ladenstein R, Kazanowska B, Ljungman G, Jahnukainen K, Fuchs J, Bielack SS, Koscielniak E, Klingebiel T; Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. Low-grade fibromyxoid sarcoma: A report of the Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. *Pediatr Blood Cancer*. 2020 Feb;67(2):e28009. doi: 10.1002/pbc.28009. Epub 2019 Nov 17.
44. Schinnerl D, Mejstrikova E, Schumich A, Zaliouva M, Fortschegger K, Nebral K, Attarbaschi A, Fiser K, Kauer MO, Popitsch N, Haslinger S, Inthal A, Buldini B, Basso G, Bourquin JP, Gaipa G, Brüggemann M, Feuerstein T, Maurer-Granofszky M, Panzer-Grümayer R, Trka J, Mann G, Haas OA, Hrusak O, Dworzak MN, Strehl S. CD371 cell surface expression: a unique feature of DUX4-rearranged acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2019 Aug;104(8):e352-e355. doi: 10.3324/haematol.2018.214353. Epub 2019 Jan 31.
45. Schneeweiss-Gleixner M, Byrgazov K, Stefanzi G, Berger D, Eisenwort G, Lucini CB, Herndlhofer S, Preuner S, Obrova K, Pusic P, Witzeneder N, Greiner G, Hoermann G, Sperr WR, Lion T, Deininger M, Valent P, Gleixner KV.CDK4/CDK6 inhibition as a novel strategy to suppress the growth and survival of BCR-ABL1T315I+ clones in TKI-resistant CML. *EBioMedicine*. 2019 Nov 21. pii: S2352-3964(19)30745-5. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.11.004. [Epub ahead of print]
46. Selvanathan SP, Graham GT, Grego AR, Baker TM, Hogg JR, Simpson M, Batish M, Crompton B, Stegmaier K, Tomazou EM, Kovar H, Üren A, Toretsky JA. EWS-FLI1 modulated alternative splicing of ARID1A reveals novel oncogenic function through the BAF complex. *Nucleic Acids Res*. 2019 Oct 10;47(18):9619-9636. doi: 10.1093/nar/gkz699.
47. Serwas NK, Hoeger B, Ardy RC, Stulz SV, Sui Z, Memaran N, Meeths M, Krolo A, Yüce Petronczki Ö, Pfajfer L, Hou TZ, Halliday N, Santos-Valente E, Kalinichenko A, Kennedy A, Mace EM, Mukherjee M, Tesi B, Schrempf A, Pickl WF, Loizou JI, Kain R, Bidmon-Fliegenschnee B, Schickel JN, Glauzy S, Huemer J, Garncarz W, Salzer E, Pierides I, Bilic I, Thiel J, Priftakis P, Banerjee PP, Förster-Waldl E, Medgyesi D, Huber WD, Orange JS, Meffre E, Sansom DM, Bryceson YT, Altman A, Boztug K. Human DEF6 deficiency underlies an immunodeficiency syndrome with systemic autoimmunity and aberrant CTLA-4 homeostasis. *Nat Commun*. 2019 Jul 15;10(1):3106. doi: 10.1038/s41467-019-10812-x.
48. Somekh I, Thian M, Medgyesi D, Gülez N, Magg T, Gallón Duque A, Stauber T, Lev A, Genel F, Unal E, Simon AJ, Lee YN, Kalinichenko A, Dmytrus J, Kraakman MJ, Schiby G, Rohlf M, Jacobson JM, Özer E, Akcal Ö, Conca R, Patiroglu T, Karakuccu M, Ozcan A, Shahin T, Appella E, Tatematsu M, Martinez-Jaramillo C, Chinn IK, Orange JS, Trujillo-Vargas CM, Franco JL, Hauck F, Somech R, Klein C, Boztug K. CD137 deficiency causes immune dysregulation with predisposition to lymphomagenesis. *Blood*. 2019 Oct 31;134(18):1510-1516. doi: 10.1182/blood.2019000644.
49. Soverini S, Bassan R, Lion T. Treatment and monitoring of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients: recent advances and remaining challenges. *J Hematol Oncol*. 2019 Apr 23;12(1):39. doi: 10.1186/s13045-019-0729-2.
50. Sparber-Sauer M, Koscielniak E, Vokuhl C, Seitz G, Hallmen E, von Kalle T, Scheer M, Münter M, Bielack SS, Ladenstein R, Fuchs J, Klingebiel T; CWS Study Group. Epithelioid sarcoma in children, adolescents, and young adults: Localized, primary metastatic and relapsed disease. Treatment results of five Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS] trials and one registry. *Pediatr Blood Cancer*. 2019 Sep;66(9):e27879. doi: 10.1002/pbc.27879. Epub 2019 Jun 19.
51. Sparber-Sauer M, Stegmaier S, Vokuhl C, Seitz G, von Kalle T, Scheer M, Münter M, Bielack SS, Weclawek-Tompol J, Ladenstein R, Niggli F, Ljungman G, Fuchs J, Hettmer S, Koscielniak E, Klingebiel T; CWS Study Group. Rhabdomyosarcoma diagnosed in the first year of life: Localized, metastatic, and relapsed disease. Outcome data from five trials and one registry of the Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. *Pediatr Blood Cancer*. 2019 Jun;66(6):e27652. doi: 10.1002/pbc.27652. Epub 2019 Feb 14.
52. Spencer S, Köstel Bal S, Egner W, Lango Allen H, Raza SI, Ma CA, Gürel M, Zhang Y, Sun G, Sabroe RA, Greene D, Rae W, Shahin T, Kania K, Ardy RC, Thian M, Staples E, Pecchia-Bekku A, Worrall WPM, Stephens J, Brown M, Tuna S, York M, Shackley F, Kerrin D, Sargur R, Condliffe A, Tipu HN, Kuehn HS, Rosenzweig SD, Turro E, Tavaré S, Thrasher AJ, Jodrell DI, Smith KGC, Boztug K, Milner JD, Thaventhiran JED. Loss of the interleukin-6 receptor causes immunodeficiency, atopy, and abnormal inflammatory responses. *J Exp Med*. 2019 Sep 2;216(9):1986-1998. doi: 10.1084/jem.20190344. Epub 2019 Jun 24.
53. Srivastava S, Nataraj NB, Sekar A, Ghosh S, Bornstein C, Drago-Garcia D, Roth L, Romaniello D, Marrocco I, David E, Gilad Y, Lauriola M, Rotkopf R, Kimchi A, Haga Y, Tsutsumi Y, Mirabeau O, Surdez D, Zinovyev A, Delattre O, Kovar H, Amit I, Yarden Y. ETS Proteins Bind with Glucocorticoid Receptors: Relevance for Treatment of Ewing Sarcoma. *Cell Rep*. 2019 Oct 1;29(1):104-117. e4. doi: 10.1016/j.celrep.2019.08.088.
54. Troschke-Meurer S, Siebert N, Marx M, Zumpe M, Ehlert K, Mutschlechner O, Loibner H, Ladenstein R, Lode HN. Low CD4+/CD25+/CD127- regulatory T cell- and high INF- $\gamma$  levels are associated with improved survival of neuroblastoma patients treated with long-term infusion of ch14.18/CHO combined with interleukin-2. *Oncoimmunology*. 2019 Sep 8;8(12):1661194. doi: 10.1080/2162402X.2019.1661194. eCollection 2019.
55. Valent P, Orazi A, Savona MR, Patnaik MM, Onida F, van de Loosdrecht AA, Haase D, Haferlach T, Elena C, Pleyer L, Kern W, Pemovska T, Vladimer GI, Schanz J, Keller A, Lübbert M, Lion T, Sottler K, Reiter A, De Witte T, Pfeilstöcker M, Geissler K, Padron E, Deininger M, Orfao A, Horny HP, Greenberg PL, Arber DA, Malcovati L, Bennett JM. Proposed diagnostic criteria for classical chronic myelomonocytic leukemia (CMML), CMML variants and pre-CMML conditions. *Haematologica*. 2019 Oct;104(10):1935-1949. doi: 10.3324/haematol.2019.222059. Epub 2019 May 2.
56. Witalisz-Siepracka A, Klein K, Prinz D, Leidenfrost N, Schabbauer G, Dohnal A, Sexl V. Loss of JAK1 Drives Innate Immune Deficiency. *Front Immunol*. 2019 Jan 8;9:3108. doi: 10.3389/fimmu.2018.03108. eCo

