

A large, light gray outline of a microscope is positioned on the left side of the page. The eyepiece is at the top left, the objective lenses are in the middle, and the base is at the bottom. A circular inset is located at the bottom left of the microscope's body.

30  
Jahre | Years

St. Anna  
Kinderkrebsforschung

*St. Anna Children's  
Cancer Research Institute*



DDr. ABBASI M. Reza • ABLAZA Heatherheart • ACHTER Gabriel • Dr. AICHINGER Anna •  
ALENDAR Temeida • ALSCHER Ban • Univ.-Doz. Dr. AMBROS Peter • Dr. AMBROS Ingeborg •  
Mag. ANDASSON Regina BA • Dr. ANDRADE GOMES Nuno-Miguel MBA • ANDRIN Marijana •  
ANGERER Julia BSc • ANZENGRUBER Tanja • Mag. ARNARDÓTTIR Helga Björk •  
Priv.-Doz. Dr. ARYEE Dave • ASANOSKI Martina • Priv.-Doz. Dr. ATTARBASCHI Andishe •  
AUER Christian • Mag. AVANESSIAN Beate MSc • AZZEDINE Angelika • BACHER Kay BSc •  
Dr. BAN Jozef • BANDZAKOVA Anna • Mag. BARAKA Arabella • Dr. BARRESI Caterina •  
Mag. BARTL Sandra • BASINA Billy John • BATO Samantha Kathlyn BSc • BAUER Dorothea BA •  
BAUER Evelyne • BAUER Susanna • Mag. BAUMGARTNER Saelde BSc • BECSKA Manuela •  
BEER Sabine • BEKJIRI Mirlinda • Mag. BEKTESHI Satime • BENKO Rudolf • BERLAKOVICH Alexandra •  
Mag. BERNEDER Maria • BERNHARD Sandra • Dr. BERNKOPF Marie • BETA Maria-Petrulena •  
Dr. BEZAKOVA Milina • BIERBAUMER Lisa MSc • BIRKENAU Birgit • Dr. BOZSAKY Eva •  
Dr. BOZTUG Heidrun • Univ.-Doz. Dr. BOZTUG Kaan • BRAMBÖCK Barbara • BRANDT Anja •  
BRECHELMACHER Jana • BREITENEDER-AIGNER Helene MSc • Dr. BREUER Sabine •  
Dipl. Ing. BREY Charlotte • BRUCKDORFER Andrea • BRUCKNER Elisabeth BScN •  
BRUNHOFER Melanie MSc • Priv.-Doz. Dr. BRUNMAIR Barbara • Dipl. Ing. BRUNNER Clemens BSc •  
BRUNNER Katharina • BRUNNER-HERGLOTZ Bettina • Mag. BÜRGER Jörg MBA •  
Dr. BYRGAZOV Konstantin • CADUFF Seraina • CALVETTI-FÜRST Monika • CAPEK Marie-Therese •  
Mag. CHABAS Mariana • CHROMKOVA Marianna • CHUDY Cecylia • CSERKO Magdalena •  
CULJAK Dilajla • DANIEK Barbara • DASCHKA Peter • DAUM Patricia • DAVID Christine •  
Ing. DAXBERGER Helga • Dr. DE ALMEIDA NOGUEIRA Filomena • DEDIC Sabina • DEMOVICOVA Denisa •  
DENK Alfred • DENK Christine • DEREK Antonija • Priv.-Doz. Dr. DIAKOS Christofer • Dr. DIEM Markus •  
Dr. DISTEL Martin • Mag. DIVLJAK Sanja • DOBAI Zoltán MSc • DOBERSBERGER Markus BSc •  
DOLEZAL Sonja • DÖRNER Renate • DOSEK Carina • DOSTAL Elisabeth • DRAGIC Radmila •  
DRASKOVIC Kathrin M.A. • DUDEKOVA Lubica • DUSCHER Tatjana • Univ. Doz.Dr. DWORZAK Michael •  
ECHTNER Christiana • Dr. EGGER Markus • EGGL Andrea • Mag. EHRENHOFER-WEINZETTL Sandra •  
Mag. EIBLER Werner MAS • EINFALT Elfriede • EMRO Janett Amin BSc • ENGEL Ulrike •  
Dr. ENGSTLER Gernot • EÖRI-BOA Szilvia • ERDINGER Gerda • ERVER DANIELA •  
ETTLINGER Katharina • EXEL Ulrike • Dr. FACHATHALER Karin • FAHRECKER Mariana •  
FAHRNBERGER-RIEDLER Petra • Dr. FAHRNER Bernhard • FALKENBERG Ulrike • FEDERIC Vladimir •  
FENNES Anja • FENZ Anita • FEURSTEIN Andrea • Dr. FIEDLER Stefan • FINK Franziska BSc •  
Mag. FISCHER Katrin • FISCHER Susanna • FISCHER Kristin BSc •  
Univ.-Doz. Dr. FISCHMEISTER Gustav MSc. • Dr. Fleißner Katharina • FOLLER Susanne •  
DI Dr. FORTSCHEGGER Klaus • FORTSCHEGGER Michaela • Dr. FRANK Tijana • Dr. FRANKL Julia •  
FRICK Teresa • FRIEDBERG Wolfdieter • FRIEDE Dagmar PhD • FRIEDL Wolfgang •  
Dr. FRIESENBICHLER Waltraud • FRISNIC Silvia • Univ.-Doz. Dr. FRITSCH Gerhard •  
FRITSCHER Natascha • FRITZ Lidwina • FRÖHLICH Nicole BSc. MSc. • FRÜHWALD Patrick •  
FUCHS Jennifer • FUCHS Yvonne • Fuß Carmen • FUXSTEINER Judith • GALLOB Filip Marjan BSc •  
Mag. GATTERER-MENZ Irmgard • GAVORNIKOVA Renata • GEISBERGER Carina • GEISSLER Nora MSc •  
GERBER Teresa MSc • GERTITSCHKE Tina • GESSLBAUER Thomas • Priv.-Doz. Dr. GEYEREGGER René •  
GIERSCH Vera • GIRKINGER Harald • GJINAJ Antigone BScN • GLATZ Brigitte •  
Mag. GLOGOVA Evgenia • Mag (FH) GOMEZ-BERAN Monika • GÖTH Hedwig •  
Dr. GRAF-GUERRA Ulrike • GRAFL Corinne • GRATZ Julia • GRBIC Snezana • GREMMEL Romana •

GRIMM Brigitte • GRISSENBERGER Sarah MSc • GROSS Katharina • GRÖßLINGER Lisa BSc • GRUBER Ingrid • GRUBER Sophie BSc • GUTDEUTSCH Simone • Univ.-Prof. Dr. HAAS Oskar • HABERL David • HABERLER Brigitte • HÄGELE Felix • HAHN Barbara BSc • HAIDER Susanne • Dr. HALBRITTER Florian • DI (FH) HALFMANN Angela • Dr. HAMMER Karin • Dr. HAMMERSCHMIDT Ulrike • HANSER Melanie BSc • HARETER Helene • HARTMANN Alena • HARTMANN Mihaela • Dr. HASLINGER Marlies • HASLINGER Sabrina MSc • Dr. HAUKE Alexander • HAUPT Monika • Dr. HAVRANEK Andreas • HECHENBERGER Clara MSc • HEIHS Stephanie BSc • HEINZL Monika • DI (FH) HELL-BÖCKL Daniela • HILDEBRANDT Merit Alwine BSc • HIMMETZBERGER Christina • HIRTNER Ute • HÖDLMOSEER Lisa • HOFBAUER Paula • HOFER Sabine • DDr. HOFER-POPOW Irene • HOFFELNER Peter • HOFFELNER Peter • HOFFMANN Andrea • HOFFMANN Judith BSc • Mag. HOFFMANN-FREIMÜLLER Christine • Dr. HÖFINGER Renate • Mag. HÖFINGER Mareike • HOFMANN Gisela BSc • HOFTYCHOVA Blanka • HOLLERGSCHWANDTNER Monika • Univ.-Prof. Dr. HOLTER Wolfgang • HOLZHAUSER Eva-Maria • HOLZMANN Gabriele • HORNEK Ruza • Dr. HORNER Karolina • HORVATH Patricia • HRBEK Margareta • HRDLICKA Brigitte • HRYNIEWICZ Jolanta • Mag. HUBER Angelika • HUCIK Christian • HUEMER Robert • HUESCA VILLASCUSA Marta • HUNGER Klara • HUSA Anna-Maria MSc • Dr. HUSAK Zvenyslava • HUTO Elisabeth • DDr. HUTTER Caroline • IKE Cynthia BSc • INFÜHR Martin • Dr. INNERHOFER-HICKEL Albina • Dr. INTHAL Andrea • ISAIJEVIC-STANGL Dragana • JAKISCH Maria • JAMNIG Carina • JANKOVIC Milanka • Mag. JANOUSEK Dasa • JANSCHITZ Marion MSc • Dr. JANUSZKO Angela • JAVAHERI Tahereh MSc • JEZ Anna • JEZ Anna Klaudia • JILKA Birgitta • JOVANOVIC Jovana BSc • JOVANOVIC Jasmina • JOVANOVIC Zora • Ing. JUG Gunhild • Dipl. Ing. JUGOVIC Dragana • JUHASZ Sigrid • JURITSCH Michael • Univ.-Doz. Dr. KAGER Leo • Dipl. Ing. KAINZ Michael • KALCHGRUBER Magdalena • KAMPER Alexandra • KARADAS Ayfer Ayse • Dr. KARLHUBER Susanne • Dr. KARNER-NEGRI Janina • KASPAR Evelyn • Univ.-Doz. DDr. KASTNER Ulrike • KATAISTO Suvi Jonnamari • Dr. KAUER Maximilian Otto • KAUSL Cornelia • KAVELAR Angelika • Dr. KECK Brigitta • KELLNER Ursula Msc • KELLNER Birgit • KERN Monika • KERNBICHLER Silvia • KERNSTOCK Gerhard • KHALIL Sylvia • KIENZER Klaus • KIEREIN Christiane • Dr. KIRALY Peter • Dr. KIRCHBERGER Stefanie • Dr. KIRCHLECHNER Veronika • KIRCHMAYR Claudia • KIRSCHENBAUER Elisabeth • KISCHOJAN Elen BSc • Dr. KISS Oliver • KLATT Andrea • KLIMSCHA Olenka • KLUCSIK Zsuzsanna • KNIERIM Ferdinand • KNOTEK Marina • Dr. KOGLER Hubert • KOHAUT August • KOHLSCHÜTTER Andrea • Dr. med.univ KÖHRER Stefan • KOLBA Irene • KOLODZIEJ Jozefa • KOLOWRAT Stefanie • KÖNIG Margit • Mag. KOSKELA Susanna • DI Dr. KOSULIN Karin • KOTTENBACH Alexandra • Prof. Dr. KOVAR Heinrich • KRAFKA Lisa BScN • KRAIN Christine • KRAL Karin • Dr. KRAMMER Barbara-Irene • KRAUS Maria • Dr. KREMER Friederike • Mag. KRENN Stephanie • KRENN Brigitte • KRENN Karina • Kreßl Ingrid BScN • KRICKL Isabella BSc • Dr. KRISCHMANN Martha • KRISTUFEK Barbara • KRIZANAC Katarina • Dr. KRIZMANICH Wolfgang • DI KROMP Florian • Mag. KRONBERGER Viktoria • KROUZA Sabine • KRUPA Grazyna • KUBALA Olga • KUGI Stefanie • Dr. KÜHEBACHER Maria • KULNIG Elisabeth • LABER Gerhard • Mag. LABUT Christina • LACKNER Claudia • Univ.-Prof. Dr. LADENSTEIN Ruth • LADICH Martina • LAGLER Edith • Dr. LAKATOS Karolj • LAKATOS Erika • LANGER Kathrin • LANGER Klara • Dr. LAWITSCHKA Anita • LAZIC Daria BSc • LAZOVIC Natasa • LECHNER Barbara • LEDER Anna • LEHMANN Cornelia MSc • Dr. LEHNER Manfred • LEISSER Manuel • Dr. LENDER Carina •



**St. Anna  
Kinderkrebsforschung**

*St. Anna  
Children's Cancer Research Institute*

„Wenn einer allein träumt,  
ist es nur ein Traum.  
Wenn viele gemeinsam träumen,  
ist das der Anfang einer  
neuen Wirklichkeit.“

Hélder Câmara

„Wir sollten  
den Traum träumen,  
dass alle Kinder  
gesund werden.“

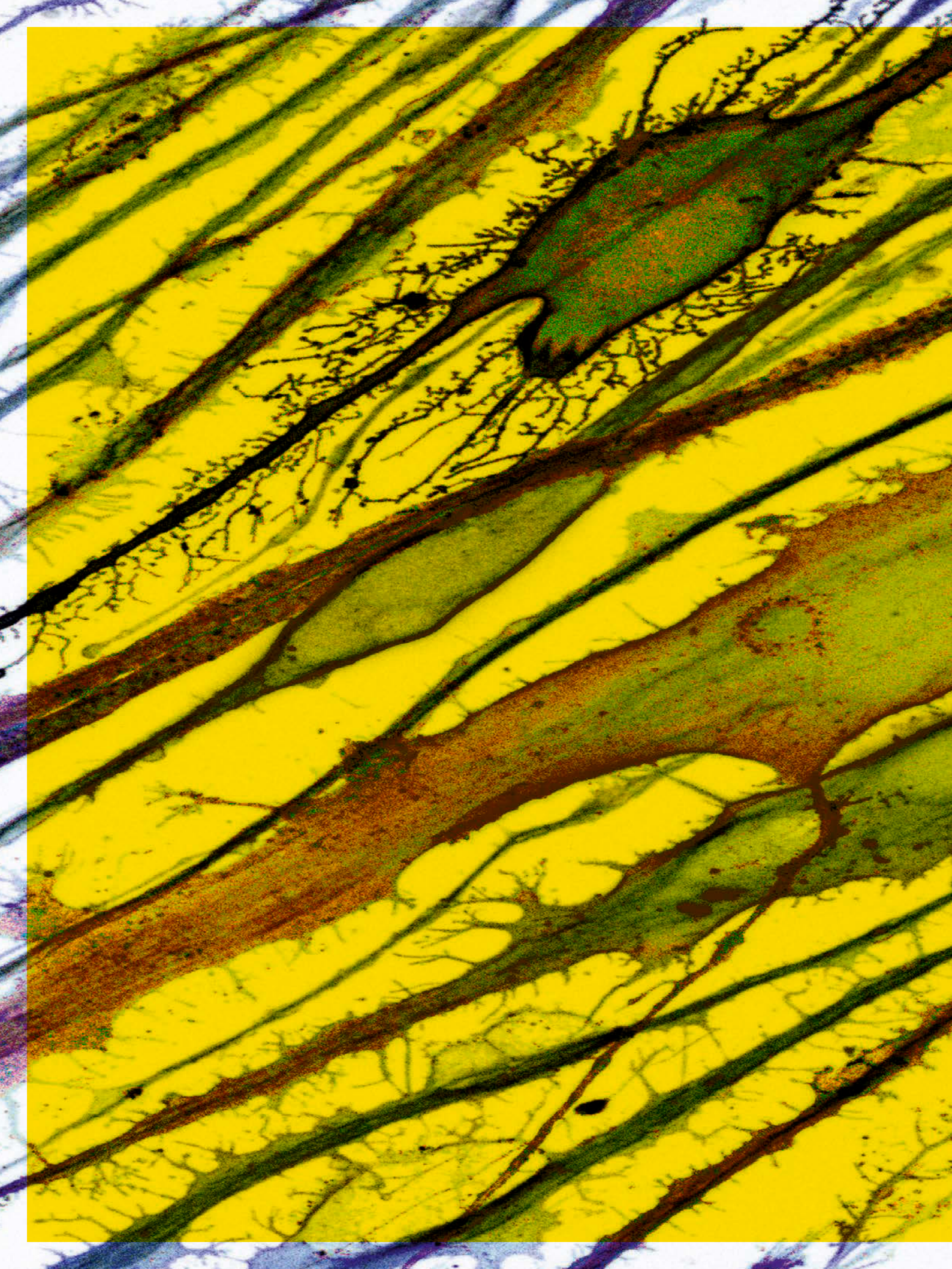
MR Dr. Erwin Senoner

“When we are dreaming  
alone, it is only a dream.  
When we are dreaming with  
others, it is the beginning  
of reality.”

**Hélder Câmara**

“Let us dream  
the dream  
that all children  
will be cured.”

**Dr. Erwin Senoner**





## Inhalt / Content

---

- 10 – Einleitung / Introduction Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter (MD, Prof.)
- 12 – Vorwort / Foreword Em. Univ.-Prof. Dr. Helmut Gadner (MD, Prof.)
- 14 – Vorwort / Foreword Dr. Heinz Fischer
- 16 – Vorwort / Foreword Dr. Michael Ludwig
- 17 – Vorwort / Foreword Univ.-Prof. Dr. Markus Müller (MD, Prof.)
- 18 – Vorwort / Foreword Univ.-Prof. Dr. Reinhard Krepler (MD, Prof.)
- 20 – Zum Wohle krebskranker Kinder / Hope for children with cancer
- 78 – Mitarbeiter / Employees
- 84 – Tumorbiologie / Tumour Biology
- 90 – Innovative Krebsmodelle / Innovative Cancer Models
- 94 – Immunologische Diagnostik bei Leukämien / Immunological Diagnostics of Leukaemia
- 98 – Klinische Zellbiologie und FACS Core Unit / Clinical Cell Biology and FACS Core Unit
- 102 – Klinische Genetik / Clinical Genetics
- 106 – Entwicklung zellulärer Therapien / Development of Cellular Therapeutics
- 110 – LCH Biologie / LCH Biology
- 114 – Molekularbiologie solider Tumoren / Molecular Biology of Solid Tumours
- 118 – Studien & Statistik / Studies & Statistics for Integrated Research and Projects
- 128 – Molekulare Mikrobiologie / Molecular Microbiology
- 132 – Leukämiebiologie / Leukaemia Biology
- 138 – Leukämiegenetik / Genetics of Leukaemia
- 142 – Labdia Labordiagnostik GmbH / Labdia Laboratory Diagnostics
- 142 – Affilierte KlinikerInnen des St. Anna Kinderspitals involviert in Studien und Projekte /  
Affiliated clinicians from the St. Anna Children's Hospital involved in studies and projects
- 144 – Ein Blick hinter die Kulissen / A look behind the scene
- 150 – Zusammenarbeit / Cooperations
- 155 – Danksagung / Acknowledgment
- 156 – Impressum / Imprint

## Einleitung | Introduction

**Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter (MD, Prof.)**

Institutsleiter | Director of the Institute



**F**orschung ist faszinierend, weil sie eine ständige Reise in noch unentdeckte Gebiete ist. Forschung ist schwierig, weil sich viele gute Ansätze in einem Labyrinth von Irrwegen und Sackgassen verlieren können. Forschung ist großartig, weil ihre Ergebnisse menschliches Leid lindern. Forschung ist fantastisch, weil sie das Leben von Kindern retten kann. In diesem Sinne – das darf ich in aller Bescheidenheit anmerken – ist die Arbeit der St. Anna Kinderkrebsforschung fantastisch.

In 30 Jahren beharrlicher und konsequenter Forschungsarbeit, die darauf beruht, auf Basis ihrer Ergebnisse bestehende Therapien zu optimieren und neue zu entwickeln, ist es gelungen, die Heilungschancen bei vielen Kinderkrebsarten auf 70 bis 80 Prozent zu erhöhen, bei Leukämie sogar auf 90 Prozent. Das ist gewaltig. Und doch sind das nur abstrakte Größenverhältnisse. Erst wenn man weiß und tagtäglich erlebt, dass sich hinter diesen Zahlen konkrete menschliche Schicksale verbergen, kann man den Erfolg der Arbeit der St. Anna Kinderkrebsforschung richtig bewerten.

Ein solcher Erfolg ist nur möglich, wenn dahinter Menschen stehen, die von ebendiesem Erfolg überzeugt sind – PionierInnen, die erkannten, welche Chancen im Aufbau einer eigenen Forschungseinrichtung liegen. Und zwar nicht irgendeiner Forschungseinrichtung, sondern einer, die in enger Verzahnung mit dem Kinderspital medizinische Praxis und wissenschaftliche Forschung miteinander verbindet.

Dieser neue Ansatz, über den Tellerrand hinauszublicken, zog engagierte MitstreiterInnen an, die nicht nur von der Notwendigkeit eines solchen, speziell auf Kinder ausgerichteten Forschungsinstituts überzeugt, sondern von dieser Idee begeistert waren. Dem unermüdlichen Einsatz dieser ForscherInnen, ihrem Bestreben, ihr Wissen unmittelbar in der PatientInnenbehandlung umzusetzen, der engen Kooperation mit allen nationalen und vielen internationalen auf die Behandlung oder die Erforschung von Krebs bei Kindern spezialisierten Einrichtungen und schließlich

**R**esearch is fascinating for the fact that it is a constant journey into undiscovered areas. Research is difficult because many a promising approach or hypothesis can get lost in a maze of wrong tracks and dead ends. Research is great when its results translate into alleviating human suffering. Research is fantastic when it can save children's lives. In this sense, I may say in all modesty, the work being done at St. Anna Children's Cancer Research Institute is fantastic.

30 years of persistent and consistent research, optimising existing therapies and developing new ones on the basis of ever-new insights, have led to an increase in the chances of cure for many types of childhood cancer of up to 70 to 80 percent, and even 90 percent for acute lymphoblastic leukaemia. This is enormous – and yet these are just numbers. One needs to be aware and to experience on a daily basis that it is concrete human fates that lie behind these figures to fully assess the accomplishments of the Children's Cancer Research Institute.

Such successes would not be possible without the backing of committed people – pioneers who realised the opportunities offered by the foundation of a research institution for childhood cancer; a research institution based on the unique concept of combining medical practice and scientific research by directly interacting with the adjacent St. Anna Children's Hospital.

This new approach of looking beyond the horizon attracted dedicated companions who were not only convinced of the necessity of such a research institute specifically aimed at children but also enthusiastic about the idea. It was thanks to the tireless efforts of these researchers, their commitment to immediately translate their knowledge into healing, the close cooperation with the entirety of national and many international institutions specialising in the treatment or research of childhood cancer and, last but not least, the support from the science and public health sector that St. Anna Children's Cancer Research Institute could move to where it stands today: at the forefront of worldwide research into childhood cancer.

der Unterstützung durch die Wissenschafts- und Gesundheitspolitik ist es zu verdanken, dass die St. Anna Kinderkrebsforschung dorthin gelangen konnte, wo sie heute steht: an der Spitze der weltweiten Forschung gegen Kinderkrebs.

Was als kleine Forschungsstätte in einer Dachkammer begann, zählt längst zu den ersten Adressen, wenn es um Expertise bei Kinderkrebs geht. Dafür möchte ich mich an dieser Stelle bei allen Beteiligten von ganzem Herzen bedanken.

Doch Erfolge in der Forschung beruhen nicht nur auf dem Einsatz hoch qualifizierter MitarbeiterInnen und deren externer Kooperationspartner, nicht nur auf der Unterstützung seitens der Politik, Wirtschaft, Kunst und Kultur, sondern auch auf den dafür notwendigen finanziellen Mitteln. Bei der St. Anna Kinderkrebsforschung sind dies hauptsächlich Spenden von Privatpersonen und Unternehmen. Und auch hier haben sich viele engagierte Menschen gefunden, die es uns ermöglichen, Spitzenforschung auf höchstem Niveau zu betreiben. Auch ihnen gilt mein besonderer Dank.

Was vor 30 Jahren im Dachboden des St. Anna Kinderspitals begann, hat sich inzwischen zu einer weltweit anerkannten Institution mit einem eigenen Gebäude entwickelt, das den höchsten Ansprüchen genügt. Dieses befindet sich in unmittelbarer Nachbarschaft zum St. Anna Kinderspital und ist mit ihm durch eine gläserne Brücke verbunden. Diese Brücke ist mehr als ein bloßer Verbindungsweg zwischen A und B, und es kommt nicht von ungefähr, dass sie aus Glas ist. Sie steht für Transparenz und die permanente, enge Verschränkung von wissenschaftlicher Spitzenforschung und klinischer Praxis. Wir haben diesen Weg in den vergangenen Jahren unzählige Male zurückgelegt und das werden wir auch in Zukunft noch oft tun. Und egal, aus welcher Richtung man ihn beschreitet, das Ziel ist stets das gleiche: das Wohl unser jungen PatientInnen!

Wien, im November 2018

*What began as a small hospital research unit has long since become one of the top addresses when it comes to expertise in childhood cancer. I would like to take this opportunity to thank everyone involved from the bottom of my heart.*

*However, scientific success is based not only on the commitment of highly qualified employees and their external cooperation partners or the support from politics, business, the arts and culture but also on the necessary financial resources. As for St. Anna Children's Cancer Research Institute, these are mainly donations from private individuals and companies. And in this respect, too, we were lucky to find many dedicated people who make it possible for us to conduct cutting-edge research at the highest level. My special thanks also go to them.*

*Instead of the attic of St. Anna Children's Hospital, where it started out 30 years ago, today our research work is being done in a modern facility that complies with the highest standards. This institute is located in the immediate vicinity of St. Anna Children's Hospital and connected to it by a glazed bridge. This bridge is more than just a passage from A to B, and it is not by accident that it is made of glass. It stands for transparency and the constant, close connection between top scientific research and clinical practice. Over the past years, we have walked this path for innumerable times and we will continue to do so in the future. And no matter from which direction, the goal is always the same: the wellbeing of our young patients.*

Vienna, November 2018



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

## Vorwort | Foreword

**Em. Univ.-Prof. Dr. Helmut Gadner (MD, Prof.)**

Gründungsvater | Founding Father



Die Geschichte der St. Anna Kinderkrebsforschung ist für mich eng verbunden mit einem Mädchen, das zufällig ebenfalls Anna hieß. Die sechsjährige Anna Senoner kam Mitte der 1980er-Jahre mit ihrem Vater zu mir. Sie war an Krebs erkrankt, die Diagnose lautete akute lymphoblastische Leukämie, bei der die Überlebenschancen damals sehr gering waren. Der Fall dieses Mädchens beziehungsweise die Bemühungen ihres überaus engagierten Vaters sollten den Anlass bilden, ein eigenes Forschungsinstitut aufzubauen, das sich ganz dem Kampf gegen den Krebs bei Kindern widmen würde.

Das war vor über 30 Jahren. Aus bescheidenen Anfängen – einer kleinen Einrichtung mit einigen wenigen MitarbeiterInnen – ist ein renommiertes und weltweit anerkanntes Institut für die Kinderkrebsforschung hervorgegangen, das Bahnbrechendes geleistet hat und nach wie vor leistet, Tag für Tag. Ich durfte diese Entwicklung viele Jahre begleiten, wofür ich sehr dankbar bin – ist es doch nicht vielen vergönnt, mitzuerleben, wie ihre Visionen Wirklichkeit werden!

Der St. Anna Kinderkrebsforschung ging es nie darum, Wissenschaftspreise und Auszeichnungen zu gewinnen. Es ging immer nur darum, Kinder zu heilen. Und zu heilen bedeutete nie, ihnen bloß das Überleben für weitere zwei oder drei Jahre zu ermöglichen, sondern sie wirklich von dieser furchtbaren Krankheit zu befreien. Ein zentraler Faktor für die Erreichung dieses Ziels war die enge Verbindung mit der klinischen Praxis des St. Anna Kinderspitals. Unter der Maxime „vom Krankenbett ins Forschungslabor und zurück“ haben Theorie und Praxis einander wie in einer guten Beziehung ergänzt und sich wechselseitig zu Höchstleistungen angespornt. Mittlerweile sind die Heilungschancen bei vielen Krebsarten in einem Ausmaß gestiegen, das ich selbst

For me, the history of St. Anna Children's Cancer Research Institute (CCRI) is closely connected with a girl whose name also happened to be Anna. Six-year-old Anna Senoner came to me with her father in the mid-1980s. She had been diagnosed with cancer, notably acute lymphoblastic leukaemia, for which survival chances were very poor at that time. It was the case of this girl and the relentless efforts of her committed father that marked the beginning of the establishment of a research institute that would dedicate itself to the fight against cancer in children.

That was more than 30 years ago. What had humble beginnings as a small facility with a few employees has grown into a renowned and globally recognised institute for childhood cancer research that has brought about ground-breaking advances and continues to do so day by day. I have had the privilege to accompany the development of this institution for many years, for which I am very grateful. After all, not everybody has the chance to see their own visions become reality.

Throughout the history of our institute, it was never about winning science prizes and awards. It has always been about healing children. And healing was never understood as just ensuring their survival for another few years, but effectively freeing them from this terrible disease. A central success factor for achieving this goal has been the close interaction with the clinical practice of St. Anna Children's Hospital. The principle "from the hospital bed to the research bench and back to bedside" combines theory and practice, allowing peak performance on both sides. In the meantime, the chances of cure for many types of cancer have increased to an extent that I myself would not have thought possible 30 years ago. It is all the more pleasing that these efforts have also been earning broad international recognition.

vor 30 Jahren nicht für möglich gehalten hätte. Dass es dafür auch noch breite internationale Anerkennung gab und gibt, ist umso erfreulicher.

Der Erfolg der St. Anna Kinderkrebsforschung beruht auf dem Engagement ungewöhnlicher Menschen – nicht nur mit Blick auf ihre berufliche Qualifikation, sondern vor allem, was ihren Einsatz betrifft. Denn mehr als nur als MitarbeiterInnen verstanden sie sich stets auch als MitstreiterInnen für die gemeinsame Sache. Und das galt nicht nur für die ForscherInnen, sondern für alle für den Erfolg lebensnotwendigen Abteilungen, von den Diagnostikeinheiten bis zum Qualitätsmanagement, vom Sekretariat über das Spendenbüro bis zum Research Support Office, zur IT und Bioinformatik.

Der Leitsatz unserer Forschung war stets, multidisziplinär zu denken. Dazu gehörte von Anfang an der Einbezug von ForscherInnen aus anderen Disziplinen, wie Biologie und Genetik, sowie die intensive Förderung der internationalen Vernetzung. Der Einzelne kann viel leisten, wirklich Großes entsteht aber oft nur im Team, auch über Ländergrenzen hinweg.

Die kleine Anna Senoner haben wir nicht retten können – es war dies eine sehr schmerzliche Erfahrung in meinem Leben. Aber die durch ihr Schicksal angestoßene Forschungsarbeit hat dazu geführt, dass in den folgenden Jahrzehnten unzählige Mädchen und Buben vom Krebs befreit wurden.

Die St. Anna Kinderkrebsforschung hat in den vergangenen 30 Jahren großartige Erfolge erzielt. Doch noch ist das Ende des Wegs im Kampf gegen den Krebs nicht erreicht. Dass die MitarbeiterInnen des Instituts diesen Weg zielstrebig und engagiert weiter gehen, davon bin ich überzeugt. Und dafür wünsche ich ihnen viel Erfolg!

*The success of the Children's Cancer Research Institute is based on the commitment of people with exceptional qualities – not only in terms of professional qualifications but above all of commitment. We consider ourselves incredibly lucky that rather than just employees we could win over comrades-in-arms for the common cause. And this holds true not only for the research staff but for all departments that are vital for success, from the diagnostic units to quality management, from the secretariat to the fundraising office, the research support office, IT services and bioinformatics.*

*The guiding principle of our research has always been to think in multidisciplinary terms. This has included the involvement, from an early stage, of researchers from other disciplines, such as biology and genetics, and the intensive promotion of international networking. An individual can achieve a lot, but real breakthroughs in the fight against cancer can be achieved only by teams, the more multidisciplinary and multinational, the better.*

*The life of little Anna Senoner, unfortunately, could not be saved. That was a painful experience in my life. But thanks to the research work stimulated by her case, in the decades that followed we were able to heal countless little patients from cancer.*

*The achievements St. Anna Children's Cancer Research Institute has made during the past 30 years are tremendous. However, the struggle against cancer has yet to be won. I am convinced that the institute's staff will continue on the path that has been set out with determination and commitment. I wish them every success!*

## Vorwort | Foreword

### Dr. Heinz Fischer

Bundespräsident a. D. | President of Austria (ret.)



Der Weg vom ersten Kinderspital in Österreich – dem 1837 gegründeten St. Anna Kinderspital – bis zum heutigen St. Anna Kompetenzzentrum für Kinderkrebsforschung war lang und schwierig, und er umfasst bis jetzt mehr als 180 Jahre. Seit mehr als 30 Jahren – genauer gesagt seit Anfang 1985 – durfte ich diesen Weg begleiten und bewundern.

Ich war damals Wissenschaftsminister, als mich der Vater eines an Krebs erkrankten kleinen Mädchens, Herr Dr. Senoner, einerseits auf die extrem schwierige Lage von Kind und Eltern in solchen Situationen und andererseits auf die Bemühungen zur Schaffung einer zeitgemäßen, zukunftsorientierten Kinderkrebshilfe in Wien aufmerksam machte.

In diesem Zusammenhang lernte ich auch den unermüdlichen und bewundernswerten Univ. Prof. Dr. Gadner kennen. Wie so oft war neben vielen anderen Voraussetzungen auch viel Geld notwendig, um den Traum von einem Kinderkrebszentrum zu verwirklichen. Aber Dr. Gadner und seine MitstreiterInnen ließen sich nicht von ihrem Weg abbringen und waren letztlich erfolgreich.

Eltern, Freunde, ÄrztInnen und hilfsbereite Menschen begannen zu sammeln und zu werben, und im Juni 1988 war es soweit: Die Forschungsarbeit im St. Anna Kinderkrebsforschungsinstitut konnte beginnen.

Für die kleine Tochter von Dr. Senoner kam leider jede Hilfe zu spät, aber viele, viele andere Kinder konnten seither von bösartigen und lebenszerstörenden Krankheiten geheilt werden.

Das Institut wurde immer bekannter, immer erfolgreicher, immer größer und konnte Anfang 2009, also vor zehn Jahren, in ein neues Gebäude am Zimmermannplatz übersiedeln, um seine segensreiche Tätigkeit unter neuen Bedingungen fortzusetzen.

Ich bin kein Mediziner und kann nicht mit exakten Zahlen zu einzelnen Krankheitstypen aufwarten, aber so-

The journey from the very first children's hospital in Austria – St. Anna Children's Hospital, founded in 1837 – to the modern-day St. Anna competency centre for childhood cancer research, has been a long road set with many difficulties and spanning over 180 years. It has been my privilege to accompany and to admire this journey for the last 30 years, since the beginning of 1985 to be more exact.

At that time, I was Minister of Science when the father of a young girl with cancer, Dr. Senoner, made me aware of the extremely challenging experiences of the parents and child in such a situation, and also of the efforts to create a modern, future-oriented childhood cancer research institute in Vienna.

It was at that time that I also got to know the untiring and admirable Professor Gadner. As is often the case, as well as other requirements, a significant amount of money was needed to realise the dream of a childhood cancer centre. However, Professor Gadner and his fellow campaigners remained committed to their cause and were finally successful in their mission.

Parents, friends, doctors and kind volunteers began to raise funds and to campaign. Finally, in June 1988 the research work in St. Anna Children's Cancer Research Institute could begin.

Dr. Senoner's little girl could unfortunately no longer be helped, however many, many other children since that time have been cured of vicious, life-threatening diseases.

The institute became more and more known, more and more successful, and it grew and grew until ten years ago, in 2009, it moved to a new building at Zimmermannplatz where it could continue to carry out its good work under new, improved conditions.

Not being a medical professional, I cannot come up with exact figures relating to specific illnesses, but as I understand

weit ich es verstanden habe, war es in den 1960er-Jahren so, dass von 100 Kindern, die an Krebs erkrankten, 20 geheilt werden konnten, während es für 80 keine Rettung gab.

Heute ist es insofern umgekehrt, als von 100 Kindern, die an Krebs erkrankt sind, fast 80 überleben und „nur“ 20 versterben.

Man kann sich gar nicht vorstellen, wie viele Tragödien, wie viel an Leid, Schmerz und Trauer dadurch Eltern und Kindern erspart werden kann. Was ich damit ausdrücken will, wird vielleicht noch deutlicher, wenn ich ein Ereignis aus jüngster Zeit mit glücklichem Ausgang in Erinnerung rufe: Vor einigen Monaten haben sich in Thailand elf Buben einer Fußballmannschaft mit ihrem Trainer in einem unterirdischen Labyrinth verirrt und sind durch Hochwasser von der Außenwelt abgeschnitten worden. Ihr Leben war in höchster Gefahr. Fast die ganze Welt hat am Schicksal dieser Kinder Anteil genommen und Millionen Menschen waren glücklich, als diese Kinder gerettet werden konnten. Und ich war auch glücklich.

Durch die Arbeit im St. Anna Kinderspital werden aber nicht nur elf, sondern Hunderte – und auf einen längeren Zeitraum berechnet Tausende – Kinder im wahrsten Sinne des Wortes gerettet. Und auch wenn der Beifall für eine dem Laien kaum verständliche Forschungsarbeit nicht so stark und die medizinische Hilfe nicht so spektakulär anmutet wie die lebensgefährliche Rettung aus einem Höhlensystem, hat die St. Anna Kinderkrebsforschung über die Jahre doch wahrlich mindestens gleich viel Applaus verdient.

Daher möchte ich als ehemaliger Wissenschaftsminister, als ehemaliger Bundespräsident und als Bürger dieses Landes allen sehr, sehr herzlich danken, die in vielen Jahren am erfolgreichen Aufbau und Ausbau des St. Anna Kinderkrebsforschungszentrums mitgearbeitet haben und gleichzeitig auch für die Zukunft weiterhin viel Erfolg wünschen.

*it, in the 1960s out of 100 children who suffered from cancer only 20 could be cured and 80 died from the illness.*

*Nowadays, these figures have been reversed – now, out of 100 children who suffer from cancer, nearly 80 survive and “only” 20 succumb to the illness.*

*It is unimaginable how much tragedy, how much suffering, pain and grief the parents and children can be spared through this. What I would like to say here will perhaps become clearer when I recall a recent event which had a happy ending. Some months ago, in Thailand, a football team consisting of eleven boys and their trainer got lost in an underground labyrinth of caves and became cut off by water from the rest of the world. Their lives were in acute danger. Almost the entire world was involved in the fate of these children and millions of people were overjoyed when the children's lives were saved. I was also overjoyed.*

*Through the work done at St. Anna Children's Hospital, the lives of not only eleven, but hundreds – and in the long-term thousands – of children have been saved. Even though the acclaim for highly complex research is not as strong and the saving of children's lives through medicine not as spectacular as a risky life-saving operation from underground caves, over the years St. Anna Children's Cancer Research has deserved at least as much applause.*

*For these reasons, as former Minister of Science, as former President of Austria and as a citizen of this country I would like to give my heartfelt thanks to all those who have helped to establish and grow St. Anna Children's Cancer Research Centre over the years and wish them every success in the future.*

## Vorwort | Foreword

### Dr. Michael Ludwig

Bürgermeister und Landeshauptmann von Wien | Mayor and Governor of Vienna



**D**as St. Anna Kinderspital ist Österreichs ältestes Zentrum für Kinder- und Jugendheilkunde und nimmt eine besondere Rolle in der Wiener Gesundheitsversorgung ein.

Viele medizinische Meilensteine wurden in St. Anna gesetzt. Einer der wichtigsten ist unbestritten die Errichtung des Forschungsinstituts für krebskranke Kinder vor nunmehr 30 Jahren. Wien hat sich seit jeher für die Betreuung erkrankter Kinder eingesetzt. Heilende Behandlungen können nur auf Basis erfolgreicher Forschungsarbeit erfolgen – eben von der Art, wie sie von der St. Anna Kinderkrebsforschung geleistet wird. Als Bürgermeister von Wien freut es mich, mit der St. Anna Kinderkrebsforschung eine Institution in der Stadt zu haben, die nicht nur auf renommierten medizinwissenschaftlichen Kongressen in aller Welt höchstes Ansehen genießt.

Als Bürgermeister der Stadt Wien bedanke ich mich bei allen MitarbeiterInnen des St. Anna Kinderspitals für das auch aufopfernde Engagement und die erfolgreiche Arbeit für das Wohl und die Gesundheit der Kinder dieser Stadt.

Ich wünsche alles Gute zum Jubiläum und hoffe für uns alle auf eine weiterhin erfolgreiche wissenschaftliche Arbeit der St. Anna Kinderkrebsforschung.

**A**s Austria's longest standing health centre for children and young people, St. Anna Children's Hospital plays an outstanding role in the provision of health care in Vienna.

Over the years, many medical milestones have been achieved at St. Anna's. One of the most significant ones is, without doubt, the founding of the Children's Cancer Research Institute, which took place 30 years ago. Vienna has always been active in taking care of sick children. Curative treatments can only come about as a result of successful research work, such as the work done by St. Anna Children's Cancer Research Institute. In my position as Mayor of Vienna, I am delighted to have a facility such as St. Anna Children's Cancer Research Institute, which is held in the greatest respect not only by renowned medical congresses throughout the world, as a part of our city.

As Mayor of Vienna, I would like to take this opportunity to thank all those employed at St. Anna Children's Hospital for their great dedication and for their successful contribution to the health and wellbeing of the children of Vienna.

I would like to wish them all the best on the occasion of the facility's anniversary and wish St. Anna Children's Cancer Research Institute continued success with its scientific research, on behalf of all of us.



## Univ.-Prof. Dr. Markus Müller (MD, Prof.)

Rektor MUW | Rector of the Medical University of Vienna



Seit mehr als acht Jahren besteht zwischen der St. Anna Kinderkrebsforschung und der MedUni Wien ein Kooperationsvertrag. Damit sind die Forschungs- und Lehraktivitäten auf allen Gebieten der Kinder- und Jugendheilkunde aufeinander abgestimmt. Die hervorragende Zusammenarbeit hat die einzigartigen Kompetenzen beider Institutionen gebündelt und bietet Betroffenen an beiden Standorten die bestmögliche Behandlung auf Basis neuester Forschungsmethoden.