57. Ambros IM, Tonini GP, Pötschger U, Gross N, Mosseri V, Beiske K, Berbegall AP, Bénard J, Bown N, Caron H, Combaret V, Couturier J, Defferrari R, Delattre O, Jeison M, Kogner P, Lunec J, Marques B, Martinsson T, Mazzocco M, Noguera R, Schleiermacher G, Valent A, Van Roy N, Villamon E, Janousek D, Pribill I, Glogova E, Attiyeh EF, Hogarty MD, Monclair TF, Holmes K, Valteau-Couanet D, Castel V, Tweddle DA, Park JR, Cohn S, Ladenstein R, Beck-Popovic M, De Bernardi B, Michon J, Pearson ADJ, Ambros PF. Age Dependency of the Prognostic Impact of Tumor Genomics in Localized Resectable MYCN-Nonamplified Neuroblastomas. Report From the SIOPEN Biology Group on the LNESG Trials and a COG Validation Group. *J Clin Oncol*. 2020 Nov 1;38(31):3685-3697. doi: 10.1200/JCO.18.02132. Epub 2020 Sep 9.
58. Bertanga P, Pasqualini C, Pötschger U, Sangüesa C, Castellani MR, Cañete A, Luksch R, Elliot M, Schreier G, Kropf M, Morgenstern D, Papadakis V, Ash S, Ruud E, Brock P, Wiczorek A, Kogner P, Trahair T, Ambros P, Boterberg T, Castel V, Valteau-Couanet D, Ladenstein R. Central nervous system relapse in high-risk stage 4 neuroblastoma: The HR-NBL1/SIOPEN trial experience. *Eur J Cancer*. 2021 Feb;144:1-8. doi: 10.1016/j.ejca.2020.10.020. Epub 2020 Dec 11.
59. Bornhauser B, Cario G, Rinaldi A, Risch T, Rodriguez Martinez V, Schütte M, Warnatz HJ, Scheidegger N, Mirkowska P, Tempert M, Möller C, Schumich A, Dworzak M, Attarbaschi A, Brüggemann M, Ritgen M, Mejstrikova E, Hofmann A, Buldini B, Scarparo P, Basso G, Maglia G, Gaipa G, Skoblyn TL, Te Kronnie G, Vendramini E, Panzer-Grümayer R, Barz MJ, Blerim Marovca 1, Hauri-Hohl M, Niggli F, Eckert C, Schrappe M, Stanulla M, Zimmermann M, Wollscheid B, Yaspo ML, Bourquin JP. The hematopoietic stem cell marker VNN2 is associated with chemoresistance in pediatric B-cell precursor ALL. *Blood Adv*. 2020 Sep 8;4(17):4052-4064. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000938.
60. Byrgazov K, Anderson C, Salzer B, Bozsaky E, Larsson R, Gullbo J, Lehner M, Lehmann F, Slipicevic A, Kager L, Fryknäs M, Taschner-Mandl S. Targeting aggressive osteosarcoma with a peptidase-enhanced cytotoxic melphalan flufenamide. *Ther Adv Med Oncol*. 2020 Jul 29;12:1758835920937891. doi: 10.1177/1758835920937891. eCollection 2020.
61. Calaminus G, Schneider DT, von Schweinitz D, Jürgens H, Infed N, Schönberger S, Olson TA, Albers P, Vokuhl C, Stein R, Looijenga L, Sehoul J1, Metzelder M, Claviez A, Dworzak M, Eggert A, Fröhlich B, Gerber NU, Kratz CP, Faber J, Klingebiel T, Harms D, Göbel U. Age-Dependent Presentation and Clinical Course of 1465 Patients Aged 0 to Less than 18 Years with Ovarian or Testicular Germ Cell Tumors; Data of the MAKEI 96 Protocol Revisited in the Light of Prenatal Germ Cell Biology. *Cancers (Basel)*. 2020 Mar 6;12(3):611. doi: 10.3390/cancers12030611.
62. Coronado E, Yañez Y, Vidal E, Rubio L, Vera-Sempere F, Cañada-Martínez AJ, Panadero J, Cañete A, Ladenstein R, Castel V, Font de Mora J. Intratumoral immunosuppression profiles in 11q-deleted neuroblastomas provide new potential therapeutic targets. *Mol Oncol*. 2020 Nov 30;15(2):364-380. doi: 10.1002/1878-0261.12868. Online ahead of print.
63. Debiassi M, Pichler H, Klinglmüller F, Boztug H, Schmidthaler K, Rech J, Scherer D, Lupinek C, Valenta R, Kacinska-Pfäller E, Geyeregger R, Fritsch G, Haas OA, Peters C, Lion T, Akdis M, Matthes S, Akdis CA, Szépfalusi Z, Eiwegger T. Transfer and loss of allergen-specific responses via stem cell transplantation: A prospective observational study. *Allergy*. 2020 Sep;75(9):2243-2253. doi: 10.1111/all.14278. Epub 2020 Jun 23.
64. Erhart F, Hackl M, Hahne H, Buchroithner J, Meng C, Kligenbrunner S, Reitermaier R, Fischhuber K, Skalicky S, Berger W, Spiegl-Kreinecker S, Lötsch D, Ricken G, Kuster B, Wöhner A, Widhalm G, Hainfellner J, Felzmann T, Dohnal AM, Marosi C, Visus C. Combined proteomics/miRNomics of dendritic cell immunotherapy-treated glioblastoma patients as a screening for survival-associated factors. *NPJ Vaccines*. 2020 Jan 16;5:5. doi: 10.1038/s41541-019-0149-x. eCollection 2020.
65. Fortschegger M, Preuner S, Printz D, Poetsch AR, Geyeregger R, Pichler H, Lawitschka A, Lion T. Detection and Monitoring of Lineage-Specific Chimerism by Digital Droplet PCR-Based Testing of Deletion/Insertion Polymorphisms. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020 Jun;26(6):1218-1224. doi: 10.1016/j.bbmt.2020.02.016. Epub 2020 Feb 22.
66. Gasteiger LM, Robinson PN, Pazmandi J, Boztug K, Seppänen MRJ, Seidel MG, Registry Working Party of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Supplementation of the ESID registry working definitions for the clinical diagnosis of inborn errors of immunity with encoded human phenotype ontology (HPO) terms. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020 May;8(5):1778. doi: 10.1016/j.jaip.2020.02.019.
67. Gerber T, Taschner-Mandl S, Saloberger-Sindhöringer L, Popitsch N, Heitzer E, Witt V, Geyeregger R, Hutter C, Schwentner R, Ambros IM, Ambros PF. Assessment of Pre-Analytical Sample Handling Conditions for Comprehensive Liquid Biopsy Analysis. *J Mol Diagn*. 2020 Aug;22(8):1070-1086. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.05.006. Epub 2020 Jun 1.
68. Ghosh S, Köstel Bal S, Edwards ESJ, Pillay B, Jiménez Heredia R, Erol Cipe F, Rao G, Salzer E, Zoghi S, Abolhassani H, Momen T, Gostick E, Price DA, Zhang Y, Oler AJ, Gonzaga-Jauregui C, Erman B, Metin A, Ilhan I, Haskologlu S, Islamoglu C, Baskin K, Ceylaner S, Yilmaz E, Unal E, Karakukcu M, Berghuis D, Cole T, Gupta AK, Hauck F, Kogler H, Hoepelman AIM, Baris S, Karakoc-Aydiner E, Ozen A, Kager L, Holzinger D, Paulussen M, Krüger R, Meisel R, Oommen PT, Morris E, Neven B, Worth A, van Montfrans J, Fraaij PLA, Choo S, Dogu F, Davies EG, Burns S, Dücker G, Perez Becker R, von Bernuth H, Latour S, Faraci M, Gattorno M, Su HL, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Lenardo MJ, Ma CS, Niehues T, Aghamohammadi A, Rezaei N, Ikinciogullari A, Tangye SG, Lankester AC, Boztug K. Extended clinical and immunological phenotype and transplant outcome in CD27 and CD70 deficiency. *Blood*. 2020 Dec 3;136(23):2638-2655. doi: 10.1182/blood.202006738