Damit bilden die MedUni Wien, das St. Anna Kinderhospital und die St. Anna Kinderkrebsforschung das größte pädiatrische Zentrum Österreichs zum Wohle junger PatientInnen und deren Familien, aber auch für talentierte Studierende der Medizin und WissenschaftlerInnen.

1988 wurden die ersten fünf Forschungsgruppen an der St. Anna Kinderkrebsforschung etabliert. Mittlerweile bestehen zwölf multidisziplinäre Arbeitsgruppen, die das hohe internationale Ansehen der Kinderkrebsforschung in Wien über Österreichs Grenzen hinaus geprägt haben.

Präzisionsmedizin, der wichtigste Trend in der Medizin des 21. Jahrhunderts, steht auch bei der Kinderkrebsforschung im Mittelpunkt, um jeder Patientin und jedem Patienten mit modernsten Technologien eine maßgeschneiderte Therapie bieten zu können. Der Einsatz dieser Technologien verdankt sich auch und vor allem den vielen Tausenden Spenden, die private Förderer in diesen 30 Jahren getätigt haben, um Kindern eine gesunde Zukunft zu ermöglichen.

Dafür und für die großartigen Leistungen des Teams der St. Anna Kinderkrebsforschung für unsere Universität und den Forschungsstandort Österreich möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

St. Anna Children's Cancer Research Institute has worked in cooperation with the Medical University of Vienna for over eight years. This means that both research and training activities are in line with each other concerning all areas of paediatrics. Combining the unique competencies of each institution, this highly effective collaboration offers those seeking help the best methods of treatment based on the latest research techniques.

This way, the Medical University of Vienna, St. Anna Children's Hospital and St. Anna Children's Cancer Research Institute form together the largest paediatric health centre in the whole of Austria for the benefit of young patients and their families, but also for talented medical students and research scientists.

In 1988, the first five research groups were established at St. Anna Children's Cancer Research Institute. In the meantime, there are now twelve multi-disciplinary working groups, which have helped to spread the excellent international reputation of childhood cancer research in Vienna way beyond Austria's borders.

High-precision medicine, the most important trend in 21st century medicine, is also at the centre of childhood cancer research, enabling us to provide each patient with tailor-made treatment plans employing the most modern technology. The use of these technologies has been made possible also, and indeed first and foremost, thanks to the many thousands of donations given by private donors over this 30-year period to ensure children a healthy future.

I would like to take this opportunity to thank the team at St. Anna Children's Cancer Research Institute for their contribution to the work of our university in particular and to research in Austria in general.

## Vorwort | Foreword

### Univ.-Prof. Dr. Reinhard Krepler (MD, Prof.)

Präsident des Österreichischen Roten Kreuzes, Landesverband Wien,  
Aufsichtsrat der St. Anna Kinderspital GmbH |  
President of the Austrian Red Cross – Vienna Branch,  
Supervisory Board Member of St. Anna Children's Hospital



Das St. Anna Kinderspital wurde gegründet, um das Leid schwer kranker Kinder und das Los der betroffenen Familien zu erleichtern. Aus dieser Tradition heraus hat das St. Anna Kinderspital die Herausforderungen der jeweiligen Zeit angenommen und stets zur Weiterentwicklung der Betreuung von Kindern und Jugendlichen beigetragen. Mein Vater, Univ.-Prof. Dr. Paul Krepler, hat – unterstützt vom damaligen Stadtrat Univ.-Prof. Dr. Alois Stacher – den Schwerpunkt der Betreuung krebskranker Kinder im St. Anna Kinderspital etabliert. Diese Initiative wurde in hervorragender Weise von seinen Nachfolgern Univ.-Prof. Dr. Helmut Gadner und Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter weitergetragen.

In der Behandlung krebskranker Kinder konnten am St. Anna Kinderspital großartige Fortschritte erzielt werden – auch dank der herausragenden Leistung der St. Anna Kinderkrebsforschung. Gleichzeitig ist es aber notwendig, nach schonenderen und dabei noch erfolgreicherer Behandlungen von Kindern und Jugendlichen zu suchen. Dies ist eine enorme Aufgabe, die nur im Zusammenwirken mit großen, internationalen Forschungs- und Behandlungsnetzwerken gelingen kann. Das St. Anna Kinderspital und die St. Anna Kinderkrebsforschung stellen einen bedeutenden Knotenpunkt in dieser internationalen Anstrengung dar. Die St. Anna Kinderkrebsforschung kann sich in Wien da-

*St. Anna Children's Hospital was founded to relieve the pain and suffering of seriously ill children and their families. With this tradition always in mind, St. Anna Children's Hospital has taken on the challenges of each time and has contributed continually towards the development of care for young people. My father, Professor Paul Krepler, established – with the support of the then city councillor, Professor Alois Stacher, – the care centre for childhood cancer sufferers at St. Anna Children's Hospital. This initiative was very effectively carried forward by his successors, Professor Helmut Gadner and Professor Wolfgang Holter.*

*St. Anna Children's Hospital has been able to make great progress in the treatment of childhood cancer sufferers, also thanks to the outstanding achievements of St. Anna Children's Cancer Research Institute. At the same time, it is still necessary to look for gentle but effective treatments for children and young people. This is an enormous task which can only be achieved by working closely with international research and medical treatment networks. St. Anna Children's Hospital and St. Anna Children's Cancer Research Institute represent a significant intersection in these international efforts. As such, St. Anna Childhood Cancer Research Institute can rely on the clinically applied research at St. Anna Children's Hospital on the one hand, and on the basic research done at the Medical University of Vienna,*

bei einerseits auf die klinisch angewendete Forschung im St. Anna Kinderspital selbst und andererseits auf die Grundlagenforschung der Medizinischen Universität Wien im Medizinischen Universitätscampus des Allgemeinen Krankenhauses der Stadt Wien stützen.

Die Fortschritte in der Behandlung krebskranker Kinder und Jugendlicher waren nur durch bedeutende UnterstützerInnen in der österreichischen Gesellschaft möglich. Diesen möchte ich ebenso wie dem multidisziplinären Behandlungsteam im St. Anna Kinderspital und dem Forschungsteam sehr herzlich danken.

Eine Krebserkrankung ist zunächst im engeren Sinne eine medizinische und pflegerische Herausforderung. Zugleich ist sie aber auch eine enorme seelische und soziale Herausforderung für die Betroffenen. Die Bewältigung solcher Situationen erfordert ein umfassendes Netzwerk – von der Grundlagenforschung zur klinischen Anwendung und von dieser fortschreitend zur Rehabilitation und Nachbetreuung im Sinne eines umfassenden internationalen Zentrums, also eines Comprehensive Cancer Center für Kinder und Jugendliche.

Ich wünsche den engagierten ForscherInnen vom St. Anna Kinderkrebsforschungsinstitut weiterhin so viel Erfolg und Freude mit ihrer wichtigen Arbeit im Zusammenwirken mit dem St. Anna Kinderspital.

*which is located on the campus of the Vienna General Hospital, on the other.*

*The progress made in the treatment of childhood cancer sufferers has only been possible due to the many important supporters in Austrian society. I would like to take this opportunity to thank these supporters, as well as the medical team at St. Anna Children's Hospital and also the research team.*

*In the first instance, cancer is a challenge in terms of medical treatment and care. It also, however, presents enormous psychological and social challenges for those affected by the illness. Overcoming such challenges requires a complete network from basic research to clinical application and then step-by-step towards rehabilitation and after-care, all within an international comprehensive cancer centre' for children and adolescents.*

*I would like to wish the dedicated researchers at St. Anna Children's Cancer Research Institute continued success and enjoyment in the important work they do in collaboration with St. Anna Children's Hospital.*

# Zum Wohle krebskranker Kinder

## *Hope for children with cancer*

Vor drei Jahrzehnten fassten Ärzte und betroffene Eltern einen ehrgeizigen Plan: Mit systematischer Forschung wollten sie die Ursachen von Kinderkrebs im Detail entschlüsseln, um Diagnostik, Therapie und Überlebenschancen entscheidend zu verbessern. Heute zählt das Wiener Forschungsinstitut zur Weltspitze. Wie ist dies gelungen? Und wer sind die Menschen hinter dieser Leistung?

**E**in flüchtiger Blick auf die Petrischale offenbart noch keine Sensation. Bei näherem Betrachten lässt sich erkennen, dass in einer klaren Flüssigkeit transparente Kügelchen schwimmen, kaum einen Millimeter groß. Erst ein leistungsstarkes Mikroskop, bestückt mit Farbfiltern, erlaubt spektakuläre Einsichten in das Innere der winzigen Blasen und zeigt: In der Petrischale wimmelt es vor Leben. Bei den runden Gebilden handelt es sich um Larven von Zebrafischen. Weil die einen Tag alten Geschöpfe völlig durchsichtig sind, kann man mithilfe der Vergrößerungslinsen zusehen, wie sich Körperzellen in der Hülle der Larven bewegen und sich zu frischem Gewebe gruppieren.

Das Verfahren, mit dem solch faszinierende Einblicke in keimendes Leben möglich sind, heißt Lebendmikroskopie. Forscher können damit Organismen in Echtzeit beim Wachsen zusehen und beobachten, wie sich Organe, Blutgefäße oder Nervenbahnen bilden. Die Technik erbringt auch Aufschluss über weit weniger wünschenswerte Prozesse: Die Entstehung von Krebs gehorcht ebenfalls biologischen Programmen, und genau wie man das Sprießen von jungem Gewebe verfolgen kann, lässt sich demonstrieren, wie Krebszellen einen Organismus erobern; wie sie durch den Körper wandern und stellenweise Konglomerate formen, die später zu einem Tumor reifen.

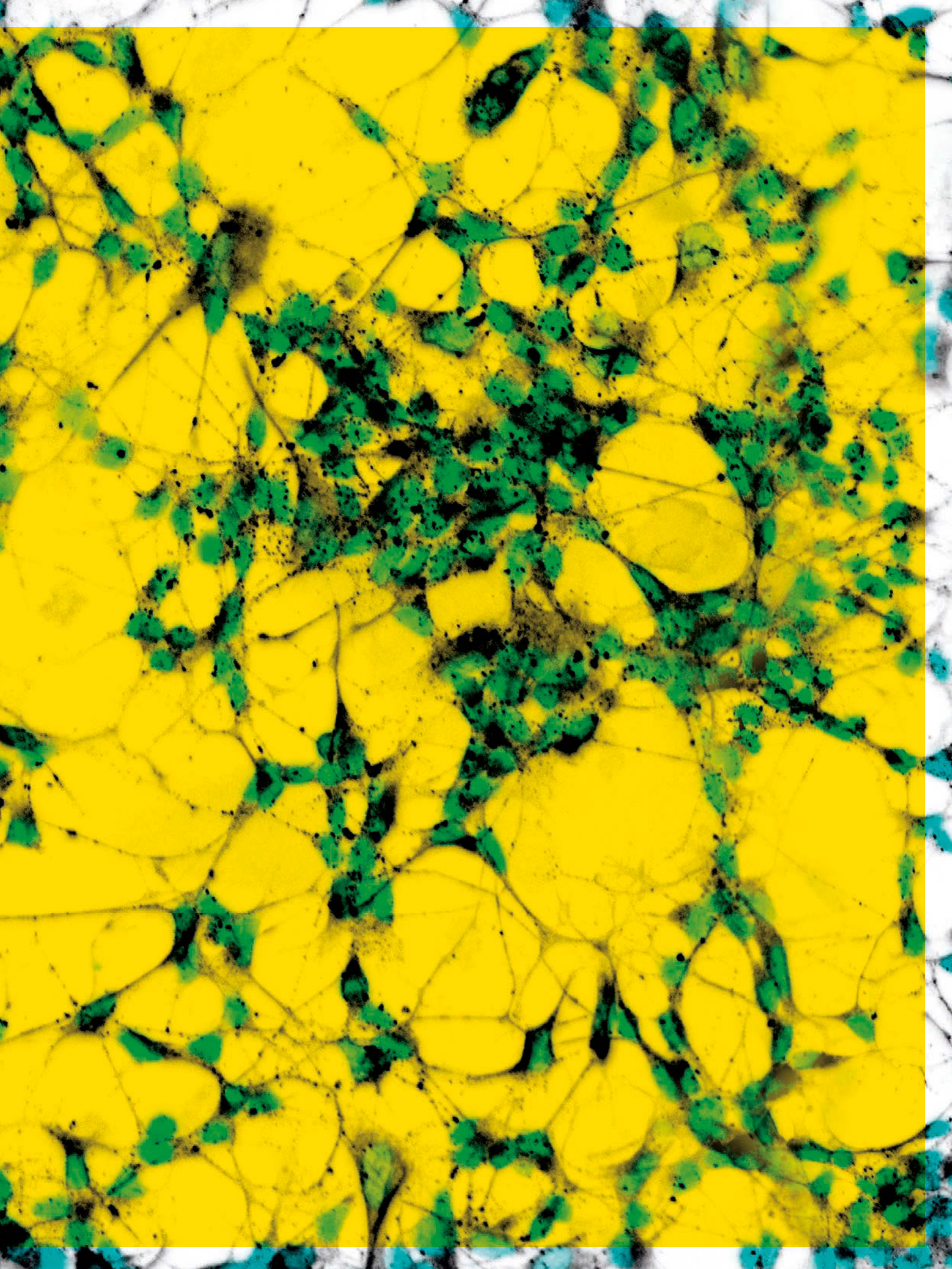
„Die Lebendmikroskopie ermöglicht uns eine sehr genaue Beobachtung der Krebsentwicklung. Wir können unmittelbar zusehen, wie die Zellen tumorähnliche Gebilde ausprägen“, sagt Martin Distel. Der Molekularbiotechnologe

It was an ambitious idea which 30 years ago a group of doctors and parents set out to materialise: In their quest for better diagnostic and treatment options to improve survival of childhood cancer, they decided to help establish a facility for the systematic study of the disease. Today the Vienna-based research institute is among the world's best. How was this made possible? And who are the people behind this achievement?

**W**hen looked at cursorily, the Petri dish does not appear to contain anything sensational. A second glance reveals transparent spherules, barely one millimetre in diameter, swimming in a clear liquid. For a sight that is truly spectacular, however, it takes a powerful microscope equipped with colour filters: In this way, it will be seen that the Petri dish is teeming with life. The round structures are larvae of zebrafish, one day old. And thanks to their translucency it is possible – with the aid of magnifying lenses – to look inside their shells and watch body cells moving, clustering together to form young tissue.

The method that offers such intriguing insights into life as it develops is called *in vivo* microscopy. Permitting direct observation of the growth of organisms, researchers use it to track the formation of organs, blood vessels, and nerve tracts. Beyond that, it yields insights into events far less desirable: With cancer also developing in accordance to biological schemes, in the same way that the sprouting of young tissue can be observed, so, too, can the process of cancer cells taking hold of an organism; so, too, can it be demonstrated how they travel through the body, at places clustering together into conglomerates that would later mature into tumours.

“*In vivo* microscopy allows for an extremely precise observation of cancer development, making it possible for us to directly watch the cells forming tumour-like structures,” explains Martin Distel, a molecular biotechnologist and head of St. Anna Children's Cancer Research Innovative Cancer Models Group. By using zebrafish, Distel's team rely on an



ist Leiter der Gruppe Innovative Krebsmodelle der St. Anna Kinderkrebsforschung. Distels Arbeitsgruppe benutzt mit den Zebrafischen ein Tiermodell, das sich zuletzt bei der Untersuchung von Krankheiten durchgesetzt und teilweise die traditionelle Forschung an Mäusen abgelöst hat.

Denn der Zebrafisch bietet eine Fülle enormer Vorteile für die Wissenschaft: Die genetischen Baupläne von Mensch und Zebrafisch sind in entscheidender Hinsicht verblüffend ähnlich. Zebrafische besitzen mehr als 80 Prozent jener Gene, die auch beim Menschen für Krankheiten relevant sind. Die bis zu fünf Zentimeter großen Fische eignen sich daher perfekt als Modellorganismen, um auch humane Krebsleiden zu studieren. Zudem geht der Nachschub nie aus: Etwa 300 Eier legt ein Weibchen pro Woche, und binnen eines einzigen Tages entwickeln sich daraus winzige Larven.

„Man hat in kürzester Zeit extrem viele Eier zur Verfügung, die man beforschen kann“, erläutert Distel, der mit seinem Team diese Methode anwendet, um zentrale Fragen von Krebserkrankungen zu klären: Welche Hebel treiben das Krebswachstum an? Wie interagieren Krebszellen mit ihrer Umgebung? Lassen sich Schwachstellen von Tumoren identifizieren, die man mit neuen Medikamenten attackieren könnte?

Wollen Wissenschaftler im Labor ein originalgetreues Abbild der Krebsentstehung beim Menschen erzeugen, müssen sie zunächst humane Krebsgene ins Tier übertragen. Nur dann erhalten sie ein Modell, welches das Krebsgeschehen zuverlässig spiegelt. Distel deutet auf eine Pipette, an deren Spitze eine extrem feine Nadel sitzt. Mit diesem Instrument, sagt der Forscher, können Krebsgene direkt in die Fischlarven injiziert werden: maßgeschneiderte Gensequenzen, also kleine Abschnitte des genetischen Codes, von denen bekannt ist, dass sie an der Bildung bestimmter Tumoren beteiligt sind. Auch Krebszellen können in die Fische eingebracht werden. Mit dem Farbstoff einer Qualle versetzt, fluoreszieren sie unter dem Mikroskop, sodass sie als bunt markierte Objekte in den transparenten Larven hervorstechen – und man ihr Verhalten und jede ihrer Bewegungen präzise nachverfolgen kann. „Man sieht tatsächlich dem Krebs beim Wachsen zu“, sagt Distel. „Und man sieht nicht nur den Tumor, sondern auch Wechselwirkungen mit der Umgebung, zum Beispiel mit Blutgefäßen. So kann man beobachten, wie der Tumor die Kontrolle übernimmt und seine Umgebung versklavt.“

Mithilfe dieser Art von Liveübertragung aus dem Inneren eines von Krebs befallenen Körpers gewinnen die Forscher ständig neue Erkenntnisse über die Wirkweisen von Krebs. Beispielsweise interessiert sich Martin Distel dafür, wie Tumoren das menschliche Immunsystem beeinflussen. Mittlerweile ist nachweisbar, dass Krebs bestimmte Immunzellen, die Makrophagen, gewissermaßen umprogrammiert und für seine Zwecke einspannt. Distel: „Wir wollen jetzt im Detail herausfinden, welche Faktoren des Immunsystems einem Tumor helfen und welche ihn behindern.“

Über all dem steht vor allem ein Motiv: die Entwicklung

*animal model that has become increasingly popular for investigating diseases, partly replacing the traditional mouse model.*

*From the scientific perspective, the advantages offered by zebrafish as a model organism are indeed manifold – the genetic blueprints of humans and zebrafish are stunningly similar in a number of essential respects. Possessing more than 80 percent of genes associated with disease in humans, the zebrafish – that can grow up to five centimetres long – perfectly lends itself to the study of human cancers. Another plus is the steadiness in supply: The female lays as many as about 300 eggs per week, from which within one day tiny larvae develop. “This ensures instantaneous access to an enormous amount of eggs to study,” explains Distel, whose team employ this method to resolve central questions related to cancer: What are the levers that drive cancer growth? What are the ways in which cancer cells interact with their environment? Are there any weak points in tumours that could be targeted with new drugs?*

*For the simulation of cancer growth in humans under laboratory conditions, human cancer genes must first be transferred into the animal organism as the only way to obtain a truly authentic model of the development of cancer. Pointing at a pipette with an extremely fine needle on its top, Distel shows the instrument used to inoculate fish larvae with cancer genes. These are tailored gene sequences, i.e., small sections of the genetic code known to be involved in the genesis of certain tumours. In the same way, the transparent larvae can be inserted with cancer cells, which, when stained with jellyfish pigment, will fluoresce, thus becoming easily detectable, colour-marked objects, whose behaviour and distinct movements can be precisely followed under the microscope. “This way we can actually watch cancer grow,” says Distel. “And what’s more, apart from the tumour itself, we see its interacting with the environment, for example with blood vessels, its taking control of and enslaving its environment.”*

*This sort of live transmission from inside a cancer-infested body provides an invaluable source of new insights into the mechanisms of cancer. As for Martin Distel, it is the way tumours affect the human immune system he seeks to elucidate, building on findings that cancer in a way re-programmes certain immune cells – the macrophages – to exploit them for its own purposes. “What we now want to specify is which of the factors of the immune system are conducive and which are unfavourable to tumour growth.”*

*There is one basic motive behind all these efforts – the search for high-precision and fast-acting new weapons against cancer in children. Hence, the intensive research activities are all about exposing the strategies and schemes of cancer, this frightening master of survival, as well as developing breakthrough therapies for better treatment or, in the best case, the healing of children affected by cancer. These are the goals of Martin Distel and his team, and these are the goals of all other departments of St. Anna Children's*

punktgenauer und schnell wirksamer Waffen gegen Krebs bei Kindern. Intensive Forschung soll die Basis schaffen, um den Strategien und Tricks von Krebs, diesem erschreckenden Überlebenskünstler, auf die Schliche zu kommen, zukunftsweisende Therapien zu ersinnen und erkrankte Kinder erfolgreicher behandeln oder im Optimalfall heilen zu können. Dies ist das Ziel von Martin Distel und seiner Gruppe, und dies ist auch das Ziel sämtlicher anderer Abteilungen der St. Anna Kinderkrebsforschung, die sich mit modernsten biomedizinischen Methoden dieser Geißel der Menschheit stellen, ob nun im Hinblick auf die Entschlüsselung der Ursachen oder auf kluge, innovative Behandlungskonzepte. Die Maxime lautet stets: Es braucht systematische, hochgradig fakten- und datengestützte Forschung hartnäckiger, ausdauernder Wissenschaftler, deren Ergebnisse in den klinischen Alltag einfließen und den Patienten zugutekommen – und daher möglichst rasch vom Labor zum Krankenbett gelangen sollen.

Mehr als 120 Mitarbeiter in zwölf spezialisierten Abteilungen arbeiten heute daran, die Kinderkrebsforschung beständig voranzutreiben. Jede dieser Gruppen konzentriert sich auf eigene, klar umrissene medizinische Schwerpunkte: Während manche Experten die Biologie von Leukämien oder Tumoren zu entschlüsseln trachten und zentrale genetische Schalter der Krebsentstehung aufspüren, schärfen andere die Diagnostik, studieren das molekulare Profil der unter Kindern verbreitetsten Krebsleiden, entwerfen klinische Studien zum Test neuer Präparate, führen Zellen des Immunsystems gegen Tumoren ins Feld oder suchen neue Wege, geschwächte Patienten vor fatalen Infektionen mit Viren und Pilzen zu schützen.

Mit diesem breiten Fächer an Initiativen zählt das Wiener Forschungsinstitut längst zu den renommiertesten Adressen weltweit, wenn es um die Expertise bei Kinderkrebs geht. Dieser Ruf ist das Resultat von 30 Jahren beharrlicher Forschungstätigkeit. Dass das Institut eines Tages diesen Stellenwert erreichen würde, hätte sich im Juni 1988, als alles begann, nicht einmal der kühnste Visionär gedacht, auch nicht jene Pioniere der Anfangsphase, die sich um die Gründung des Instituts verdient machten. Alles begann langsam, in kleinem Maßstab, und es bedurfte einer ausgiebigen Portion Enthusiasmus und Improvisationstalent.

Und es begann mit einem furchtbaren Schicksalsschlag.

*Cancer Research, in pursuit of which they employ the most cutting-edge biomedical methods to confront this scourge of mankind – be it in terms of deciphering its causes or of providing well-devised, innovative treatment concepts. In so doing, they all act upon the maxim that systematic, fact- and data-based research carried out persistently and unremittingly must be directed towards applicability in clinical practice for the benefit of patients, with results making their way from the laboratory to the hospital bed as quickly as possible.*

*Today, the steady advancement of children's cancer research is taken care of by more than 120 staff members organised in twelve specialised departments, each of which is assigned its own, clearly defined task area. While some experts strive to decipher the biology of leukaemia or tumours and to identify key genetic switches responsible for cancer formation, others focus on the honing of diagnostics; again others study the molecular profiles of the most common childhood cancers, or design clinical studies to test new substances, seek to weaponise cells of the immune system against tumours, or figure out new ways to protect patients from fatal infections with viruses and fungi.*

*Exhibiting such a wide array of initiatives, the Vienna-based research facility has long been ranked one of the world's most renowned addresses as regards expertise in childhood cancer, a position that is the result of 30 years of tenacious research work. And yet, back in June 1988, when everything began, there was hardly anyone, including the boldest visionaries among those who pioneered its foundation, who would have imagined things going that way. After all, everything started out slowly, on a small scale, demanding an enormous amount of enthusiasm and talent for improvisation.*

*And it started out with a tragic stroke of fate.*

---

Aus Gründen der Lesbarkeit wird in diesem Text darauf verzichtet, geschlechtsspezifische Formulierungen zu verwenden. Soweit personenbezogene Bezeichnungen nur in männlicher Form angeführt sind, beziehen sie sich auf Männer und Frauen in gleicher Weise.

## Die Stunde null: Zwei Pioniere verschreiben sich einer großen Idee

Erwin Senoner wusste nicht, wohin er sich wenden sollte. Seine Tochter Anna, sechs Jahre alt, hatte Krebs. Die Diagnose lautete akute lymphoblastische Leukämie (ALL). Es ist die häufigste Krebserkrankung bei Kindern, und Senoner, selbst Mediziner, wusste, dass die Aussichten damals, im Jahr 1985, düster waren: „Die Chancen betragen zu dieser Zeit zwei zu eins“, erinnert sich Senoner. Er kontaktierte Bekannte, Freunde, Kollegen. Er wollte in Erfahrung bringen, wo er auf die bestmögliche Behandlung für seine Tochter hoffen durfte. Er dachte zunächst ans renommierte Karolinska-Institut in Schweden und an spezialisierte Kliniken in den USA. Doch immer wieder fiel derselbe Name: St. Anna Kinderspital, Wien. Hier würden die Top-Experten arbeiten, hieß es. Hier würde ein Mann wirken, der zuvor in Deutschland ein innovatives Behandlungskonzept gegen Kinderkrebs umgesetzt hatte: Helmut Gadner, Ärztlicher Leiter des Kinderspitals, ein Österreicher, der 1980 nach Wien geholt worden war, um den Führungsjob zu übernehmen.

Senoner war zuerst verblüfft. „Obwohl ich selbst Arzt bin, war mir St. Anna nicht geläufig“, sagt er. Doch er befolgte den Rat, der ihm mehrfach erteilt worden war, und vertraute seine Tochter der Obhut der Wiener Ärzte an.

Das traditionsreiche Kinderspital, im Lauf der Geschichte mehrfach renoviert, war eine einzige Baustelle. Überall standen Kübel mit Mörtel umher, berichtet Senoner, doch der Klinikbetrieb habe reibungslos funktioniert. Allerdings: Es gebrach an Kleinigkeiten. Viele Eltern saßen am Bett ihrer kleinen Patienten und überwachten selbst die Infusionen. An den Markierungen auf den Infusionsbeuteln lasen sie ab, wann die verordnete Dosis erreicht war. Denn Infusionsautomaten gab es nicht.

Eines Tages, Senoner war gerade aus Salzburg angereist, um seine Tochter zu besuchen, fragte er Helmut Gadner, ob er irgendwie helfen könne. Gadner hatte tatsächlich einen Vorschlag, doch er meinte nicht ein paar neue Infusionsstände oder sonstige Geräte. Er sagte: „Wir brauchen ein Forschungsinstitut.“

„Das war nicht die Antwort, die ich erwartet hatte“, sagt Senoner.

Er hakte nach und wollte von Gadner wissen, um wieviel Geld es denn ungefähr gehe. Gadner bezifferte das nötige Kapital mit etwa sieben Millionen Schilling. Später stellte sich heraus, dass die Schätzung deutlich zu optimistisch war. Im Zuge der Realisierung des Projekts wuchs die Summe beständig an. Zum Vergleich: Heute beträgt das Jahresbudget des Forschungsinstituts um die sieben Millionen Euro.

Während seine Tochter Anna als Patientin im Kinderspital lag, machte sich Senoner an die Arbeit. Er wollte Gadner helfen, seine Idee zu verwirklichen, den Spitalsbetrieb mit solider Forschung zu verquicken. Ursprünglich,

## The zero hour: the vision of two pioneers

Erwin Senoner did not know where to turn to. His daughter Anna, a girl of six, had been diagnosed with cancer, more specifically acute lymphoblastic leukaemia (ALL), the most common cancer in children. Himself a medic, Senoner was well aware that – in 1985 – prospects were bleak: “At that time, chances were two to one.” He reached out to acquaintances, friends and colleagues for advice as to where he might take his daughter for the best treatment possible – what he was thinking about was the renowned Swedish Karolinska Institute or one of the top US clinics. His interlocutors, however, would regularly come up with another name: St. Anna Children's Hospital, Vienna. That's where the top experts were working, he was told, among them a man who before, while in Germany, had implemented an innovative concept for the treatment of children with cancer: Helmut Gadner, an Austrian who in 1980 had been invited to Vienna to assume the position of medical director of the hospital.

Senoner at first was amazed: “Although I am a medic myself, I had never heard of St. Anna.” Even so, eventually he heeded the advice to entrust his daughter to the care of the Viennese doctors.

The hospital, boasting a long history during which it underwent several renovations, turned out to be a huge construction site. Despite mortar buckets everywhere, however, its operation appeared to be in no way impaired. There were some minor shortcomings, though. At many a little patient's bedside parents were sitting, themselves monitoring infusion flow rates and seeing to it that the dosage written on the infusion bag matched the medication order. There were no infusion pumps.

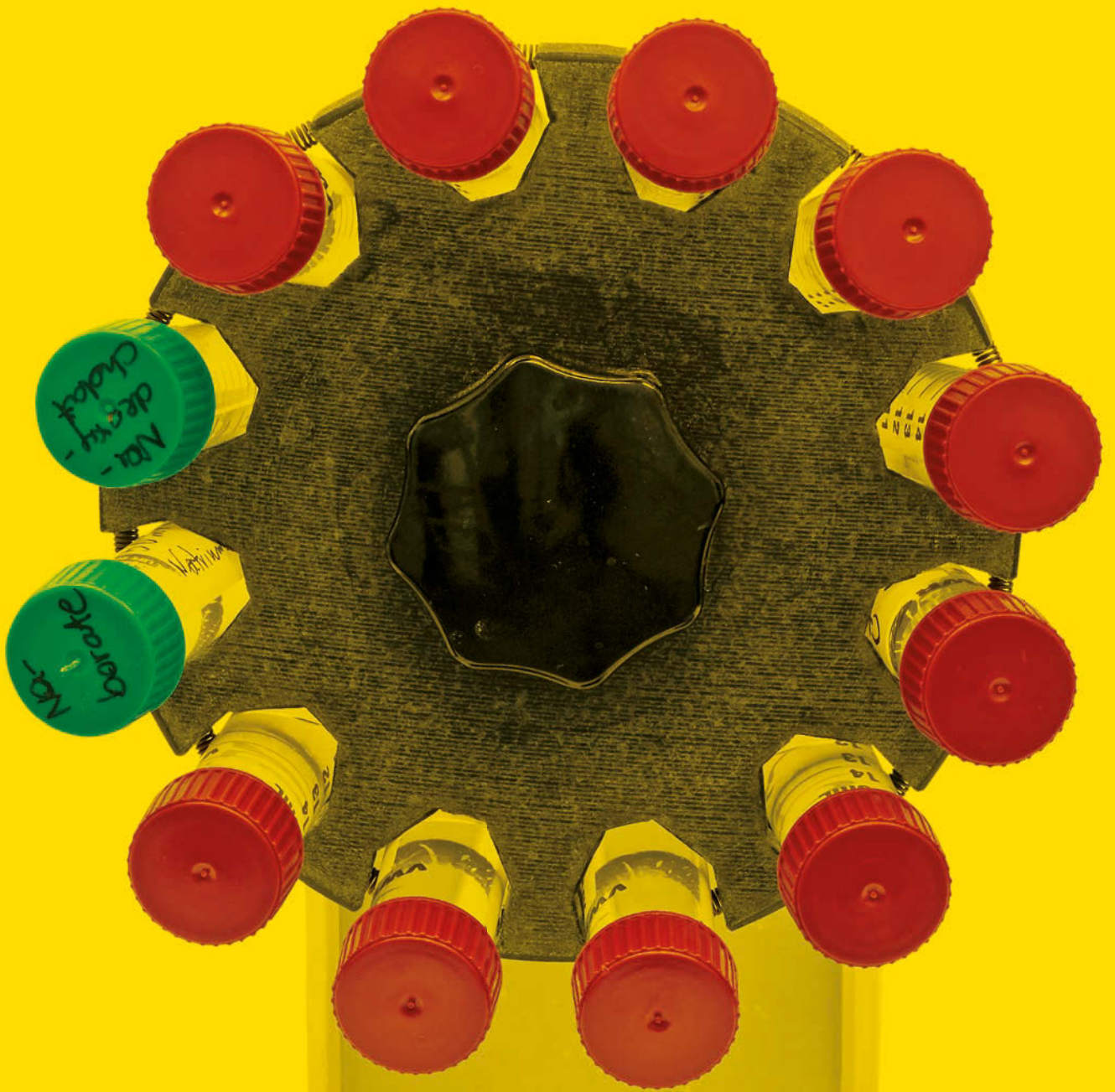
One day Senoner, having just arrived from Salzburg to see his daughter, asked Helmut Gadner if there was anything he could help with. Gadner did come up with a suggestion, however, it was not about a couple of new infusion stands nor any other kind of appliance. “We need a research institute,” he replied.

“This was not the answer I had expected,” Senoner confesses.

Probing further, he asked Gadner what sum of money this would approximately involve. Gadner put the requisite capital at about seven million shillings – an estimate clearly too optimistic as would turn out in the course of the realisation of the project, when the financing requirements continued to grow. By way of comparison, today the institute's annual budget alone totals about seven million euros.

While Anna was receiving treatment in the hospital, Senoner set to work, determined to support Gadner in realising his idea – which, in fact, had led him to relocate to Vienna and assume the function of medical director, as Gadner revealed – to combine clinical services with profound





Na-  
desiy  
Chakaf

Na-  
boraf

so verriet der Ärztliche Leiter, sei er sogar vor allem deshalb nach Wien gekommen, um genau so ein Projekt in die Tat um-zusetzen. Senoner verfügte über erstklassige Kontakte zu Freunden und Weggefährten aus Jugendtagen, die nun gute Positionen bekleideten. So gelang es ihm, einen Termin beim damaligen Wissenschaftsminister Heinz Fischer zu bekommen. Forschungsfinanzierung von seiner Seite sei leider nicht möglich, erklärte Fischer, weil es sich beim geplanten Institut nicht um eine universitäre Einrichtung handle. Der spätere Bundespräsident riet aber zur Gründung eines Vereins. Im Rahmen solch eines rechtlichen Konstrukts sei es vermutlich leichter, Spenden zu lukrieren.

Also ging Senoner Klinkenputzen, um Spender zu gewinnen. Er fuhr durchs ganze Land, spulte rund 120.000 Autokilometer herunter, wurde bei Unternehmern und begüterten Personen vorstellig. „Ich bin gelaufen, gelaufen, gelaufen“, sagt Senoner. „Es war sehr schwierig, die Sache in Gang zu bringen. Heute kann man sich gar nicht vorstellen, welche Hürden zu überwinden waren. Aber ich habe es mit dem Mut der Verzweiflung vorangetrieben.“ Schließlich kämpfte seine Tochter währenddessen gegen den Krebs, und natürlich hatte er die Hoffnung, dass die Initiative vielleicht auch ihr zugutekommen würde. Ähnlich ging es anderen Eltern, die Senoners Aufbauarbeit unterstützten. „Die Gründung des Forschungsinstituts war der unendlich große Wunsch dieser Eltern. Das Institut war der einzige Hoffnungsträger.“

Es erwies sich zunächst als außerordentlich zäh, potente Spender zu überzeugen. Das Blatt wendete sich erst, als Entscheidungsträger im österreichischen Rundfunk ORF von dem Vorhaben erfuhren und Senoner zu einem Gespräch einluden. Anschließend gab es TV-Berichterstattung. Eine erste Reportage über Krebs bei Kindern und den nötigen Forschungsbedarf von Burgl Czeitschner und Peter Rabl lief in der damaligen Sendung „Inlandsreport“ im Oktober 1985, zwei weitere Fernsehberichte folgten. Das war der Durchbruch. „Plötzlich wurde eine Lawine der Hilfsbereitschaft und Gutherzigkeit losgetreten“, beschreibt Senoner. Zunächst langten hauptsächlich Kleinspenden ein. Manche widmeten sogar ihre Erbschaft der Kinderkrebsforschung. Anschließend traten auch immer mehr Großspender auf den Plan. „Es ist aber der kleine Mann, der uns groß gemacht hat“, so Senoner. Rechtlich und organisatorisch wurde das Forschungsinstitut in den ersten Jahren von dem Rechtsanwalt Friedrich Willheim unterstützt.

Im Juni 1988 war es schließlich vollbracht. Nach ein-jähriger Bauzeit konnte die St. Anna Kinderkrebsforschung eröffnet werden. Anfangs gab es fünf Laboreinheiten, untergebracht im Dachgeschoß des historischen Spitalsgebäudes. Der erste Top-Wissenschaftler, der für das brandneue Institut gewonnen werden konnte, saß mit seinen Analyse-apparaturen vorerst in einer Besenkammer: Peter Ambros, Leiter der Gruppe für Tumorbilologie, der zuvor in Groß-

research. A man with excellent contacts at high levels – friends and fellows from his younger days now holding influential positions –, Senoner managed to secure an appointment with the then Minister of Science, Heinz Fischer. Fischer declared himself unable to release funds – after all, the planned institute was not a university facility; what the later President of Austria did do, however, was to recommend the creation of an association, arguing that such legal construct would make it easier to attract donations.

So Senoner set about fundraising. Racking up some 120,000 kilometres touring all over the country, he reached out to business enterprises and well-to-do individuals. “I went from pillar to post,” he recalls. “It was utterly difficult to get things moving. Today, you can’t even imagine what obstacles had to be overcome. But I would stick with it, driven by the courage born out of despair.” After all, his daughter was battling with cancer and of course he hoped that she, too, might benefit from his efforts – as did all the other parents who were supporting Senoner’s pioneering work. “That the idea of the research institute may materialise was those parents’ heartfelt desire. On that institute they built all their hope.”

While in the beginning the acquisition of potent donors was extremely tough, the tide turned when decision makers within the Austrian national broadcaster ORF learned about the initiative and invited Senoner to talks. These were soon followed by TV coverage, starting with a feature by Burgl Czeitschner and Peter Rabl about cancer in children and the need for pertinent research as part of the October 1985 issue of the Inlandsreport programme, and continued with another two TV reports.

And this was the breakthrough. “All of a sudden, an avalanche of cooperation and kindness had been set in motion,” Senoner recalls. At first, revenues came mainly in the form of petty donations, some of them even made by will. So, despite the fact that subsequently more and more large donors began to emerge, “it was the little man who made us big,” says Senoner. As for legal and organisational advice during the first years, the research institute was supported by counsel Friedrich Willheim.

In June 1988 the day had come. One year after construction had started, St. Anna Children’s Cancer Research Institute was opened, operating five laboratory units in the attic of the historical hospital building. The first top researcher that could be recruited for the brand-new facility, Peter Ambros, head of the Tumour Biology Group, who had previously done research in the UK, along with his analysis equipment was accommodated in what resembled a broom closet. “Those were incredibly exciting days,” Ambros recalls. “For every one of us this was a completely new experience.”

Similar statements can be heard from all researchers who have been aboard from the beginning, each recollecting the spirit of the era not without a sense of nostalgia. “We were all individualists; we had plenty of freedom and high

britannien geforscht hatte. „Es war eine unglaublich aufregende Zeit“, erinnert sich Ambros. „Und es war für uns alle etwas völlig Neues.“

Ähnliche Worte hört man von allen Forschern, die von der Stunde null an mit an Bord waren, und alle von ihnen denken mit durchaus nostalgischen Gefühlen an den Geist dieser Ära zurück. „Wir waren lauter Individualisten, wir haben große Freiheit gehabt, und jeder von uns wollte etwas weiterbringen“, sagt Oskar Haas, langjähriger Leiter der Gruppe für Klinische Genetik. Es war die Zeit, in der man Daten noch auf Floppy Disk speicherte; es war die Zeit, in der man Nächte vor simplen Mikroskopen verbrachte, Chromosomen betrachtete und dies auch als ästhetisches Erlebnis empfand; es war die Zeit, in der man mit Begeiste-

*aspirations,” says Oskar Haas, the long-serving head of the Clinical Genetics Groups. That was the time when data were still being saved on floppy discs, the time when nights were being spent bent over simple microscopes, watching chromosomes in what was also seen as an aesthetic experience; it was the time when one would immerse into work with a great deal of enthusiasm and commitment, but it was also a time of partying. In the words of Gerhard Fritsch, who for many years headed the Clinical Cell Biology Group, “we would never miss out on celebrating someone’s birthday. Such was the atmosphere, which made every one of us just feeling at ease and homely.”*

*Marvelling at the extent to which things have changed since then, many a veteran feels as if in another world.*

## Vom Desaster zum Erfolg

### Über die Anfänge der modernen Chemotherapie

Ansätze zur Behandlung von kindlicher Leukämie gehen zurück auf das Jahr 1947, als der amerikanische Kinderarzt Sidney Farber eine Idee hatte, wie der Krankheit beizukommen wäre. Bis dahin musste man tatenlos zusehen, wie Kinder ihr oft in kürzester Zeit erlagen. Im Wissen um die positive Wirkung von Folsäure bei PatientInnen, deren Blutbildung aufgrund von Mangelernährung gestört war, versuchte Farber zunächst, diese auch für die Therapie der Leukämie anzuwenden, was allerdings in einem Desaster endete: Der Krankheitsverlauf wurde nicht gestoppt, sondern vielmehr beschleunigt.

Weitere Überlegungen brachten Farber dazu, einen Gegenspieler von Folsäure, einen Folsäure-Antagonisten einzusetzen. Als Versuchsperson wählte er einen kleinen Buben, den die Ärzte bereits aufgegeben hatten. Was dann geschah, grenzte an ein Wunder: In wenigen Wochen war der Großteil der Leukämiezellen vernichtet. Das Kind verstarb zwar später trotzdem, doch erstmals hatte man überhaupt etwas in der Hand, um der Krankheit zu begegnen. Das war der Beginn der Chemotherapie. Über die Jahrzehnte vielfach weiterentwickelt, ist sie gerade bei Leukämie bis heute eine unverzichtbare Methode zur Zerstörung von Krebszellen.

## From disaster to success

### On the beginnings of modern chemotherapy

*The beginning of the treatment of leukaemia dates back to 1947, when the American paediatrician Sidney Farber came forward with an idea of how the disease might be cured. Until then, nothing could be done except standing by idly and watching children die within a very short time. Knowing that folic acid helped patients whose blood production was impaired by malnutrition, Farber attempted to apply this substance also for the treatment of leukaemia, which, however, was to end in disaster: Rather than being stopped, the course of the disease accelerated.*

*Farber then reasoned that the solution could be in the use of a folic acid antagonist. To try this method, he injected such a substance into a little boy whom the doctors had already given up. What happened next was nothing short of a miracle: Within a few weeks, the majority of the leukaemic cells were destroyed. Unfortunately, the child nonetheless died, however, for the first time a remedy to combat the disease was in sight. That was the beginning of chemotherapy. Having undergone tremendous improvement over the decades, chemotherapy has remained indispensable for the destruction of cancer cells, particularly in the case of leukaemia.*

rung und hohem Einsatz arbeitete, aber auch Party machte. „Wenn jemand Geburtstag hatte, haben wir Feste gefeiert, es war ungezwungen und gemütlich“, berichtet Gerhard Fritsch, der viele Jahre der Gruppe für Klinische Zellbiologie vorstand.

Seit damals hat sich dermaßen viel verändert, dass sich manch ein Veteran wie in einer anderen Welt fühlt: Alles ist größer, strukturierter, spezialisierter, normierter, technologisch ausgereifter. „Am Anfang stand die vage Idee, dass sich durch Forschung etwas zum Besseren verändern könnte. Heute sehen wir das sehr konkret, wir wissen viel genauer, was wir gezielt beforschen können“, vergleicht Wolfgang Holter, seit 2012 Ärztlicher Leiter des Kinderspitals sowie Leiter des Forschungsinstituts und des Labors zur Entwicklung zellulärer Therapien. „Was für Implikationen unsere Arbeit haben würde, war einst unvorstellbar.“

In der Pionierphase stürzten sich die Wissenschaftler einfach voller Elan in die Arbeit. Sie engagierten sich, wie Senoner betont, für ein Projekt, von dem zu Beginn niemand wissen konnte, ob es langfristig von Erfolg gekrönt sein würde. „Leute wie Ambros haben aber von Anfang an an die Idee geglaubt“, ist Senoner überzeugt. Es mag beschwerlich gewesen sein, ergänzt Ambros, doch aus heutiger Sicht sei es goldrichtig gewesen, auf eine Vielzahl kleiner Spender zu setzen. „Wir sind daher ausschließlich den Patienten verpflichtet, sonst niemandem“, sagt Ambros. „Dadurch hatten wir die Chance, wirklich etwas bewegen zu können.“

Tatsächlich nahm das junge Forschungsinstitut flott Fahrt auf. Schon nach einem Jahr war die Mitarbeiterzahl auf etwa 20 angewachsen, Anfang der 1990er-Jahre umfasste der Personalstand bereits gut 50 Experten. Neben Medizinern wurden auch Biologen und Genetiker angeheuert. Denn es war absehbar, dass die gerade aufkeimende Molekularbiologie den Zentralschlüssel zu gravierenden Leiden der Menschheit wie Krebs bergen würde. So gab es bald sieben Gruppen, die sich unter anderem mit Leukämie- und Tumorgenetik, dem Tumorstoffwechsel, mit Immunologie und Stammzellforschung befassten. Auch der Gerätepark wuchs laufend, und all die Apparaturen halfen den Wissenschaftlern, das Krebsgeschehen besser zu verstehen und die Diagnostik schneller und präziser zu gestalten. Mit einem Wort: Man machte Fortschritte, die Forschung ging voran.

Für Erwin Senoners Tochter Anna jedoch kamen alle Erfolge zu spät: Sie verlor den Kampf gegen die Leukämie. „Es ging sich leider nicht aus“, sagt Senoner, der bis heute Vorstandsmitglied der St. Anna Kinderkrebsforschung ist. „Anna war anfangs als Patientin mit geringem Risiko eingestuft, was sich dann als falsch herausgestellt hat. Das zeigt aber auch, wie sehr sich die Forschung seit damals weiterentwickelt hat.“

Und es besteht Einigkeit, dass dieser Fortschritt und die heutige Reputation des Instituts im Wesentlichen einem Mann zu verdanken ist.

*Today everything is bigger, everything has gained in terms of structuration, specialisation, standardisation as well as of technological advancement. “While back then the idea of research changing things for the better was rather vague, today our understanding is much more concrete. Today we have a clear view of what exactly we can investigate in a targeted manner,” explains Wolfgang Holter, since 2012 medical director of the children’s hospital and head of the research institute and the Laboratory for the Development of Cellular Therapies. “By no means could anyone have foreseen the implications our undertakings would have.”*

*The pioneering days saw the researchers just plunge themselves into work vigorously, in full dedication to a project the outcome of which was anything but predictable, says Erwin Senoner, adding, “yet there were people, Ambros for one, who did believe in the idea from the very beginning”. According to Ambros, the decision to embrace grassroot fundraising, however cumbersome, was right. “Because this way it could be ensured that we are beholden to no one but our patients,” he says. “This has given us the chance to really make a difference.”*

*The development of the young research institute quickly gained momentum. After only one year, the number of employees had risen to about twenty, and by the beginning of the 1990s the staff comprised well over fifty individuals. In addition to medical professionals, experts in biology and genetics were hired as well, as it was already foreseeable that the burgeoning field of molecular biology would hold the key to the treatment of some of the gravest ailments of mankind such as cancer. And so, before too long there were seven groups, specialising, among other things, in the genetics of leukaemia and tumours, tumour metabolism, immunology and stem cell research. Along with the human resources the equipment pool increased as well, aiding the researchers in both continuously improving their understanding of the mechanisms of cancer and optimising diagnostics in terms of quick availability and preciseness. Put into a nutshell, clearly there was progress, clearly research was advancing.*

*Erwin Senoner’s daughter did not live to see all those efforts bearing fruit. Anna eventually lost her battle against leukaemia. “Alas, we didn’t make it in time,” says Senoner, who is still member of the board of St. Anna Children’s Cancer Research. “Anna had initially been classified as a low-risk patient, which was to prove wrong. However, if anything, this testifies to the enormous progress research has made since then.”*

*There is no one who would not agree that this progress and the reputation the institute enjoys today are essentially the merits of one man.*

## Leukämie im Kindesalter

Die Leukämie ist eine bösartige Erkrankung des blutbildenden Systems, deren Ursprung im Knochenmark liegt. Der Name, der übersetzt „weißes Blut“ bedeutet, nimmt Bezug auf die rasche und unkontrollierte Vermehrung der weißen Blutkörperchen oder Leukozyten, die die Produktion der normalen Blutzellen zunehmend beeinträchtigt.

Die häufigste Leukämie bei Kindern und Jugendlichen ist die akute lymphatische Leukämie (ALL), gefolgt von der akuten myeloischen (AML) und der chronisch myeloischen Leukämie (CML). Die Ursachen für die Entstehung von Leukämien sind bislang weitgehend unklar; fest steht, dass die Krankheit mit einer Veränderung im Erbgut der Zelle einhergeht, zudem legen wissenschaftliche Erkenntnisse nahe, dass bei der Krankheitsentstehung neben genetischen und immunologischen Faktoren auch Umwelteinflüsse eine Rolle spielen.

Die ALL kann aufgrund ihres raschen Verlaufs ohne Behandlung innerhalb weniger Monate zum Tod führen. Ziel einer risikoadaptierten Therapie mit Chemotherapie und/oder Strahlentherapie bzw. Stammzelltransplantation ist die möglichst vollständige Vernichtung der Leukämiezellen. Dank einer anhand der Forschungsergebnisse ständig optimierten und auf die kleinen Patienten zugeschnittenen Behandlung bestehen bei der ALL inzwischen die besten Heilungschancen – 90 Prozent der betroffenen Kinder werden wieder gesund.

## Childhood leukaemia

*Leukaemia is a malignant disease of the haematopoietic system originating in the bone marrow. The name, which translates as “white blood”, refers to the rapid and uncontrollable multiplication of the white blood cells or leukocytes, which increasingly impairs the production of normal blood cells.*

*The most common form of leukaemia in children and adolescents is acute lymphoblastic leukaemia (ALL), followed by acute myeloid leukaemia (AML) and chronic myeloid leukaemia (CML). The causes for the development of leukaemia are still largely unknown. The disease is associated with a change in the genetic make-up of the cell and scientific findings suggest that in addition to genetic and immunological factors, environmental factors can play a role in the development of the disease.*

*If untreated, ALL, due to its rapid progression, can lead to death within a few months. Risk-adapted treatment with chemotherapy and/or radiation therapy or stem cell transplantation aims to destroy the leukaemic cells as completely as possible. Thanks to constantly optimised and patient-tailored treatment on the basis of research results, ALL patients now have the best chance of healing – 90 percent of affected children can be cured.*

## Ein Mann revolutioniert die Krebstherapie mit evolutionärer Geduld

Helmut Gadner stand in einem Krankenhauszimmer seiner Heimatstadt Bozen und betrachtete die kleinen Krebspatienten. Die Kinder hingen an Infusionsschläuchen, weit und breit waren weder Eltern noch Krankenschwestern zu sehen. Es war ein jammervoller Anblick. „Dieses Bild bin ich nicht mehr losgeworden“, sagt Gadner über die Szene, die sich vor Jahrzehnten zutrug. „Ich habe mir gedacht, da muss man etwas unternehmen.“

Tatsächlich unternahm er in den folgenden Jahrzehnten dermaßen viel, dass sein Name heute gleichsam ein Synonym für die moderne Kinderkrebstherapie ist. Kollegen und Wegbegleiter bezeichnen ihn schlicht als Legende; als den Mann, der die Grundlagen zeitgemäßer Behandlung von Leukämien und anderen Krebsformen bei Kindern schuf; als den Mann, ohne den es weder das St. Anna Kinderspital noch das Forschungsinstitut in seiner gegenwärtigen Form gäbe. Gleich, wen man nach Gadner fragt, stets erntet man Superlative und geradezu hymnische Zuschreibungen.

„Gadner war die Keimzelle“, schwärmt Senoner. Mit „evolutionärer Geduld“ habe er die Entwicklung und den Ausbau vorangetrieben: langsam, planvoll, bedacht und beharrlich; ohne hitzigen Leichtsinns, dafür mit einem langfristigen Ziel vor Augen, das er in sorgsam definierten Etappen verfolgte. Und er habe ein geradezu gespenstisch sicheres Gespür für das richtige Personal besessen. Als ihm Peter Ambros das erste Mal über den Weg lief, sagte Gadner: „Sie sind der Mann, auf den ich gewartet habe.“ Wie kam er darauf? Gadner kann es nicht erklären, es war vermutlich Intuition.

Am wissenschaftlichen Erbe von Gadner, der nach gut drei Jahrzehnten an der Spitze des Spitals 2012 in Pension ging, besteht in Fachkreisen ohnehin nicht der geringste Zweifel. „Vieles von dem, was heute gängiger Standard ist, ist seiner Person anzurechnen“, sagt Georg Mann, einer der stellvertretenden ärztlichen Leiter des St. Anna Kinderspitals, und lobt dessen natürliche Autorität und dessen Charisma: „Man hat ihm immer gerne vorauseilend alles recht gemacht.“

Gadner studierte in Wien, Freiburg und Modena, bevor es ihn an die Freie Universität Berlin verschlug. Dort forschte der Mediziner Hansjörg Riehm an neuen Therapieansätzen gegen Krebs. Gadner stieg in Riehms Gruppe ein, und in weiterer Folge beteiligten sich auch die Universitäten Frankfurt und Münster an der Suche nach innovativen Therapiekonzepten. Den Wissenschaftlern gelang im Lauf der 1970er-Jahre ein wahrer Paradigmenwechsel, weshalb ihr Ansatz heute den Namen der drei federführenden Städte trägt: Berlin, Frankfurt, Münster, kurz BFM. Die Forscher führten eine Reihe großer Studien durch und entwickelten auf deren Basis ein neues Behandlungskonzept. Es bestand im Wesentlichen darin, dass bereits existierende Chemotherapeutika in klug gewählter Mischung eingesetzt wurden, und zwar in relativ hoher Dosis. Das brachte den BFM-Protagonisten durchaus

## With evolutionary patience towards a revolution in cancer therapy

*Helmut Gadner looked at the cancer patients lying in a hospital room in his native Bolzano: small children connected to infusion tubes to whom neither a nurse nor a parent would attend. It was a pitiful sight indeed. “This picture kept haunting me,” says Gadner as he, decades later, describes the scene. “I told myself something had to be done.”*

*In fact, that “something” the ensuing decades would see him doing was enough to make his name the very synonym of contemporary childhood cancer therapy. Colleagues and fellows speak of him as a legend; as the man who laid the groundwork for the state-of-the-art treatment of leukaemias and other forms of childhood cancer; as the man without whom neither St. Anna Children's Hospital nor the research institute would exist in their present form. There seems to be no one who, asked about Gadner, would not resort to effusive, almost rhapsodic praise. According to Senoner, “Gadner was the pivotal figure,” who kept pushing forward the development and expansion of the institute with “evolutionary patience” – gradually, systematically, deliberately and tenaciously. Avoiding any rash or hazardous action, he pursued his long-term goal stage by stage, each carefully defined. On top of that, he had an almost eerie knack for picking the right personnel. When Peter Ambros first crossed his way, Gadner told him, “You are the man I've been waiting for.” What made him so sure? Gadner can't really offer an explanation – intuition, probably.*

*As for the scientific legacy of Gadner, who retired in 2012 after having headed the hospital for a good three decades, the scientific community's judgment is unanimous: “A large part of what by now has become standard in the field can be directly linked to his personal initiative,” says Georg Mann, one of the medical directors of St. Anna Children's Hospital, also pointing out Gadner's natural authority and charisma: “People just took pleasure in accommodating him in advance.”*

*Gadner had studied in Vienna, Freiburg and Modena before he relocated to the Free University of Berlin to become part of the research group of Hansjörg Riehm, a physician who was exploring novel approaches in cancer therapy. Soon complemented by researchers from the universities of Frankfurt and Munster, during the 1970s the team developed what was to bring about a paradigm shift in cancer therapy – the BFM treatment concept, its name being composed of the first letters of its masterminds' homes, Berlin, Frankfurt, Munster. The new concept, derived from a series of large studies, was essentially based on mixing existing chemotherapeutics in a carefully crafted manner and in relatively high doses. The latter earned the protagonists much criticism. “The first reactions were rather damning to what was seen as inflicting extra suffering to children already facing death,” says Georg Mann.*



Kritik ein. „Es gab anfangs ziemliche Anfeindungen. Der Vorwurf lautete, dass die aus damaliger Sicht ohnehin todkranken Kinder nun auch noch vergiftet würden“, berichtet Georg Mann.

Doch Riehm und Gadner hatten ein durchschlagendes Argument auf ihrer Seite: Es funktionierte. In kurzer Zeit stieg die Überlebensrate der Patienten von lediglich 20 Prozent auf über 50 Prozent. Es war kaum zu glauben. Plötzlich stellten die Erfolge sogar jene des berühmten Karolinska-Instituts in Schweden in den Schatten.

*However, Riehm and Gadner had a point that could hardly be dismissed: It worked, leading to an increase in survival rates from 20 to over 50 percent within short time. Almost unbelievably, from then on treatment successes would reach levels that not even the famous Karolinska Institute was able to boast.*

*The BFM method travelled with him when Helmut Gadner in 1980 moved to Vienna to assume the post of head of St. Anna Children's Hospital. And it was for that very reason that Erwin Senoner, when he was enquiring*

## Die Meilensteine

### Wichtige Etappen in der Geschichte der St. Anna Kinderkrebsforschung

**1988:** Im Juni wird das Forschungsinstitut für krebskranke Kinder nach einjähriger Bauzeit eröffnet, seine internationale Bezeichnung lautet Children's Cancer Research Institute (CCRI). Auf einer Fläche von 650 Quadratmetern im Dachgeschoß des St. Anna Kinderspitals gehen fünf Laboreinheiten in Betrieb.

**1990:** Mittlerweile forschen sieben Arbeitsgruppen zu unterschiedlichen Fragestellungen, wobei einen wesentlichen Schwerpunkt die Genetik bildet. Dafür stehen nunmehr auch Geräte für die computergestützte Chromosomenanalyse und die Polymerase Chain Reaction (PCR) zur Vervielfältigung der DNA zur Verfügung.

**1991:** Die Zahl der Mitarbeiter ist auf über 50 angewachsen; die Forschungsmethoden werden um die durchflusszytometrische Analytik ergänzt.

**1993:** Allmählich wird die Forschungstätigkeit ausgeweitet, so auf andere Krebsformen, auf Virologie und Immunologie. Der Mitarbeiterstand steigt kontinuierlich, im Lauf des Jahrzehnts auf etwa 70.

**2004/2005:** Das Forschungsinstitut geht Kooperationen mit dem Institut für Molekulare Pathologie (IMP) der Medizinischen Universität Wien ein und beteiligt sich an der Entwicklung eines Krebsforschungsinstituts der Ludwig Boltzmann Gesellschaft. Zweck ist unter anderem die Nutzung von Tiermodellen zur Erforschung neuer Therapieansätze.

**2006:** Mit der Gründung der Labdia Labordiagnostik GmbH wird die pädiatrische Diagnostik am CCRI in einer gemeinsamen Struktur vereint.

**2006–2008:** Um der steigenden Datenmenge und den immer strengeren, international vereinheitlichten Anforderungen an wissenschaftliche Studien Rechnung zu tragen, wird die Abteilung S2IRP – Studies and Statistics for Integrated Research and

## Milestones

### Important steps in the history of the Children's Cancer Research Institute

**1988:** After one year of construction, in June the research institute is inaugurated, its international name is Children's Cancer Research Institute (CCRI). Five laboratory units accommodated on an area of 650 square meters in the attic of St. Anna Children's Hospital are put into operation.

**1990:** The number of working groups has risen to seven, with the major focus being on genetics. The equipment is expanded to include tools for computer-aided chromosome analysis and polymerase chain reaction (PCR) for DNA amplification.

**1991:** The research staff already comprises more than fifty employees; as yet another research technique, flow cytometric analysis is introduced.

**1993:** Research activities are gradually extended to other forms of cancer as well as to the fields of virology and immunology. In the course of the decade, the number of employees continuously increases to about seventy.

**2004/2005:** The research institute enters cooperations with the Institute for Molecular Pathology (IMP) of the Medical University of Vienna and participates in the development of a cancer research institute of the Ludwig Boltzmann Society. Its purpose, among other things, is to perform research in animal models for new therapeutic approaches.

**2006:** Labordiagnostik für krebskranke Kinder GmbH (Labdia) is founded as a subsidiary of the CCRI to integrate paediatric diagnostics in a single structure.

**2006–2008:** Against the background that the continuous growth of the amount of data requires clinical studies to comply with increasingly strict, internationally standardised rules, S2IRP, the Department of Studies and Statistics for Integrated



Genau diese BFM-Methode brachte Helmut Gadner 1980 nach Wien mit, als er die Leitung des St. Anna Kinderhospitals übernahm. Und genau deshalb riet man Erwin Senoner, als er nach der bestmöglichen Behandlung für seine Tochter suchte, die Wiener Ärzte zu konsultieren. Gadners Vision war, das Konzept weiterzuentwickeln, und das neue Forschungsinstitut bot das ideale Umfeld dafür. „Ich habe begonnen, all das umzusetzen, was ich im Kopf gespeichert hatte“, sagt Gadner. „Ich wollte, dass wir jedes Jahr ein wenig besser werden.“

*about the best possible treatment for his daughter, was referred to this hospital. Gadner envisaged further development of the concept, for which the new research facility appeared to provide the ideal setting. “I started to put into practice everything that had been on my mind,” says Gadner. “And it was my wish that every year we should grow a bit better.”*

Projects – ins Leben gerufen, die bald zur größten Gruppe des Forschungsinstituts avanciert.

**2009:** Angrenzend ans Kinderspital und durch eine Brücke mit ihm verbunden wird ein neues Forschungsinstitut errichtet, wodurch sich die Arbeitsflächen des CCRI einschließlich zusätzlich angemieteter Räumlichkeiten auf inzwischen ca. 3.400m<sup>2</sup> erweitern. In diesem Jahr nimmt auch die zentrale Serviceeinheit (Core Unit) Bioinformatik zur Verarbeitung der zunehmenden Mengen an genomischen Rohdaten ihre Arbeit auf.

**2010:** Das CCRI überschreitet die 100-Mitarbeiter-Marke.

**2012:** Helmut Gadner, Gründer, Impulsgeber und Mastermind der St. Anna Kinderkrebsforschung, zieht sich in den Ruhestand zurück. Seine Agenden einschließlich der ärztlichen Leitung des St. Anna Kinderspitals übernimmt Wolfgang Holter.

**2014:** Mit der Abteilung Innovative Krebsmodelle entsteht eine weitere Arbeitsgruppe, die an Zebrafischlarven zentrale Mechanismen der Krebsentstehung untersucht und neue Medikamente testet.

**2017:** Als eine der letzten von mittlerweile 13 Forschungsabteilungen wird die Arbeitsgruppe Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH)-Biologie geschaffen. Die Institutionen St. Anna Kinderspital und die St. Anna Kinderkrebsforschung erhalten die Designation Nationales Expertisezentrum für seltene Erkrankungen. Gemeinsam mit dem St. Anna Kinderspital wird die St. Anna Kinderkrebsforschung zusätzlich Koordinator eines Europäischen Referenznetzwerks gegen Kinderkrebs (ERN-PaedCan). Die St. Anna Kinderkrebsforschung wird gemeinsam mit der Medizinischen Universität Wien und dem Forschungszentrum für Molekulare Medizin (CeMM) Partner in dem neuen Ludwig Boltzmann Institut für seltene und undiagnostizierte Erkrankungen.

*Research and Projects, is founded, which is soon to become the largest of groups active at the research institute.*

**2009:** *A completely new research institute is built directly adjacent to St. Anna Children’s Hospital and connected to it by a bridge, expanding the working space of the CCRI to approx. 3,400 m<sup>2</sup>, including additional rented premises. Furthermore, the Bioinformatics Core Unit is established to process the increasing amounts of genomic raw data.*

**2010:** *The CCRI staff number exceeds 100 for the first time.*

**2012:** *Helmut Gadner, founder, initiator and mastermind of the CCRI, retires. His functions, including the medical management of St. Anna Children’s Hospital, are taken over by Wolfgang Holter.*

**2014:** *Adding to the existing working groups, the Department of Innovative Cancer Models is established. Its research focus is on the investigation of central mechanisms of cancer development and the testing of new drugs using zebrafish larvae.*

**2017:** *Foundation of the Langerhans Cell Histiocytosis (LCH) Biology group, one of the last of meanwhile 13 research departments. St. Anna Children’s Hospital and the CCRI receive the designation as National Expertise Centre for Rare Diseases and assume the function of coordinator of a European Reference Network against Paediatric Cancer (ERN-PaedCan).*

*Together with the Medical University of Vienna and the Research Centre for Molecular Medicine (CeMM), the CCRI becomes a partner in the new Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases*

## Leukämie: Wenn eine einzige Zelle eine Kettenreaktion auslöst

Renate Panzer-Grümayer hat die Pioniertage noch in lebhafter Erinnerung. Die Expertin für pädiatrische Hämatologie arbeitete ab 1983 als Ärztin am Kinderspital und trat nach einem Aufenthalt in den Vereinigten Staaten ins Forschungsinstitut ein. 1991 begründete sie die Forschungsgruppe für Leukämiebiologie, und es war buchstäblich die Bestellung von Neuland. „Damals gab es einen einzigen Computer für sämtliche Mitarbeiter, und der ist ständig abgestürzt. Auf diesem Gerät haben wir alle unsere wissenschaftlichen Artikel verfasst“, berichtet Panzer-Grümayer. Auch ihr Fachgebiet steckte in den Kinderschuhen: Das menschliche Genom war längst nicht entschlüsselt und die Molekularbiologie ein junger Forschungszweig voller ungelöster Rätsel, welche die Wissenschaftler knacken wollten. Es herrschte Aufbruchstimmung, voller Tatendrang machten sich Panzer-Grümayer und ihre Kollegen ans Werk: „Wir sind in unserer Freizeit im Labor gesessen, haben uns die Nächte um die Ohren geschlagen und Zellstudien betrieben.“

Das Ziel von Panzer-Grümayer und ihrer Gruppe war von Beginn an, jene Schalter im Organismus aufzuspüren, die Leukämien auslösen; jene biologischen Ursachen, welche die Weichen dafür stellen, dass sich normale, unauffällige Körperzellen in bösartige Krebszellen verwandeln. Welche Gene, welche Veränderungen in der Erbsubstanz DNA, so lautete die Kernfrage, sind daran beteiligt, dass eine Leukämie entsteht, besonders die akute lymphoblastische Leukämie? Die Forscher wollten bis zur Quelle vordringen: „Was ist die allererste, die eine kritische Veränderung, die eine Zelle zur unsterblichen Krebszelle macht? Wir haben damals praktisch nichts darüber gewusst.“

Leukämien als solche waren freilich lange bekannt. Den Begriff prägte der berühmte deutsche Mediziner Rudolf Virchow im Jahr 1847. Er bezeichnete mit dem Terminus ein hervorstechendes Merkmal des Leidens: weißes Blut. Leukämie ist eine Erkrankung der weißen Blutkörperchen, der Leukozyten. Im gesunden Körper herrscht ein fein justiertes Gleichgewicht: Im Knochenmark und im Lymphsystem reifen aus Stammzellen allmählich Blutzellen. Der Trick der Natur ist, dass stets nur so viele Blutzellen produziert werden, wie der Körper benötigt. Im Normalfall wird ein Überschuss vermieden. Bei einer Leukämie ist der Prozess gestört, die perfekt eingestellte Fertigungsstraße läuft aus dem Ruder. Dann entstehen unkontrolliert unreife, funktionsuntüchtige weiße Blutkörperchen, das Knochenmark wird von diesen sogenannten Blasten förmlich geflutet – und zwar so massiv, dass andere Zelltypen verdrängt werden. Ein Mangel an roten Blutkörperchen bewirkt Blässe und Abgeschlagenheit; ein Engpass an Blutplättchen erhöht die Blutungsneigung; und die im Übermaß ausgeschwemmten Leukozytenvorstufen können das Blut tatsächlich weißlich erscheinen lassen.

## Leukaemia: a chain reaction triggered by a single cell

Renate Panzer-Grümayer, too, has a vivid memory of the pioneering days. An expert in paediatric haematology, she started working at the children's hospital as a physician in 1983 before in 1991, upon returning from a research stay in the USA, she set up the Leukaemia Biology Research Group, literally entering uncharted territory. “There was a single computer the entire staff was supposed to share, which would crash every other time. On that computer we wrote all our scientific articles,” Panzer-Grümayer reminisces. Like computer technology, her field of research, too, was very much in its infancy. With the human genome far from being mapped, the young discipline of molecular biology was a discipline rife with mysteries that scientists were determined to unveil. Against this background, Panzer-Grümayer and her colleagues were eager to plunge themselves into work: “The place to spend our leisure time basically was the laboratory, where we would sit all night long, conducting cell studies.”

The goal Panzer-Grümayer and her team have been pursuing from the outset is to identify those switches in an organism that trigger leukaemia, i.e., the biological causes underlying the transformation of normal, unremarkable body cells into malignant cancer cells. Guided by the core question, exactly what genes, what genetic changes contribute to leukaemia, in particular acute lymphoblastic leukaemia, the researchers sought to go to the very source: “What is the seminal, the one critical change that turns a given cell into an immortal cancer cell? Our understanding of things at that time was close to zero.”

Leukaemias in general, to be sure, had long been known. The term was coined in 1847 by the famous German medic Rudolf Virchow who chose it to denote a conspicuous feature of this condition: white blood. Leukaemia is a disease of the white blood cells, the leukocytes. Whereas in a healthy body the gradual maturation of blood cells from stem cells in the bone marrow and the lymphatic system takes place in a finely adjusted balance, with the amount of blood cells always corresponding to the body's requirements, in patients with leukaemia this perfectly balanced process is impaired, resulting in an excessive buildup of immature, dysfunctional white blood cells – the so-called blasts –, which spill over into the bone marrow, displacing other cell types. Lack of red blood causes pallor and chronic fatigue; a shortage of platelets increases the bleeding tendency, and the excessive washout of leukocyte precursors may indeed make the blood appear whitish.

Although fortunately a rare disease, leukaemia is the most common form of cancer in children. As for its classification, a distinction is drawn between acute and chronic forms, each comprising a number of subcategories, notably lymphoblastic and myeloid types. Children are

A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9
B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9
C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9
E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9
F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9
I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	I8	I9

Color Page

Weight

STANDARD

Leukämie ist zum Glück eine seltene Krankheit, unter Kindern stellt sie dennoch die häufigste Krebsform dar. Ärzte unterscheiden zwischen verschiedenen Varianten, zunächst zwischen akuten und chronischen Verläufen. Innerhalb dieser Subgruppen gibt es weitere Unterkategorien, nämlich lymphoblastische sowie myeloische Typen. Kinder sind zumeist von akuten Leukämien betroffen. In Österreich ereilt dieses Schicksal 80 bis 100 junge Menschen pro Jahr. Von diesen wiederum erkranken rund 80 Prozent – so wie Erwin Senoners Tochter Anna – an akuter lymphoblastischer Leukämie. Und besonders auf deren besseres Verständnis konzentriert sich Renate Panzer-Grümayer mit ihrem Team.

In gut zweieinhalb Jahrzehnten gewannen die Experten eine Reihe bedeutender Erkenntnisse, die sowohl das Grundlagenwissen über die Ursachen von Leukämien beträchtlich erweiterten als auch neue Ziele für Behandlungen aufzeigten. So verfügt man heute über ein präziseres Verständnis davon, wie es überhaupt zu ALL kommt. Offensichtlich werden die Weichen bereits in der Schwangerschaft gestellt. Jene kritischen genetischen Veränderungen, die dem Krebs den Weg ebnen, finden demnach nicht erst im Kindesalter, sondern schon im Mutterleib statt – in einer äußerst heiklen Phase, in der sich die Zellen des heranwachsenden Kindes rasch teilen und besonders fehleranfällig sind. Es bildet sich in dieser Zeit ein „präleukämischer Zellklon“, wie Fachleute sagen, eine unvollständige Krebszelle, und zwar lange bevor die Krankheit tatsächlich auftritt oder diagnostisch nachweisbar wäre. Dabei scheint es zu genügen, dass eine einzige Zelle aus dem Tritt gerät. Diese setzt dann die gesamte fatale Kaskade der Krebsentwicklung in Gang. „Eine einzelne Zelle bereitet den Boden für ALL“, erklärt Panzer-Grümayer. „Wenn diese Zelle nicht abstirbt, kann eine Kettenreaktion ausgelöst werden.“

Allerdings: Solch genetische Besonderheiten weisen deutlich mehr Kinder auf, als tatsächlich an Leukämie erkranken. Schon vor der Geburt wird also der Boden bereitet, es müssen aber später noch weitere Veränderungen im Erbgut hinzukommen, damit ALL ausbrechen kann. „Das Geschehen ist multifaktoriell. Es muss eine Ansammlung zusätzlicher Veränderungen geben, die zu Leukämie führen“, sagt Panzer-Grümayer. Am Beginn möge eine singuläre Mutation stehen, doch dann vollziehe der Krebs gleichsam eine komplexe Aufspaltung in viele Identitäten. Die Frühform der Leukämie ist Sekundärveränderungen unterworfen, und bei der Erstdiagnose einer manifesten Leukämie sind die Ärzte schließlich mit einer Krebsform konfrontiert, die aus vielen Zellpopulationen besteht.

Inzwischen kennt die Medizin eine ganze Reihe von Genen, die einer Leukämie zum Durchbruch verhelfen. Über die Jahre nahm Panzer-Grümayers Gruppe verschiedene dieser Gene genauer unter die Lupe. Eine dieser Stellen im Erbgut trägt die Bezeichnung ETV6-RUNX1. Dabei handelt es sich um ein sogenanntes Fusionsgen, eine Verbindung zweier DNA-Sequenzen, die so in

mostly affected by acute leukaemias; in Austria the number of cases amounts to 80 to 100 per year, 80 percent of them – like Erwin Senoner's daughter Anna – being acute lymphoblastic leukaemia (ALL). It is, in particular, this form of the disease that Renate Panzer-Grümayer and her team have been trying to better understand.

The body of findings the researchers have obtained over the past two-and-a-half decades not only propelled the expansion of basic knowledge about the causes but also aided the framing of new targets for the treatment of leukaemia. As concerns, for example, the question of the origin of ALL, it is now understood that it obviously develops as early as at the time of pregnancy; that the cancerous changes, rather than during infancy, in fact take place in the womb – in an utmost critical phase in which the cells of the developing child undergo rapid division and are particularly prone to aberration. This is the phase – that long precedes the actual occurrence or even diagnosability of the disease – when there may form what experts call a preleukaemic cell clone, i.e., an uncomplete cancer cell, with a single cell being sufficient to set off the entire fatal cascade of cancer development. “The way to ALL is paved by a single cell,” says Panzer-Grümayer. “Unless this cell dies, it may trigger a chain reaction.”

To be sure, the number of children with such genetic peculiarities by far exceeds the number of those that actually develop leukaemia. So, while the preconditions are set prior to birth, ALL may not break out unless additional changes to the DNA occur. “This is a multi factorial process. It takes a number of extra events that will eventually lead to leukaemia,” explains Panzer-Grümayer. Induced by a single mutation, cancer subsequently undergoes a complex process in which it splits up into many identities. Hence, with the early form of leukaemia being subject to secondary changes, a manifest leukaemia will be first diagnosed when cancer has taken the form of a multitude of cell populations.

Meanwhile, a whole series of leukaemia-causing genes could be identified, some of which Panzer-Grümayer's team have selected over the years for closer examination. During that time, they obtained important findings in relation to a sequence called ETV6-RUNX1, a fusion gene, i.e., an association of two DNA sequences which normal cells lack, and which affects about a quarter of juvenile ALL. Today it is known that the fusion of ETV6 und RUNX1 constitutes the first step towards the development of leukaemia. Expanding their examination to the role this fusion gene plays in the further course of the disease, the Vienna-based researchers discovered that, apart from serving as the activator of leukaemias, ETV6-RUNX1 is also vital for the persistence of cancer cells, thus keeping the disease alive in the first place. In fact, says Panzer-Grümayer, up to a certain extent leukaemias are virtually “addicted” to this fusion gene.

normalen Zellen nicht vorkommt. Diese Vermählung betrifft etwa ein Viertel aller kindlichen akuten lymphoblastischen Leukämien. Heute weiß man, dass die Fusion von ETV6 und RUNX1 eine Initialzündung und ein erster kritischer Schritt zur Leukämieentstehung ist. Die Wiener Forscher studierten jedoch auch die Rolle des Fusionsgens im weiteren Krankheitsverlauf. Sie fanden heraus, dass ETV6-RUNX1 nicht nur Leukämien auslöst, sondern auch für das Weiterbestehen der Krebszellen notwendig ist und daher die Krankheit am Leben erhält. Leukämien seien bis zu einem gewissen Grad geradezu „abhängig“ von dem Fusionsgen, so Panzer Grümayer.

Im Umkehrschluss bedeutet dies: Gelingt es, dieses Krebsgen lahmzulegen, hätte man einen weiteren Schlüssel zur Bekämpfung von Leukämien in der Hand. Zwar handelt es sich vorerst um Grundlagenforschung, doch diese ist unabdingbare Voraussetzung, um darauf aufbauend konkrete Therapien in Angriff nehmen zu können. Die Hoffnung ist nun, auf Basis dieser Erkenntnisse Krebszellen eines Tages sehr gezielt ausschalten zu können.

Momentan kommt vor allem die gängige Standardbehandlung zum Einsatz: die Chemotherapie, deren Anwendung im St. Anna Kinderspital erheblich optimiert wurde – durch Helmut Gadners Behandlungsansatz sowie dessen Weiterentwicklung durch immer neue Daten aus dem Forschungsinstitut. Wohl nicht zuletzt deshalb hält Österreich den Spitzenplatz bei der Therapie von ALL: In keinem europäischen Land ist die Erfolgsquote höher, wie eine große Studie zeigte, die 2017 im renommierten Fachjournal „The Lancet“ erschien. Die Autoren hatten Daten von fast 60.000 an Krebs erkrankten Kindern aus 29 europäischen Ländern analysiert. Während die Überlebensrate nach fünf Jahren im Europaschnitt bei 86 Prozent lag, betrug sie in Österreich 92,5 Prozent. Im Allgemeinen lässt sich sagen: Bis zu 90 Prozent aller ALL-Patienten werden in Österreich komplett geheilt, rund 80 Prozent der Kinder bereits im ersten Behandlungsdurchgang.

Nichtsdestotrotz bedeutet dies: In rund 20 Prozent aller Krankengeschichten sind Ärzte und Patienten mit einem Rückfall konfrontiert, mit dem tragischen Umstand, dass der Krebs nach einer gewissen Zeit wieder aufflammt. Für die Mediziner ist es essenziell zu wissen, ob sie mit solch einem Rezidiv rechnen müssen, um entsprechend reagieren zu können. Panzer-Grümayers Gruppe hat Wege gefunden, das Rückfallrisiko genauer einzuschätzen – was eine enorme Bereicherung ist, da eine rechtzeitige Prognose lebensentscheidend sein kann. Beispielsweise weiß man heute, dass das Fortbestehen jenes präleukämischen Zellklons, der ursprünglich für die ALL-Entstehung verantwortlich war, einen Risikofaktor für einen Rückfall darstellt. Auch genetische Veränderungen in jenen Fällen, in denen das Fusionsgen ETV6-RUNX1 im Spiel ist, können Rezidive begünstigen.

Weiters gelang es den Forschern, zwei Gene mit den Bezeichnungen KRAS und CREBBP zu identifizieren, deren

*Conversely, if researchers were to succeed in paralysing this cancer gene, they would have in their hands yet another key to the prevention of leukaemias. These efforts, while still part of basic research, are an indispensable prerequisite for specific therapies to build on, nurturing hopes that before too long there will be ways to eliminate cancer cells in a targeted manner.*

*For the time being, however, the standard treatment employed in most cases is chemotherapy, the application of which at St. Anna Children's Hospital has seen a number of significant improvements – initiated by Helmut Gadner and optimised on the basis of additional data obtained by the research institute. Not least thanks to these factors, Austria is among the top nations in terms of successful treatment of ALL, as has also been revealed by a study published in 2017 in the high-impact journal The Lancet. Based on the analysis of data collected from almost 60,000 children from 29 European countries, the authors found that while the average survival rate after five years is 86 percent, in Austria it reaches 92.5 percent. In general it can be noted that in Austria the share of ALL patients with complete recovery amounts to up to 90 percent, in 80 percent of cases during the first round of treatment.*

*In about 20 percent, then, both physicians and patients are faced with a relapse – the tragic fact that after a certain period of time cancer recurs. For medics to take appropriate measures they need to know whether or not this event is to be expected – timely prognosis may decide over life or death. With this in mind, Panzer-Grümayer and her team have explored ways of a more accurate assessment of the relapse risk. Among the risk factors accounting for a relapse they identified the persistence of the preleukaemic cell clone responsible for the origin of ALL as well as genetic changes in cases involving the fusion gene ETV6-RUNX1.*

*Further findings by the researchers include the identification of two genes named KRAS and CREBBP, whose mutated variants are also associated with the occurrence of relapses and therapy resistance. In the meantime, drugs have been made available that lead to a blockage of these genes. And the researchers succeeded in identifying links between chemotherapy and specific mutation patterns – a testament to the fact that treatment itself, however inevitable, may increase the risk of secondary diseases. “Many children suffer from the late effects of therapy. That’s a big concern given that treatment is being administered at a time when the body is still developing,” says Panzer-Grümayer. For all its stressfulness, for now there is simply no alternative to chemotherapy, adds Georg Mann. “But we are certainly seeking long-term replacement.” Most promising in this respect are approaches in the field of precision medicine aimed, among other things, at identifying molecular signalling pathways in cancer cells in order to disrupt or deactivate them.*

*In any case, there is one milestone the Viennese researchers have achieved already, notably when by*

mutierte Varianten ebenfalls mit Rückfällen sowie Resistenzen gegen Therapien in Verbindung stehen. In dem Fall gibt es bereits Wirkstoffe, mit denen sich die Gene blockieren lassen. Überdies spürten die Wissenschaftler Zusammenhänge zwischen der Chemotherapie und speziellen Mutationsmustern auf, was den Umstand unterstreicht, dass die Behandlung selbst, so unvermeidlich sie ist, das Risiko für Sekundärerkrankungen steigern kann. „Viele Kinder haben Spätfolgen aufgrund der Therapie, das ist ein großes Problem. Die Therapien finden schließlich an einem noch in Entwicklung befindlichen Körper statt“, sagt Panzer-Grümayer. Momentan sei Chemotherapie, obwohl besonders für Kinder sehr belastend, schlicht unverzichtbar, ergänzt Georg Mann. „Auf lange Sicht suchen wir aber nach Ersatz.“ Die Zukunft gehöre zum Beispiel der Präzisionsmedizin, die unter anderem darauf abzielt, molekulare Signalwege in Krebszellen aufzuspüren und diese zu stören oder zu unterbinden.