69. Gojo J, Englinger B, Jiang L, Hübner JM, Shaw ML, Hack OA, Madlener S, Kirchofer D, Liu I, Pyrdol J, Hovestadt V, Mazzola E, Mathewson ND, Trissal M, Lötsch D, Dorfer C, Haberler C, Halfmann A, Mayr L, Peyrl A, Geyeregger R, Schwalm B, Mauermann M, Pajtlér KW, Milde T, Shore ME, Geduldig JE, Pelton K, Czech T, Ashenberg O, Wucherpennig KW, Rozenblatt-Rosen O, Alexandrescu S, Ligon KL, Pfister SM, Regev A, Slavic I, Berger W, Suvà ML, Kool M, Filbin MG. Single-Cell RNA-Seq Reveals Cellular Hierarchies and Impaired Developmental Trajectories in Pediatric Ependymoma. *Cancer Cell*. 2020 Jul 13;38(1):44-59.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2020.06.004.
70. Grissenberger S, Riedl S, Rinner B, Leber R, Zweytick D. Design of human lactoferricin derived antitumor peptides-activity and specificity against malignant melanoma in 2D and 3D model studies. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2020 Aug 1;1862(8):183264. doi: 10.1016/j.bbmem.2020.183264. Epub 2020 Mar 7.
71. Grünewald TGP, Alonso M, Avnet S, Banito A, Burdach S, Cidre-Aranaz F, Di Pompo G, Distel M, Dorado-Garcia H, Garcia-Castro J, González-González L, Grigoriadis AE, Kusan M, Koelsche C, Krumbholz M, Lecanda F, Lemma S, Longo DL, Madrigal-Esquivel C, Morales-Molina A, Musa J, Ohmura S, Ory B, Pereira-Silva M, Perut F, Rodriguez R, Seeling C, Al Shaaili N, Shaabani S, Shrivastava K, Sinha S, Tomazou EM, Trautmann M, Vela M, Versteijlen-Jonkers YMH, Visgauss J, Zalacain M, Schober SJ, Lissat A, English WR, Baldini N, Heymann D. Sarcoma treatment in the era of molecular medicine. *EMBO Mol Med*. 2020 Nov 6;12(11):e11131. doi: 10.15252/emmm.201911131. Epub 2020 Oct 13.
72. Günes AM, Millot F, Kalwak K, Lausen B, Sedlacek P, Versluys AB, Dworzak M, De Moerloose B, Suttrop M. Features and outcome of chronic myeloid leukemia at very young age: Data from the International Pediatric Chronic Myeloid Leukemia Registry. *Pediatr Blood Cancer*. 2021 Jan;68(1):e28706. doi: 10.1002/pbc.28706. Epub 2020 Oct 8.
73. Haindl R, Duetl M, Gloor S, Dahdah J, Ojeda J, Sturtzel C, Deng S, Deloria AJ, Li Q, Liu M, Distel M, Drexler W, Leitgeb R. Ultra-high-resolution SD-OCM imaging with a compact polarization-aligned 840 nm broadband combined-SLED source. *Biomed Opt Express*. 2020 Jun 1;11(6):3395-3406. doi: 10.1364/BOE.394229.
74. Hanitsch L, Baumann U, Boztug K, Burkhard-Meier U, Fasshauer M, Habermehl P, Hauck F, Klock G, Liese J, Meyer O, Müller R, Pachlopnik-Schmid J, Pfeiffer-Kascha D, Warnatz K, Wehr C, Wittke K, Niehues T, von Bernuth H. Treatment and management of primary antibody deficiency: German interdisciplinary evidence-based consensus guideline. *Eur J Immunol*. 2020 Oct;50(10):1432-1446. doi: 10.1002/eji.202048713. Epub 2020 Sep 9.
75. Haveman LM, Ranft A, van den Berg H, Klco-Brosius S, Ladenstein R, Paulussen M, Juergens H, Dirksen U, Merks JHM. Primary and Metastatic Intracranial Ewing Sarcoma at Diagnosis: Retrospective International Study and Systematic Review. *Cancers (Basel)*. 2020 Jun 24;12(6):1675. doi: 10.3390/cancers12061675.
76. Heibl S, Buxhofer-Ausch V, Schmidt S, Webersinke G, Lion T, Piringer G, Kuehr T, Wolf D, Melchardt T, Greil R, Thaler J. A phase 1 study to evaluate the feasibility and efficacy of the addition of ropeginterferon alpha-2b to imatinib treatment in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia (CML) not achieving a deep molecular response (molecular remission 4.5)-AGMT\_CML 1. *Hematol Oncol*. 2020 Dec;38(5):792-798. doi: 10.1002/hon.2786. Epub 2020 Aug 19.
77. Holmes K, Pötschger U, Pearson ADJ, Sarnacki S, Cecchetto G, Gomez-Chacon J, Squire R, Freud E, Bysiek A, Matthyssens LE, Metzelder M, Monclair T, Stenman J, Rygl M, Rasmussen L, Joseph J-M, Irtan S, Avanzini S, Godzinski J, Björnland K, Elliott M, Luksch R, Castel V, Ash S, Balwierz W, Laureys G, Ruud E, Papadakis V, Malis J, Owens C, Schroeder H, Beck-Popovic M, Trahair T, Forjaz de Lacerda A, Ambros PF, Gaze MN, McHugh K, Valteau-Couanet D, Ladenstein RL, International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma Group (SIOPEN) Influence of Surgical Excision on the Survival of Patients With Stage 4 High-Risk Neuroblastoma: A Report From the HR-NBL1/SIOPEN Study. *J Clin Oncol*. 2020 Sep 1;38(25):2902-2915. doi: 10.1200/JCO.19.03117. Epub 2020 Jul 8.
78. Kárai B, Gyurina K, Ujfalusi A, Sędek L, Barna G, Jáksó P, Svec P, Szánthó E, Csaba Nagy A, Müller J, Simon R, Wojczek Á, Szegedi I, Györgyi Tiszlavicz L, Kowalczyk JR, Kolenova A, Kovács GT, Szczepański T, Dworzak M, Schumich A, Attarbaschi A, Nebrál K, Haas OA, Kappelmayer J, Hevessy Z, Kiss C. Expression Patterns of Coagulation Factor XIII Subunit A on Leukemic Lymphoblasts Correlate with Clinical Outcome and Genetic Subtypes in Childhood B-cell Progenitor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2020 Aug 13;12(8):2264. doi: 10.3390/cancers12082264.
79. Khuen HS, Niemela JE, Stoddard J, Ciullini Mercurita S, Shahin T, Goel S, Mary Hintermeyer M, Jimenez Heredia R, Garofalo M, Lucas L, Singh S, Tondo A, Jacobs ZD, Gahl W, Latour S, Verbsky J, Routes J, Cunningham-Rundles C, Boztug K, Gambineri E, Fleisher TA, Chandrakasan S, Rosenzweig S. Germline IKAROS dimerization haploinsufficiency causes hematologic cytopenias and malignancies. *Blood*. 2020 Aug 26;blood.2020007292. doi: 10.1182/blood.2020007292. Online ahead of print.
80. Khunweeraphong N, Kuchler K. The first intracellular loop is essential for the catalytic cycle of the human ABCG2 multidrug resistance transporter. *FEBS Lett*. 2020 Nov 9;594(23):4059-4075. doi: 10.1002/1873-3468.13994. Online ahead of print.
81. Khunweeraphong N, Mitchell-White J, Szöllösi D, Hussein T, Kuchler K, Kerr ID, Stockner T, Lee JY. Picky ABCG5/G8 and promiscuous ABCG2 - a tale of fatty diets and drug toxicity. *FEBS Lett*. 2020 Sep 26;594(23):4035-4058. doi: 10.1002/1873-3468.13938. Online ahead of print.
82. Kovar H, Bierbaumer L, Radic-Sarikas B. The YAP/TAZ Pathway in Osteogenesis and Bone Sarcoma Pathogenesis. *Cells*. 2020 Apr 15;9(4):972. doi: 10.3390/cells9040972
83. Kozyra EJ, Pastor VB, Lefkopoulos S, Sahoo SS, Busch H, Voss RK, Erlacher M, Lebrecht D, Szvetnik EA, Hirabayashi S, Pasauliene R, Pedace L, Tartaglia M, Klemann C, Metzger P, Boerries M, Catala A, Hasle H, de Haas V, Kállay K, Masetti R, De Moerloose B, Dworzak M, Schmugge M, Smith O, Starý J, Mejstrikova E, Ussowicz M, Morris M, Singh P, Collin M, Derecka M, Göhring G, Flotho C, Strahm B, Locatelli F, Niemeyer CM, Trompouki E, Włodarski MW, European Working Group of MDS in Childhood (EWOG-MDS). Synonymous GATA2 mutations result in selective loss of mutated RNA and are common in patients with GATA2 deficiency. *Leukemia*. 2020 Oct;34(10):2673-2687. doi: 10.1038/s41375-020-0899-5. Epub 2020 Jun 18.