In jedem Fall lässt sich aber jetzt schon sagen: Mittels modernster Methoden der molekulargenetischen Analytik ist es den Wiener Forschern geglückt, das Rückfallrisiko bei Leukämien zuverlässiger denn je vorherzusagen, was für behandelnde Ärzte eine enorme Hilfe darstellt.

Thematisch verwandt mit Rückfällen ist die sogenannte minimale Resterkrankung. Einzelne bösartige Zellen können, obwohl sie mit dem Mikroskop nicht mehr nachweisbar sind, einer Behandlung trotzen. Derart lebt der Krebs unter dem Radar konventioneller Diagnostik weiter. Das Ausmaß der minimalen Resterkrankung oder Minimal Residual Disease (MRD) ist wesentlich. Denn es ist ein Gradmesser dafür, wie gut ein Patient auf die Therapie angesprochen hat. Die Frage, ob sich Krebszellen gleichsam durchschummeln, ist somit ein wichtiger Indikator für den Behandlungserfolg.

Bei der Bestimmung der minimalen Resterkrankung entfaltet sich das wahre Potenzial moderner Molekularbiologie: Es macht einen Unterschied, ob sich eine bösartige Zelle unter ein paar Hundert, einigen Tausend oder unter Hunderttausenden gutartigen Zellen versteckt. Je feiner die Methode und je höher die Auflösung des Screenings, desto eher findet man diese Nadel im Heuhaufen. Und umso verlässlicher weiß man, ob Reste einer Krebserkrankung überdauern haben. „Mit moderner Diagnostik können wir Genveränderungen einer einzigen Zelle unter einer Million finden“, sagt Georg Mann. „Die Methoden sind über die Zeit immer präziser geworden.“

Panzer-Grümayer und ihr Team zählen zu den Pionieren bei der molekularen Bestimmung der minimalen Resterkrankung und zu den Ersten überhaupt, die deren eminente Bedeutung erkannten – als zentrales Merkmal für die Prognose von Krankheitsverlauf und Behandlungserfolg. Heute ist dieser Parameter weltweiter Standard.

*employing cutting-edge methods of molecular genetic analysis they made available the means to predict, in a uniquely accurate manner, the risk of relapse in leukaemia, thus providing treating physicians with an invaluable prognosis tool.*

*The issue of relapse involves yet another aspect – the so-called minimal residual disease (MRD), the phenomenon that single malignant cells are resistant to treatment, and because they are no longer detectable under the microscope they allow cancer to linger on. As such, the disease – in that it provides evidence whether cancer persists under the radar of conventional therapies – is an indicator of therapy success and whether or not a patient has responded well to treatment, respectively. It is therefore key to establish the extent of MRD.*

*It is in this respect – i.e., when it comes to the determination of the extent of the MRD – that contemporary molecular biology unfolds its true potential. After all, it makes a difference whether the number of benign cells under which a malign cell has gone into hiding amounts to a few hundred, a few thousand, or hundreds of thousands. The more precise the method and the higher the resolution of the screening, the sooner this needle in the haystack will be found and the greater is the certainty as to whether or not cancer cells have survived treatment. “Modern diagnostics allow the detection of genetic changes of a single cell among millions,” says Georg Mann. “Over the years, the preciseness of methods has continuously increased.”*

*Panzer-Grümayer and her team have been among those who pioneered the molecular detection of MRD, and they have been the first to realise its paramount significance as a key feature on which to base prognoses about the course of the disease and the success of treatment. Today, this parameter is a worldwide standard.*

## Die Genschere

### Wie Genmanipulation mittels CRISPR/Cas funktioniert

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ist die bekannteste Methode des sogenannten Genome Editing, einer Art „Textverarbeitung“ im Erbgut. Mithilfe von CRISPR lassen sich präzise Veränderungen an bestimmten Stellen im DNA-Strang vornehmen – man spricht dabei von Punktmutationen, die in zwei Etappen ablaufen.

Zunächst steuert eine „Genfähre“ den gewünschten Ort im Erbgut an. Dazu bedarf es einer „Gensonde“, eines kurzen DNA-Abschnitts, welcher der Suchfunktion in der Textverarbeitung entspricht. Diese Sequenz passt zu der anvisierten Stelle wie ein Schlüssel zum Schloss. Der Transport zum Ziel erfolgt mittels Agrobakterien, die mit dem synthetisch zubereiteten DNA-Abschnitt beladen werden. Die maßgeschneiderte Sonde sucht sich ihr Ziel selbst anhand der DNA-Buchstabenfolge.

Daraufhin tritt die zweite Komponente in Aktion, ein Enzym namens CRISPR-associated protein, kurz Cas – daher auch der Name CRISPR/Cas für das gesamte Instrument. Dieses reagiert an der gewünschten Position mit dem DNA-Strang, indem es ihn entzweischneidet – wie eine „Genschere“ eben. Dieser Bruch wird umgehend vom zelleigenen Reparatursystem geflickt. Dabei auftretende Systemfehler bewirken die gewünschte Mutation, etwa das Abschalten eines bestimmten Gens, auch Knock-out genannt. Nach demselben Prinzip lassen sich nicht nur kurze Buchstabenfolgen im Genom löschen, sondern auch kleine Abschnitte einfügen – dies nennt man Knock-in.

## The gene scissors

### How CRISPR/Cas facilitates genetic manipulation

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) is the best known method of so-called genome editing, a kind of “word processing” in the genome. CRISPR can be used to make precise changes at specific spots on the DNA strand. This is referred to as point mutations that take place in two stages.

First, a “gene shuttle” heads for the desired location in the genome. This requires a “gene probe”, a short DNA sequence corresponding to the “search function” in word processing. Like a key into the lock, the sequence fits into the position of the genome that is to be targeted. To reach the goal, Agrobacteria are loaded with the synthetically prepared DNA-sequence. The tailor-made probe will recognise its target by its DNA letter sequence.

Then the second component comes into play, an enzyme called CRISPR-associated protein, or Cas for short – the second name giver for the CRISPR/Cas instrument. At the desired position, the enzyme reacts with the DNA strand, cutting it in two – hence its name “gene scissors”. This fracture is immediately mended by the cell's own repair system. System errors occurring in the process lead to the desired mutation, for example the switching off of a certain gene, the so-called knock out. On the same principle, in addition to deleting short letter sequences in the genome, small sections can be inserted, a procedure that is referred to as knock in.

## Vom Nutzen eines langen Atems

Es ist stets ein weiter Weg von der wissenschaftlichen Fragestellung bis zum herzeigbaren Erfolg. Um diesen Weg konsequent zu Ende zu gehen, bedarf es einiger besonderer Fähigkeiten, wie Sabine Strehl aus Erfahrung weiß. „Man braucht einen langen Atem, vor allem, wenn etwas nicht funktioniert wie erwartet. Man erlebt viele Höhen und Tiefen und muss frustrationstolerant sein“, sagt die Leiterin der 2006 gegründeten Gruppe für Leukämiegenetik. Im Grunde trifft der alte Spruch zu: Wissenschaft bedeutet, jeden Tag eine liebgewordene Hypothese auf dem Müll zu entsorgen. „Wir werfen immer wieder Hypothesen und entwickeln neue“, berichtet Strehl. Und oft dauert es sehr lange, bis eine Wissenschaftlerin wie sie weiß, ob ein Experiment geklappt hat und die Forschungstätigkeit Früchte trägt. Man hantelt sich voran, wie sie sagt, „Bausteinen für Bausteine“.

In ihrem Fall besteht dieses Vorantasten in der Suche nach genetischen Markern, die zur Leukämieentstehung beitragen – nach Schlüsselstellen im Erbgut, die mit dem Auftreten von Blutkrebs in Verbindung stehen. Viele dieser Marker sind bereits in der Fachliteratur beschrieben, doch Ziel von Strehl und ihrem Team ist es, Marker für Marker durch modernste Analytik zu schleusen und herauszufinden, welche davon mit welcher Form von Leukämie einhergehen. Außerdem geht es darum, wann immer möglich, Therapien auf einzelne Marker abzustimmen. Grundsätzlich werden an Leukämie erkrankte Kinder entsprechend dem Rückfallrisiko mit unterschiedlich intensiver Therapie behandelt. Zu diesem Zweck ziehen Experten immer öfter genetische Marker heran. Da sich die Behandlungen überdies national unterscheiden, muss die Relevanz aller Marker, auch der seltenen, in länderübergreifenden Studien bewertet werden. „Ohne internationale Kooperationen geht daher heute gar nichts“, so Strehl.

Es handelt sich also um akribische, geduldige Präzisionsarbeit, mit der Sabine Strehl an Renate Panzer-Grümayers Ansatz der diagnostischen Bedeutung der minimalen Rest-erkrankung anknüpft. Deren Bestimmung habe oberste Priorität, doch ergänzend sei man bestrebt, zusätzliche, vor allem genetische Parameter aufzuspüren, um Diagnosen noch genauer und zuverlässiger zu gestalten. Es gehe letztlich um eine Art hierarchisches System: Über allem stehe die Aussagekraft der MRD, in Zusammenschau damit ließen sich aber weitere Marker definieren, um die Treffsicherheit medizinischer Prognosen zu steigern.

Besonderes Augenmerk widmet Strehl einem Gen namens PAX5. Mithilfe von Sequenziertechnologien, also Screenings von Erbgutabschnitten, versucht Strehl zu verstehen, welche zellulären Prozesse ablaufen, wenn ein mutiertes PAX5 seine Wirkung entfaltet. Grundsätzlich muss man wissen, dass bestimmte Ausdrucksformen oder Veränderungen von Genen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Krankheiten spielen können, auch von Krebs. Lange Zeit war Strehls

## The benefits of tenacity

*The path from the formulation of a scientific problem to tangible successes is a thorny one, and following it through requires a number of special faculties. Sabine Strehl knows this from her own experience. “You need a good deal of tenacity, especially if things don’t work out as they are supposed to. You will see many ups and down, so you have to be frustration-tolerant,” says the head of the Leukaemia Genetics Group that was founded in 2006. As a matter of principle, it’s the old adage: Science is the daily process of dumping a beloved hypothesis on the trash heap. “We constantly drop one hypothesis and replace it with another,” Strehl confides. And more often than not considerable time will elapse before a scientist like her knows whether an experiment has worked and a given research effort has borne fruit. But you would just keep groping your way, as she puts it, “inch by inch”.*

*In her case, “groping” refers to the search for genetic markers contributing to leukaemia formation, i.e., for key genetic sites associated with the occurrence of blood cancer. With many of these markers already described in the literature, Strehl and her team have set as their goal to establish with regard to each marker with what form of leukaemia it is associated, using state-of-the-art analytics. Another aim is the customisation, whenever possible, of therapies in accordance with individual markers. In principle, children affected by leukaemia, depending on their risk of relapse, are administered therapies of varying intensity, for which experts increasingly rely on genetic markers. And given that treatments also vary across countries, the relevance of all markers, even the rare ones, has to be evaluated in cross-country studies. “Nowadays, nothing can be achieved without international cooperation,” Strehl notes.*

*This way, Renate Panzer-Grümayer’s approach, which embraces the diagnostic significance of the MRD, is complemented by the meticulous and patient precision work Sabine Strehl conducts with a view to identifying additional, in particular genetic parameters allowing for even more accurate and reliable diagnostics. In fact, it is a sort of hierarchical system that sees on its top the determination of the MRD as the most significant factor, followed by the identification of additional markers – and all factors combined are expected to enhance the accuracy of medical prognoses.*

*Strehl’s attention is especially focused on a gene called PAX5. Using sequencing technologies, i.e., screenings of genetic sequences, she seeks to elucidate the cellular processes taking place as an effect of a mutant PAX5. It must be noted here that certain gene expressions or alterations can be instrumental for the development of diseases, including cancer. And yet, for the longest time Strehl and her team were virtually the only researchers to study the role of this gene in leukaemia formation. It was only recently that the*





Forschergruppe nahezu die einzige weltweit, welche die Bedeutung dieses Gens für die Entwicklung von Leukämien studierte. Erst vor Kurzem beschrieben die Wissenschaftler nun erstmals eine neue Veränderung von PAX5, die in einer Amplifikation besteht: einer speziellen Vermehrung eines internen Teils dieses Gens. Dies zieht eine eher ungünstige Prognose nach sich, was eine wichtige Erkenntnis für die Diagnostiker darstellt. „Wir wollen nun nachsehen, was sich durch dieses amplifizierte PAX5 insgesamt in der Zelle verändert“, sagt Strehl.

Dazu kann ein Werkzeug helfen, das zurzeit als eine Art Wunderwaffe der Biotechnologie gilt: CRISPR/Cas9, häufig auch als „Genschere“ bezeichnet. Sehr vereinfacht ausgedrückt, lassen sich damit einzelne Gene lahmlegen: Mit „Schnitten“ durch den DNA-Strang werden sie eliminiert, anschließend flickt sich die DNA selbst, und damit ist der Eingriff vollbracht. Strehl verfolgt jedoch nicht dieses „Knock-out“-Verfahren, sondern eine wesentlich kompliziertere Methode, die man „Knock-in“ nennt. Dabei wird das fragliche Gen, also zum Beispiel PAX5, nicht einfach aus dem Erbgut getilgt, sondern ein molekularer Schalter eingebaut, um es aus- und wieder anknipsen zu können. Dieser Schalter besteht aus einer Sequenz von Aminosäuren sowie zusätzlich daran angedockten Molekülen. Die Funktionsweise dieses Schalters ist hochkomplex, der Sinn ist jedoch einleuchtend: Die Forscher wollen die Möglichkeit erlangen, wahlweise den On- mit dem Off-Zustand sowohl des gesunden als auch des amplifizierten PAX5-Gens zu vergleichen, um die Folgen für das Krankheitsgeschehen zu studieren. „Diese Technologien haben sicher gewaltiges Potenzial, sind aber viel schwieriger und zeitaufwendiger als oft gedacht“, sagt Strehl. „Es dauert zum Beispiel mindestens drei Monate, um eine einzige mit CRISPR veränderte Zelllinie herzustellen.“

Immer wieder gibt es sie aber doch, die beglückenden Momente, in denen klar ist: Es hat sich ausgezahlt, all die Mühe lohnt. Besonders dann, wenn man Leben retten kann.

## Wenn ein simpler Schnupfen Todesgefahr bedeutet

Das Mädchen war vier Jahre alt und todgeweiht. Die Immunabwehr des kleinen Körpers war nach intensiver Chemotherapie derart geschwächt, dass er über und über von Viren befallen war. Die Ärzte gaben dem Kind noch ein bis zwei Wochen zu leben. Doch plötzlich wendete sich das Blatt. In wenigen Wochen waren die Krankheitserreger so weit eingedämmt, dass das Mädchen außer Gefahr war. Heute, mehr als ein halbes Jahrzehnt später, ist es wohlauf.

Den Durchbruch brachte eine völlig neuartige Therapie, die René Geyeregger und seine Kollegen im Jahr 2012 weltweit erstmals erprobten – eben an diesem Mädchen, das damals in akuter Lebensgefahr schwebte. Die Behandlung hatte noch keine klinischen Prüfungen durchlaufen, doch in

*team came forward with a description of a new modification of PAX5 – an amplification, i.e., a specific increase of an internal part of that gene. Importantly for diagnosticians, this involves a rather unfavourable prognosis. “We now want to examine the overall changes brought about within the cell as a result of the amplification of PAX5,” Strehl points out.*

*This might be facilitated by a tool which is currently considered as a sort of wonder weapon of biotechnology: CRISPR/Cas9, also referred to as gene scissors. Put in very simple terms, it is used to paralyse certain genes by making cuts to the DNA strand, which the DNA will subsequently repair – and that does it for the intervention. It is not this knock-out procedure, though, that Strehl has chosen to adopt, she prefers a method called knock-in. Pursuant to this method, a given gene, for example PAX5, instead of simply being eliminated from the DNA, will be equipped with a molecular switch, so it can be switched off and on. The switch consists of a sequence of amino acids plus a number of molecules docked to it. While the function of this switch is highly complex, its purpose is obvious – it is designed to allow researchers to compare the healthy and the amplified PAX5 gene in either mode, alternatively choosing the on or the off mode, in order to examine the respective impact on the course of the disease. “For all their immense potential, handling these technologies is by far more complicated and time-consuming than we had assumed,” Strehl notes. “Thus, it takes at least three months to produce one single CRISPR-modified cell line.”*

*But then there are those rare gratifying moments that bring to mind that it has paid off, that all the efforts have been worth it. In particular, when a life could be saved.*

## When a simple cold poses a threat to life

*The girl was four years old and lying at death's door. Intensive chemotherapy had left the small body's immune system so weakened that it was over and over riddled with viruses and doctors gave her one to two weeks to live. Then all of a sudden, the tide turned. Within a few weeks the pathogens were reduced to the extent that the girl could be pronounced out of danger. Today, more than half a decade later, she is doing well.*

*The breakthrough was due to a completely new therapy, which René Geyeregger and colleagues in 2012 tested for the first time worldwide – on that very girl whose life was in acute danger. The treatment was applied despite not having undergone clinical trials; however, in view of the fact that*

manchen Fällen, wenn keine andere Chance mehr besteht, ist es statthaft und ethisch vertretbar, solch eine experimentelle Therapie anzuwenden. Geyeregger, Leiter der Gruppe für Klinische Zellbiologie und FACS Core Unit, hatte die Methode im hauseigenen Stammzelllabor entwickelt. Dem Patienten werden zunächst 50 bis 100 Milliliter Blut abgezapft, anschließend muss man spezielle Abwehrzellen darin, sogenannte T-Zellen, mit einem Virusprotein „füttern“ und vermehren. Nach etwa zwölf Tagen findet eine immense Anreicherung virusspezifischer T-Zellen statt, und diese verabreichen die Ärzte schließlich dem Patienten. Bei dem kleinen Mädchen war der Effekt phänomenal: Eben noch war die junge Patientin dem Angriff sonst harmloser Schnupfenviren schutzlos ausgeliefert gewesen, aber mit einem Mal bekämpften diese Abwehrzellen die Mikroben mit durchschlagendem Erfolg.

Erforderlich wurde der Eingriff aufgrund einer typischen, in dieser Ausprägung jedoch seltenen Begleiterscheinung von Krebsbehandlungen: Chemo- oder Strahlentherapie zerstört Krebszellen, aber auch normales, gesundes Zellmaterial. Bei einer Leukämie werden die bösartigen Blutzellen attackiert, zugleich jedoch die Abwehrzellen, die unseren Körper vor Infektionen schützen – das sind eben jene Leukozyten oder weißen Blutkörperchen, deren entartete Varianten Leukämien auslösen. „Nach einer Behandlung kann das Immunsystem komplett weg sein, dann existiert keine einzige Zelle mehr“, sagt Geyeregger. In diesen Fällen ist es notwendig, das ausgeschaltete blutbildende System zu regenerieren. Dies geschieht mithilfe von Stammzellen – jenen noch nicht spezialisierten Zellen, die später verschiedenste Aufgaben im Körper übernehmen können.

Damit ein Patient frische Stammzellen erhält, bedarf es einer Transplantation, einer Übertragung von Stammzellen. Damit befasst sich die Gruppe für Klinische Zellbiologie seit ihrer Gründung im Jahr 1988 als eine der ersten des Wiener Forschungsinstituts. Gerhard Fritsch, mittlerweile emeritierter Gruppenleiter und Geyereggers Vorgänger, entwickelte Grundlagen der Stammzelltherapie und leistete Pionierarbeit bei der Erforschung von Methoden, die heute Routine sind. Die Wissenschaftler isolierten Stammzellen aus Patientenblut, machten sie unter dem Mikroskop sichtbar und gingen zentralen Fragen nach, wie zum Beispiel: Welche Stammzellen eignen sich am besten zur Transplantation? Solche aus dem Blut, dem Knochenmark oder eher aus Nabelschnurblut? Und wie viele Stammzellen braucht man für eine gelungene Übertragung? Natürlich kennt Fritsch die exakte Zahl und sagt wie aus der Pistole geschossen: „Zwei Mal zehn hoch sechs. Das ist die magische Grenze und der Richtwert für eine erfolgreiche Transplantation.“

Prinzipiell bestehen zwei Möglichkeiten einer Stammzelltransplantation: Man kann erstens patienteneigenes Material nutzen. Diese sogenannten autologen Stammzellen werden vor einer Chemotherapie mit einem Verfahren namens Apherese gewonnen, tiefgefroren und dem Patienten

*there was no other chance, this step seemed both appropriate and ethically justified. The method had been developed by Geyeregger, the head of the Clinical Cell Biology Group and FACS Core Unit, in the in-house laboratory. It involves the collection of 50 to 100 millilitres of blood from the patient and the subsequent “feeding” with a viral protein and multiplication of specific defence cells, so-called T cells, contained therein. After about twelve days, what follows is an immense accumulation of virus-specific T cells, which will then be administered to the patient. In the young girl, the effect was phenomenal – all at once the cold viruses that only a few days before had posed a lethal threat were taken on and defeated by the T cells.*

*The girl’s ordeal that eventually led to the intervention had been caused by a typical – if rare in such extreme form – implication of cancer treatment: Chemotherapy and radiotherapy, apart from cancer cells, also destroy healthy cell tissue. With regard to leukaemia it is not only malignant blood cells that come under attack but also defense cells that protect the body from infections – the leukocytes, or white blood cells, whose degenerate variants trigger leukaemias. “After treatment, the immune system may be completely gone, with not a single cell left,” Geyeregger notes. Such cases necessitate the regeneration of the destroyed haematopoietic system through stem cells, i.e., cells that have not yet specialised and will later carry out various tasks in the body.*

*The way in which fresh stem cells are grafted into a patient is by transplantation, the transfer of stem cells – which is the field in which the Clinical Cell Biology Group has specialised since 1988, when it was founded as one of the first research groups of the Children’s Cancer Research Institute. The basics of stem cell therapy were developed by Gerhard Fritsch, the – meanwhile emeritus – group leader and Geyeregger’s predecessor, who also conducted pioneer research into methods that today form part of routine treatment. Isolating stem cells from patients’ blood and making them visible under the microscope, the researchers sought to provide an answer to key questions: What stem cells are best suited for transplantation – those taken from blood, the bone marrow, or rather from umbilical cord blood? And how many stem cells are required for successful transplantation? Obviously knowing the exact number, Fritsch replies at lightning speed: “Two times ten to the power of six. This is the magic limit and the guide value for a successful transplantation.”*

*In principle, stem cell transplantation can be done in two ways. One is based on the patient’s own material, so-called autologous stem cells, which ahead of chemotherapy are harvested through apheresis procedures then deep-frozen and, upon completion of the treatment, returned to the patient. The second variant is more delicate in certain respects: Allogeneic transplantation involves the use of foreign stem cells collected, for example, from the blood of a relative or any other donor. The donor and recipient material should be as compatible as possible, as otherwise a rejection*

nach der Krebsbehandlung wieder zugeführt. Die zweite Variante ist in bestimmter Hinsicht heikler: Bei der allogenen Transplantation greift man auf fremde Stammzellen zurück, etwa aus dem Blut eines Verwandten oder sonst eines Spenders. Dafür sollte das Material von Spender und Empfänger zum einen möglichst kompatibel sein, sonst droht eine Abstoßungsreaktion, auch Graft-versus-Host-Reaktion genannt: Immunzellen des Spenders greifen das Gewebe des Empfängers an, was im Extremfall tödlich enden kann.

Zum anderen, und dies geschieht zuallererst, müssen die Ärzte zu einer radikalen Maßnahme greifen: „Man muss die Abwehrzellen töten, damit die Spenderzellen, die ja das Immunsystem eigentlich wieder aufbauen sollen, sich nicht gegen den Empfänger wenden. Man überträgt also ohne Immunsystem“, erklärt Fritsch. Werden beispielsweise Stammzellen der Eltern eines Patienten verwendet, eliminiert man darin die T-Zellen – jene Abwehrzellen, die auch der Bekämpfung von Viren und Bakterien dienen. Daraus resultiert das Problem, das nun René Geyeregger und sein Team mittels neuer Therapien lösen wollen: Jede kleine Infektion wird zur Bedrohung, jeder banale Schnupfen kann ein tödliches Risiko darstellen.

Um der Gefahr zu begegnen, gingen die Forscher in zwei Etappen vor: Erst kam die übliche Stammzelltransplantation, im zweiten Schritt verabreichten sie Spender-T-Zellen, die mit dem Virusprotein speziell stimuliert worden waren. Dadurch wurde das Immunsystem wieder gegen Erreger scharf gemacht. Im Fall des vierjährigen Mädchens glückte der Heilversuch, in einem zweiten Fall trotz anfänglichen Rückgangs der Viruslast leider nicht. Um ihre Methode auf eine breitere Basis zu stellen, startete die Gruppe in Zusammenarbeit mit dem Spital eine klinische Studie.

Bei einer weiteren Initiative von Geyereggers Gruppe spielen T-Zellen ebenfalls eine wichtige Rolle. Es geht um neue Wege der Behandlung von Osteosarkomen. Das sind bösartige Knochentumoren, für die seit 30 Jahren außer der Chemo keine Therapie zur Verfügung steht. „Besonders hoch ist die Sterblichkeit bei Patienten, bei denen der Krebs nach der Chemo wiederkommt“, sagt Geyeregger. Mit modernen molekularbiologischen Methoden wie dem Next Generation Sequencing suchen die Forscher im Verbund mit Experten aus Polen und Deutschland einerseits nach charakteristischen Mutationen in den Krebszellen, andererseits nach Abwehrzellen, die genau zu Schlüsselstellen der gefährlichen Krebszellen passen. Mithilfe dieser Rezeptoren sollen die Abwehrzellen nun präzise an Krebszellen andocken und diese zerstören können.

Es geht also darum, für den Job geeignete T-Zellen aufzuspüren, und das ist eine Monsteraufgabe. Denn jeder Mensch besitzt eine Unzahl solcher Zellen, die sich im Detail unterscheiden und jeweils andere Feinde ins Visier nehmen. „Wir haben eine riesige Armee von Zellen, die gegen Tumormutationen eingesetzt werden können“, so Geyeregger. Der knifflige Job ist es, exakt jene T-Zellen zu identifizieren, die zu den bei Osteosarkomen häufigen

reaction, also known as a graft-versus-host reaction, may occur, resulting in the donor's immune cells attacking the tissue of the recipient, which in extreme cases can be fatal.

On the other hand – and indeed in the first place – radical measures need to be taken: “In order to prevent donor cells, which are supposed to rebuild the immune system, from turning against the recipient, the defence cells must be killed. This is to say, the transplantation is being done in the absence of the immune system,” Fritsch explains. If, for example, stem cells are harvested from parents, the T cells contained in them are eliminated, although they are needed to fight viruses and bacteria. And this may turn a small infection, a common cold into a danger or even a life-threatening event – a problem René Geyeregger and his team set out to tackle through novel therapies.

The researchers proceeded in two stages: First, cell transplantation was performed as usual, and in a second step, donor T cells, which had been specifically stimulated with the viral protein, were administered, resulting in the immune system's rearmament against pathogens. Proving most successful in the case of the four-year-old girl, in another case the therapy effort unfortunately failed, despite an initial decrease in the viral load. Subsequently, the group, in a joint effort with the hospital, mounted a clinical study with the aim to deploy the method on a broader basis.

T cells figure prominently in yet another initiative launched by Geyeregger's group, which is aimed at figuring out new ways of treating osteosarcoma. These are malignant bone tumours for which, apart from chemo, no therapy has been available for 30 years. According to Geyeregger, mortality rates are particularly high in patients who after chemotherapy experience a relapse. Therefore the researchers, employing the latest methods of molecular biology such as Next Generation Sequencing and in collaboration with colleagues from Poland and Germany, are trying to identify characteristic mutations in cancer cells, on the one hand, and defence cells exactly matching key sites in the perilous cancer cells, on the other. These receptors are designed to help the defence cells to precisely dock on cancer cells and subsequently destroy them.

So, what these efforts are all about is detecting T cells suitable for the job – a Herculean task indeed, given that every human has myriads of such cells, all differing in detail and each targeting another enemy. “We've got a huge army of cells that can be deployed against tumour mutations,” says Geyeregger. What makes this a tricky thing is the need to identify exactly those among the T cells that match the mutations common in osteosarcoma. “There's a lot going on in the field at the moment,” says Geyeregger, “and we are in the thick of it with fervour.”

The main research focus, however, is still on leukaemia, whose significance as the most common form of cancer in

Mutationen passen. „Hier tut sich momentan extrem viel“, berichtet Geyeregger, „und wir sind mit Begeisterung dabei.“

Der Hauptfokus liegt jedoch nach wie vor auf der Leukämieforschung – dieser häufigsten Krebsform bei Kindern nähern sich in Summe rund 50 Mitarbeiter der St. Anna Kinderkrebsforschung in vier Einheiten von mehreren Seiten und tragen so der eminenten Bedeutung von Leukämien Rechnung.

## Zytogenetik: Mustererkennung im Erbgut

„Wir alle befassen uns mit der Charakterisierung von Leukämien, letztlich sind wir eine große Gruppe, in der aber jeder seine Schwerpunkte hat“, sagt Oskar Haas. Seit der Gründung des Instituts leitet Haas die Gruppe für Klinische Genetik und ist damit einer der Pioniere der Wiener Kinderkrebsforschung. Sein Spezialgebiet ist die Zytogenetik: jenes Teilgebiet der Genetik, das sich auf die Analyse der Chromosomen konzentriert. Vor drei Jahrzehnten begannen Haas und seine Kollegen, die 46 menschlichen Chromosomen vorwiegend unter dem Mikroskop zu studieren. Die Wissenschaftler hielten dabei Ausschau nach Abweichungen von der Norm – sowohl in Bezug auf die Zahl als auch im Hinblick auf Form und Erscheinungsbild. „Wir haben nach quantitativen und ebenso nach strukturellen Veränderungen gesucht“, sagt Haas.

Das Ziel der Forscher war stets die Erkennung von genetischen Mustern, die für bestimmte Ausprägungen von Leukämien typisch sind. „Jede Subgruppe von Leukämien hat ihre Muster, und die Einteilung nach solchen chromosomalen Mustern war ein wesentlicher Schritt“, erläutert Haas. Er und sein Team spürten über die Jahre viele Veränderungen in der Erbinformation auf, die nicht nur auf Subformen von Blutkrebs hinwiesen, sondern auch zentrale Ansatzpunkte für Diagnostik und Therapie lieferten. „Unsere Entdeckungen sind ausschlaggebend für die Art der jeweiligen Leukämie, aber auch für die entsprechende Diagnose und Behandlung“, so Haas. „Das alles ist praktisch relevant.“

Die Techniken der Untersuchungen verfeinerten sich freilich mit der Zeit immer mehr: Saßen die Forscher anfangs mit dem Lichtmikroskop im Labor, um Chromosom für Chromosom zu prüfen, lassen sich heute komplette Genbausätze auf einen Schlag analysieren und am Computer als virtuelle Genome darstellen. Doch auch die Methoden der Frühphase hatten ihren Reiz und ihren Nutzen, erinnert sich Haas: Man betrachtete im Detail die kunstvoll gewundenen Formen der DNA-Stränge, bestaunte diese Meisterwerke der Natur und erwarb dabei auch ein unmittelbares, direktes Verständnis der biologischen Architektur. „Und es war durchaus auch ein ästhetisches Erlebnis“, sagt Haas.

*children is acknowledged by the fact that it is dealt with at St. Anna Children's Research Centre under various aspects by a total of about 50 employees in four units.*

## Cytogenetics: pattern recognition applied to the genetic make-up

*“All of us deal with the characterisation of leukaemias, and this certainly makes us one large group, in which everyone has their own focus, though,” says Oskar Haas. One of the pioneers of childhood cancer research in Vienna, Haas has headed the Clinical Genetics Groups since the foundation of the institute, with his special field of research being cytogenetics, a branch of genetics devoted to chromosome analysis. When he and his colleagues three decades ago started studying – mainly under the microscope – the 46 human chromosomes, they did so with a view to detecting deviations from the norm in terms of both numbers as well as form and appearance. “It was quantitative and structural changes that we were seeking to track down,” says Haas.*

*From the beginning, the researchers' focus had been on the detection of genetic patterns typical of certain manifestations of leukaemia. “With each sub-group of leukaemia displaying distinct patterns, their classification according to these chromosomal patterns constituted an important step forward,” Haas explains. Over the years, he and his team succeeded in identifying many changes in the genetic code that, in addition to being indicative of certain sub-forms of blood cancer, offered clues central to diagnostic and therapeutic considerations. “Apart from adding to our understanding of the specific form of a given leukaemia, our findings have been essential also with a view to providing adequate diagnosis and treatment,” says Haas. “Indeed, this all is of high practical relevance.”*

*Over the years, investigation techniques were to undergo significant development: While the initial phase saw the researchers sit in the laboratory staring through light microscopes in an effort to check chromosome by chromosome, nowadays it takes just one step to analyse complete sets of chromosomes and to display them on the computer screen as virtual genomes. And yet, Haas reminisces: Studying in detail the ornately twisted strands of the DNA and marvelling at those masterpieces of nature, one would, at the same time, gain an immediate, a direct sense of the biological architecture. “It definitely was an aesthetic experience as well,” Haas confides.*

Als besonders bedeutsam auch für seine Arbeit bezeichnet er jene Momente, die zu den Vorzügen des Hauses im Allgemeinen zählen: Kooperation, Vernetzung und intensiven Austausch, intern wie auch international. So treffen sich die Forscher regelmäßig mit den Klinikern, um die biologischen Eigenheiten der Leukämien und die klinischen Verläufe der Patienten im Detail zu besprechen. Dabei können neue Impulse für wissenschaftliche Initiativen entstehen, die möglicherweise in Zukunft für die Klinik relevant sind.

Internationale Zusammenarbeit wiederum erbringt den vielleicht wichtigsten Rohstoff für medizinische Forschung: Daten, an denen man ablesen kann, wie sich Krankheiten und Heilungsraten entwickeln. Mittlerweile habe man Daten aus drei Jahrzehnten gesammelt, berichtet Haas. Und da manche Formen von Leukämien extrem selten seien und in einem kleinen Land wie Österreich mitunter bloß ein oder zwei Fälle aufträten, sei man auf internationale Beobachtungen über lange Zeiträume angewiesen. „Dann verfügt man in Summe über vielleicht 500 Fälle, und damit kann man dann eine solide Studie machen“, so Haas. Ein Problem bei großen vergleichenden Studien ergebe sich, so absurd das klinge, just aus den immer höheren Erfolgsraten bei Behandlung und Heilung: „Es ist zum Beispiel schwierig, Rezidivstudien zu machen, weil es immer weniger Rückfälle gibt.“

Dieses „Problem“ ist jedoch vor allem eines: ein Indikator für den enormen medizinischen Fortschritt in den vergangenen 30 Jahren.

## **Forschung: Eine Garantie für Glaubwürdigkeit**

Von den Erfolgen, die nicht zuletzt der engen Verzahnung von Forschung und medizinischer Praxis geschuldet sind, profitiert aber nicht nur die Fachwelt. Es geht nicht bloß um steten Erkenntniszuwachs, um akademische Horizont-erweiterung und ein immer detailliertes Verständnis der Mechanismen der Krebsentstehung. Was die Wissenschaftler in ihren Labors zuwege bringen, wirkt und strahlt aus dem Institut auch hinüber ins direkt angrenzende Gebäude: das St. Anna Kinderspital, wo die Ärzte Tag für Tag mit tragischen Schicksalen konfrontiert sind – und verzweifelten Eltern, die sich in jeder Hinsicht in einer Ausnahme-situation befinden, die Notwendigkeit einer bestimmten Therapie erklären müssen.

Viele Angehörige zermartern sich das Gehirn mit entscheidenden, manchmal sogar lebensentscheidenden Fragen, und das in einem Moment, in dem es schwerfällt, einen klaren Gedanken zu fassen: Was bedeutet die Diagnose? Wie krank ist mein Kind wirklich? Ist nicht die Chemo mindestens ebenso schlimm wie der Krebs selbst? Liest und hört man nicht genau das immer wieder? Gibt es Alternativen zu den Standardtherapien? Sterben nicht die

Talking about what he considers to be particularly important for his work, he lists those aspects by which working at the institute is informed in general: cooperation, networking and continuous sharing of expertise on both the internal and the international level. Thus, researchers and clinicians meet on a regular basis for in-depth discussions of the biological characteristics of leukaemias and the clinical courses of patients. Importantly, such events would also inspire scientific initiatives which could be of relevance with a view to the future of the clinic.

Cooperation on the international level, on the other hand, is the main source of the arguably most essential raw material for medical research to draw on: data that provides information on the development of both diseases and cure rates. As of today, the collection of data covers three decades, Haas notes. And given that certain forms of leukaemias are extremely rare, with a small country like Austria recording not more than one or two cases per year, long-term observations on the international level are key. “This way, a total of, say, 500 cases can be taken into account – a sample to base a solid study on,” says Haas. One problem associated with large comparative studies, however absurd this may sound, is the increasing success in terms of treatment and cure rates. “In fact, it is increasingly difficult to conduct recurrence studies, because the number of relapses is continuously going down,” he adds.

This “problem”, to be sure, more than anything testifies to the tremendous progress that has been achieved over the past 30 years.

## **Credibility warranted by research**

It is not the community of researchers alone that benefits from the successes derived not least from the close interaction of research and medical practice. In fact, the continuous accumulation of knowledge, the broadening of academic horizons and an increasingly detailed understanding of the mechanisms underlying cancer formation are part of a greater whole. The findings produced by the researchers in the laboratory have direct impacts on and ramifications for what is going on in the adjacent building – St. Anna Children's Hospital, where doctors day in and out are confronted with tragic fates, which also require them to put across the necessity of a certain therapy to devastated parents overwhelmed by an exceptional situation in every respect.

Many a relative, at a time when it is next to impossible to gather one's thoughts, would agonise over decisive, even life-critical questions: What does the diagnosis mean? How ill is my child really? Isn't chemo at least as bad as cancer itself? Isn't this what you'd read and hear over and over again? Are there alternatives to standard treatment? Isn't it true that most patients die anyway, despite months of painful



meisten Patienten trotz monatelanger qualvoller Behandlung? Ist es nicht bittere Realität, dass die Medizin gegen Krebs immer noch weitgehend machtlos ist? Manche Annahmen mögen mit Vorurteilen behaftet oder von lückenhaften Informationen gespeist sein – nichtsdestotrotz müssen sich die Ärzte damit auseinandersetzen.

Stehen solche Fragen im Raum, kann das Forschungsinstitut große Hilfestellung leisten, berichtet Marianne Perl. Die stellvertretende Pflegedirektorin des St. Anna Kinderhospitals meint damit nicht nur die rein praktische Verquickung mit der Forschung, die zum Beispiel gewährleistet, dass man Analysen nach ein paar Stunden in Händen hält, statt auf die Zusendung von Befunden warten zu müssen. Sie meint überdies eine spezielle Art von Zuversicht, welche die Existenz eines Forschungszentrums von Weltrang im Nebenhaus verzagten Eltern vermittelt. „Viele Eltern sind merklich beruhigt, wenn sie wissen, dass gleich nebenan Spitzenforschung geleistet wird“, sagt Perl. „Wir können ihnen mit Fug und Recht versichern, dass ihr Kind hier in besten Händen ist. Der Ruf von St. Anna verdankt sich sicher auch der Forschung.“ Welche spontanen Assoziationen verbindet sie selbst mit den Kollegen drüben in den Labors? Perl denkt kurz nach und zählt auf: „Fortschritt, Entwicklung, Hoffnung. Unbekanntem auf die Spur kommen.“

Reinhard Topf führt ähnliche Argumente ins Treffen. Der Leiter der Psychosozialen Abteilung des St. Anna Kinderhospitals ist kraft seiner Position regelmäßig und besonders intensiv im Austausch mit Menschen in psychischen Ausnahme-situationen. Die Forschung stärke dem Psychologen gewissermaßen den Rücken, liefere faktisches Unterfutter für Beratungsgespräche, verleihe der Betreuung von Patienten und Angehörigen zusätzlich Substanz. „Die Forschung garantiert uns Glaubwürdigkeit“, sagt Topf. „Die Eltern würden mit ihren kleinen Patienten vielleicht gar nicht bei uns bleiben, wenn wir nicht vermitteln könnten, dass hier auch ein Zentrum der Wissenschaft ist, dass hinter all dem, was hier angeboten wird, eine Welt der Wissenschaft steht.“

In seinen Beratungsgesprächen sei er nicht nur mit tiefer Verunsicherung konfrontiert, sondern mitunter auch mit Skepsis. Es sind zumeist eben jene Befürchtungen, die allen Experten geläufig sind: Ein Großvater in der Familie sei ohne die geringste Chance auf Heilung an Krebs verstorben. Warum sollte das jetzt anders sein? Wisse man nicht aus Zeitungsberichten, dass Menschen glücklich von ihrer Heilung erzählen, um dann doch vom Krebs hinweggerafft zu werden? Und wenn man sich für eine klassische Therapie entscheide – wären dann nicht die berühmten Spitäler in Amerika die ersten Adressen? Im Grunde sind es dieselben Fragen, die sich einst auch Erwin Senoner stellte. Und so wie ihm das St. Anna empfohlen wurde, könne man allen Eltern guten Gewissens denselben Ratschlag erteilen, so Topf: „Das Forschungsinstitut ist der Garant, dass hier ein Weltklasseverband modernster Behandlungen und aktueller Forschung besteht und zum Beispiel in New York auch nichts Besseres angeboten wird.“

*treatment? Isn't it the bitter reality that with regard to cancer medicine is still largely powerless? And no matter how prejudiced or ill-informed an assumption may be, doctors will have to confront it.*

*It is exactly questions like these with which the institute may provide invaluable support, Marianne Perl, the deputy nursing director of St. Anna's Children's Hospital, asserts. And she is not only referring to the close association of clinical practice and research, which, among other things, ensures that analyses can be obtained within the space of a few hours instead of having to be waited for as an external service. She is also pointing to the confidence instilled by the fact that the neighbouring building houses a research facility of worldwide reputation. "Many parents are noticeably assuaged once they learn that right next door cutting-edge research is being conducted," Perl says. "And we for our part have every reason to assure them that their children are in the best of hands. Certainly St. Anna owes its reputation also to research." Which are her associations when she is thinking of the colleagues over there in the laboratories? After brief consideration Perl replies: "Progress, development, hope. Getting to the bottom of the unknown."*

*Reinhard Topf argues along the same lines. Being head of the Psychological Department of St. Anna Children's Hospital, communicating with people in extreme psychological states regularly and particularly intensely is an integral part of his job. According to him, research is what psychologists will rely on as a backup, as a source of hard facts that can be referenced in counselling sessions, thus adding substance to the care provided to patients and relatives. "Research warrants us credibility," Topf adds. "If it weren't for the fact that this is also a centre of science, that everything offered here is embedded in a scientific context, parents might just as well turn away together with the little patients."*

*During his consultations, Topf reveals, apart from deep uncertainty he would also encounter skepticism stemming from considerations all experts are all too familiar with: In the family there was already the case of a grandfather succumbing to cancer without the least chance for cure. Why should it be any different now? Would anyone doubt all the newspaper stories about people taken away by cancer who not long before happily announced that they had been cured? And if the decision were made for classical therapy, wouldn't the first address be one of the top-notch American clinics? Basically, these are the same questions Erwin Senoner once asked himself. And as with him, St. Anna may be recommended to all other parents in a good conscience, Topf says, adding: "The research institute is the warrantor that state-of-the-art treatment is complemented by cutting-edge research in a world-class manner, putting us on par with, say, a New York clinic."*

*But there is yet another aspect to the topic of research: It is the children themselves that come up with questions. They want to know what is the matter with them, what is*



Das Thema Forschung käme aber auch von einer zweiten Seite ins Spiel: Kinder stellen Fragen. Sie wollen wissen, was mit ihnen los ist, was mit ihrem Blut nicht stimmt, was man darin sehen könne. Tatsächlich kann sich Topf an die ganz konkrete Forderung erinnern: „Ich will meine Blasten sehen.“

Kann man das den kleinen Patienten zumuten? Auf jeden Fall, meint er. Die Zeiten krampfhafter Tabuisierung würden zum Glück mehr oder minder der Vergangenheit angehören. Und man dürfe einen wesentlichen Punkt nicht außer Acht lassen: Kinder seien zumeist selbst kleine Forschernaturen, die an Hintergründen interessiert seien, und das schließe auch eine gravierende Krankheit mit ein, bei der, zumindest als nicht auszuschließende Möglichkeit, der Tod mitschwinge. Wie vermittelt man nun krebserkrankten Kindern Einsichten ins Krankheitsgeschehen, Einblicke in die pathologischen Abläufe im eigenen Körper? „Man muss das Thema sinnlich begreifbar machen“, ist Topf überzeugt. Dazu dienen zum Beispiel eigens entwickelte wissenschaftliche Kinderbücher und psychologische Materialien, um einem Kind altersgerecht biologische Fragen beantworten zu können. Das kann helfen, die komplizierten Vorgänge im Körper und die notwendige medizinische Behandlung zu verstehen. In Ausnahmefällen zeigt man Kindern auf Wunsch sogar Blutzellen unter dem Mikroskop und demonstriert, was sich in ihrem Blut abspielt. So lässt sich buchstäblich vor Augen führen, dass die Mediziner nicht etwas Abstraktes ins Visier nehmen, sondern etwas, das sich konkret messen und beobachten lässt.