- 84.** Kromp F, Bozsaky E, Rifatbegovic F, Fischer L, Ambros M, Berneder M, Weiss T, Lazic D, Dörr W, Hanbury A, Beiske K, Ambros PF, Ambros IM, Taschner-Mandl S. An annotated fluorescence image dataset for training nuclear segmentation methods. *Sci Data*. 2020 Aug 11;7(1):262. doi: 10.1038/s41597-020-00608-w.
- 85.** Krüger R, Martin E, Dmytrus J, Feiterna-Sperling C, Meisel C, Unterwalder N, Kölsch U, Wahn V, Hofmann J, Korn P, Latour S, Boztug K, von Bernuth H. CD70 Deficiency Associated With Chronic Epstein-Barr Virus Infection, Recurrent Airway Infections and Severe Gingivitis in a 24-Year-Old Woman. *Case Report Front Immunol*. 2020 Aug 4;11:1593. doi: 10.3389/fimmu.2020.01593. eCollection 2020.
- 86.** Ladenstein R, Pötschger U, Valteau-Couanet D, Luksch R, Castel V, Ash S, Laureys G, Brock P, Michon JM, Owens C, Trahair T, Chan GCF, Ruud E, Schroeder H, Beck-Popovic M, Schreier G, Loibner H, Ambros P, Holmes K, Castellani MR, Gaze MN, Garaventa A, Pearson ADJ, Lode HN. Investigation of the Role of Dinutuximab Beta-Based Immunotherapy in the SIOPEN High-Risk Neuroblastoma 1 Trial (HR-NBL1). *Cancers (Basel)*. 2020 Jan 28;12(2):309. doi: 10.3390/cancers12020309.
- 87.** Lakatos K, Sterlich K, Pötschger U, Thiem E, Hutter C, Prosch H, Minkov M. Online ahead of print. Langerhans Cell Histiocytosis of the Orbit: Spectrum of Clinical and Imaging Findings. *J Pediatr*. 2020 Nov 4;S0022-3476(20)31354-8. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.10.056.
- 88.** Lämmle CA, Varady A, Müller TG, Sturtzel C, Riepl M, Mathes B, Eichhorst J, Sporbert A, Lehmann M, Kräusslich HG, Distel M, Broichhagen J. Photocaged Hoechst Enables Subnuclear Visualization and Cell Selective Staining of DNA in vivo. *Chembiochem*. 2021 Feb 2;22(3):548-556. doi: 10.1002/cbic.202000465. Epub 2020 Nov 2.
- 89.** Lawitschka A, Brunmair M, Bauer D, Zubarovskaya N, Felder-Puig R, Strahm B, Bader P, Strauss G, Albert M, von Luettichau I, Greinix H, Wolff D, Peters C. A Psychometric properties of the Activities Scale for Kids-performance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adolescents and children: Results of a prospective study on behalf of the German-Austrian-Swiss GVHD Consortium. *Wien Klin Wochenschr*. 2020 Apr 3. doi: 10.1007/s00508-020-01641-w. Online ahead of print
- 90.** Lawitschka A, Buehrer S, Bauer D, Peters K, Silbernagl M, Zubarovskaya N, Brunmair B, Kayali F, Hlavacs H, Mateus-Berr R, Riedl D, Rumpold G, Peters C. A Web-Based Mobile App (INTERACCT App) for Adolescents Undergoing Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplantation Aftercare to Improve the Quality of Medical Information for Clinicians: Observational Study. *JMIR Mhealth Uhealth*. 2020 Jun 30;8(6):e18781. doi: 10.2196/18781.
- 91.** Lin SH, Sampson JN, Grünewald TGP, Surdez D, Reynaud S, Mirabeau O, Karlins E, Rubio RA, Zaidi S, Grossetête-Lalami S, Ballet S, Lapouble E, Laurence V, Michon J, Pierron G, Kovar H, Kontny U, González-Neira A, Alonso J, Patino-Garcia A, Corradini N, Marec Bérard P, Miller J, Freedman ND, Rothman N, Carter BD, Dagnall CL, Burdett L, Jones K, Manning M, Wyatt K, Zhou W, Yeager M, Cox DG, Hoover RN, Khan J, Armstrong GT, Leisenring WM, Bhatia S, Robison LL, Kulozik AE, Kriebel J, Meitinger T, Metzler M, Krumbholz M, Hartmann W, Strauch K, Kirchner T, Dirksen U, Mirabello L, Tucker MA, Tirode F, Morton LM, Chanock SJ, Delattre O, Machiela MJ. Low-frequency variation near common germline susceptibility loci are associated with risk of Ewing sarcoma. *PLoS One*. 2020 Sep 3;15(9):e0237792. doi: 10.1371/journal.pone.0237792. eCollection 2020.
- 92.** Lobner E, Anna Wachernig A, Gudipati V, Mayrhofer P, Salzer B, Lehner M, Huppa JB, Kunert R. Getting CD19 Into Shape: Expression of Natively Folded „Difficult-to-Express“ CD19 for Staining and Stimulation of CAR-T Cells. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020 Feb 7;8:49. doi: 10.3389/fbioe.2020.00049. eCollection 2020.
- 93.** Lomakin AJ, Cattin C J, Cuvelier D, Alraies Z, Molina M, Nader GPF, Srivastava N, Sáez PJ, Garcia-Arcos JM, Zhitnyak IY, Bhargava A, Driscoll MK, Welf ES, Fiolka R, Petrie RJ, De Silva NS, González-Granado JM, Manel N, Lennon-Duménil AM, Müller DJ, Piel M. The nucleus acts as a ruler tailoring cell responses to spatial constraints. *Science*. 2020 Oct 16;370(6514):eaba2894. doi: 10.1126/science.aba2894.