René Mulle pflichtet uneingeschränkt bei. „Es hätte mich auch sehr interessiert, ins Forschungsinstitut hinüberzugehen und mir anzusehen, wie Blut unter dem Mikroskop aussieht“, sagt der Obmann der Kinderkrebshilfe für Wien, Niederösterreich und das Burgenland. Mulle kam mit den Ärzten von St. Anna einst in Kontakt, weil seine Tochter an einem Tumor litt. Er selbst entschied sich für das Wiener Spital, „weil ich auf jede Frage, egal wie kompliziert sie war, präzise Antworten erhalten habe. Das war für mich glaubwürdig und überzeugend.“ Heute diskutiert Mulle mit anderen Eltern die vermutlich schwerste Entscheidung ihres Lebens und versucht, sie dabei zu unterstützen: Wo und wie sollen sie ihr krebserkranktes Kind behandeln lassen? Auf das Forschungsinstitut käme man meist über einen Umweg zu sprechen. Die Einstiegsfragen würden etwa lauten: Mit welchen Nebenwirkungen sei bei einem bestimmten Medikament zu rechnen? Gebe es nicht auch vielversprechende alternativmedizinische Ansätze? Und sei es nicht wahr, dass die Chemotherapie vor allem gefährlich sei und das Immunsystem zerstöre?

Im Verlauf solcher Gespräche, sagt Mulle, „kann man dann erklären, wie viel wissenschaftliche Arbeit hinter dem steckt, was die Ärzte hier praktizieren“. Eigentlich müsse man genau das sogar noch mehr und noch deutlicher nach außen kommunizieren, findet Mulle: „Dass Österreich Weltspitze bei der Behandlung von Kinderkrebs ist.“

*wrong with their blood and what can be told about it. In fact, Topf remembers well a demand that couldn't have been more concrete: "I want to see my blasts."*

*Is it reasonable to confront the little patients with such issues? "Definitely," Topf replies. Fortunately, more or less gone are the times when all this was surrounded by a big taboo. Beyond that, one essential point must be kept in mind – most children have a natural penchant for research that has them wanting to dig deeper, even when it concerns a serious illness that, at least potentially, carries with it death. What, then, is the best way to convey children an idea of their illness, an understanding of the pathological processes inside their own bodies? "You must make the subject a sensory experience," Topf asserts – for example through specially developed books and psychological materials that would address children's questions in an age-appropriate fashion. They may help children grasp what complicated processes are going on inside their bodies and what kind of treatment that necessitates. There may even be instances when children upon their wish are shown their blood cells under the microscope and demonstrated what exactly is happening with their blood – as a most direct way to put across to them that what their doctors are concerned with is not at all something abstract, but something that can be measured and observed.*

*This very much ties in with the view that René Mulle has long held. "I, too, would have been keen to drop by the research institute to find out how blood looks under the microscope," says the chairman of the Children's Cancer Aid for Vienna, Lower Austria and Burgenland. Mulle first came into touch with the medical professionals at St. Anna when his daughter was diagnosed with a tumour. He opted for the clinic because "I received a precise answer to each of my questions, no matter how complicated it was. To me all this was as credible as it was convincing." Today Mulle sits down with other parents to provide consultancy and help in what is probably the most difficult decision of their life – where and how should their child be treated? It is mostly indirectly that the research institute is made mention of. Usually the conversation would start with questions of the kind: What side effects must be expected from a certain drug? Aren't there promising alternative medical approaches? And isn't it true that chemotherapy more than anything is perilous as it destroys the immune system?*

*As the conversation proceeds, "people will get an idea of the enormous scientific efforts by which the medical professionals' practical work is underpinned," says Mulle. Perhaps it is this which deserves to be communicated even more insistently and clearly to the public, Mulle suggests: "That Austria is among the world leaders in the treatment of childhood cancer."*

## Krebszellen mit Augen, Ohren und Mündern

Eines Abends hatte Michael Dworzak ein Wow-Erlebnis. Er saß allein im Labor, betrachtete Knochenmarkszellen und bemerkte etwas, das ihm nie zuvor aufgefallen war. Er dachte: „Wow, das hier sieht ja ganz anders aus!“ Was Dworzak in seiner Nachtschicht in den frühen 1990er-Jahren entdeckte, dient heute als zusätzliche, international anerkannte Methode, das Ausmaß der minimalen Rest-erkrankung bei Leukämie zu bestimmen.

Der Leiter der Gruppe für Immunologische Diagnostik verfolgt einen anderen Ansatz als seine Kollegen. Während diese genetische Instrumente benutzen und tief ins Innere von Zellen vordringen, um Informationen zu gewinnen, studiert er äußere Merkmale. Dworzak, der einst frisch von der Uni kommend am Forschungsinstitut begann, verwendet dazu ein Verfahren namens Durchflusszytometrie.

Dieses Gerät erlaubt die Anfertigung eines Porträts einer Krebszelle. Zellen können damit hinsichtlich optischer Auffälligkeiten von anderen unterschieden werden. „Es ist, als gäbe es verschieden viele Münder, Ohren oder Nasen“, vergleicht Dworzak. Weil Krebszellen auch äußerlich typische Veränderungen durchlaufen, können sie mittels Durchflusszytometrie aufgespürt werden. „Wir waren weltweit unter den Ersten, die Studien auf dieser Basis gemacht haben. Als klar war, es funktioniert, hat das weltweit wie eine Bombe eingeschlagen“, erinnert sich Dworzak. Kollegen aus Deutschland, Italien und weiteren Ländern kamen nach Österreich, um von den Wiener Forschern zu lernen. Mittlerweile gibt es rund 35 Partnerlabore in aller Welt, darunter in Tschechien, Israel, Australien, in der Schweiz und der Türkei, in Südamerika und einigen osteuropäischen Ländern. Insgesamt wurden inzwischen an die 10.000 Kinder auf Basis dieser Diagnostik behandelt.

Auch die Methode selbst hat über die Jahre entscheidende Weiterentwicklungen und Verbesserungen erlebt. Konnte man anfangs zwei Merkmale einer Krebszelle untersuchen, screenen moderne Apparate ein Dutzend Parameter in einem Schwung. Der technische Trick besteht darin, dass die Forscher jenen Merkmalen, nach denen sie suchen, einen Farbstoff zuordnen. Dann richten sie Laserlicht auf die untersuchten Zellen und ermitteln mithilfe eines Detektors, an welchen Stellen sie zu leuchten beginnen. Aufgrund dieses Prinzips werden Leistungsfähigkeit und Reifegrad der Technologie anhand der Zahl der analysierten Farben angegeben.

Dworzak sieht eine Reihe von Vorteilen in dieser Form der Diagnostik: Sie ist relativ günstig, das Ergebnis liegt flott, nämlich innerhalb von Stunden, vor und sie ist allgemeingültig. Während molekularbiologische Analytik typischerweise auf jeden Patienten speziell zugeschnitten werden muss, funktioniert die Suche nach signifikanten äußeren Merkmalen einer Krebszelle unabhängig von der einzelnen Person. Vor allem erlaubt die Methode eine sehr genaue Prognose über die noch vorhandene Krebszellenzahl und

## Cancer cells with eyes, ears and mouths

*One evening, Michael Dworzak had a Eureka moment. As he sat alone in the lab watching bone marrow cells, he noticed something he had never encountered before. “Wow,” the head of the Immunological Diagnostics Group thought, “that really does look very different!” What Dworzak discovered during his night shift in the early 1990s has by now become a supplemental, internationally recognised method to determine the extent of the minimal residual disease in leukaemia.*

*As regards the collection of information, Dworzak, who started working at the research institute right after graduating from university, pursues an approach of his own. While his colleagues use genetic tools, delving deep inside cells, he studies external traits, using a method called flow cytometry.*

*This technique allows researchers to create a portrait of a cancer cell, enabling the distinction between cells in terms of optical abnormalities. “As if there were different numbers of mouths, ears, or noses,” Dworzak explains. It is the fact that cancer cells undergo typical external changes that makes them detectable by flow cytometry. “We were among the first worldwide to conduct studies on this basis. Once it was clear that it worked, this came as a real bombshell,” he recalls. Researchers from Germany, Italy and other countries came to Austria to learn from their Viennese colleagues. In the meantime, about 35 partner laboratories have been set up worldwide – in the Czech Republic, Israel, Australia, Switzerland and Turkey, in South America, and a number of eastern European countries. As of today, a total of around 10,000 children have been treated on the basis of this diagnostic method.*

*Over the years, the method has undergone significant developments and improvements. Whereas initially a maximum of two characteristics could be investigated in a cancer cell, modern flow cytometers would now screen a dozen of parameters in one go. In order to make this possible, each characteristic of interest is assigned a different dye, then laser light is directed at the cells, and with the help of a detector the researchers will identify the sites at which they begin to glow. Based on this principle, the efficiency and maturity of this technology is indicated by the number of colours analysed.*

*In Dworzak's view, this form of diagnostics offers a number of advantages: It is relatively inexpensive, results can be obtained quickly, i.e., within hours, and it is universally applicable. Unlike molecular biological analysis, which typically has to be tailored to each patient, the search for significant external features of a cancer cell does not require the involvement of the individual patient. Most importantly, the method allows accurate prognosis of the number of cancer cells still present and, accordingly, the number of intact cancer cells that have survived treatment.*



mithin darüber, wie viele intakte Krebszellen eine Behandlung überstanden haben. Mittels Durchflusszytometrie lässt sich die minimale Resterkrankung und damit das Risiko eines Rückfalls genau eingrenzen. Diese MRD-Bestimmung ergänzt jene von Renate Panzer-Grümayers Labor, und beide Methoden werden in den großen ALL-Therapiestudien gemeinsam verwendet.

Momentan wollen die Wissenschaftler nicht zuletzt eines erreichen: eine schonendere Behandlung. Chemotherapie ist belastend, besonders für einen jungen Körper. Um sicherzugehen, dass der Krebs gründlich bekämpft wird, verließen sich die Ärzte die längste Zeit trotzdem lieber auf den Effekt einer üppig bemessenen Dosis. Lässt sich aber mit präziser Diagnostik überzeugend eruieren, ob der Krebsbestand weit genug eingedämmt ist, können die Mediziner künftig in Erwägung ziehen, mit weniger an toxischen Therapien auszukommen. „In den vergangenen Jahren haben wir in diese Richtung gearbeitet“, sagt Dworzak. „In Zukunft haben wir vielleicht die Möglichkeit, Therapien gezielt zu reduzieren. Das ist jedenfalls unsere Hoffnung.“

Und in Zukunft soll auch die Erstellung der Diagnosen auf ein neues Fundament gestellt werden. Die Durchflusszytometrie ist inzwischen ein standardisiertes Verfahren, der entscheidende Faktor ist aber die Fachkunde erfahrener Experten, um große Mengen an Daten korrekt zu interpretieren. Was die Analyse ausspuckt, sind letztlich Wolken von Punkten, die man lesen können muss. Daher könnte die Diagnostik ein Fall für künstliche Intelligenz werden: für selbstlernende Systeme, die in einer gewaltigen Datenflut spezielle Muster erkennen. Genau wie man Maschinen die Regeln von Schach oder noch komplexeren Spielen beibringen kann, ließe sich ein Roboter zu einem Spezialisten für die Beurteilung auffälliger Zellmerkmale ausbilden.

„Wir haben bereits einen Algorithmus für ALL entwickelt, der für unsere Zwecke und auf Basis unseres Wissens trainiert ist“, sagt Dworzak, der schon an die Ausgründung eines Startups denkt. „Schließlich könnte man das System ja auch auf andere Fragestellungen übertragen, der Algorithmus ist nicht auf eine Anwendung beschränkt.“

Zugleich ist Dworzak im Begriff, die durchflusszytometrischen Untersuchungen auf ein weiteres Krankheitsbild auszudehnen: auf die akute myeloische Leukämie (AML). „Diese Krebsform ist viel komplexer, vielschichtiger und quasi Entwicklungsneuland“, sagt Dworzak, dessen Gruppe bei AML als europaweiter Studienkoordinator fungiert. Die Heilungsraten sind im Vergleich zu ALL dürftig: Sie betragen lediglich 60 bis 65 Prozent.

In dieser Forschungssparte zielen Dworzak und sein Team auf den Test innovativer Medizin ab: auf sogenannte Signalweginhibitoren, die derzeit zu den vielversprechendsten Ansätzen zählen. Bei Signalwegen handelt es sich, etwas vereinfacht ausgedrückt, um zelluläre Befehlsketten. Auf diese Weise kann zum Beispiel das Zellwachstum oder die Differenzierung von Körperzellen gesteuert werden. Auch in Zusammenhang mit der Entstehung und dem Wachstum

*This way, flow cytometry enables the precise delineation of the MRD and thus the risk of relapse. This form of MRD determination complements the method employed by Renate Panzer-Grümayer's laboratory, and this is why in the large ALL therapy studies both methods are used.*

*At present, however, the researchers not least seek to devise a treatment that would be less damaging than chemotherapy. Regardless of its stressfulness, in particular for a young body, doctors, in order to ensure that cancer was being fought thoroughly, for the longest time nonetheless kept relying on high doses. Now, if convincing evidence of sufficient containment of a cancer population could be obtained through precise diagnostics, physicians might consider administering less toxic treatments. "In fact, this is what we have been working on in the past years," says Dworzak. "So, maybe one day we will find ways to reduce therapies on a targeted basis. At least that's what we hope."*

*Another innovation hoped to be realised before too long concerns the way diagnoses are made, considering that flow cytometry, while having become a standardised procedure, vitally depends on seasoned experts for the correct interpretation of large amounts of data. Because it is nothing but clouds of dots that analyses deliver, their proper reading requires a certain expertise. This makes diagnostics a case for artificial intelligence, for self-learning systems able to recognise special patterns in a colossal amount of data. Just as machines can be taught the rules of chess or even more complex games, so can a robot be trained as a specialist in the evaluation of specific cell characteristics. "With regard to ALL we have already developed an algorithm and trained it according to our needs and on the basis of our knowledge," says Dworzak, who is even mulling to set up a start-up company. "With the algorithm not being limited to a single application, the system may, in fact, be used to address other diagnostic questions, as well."*

*In parallel, Dworzak has begun to extend the procedure of cytometry to the investigation of another disease – acute myeloid leukaemia (AML). "This is a form of cancer much more complex, multi-layered and still very much terra incognita," says Dworzak, whose group acts as the Europe-wide coordinator of studies on AML. As compared to ALL, the cure rates for this disease are poor, reaching merely 60 to 65 percent.*

*This is why in this arm of research Dworzak and his team are predominantly focussed on the testing of innovative medicine – so-called signalling pathway inhibitors, which are among the most promising approaches. Simply put, signalling pathway inhibitors are cellular chains of command underlying, for example, the control of cell growth or the differentiation of body cells. Excessively active signalling pathways, moreover, have been found to be essentially implicated in cancer formation and growth. Finally, signalling pathways are suspected to keep immune cells trapped in the tumour, preventing them from carrying*

von Krebs spielen, wie man heute weiß, übermäßig aktive Signalwege eine wichtige Rolle. Signalwege können überdies dafür verantwortlich sein, dass Immunzellen gleichsam in einem Tumor gefangen sind und ihre Aufgaben nicht erledigen können. Gelingt es nun, die tückischen Signalwege zu blockieren oder abzuschalten, gräbt man dem Krebs gewissermaßen das Wasser ab.

Genau das hat Dworzak im Hinblick auf AML vor. „Momentan suchen wir nach entscheidenden Signalwegen und wollen wissen, welche überhaupt aktiv sind“, so Dworzak. „Dann können wir beginnen, passende Inhibitoren zu identifizieren. Die Durchflusszytometrie eignet sich sehr gut für die Suche nach den fraglichen Signalwegen.“

Erste Fortschritte kann der Wissenschaftler bereits vermelden: „Wir wissen, welche Signalwege mit einem Rückfallrisiko korrelieren. Versuchsweise haben wir schon passende Inhibitoren eingesetzt“, sagt Dworzak.

Und zumindest bisher würden die Ergebnisse zeigen: Es funktioniert.

## Das Neuroblastom: Ein Tumor mit vielen Gesichtern

Das Reich von Peter und Inge Ambros sieht nicht unbedingt nach Hightechforschung aus. Ein länglicher Raum, zwei Schreibtische, Aktenordner, Computer plus Zubehör. Doch genau hier betreibt das Wissenschaftlerhepaar, das seit Langem Seite an Seite forscht, Pionierarbeit, und dieses Umfeld ist durchaus typisch für die moderne Molekularbiologie. Wer sich Laboranten in weißen Kitteln vorstellt, die in sterilen Reinräumen mit Pipetten hantieren, liegt nur zum Teil richtig. All das gibt es zwar auch, doch ein Großteil der Arbeit findet inzwischen vor dem Computermonitor statt: Die Krebsforschung sei immer mehr ein Fall für Big Data, sagt Peter Ambros, Leiter der Gruppe Tumorbioogie und seit der Gründung 1988 an Bord des Forschungsinstituts. Heutzutage benötige man leistungsfähige Software, die in der Lage ist, in Unmengen von Daten signifikante Muster aufzuspüren – beispielsweise Veränderungen von Krebsgenen. In Zukunft, urteilt Ambros genau wie sein Kollege Michael Dworzak, sei sein Fachgebiet wohl auf künstliche Intelligenz angewiesen, wenngleich letzte Kontrollinstanz stets der Mensch bleibt.

Auf den Bildschirmen von Inge und Peter Ambros läuft eine Software, die an ein Audio- oder Videoschnittprogramm erinnert. Die dargestellten Kurven bilden jedoch nicht Ton- oder Filmspuren ab, sondern menschliche Chromosomen. Chromosom für Chromosom ist nebeneinander aufgereiht, und wie man beim Filmschnitt einzelne Sequenzen oder Kader betrachten kann, lassen sich hier etwa Chromosomenbrüche ausmachen: Beschädigungen des Erbguts, die ein Indiz für die Krebsentwicklung sein können. Auf ähnliche Weise können die Forscher per Computerunterstützung ermitteln, ob sich in der Tumprobe eines

*out their tasks. If those insidious signalling pathways could be blocked or switched off, this would result in cancer's lifeline being severed.*

*With a view to AML, this is exactly what Dworzak is up to. "Currently we are looking for AML-specific signalling pathways in order to find out which are active in the first place," he says. "Then we might begin to identify matching inhibitors. For the search of those signalling pathways, flow cytometry is the ideal method."*

*In the meantime, first successes can be reported. "We have managed to establish those signalling pathways that correlate with the risk of relapse, and have already used matching inhibitors on an experimental basis," says Dworzak.*

*And, as results obtained suggest so far, it works.*

## Neuroblastoma: a tumour with many faces

*The realm of Peter and Inge Ambros does not necessarily evoke the idea of high-tech research: an elongated room, two desks, file folders, computers with accessories. However, it is in this setting where the married couple, who have long been doing research side by side, carry out pioneering work. And, as a matter of fact, it is an environment quite typical of modern molecular biology. The image of the white-coat-clad laboratory technician wielding pipettes in sterile clean rooms, while not wrong, captures only part of today's reality in which a large portion of the work is done in front of computer screens. Cancer research is increasingly becoming a case for Big Data, says Peter Ambros, head of the Tumour Biology Group and member of the research institute's staff since its foundation in 1988. What is needed today is high-performance software able to screen vast amounts of data for significant patterns – for example, changes in cancer genes. Very much in line with his colleague Michael Dworzak, Ambros, too, expects his field of study to rely heavily on artificial intelligence before too long, even though ultimate control by a human agent is not likely to ever become obsolete.*

*On display on the screens of Inge and Peter Ambros are images resembling visualisations produced by audio or video editing software, but these curves, rather than audio or video tracks, represent human chromosomes lined up side by side. Yet in the same way a film editor can view individual sequences or cadres, so can the researchers look out for any damage to the genetic material, such as chromosome breaks, as a possible indicator of cancer formation. Likewise, they can, aided by the computer, examine a patient's tumour sample for*

Patienten etwa Veränderungen von Krebsgenen, sogenannten Onkogenen, finden. Die beiden Experten interessieren sich besonders für das Krebsgen MYCN. Wird dieses mit grünem Farbstoff fluoreszierend markiert, verrät ein Blick durch ein spezielles hochauflösendes Mikroskop, ob sich dieses Gen im Tumor eines erkrankten Kindes wild vermehrt – was als dichte Wolke grüner Punkte erkennbar wäre und die Behandlung entscheidend beeinflussen würde.

Die Zahl überzähliger Kopien dieses Krebsgens ist ein wichtiger Indikator für den Verlauf jener Krebsform, auf die sich Inge und Peter Ambros spezialisiert haben: des Neuroblastoms, des häufigsten Tumors im Säuglings- und Kindesalter. Und es stellt eine Besonderheit dar, weil es die Grundregeln von Krebserkrankungen bricht, viele Annahmen auf den Kopf stellt und bisweilen beinahe verstörende Maßnahmen erfordert. So kann der Körper eines Säuglings über und über von Krebszellen befallen sein, und die beste Therapie lautet: beobachtend zuwarten, gar keine Therapie, nichts unternehmen – natürlich niemals ohne engmaschige Kontrolle.

Neuroblastome bilden sich, wenn unreife Zellen des sympathischen Nervensystems entarten. Meist entstehen diese Tumoren im Nebennierenmark oder im Grenzstrang, einem Nervengeflecht beiderseits der Wirbelsäule. Als die Ärzte noch kaum Detailwissen über die Eigenheiten dieser Krebsform besaßen, behandelten sie alle Patienten gleichermaßen mit Chemotherapie, unabhängig von der Biologie des Tumors. Heute hat sich das gravierend geändert: Es gibt tatsächlich Fälle, in denen der Arzt die Therapie zurückfährt oder überhaupt keine Maßnahme setzt, obwohl der Körper eines Kindes mit Krebsgeschwüren übersät ist.

Der Grund dafür ist, dass sich Neuroblastome krass unterschiedlich entwickeln können: Es kann sich um einen extrem bösartigen Tumor handeln, der eine augenblickliche Intervention mit hoch dosierter Chemo-, Strahlentherapie oder einer Knochenmarkstransplantation erfordert. Es ist aber ebenso denkbar, dass die unreifen Zellen plötzlich ausreifen und keine Bedrohung mehr darstellen, oder dass sich der Tumor komplett zurückbildet und eine spontane Remission stattfindet. Neuroblastome haben gleichsam verschiedene Gesichter: Es gibt äußerst aggressive Formen und andererseits gutartige, relativ harmlose Ausprägungen. „Das ist ein einzigartiges Tumorverhalten, selbst Metastasen müssen nicht unbedingt bösartig sein“, sagt Peter Ambros. „Der Kliniker steht daher immer vor der Entscheidung, die für den Patienten passende Therapie zu verabreichen. Früher, als wir noch wenig darüber wussten, war das eine ethische Zwickmühle.“

Heute lässt sich allerdings viel präziser prognostizieren, ob man es mit einem gutartigen oder einem bösartigen Neuroblastom zu tun hat, und daher lässt sich die angemessene Behandlung viel besser planen – und das ist wesentlich auf die Forschung des Ehepaares Ambros zurückzuführen, die in gut 200 Publikationen in renommierten Fachjournalen mündete. Wesentlich sei, betonen beide, dass die ge-

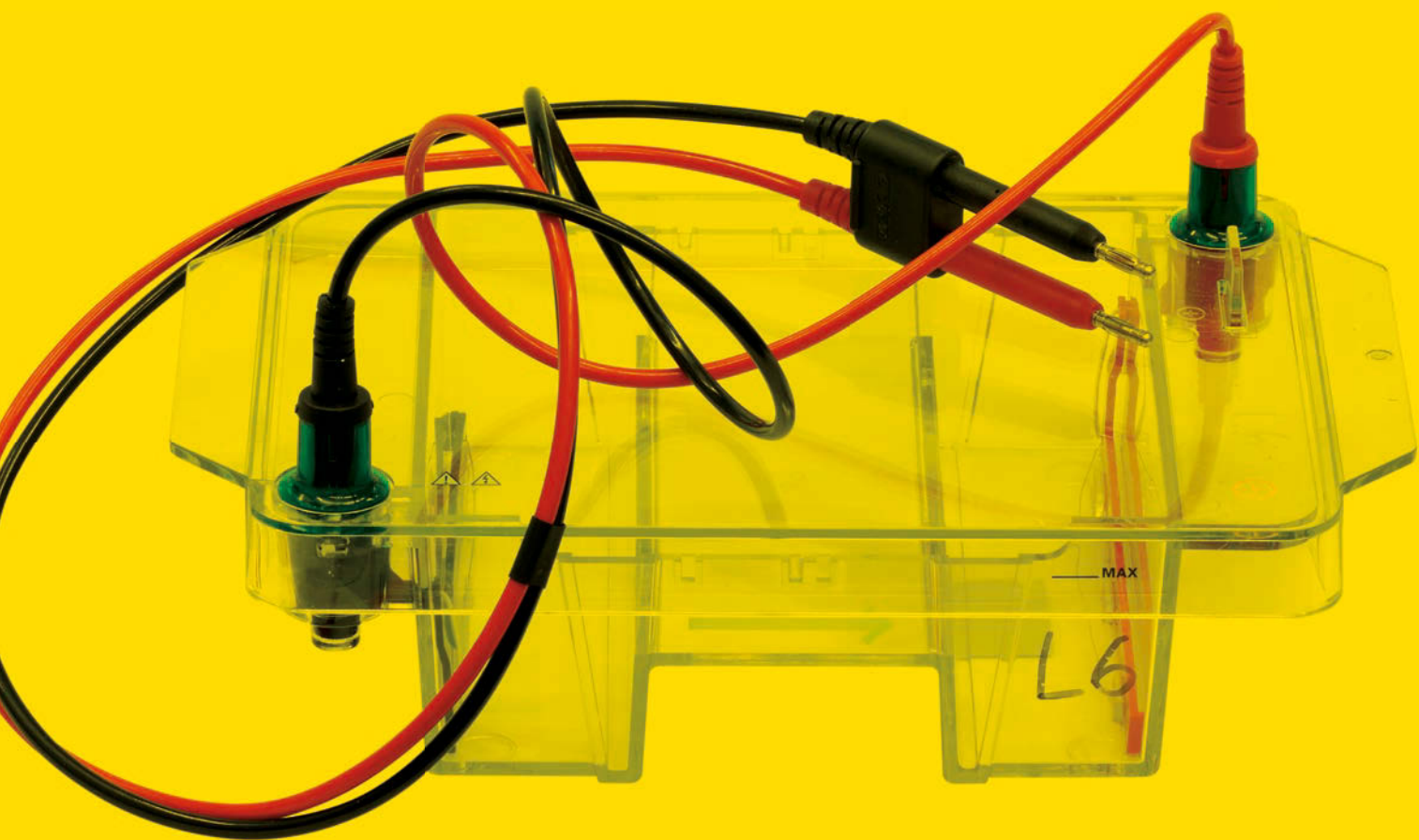
*changes in cancer genes, so-called oncogenes. The particular interest of the pair is directed at the cancer gene MYCN. When labelled with a green fluorescent dye and then looked at through a special high-resolution microscope, the appearance of a dense cloud of green dots would be an evidence of its wild reproduction in the tumour of a diseased child, which would have major implications for treatment.*

*Excessive numbers of copies of this cancer gene are a significant indicator of the disease Inge and Peter Ambros have specialised in: neuroblastoma, the most frequent tumour in infancy and childhood. What makes this gene special is its obvious breaking of the basic rules of cancer, turning upside down many assumptions and sometimes inviting almost disturbing measures. Thus, it might be the case that an infant's body is completely ridden with cancer cells and yet the thing of choice would be watchful waiting, abstaining from any sort of therapy, doing nothing – except of course for constant monitoring.*

*Neuroblastoma form as a result of the degeneration of immature cells of the sympathetic nervous system. For the most part, these tumours originate in the adrenal medulla or in the sympathetic trunk, a paired bundle of nerve fibres on each side of the vertebral column. Previously, in the absence of detailed knowledge of the disease's characteristics, all patients would be treated with chemotherapy indiscriminately, regardless of the biology of the tumour. This has radically changed – nowadays, even in cases when a child's body is entirely infested with cancerous ulcers, doctors may prefer to reduce therapy or not to take any measures at all.*

*This is in response to the fact that neuroblastoma can develop in starkly different ways. The tumour may be extremely malignant, requiring instantaneous intervention with high-dose chemotherapy or radiotherapy, or bone marrow transplantation. An alternative development would see the immature cells all of a sudden come to maturation, ceasing to pose a threat, or the complete regression of the tumour, producing spontaneous remission. Neuroblastoma, as it were, have many faces, ranging from highly aggressive to benign, relatively harmless forms. "This is a unique tumour behaviour; even metastases need not necessarily be malignant," says Peter Ambros. "The challenge for the clinician is to administer a therapy that is suitable for the patient. Back then, when our knowledge was poor, this often led to an ethical dilemma."*

*However, in parallel with the availability of tools allowing for a much more precise prognosis as to the benignity or malignity of a neuroblastoma, the possibilities of planning an appropriate treatment have risen, as well – and this is to a large extent due to the research that the Ambros couple have conducted and also published in well over 200 contributions in high-impact journals. One of the greatest achievements the genetic analysis of neuroblastomas has brought about, both point out,*



netische Analyse der Neuroblastome für Hunderte Kinder weltweit eine drastische Therapiereduktion bewirkte respektive eine Operation ohne folgende Chemotherapie ermöglichte – was den Kindern die Nebenwirkungen und Spätfolgen belastender Therapien ersparte.

Peter Ambros forschte in Großbritannien, bevor er als einer der ersten Experten für die St. Anna Kinderkrebsforschung gewonnen werden konnte. Er brachte eine Technologie mit, die in Österreich noch nicht gebräuchlich war: Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, kurz FISH, heißt die Methode, mit der sich Krebsgene farblich markieren lassen. „Das war sozusagen das Entree in Wien“, so Ambros. Anfang der 1990er-Jahre ließen sich die Wissenschaftler Tumoren aus aller Welt schicken und begannen, sie zu studieren, Zelle für Zelle.

Zunächst saßen sie mit ihren Apparaturen im eben erst adaptierten Dachgeschoß des Kinderspitals. Es war ein weiter Weg vom einstigen Besenkammercharme zum gegenwärtigen hochmodernen Institut. Bis zur Jahrtausendwende wuchs der Mitarbeiterstand auf 60 bis 70 Personen, die in nun zehn Gruppen organisiert waren. Nochmals einige Jahre später platzte man im Dachgeschoß aus allen Nähten, weshalb ein eigenes Gebäude für das Forschungsinstitut errichtet wurde, direkt angrenzend ans Kinderspital. Verbunden sind die beiden Komplexe mit einer überdachten und verglasten Brückenkonstruktion, die auch Symbolwert besitzt: Denn die Brücke steht für die enge Verknüpfung von Forschung und deren praktischen Anwendung, was ein essenzieller Anspruch der Wissenschaftler und Mediziner ist.

## Die Suche nach der Achillesferse von Krebs

Peter und Inge Ambros bezogen ebenfalls ein Büro in dem neuen Institutsgebäude, und heute können sie die Ärzte auf der anderen Seite der Brücke längst mit punktgenauen Prognosen darüber beliefern, welcher Krankheitsverlauf bei einem bestimmten Neuroblastom zu erwarten ist. „Unser Ziel war es, die Unterschiede zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren aufzuspüren“, so Ambros.

Ein untrüglicher Parameter für die Gefährlichkeit eines Neuroblastoms ist jenes MYCN-Onkogen, das die Wissenschaftler mithilfe der FISH-Technik analysieren. Kommt es zu einer Vervielfältigung dieses Gens und somit zu einer hohen Anreicherung, muss man von einem sehr aggressiven Verlauf ausgehen. Amplifikation heißt diese Vermehrung, und wenn eine solche stattfindet, „ist Feuer am Dach. Dann ruft man sofort im Spital an und fährt mit dem gesamten therapeutischen Arsenal auf.“ Weiß man um das Vorliegen solch einer Hochrisikovariante, kann mit Zytostatika, einer Knochenmarkstransplantation und zusätzlich einer immunologischen Therapie effektiv gegengesteuert werden. Patienten ohne MYCN-Amplifikation haben hingegen von vornherein eine gute Prognose.

*is a dramatic reduction in therapy or the omission of chemotherapy after surgery, respectively, thus sparing hundreds of children worldwide the side effects and long-term consequences of stressful treatment.*

*From Great Britain, where he did research prior to his assignment at St. Anna Children's Cancer Research Institute, Peter Ambros brought with him a technology then unknown in Austria: fluorescence in situ hybridisation, or FISH for short, a method used to colour-mark cancer genes. "That's how it made its entry on the Vienna stage," says Ambros. Starting in the early 1990s, the researchers collected tumour samples from all over the world, which they began to study cell by cell.*

*The first workplace assigned to them along with their equipment was the newly adapted attic of the children's hospital. There was a long road to be travelled from an ambience with the look and feel of a broom chamber down to the ultra-modern facility of today. By the turn of the millennium, the staff numbers had grown to between 60 and 70 employees, who were organised in ten research groups. After another couple of years, when the attic was bursting at the seams, adjacent to the children's hospital a separate building was erected to accommodate a new research institute. The two complexes are connected by a roofed and glazed bridge, which has also a symbolic value: It stands as a token of the symbiotic relationship between research and its practical application, an essential demand of scientists and medical professionals alike.*

## The search for the Achilles heel of cancer

*Peter and Inge Ambros, too, moved into an office in the newly built institute, and by now it has long become part of their daily work to provide medical professionals across the bridge with precise prognoses about the expected clinical course of a given neuroblastoma. "Our aim has been to establish what distinguishes a benign from a malign tumour," Ambros explains.*

*A clear parameter of the criticality of a neuroblastoma was found to be the mentioned MYCN oncogene, for the analysis of which the researchers use the FISH technology. Thus, a multiplication of this gene resulting in its high accumulation is an indicator of a very aggressive course of disease. Whenever such multiplication – referred to as amplification – occurs, "this will set off all alarm clocks. We will immediately alert the hospital and roll out the entire therapeutic arsenal." Effective countermeasures administered in the case of a high-risk variant include cytostatic drugs, bone marrow transplantation and immunological therapy. For patients without an MYCN amplification, on the other hand, prognosis is principally favourable.*



Allerdings können, wie die Wiener Forscher feststellten, auch bei fehlender MYCN-Amplifikation molekularbiologische Auffälligkeiten im Tumor auftreten, die Anlass zur Besorgnis geben. Dazu zählen DNA-Brüche, Beschädigungen des Genstranges, die ebenfalls auf einen ungünstigen Krankheitsverlauf oder ein erhöhtes Rückfallrisiko hindeuten – und zwar meist bei Kindern, die älter als 18 Monate sind. Bei jüngeren Patienten scheinen DNA-Brüche eine geringere Rolle zu spielen und die Überlebensraten nicht zu schmälern. Dies fand Ambros' Gruppe im Rahmen einer internationalen Genomstudie von Tumorproben heraus, die von mehr als 400 Patienten stammten. Die Experten konnten daraus einen wichtigen Schluss ziehen: „Die Bedeutung genetischer Veränderungen muss abhängig vom Alter und von der klinischen Gesamtbeurteilung betrachtet werden. Im Säuglingsalter gelten andere Regeln, das haben wir erstmals beschrieben. Das ist ein völlig neues Ergebnis.“

So verfeinerten und schärften die Wissenschaftler die Werkzeuge, die eine fundierte und auf einzelne Patienten abgestimmte Prognose über den Fortgang dieser speziellen Krebsform erlauben. Mit immer höherer Gewissheit können Ärzte heute entscheiden, welches Ende der therapeutischen Skala zu wählen ist: abwarten und beobachten oder sofort mit Chemo und Bestrahlung in den Kampf gegen den Krebs ziehen.

Außerdem kommen immer neue Prognosetechniken hinzu, etwa die sogenannte Liquid Biopsy, also Flüssigbiopsie. Der Begriff bezeichnet den Umstand, dass verräterische Krebszellen nicht nur im Tumor selbst zu finden sind, sondern auch ins Knochenmark streuen. In diesem sowie im Blut zirkulieren nicht nur ganze Tumorzellen, sondern auch deren DNA- und RNA-Moleküle – die Erbsubstanz der Tumorzellen. Die Knochenmarks- wie auch die Blutanalyse bieten den enormen Vorteil, dass sie schonende Eingriffe darstellen und eine engmaschige Kontrolle des Tumorge-schehens erlauben. Mit modernsten Verfahren wie DNA- und RNA-Sequenzierungstechniken lassen sich selbst kleinste Veränderungen, die aber von hoher klinischer Relevanz sein können, identifizieren. Übergeordnetes Ziel der Forscher ist es, möglichst viele prognostische Marker zu kombinieren, um immer präzisere Vorhersagen machen zu können, die Krankheit gewissermaßen von allen Seiten zu umzingeln und neue therapeutische Ansätze zu entwickeln.

Überdies liegen inzwischen Befunde darüber vor, welche Faktoren einem Neuroblastom den Schrecken nehmen. So stieß Inge Ambros auf eine erstaunliche Beziehung zwischen Tumor- und sogenannten Schwann-Zellen. Bei Letzteren handelt es sich um auffällig langgezogene Zellen des peripheren Nervensystems. Unter bestimmten genetischen Voraussetzungen kann es dazu kommen, dass Vorläuferzellen des Neuroblastoms Schwann-Zellen anlocken. Wandern nun Schwann-Zellen in den Tumor ein, tragen sie zu seiner Ausreifung bei. Diese Beobachtung stellte einen kompletten Paradigmenwechsel dar. Denn Ambros' Entdeckung widersprach der lange gültigen Lehrmeinung, wonach Schwann-

*Having said that, molecular biological abnormalities giving rise to concern can occur in the tumour even in the absence of MYCN amplification. These include DNA breaks, i.e., damages to the gene strand, which are likewise associated with an adverse course of the disease or an increased risk of relapse. For the most part, they affect children older than 18 months, whereas in younger patients they appear to play a lesser role and do not reduce survival rates. These were the findings obtained by Ambros and his group in the course of an international genome study, in which tumour samples from more than 400 patients were examined. The important conclusion drawn from this was that “the significance of genetic changes must be viewed in relation to age and overall clinical assessment. Infancy is determined by its own rules, a fact that we were the first to describe. This is a completely new result.”*

*On that basis the researchers set about to refine and sharpen their tools to allow for a well-founded and individually tailored prognosis on the progress of this special form of cancer. And so it is with ever greater certainty that doctors will make their decisions for either of the ends of the therapeutic scale – watchful waiting or immediate intervention with chemo and radiation.*

*The preciseness of prognosis is being further advanced by the continuous emergence of new techniques. One of them is a method called Liquid Biopsy, with the name referring to the fact that telling cancerous cells, apart from occurring in the tumour itself, may spread into the bone marrow. And it is not only entire tumour cells but also their DNA and RNA molecules – their genetic material – that circulate in both the bone marrow and in the blood. Bone marrow and blood analysis offer the tremendous advantage that both are relatively small interventions which, at the same time, enable close control of the tumour development. Using state-of-the-art procedures such as DNA and RNA sequencing techniques, even the smallest changes – that can nonetheless be of high clinical relevance – may be identified. The researchers' overall goal is to combine as many prognostic markers as possible with a view to making increasingly precise predictions. This way, it is hoped, it will be possible to encircle the disease from all sides, so to say, paving the way to new therapeutic approaches.*

*In the meantime, moreover, factors have been established that might make neuroblastoma less frightening. Concretely speaking, it was Inge Ambros's discovery of an amazing relationship between tumour cells and so-called Schwann cells. These are conspicuously elongated cells of the peripheral nervous system, which under certain genetic conditions may be attracted by precursor cells of the neuroblastoma. In case they actually migrate into the tumour, they will contribute to its maturation. This observation was to bring about a complete paradigm shift – after all, it contradicted the long-held belief that Schwann cells were also tumour cells. If the maturation process could be initiated in a controlled manner, this*

Zellen ebenfalls Tumorzellen seien. Dies könnte die Basis für neue therapeutische Ansätze bilden, wenn es gelingt, den Prozess des Ausreifens gezielt anzustoßen.