- 94.** Lorenzini T, Fliegau M, Klammer N, Frede N, Proietti M, Bulashevska A, Camacho-Ordóñez N, Varjosalo M, Kinnunen M, de Vries E, van der Meer JWM, Ameratunga R, Roifman CM, Schejter YD, Kobbe R, Hautala T, Atsckezzei F, Schmidt RE, Schröder C, Stepensky P, Shadur B, Pedroza LA, van der Flier N, Martínez-Gallo M, Gonzalez-Granado LI, Allende LM, Schcherbina A, Kuzmenko N, Zakharova V, Fabela Neves J, Svec P, Fischer U, Ip W, Bartsch O, Barış S, Klein C, Geha R, Chou J, Alosaimi M, Weintraub L, Boztug K, Hirschmugl T, Marluce Dos Santos Vilela M, Holzinger D, Seidl M, Lougaris V, Plebani A, Alsina L, Piquer-Gibert M, Deyà-Martínez A, Slade CA, Aghamohammadi A, Abolhassani H, Hammarström L, Kuismin O, Helminen M, Lango Allen H, Thaventhiran JE, Freeman AF, Cook M, Bakhtiar S, Christiansen M, Cunningham-Rundles C, Patel NC, Rae W, Niehues T, Brauer N, Syrjänen J, Seppänen MRJ, Burns SO, Tuijnenburg P, Kuijpers TW, NIHR BioResource; Warnatz K, Grimbacher B, NIHR BioResource. Characterization of the clinical and immunologic phenotype and management of 157 individuals with 56 distinct heterozygous NFKB1 mutations. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 Oct;146(4):901-911. doi: 10.1016/j.jaci.2019.11.051. Epub 2020 Apr 9.
- 95.** Martí-Bonmatí L, Alberich-Bayarri A, Ladenstein R, Blanquer I, Segrelles JD, Cerdá-Alberich L, Gkontra P, Hero B, García-Aznar J M, Keim D, Jentner W, Seymour K, Jiménez-Pastor A, González-Valverde I, Martínez de Las Heras B, Essiaf S, Walker D, Rochette M, Bubak M, Mestres J, Viceconti M, Martí-Besa G, Cañete A, Richmond P, Wertheim KY, Gubala T, Kasztelnik M, Meizner J, Nowakowski P, Gilpérez S, Suárez A, Aznar M, Restante G, Neri E. PRIMAGE project: predictive in silico multiscale analytics to support childhood cancer personalised evaluation empowered by imaging biomarkers. *Eur Radiol Exp*. 2020 Apr 3;4(1):22. doi: 10.1186/s41747-020-00150-9.
- 96.** Meister MT, Scheer M, Hallmen E, Stegmaier S, Vokuhl C, von Kalle T, Fuchs J, Münster M, Niggli F, Ladenstein R, Kazanowska B, Ljungman G, Bielack S, Koscielniak E, Klingebiel T, Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. Malignant peripheral nerve sheath tumors in children, adolescents, and young adults: Treatment results of five Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS] trials and one registry. *J Surg Oncol*. 2020 Dec;122(7):1337-1347. doi: 10.1002/jso.26153. Epub 2020 Aug 18.
- 97.** Moreno L, Guo D, Irwin MS, Berthold F, Hogarty M, Kamijo T, Morgenstern D, Pasqualini C, Ash S, Pötschger U, Ladenstein R, Valteau-Couanet D, Cohn SL, Pearson ADJ, London WB. A nomogram of clinical and biologic factors to predict survival in children newly diagnosed with high-risk neuroblastoma: An International Neuroblastoma Risk Group project. *Pediatr Blood Cancer*. 2021 Mar;68(3):e28794. doi: 10.1002/xbc.28794. Epub 2020 Nov 18.
- 98.** Mughal TI, Pemmaraju N, Psaila B, Radich J, Bose P, Lion T, Kiladjian J-J, Rampal R, Jain T, Verstovsek S, Yacoub A, Cortes JE, Mesa R, Saglio G, van Etten RA. Illuminating novel biological aspects and potential new therapeutic approaches for chronic myeloproliferative malignancies. *Hematol Oncol*. 2020 Dec;38(5):654-664. doi: 10.1002/hon.2771. Epub 2020 Sep 4.
- 99.** Pascoal S, Salzer B, Scheuringer E, Wenninger-Weinziert A, Sturtzel C, Holter W, Taschner-Mandl S, Lehner M, Distel M. A Preclinical Embryonic Zebrafish Xenograft Model to Investigate CAR T Cells In Vivo. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 29;12(3):567. doi: 10.3390/cancers12030567
- 100.** Perwein T, Lackner H, Ebetsberger-Dachs G, Beham-Schmid C, Zach K, Tamesberger M, Simonitsch-Klupp I, Lüftinger R, Dworzak MN, Mann G, Benesch M, Attarbaschi A, Austrian Society of Pediatric Hematology and Oncology and the Austrian Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) Study Group. Management of children and adolescents with gray zone lymphoma: A case series. *Case Reports Pediatr Blood Cancer*. 2020 May;6(75):e28206. doi: 10.1002/pbc.28206. Epub 2020 Feb 9.
- 101.** Poetsch AR. AP-Seq: A Method to Measure Apurinic Sites and Small Base Adducts Genome-Wide. *Methods Mol Biol*. 2020;2175:95-108. doi: 10.1007/978-1-0716-0763-3\_8.
- 102.** Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Review Comput Struct Biotechnol J*. 2020 Jan 7;18:207-219. doi: 10.1016/j.csbj.2019.12.013. eCollection 2020.
- 103.** Prinz D, Klein K, List L, Knab VM, Menzl I, Leidenfrost N, Heller G, Polić B, Putz EM, Witalisz-Siepracka A, Sexl V, Gotthardt D. *Eur J Immunol*. Loss of NKG2D in murine NK cells leads to increased perforin production upon long-term stimulation with IL-2. 2020 Jun;50(6):880-890. doi: 10.1002/eji.201948222. Epub 2020 Feb 20.
- 104.** Salzer B, Schueller CM, Zajc CU, Peters T, Schoeber MA, Kovacic B, Buri MC, Lobner E, Dushek O, Huppa JB, Obinger C, Putz EM, Holter W, Traxlmayr MW, Lehner M. Engineering AvidCARs for combinatorial antigen recognition and reversible control of CAR function. *Nat Commun*. 2020 Aug 20;11(1):4166. doi: 10.1038/s41467-020-17970-3.
- 105.** Salzer E, Zoghi S, Kiss MG, Kage F, Rashkova C, Stahnke S, Haimel M, Platzer R, Caldera M, Chandra Ardy R, Hoeger B, Block J, Medgyesi D, Sin C, Shahkarami S, Kain R, Ziaee V, Hammerl P, Bock C, Menche J, Dupré L, Huppa JB, Sixt M, Lomakin A, Rottner K, Binder CJ, Stradal TEB, Rezaei N, Boztug K. The cytoskeletal regulator HEM1 governs B cell development and prevents autoimmunity. *Sci Immunol*. 2020 Jul 10;5(49):eabc3979. doi: 10.1126/sciimmunol.abc3979.
- 106.** Scheer M, Blank B, Bauer S, Vokuhl C, Stegmaier S, Feuchtgruber S, Henssen A, Sparber-Sauer M, Eggert A, Handgretinger R, Pekrun A, Rossig C, Rutkowski S, Schlegel PG, Schrappe M, Simon T, Kazanowska B, Niggli F, Ladenstein R, Ljungman G, Jahnukainen K, Fuchs J, Bielack SS, Koscielniak E, Klingebiel T, Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. Synovial sarcoma disease characteristics and primary tumor sites differ between patient age groups: a report of the Cooperative Weichteilsarkom Studiengruppe [CWS]. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2020 Apr;146(4):953-960. doi: 10.1007/s00432-019-03121-9. Epub 2020 Jan 13.
- 107.** Schumich A, Prchal-Murphy M, Maurer-Granofszky M, Hoelbl-Kovacic A, Mühlegger N, Pötschger U, Fajmann S, Haas OA, Nebrál K, von Neuhoff N, Zimmermann M, Boztug H, Rasche M, Dolezal M, Walter C, Reinhardt D, Sexl V, Dworzak MN. Phospho-Profiling Linking Biology and Clinics in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Hemasphere*. 2019 Dec 16;4(1):e312. doi: 10.1097/HS9.0000000000000312. eCollection 2020 Feb.
- 108.** Shivarathri R, Jenull S, Stoiber A, Chauhan M, Mazumdar R, Singh A, Nogueira F, Kuchler K, Chowdhary A, Chauhan N. The Two-Component Response Regulator Ssk1 and the Mitogen-Activated Protein Kinase Hog1 Control Antifungal Drug Resistance and Cell Wall Architecture of *Candida auris*. *mSphere*. 2020 Oct 14;5(5):e00973-20. doi: 10.1128/mSphere.00973-20.
- 109.** Thian M, Hoeger B, Kamnev A, Poyer F, Köstel Bal S, Caldera M, Jiménez-Heredia R, Huemer J, Pickl WF, Groß M, Ehl S, Lucas CL, Menche J, Hutter C, Attarbaschi A, Dupré L, Boztug K. Germline biallelic PIK3CG mutations in a multifaceted immunodeficiency with immune dysregulation. *Haematologica*. 2020 Oct 1;105(10):e488. doi: 10.3324/haematol.2019.231399.
- 110.** Vaňková E, Kašparová P, Khun J, Machková A, Julák J, Sláma M, Hodek J, Ulrychová L, Weber J, Obrová K, Kosulin K, Lion T, Scholtz V. Polylactic acid as a suitable material for 3D printing of protective masks in times of COVID-19 pandemic. *1PeerJ*. 2020 Oct 29;8:e10259. doi: 10.7717/peerj.10259. eCollection 2020.
- 111.** Varady A, Distel M. Non-neuromodulatory Optogenetic Tools in Zebrafish. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Jun 3;8:418. doi: 10.3389/fcell.2020.00418. eCollection 2020.
- 112.** Wolff D, Bardak J, Edinger M, Klinger-Schindler U, Holler E, Lawitschka A, Schoemans H, Herr W, Kröger N, Ayuk Ayuketang F. Evaluation of the Cost of Survivorship Care After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation-An Analysis of 2 German Transplantation Centers. *Front Public Health*. 2020 Sep 25;8:572470. doi: 10.3389/fpubh.2020.572470. eCollection 2020.
- 113.** Wrobel JK, Najafi S, Ayhan S, Gatzweiler C, Kronic D, Ridinger J, Milde T, Westermann F, Peterziel H, Meder B, Distel M, Witt O, Oehme I. Rapid In Vivo Validation of HDAC Inhibitor-Based Treatments in Neuroblastoma Zebrafish Xenografts. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020 Oct 27;13(11):345. doi: 10.3390/ph13110345.
- 114.** Yucel E, Karakus IS, Krolo A, Kiykim A, Jimenez Heredia R, Tamay Z, Cipe FE, Karakoc-Aydiner E, Ozen A, Karaman S, Boztug K, Baris S. Novel Frameshift Autosomal Recessive Loss-of-Function Mutation in SMARCD2 Encoding a Chromatin Remodeling Factor Mediates Granulopoiesis. *J Clin Immunol*. 2021 Jan;41(1):59-65. doi: 10.1007/s10875-020-00878-4. Epub 2020 Oct 6.
- 115.** Zajc CU, Dobersberger M, Schaffner I, Mlynek G, Pühringer D, Salzer B, Djinić-Carugo K, Steinberger P, De Sousa Linhares A, Yang NJ, Obinger C, Holter W, Traxlmayr MW, Lehner M. A conformation-specific ON-switch for controlling CAR T cells with an orally available drug. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Jun 30;117(26):14926-14935. doi: 10.1073/pnas.1911154117. Epub 2020 Jun 17.
- 116.** Zajc CU, Salzer B, Taft JM, Reddy ST, Lehner M, Traxlmayr MW. Driving CARs with alternative navigation tools - the potential of engineered binding scaffolds. *FEBS J*. 2020 Aug 13. doi: 10.1111/febs.15523. Online ahead of print.