Noch eine weitere bedeutende Erkenntnis stammt aus der Forschergruppe: Auch Tumorzellen altern. Traditionell gilt eine bemerkenswerte Fähigkeit von Tumorzellen als Hauptübel von Krebs: Sie scheinen einfach nicht zu altern. Normale Körperzellen altern, indem sich die Enden der Chromosomen, die Telomere, allmählich verkürzen. Aus diesem Grund ist der Mensch im Lauf seines Lebens typischen Alterungsprozessen unterworfen. Krebszellen jedoch schienen davon verschont zu sein. Weil sie offenbar Strategien entwickelt haben, um der Telomerverkürzung zu entgehen, sah es lange aus, als ob sie fast ewiges Leben besäßen – oder zumindest ein deutlich längeres als andere Zellen, was dem Krebs einen enormen Vorteil verschafft.

Doch dann stießen die Wiener Forscher auf ein erstaunliches Phänomen: „Uns ist aufgefallen, dass einzelne Tumorzellen auffällig anders aussahen als andere“, berichtet Inge Ambros. Diese Zellen waren besonders groß, regelrecht runzelig, und von einer MYCN-Amplifikation, die ihre jugendlichen Gegenstücke aufwies, gab es keine Spur. Die Wissenschaftler hatten ganz offensichtlich die Senioren unter den Krebszellen vor sich. Haben sie damit eine weitere Möglichkeit für eine Therapie entdeckt? Genau das ist die Hoffnung: „Es geht darum, die Achillesferse der Tumoren zu identifizieren und den wunden Punkt präzise anzuvisieren“, sagt Ambros.

Ein Ansatz für eine mögliche Behandlung der Zukunft nimmt bereits Konturen an: Die Forscher konnten zeigen, dass bestimmte Medikamente die Zellalterung anstoßen und vorantreiben, und zwar ganz gezielt nur jene von Tumorzellen. „Sabine Taschner-Mandl, langjährige Mitarbeiterin unserer Gruppe, hat das an Mäusen getestet. Die Mehrzahl von ihnen hat auf die Therapie angesprochen. Das ist bemerkenswert, weil es sich um niedrige Dosen bei einem sehr aggressiven Tumor gehandelt hat“, berichtet Ambros. Der nächste Schritt ist nun, diese sogenannte metronomische Behandlung in einer klinischen Pilotstudie zu testen.

## Auf dem Prüfstand: Klinische Studien, eine Wissenschaft für sich

Wenn Ruth Ladenstein Vorträge hält, bringt sie gerne folgenden Vergleich: „Hätte ich als Kind Leukämie bekommen, hätte ich ein paar Monate zu leben gehabt. Heute hätte ich eine Überlebenschance von mehr als 90 Prozent.“ Mit diesem Beispiel will die Ärztin den enormen Fortschritt in der Krebsmedizin deutlich machen. Und der fußt nach ihrer Überzeugung nicht zuletzt auf einer strengen, objektiven und breitflächigen Prüfung neuer Medizin. Ladenstein ist Leiterin der Gruppe Studien und Statistik. Für die internationale Präsentation der Gruppe hat man das Kürzel S2IRP gewählt: Studies & Statistics Integrated Research & Projects.

*might form the basis for new therapeutic approaches.*

*Finally, the research group obtained an important finding concerning the ageing of tumour cells. According to the traditional view, what makes cancer such a challenge is a remarkable characteristic of tumour cells – they simply do not seem to age. Normal body cells age as a result of the gradual shortening of the ends of the chromosomes, the telomeres, which is why humans in the course of their lives are subject to typical ageing processes – a fate that cancer cells appeared to be spared. Apparently having developed strategies to avoid telomere shortening, they were long believed to have an almost eternal life – or at least a much longer life than other cells, giving cancer a tremendous advantage.*

*But then the Vienna-based researchers came across an astounding phenomenon: “We noticed that some tumour cells looked conspicuously different than others,” says Inge Ambros. These cells were particularly large and wrinkly, and, unlike their counterparts, did not carry any trace of MYCN amplification. Obviously, the scientists had found the seniors among the cancer cells. Will this discovery open up yet another avenue for therapy? Well, that is precisely what is hoped: “It is all about identifying the tumours’ Achilles heel, which might then be targeted in a precise manner,” according to Ambros.*

*One approach towards future treatment is already taking shape, after certain drugs could be shown to trigger and advance cell ageing, notably only in tumour cells. “A member of our group for many years, Sabine Taschner-Mandl, has tested this on mice, and the majority would respond to the therapy. This is remarkable, given the low dosage and the aggressiveness of the tumour,” Ambros notes. The next step will be the testing of this so-called metronomic treatment in a clinical pilot study.*

## On the test bench: clinical studies, a science in its own right

*In her lectures, Ruth Ladenstein almost never misses drawing the following comparison: “Had I been affected by leukaemia as a child, I would have left to live another few months. Today, my chance of survival would be more than 90 percent.” By citing this example, the physician wants to convey an idea of the immense progress cancer medicine has achieved over the past decades – a progress which, as she is deeply convinced, is based not least on a strict, objective and broad-based examination of new medicines. Ladenstein is the head of the Studies and Statistics Group, which for the purpose of international*

Mit mehr als einem Dutzend Mitarbeitern beschäftigt sich Ladenstein mit der Planung und Umsetzung großer klinischer Studien. Wann immer Forscher ein neues Präparat entwickeln oder eine vielversprechende Therapie entwerfen, ist Ladenstein bestrebt, die Wirksamkeit solcher Innovationen sorgfältig und umfassend zu testen – im Rahmen großer, kontrollierter, internationaler Studien. Besonders in der Kinderkrebsmedizin sei es erforderlich, länderübergreifend zu agieren. Denn Krebs bei Kindern ist glücklicherweise selten. An einem Neuroblastom erkranken in Österreich beispielsweise fünf bis acht Kinder jährlich. „Die Fallzahlen sind viel zu gering für solide Studien nach heutigen Standards“, sagt Ladenstein. Will man aussagekräftige Daten über die Wirksamkeit einer neuen Substanz, muss man Patienten aus anderen Staaten einbinden, um in Summe eine hinlänglich große Probandenzahl zu erhalten.

Bei mehreren Themenbereichen laufen sogar alle Fäden in Wien zusammen: In diesen Sparten koordiniert Ladensteins Gruppe die globalen Studienreihen. Federführend ist die Gruppe Studien und Statistik etwa bei Untersuchungen der Stammzelltherapie zur Behandlung der akuten lymphoblastischen Leukämie. Dabei zeigte sich unter anderem, dass Fremdspender ebenso gut geeignet sein können wie Geschwister, was den Kreis potenzieller Spender beträchtlich erweitert. Als Studienzentrale fungiert Wien weiters bei der Beforschung von Therapien gegen besonders risikoreiche Neuroblastome sowie gegen Langerhans-Zell-Histiozytose, eine Erkrankung, die den sogenannten Langerhans-Zellen, Zellen aus dem Knochenmark, entstammt.

Auf internationaler Ebene agiert Ladenstein auch als Koordinatorin des Europäischen Referenznetzwerks für Kinderkrebs, das darauf abzielt, Kindern ungeachtet ihrer Staatsangehörigkeit leistbare Krebsbehandlungen von gleichermaßen hoher Qualität zuteilwerden zu lassen. Solche Referenznetzwerke, Initiativen der Europäischen Union, sind Zusammenschlüsse von spezialisierten Kliniken aus ganz Europa, sie sollen die Expertise in definierten Fachgebieten bündeln und dazu beitragen, die medizinische Versorgung im grenzüberschreitenden Verbund zu verbessern.

Die bisherige Bilanz des Teams um Ladenstein ist jedenfalls beachtlich: Unter Patronanz oder Beteiligung der Wiener Forschergruppe laufen oder liefen gut 50 Studien mit mehr als 10.000 Patienten aus aller Welt, und Ladenstein ist überzeugt, dass aufwendige, multizentrische Studienreihen ein unverzichtbares Instrument im Kampf gegen den Krebs sind. Denn ein Durchbruch im Labor mag Wissenschaftler begeistern, und erste Versuchsreihen an Zellkulturen mögen die Hoffnung auf neue therapeutische Waffen schüren – doch erst langjährige Studien nach strengsten Regeln, die hohe Zahlen an Patienten einschließen, erbringen verlässliche Hinweise darauf, ob ein Medikament tatsächlich hält, was es verspricht; ob man also von erwiesener Wirksamkeit reden und daran denken darf, das Präparat im klinischen Alltag einzusetzen. Oberste Maxime ist: Nichts anderes als der pure Wirkstoff selbst darf Effekte zeitigen, und das muss

*presentation is referred to by the abbreviation S2IRP, i.e., Studies & Statistics for Integrated Research & Projects.*

*Supported by a team of more than a dozen employees, Ladenstein oversees the planning and implementation of large clinical trials. Whenever a new drug has been developed, or a promising therapy has been designed, it is Ladenstein's concern to carefully and comprehensively test the efficacy of such innovation within the framework of a large, controlled, international study. International collaboration is particularly important in paediatric cancer medicine – notably because cancer in children is fortunately rare, with Austria, for example, recording five to eight incidences of neuroblastoma per year. “The number of cases is much too low to serve as the basis of solid studies according to current standards,” Ladenstein explains. Therefore patients from other countries have to be included to obtain sample sizes that are sufficient for the extraction of meaningful data on the efficacy of a new substance.*

*There are a number of areas in which Ladenstein's group even pulls the strings in a way, notably those in which they perform the function of coordinator of global clinical studies. Thus, the group has had a leading role in investigations into stem cell therapy as a way of treatment of acute lymphoblastic leukaemia; these revealed, among other things, that unrelated donors of stem cell may be just as suitable as siblings, which considerably expands the pool of potential donors. Vienna also serves as the study centre for the research into therapies both for particularly high-risk neuroblastomas and Langerhans cell histiocytosis, a disease originating from the so-called Langerhans cells, which are situated in the bone marrow.*

*At the international level, Ladenstein also acts as the coordinator of the European Reference Network for Childhood Cancer, which aims to provide children with affordable, high-quality cancer treatment regardless of their nationality. Initiated by the European Union, these reference networks bring together specialised clinics from all over Europe for the purpose of bundling expertise from defined areas in a cross-border effort to continuously improve the quality of medical care.*

*Indeed Ladenstein's team can point to a long list of achievements: Under the patronage or with participation of the group, well over 50 studies involving more than 10,000 patients from all over the world have been completed or are currently underway. Ladenstein is in no doubt about the indispensability of complex, multi-centre studies as a weapon in the fight against cancer. Because while it is true that a breakthrough in the laboratory may inspire scientists, and first series of experiments on cell cultures may fuel hopes for new therapeutic tools, only long-term studies complying with the strictest rules and including high numbers of probands can provide reliable evidence as to whether a drug actually delivers what it promises, i.e., whether there is proven efficacy that would justify its use in day-to-day clinical*

nach den rigorosen Vorschriften der modernen medizinischen Forschung lückenlos dokumentiert werden.

Ladenstein tastet sich behutsam und etappenweise an die optimale Behandlungsstrategie heran. Das Prinzip: Man wendet eine bewährte Standardbehandlung an und ergänzt diese um einzelne Module. Das bedeutet, dass man einen oder mehrere neue Wirkstoffe hinzufügt und über die Jahre auslotet, was am besten funktioniert. Es ist eine flexible, dynamische Vorgangsweise: Gleichsam im Hintergrund, wie ein pharmakologisches Sicherheitsnetz, läuft die Standardbehandlung, und an diese dockt man schrittweise die zu testenden Substanzen an – oder nimmt wieder welche weg, wenn sie nicht den Erwartungen entsprechen, und ersetzt sie durch andere. „Das wird mit der Zeit eine Art selbstlernendes System“, sagt Ladenstein. „Man fügt hinzu oder lässt weg und vergleicht das Resultat immer mit der bisherigen Standardtherapie.“ Übertrifft die Wirksamkeit eines neuen Präparats alle Erwartungen, kann es allerdings auch vorzeitig zum Einsatz kommen. Erweisen sich indes zwei Therapien als gleich gut, führt man jene fort, die weniger Nebeneffekte hervorruft.

Ein jüngeres Ergebnis einer erfolgreich abgeschlossenen Studie ist ein Antikörper, der Hochrisikovarianten von Neuroblastomen ins Visier nimmt und inzwischen von der Europäischen Arzneimittelagentur EMA zugelassen wurde. Seit Februar 2018 ist diese neue Immuntherapie auch in Österreich verfügbar. Große Studien können aber ebenso darauf abzielen, Daten über längere Zeiträume zu verfolgen, um den Krankheitsverlauf unter Beobachtung zu halten und die Gefahr von Sekundärerkrankungen einzudämmen. So kann Bestrahlung im Kindesalter zu einem erhöhten Risiko für Brustkrebs führen, berichtet Ladenstein, und es sei natürlich von eminenter Bedeutung, dies im Auge zu behalten: „Oberste Prämisse ist immer, das Überleben zu sichern.“

Langzeitbeobachtungen sind auch ein wertvoller Rohstoff. Zusammen mit anderen Erkenntnissen aus der klinischen Forschung können sie in Wissensdatenbanken eingespeist werden, die über die Jahre immer weiter wachsen und wichtige Informationsquellen darstellen. Die Gruppe Studien und Statistik versteht sich ganz bewusst auch als Datenzentrale und als Informationsdrehscheibe, die neues Wissen aus nationalen wie internationalen Studien zusammenführt und für die Fachwelt verfügbar macht. Derartige Services erleichtern und beschleunigen die Forschung ungenügend: Quasi auf Knopfdruck können Mediziner prüfen, was die Kollegen in anderen Kliniken oder anderen Ländern bereits herausgefunden haben. Dies bedeutet schnellen Zugriff auf immer mehr vernetztes Wissen über relevante Forschungsergebnisse – und unterstreicht neuerlich den Stellenwert von Big Data in der Medizin.

Und auch an Ladensteins Aufgabenbereich zeigt sich eindrucksvoll, was sich in den vergangenen drei Jahrzehnten verändert hat. Sie kann sich noch an Zeiten erinnern, als Studien auf handgeschriebenen Zetteln dokumentiert wur-

*practice. In this respect the maxim will apply that there must be no effects other than those of the active substance itself, and this must be fully documented in accordance with the stringent regulations of modern medical research.*

*In searching out the optimal treatment strategy, Ladenstein proceeds circumspectly and step by step, guided by the principle that the treatment being applied is one based on a proven standard that will be supplemented with individual modules. This way, one or more new active substances will be added in order to find out, in a years-long process, which work best. This is a flexible, dynamic approach: In the background the standard treatment is run, serving as a sort of pharmacological safety net, onto which gradually the substances to be tested are added – or, if they do not meet expectations, removed and replaced by others. “Over time, this becomes sort of a self-learning system,” says Ladenstein. “You keep adding or taking away, always comparing the result with the current standard therapy.” Should the efficacy of a new drug exceed all expectations, its admission may be accelerated. If two therapies prove equally good, tests will be continued on the one that produces fewer side effects.*

*One result of a successfully completed study obtained most recently is an antibody targeting high-risk variants of neuroblastomas, which in the meantime has passed approval by the European Medicines Agency (EMA) and since February 2018 is also available in Austria. Another category of large-scale studies are those aimed at long-term monitoring of data in order to keep track of the course of a disease and to curb the risk of secondary diseases. Given, for example, that exposition to radiation in childhood carries an increased risk of breast cancer, it is essential to keep an eye on this, Ladenstein says: “The top priority is always to safeguard survival.”*

*Moreover, long-term observations provide valuable raw material. In combination with other findings from clinical research they can be fed into knowledge data bases that over the years will grow to constitute important sources of information. In fact, the Studies and Statistics Group makes a point of serving also as a data centre and information hub that brings together and makes available to experts new findings derived from both national and international studies. Services like these bring an enormous boost for research, allowing physicians as if at the push of a button to review the discoveries made by their colleagues in other clinics or other countries. This means fast access to more and more networked knowledge about relevant research results – and once again underlines the importance of Big Data in medicine.*

*Ladenstein's field of activities, too, is an impressive exemplification of the changes brought about over the last three decades. She still remembers the times when studies*



den, pro Patient gab es gerade mal ein Blatt. „Es war alles sehr rudimentär“, sagt sie. Mitte der 1990er-Jahre etablierte sie ihre Arbeitsgruppe, und Schritt für Schritt hielt Professionalisierung Einzug. Studien wurden mit immer mehr System und Methode erdacht und umgesetzt – bis hin zur heute gängigen Praxis: Jede Studie ist ein strikt durchorchestriertes Großprojekt, und die Abwicklung gehorcht Normen und Regeln, die im Grunde eine Wissenschaft für sich darstellen.

In den Aufbaujahren gewannen die Forscher auch Erkenntnisse, die aus heutiger Sicht naheliegend erscheinen mögen, zunächst aber durchaus nicht selbstverständlich waren. Zum Beispiel: Kinder sind keine kleinen Erwachsenen. Es war ein Paradigmenwechsel, als man erkannte, dass man Daten aus Studien mit erwachsenen Probanden nicht einfach auf Kinder übertragen kann, weil deren Körper eben vielfach anders funktionieren. „Es sind daher eigene Studien notwendig, um die besten Diagnose- und Therapiemethoden zu untersuchen“, sagt Ladenstein.

## Auf der Spur einer rätselhaften Krankheit

Wissenschaftler betreten ständig Neuland, erschließen vormals unbekanntes Terrain und hinterfragen dabei bisher gültige Annahmen. Dies trifft auch auf das Spezialgebiet von Caroline Hutter zu. Die Medizinerin und Biochemikerin leitet das 2017 gegründete LCH-Labor. Die Abkürzung LCH steht für Langerhans-Zell-Histiozytose – jene Erkrankung, von der schon bei der Gruppe Studien und Statistik die Rede war.

Langerhans-Zell-Histiozytose ist nicht nur ein seltenes, sondern zudem ein höchst rätselhaftes Leiden, berichtet Hutter, die im Kinderspital arbeitete und zunächst in ihrer Freizeit Forschung betrieb, bevor ihre eigene Gruppe eingerichtet wurde. „Man weiß immer noch wenig darüber, es gibt zahlreiche weiße Flecken“, sagt Hutter. Lange war die Fachwelt sogar uneins, ob es sich überhaupt um Krebs oder womöglich einen Immundefekt handelt. „Mittlerweile herrscht Konsens, dass es eher eine Krebsform ist“, so Hutter.

Typisch ist eine tumorähnliche Ansammlung von Immunzellen, die zum Beispiel Knochen beeinträchtigen – und buchstäblich zersetzen und auflösen können. Dies kann an nur einer Stelle des Körpers geschehen oder aber an mehreren und auch verschiedene Organe betreffen, weshalb zwischen single- und multisystemischen Formen unterschieden wird. Welche Variante vorliegt, ist essenziell für den weiteren Verlauf: Ist nur eine Stelle betroffen, verschwindet die Krankheit oft ebenso schnell wieder von selbst wie sie aufgetaucht ist, und die lädierte Körperregion heilt einfach aus. Beispielsweise tritt Langerhans-Zell-Histiozytose häufig am Schädelknochen auf und wird dabei leicht mit einer simplen Beule verwechselt. Aus diesem Grund dürfte es

were documented as handwritten notes, with only one sheet completed per patient. “Everything was very rudimentary,” she recalls. With the establishment of her working group in the mid-1990s, step by step professionalisation began to take foothold. Studies came to be conceived and implemented using a growing variety of systems and methods – right up to the current practice when every study is a strictly orchestrated large-scale project, whose execution is governed by norms and rules that are a science in themselves.

It was also in the early years that the researchers arrived at findings that from today's point of view may seem obvious, but initially were far from being generally accepted – for example, that children are not small adults. The recognition that data from studies involving adult participants cannot simply be transferred to children because their bodies function differently in many respects ushered in a paradigm shift. “This is why in order to investigate the best diagnostic and therapeutic methods we have to conduct our own studies,” says Ladenstein.

## On the trail of a mysterious disease

Scientists are constantly breaking new ground, opening up unknown territory, and challenging previously valid assumptions. This also applies to Caroline Hutter and her field of study. The physician and biochemist heads the LCH Laboratory, which was founded in 2017. The abbreviation LCH stands for Langerhans cell histiocytosis, the disease already mentioned in connection with the Studies and Statistics Group.

Langerhans cell histiocytosis is not only a rare but also a highly mysterious ailment, says Hutter, who worked in the children's hospital and started to conduct research in her spare time before her own group was set up. “Our knowledge is still rather limited, with numerous blank spots left to be filled,” Hutter admits. In fact, until recently experts even were at odds over whether it is actually cancer or rather an immunodeficiency. “There is now a consensus that it is a form of cancer,” says Hutter.

Typical of the disease is a tumour-like accumulation of immune cells that affects, for example, bones, literally decomposing and dissolving them. It may present either in a single body site or in a number of different organs, which is why a distinction is drawn between single and multi-systemic forms. The further course will essentially depend on which variant is present: If limited to one site, the disease may disappear just as quickly as it occurred, resulting in complete recovery of the respective body region. In fact, because it often affects the cranial bone, Langerhans cell histiocytosis can easily be mistaken for an ordinary bump. This makes it likely that many cases remain undetected, with the share of those affected being

eine gewisse Dunkelziffer an nicht erkannten Fällen geben – und es könnten mehr Personen betroffen sein als bloß fünf unter einer Million, wie die offiziellen Statistiken nahelegen.

Sind Ärzte hingegen mit einer multisystemischen Form konfrontiert, treten die problematischen Zellansammlungen beispielsweise auf der Haut, an Knochen und im Gehirn auf, und dann ist die Situation weitaus dramatischer. Mediziner müssen in diesen Fällen mit Chemotherapie intervenieren, wobei sie zuerst mit milden Dosen starten und die Therapie im Bedarfsfall steigern.

Doch woher weiß man, mit welchem Verlauf der Krankheit zu rechnen ist? Die unbefriedigende Antwort lautet: Man weiß es momentan noch gar nicht, es gibt keine verlässlichen Hinweise, welche Entwicklung zu erwarten ist. Und die Ungewissheiten sind noch tiefgreifender: Unbekannt ist auch, woher LCH eigentlich kommt. Insofern ist die Bezeichnung Langerhans-Zell-Histiozytose vielleicht sogar irreführend.

Diesen Rätseln will Caroline Hutter nun auf die Spur kommen. „Wir wollen herausfinden, was überhaupt die Ursache der Krankheit ist. Und wir wollen wissen, wodurch sich die beiden Krankheitsformen unterscheiden. Es muss schließlich eine biologische Erklärung für die verschiedenen Formen geben“, sagt Hutter. „Wir suchen daher nach den Mechanismen, die zur Entstehung dieser Krankheit führen. Außerdem wollen wir Marker finden, die Aufschluss über den Verlauf geben.“

Einen vielversprechenden Ansatz haben die Forscher im Labor schon etabliert: eine Nachweismethode, die verrät, ob im Blut LCH-spezifische Mutationen zu finden sind. Konkret richtet Hutter den Blick auf einen genetischen Marker namens BRAF-V600E, der auffallend oft bei Kindern entdeckt wird, die unter der multisystemischen Form von Langerhans-Zell-Histiozytose leiden. Nun haben es Hutter und ihr Team zuwege gebracht, diesen Marker zu quantifizieren: zu messen, wie hoch dessen Konzentration im Blut eines kleinen Patienten ist. „Unsere Idee ist, den Marker auf dieser Basis zu entwickeln“, so Hutter. Die ermittelte Menge von BRAF-V600E könnte somit als Gradmesser für die Prognose dienen. Außerdem könnte sich der Therapieerfolg daran ablesen lassen, dass die Konzentration des Markers allmählich absinkt. Regelmäßige Messungen während der Behandlung könnten den Ärzten hier wertvolle Informationen liefern.

Noch freilich steht Hutter ziemlich am Beginn ihrer Bestrebungen, und gewiss werden immer wieder verzwickte Fragen den Weg versperren – doch das ist schlichtweg typisch für hochkomplexe Forschung an ebenso komplizierten Krankheitsbildern. Bei den Leukämien dauerte es immerhin Jahrzehnte, bis die Wissenschaftler die heutigen, beeindruckenden Heilungsquoten erzielten.

*considerably higher than just five out of one million, as official statistics suggest.*

*The situation is far more dramatic with the multi systemic variant of the disease, when cell accumulations occur, for example, on the skin, on bones, or in the brain. Such cases require intervention with chemotherapy, starting with small doses that are gradually increased if necessary.*

*However, how is it known that the disease will proceed in this or that way? The unsatisfactory answer is that at the moment there is no knowing whatsoever, there are no reliable clues as to the expectable development. To make matters worse, it is not even known where LCH actually originates – from which it follows that the designation Langerhans cell histiocytosis might well be misleading.*

*These are the mysteries Caroline Hutter is determined to unveil. “First and foremost, we want to reveal the very cause of the disease. And we also want to find out what it is that distinguishes the two forms of the disease. After all, there must be a biological explanation for the different forms,” says Hutter. “We therefore seek to identify the mechanisms triggering the disease. Finally, we want to find markers that provide information about its course.”*

*One promising approach already implemented in the laboratory is the utilisation of a detection method to check the blood for the presence of LCH-specific mutations. In concrete terms, Hutter has placed her focus on a genetic marker called BRAF-V600E, which is markedly frequently found in children affected by the multisystemic form of Langerhans cell histiocytosis. Recently, Hutter and her team succeeded in quantifying this marker, i.e., in measuring its concentration in the blood of little patients. “Now the idea is to develop the marker on that basis,” Hutter explains. This way, the determined amount of BRAF-V600E could serve as a measure of prognosis. More over, the success of therapy could be rated in terms of a gradual decrease of the concentration of the marker. Then regular measurements during treatment might provide doctors valuable information.*

*Still Hutter’s efforts are pretty much at the beginning, and certainly tricky questions will continue to stand in her way – which is, by the way, quite typical of highly complex research into likewise complex diseases: In the case of leukaemias, it took scientists decades to achieve the impressive cure rates seen today.*

## Wachsen oder wandern: Krebs, ein trickreicher Bösewicht

Auch Heinrich Kovar weiß genau, wie knifflig es sein kann, den Auslösern von Krebs bei Kindern nachzuspüren. Bei Erwachsenen scheint die Sachlage relativ nachvollziehbar: Tausende, über Jahrzehnte angesammelte Mutationen im Erbgut können ab einem gewissen Alter zur Ausprägung von Tumoren führen – ein gemächlich ablaufender Prozess, der in den paar Jahren, auf die ein Kind zurückblicken kann, eben noch nicht stattgefunden haben kann. „Deshalb dachte man lange Zeit, Kinderkrebs müsste leichter zu verstehen sein. Doch das war ein Irrtum“, sagt Kovar. Der Molekularbiologe und langjährige Wissenschaftliche Leiter der St. Anna Kinderkrebsforschung befasst sich mit einer seltenen, aber extrem bösartigen Krebsform: mit dem Ewing-Sarkom, einem soliden Tumor, der meist die Knochen befallt. Fünf bis acht Kinder jährlich sind in Österreich betroffen. Die langfristige Überlebensrate bei diesem aggressiven Tumor beträgt lediglich 50 bis 60 Prozent.

Ähnlich wie Erwin Senoner, der Salzburger Zahnarzt, der sich ganz wesentlich um die Basisfinanzierung des Forschungsinstituts kümmerte, hatte auch Kovar einen sehr persönlichen Grund, sich in der Krebsmedizin zu engagieren: Sein Bruder erkrankte an einem Ewing-Sarkom und verlor den Kampf. Seit drei Jahrzehnten arbeitet Kovar nun daran, die Ursachen und Mechanismen dieser Tumorerkrankung zu entschlüsseln. Enorm viel hat sich in dieser Zeit verändert. Ging man früher von einem relativ statischen Geschehen aus, von immer gleichen Fehlern in der genetischen Gebrauchsanweisung, sieht man Krebs heute eher als dynamisches, bewegliches und veränderliches System. Und der Blick darauf ist viel schärfer und detaillierter als je zuvor: „Früher hat man nur den Wald gesehen, heute sehen wir auch die einzelnen Bäume darin“, vergleicht Kovar. Möglich machen das die moderneren Analysetechnologien wie Next Generation Sequencing, die in kurzer Zeit und zu verhältnismäßig geringen Kosten die Dechiffrierung ganzer Genome erlauben.

Als Kovar mit seiner Forschung begann, stellte sich die Lage gänzlich anders dar. Das Humangenom war Terra incognita, Genetik ein langwieriges Unterfangen, und im Gegensatz zu heute interessierte sich international kaum jemand für das seltene Ewing-Sarkom, den zweithäufigsten Knochentumor bei Kindern. „Als ich begonnen habe, ließen sich die Forscher auf diesem Gebiet an den Fingern einer Hand abzählen“, berichtet der Molekularbiologe.

Kovar bestellte buchstäblich Neuland: Buchstabe für Buchstabe des genetischen Alphabets musste einzeln aus gelesen werden. In mühevoller Kleinarbeit erstellten er und seine Kollegen eine DNA-Bibliothek, ein molekulares Archiv, das bei der Identifizierung von Abschnitten im Erbgut half, welche die Information für sämtliche Tumorproteine enthalten. Spezielle Viren in der Bibliothek, sogenannte Bakteriophagen, ließen sich dazu einspannen, wichtige Gensequenzen

## Growing or spreading: cancer, a cunning villain

Heinrich Kovar, too, is well aware of the intricacies involved in tracing the causes of cancer in children. As for adults, the situation seems relatively clear-cut: At a certain age, thousands of genetic mutations accumulated over decades may form into tumours – a creeping process that cannot possibly have taken place in the few years a child can look back on. “This is why it was long believed that childhood cancer should be easier to understand. That was a mistake,” Kovar notes. The molecular biologist and long-standing scientific director of St. Anna Children's Cancer Research Institute has specialised in a rare but extremely malignant form of cancer: Ewing's sarcoma, a solid tumour predominantly affecting the bones. In Austria, the number of children afflicted per year amounts to five to eight, with the long-term survival rate being merely 50 to 60 percent.

Like Erwin Senoner, the dentist from Salzburg who went great lengths in securing the basic funding of the research institute, Kovar also had a very personal reason for engaging in cancer research: His brother had become ill with and ultimately succumbed to Ewing's sarcoma. Meanwhile, it has been three decades since Kovar went about deciphering the causes and mechanisms of the disease, a period of time that has witnessed dramatic changes. While events were long considered to be relatively static, with the genetic “instruction manual” always featuring the same errors, nowadays cancer is looked at as a dynamic and mobile system subject to alterations. And it is looked at in a much more focused and detailed manner than ever before: “Back then, we only saw the forest, today we also see the individual tree,” as Kovar puts it. This has been made possible by cutting-edge analysis technologies such as Next Generation Sequencing, thanks to which entire genomes can be sequenced within short time and at relatively low cost.

What a difference compared to the time at which Kovar first took up research! The human genome was terra incognita, genetics a protracted undertaking and, unlike today, international interest in the rare Ewing's sarcoma, the second most common bone tumour in children, was close to zero: “When I started, those doing research in this field could be counted on the fingers of one hand.”

Having literally entered uncharted territory, where the genetic alphabet had to be read out letter by letter, Kovar and his colleagues in a painstakingly detailed effort created a DNA library, a molecular archive designed to help identify the sections of the genome in which the information on all tumour proteins is contained. Special viruses present in the library, so-called bacteriophages, could be “persuaded” to multiply important gene sequences of tumours and to present their protein products, i.e., point at them, so to say. Based on this molecular archive, the researchers





zen von Tumoren zu vermehren und ihre Proteinprodukte zu präsentieren, also gleichsam auf sie zu zeigen. Auf Basis dieses molekularen Archivs gelang es, das erste immunologische Merkmal des Ewing-Sarkoms, das Oberflächenprotein CD99, zu ermitteln sowie, gemeinsam mit französischen Forschern, den Verantwortlichen für die Entstehung des Ewing-Sarkoms zu identifizieren: EWS-FLI1, ein entartetes Fusionsprotein, das bei mehr als 90 Prozent aller Ewing-Sarkome vorliegt. „Diese Mutation ist daher das optimale therapeutische Ziel“, sagt Kovar.

Gewonnen ist damit leider trotzdem noch nicht viel. Denn man kann die Aktivität von EWS-FLI1 zwar herunterregulieren. Dann jedoch entfaltet sich eine Eigenschaft, die ein wenig an die Wahl zwischen Teufel und Beelzebul erinnert: Das Gen verfällt in eine Art Schlummerzustand, zugleich aber steigt die Neigung zur Migration. Das bedeutet, der Krebs beginnt vermehrt im Körper zu wandern, was die Bildung von Metastasen begünstigt. „Der Schuss kann also nach hinten losgehen“, erklärt Kovar, der die Situation gerne mit typischen Szenen eines Actionfilms vergleicht: Der Bösewicht wird zigfach niedergestreckt, steht jedoch immer wieder auf und kehrt schrecklicher und brutaler als zuvor auf die Handlungsbühne zurück. Diese unangenehme Strategie von Krebs heißt Plastizität: Entweder er wuchert wie wild oder aber er bremst das Wachstum, beginnt stattdessen jedoch zu wandern. „Ideal wäre natürlich, das optimale genetische Target anzuvisieren und gleichzeitig etwas gegen die Wanderungsfähigkeit der Tumorzellen zu unternehmen“, so Kovar.

Aktuelle Studien der Forschergruppe zielen nun darauf ab, diese Ausbreitung zu unterbinden. Ausgangspunkt ist der Umstand, dass Tumorzellen für ihre Wanderung eine Umformung ihres „Skeletts“ benötigen, das die Zellen mittels chemischer Substanzen aufbauen. „Wir wollen verstehen, wie die Signalkette funktioniert, die zur Skelettbildung führt“, sagt Kovar. Glückt dies, könnte man die Kette vielleicht kappen – und die gefürchtete Ausbreitung der Tumorzellen im Körper stoppen.

Trotz aller Bemühungen stellt das Ewing-Sarkom die Forscher immer noch vor Rätsel. Beispielsweise ist nach wie vor unbekannt, wo im Körper es überhaupt entsteht, was also das Ursprungsgewebe ist. Kovar: „Man weiß eigentlich nicht, wo dieser Krebs herkommt.“ So arbeiten sich die Wissenschaftler Stück um Stück voran, um die Krankheit von vielen Seiten einzukesseln. Erst unlängst konnte Eleni Tomazou aus Kovars Team nachweisen, dass die Epigenetik entscheidenden Einfluss auf das Krebsgeschehen hat. Epigenetische Veränderungen hinterlassen keine Spuren im Genstrang, sie sind vielmehr dafür verantwortlich, Programme im Erbgut zu aktivieren oder zu deaktivieren. „Es ist, als ob man Türen öffnen oder schließen würde“, beschreibt Kovar. Eine dieser epigenetischen Variationen heißt DNA-Methylierung, und die Forscher konnten zeigen, dass das Ewing-Sarkom mit einem einzigartigen Muster solcher chemischer Veränderungen einhergeht. Überdies dürfte die Epigenetik erklären, weshalb das Ewing-Sarkom

succeeded in establishing the first immunological feature of Ewing's sarcoma, the surface protein CD99, and, in conjunction with French researchers, in singling out the activator of Ewing's sarcoma: EWS-FLI1, a degenerate fusion protein present in more than 90 percent of all Ewing's sarcomas. „This makes this mutation the optimal therapeutic target,“ says Kovar.

Alas, this will do little to make a difference. Down-regulation of the activity of EWS-FLI1, desirable as it may be, will lead to the appearance of a characteristic which, in a way, evokes the Scylla and Charybdis metaphor: Falling into a sort of slumber, the gene, at the same time, will develop an increased migration tendency. In other words, cancer will start travelling inside the body, thereby aiding the formation of metastases. „So this may backfire,“ Kovar notes, referencing a topos typical of an action film for illustration: No matter how many times the villain is struck down, he would always get back on his feet, re-entering the scene even more brutalised and terrifying. This nasty strategy of cancer is called plasticity, a term that denotes the fact that it either proliferates wildly, or slows down growth, but begins to travel. „Of course it would be ideal to single out the optimal genetic target and, at the same time, stymie the tumour cells' ability to migrate,“ says Kovar.

With this in view, studies have been launched aimed at tackling the problem of migration. The starting point is the fact that in order for tumour cells to migrate, their „skeleton“, which they generate using chemical substances, must undergo transformation. „What we are trying to understand is the functioning of the signalling chain that leads to the formation of skeletons,“ explains Kovar. On that basis, that chain might possibly be severed, preventing the dreaded spread of tumour cells inside the body.

Despite all efforts, Ewing's sarcoma remains a mystery in many regards. In fact, it is not even known yet in which part of the body it originates, i.e., what the original tissue is. „We are at a complete loss to understand where this cancer actually comes from,“ Kovar admits. So the researchers are working their way forward piece by piece in a bid to encircle the disease from several sides. And it was only recently that Kovar's team could provide evidence of the crucial influence epigenetics has on the development of this cancer. Epigenetic changes do not leave traces in the gene strand, rather they are responsible for the activation or deactivation of programmes in the genome – „like opening or closing doors,“ according to Kovar. In particular, it was in regard of one of these epigenetic variations, called DNA methylation, that the Vienna-based researchers could show that Ewing's sarcoma is associated with a unique pattern of this kind of chemical changes. Epigenetics, moreover, are believed to account for the great variety in the progression of Ewing's sarcoma, when, at the same time, in children the amount of DNA mutations is small – and with regard to this tumour, as far as could be seen, is limited to one: This must be attributed, as the researchers

sehr unterschiedliche Verläufe nehmen kann, obwohl eben bei Kindern nur wenige DNA-Mutationen vorliegen – und bei diesem Tumor bislang nur eine einzige immer auftritt: Die hohe epigenetische Vielfalt, so dokumentierten die Wiener Forscher in einer Fachpublikation, trägt dafür wohl die Verantwortung.

Ein weiteres Projekt von Kovars Labor konzentriert sich auf Zellstress. Tumorzellen stehen ständig unter Stress: Sie werden vom Immunsystem attackiert, müssen sich an verschiedene Orte im Körper anpassen oder auf Nahrungsknappheit einstellen. Der Trick von Krebs ist es, äußerst stressresistent und adaptionsfähig zu sein. Krebs ist ein geschickter Anpassungskünstler. „Uns geht es nun darum, den wunden Punkt dabei zu finden, damit sich Tumorzellen eben nicht an Stress anpassen können“, sagt Kovar. Anders gesagt: Er will Krebs unter Stress setzen und dadurch bekämpfen – für ihn „eine zusätzliche Flanke in der Forschung für die krebskranken Kinder dieser Welt“.

## Mit detektivischem Spürsinn brennende Probleme bekämpfen

Für die Spezialisierung von Thomas Lion gab es ebenfalls einen konkreten Anlass, wenn auch keinen privaten. Vor etwa eineinhalb Jahrzehnten verstarben zwei Patienten, und die Todesursache war zunächst unklar. Analysen erbrachten kein eindeutiges Ergebnis. Was mochte geschehen sein? Lion, Mediziner, Molekulargenetiker und Leiter der Gruppe für Molekulare Mikrobiologie, begann nachzuforschen. Es sollte detektivische Kleinarbeit werden, die in der Gründung eines Tochterunternehmens der St. Anna Kinderkrebsforschung mündete: der Labdia Labordiagnostik GmbH, die diagnostische Methoden entwickelt und anbietet.

Am Beginn stand jedoch die Suche nach einer Erklärung für die rätselhaften Todesfälle. Erfahrene Ärzte vermuteten, es seien Adenoviren im Spiel gewesen, die meist Atemwegsinfekte auslösen. Für gesunde Menschen sind die Viren in der Regel harmlos, jedoch nicht für Krebspatienten, die mit Chemo behandelt werden oder sich einer Stammzelltransplantation unterziehen. In diesen Fällen können ansonsten banale Infekte lebensbedrohend sein – ein Risiko, dessen sich Lion genau wie sein Kollege René Geyeregger angenommen hat.

Zunächst galt es herauszufinden, ob tatsächlich Adenoviren ausschlaggebend gewesen waren. Viele Virenstämme kannte man, doch keineswegs alle, und schon gar nicht gab es eine Methode herauszufinden, ob eine Infektion mit irgendeinem seltenen Stamm vorlag. Nach einzelnen Erregern konnten die Ärzte suchen, aber längst nicht nach dem gesamten Spektrum dieser Viren. Zuerst schrieb Lion führende Experten in aller Welt an und erkundigte sich nach deren Fachwissen zum Thema. Doch die Antworten waren unbefriedigend, lückenhaft, teils widersprüchlich. So begann Lion selbst, Vireng Genome zu sequenzieren, um das Universum der Adenoviren möglichst vollständig zu beschreiben. Dann galt es, eine

set out in a scientific paper, to the high epigenetic diversity.

Another project by Eleni Tomazou underway in Kovar's laboratory has at its centre the topic of cell stress. Tumour cells are under constant stress – be it from attacks by the immune system, from the need to adapt to different body sites, or from nutrient shortages. However, cancer would outsmart all these adverse factors thanks to its extreme stress-resistance and adaptability. Cancer is a true master of adaptation. “That's why we must identify the vulnerable spot so as to devise ways to prevent the tumour cells from adapting to stress.” That is to say, by depriving cancer of its main asset, Kovar seeks to open “yet another flank for research on behalf of the children of the world hit by cancer”.

## A detective's approach towards acute problems

Thomas Lion's research ambitions also arose out of a concrete experience, albeit not a private one. About one and a half decades ago two patients died, with the cause of death unclear. Analyses conducted failed to produce a conclusive result. What might have happened? A physician, molecular geneticist and head of the Molecular Microbiology Group, Lion began to enquire, conducting research that was soon to evolve into detailed detective work – and eventually led to the foundation of a subsidiary company of the Children's Cancer Research Institute, Labdia Labordiagnostik GmbH, a developer and provider of diagnostic methods.

At the beginning, however, there was the search for an explanation of the enigmatic fatalities, which some of the experienced doctors had attributed to adenoviruses. These viruses, which mostly cause respiratory infections, are usually harmless to healthy people, but they are not to cancer patients undergoing chemo or stem cell transplantation. To them, any, otherwise trivial, infection can be life-threatening – a risk that Lion, like his colleague René Geyeregger, was determined to tackle.

What had to come first was to make sure that it really was the adenoviruses that had to be held accountable. After all, although a multitude of viral strains had been described, many were yet to be established, and this was even more true for any method that would have allowed to link an infection to a rare strain. What doctors might search for were individual pathogens, whereas analysis of the entire spectrum of viruses was definitely out of reach. Early in his investigation, Lion contacted leading experts around the world for their expertise; however, the answers he received were unsatisfactory, incomplete and even contradictory. So he set about sequencing viral genomes on his own, determined to provide

Diagnostik zu entwickeln, um zu prüfen, ob ein Patient an einem der Erreger aus der wachsenden Gendatenbank erkrankt war. Dies gelang Lion, indem er bestehende Methoden der DNA-Analytik verfeinerte – und schließlich zeigte sich: Die beiden Todesfälle rührten wirklich von Adenoviren her. Nun begann sich Lion für Detailfragen zu interessieren: Woher stammen die Infektionen überhaupt? Sie können entweder eingeschleppt worden sein, etwa durch Besucher, oder sie können im Patienten schon geschlummert und erst aufgrund eines geschwächten Immunsystems die Oberhand gewonnen haben. Wenn letzteres Szenario zutrifft – wie und wo im Körper vermehren sich die Viren? Wo ist gleichsam das Nest? Das ist wichtig zu wissen: Kennt man diese Brutstätte, hat man ein optimales Ziel für Diagnosen und eventuell auch für therapeutische Maßnahmen. Lion entdeckte anhand von Biopsieproben, die er molekular-biologisch untersuchte, dass es bei zirka einem Drittel der kleinen Patienten zu einer Häufung und massiven Vermehrung von Viren in der Darmwand kommt. In weiterer Folge können sich die Viren entweder im Blut ausbreiten oder im Stuhl sammeln. Tritt ersterer Fall ein, droht akute Gefahr: „Wenn dieses Stadium erreicht ist, ist es sehr problematisch. Da verliert man leider immer wieder Patienten“, sagt Lion. „Daher geht es darum, früher anzusetzen.“

Dieses frühere Stadium ist gegeben, wenn die Erreger im Stuhl nachweisbar sind. Sobald darin eine gewisse Virenkonzentration erreicht ist, schlagen die Diagnosewerkzeuge an. Lion: „Von da an dauert es ungefähr zwei Wochen, bis die Viren im Blut auftreten. Die Überwachung von Stuhl ist deshalb heute absolute Routine. Man nimmt die Bedrohung durch Viren viel ernster als früher.“ Exakt in den beiden Wochen bis zur Wanderung der Mikroben in die Blutbahn müssen die Ärzte therapeutisch intervenieren, und für diesen Zweck steht nun ein neues antivirales Medikament zur Verfügung, das gerade klinisch erprobt wird. „Wir haben hier Systematik hineingebracht, haben die Pfade der Infektion und Ausbreitung nachvollzogen“, sagt Lion.

So konnte er das Puzzle allmählich zusammensetzen, identifizierte die Wurzeln einer erheblichen Schwachstelle in der Krebsmedizin und bot zu wesentlichen Teilen eine Lösung an. „Das ist die ultimative Befriedigung: ein Problem zu erkennen, zu analysieren und das Ergebnis in die Klinik zurückzuführen“, sagt der Forscher. „Und das ist generell unser Ansatz: brennende Probleme aus der Klinik in die Forschung und die Lösung dafür in einer Schleife zurück ans Krankenbett zu bringen.“

Nach ähnlichem Muster befasst sich Lion mit Infektionen durch Pilze, ebenfalls eine große Gefahr für immungeschwächte Menschen. Die Kernfrage lautet auch hier: Wie erkenne ich eine Infektion? Und um welche handelt es sich? Die wichtigsten Pilze fallen in die Gattungen *Aspergillus* und *Candida*, und weil sie für einen angegriffenen Organismus bedrohlich sein können, wird häufig prophylaktisch behandelt – was allerdings heikel ist, da Pilzmittel relativ toxisch sind. Umso bedeutsamer ist es daher, nicht mit der Schrot-

*an as complete as possible description of the adenovirus universe. Next, a diagnostic method had to be devised for comparing a pathogen found in a patient against those contained in the growing gene database. Lion took what methods of DNA analysis were already available and made some refinements to them – to eventually establish that the two fatalities had indeed been caused by adenoviruses.*

*This led him to become interested in the details: Where do such infections come from in the first place? Are they brought in, for example by visitors, or are they slumbering in the patient before manifesting due to a weakened immune system? And if the latter scenario applies – how and especially in which part of the body do the viruses multiply? Where is the nest? Lion was aware that it was the breeding place that would provide an optimal target for diagnoses and possibly also for therapeutic measures. While conducting a molecular biological examination of biopsy samples taken from little patients, he discovered that approximately one third presented with an accumulation and massive proliferation of viruses in the intestinal wall – the site from which they will either spread into the blood or accumulate in the stool. Former scenario poses an acute danger: “Once this stage is reached, the situation is most problematic. Unfortunately, often there is nothing that can be done to save the patient’s life,” says Lion. “This makes it so important to start intervention at an earlier stage.”*

*“Earlier stage” means as long as the presence of the pathogens is confined to the stool, where their concentration to a critical level will be detected by the diagnostic tools and trigger an alert. Lion: “Then about two weeks will elapse before the viruses enter the blood. This is why stool monitoring has become an integral part of the routine care. In fact, the threat posed by viruses is taken much more seriously nowadays than it was previously.” The two weeks it takes the viruses to reach the bloodstream provide the timeframe in which the therapeutic intervention must be done; for this purpose a new antiviral drug has been made available that is currently undergoing clinically testing. “By tracing back both the infection and its spreading we have brought in a systematic approach,” says Lion.*

*And so, piece by piece putting the puzzle together, he eventually succeeded in laying bare a major weakness in cancer medicine, for a good portion of which he could also offer a solution. “This is the ultimate satisfaction: to recognise a problem, analyse it and deliver the result to the clinic,” the researcher says. “In fact, such is our approach in general: completing the loop by taking up an acute problem from the clinic, presenting it to research and returning the solution to the hospital.”*

*Following a similar pattern, Lion investigates infections by fungi, another serious danger to immunocompromised patients. Here again, the key questions are how to ascertain whether it is indeed an infection and if so, which exactly. In view of the potential threat some fungi – the most important of which fall into the genera *Aspergillus* and *Candida* – pose to a weakened organism, doctors often opt for prophylactic treatment, which in turn may be precarious, given the relatively high toxicity of*

flinte zu feuern, sondern selektiv nur jene Pilze anzupeilen, die einem Patienten tatsächlich zu schaffen machen.

Am Beginn der Arbeit stand neuerlich die Sequenzierung von Genomen, diesmal jene von Pilzen. Und wieder galt es, eine Systematik zu entwickeln und schrittweise vorzugehen. Zunächst suchte Lion nach einer Art gemeinsamem Nenner: nach Genregionen, die allen relevanten Pilzen gemein sind. Das sind die stark konservierten Abschnitte, meist im Inneren des Genoms, die sich früh in der Evolution entwickelten und über die Zeit stabil blieben. „Das Geheimnis ist immer, welche Regionen im Genom man sich ansieht“, erklärt Lion. Verzwickt an der Sache war, dass Pilze Gene aufweisen, die auch der Mensch besitzt. Würden die Analysen humane Gene erfassen, wäre das natürlich sinnlos. Daher musste der diagnostische Ansatz breit genug sein, um alle fraglichen Pilze aufzuspüren, zugleich jedoch spezialisiert genug, um menschliche Gene auszuschneiden.

Genau dies ist gelungen. Die Forscher um Thomas Lion haben eine inzwischen patentierte Methode entwickelt, die exakt jene entscheidenden Regionen im Genom screent, die eine präzise Identifizierung aller relevanten Pilzarten erlauben. Mithilfe sogenannter Gensonden – kleiner DNA-Fragmente, die wie Schlüssel und Schloss zu Gensequenzen der Pilze passen – können die Wissenschaftler überdies Blutproben von Patienten auf Pilzkontamination testen. Dutzende verschiedene Pilzarten lassen sich damit heute nachweisen.

Doch für Forscher wie Lion enden die Herausforderungen nie. Denn die Welt der Mikroorganismen ist ein komplexes Gefüge, ein sensibles Universum, das auf vielfältige Weise wechselwirkt. Beispielsweise können Pilze und Bakterien miteinander interagieren. So hemmen bestimmte Bakterien das Pilzwachstum und dienen damit als natürliches Antipilzmittel. Setzen die Mediziner jedoch prophylaktisch Antibiotika gegen Bakterienbefall ein, fördern sie dadurch möglicherweise unabsichtlich das Pilzwachstum. „Dieses Zusammenspiel zwischen Pilzen und Bakterien wollen wir besser verstehen“, sagt Lion. „Wenn es um Onkologie geht, muss man die Infektiologie immer mit bedenken, schließlich sterben viele Patienten daran. Man erkennt immer mehr, wie sehr all das klinisch bedeutsam ist.“

## Neue Lenkwaffen gegen Tumoren

Dem Immunsystem kommt enormer Stellenwert zu, ob bei der Abwehr gefährlicher Keime oder nach einer Stammzelltransplantation. Doch auch ins Gefecht gegen den Krebs selbst lässt sich das humane Abwehrsystem lenken. Neben Signalweginhibitoren, wie sie Michael Dworzak erforscht, ergänzen Immuntherapien der jüngsten Generation die Krebsmedizin. Im Grunde geht es auch darum, das Immunsystem gegen Krebszellen scharf zu machen, um sie zu zerstören, und genau das ist das Ziel von Wolfgang Holter.

Der Leiter des Labors zur Entwicklung zellulärer Therapien, seit 2012 Ärztlicher Direktor des St. Anna Kinder-

*fungicides. This makes it all the more crucial to refrain from indiscriminate attacks and to target only those fungi with which a patient is actually struggling.*

*In this endeavour, too, the beginning was marked by genome sequencing – that of fungi –, which, again, had to be approached systematically and step by step. The first and most important one was to establish a sort of common denominator, i.e., gene regions common to all relevant fungi. These are the highly conserved regions, mostly inside the genome, which developed early in evolution and remained stable over time. “The secret always is to look at the right regions of the genome,” Lion explains, referring to the fact that because in some cases the genes of fungi – intricately enough – are equivalent to those of humans, it had to be ensured that human genes were not pointlessly included in the analyses. So, the diagnostic approach would have to be broad enough to detect all fungi in question, but at the same time sufficiently specific to eliminate human genes.*

*And this is just what could be achieved. Thomas Lion and his team of researchers have devised a – meanwhile patented – method for screening exactly those regions in the genome that allow for the precise identification of all relevant fungal species. Moreover, blood samples collected from patients can be tested for fungal contamination using gene probes – small DNA fragments fitting into given gene sequences of fungi like keys into locks. Thanks to this method, now dozens of different fungal species can be detected.*

*For researchers like Lion, to be sure, the challenges never end – too complex is the world of microorganisms, too numerous are the ways in which all the elements of this sensitive universe interact. Take, for example, fungi and bacteria: Inhibiting fungal growth, certain bacteria serve as natural anti-fungal agents, while the prophylactic use of antibiotics against bacterial attack may inadvertently promote fungal growth. “It is the way of interaction between fungi and bacteria which we want to better understand,” says Lion. “When it comes to oncology, infectious diseases are always an issue – after all, they are the cause of many fatalities. There is an increasing awareness of the clinical importance of all these interdependencies.”*

## New guided weapons against tumours

*The immune system has a paramount role to play, whether in the defence against dangerous germs or after stem cell transplantation. Beyond that, the human immune system can be weaponised in the service of fighting cancer itself. Alongside signalling pathway inhibitors – on which Michael Dworzak has been focussing –, cancer medicine avails itself of the latest generation of immune therapies as a complementary tool in an effort to prime the immune system to eradicate cancer cells. And this is a task that Wolfgang Holter has taken on.*

spitals sowie Leiter des Forschungsinstituts, blickt auf einen beruflichen Werdegang zurück, der perfekt zur besonderen Struktur des Hauses passt, zu der einzigartigen und selten engen Verzahnung von Forschung und klinischer Praxis. Holter war zunächst als Wissenschaftler tätig, sowohl in Österreich als auch im Ausland, darunter in Skandinavien und den USA. Nach jahrelanger experimenteller Forschung wechselte er ins St. Anna Kinderspital und erhielt eine Ausbildung zum pädiatrischen Onkologen. „Labortätigkeit hat mich immer extrem interessiert“, sagt Holter. „Ich wollte aber im Lauf der Jahre immer mehr auch die Tätigkeit an der Klinik kennen, die Arbeit direkt am und für den Patienten durchführen. Wenn man beides verinnerlicht hat, die Klinik und die Forschung, kann man viel bewirken“, fügt er hinzu. „Diese Kombination konnte ich in führender Position viele Jahre in Deutschland umsetzen, und nun habe ich diese Möglichkeit – eben beides zu verbinden und täglich zu leben – als Ärztlicher Leiter des Spitals und der Forschung in Wien.“

Erste Ideen für innovative Forschungsansätze in der Tumorummunologie hatte Holter bereits als Student. Zwar musste er bald zur Kenntnis nehmen, dass Kollegen anderswo dieselben Ideen schon früher gehabt und eben darüber publiziert hatten, doch nach kurzer Enttäuschung wurde ihm auch klar: Wenn dieselben Gedankengänge es in ein renommiertes Fachjournal geschafft hatten, hatte er offenbar wesentliche Forschungsfragen formuliert. Als professioneller Wissenschaftler konzentrierte er sich zunächst auf die Erforschung der komplexen Funktionen der Abwehrzellen, um etwa neue Behandlungen gegen virale Infektionen zu entwickeln. Für diesen Zweck arbeitete er mit T-Zellen, einer Klasse von Immunzellen. Diese veränderten die Forscher in entscheidender Hinsicht. Sie bestückten die Zellen mit sogenannten chimären Antigenrezeptoren, kurz CARs. Diese Rezeptoren fungieren als eine Art Erkennungsdienst: Sie erspähen Antigene, das sind meist Oberflächenproteine anderer Zellen, steuern diese gezielt an – und attackieren sie als körperfremde Eindringlinge.

Diese Strategie klappt bei manchen Viren, aber prinzipiell auch bei Krebs. CAR-T-Zellen binden dabei an ausgewählte Antigene, an molekulare Gegenstücke, von Tumorzellen und vernichten sie kurzerhand. Experten attestieren dem Verfahren enormes Potenzial. Gegen Krebsformen wie Leukämie sind erste Anwendungen in den USA und Europa seit Kurzem zugelassen. Die Behandlung solider Tumoren ist aber weit anspruchsvoller, da die Krebszellen nicht frei im Blut schwimmen, sondern in einem Gewebeklumpen verkapselt sind. Die Therapien müssen deshalb effektiver sein, wodurch gleichzeitig aber die Gefahr von Nebenwirkungen steigt. Holter und sein Team im Labor peilen genau dieses Segment von Erkrankungen an: Sie möchten CARs gegen solide Hochrisikotumoren wie das Ewing-Sarkom oder das Osteosarkom richten und diese innovativen Therapien näher an die Praxis heranführen. „CARs waren eins der heißesten Themen der vergangenen Jahre“, sagt

*The head of the Laboratory for the Development of Cellular Therapeutics, medical director of St. Anna Children's Hospital and head of the research institute looks back on a professional career that perfectly ties in with the specific structure of the hospital, notably the unique and extraordinarily close intertwinement of research and clinical practice. Starting out as a scientist who worked in Austria and abroad, including Scandinavia and the USA, after years of experimental research Holter moved to St. Anna Children's Hospital where he received training as a paediatric oncologist. "I have always been extremely interested in research," Holter says. "Over the years, however, I felt a growing desire to involve myself in clinical activities, to work directly on and for patients. You can really make a difference when you have internalised both spheres, clinic and research," he adds. "I have had the opportunity to integrate and experience on a daily basis both worlds for many years – first in a leading position in Germany and now as the medical director of the hospital and head of the research institute."*

*First ideas for innovative avenues of research into tumour immunology Holter developed as early as during his years of study. Although he soon was to realise that others had had – and published for that matter – the same ideas earlier, his disappointment was not of long duration: If those lines of thought had made it into renowned journals, he reasoned, then obviously he had formulated essential research questions. As a professional scientist, his initial research emphasis was on the complex functions of defence cells. With a view to developing new treatments against viral infections he placed his focus on T cells, a class of immune cells. In what was a significant modification, these were equipped with so-called CARs, chimeric antigen receptors, which function as a sort of reconnaissance patrol: Their task is to spot antigens – mostly surface proteins – of other cells in order to target and attack them as foreign invaders.*

*This strategy, which works for a number of viruses, can in principle also be applied to cancer. In that case, CAR-T cells bind to selected antigens – molecular counterparts – of tumour cells and instantly kill them off. Deemed to have enormous potential, the method has recently received approval in the USA and Europe for use in the treatment of cancers such as leukaemia. When it comes to solid tumours, where cancer cells, rather than floating freely in the blood, are encapsulated in a lump of tissue, treatment is far more demanding, though. What poses a problem is that the efficiency of therapy must be increased, which inevitably will also increase the risk of side effects. It is precisely for that reason that Holter and his laboratory team have taken on this segment of diseases. Their aim is to train CARs on high-risk solid tumours such as Ewing's sarcoma or osteosarcoma, making them more amenable to clinical practice. "CARs have been among the hottest topics of recent years," says Holter. "However, they are still too unspecific, so they would also attack healthy tissue. We are therefore*

## Labdia Labordiagnostik

Eine wesentliche Mission der St. Anna Kinderkrebsforschung (CCRI) ist die Entwicklung optimierter Diagnostik, die die präzise Erkennung spezifischer Krankheitsformen und drohender Komplikationen sowie die Überwachung des Behandlungsfortschritts erleichtern soll. Den damit verbundenen Herausforderungen stellt sich das Ambulatorium Labdia Labordiagnostik als gemeinnütziges Tochterunternehmen der St. Anna Kinderkrebsforschung.

In intensiver Zusammenarbeit mit dem CCRI, die durch personelle und teilweise auch räumliche Überlappung begünstigt wird und wechselseitige Inspiration begründet, bringen die etwa 30 MitarbeiterInnen der Labdia Labordiagnostik GmbH laufend innovative Methoden der Krebsdiagnostik hervor – fast alle diagnostischen Verfahren beruhen auf eigenen, teils patentierten Entwicklungen. Darüber hinaus arbeiten sie in nationalen und internationalen Gremien an der Standardisierung diagnostischer Verfahren mit und koordinieren Aktivitäten zur Diagnostikentwicklung im Rahmen von EU-Projekten. Dank ihrer Vernetzung mit anderen führenden Einrichtungen in Europa und der engen Verbindung zu Forschung und Entwicklung verfügt Labdia Labordiagnostik über neuestes technisches Knowhow.

Neben der Funktion als Referenzzentrum im Rahmen von Therapiestudien bietet Labdia weitere Leistungen an, etwa Diagnostik für individuelle PatientInnen, die Unterstützung der ÄrztInnen im St. Anna Kinderhospital und in anderen akademischen Einrichtungen bei klinischen Forschungsprojekten sowie die Durchführung eigener Studien mit onkologischen und infektiologischen Fragestellungen. Eine neu etablierte Biobank bildet die Grundlage für weiterführende Forschung, die wieder innovativer Diagnostik zugutekommt. All dies befördert die Einführung neuer diagnostischer Technologien – und damit den Trend zur personalisierten Behandlung.

## Labdia Labordiagnostik

*As a key element of its mission, St. Anna Children's Cancer Research Institute (CCRI) devotes itself to the development of optimised diagnostics aimed at enabling the precise detection of specific forms of diseases and imminent complications, as well as the monitoring of treatment progress. This demanding task has been entrusted to Labdia Labordiagnostik, an ambulatory established as a non-profit subsidiary of the CCRI.*

*In close and mutually inspiring cooperation with the CCRI, which is facilitated not least by the fact that Labdia and the CCRI share some of the staff and facility resources, the approximately 30 employees working at Labdia continuously devise innovative methods for cancer diagnostics – it is in-house, in many cases patented, findings on which almost all diagnostic procedures are based. Further activities include collaboration in both national and international panels tasked with the standardisation of diagnostic procedures, as well as the coordination of efforts towards diagnostics development in EU-projects. Being part of a network of leading institutions from all over Europe and intrinsically embedded in both research and development, Labdia is guaranteed access to the latest technical know-how.*

*Beyond functioning as a therapeutic studies reference centre, Labdia offers a wide range of services, providing diagnostics for individual patients, assisting medical professionals from both St. Anna Children's Hospital and other academic facilities with clinical research projects, or conducting own studies into oncological and infectiological questions. Last but not least, the recent establishment of a biobank is set to pave the way for further research that in turn will add to the gamut of innovative diagnostic approaches. All this can be expected to accelerate the introduction of new diagnostic technologies – and thus the trend towards personalised treatment.*

Holter. „Bisher sind sie aber zu unspezifisch, denn sie können auch gesundes Gewebe angreifen. Um die Gefahr von Nebenwirkungen zu minimieren, geht es uns auch darum, diese Zellen besser steuerbar zu machen.“

Zu diesem Zweck konstruieren er und sein Team gemeinsam mit anderen Forschergruppen, etwa von der Universität für Bodenkultur, Komponenten, die sie molekulare Schalter nennen. Mithilfe klug ausgewählter Moleküle wollen die Wissenschaftler in CARs einen „On-off-Modus“ einbauen. Sinn des Unterfangens: Die CAR-Funktion soll sich je nach Bedarf aktivieren oder deaktivieren lassen. Das Anvisieren von Krebszellen soll dadurch akkurat geplant und punktgenau ablaufen, außerdem soll ein zusätzlicher Mechanismus gewährleisten, dass tatsächlich nur Krebszellen aufs Korn genommen werden. Erst dann, wenn zwei Antigene auf einer Krebszelle zweifelsfrei erkannt sind, tritt die CAR-Funktion in Kraft, was eine selektive Ansteuerung ausschließlich bösartiger Zellen garantieren soll. Mittlerweile ist es den Forschern gelungen, optimale Kandidatenmoleküle für ihr Vorhaben aufzuspüren.

Noch einen Schritt weiter ist Holters Team mit einer zweiten Initiative, die darauf abzielt, Krebszellen effektiv in die Zange zu nehmen. Die Forscher konstruierten dazu einen speziellen Bindemechanismus – ein eigenes Verfahren, das die CARs zuverlässig zu Krebszellen dirigieren soll. Statt Antikörpern benutzten sie sogenannte Liganden, Eiweißstoffe, die bei soliden Tumoren wie dem Ewing-Sarkom oder dem Osteosarkom häufig aktiv sind. Der Trick der Forscher bestand darin, dass ihr molekulares Werkzeug gleich acht Antigene auf den Tumorzellen erkennt und diese sozusagen von mehreren Seiten umzingelt. Dies soll die Chance verringern, dass Krebszellen durchs Netz der Therapeuten schlüpfen.

Holter nimmt nicht an, dass Immuntherapien die gängigen Krebsbehandlungen zur Gänze ersetzen werden, doch man werde je nach Anforderung flexibler reagieren können. „In Zukunft wird es eine Mischung aus allen Möglichkeiten sein. Man wird nach wie vor operieren, man kann vielleicht die Intensität von Chemo und Bestrahlung zurücknehmen. Und zusätzlich, sozusagen oben drauf, können wir das Immunsystem aktivieren. In dieser Mischung werden alle Therapien ihren Platz haben.“ In zehn oder 15 Jahren könne man auf diese Weise vermutlich ein nächstes großes Etappenziel erreichen: nochmals deutlich höhere Heilungsraten bei zugleich weniger Belastung der Patienten. Die Motoren dieser Entwicklung sind wohl all die bis vor Kurzem noch kaum vorstellbaren Methoden moderner Wissenschaft und deren kluges, zielgerichtetes Zusammenspiel: Sie bieten die Chance, immer tiefer in molekulare Abläufe einzudringen und hochkomplexe Signalwege im Mikrokosmos unseres Körpers zu entdecken und zu entschlüsseln – unterstützt von ausgereifter Labortechnologie und zunehmend von raffinierten Algorithmen intelligenter Computersysteme, die geduldig Ordnung in gigantisch große Datensätze bringen. Vielleicht können wir uns noch gar nicht vorstellen, welche Paradigmenwech-

*trying to figure out ways to enhance their controllability in order to minimise the risk of side effects.”*

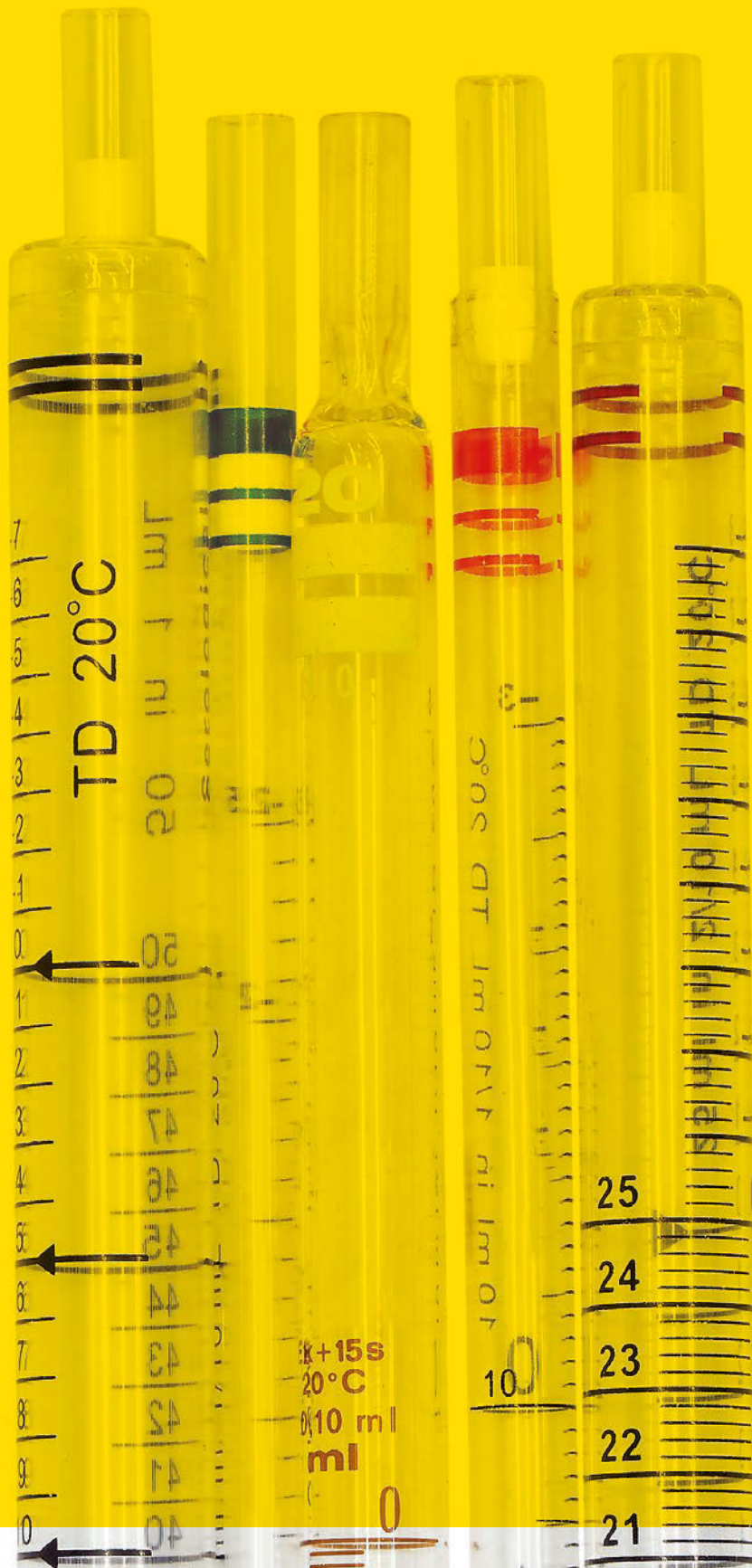
*To that end, Holter's study group teamed up with colleagues, among them researchers from the University of Natural Resources and Life Sciences, to construct what they refer to as molecular switches. The underlying idea has been to use carefully selected molecules for equipping CARs with an on-off mode with which to activate or deactivate the CAR function as required, thereby warranting that the targeting of cancer cells can be accurately planned and precisely executed. To exclude the possibility that cells other than cancer cells are affected, an additional mechanism will ensure that the CAR function is activated only upon recognition of two antigens on a cancer cell. In the meantime, the researchers have succeeded in singling out optimal candidate molecules.*

*Even more advanced is another initiative Holter's team have launched in their efforts to effectively tackle cancer cells. Notably, they devised a special binding mechanism, a distinct procedure aimed at reliably guiding the CARs to cancer cells. In this case, instead of antibodies ligands were used, i.e., proteins often active in solid tumours such as Ewing's sarcoma or osteosarcoma. Quite ingeniously, this molecular tool is able to recognise as many as eight antigens on tumour cells, which it will encircle from several sides, thereby preventing them from giving therapists the slip.*

*While he does not expect immunotherapies to replace established cancer treatments altogether, Holter does anticipate greater flexibility in responding to various requirements. “What we are most likely to see is a mixture of options. While surgery will remain a mainstay of treatment, the intensity of chemo and radiation may perhaps be reduced and, on top of that, we will be able to activate the immune system. Within this mixture, various forms of therapy will all have their place.” And ten or 15 years from now, presumably yet another milestone will be reached – by once more boosting cure rates and simultaneously reducing side effects. This development will be driven by all the – undreamed-of until recently – methods of modern science and their smart, targeted combination. It is these methods that pave the way for an ever-deeper exploration into molecular processes and the discovery and deciphering of highly complex signalling pathways in our body's microcosm, supported by an advanced laboratory technology and, to an increasing extent, sophisticated algorithms of intelligent computer systems that with unwavering patience bring order into gigantic data sets. “We perhaps cannot even imagine what paradigm shifts are coming our way in medicine,” says Holter.*

*Even so, the Vienna-based researchers already have a track record that is utmost impressive. 30 years ago, when everything began, hardly anyone would have envisioned the immense expansion the knowledge about childhood cancer has attained since then and its implications: a surge in acute leukaemia cure rates to more than 90 percent; the discovery*





sel da in der Medizin auf uns zukommen, meint Holter.

Doch schon was die Wiener Forscher bis heute zuwege gebracht haben, ist in höchstem Maß beeindruckend. Kaum jemand hätte sich vor 30 Jahren, als alles begann, träumen lassen, welche Bereicherung das Wissen über Krebs bei Kindern erfahren würde: dass die Heilungsrate bei akuten Leukämien auf mehr als 90 Prozent emporschnellen würde; wie vielen vormals rätselhaften molekulargenetischen Auslösern und Schaltern der Krebsentstehung man auf die Schliche kommen würde; welche präzise Diagnosen diesem erweiterten Verständnis entspringen würden, die heute weltweiter Standard sind und die Überlebensraten dank präziser Prognosen erheblich steigern; wie das immer tiefere Eindringen ins Erbgut zu völlig neuartigen Therapieansätzen führt; dass man innovative und wegweisende Ansätze finden würde, vormals unterschätzten Gefahren durch Infektionen effektiv zu begegnen; dass systematische Studien nach strengen Regeln entscheidend dazu beitragen, der internationalen Fachwelt eine solide Datenbasis an die Hand zu geben und neue Behandlungsansätze darauf zu gründen; dass mit all diesen Leistungen die St. Anna Kinderkrebsforschung zu einem weltweiten Zentrum und zu einer der ersten Adressen für die Therapie von Krebserkrankungen im Kindes- und Jugendalter avancieren würde; und wie sich die seit drei Jahrzehnten ungebrochen geltende Maxime lohnen sollte, Klinik und Forschung zu verquicken, knifflige Probleme aus der Praxis ins Labor zu transferieren und deren Lösung zurück ans Krankenbett zu bringen.

„Beide Welten zusammenzuführen war immer die echte Chance und der Vorzug dieser Institution“, sagt Wolfgang Holter. „Das kann man selten so leben wie hier, wo die Wege zwischen Forschung und Klinik so kurz sind.“

Die Brücke zwischen dem St. Anna Kinderspital und dem Forschungsinstitut ist ein weithin sichtbares Wahrzeichen für diese Philosophie.

*of a host of previously mysterious molecular genetic triggers and switches involved in cancer formation; the increase in diagnostic accuracy – meanwhile globally standardised –, enabling precise prognoses and thus a rise in survival rates; provision of completely new therapeutic approaches due to the ever-deeper exploration into the genome; the development of innovative and ground-breaking approaches to effectively counter the long underestimated risk of infections; enhancement of the value of studies thanks to systematisation and compliance with strict rules to provide the international scientific community with a solid data base for the design of new treatment approaches, and finally, as a result of all this, turning St. Anna Children's Cancer Research Institute into a worldwide centre and one of the top addresses for the treatment of childhood and adolescent cancer, which for three decades has acted upon the maxim "from bench to bedside", i.e., the commitment to inseparably tie clinical practice to research.*

*"The real chance and asset of this institution has always been in bringing both worlds together," says Wolfgang Holter. "And what better place to live out this principle than this one where the distance between research and clinic being so small?"*

*The widely visible bridge that connects St. Anna Children's Hospital and the Children's Cancer Research Institute is a true symbol of this philosophy.*







# Mitarbeiter / Employees

## A



DDr. M. Reza Abbasi (MD, PhD)



Gabriel Achter



Dr. Ingeborg M. Ambros (MD)



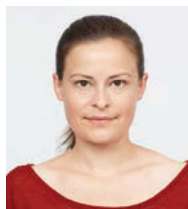
Univ.-Doz. Dr. Peter F. Ambros (PhD, Assoc. Prof.)



Dr. Miguel Andrade Nuno MBA (PhD)



Dr. Caterina Barresi (PhD)



Cand. med. Dorothea Bauer



Saelde Baumgartner BSc



Maria Berneder MSc



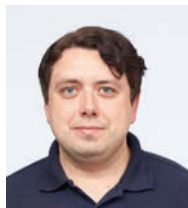
Lisa Bierbaumer MSc



Dr. Eva Bozsaky (PhD)



Mag. Jörg Bürger MBA (MSc)



Dr. Konstantin Byrgazov (PhD)



Dr. Yiwei Chen (MD)



Julia Costea

## E



Sophie Eddmayer



Mag. Sandra Ehrenhofer-Weinzettl (MSc)



Ulrike Engel



Anja Fennes

## G



Teresa Gerber MSc



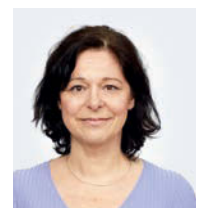
Priv. Doz. Dr. René Geyeregger (PhD, Assoc. Prof.)



Brigitte Glatz



Mag. (FH) Monika Gomez-Beran (MSc)



Brigitte Grimm MSc



Mag. Helga Björk Arnardóttir (MSc)



Priv.-Doz Dr. Dave N. T. Aryee (PhD, Assoc. Prof.)



Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.)



Beate Avanesian MSc

## B



Dr. Jozef Ban (PhD)



Univ.-Doz. Dr. Kaan Boztug (MD, Assoc. Prof.)



Dr. Heidrun Boztug (MD)



DI Charlotte Brey (MSc)



Priv.-Doz. Dr. Barbara Brunmair (PhD, Assoc. Prof.)



DI Clemens Brunner BSc (MSc)



Bettina Brunner-Herglotz

## D



Univ.-Doz. Dr. Michael Dworzak (MD, Assoc. Prof.)



Dr. Martin Distel (PhD)



Zoltán Dobai MSc



Dr. Markus Diem (PhD)



Dr. Stefan Fiedler (MD)



Susanna Fischer



Dr. Klaus Fortschegger (PhD)



Michaela Fortschegger



Dr. Tijana Frank (MD)



Univ.-Doz. Dr. Gerhard Fritsch (PhD, Assoc. Prof.)

## H



Sarah Grissenberger MSc



Univ.-Prof. Dr. Oskar A. Haas (MD, Prof.)



Dr. Florian Halbritter (PhD)



DI (FH) Angela Halfmann (MSc)



Sabrina Haslinger MSc

# Mitarbeiter / Employees

## H



Clara  
Hechenberger  
MSc



Merit Alwine  
Hildebrandt  
BSc



Mag. Christine  
Hoffmann-  
Freimüller (MSc)



Gisela Hofmann  
BSc



Univ.-Prof. Dr.  
Wolfgang Holter  
(MD, Prof.)



Marion Janschitz  
(MSc)



Jovana Jovanovic  
BSc



Ing. Gunhild Jug



DI Dragana  
Jugovic (MSc)



Univ.-Doz. Dr.  
Leo Kager  
(MD, Assoc. Prof.)

## K



Univ.-Prof. Dr.  
Heinrich Kovar  
(PhD, Prof.)



Isabella Krickl  
BSc



Barbara Kristufek



Katarina  
Krizanac



DI Florian Kromp  
(MSc)



## L



Univ. Prof. DDr.  
Thomas Lion MSc  
(MD, PhD)



Priv.-Doz. Dr.  
Georg Mann  
(MD, Assoc. Prof.)



Univ.-Prof. Dr.  
Susanne  
Matthes  
(MD, Prof.)



Dr. Margarita  
Maurer (PhD)



DI Astrid  
Mecklenbräuer  
(MSc)

## M



Mag. Nora  
Mühlegger (MSc)



Dr. Karin Nebral  
(PhD)



Nadine Nirtl MSc



Mag. (FH) Bettina  
Nistler (MSc)



Dr. Filomena  
Nogueira  
(PhD)

## N





Anna-Maria Husa  
MSc



Dr. Zvenyslava  
Husak (PhD)



Lisa Huto



DDr. Caroline  
Hutter (MD, PhD)

J



Mag. Dasa  
Janousek (MSc)



DI Michael Kainz  
(MSc)



Dr. Susanne  
Karlhuber (PhD)



Dr. Stefanie  
Kirchberger  
(PhD)



Ferdinand  
Knierim



Margit König



Dr. Karin Kosulin  
(PhD)



Univ.-Prof. Dr.  
Ruth Ladenstein  
MBA, cPM (MD,  
Prof.)



Erika Lakatos



Dr. Anita  
Lawitschka (MD)



Daria Lazic BSc



Dr. rer. nat. Dr.  
habil. med.  
Manfred Lehner  
(PhD)



Alexandra Lidy



Senad Mihajlovic



Andrea Mikolasek



Univ.-Prof. Dr.  
Milen Minkov  
(MD, Prof.)



Gerda Modarres  
MSc



Luisa Morelli BSc



Ing. Karin  
Mühlbacher



Marek Nykiel

P



Univ.-Prof. Dr.  
Renate Panzer-  
Grümayer (MD,  
Prof.)



Dr. Susana  
Pascoal  
(PhD)



Dr. Wolfgang  
Paster (PhD)

# Mitarbeiter / Employees

## P



Univ.-Prof. Dr.  
Christina Peters  
(MD, Prof.)



Maya Plank BSc



Dr. Niko Popitsch  
(PhD)



Mag. Ulrike  
Pötschger (MSc)



Mag. Andrea  
Prantl (MA)



Dr. Michael Reiter  
(PhD)



Dr. Fikret  
Rifatbegovic  
(PhD)



Johanna  
Rohrhofer BSc

## S



DI Benjamin  
Salzer (MSc)



Daniela Scharner



Dr. Caterina  
Sturtzel (PhD)



Dr. Adrian Stütz  
(PhD)



Mag. Amelie  
Szalony (MSc)

## T



Dr. Sabine  
Taschner-Mandl  
(PhD)



Mag. Elisabeth  
Tax (MA)

## W



Eva Winkler



Michaela  
Pregesbauer



Mag. Sandra  
Preuner (MSc)



Dr. Ingrid Pribill  
(PhD)



Ing. Dieter Printz

## R



Dr. Branka  
Radic-Sarikas  
(PhD)



Dr. Dagmar  
Schinnerl (PhD)



DI Lukas  
Schneider (MSc)



Thomas  
Schnöller (MSc)



Angela Schumich



Dr. Mai Sören  
(PhD)



Dr. Sabine Strehl  
(PhD)



Mag. Elfriede  
Thiem (MSc)



Dr. Eleni Tomazou  
(PhD)



Dijana Trbojevic



Univ.-Doz. Dr.  
Andreas Vécsei  
(MD, Assoc. Prof.)