**WIR SAGEN DANKE!**

Unsere Spenderfamilie ist groß und großartig! Wir sind dankbar für die langjährige, treue Unterstützung unserer zahlreichen Förderinnen und Förderer, die trotz herausfordernder Zeiten unserem Vorhaben, der Forschung zum Wohle krebskranker Kinder, seit mehr als 33 Jahren treu zur Seite stehen. Die Hilfsbereitschaft der Menschen und Unternehmen mit ihren wunderbaren Ideen und ihrem großartigen Spendenengagement ist nicht enden wollend. Finanziert wird die St. Anna Kinderkrebsforschung, die seit 2002 das Österreichische Spendengütesiegel führt und zum steuerlich begünstigten Empfängerkreis gehört, von Anfang an hauptsächlich durch Spenden. Daher sagen wir Danke. Denn Sie alle schenken krebskranken Kindern eine Chance auf eine gesunde Zukunft.

**ENGAGIERTES UNTERSTÜTZUNGSKOMITEE DER ST. ANNA KINDERKREBSFORSCHUNG**

Seit Langem begleitet die St. Anna Kinderkrebsforschung ein prominent besetztes Ehrenkomitee. Den Mentorinnen und Mentoren aus der österreichischen Politik, Wirtschaft und Kultur ist es ein besonderes Herzensanliegen, Benefiz-Projekte zugunsten der St. Anna Kinderkrebsforschung zu organisieren.

**Wir bedanken uns sehr herzlich bei den engagierten Mitgliedern unseres Unterstützungskomitees:**

Mentorenkomitee-Präsidentin Eva Angyan, Dr. Charlotte Rothensteiner, Mag. Maria Polsterer-Kattus, Erste-Bank-AG-Vorstand Willibald Cernko, Gewista Chief Sales Officer Andrea Groh, Isabella Kapsch, Direktorin Dr. Elisabeth Gürtler,

**WE SAY THANK YOU!**

*Our donor family is big and awesome! We are grateful for the long-standing, loyal support of our numerous sponsors who, despite challenging times, have faithfully stood by our mission of conducting research for the benefit of children with cancer for more than 33 years. The helpfulness of the people and companies with their wonderful ideas and their great commitment to donate is never-ending. St. Anna Children's Cancer Research Institute, which has held the Austrian Donation Certificate since 2002 and belongs to the tax-privileged group of recipients, has been financed mainly by donations from the very beginning. Therefore, we say thank you. Because all of you give children with cancer the chance of a healthy future.*

**DEDICATED SUPPORT COMMITTEE FOR ST. ANNA CHILDREN'S CANCER RESEARCH INSTITUTE**

*For a long time, St. Anna Children's Cancer Research Institute has been accompanied by a prominent honorary committee. Our mentors from Austrian politics, business and culture have a special interest in organizing charity projects for the benefit of St. Anna Children's Cancer Research Institute.*

**Therefore we would like to express our sincere thanks to the dedicated members of our support committee:**

*Mentoring Committee President Eva Angyan, Dr. Charlotte Rothensteiner, Mag. Maria Polsterer-Kattus, Erste Bank AG board member Willibald Cernko, Gewista Chief Sales Officer Andrea Groh, Isabella Kapsch, Director Dr. Elisabeth Gürtler, KR Brigitte Jank, Prof. Erwin*

*Ortner, Senator Kurt Mann, the Mayor of Vienna Dr. Michael Ludwig as well as the former Mayor and President of the Vienna Science and Technology Fund (WWFT) Dr. Michael Häupl, Prof. Rudolf Bretschneider, Inge Klingohr, Concordia board member Mag. Ulla Konrad, the Director of the Wiener Urania Prof. Doris Zametzer and maestro Franz Welser-Möst.*

KR Brigitte Jank, Prof. Erwin Ortner, Bäckermeister Senator Kurt Mann, dem Wiener Bürgermeister Dr. Michael Ludwig sowie seinem Amtsvorgänger und Präsident des Wiener Wissenschafts-, Forschungs- und Technologiefonds (WWFT) Dr. Michael Häupl, Meinungsforscher Prof. Rudolf Bretschneider, Interspot-Chefin Inge Klingohr, Concordia-Vorstand Mag. Ulla Konrad, der Direktorin der Wiener Urania Prof. Doris Zametzer und Maestro Franz Welser-Möst.

**UNSERE KUSCHELTIERE: KLEINE LEBENSRETTER, DIE FREUDE SCHENKEN**

Bereits seit 28 Jahren sind die Kuschtierchen der St. Anna Kinderkrebsforschung bei Jung und Alt sehr beliebt, als Sammelobjekte auch heiß begehrt! Jedes Jahr heißt die Maskottchenfamilie einen Neuzugang willkommen.

**JEDE SPENDE HILFT!**

Mit Ihrer persönlichen Spende ermöglichen Sie die Fortsetzung unserer Forschungsarbeit im Kampf gegen Kinderkrebs. Firmen spenden immer häufiger den für Kunden-Weihnachtsgeschenke vorgesehenen Betrag. Engagieren Sie sich auf [www.actforstanna.at](http://www.actforstanna.at) und spenden Sie zu einem besonderen Anlass! Egal, ob ein runder Geburtstag, eine sportliche Herausforderung oder eine außergewöhnliche Idee. Gemeinsam sind wir stark gegen Krebs!

Auch der Verzicht auf Blumen und Kränze bei Begräbnissen, um stattdessen zu spenden, hilft krebskranken Kindern. Ein Testament oder ein Legat zugunsten der St. Anna Kinderkrebsforschung kann ebenfalls langfristig einem Kind eine gesunde Zukunft schenken.

*Ortner, Senator Kurt Mann, the Mayor of Vienna Dr. Michael Ludwig as well as the former Mayor and President of the Vienna Science and Technology Fund (WWFT) Dr. Michael Häupl, Prof. Rudolf Bretschneider, Inge Klingohr, Concordia board member Mag. Ulla Konrad, the Director of the Wiener Urania Prof. Doris Zametzer and maestro Franz Welser-Möst.*

**OUR CUDDLY TOYS: LITTLE LIFESAVERS THAT GIVE JOY**

*For 28 years, the cuddly animals of St. Anna Children's Cancer Research Institute have been very popular with young and old; as collector's items, they are also highly sought after! Every year, the mascot family welcomes a new addition.*

**EVERY DONATION HELPS!**

*With your personal donation, you enable the continuation of our research in the fight against childhood cancer. For example, more and more companies are donating the amount intended for customer Christmas gifts. Commit yourself at [www.actforstanna.at](http://www.actforstanna.at) and donate on a special occasion! This can be an anniversary, a sportive challenge or any other extraordinary idea. Together we are strong against cancer!*

*Even renouncing flowers and wreaths at funerals in order to donate instead helps children suffering from cancer. A will or a legacy in favor of St. Anna Children's Cancer Research Institute also helps provide childhood cancer patients with a healthy future.*

#### WIR INFORMIEREN:

Unser Wissenschaftskommunikationsteam arbeitet eng mit unseren Forscherinnen und Forschern zusammen, um die wissenschaftliche Arbeit der St. Anna Kinderkrebsforschung in zahlreichen Projekten auf möglichst verständliche Weise der Öffentlichkeit zugänglich zu machen. Durch die internationale Verbreitung unserer Forschungsergebnisse möchten wir außerdem Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler weltweit ansprechen, um die besten Köpfe für eine Mitarbeit an der St. Anna Kinderkrebsforschung gewinnen. Wir legen größten Wert darauf, klar und deutlich zu kommunizieren, dass jeder Cent, der in unsere Forschung fließt, zum Wohle der Kinder bestmöglich eingesetzt wird. Auf unseren Webseiten und Social-Media-Kanälen halten wir Sie am Laufenden über neue Studienergebnisse, Auszeichnungen und Forschungsförderungen sowie über alle weiteren wichtigen Neuerungen in der St. Anna Kinderkrebsforschung. Somit können Sie sich jederzeit einen guten Überblick über unsere Arbeit in der Erforschung von Kinderkrebs und dessen Heilung verschaffen. Nicht immer sind neue Erkenntnisse große Durchbrüche. Aber jede neue Erkenntnis ist ein weiterer Mosaikstein, der zusammen mit vielen anderen Steinchen, echte Durchbrüche ermöglicht. Bleiben Sie am Ball und verfolgen Sie die Arbeit unserer Forschungsteams auf [www.ccri.at](http://www.ccri.at).

#### WE INFORM YOU:

*Our science communication team works closely together with our researchers to make the scientific work of St. Anna Children's Cancer Research Institute accessible to the public in the most understandable way possible. By internationally disseminating our scientific results, we also aim to reach out to scientists worldwide and attract the brightest minds to join St. Anna Children's Cancer Research Institute. We make it a priority to clearly communicate that every cent that goes into our research is put to the best possible use for the benefit of children with cancer. On our websites and social media channels, we keep you up to date on new study results, awards and grants, as well as on all other important innovations at St. Anna Children's Cancer Research Institute. Thus, you can always get a good overview of our work in pediatric cancer research and its cure. New findings are not always major breakthroughs. But each new finding is another piece of the jigsaw that, together with many other pieces, makes real breakthroughs possible. Stay tuned and follow the work of our research teams at [www.ccri.at](http://www.ccri.at).*

#### WIR SIND FÜR SIE DA:

Das Team der St. Anna Kinderkrebsforschung ist Ihnen allen für die langjährige spendenfreudige Unterstützung sehr verbunden. Herzlichen Dank!

#### WOLLEN SIE INFORMATIONEN, UNTERLAGEN ODER HABEN SIE FRAGEN?

Das Spendenteam, das Wissenschaftskommunikationsteam und ich freuen uns auf Ihre Kontaktaufnahme:

+43 (0)1 40 470 - 4000  
[spende@kinderkrebsforschung.at](mailto:spende@kinderkrebsforschung.at)  
[www.kinderkrebsforschung.at](http://www.kinderkrebsforschung.at)

#### Lisa Huto

Leitung Fundraising,  
Marketing, Kommunikation

#### WE ARE HERE FOR YOU:

*The team of St. Anna Children's Cancer Research Institute is very grateful to all of you for the many years of enthusiastic support. Thank you so much!*

#### WOULD YOU LIKE TO GET INFORMATION, DOCUMENTS OR DO YOU HAVE ANY QUESTIONS?

*The donation team, the science communication team and I look forward to hearing from you:*

+43 (0)1 40 470 - 4000  
[spende@kinderkrebsforschung.at](mailto:spende@kinderkrebsforschung.at)  
[www.kinderkrebsforschung.at](http://www.kinderkrebsforschung.at)

#### Lisa Huto

Head of Marketing,  
Fundraising, Communication

#### SPENDENKONTO / DONATIONS ACCOUNT

##### BANK AUSTRIA

IBAN: AT79 1200 0006 5616 6600

BIC: BKAUATWW

##### ERSTE BANK

IBAN: AT66 2011 1000 0318 3777

BIC: GIBAAATWW

## IMPRESSUM

### IMPRINT

#### HERAUSGEBER UND MEDIENINHABER / PUBLISHER AND MEDIA OWNER

St. Anna Kinderkrebsforschung  
Zimmermannplatz 10, 1090 Wien  
[www.kinderkrebsforschung.at/www.ccri.at](http://www.kinderkrebsforschung.at/www.ccri.at)

#### VERANTWORTLICH FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN INHALT / RESPONSIBLE FOR THE SCIENCE CONTENT

Assoc.-Prof. Dr. Kaan Boztug

#### VERANTWORTLICH FÜR DEN KAUFMÄNNISCHEN INHALT / RESPONSIBLE FOR THE FINANCIAL CONTENT

Mag. Jörg Bürger, MBA

#### VERANTWORTLICH FÜR FUNDRAISING, MARKETING, WISSENSCHAFTSKOMMUNIKATION & SPENDENWERBUNG / RESPONSIBLE FOR FUNDRAISING, MARKETING & SCIENCE COMMUNICATION

Lisa Huto

#### REDAKTION / EDITORIAL

Priv.-Doz. Dr. Barbara Brunmair  
Mag. Anna Egger

#### VERANTWORTLICHE SPENDENVERWENDUNG / RESPONSIBLE FUNDRAISING

Vorstand / Board

#### VERANTWORTLICH FÜR DATENSCHUTZ / RESPONSIBLE FOR DATA PROTECTION

Arnold Redhammer ([datenschutz@ccri.at](mailto:datenschutz@ccri.at))

#### KONZEPTION & DESIGN / CONCEPT & DESIGN

Büro X, [www.buerox.at](http://www.buerox.at)

#### FOTO / PHOTO

Harald Eisenberger, [www.eisenberger.co.at](http://www.eisenberger.co.at)

#### ILLUSTRATION

Tatjana Hirschmugl, [www.scillustration.at](http://www.scillustration.at)

#### DOWNLOAD SCIENCE REPORT


[www.kinderkrebsforschung.at/www.ccri.at](http://www.kinderkrebsforschung.at/www.ccri.at)

Wien, 2021 / Vienna 2021

#### UNTERSTÜTZUNG / SUPPORT

St. Anna Kinderkrebsforschung  
Erste Bank AG  
IBAN: AT66 2011 1000 0318 3777  
BIC: GIBAAWW



A bright yellow background with three circular, grayscale, speckled patterns in the top right corner, resembling microscopic views of cells or tissue sections.

[www.kinderkrebsforschung.at](http://www.kinderkrebsforschung.at)

[www.ccri.at](http://www.ccri.at)