## V



Marion Zeginigg  
(MSc)



Mag. Claudia  
Zeiner-Koglin  
(MSc)



Dr. Petra  
Zeitlhofer  
(PhD)



Andrea Ziegler

## Z

# Tumorbiologie\*

## *Tumour Biology\**

**Kurz zusammengefasst:** Neben der Durchführung von translationalen Forschungsprojekten zum besseren Verständnis der Biologie von soliden Tumoren im Kindes- und Jugendalter geben wir Informationen über das Tumorgenom bzw. den Nachweis von residuellen Tumorzellen im Knochenmark bzw. in Aphereseprodukten der PatientInnen an die behandelnden ÄrztInnen weiter und können damit oftmals wesentliche zusätzliche Informationen für die Wahl einer noch präziseren Therapiestrategie liefern.

**Short Summary:** Besides conducting translational research projects to reach a better understanding of the biology of solid tumours in children and adolescents we provide treating physicians with information on genomic changes of the tumour and on the minimal residual disease status of the bone marrow and apheresis products in order to enable them to choose the best therapeutic strategies.

Die Arbeitsgruppe Tumorbiologie befasst sich seit ihrer Gründung 1988 primär mit der Integration von biologischen/klinischen und genetischen Merkmalen solider Tumoren des Kindes- und Jugendalters, insbesondere des Neuroblastoms. Diese Integration von unterschiedlichen Eigenschaften wurde durch das Zusammenwirken von ForscherInnen aus verschiedenen Fachdisziplinen gewährleistet. Unsere Ziele waren: i) die Ermöglichung einer molekulargenetisch definierten Diagnose bei soliden Tumoren, ii) die Gewinnung von Einblicken in die Biologie der Tumoren mit dem Ziel, diese auch therapeutisch nutzen zu können, und iii) die Beschreibung von eindeutigen prognostischen und prädiktiven Markern, um ein entsprechendes therapeutisches Vorgehen abzuleiten. Diese Aufgaben konnten nur durch intensive Vernetzung mit nationalen und internationalen Gruppen bewältigt werden. Dies gelang unter anderem durch den Aufbau einer internationalen Expertenrunde (SIOPEN Biology Group), die wir 25 Jahre lang anleiten durften. Neben 201 Publikationen in renommierten Fachjournals konnten wir über 2150 molekulargenetische und über 5350 Befunde über residuelle Tumorzellen im Knochenmark bzw. in Aphereseprodukten für pädiatrische OnkologInnen erstellen. Daneben haben wir uns, in geringerem Umfang, mit DNA-Tumoren beschäftigt.

Established in 1988, the Tumour Biology Group has been dealing primarily with the integration of biological/clinical and genetic features of paediatric solid tumours, with a particular focus on neuroblastoma. This integration of various features has been achieved by the close cooperation of researchers from different scientific disciplines. Our aims include: i) facilitating the molecular genetic diagnosis of solid tumours, ii) gaining insights into the biology of tumours that could be translated into therapy, and iii) describing unique prognostic and predictive markers to identify adapted treatment options. These tasks can only be realised by working closely with other research groups on a national and international level; we have, for example, set up the SIOPEN Biology Group, which we had the privilege to lead for 25 years. The results of our work can be found in 201 publications in high-impact scientific journals, in addition we were able to issue more than 2150 "molecular genetic" and more than 5350 "minimal residual disease" medical reports (bone marrow and apheresis products) for paediatric oncologists. To a lesser extent, we have also devoted ourselves to the study of DNA tumour viruses.



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Doz. Dr. Peter F. Ambros (PhD, Assoc. Prof.)**

• **Wissenschaftliche Mitarbeiterinnen / Staff Scientists:**

Dr. Ingeborg M. Ambros (MD), Dr. Sabine Taschner-Mandl (PhD)

• **Postdoktoranden / Postdoctoral Research Fellows:**

DDr. M. Reza Abbasi (MD, PhD), Dr. Fikret Rifatbegovic (PhD)

• **DoktorandInnen / PhD Students:**

Teresa Gerber MSc, DI Florian Kromp MSc, Tamara Weiss MSc

• **Diplomandin / MSc Student:**

Lisa Saloberger-Sindhöringer BSc

• **Medizinisch-Technische Mitarbeiterinnen / Technicians:**

Maria Berneder MSc, Bettina Brunner-Herglotz, Andrea Ziegler

• **Klinische MitarbeiterInnen / Clinical Collaborators:**

Univ.-Doz. Dr. Michael Dworzak (MD, Assoc. Prof.)

Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein (MD, Prof.)

Univ.-Doz. Dr. Leo Kager (MD, Assoc. Prof.)

### Tumoren des Kindesalters

Die Zusammenschau von morphologischen und genetischen Merkmalen des zweithäufigsten Knochentumors, des Ewing-Sarkoms, hat zum weltweiten Einsatz eines für die Diagnostik dieses Tumors wichtigen Antikörpers, des CD99/MIC2 (IM Ambros et al., Cancer 1991, 67(7):1886-93), geführt. In den darauffolgenden Jahren konnten wir für eine Reihe von pädiatrischen Tumoren genetische Veränderungen und deren biologische/klinische Bedeutung beschreiben. In diesem Zusammenhang sei die Publikation von Stock und Mitarbeitern erwähnt, in der wir die Genomveränderungen in Osteosarkomen, dem häufigsten Knochentumor im Kindes- und Jugendalter, beschreiben (Stock et al., GCC 2000, 28(3):329-36). Aber auch die prognostische Aussagekraft von Genomveränderungen bei Keimzelltumoren, Ewing-Sarkomen und Wilms-Tumoren haben wir untersucht und die Ergebnisse veröffentlicht (Stock et al., CGC 1994, 11(1):40-50; Hattinger et al., BJC 2002, 86(11):1763-9; Stock et al., CGC 2002, 135(2):128-38).

### Neuroblastom

#### Die Rolle von Normalzellen bei der Tumorausreifung

Eine wesentliche Erkenntnis über die Biologie des häufigsten Tumors des Säuglings- und frühen Kindesalters, des Neuroblastoms, gelang Mitte der 1990er-Jahre durch die kombinierte Analyse von morphologischen und genetischen Merkmalen von ausreifenden oder ausgereiften Neuroblastomen. Wir konnten zeigen, dass im Gegensatz zu der bis dahin gültigen Lehrmeinung Schwann-Zellen, die einen dominanten Anteil in Ganglioneuroblastomen und Ganglioneuromen darstellen, Normalzellen und keine Tumorzellen sind (IM Ambros et al., EJC 1995, 31A(4):429-34; IM Ambros et al., NEJM 1996, 334(23):1505-11). Der Nachweis des „gezielten Einwanderns“ der Schwann-Zelle in den Tumor führte zu einem völlig neuen Verständnis der Tumorevolution des Neuroblastoms. Neben dem theoretischen Aspekt lieferten diese Untersuchungen wesentliche Hinweise auf zukünftige Therapiestrategien, da wir zeigen konnten, dass die Schwann-Zelle direkt oder indirekt für die Ausreifung des Tumors verantwortlich zeichnet (IM Ambros et al., MPO 2001, 36(1):163-8). Ziel begonnener und zukünftiger Studien ist die Charakterisierung jener Schwann-Zell-Faktoren, die für diese Prozesse verantwortlich sind (Weiss et al., Glia 2016, 64(12):2133-2153). Damit hätten wir mögliche therapeutische Ansätze an der Hand, die auf einer physiologischen Grundlage basieren.

#### Neue Ansätze zur Behandlung von PatientInnen mit MYCN Amplifikation

NeuroblastompatientInnen mit Hochrisiko-Erkrankung tragen häufig eine Genamplifikation im MYCN-Onkogen. In diesen hoch aggressiven Tumorzellen können die amplifizierten MYCN-Genkopien spontan oder durch niedrig dosierte Zytostatika inaktiviert werden (IM Ambros et al.,

### Paediatric tumors

*The integration of morphological and genetic features of Ewing's sarcoma, the second most common bone tumour, led to the worldwide use of an antibody – CD99/MIC2 –, which plays an important role in the diagnosis of this tumour (IM Ambros et al., Cancer 1991, 67(7):1886-93). In the following years, we succeeded in identifying genetic changes and their biological/clinical impact in relation to a number of paediatric tumours. For example, we (Stock et al. GCC 2000, 28(3):329-36) published a paper on the genomic aberrations in osteosarcoma, the most common paediatric bone tumour (Stock et al., GCC 2000, 28(3):329-36), and of our investigations into the prognostic significance of genomic aberrations in paediatric germ cell as well as in Ewing's and Wilms' tumours (Stock et al., CGC 1994, 11(1):40-50; Hattinger et al., BJC 2002, 86(11):1763-9; Stock et al., CGC 2002, 135(2):128-38).*

### Neuroblastoma

#### The role of normal cells in tumour maturation

*In the mid-1990s, the combined analysis of morphological and genetic features of maturing and mature neuroblastoma yielded new and important insights into the biology of the most common tumour of infancy and childhood, the neuroblastoma. We could show – contrary to accepted doctrines – that Schwann cells, which make up a large proportion of ganglioneuroblastoma and ganglioneuroma, are in fact normal cells (IM Ambros et al., EJC 1995, 31A(4):429-34; IM Ambros et al., NEJM 1996, 334(23):1505-11) and we provided proof that Schwann cells may infiltrate the tumour, which led to a completely new view on tumour evolution in neuroblastoma. So, apart from scientific aspects, our results also hinted at future therapeutic strategies, since we demonstrated that Schwann cells were directly or indirectly responsible for the maturation of a tumour (IM Ambros et al. MPO 2001, 36(1):163-8). The aim of current and future studies is to define those factors in Schwann cells that cause these processes (Weiss et al., Glia 2016, 64(12):2133-2153) in order to eventually propose new physiology-based treatment approaches.*

#### New avenues for targeting MYCN

*High-risk neuroblastoma frequently present with an amplification of the MYCN oncogene. These highly aggressive tumour cells can deactivate – spontaneously or as a response to low-dose cytotoxic therapy – amplified MYCN gene copies, thus rendering the tumour cells in a state of permanent pro*

EJC 1997, 33(12):2043-9; Narath et al., GCC 2007, 46(2):130-42; Taschner-Mandl et al., Oncotarget 2016, 7(3):3571-86). Dies führt zu einem dauerhaften Stopp des Tumorzellwachstums – der zellulären Seneszenz – und damit zu einem Verlust des malignen Verhaltens. Dieser neue Therapieansatz wird demnächst in einer von unserer Gruppe initiierten klinischen Studie umgesetzt werden.

### **Genetische Faktoren als Grundlage für Therapieentscheidungen**

Die direkte Umsetzung von Forschungsergebnissen in die klinische Praxis konnte auch in einem anderen Bereich der Tumorgenetik erreicht werden. Durch Kooperationen mit internationalen Gruppen konnten wir den Genomstatus von klinisch günstig verlaufenden bzw. sich spontan rückbildenden Neuroblastomen beschreiben (PF Ambros et al., EJC 1995, 31A(4):510-5). Diese und ähnliche Arbeiten lieferten die Grundlage für die erste europäische Neuroblastomstudie, die „evidence-based“ bei Vorliegen eines spezifischen Genomprofils des Tumors eine Therapierücknahme erlaubte und damit das Langzeitüberleben in dieser PatientInnengruppe auf über 90 Prozent anheben konnte (IM Ambros et al., in submission). Diese mittlerweile in zwei europäischen Studien erfolgreich angewandte therapeutische Strategie konnte nur durch stringente Qualitätskontrolle und eine einheitliche Nomenklatur erreicht werden (IM Ambros et al., JCO 2003, 21(11):2077-84; PF Ambros et al., BJC 2009, 100(9):1471-82). Die wesentliche Erkenntnis aus der Analyse von über 400 NeuroblastompatientInnen, die keine MYCN-Gen-Amplifikation aufwiesen und nur chirurgisch behandelt wurden, war, dass genetische Aberrationen einen hoch signifikanten Einfluss auf das Überleben von PatientInnen hatten, die älter als 18 Monate waren, nicht jedoch bei jüngeren.

Die räumliche Rekonstruktion von Genomaberrationen erlaubte die Aufdeckung von Tumorheterogenitäten, die auch das für die Prognose so essenzielle Amplifikationsereignis des MYCN-Onkogens betreffen (PF Ambros et al., MPO 2001, 36(1):1-4; Bogen et al., IJC 2016, 139(1):153-63). Die klinische Relevanz dieser intratumoralen Heterogenität konnten wir kürzlich in einem europaweit durchgeführten Projekt publizieren (Berbegall et al., BJC 2018 [Epub ahead of print]).

### **DNA-Tumoviren**

Wie eingangs erwähnt, haben wir uns wiederholt mit DNA-Tumoviren beschäftigt, die bei malignen Lymphomen bzw. bei immunsupprimierten Personen eine Rolle spielen. Dass das Epstein-Barr-Virus (EBV) nicht zufällig in das Genom der Wirtszelle integriert wird, sondern in bestimmten Positionen gehäuft auftritt, war – nach dem Nachweis der spezifischen Integration des humanen Papillomvirus in der Nähe des MYC-Onkogens (PF Ambros et al., Hum Gen 1987, 77(3):251-4) in einer humanen Zelllinie – die zweite Er-

*liferation arrest – a phenomenon termed cellular senescence –, in which they would lose their malignant behaviour (IM Ambros et al., EJC 1997, 33(12):2043-9; Narath et al., GCC 2007, 46(2):130-42; Taschner-Mandl et al., Oncotarget 2016, 7(3):3571-86). This novel treatment concept will be put into practice in the near future in a clinical trial initiated by our group.*

### **Genetic factors as basis for treatment decisions**

*There are various other areas in tumour genetics where scientific findings have been directly put into clinical practice. To give but one example, we succeeded, through close cooperation with international research groups, in describing and defining the genome status of clinically favourable and/or spontaneously regressing tumours (PF Ambros et al., EJC 1995, 31A(4):510-5). This analysis, along with a number of others, provided the basis for the first European Neuroblastoma Study, which as an evidence-based investigation facilitated therapy withdrawal in case of specific tumour genome profiles even in incompletely resected neuroblastomas, increasing long-time survival in this patient group to more than 90 percent (IM Ambros et al., in submission).*

*The prerequisites for this new therapeutic strategy, which has been successfully employed in two European clinical trials, were stringent quality control and standardised nomenclature (IM Ambros et al., JCO 2003, 21(11):2077-84; PF Ambros et al., BJC 2009, 100(9):1471-82). One basic finding from the analysis of more than 400 neuroblastoma patients – who had no MYCN gene amplification and were treated only surgically – was that genetic aberrations significantly influenced survival in patients older than 18 months but not in the younger age group.*

*The spatial reconstruction of genome aberrations also helped us to identify tumour heterogeneities which also affect the amplification event of the MYCN oncogene (PF Ambros et al., MPO 2001, 36(1):1-4; Bogen et al., IJC 2016, 139(1):153-63). The clinical relevance of this intratumour heterogeneity was the subject of a paper we recently published within the framework of a European-wide project (Berbegall et al., BJC 2018, [Epub ahead of print]).*

### **DNA tumour viruses**

*As mentioned before, we have also been examining the role of DNA tumour viruses that play a role in malignant lymphomas and in immunocompromised patients. In the course of our research we found, for example, that integration of the EBV into the host cell genome is not accidental but in certain positions occurs more frequently than in others (Le-stou et al., GCC 1993, 8(1):38-48). We also provided proof for the specific integration of the human papillomavirus close to the MYC oncogene in a human cell line (PF Ambros*

kenntnis unserer Gruppe, die sich mit der Integration von DNA-Viren befasste (Lestou et al., GCC 1993, 8(1):38-48). Neben der exakten Charakterisierung des EBV-Genoms in Burkitt-Lymphomzellen (Reisinger et al., IJC 2006, 118(7):1603-8) gelang uns der Nachweis, dass ein verwandtes DNA-Virus, das HHV6-Virus, in somatische Zellen von betroffenen Personen integriert wird und Virionen bilden kann (Arbuckle et al., PNAS 2010, 107(12):5563-8), was bis zu diesem Zeitpunkt nicht der Lehrbuchmeinung entsprach, aber speziell im Bereich der Knochenmarkstransplantation relevant ist.

### Liquid Biopsy – Tumorheterogenität

Zum besseren Verständnis der Intratumorheterogenität und damit zur Ermöglichung einer exakteren molekularen Diagnostik tragen Verfahren bei, die als Liquid Biopsy bekannt sind. Damit konnten wir zeigen, dass die Genomveränderungen des Klons, der für den Rückfall verantwortlich ist, in den disseminierten Tumorzellen des Knochenmarks häufiger vorhanden waren als in den Primärtumoren, was den Schluss zulässt, dass zumindest beim Neuroblastom zusätzlich zum Tumor auch die Tumorzellen des Knochenmarks genetisch analysiert werden sollten (Abbasi et al., CCR 2017, 23(15):4224-4232). Diese Arbeiten wurden durch die weltweit erste RNA-Sequenzierung von disseminierten Tumorzellen des Knochenmarks ergänzt, die ganz wesentliche Erkenntnisse lieferte (Rifatbegovic et al., IJC 2018, 142(2):297-307)

Sogenannte Minimal-Residual-Disease(MRD)-Untersuchungen – also der Nachweis von residuellen Tumorzellen im Knochenmark, z. B. nach erfolgter Induktionstherapie – liefern essenzielle Hinweise auf das Verhalten der Tumorerkrankung und das Langzeitüberleben der PatientInnen. So konnten wir kürzlich erstmals in einer internationalen Studie zeigen, dass gut definierte Subgruppen der Hochrisiko-NeuroblastompatientInnen durch die kombinierte Analyse von Genomveränderungen und durch MRD-Analysen, also den Nachweis des Ansprechens auf die Therapie, definiert werden können (Fiedler et al., in submission). Diese neu beschriebenen prädiktiven Faktoren helfen, in zukünftigen klinischen Studien gezieltere Therapieansätze zu entwickeln bzw. umzusetzen. Hochsensitive DNA-Sequenzierungsverfahren und PCR Methoden auf zellfreien Blutplasmaprobe werden in unserem Labor erfolgreich zum Monitoring der Erkrankung und zur Früherkennung eines Rezidivs eingesetzt. Diese Methoden wie auch andere molekulare und immunologische Techniken werden in Zukunft eine noch wichtigere Rolle spielen, da sie Hinweise auf therapeutisch nutzbare Veränderungen der Tumorzelle liefern können und damit gezieltere Therapien erlauben.

et al., Hum Gen 1987, 77(3):251-4). Apart from giving an exact characterisation of the EBV genome in Burkitt lymphoma cells (Reisinger et al., IJC 2006, 118(7):1603-8), we could show that a related DNA virus, the HHV6, does occur in the somatic cells of patients and normal individuals, forming virions (Arbuckle et al., PNAS 2010, 107(12):5563-8) – a finding, which until then had not been part of the accepted knowledge but turned out to be highly relevant in the context of bone marrow transplantations.

### Liquid Biopsy – tumour heterogeneity

There are methods to improve our understanding of intratumour heterogeneity, thus offering possibilities for more exact molecular diagnostics that facilitate a new procedure known as Liquid Biopsy. In our studies we showed that the genome aberration of the clone responsible for a relapse occurs more frequently in the disseminated tumour cells of the bone marrow than in the primary tumour itself. Accordingly, at least for neuroblastoma, in addition to the tumour, the tumour cells of the bone marrow should be genetically analysed, as well (Abbasi et al., CCR 2017, 23(15):4224-4232). These studies were complemented by the world's first RNA sequencing of disseminated tumour cells of the bone marrow which also led to significant new scientific findings (Rifatbegovic et al., IJC 2018, 142(2):297-307).

So-called minimal residual disease (MRD) analyses (i.e., the detection of residual tumour cells in the bone marrow, e.g., after induction therapy) produce essential information on tumour behaviour and the patient's long-term survival. In a recently published international study based on the combined analysis of genome aberrations and MRD analyses (i.e., the monitoring of therapy response) we showed for the first time that within the group of high-risk neuroblastoma patients besides a group with medium and rather favourable outcome a subgroup of patients with very poor outcome could be defined (Fiedler et al., in submission). Highly sensitive DNA sequencing and PCR techniques on cell free blood plasma samples are applied in our laboratory to monitor disease and to diagnose a relapse at an early time point. These new predictive features will help develop and implement more tailored therapy approaches in clinical trials. Refined DNA/RNA sequencing and other molecular techniques are set to play an even more crucial role in the diagnosis and monitoring of paediatric cancers, allowing the identification of druggable changes and thus providing a rationale for more targeted therapies.





# Innovative Krebsmodelle

## *Innovative Cancer Models*

**Kurz zusammengefasst:** Wir entwickeln genetische und Xenotransplantations-Tumormodelle im Zebrafisch, um zelluläre Interaktionen und die komplexen molekularen Mechanismen der Tumorentstehung in vivo untersuchen zu können. Diese Modelle werden ebenfalls genutzt, um Medikamente im Hochdurchsatzverfahren auf Antitumorwirksamkeit zu testen.

Die Gruppe Innovative Krebsmodelle wurde 2014 am CCRI gegründet. Wir nutzen den Zebraärb-ling (*Danio rerio*) – auch Zebrafisch genannt – als Modellsystem, um Bildung und Wachstum von Tumoren in einem intakten Organismus zu untersuchen. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse dienen der Entwicklung neuer therapeutischer Strategien.

Der Zebrafisch gehört zu den Wirbeltieren und ist ein alternativer Modellorganismus für die Krebsforschung. Insbesondere bietet er zwei einzigartige Möglichkeiten: 1) Lebendmikroskopie von zellulären Vorgängen, da die Zebrafischlarven transparent sind, und 2) kosteneffizientes Austesten von Medikamenten, da sich Zebrafische außerhalb des Mutterleibes entwickeln und zu testende Substanzen einfach aus dem Wasser aufnehmen.

Innerhalb des ersten Jahres am CCRI haben wir eine Fischanlage etabliert, die Anfang 2015 eröffnet wurde. Seitdem wurden viele verschiedene Fischlinien in die Anlage eingebracht. In dieser Zeit wurde ebenfalls ein modernes konfokales Mikroskop am CCRI installiert, um im Fischmodell Tumorzellen und ihre Interaktionen mit umgebenden Zellen mittels Zeitraffermikroskopie live untersuchen zu können. Einfache genetische Manipulationsmöglichkeiten sowohl der Tumorzellen als auch der Zellen des Tumormikromilieus ermöglichen es uns, molekulare Mechanismen des Tumorwachstums durch direkte Analyse mittels Lebendmikroskopie zu studieren.

**Short Summary:** We establish genetically engineered tumour models and xenotransplantation models in zebrafish to investigate tumour cells and their environment during disease progression within a natural context. We use these models to better understand disease-driving mechanisms and also to screen libraries of drugs for potential therapeutic substances.

*The Innovative Cancer Models Group was founded at the CCRI in 2014. We use zebrafish (*Danio rerio*) to investigate how tumours form and progress in the intact organism and to identify therapeutic strategies.*

*The Zebrafish is a well-suited alternative vertebrate cancer model system, offering two unique opportunities our group seeks to take full advantage of: 1) live imaging of cellular processes due to the transparency of the early zebrafish, and 2) cost-effective drug screening as zebrafish develop outside their mother and take up small compounds administered to the surrounding water.*

*Within the first year we established a large zebrafish facility – that was commissioned in early 2015 –, into which we subsequently transferred many zebrafish strains. During that time, we also set up at the CCRI a state-of-the-art confocal microscopy unit to be able to investigate tumour cells and their interactions with surrounding cells in the zebrafish model by live microscopy. The easy genetic manipulation of tumour cells as well as of cells in the tumour microenvironment allows for the dissection of the molecular mechanisms that drive tumour progression by direct readout using time-lapse microscopy.*

*In our group we follow two different strategies to model cancer in zebrafish (Kirchberger et al., Front Oncol 2017, 186). The first is a genetic approach based on the transfer of a disease-driving genetic aberration, e.g., an oncogene, from human to zebrafish and its expression in the correct cell*



• **Gruppenleiter / Group Leader: Dr. Martin Distel (PhD)**

- **Postdoktorandin / Postdoctoral Research Fellow:**  
Dr. Stefanie Kirchberger (PhD)
- **Doktorandin / PhD Student:**  
Sarah Grissenberger MSc
- **Diplomandin / MSc Student:**  
Kristin Fischer
- **Technische Mitarbeiterinnen / Technicians:**  
Luisa Morelli BSc, Dr. Susana Pascoal (PhD),  
Johanna Rohrhofer BSc, Dr. Caterina Sturtzel (PhD)
- **Screening-Plattform / Screening Platform:**  
Dr. Susana Pascoal (PhD), Dr. Caterina Sturtzel (PhD)

Wir verfolgen zwei unterschiedliche Arten der Tumormodellierung im Zebrafisch: genetische und Xenotransplantationsmodelle (Kirchberger et al., *Front Oncol* 2017, 186).

Der genetische Ansatz basiert auf dem Transfer von genetischen Veränderungen – in der Regel von Onkogenen – vom Menschen in den Fisch, wo sie im geeigneten Zelltyp exprimiert werden. In solch einem genetischen Modell konnten wir zeigen, dass H-RAS-Expression innerhalb von drei Tagen zu Hyperproliferation, invasivem Verhalten und Stimulierung des Blutgefäßwachstums in Zebrafischlarven führt. In einem kleinen Medikamentenscreen konnten wir Substanzen identifizieren, die die Ausprägung dieser Abnormalitäten verhindern. Diese Substanzen dürften auch nützliche Effekte für PatientInnen mit H-RAS-assoziierten Tumoren oder Entwicklungsstörungen wie etwa dem Costello-Syndrom haben.

Dieses Modell erlaubt uns außerdem, verschiedene Immunzelltypen zusammen mit Tumorzellen im lebenden Organismus zu beobachten. Es ist bekannt, dass das Tumormikromilieu entscheidenden Einfluss auf Tumorzellwachstum, Metastasenbildung und Immunevasion hat. Ein grundlegendes Verständnis der Funktion der verschiedenen Zelltypen des Tumormikromilieus bei diesen Prozessen würde neue Therapiestrategien liefern.

Unser besonderes Interesse gilt der Rolle von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten während der frühen Tumorentstehung. Es ist bekannt, dass diese Zellen des angeborenen Immunsystems in verschiedenen Varianten mit Pro- und Antitumorfunktionen vorkommen können. Um diese Varianten genauer funktionell charakterisieren und manipulieren zu können, generieren wir neue transgene Fischlinien, in denen diese Zellpopulationen markiert sind.

Der zweite Ansatz der Tumormodellierung im Zebrafisch, die Xenotransplantation, beruht auf dem Transfer von humanen Tumorzellen in Zebrafischlarven. Diese kurzfristigen Xenotransplantationsversuche dienen einerseits der Untersuchung des Verhaltens der Tumorzellen als Indikation des Voranschreitens der Erkrankung und andererseits dem Austesten von Medikamenten auf Wirksamkeit gegen Tumorzellen. Während der letzten zwei Jahre konnten wir in Kooperation mit mehreren Arbeitsgruppen des CCRI und des Champalimaud-Instituts in Lissabon Protokolle entwickeln, die es uns erlauben, verschiedene humane Tumorzellen in den Fischlarven proliferativ zu halten. Typischerweise analysieren wir Proliferation, Migration und Angiogenesepotenzial und testen Medikamente anhand dieser Xenotransplantationsmodelle, zum Beispiel an Neuroblastomzellen (Shen et al., *Cell Death Diff* 2018). Negative Auswirkungen der Medikamente auf die Entwicklung der Fischlarven können ebenfalls festgestellt werden – sie dienen als Kriterium, bestimmte Medikamente nicht weiterzuverfolgen. Das Fernziel dieses Ansatzes ist es, Tumorzellen direkt von PatientInnen in Zebrafischlarven zu transplantieren, um dann durch Medikamententests an diesem

*type. Using such a genetic model, we showed that human H-RAS expression leads to hyper-proliferation, invasion and attraction of blood vessels in zebrafish larvae already within the first three days after oncogene expression. In a small-scale drug screen we identified compounds that were able to prevent the H-RAS-mediated effects. These compounds also promise beneficial effects for patients with H-RAS-associated tumours or developmental disorders such as Costello syndrome.*

*Our model also allows us to simultaneously observe several cell types of the tumour microenvironment and cancer cells.*

*Cells in the tumour microenvironment are known to greatly influence tumour growth, metastasis and also immune escape. Understanding their complex interplay may provide the basis for novel intervention strategies.*

*We have a particular interest in the role specific innate immune cells (macrophages and neutrophils) play during the very first stages of tumour initiation and progression. These innate immune cells are known to exist in subpopulations which exert either anti- or pro-tumour functions. To dissect these populations in greater detail, we establish novel transgenic zebrafish strains able to highlight myeloid cells with specific anti- or pro-tumour functions for further characterisation and genetic manipulation.*

*The second cancer modelling approach is a xenograft approach, whereby human tumour cells are injected into zebrafish embryos. The conceptual idea behind its use is to have a short-term xenograft to investigate tumour cell behaviour as an indication for disease progression and to screen for therapeutic substances. In the last two years we have, greatly supported by several groups both at the CCRI and the Champalimaud Institute in Lisbon, established protocols to maintain various human tumour cell lines proliferative in the zebrafish xenograft setting. Typically, proliferation, migration and angiogenic potential of engrafted tumour cells are analysed and compounds are tested for anti-tumour effects, using, e.g., neuroblastoma cell lines (Shen et al., *Cell Death Diff* 2018). Side effects on zebrafish development are also evaluated to counterselect for substances harming normal development.*

*The ultimate goal to be achieved in the coming years is to xenograft patient-derived tumour cells into zebrafish and to test compounds on these models with a view to provide recommendations for a patient-tailored therapy within two weeks.*

*Generally, manual compound testing, unfortunately, is very time-consuming. Having been granted funding in 2017, we are currently setting up the Zebrafish Platform Austria for Preclinical Drug Screening (ZANDR) designed for the automation of almost all steps of compound screening on zebrafish disease models, including the sorting and transfer of zebrafish larvae into compound plates, image acquisition and image analysis. This will enable us*

Modell innerhalb von etwa zwei Wochen eine individualisierte Therapieempfehlung zu geben.

Manuelle Medikamententests am Zebrafischmodell sind leider sehr zeitaufwendig. 2017 erhielten wir eine Forschungsförderung zum Aufbau der Zebrafish Platform Austria for Preclinical Drug Screening (ZANDR). In dieser Plattform sind nahezu sämtliche Schritte der Medikamententestung am Zebrafischmodell automatisiert – dies beginnt beim automatischen Sortieren von Fischlarven in Platten mit vorgelegten Medikamenten und schließt auch Bildaufnahme und Bildauswertung ein. Diese Automatisierung erlaubt es uns, große Bibliotheken an Substanzen sowohl an genetischen als auch an Xenotransplantations-Tumormodellen zu testen. Nationale und internationale Kooperationen, insbesondere mit der Platform Austria for Chemical Biology (PLACEBO) am Zentrum für Molekulare Medizin in Wien, geben uns Zugang zu verschiedenen Substanzbibliotheken.

Ein weiteres laufendes Projekt ist die Etablierung eines Ewing-Sarkom-Modells im Zebrafisch zusammen mit den am CCRI tätigen Gruppen Molekularbiologie solider Tumoren und Epigenombasierte Präzisionsmedizin. Darüber hinaus versuchen wir, durch neue Strategien, wie etwa die lichtbasierte Kontrolle von Onkogenaktivität, Krebsmodelle im Zebrafisch zu verbessern, um die humane Situation genauer widerspiegeln zu können (Kainrath et al., *Chem Int Ed Engl* 2017, 56(16): 4608-4611).

Zusammenfassend haben wir in den letzten vier Jahren die Infrastruktur und viele genetische Werkzeuge etabliert, um Zebrafisch in der Kinderkrebsforschung nutzen zu können. Erste Ergebnisse bei Medikamentenscreens lassen erwarten, dass Zebrafischmodelle sich bei der Entwicklung von neuen therapeutischen Strategien für verschiedene Kinderkrebsarten als äußerst nützlich erweisen.

*to screen larger libraries of substances for anti-tumour effects on genetic or xenograft zebrafish tumour models. Access to various compound libraries is ensured through national and international collaboration, especially with the Platform Austria for Chemical Biology (PLACEBO) at the Vienna Centre for Molecular Medicine.*

*Further ongoing projects include the establishment of a Ewing's sarcoma model in zebrafish in collaboration with the Molecular Biology of Solid Tumours and the Epigenome-Based Precision Medicine Groups. We also strive to improve cancer modelling in zebrafish by employing novel strategies such as light-assisted control of oncogene function to be able to better mimic human tumourigenesis (Kainrath et al., *Chem Int Ed Engl* 2017, 56(16): 4608-4611).*

*Summing up, during the past four years we have created at the CCRI both the infrastructure and the genetic tools required to implement the zebrafish model in paediatric cancer research. Preliminary results obtained from compound screening show great promise for the zebrafish model as a valuable tool to identify novel therapeutic strategies for paediatric cancers.*

# Immunologische Diagnostik bei Leukämien\*

## *Immunological Diagnostics of Leukaemia\**

**Kurz zusammengefasst:** Der Fokus unserer Gruppe liegt auf der – unmittelbar der klinischen Anwendung dienenden – Forschung zum Thema Leukämie- und maligne Knochenmarkserkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Wir entwickeln und evaluieren insbesondere neue Diagnostikmethoden auf Basis der High-End-Durchflusszytometrie für die personalisierte Behandlungsplanung.

**Short Summary:** The focus of our group is on translational research on leukaemia and malignant bone marrow diseases in children and adolescents. In particular, we develop and evaluate new diagnostic methods based on high-end flow cytometry for personalised treatment.

Seit der Gründung der Arbeitsgruppe im Jahr 1993 liegt unser wissenschaftlicher Fokus auf der immunphänotypischen Charakterisierung der malignen Hämatopoese und inkludiert damit insbesondere Leukämien und Lymphome, die etwa 50 Prozent aller Krebserkrankungen des Kindes- und Jugendalters umfassen. Unser Ziel ist es, durchflusszytometrische Methoden zu entwickeln, die klinisch für verfeinerte Diagnosestellung sowie für personalisierte Risikostratifizierung und Therapieplanung einsetzbar sind. Seit den Anfängen hat sich die verwendete Technologie von 2-Farben-Anwendungen zu nunmehr 9-Farben-Anwendungen für Routine- und 11-Farben-Anwendungen für Forschungsaufgaben weiterentwickelt, wobei dies in enger Kooperation mit der FACS Core Unit des CCRI erfolgte. Unsere wissenschaftlichen Anstrengungen wurden bislang im Rahmen von sieben, teils auf internationaler Kollaboration beruhenden Drittmittelprojekten, in denen wir als Hauptpartner fungierten, unterstützt (Gesamtfördersumme > 3 Mio. Euro) und mit fünf nationalen Preisen prämiert.

Ausgehend von Untersuchungen des Expressionsprofils von MIC2 / CD99 in der frühen Blutzellentwicklung (Dworzak et al., Blood 1993) konnten wir in den Folgejah-

Since the establishment of the research group in 1993, our scientific focus has been on the immunophenotypic characterisation of malignant haematopoiesis, including in particular leukaemias and lymphomas, which account for about 50 percent of all childhood and adolescent cancers. Our goal is to develop flow cytometric methods that are clinically applicable for refined diagnosis, as well as personalised risk stratification and therapy planning. Since its beginnings, the original 2-colour technology has expanded to now involve nine colours for our routine and eleven colours for our research applications – an achievement that was made possible thanks to close cooperation with the CCRI FACS Core Unit. Our scientific efforts have so far been supported within the framework of seven, partly international collaborative third-party funded projects in which we acted as the main partner (total funding amount > 3 million euro) and have been awarded five national prizes.

Based on investigations of the expression profile of MIC2 / CD99 in early blood cell development (Dworzak et al., Blood 1993), in the following years we were able to develop a sensitive and cost-effective flow cytometric method for the detection of minimal residual disease (MRD) in leukaemia



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Doz. Dr. Michael N. Dworzak (MD, Assoc. Prof.)**

• **Wissenschaftliche Mitarbeiterinnen / Staff Scientists:**

Dr. Zvenyslava Husak (PhD), Dr. Margarita Maurer (PhD)

• **Technische Mitarbeiterinnen / Technicians:**

Daniela Scharner, Angela Schumich,  
Susanne Suhendra

ren eine sensitive und kostensparende durchflusszytometrische Methode für die Detektion minimaler Resterkrankung (MRD) bei Leukämie entwickeln (Dworzak et al., *Leukemia* 1997; Dworzak et al., *Experimental Hematology* 1998 & 1999; Dworzak et al., *Blood* 1998 & 2004), die sich für Prognosestellung und Therapiesteuerung eignet. Unsere erste rein nationale, multizentrische Studie mit dieser Methode wird seit ihrer Publikation bis heute in Leukämiespezialistenkreisen mit großem Interesse aufgenommen (Dworzak et al., *Blood* 2002; bislang 353 Zitierungen). Dies führte zur Begründung mehrerer internationaler Kooperationsprojekte unter unserer Koordination, an denen weltweit etwa 50 pädiatrische Leukämiediagnostiklabore (mit Schwerpunkt auf Europa, Südamerika und Australien) teilnehmen bzw. teilgenommen haben. Die Ergebnisse dieser Projekte (vgl. u. a. Dworzak et al., *Blood* 2008; Basso et al., *JCO* 2009) mündeten in der allgemeinen Etablierung der ursprünglich am CCRI entwickelten durchflusszytometrischen MRD-Bestimmung als eines integralen Bestandteils der therapiebegleitenden Diagnostik in der aktuellen Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL). Seit 2009 wurden weltweit mehr als 6000 Kinder und Jugendliche mit ALL mit dieser Methode untersucht und die Ergebnisse wurden – z. B. im Rahmen der internationalen Behandlungsprotokolle AIEOP-BFM-ALL und ALL IC-BFM – zur personalisierten Therapieplanung und Stratifizierung herangezogen. Das internationale Roll-out der innovativen Diagnostikmethode erforderte begleitende Projekte bezüglich Standardisierung und kontinuierlicher Qualitätskontrolle (vgl. Dworzak et al., *Clinical Cytometry B* 2008; Dworzak et al., *Clinical Cytometry B* 2018), was in der internationalen Forschungs- und Entwicklungsinitiative AutoFLOW kulminierte (EU – FP7-PEOPLE-2013-IAPP 610872). Dieses Projekt und eine verwandte Initiative bei pädiatrischer akuter myeloischer Leukämie (AML) (flowCLUSTER; ZIT13 – Wirtschaftsagentur Wien Life Sciences Call 2014; ID 1207843), die jeweils in Kooperation mit der Technischen Universität Wien (Computer Vision Lab – Institut für Mustererkennung) durchgeführt wurden, zielten auf die Entwicklung von expertenunabhängigen Methoden zur automatisierten Auswertung von Durchflusszytometriedaten mittels maschineller Lernverfahren und Computeralgorithmen für Mustererkennung ab (Reiter et al., *Pattern Recognition* 2016). Diese Projekte sind derzeit noch nicht zur Gänze abgeschlossen, jedoch zeigen die bisherigen, online und transkontinental durchgeführten Anwendungsbeobachtungen der automatisierten Methode eine hervorragende Genauigkeit und Verlässlichkeit, was einen zukünftigen Einsatz für die klinische Praxis realistisch erscheinen lässt.

Parallel zu den oben genannten Aktivitäten – insbesondere in Bezug auf ALL im Kindes- und Jugendalter – wurde ab 2008 ein neuer Schwerpunkt auf die Entwicklung von innovativer Diagnostik bei pädiatrischer AML gesetzt. Diese

(Dworzak et al., *Leukemia* 1997; Dworzak et al., *Experimental Hematology* 1998 & 1999; Dworzak et al., *Blood* 1998 & 2004) suitable for prognosis and therapy control. Our first purely national, multicentre study using this method has been recognised with great interest by leukaemia specialists since its publication (Dworzak et al., *Blood* 2002; 353 citations to date). As a consequence, several international cooperative projects were established under our coordination, in which approximately 50 paediatric leukaemia diagnostic laboratories worldwide (with a focus on Europe, South America and Australia) are participating or have participated. The results of these projects (e.g., Dworzak et al., *Blood* 2008; Basso et al., *JCO* 2009) led to the general establishment of flow cytometric MRD assessment originally developed at the CCRI as an integral part of the accompanying diagnosis in the current treatment of children and adolescents with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Since 2009, more than 6000 children and adolescents with ALL worldwide have been examined using this method, and the results obtained have formed the basis of personalised therapy planning and stratification, e.g., in the framework of the international treatment protocols AIEOP-BFM-ALL and ALL IC-BFM. Because the international roll-out of the innovative diagnostic method required accompanying projects on standardisation and continuous quality control (see Dworzak et al., *Clinical Cytometry B* 2008; Dworzak et al., *Clinical Cytometry B* 2018), relevant activities were launched that culminated in an international research and development initiative, the AutoFLOW (EU FP7-PEOPLE-2013-IAPP 610872). This project and a related initiative on paediatric acute myeloid leukaemia (AML) (flowCLUSTER; ZIT13 – Wirtschaftsagentur Wien Life Sciences Call 2014; ID 1207843), both carried out in cooperation with the Vienna University of Technology (Computer Vision Lab – Institute for Pattern Recognition), were aimed at developing expert-independent methods for the automated evaluation of flow cytometry data by means of machine learning techniques and computer algorithms for pattern recognition (Reiter et al., *Pattern Recognition* 2016). Although these projects are not fully completed yet, observations of the application of the automated method carried out online and on a transcontinental basis show an excellent accuracy and reliability, which makes a future application for clinical practice appear realistic.

Parallel to the activities mentioned above, especially regarding ALL in childhood and adolescence, since 2008 a new focus has been on the development of innovative diagnostics for paediatric AML. This disease currently has a worse long-term outcome than ALL due to frequent recurrences and the need for very intensive therapeutic interventions. New research initiatives of our group include another international project designed to develop a standardised flow cytometric method for the detection of MRD in AML patients in order to close a large gap



Erkrankung hat aufgrund von häufigen Rückfällen und der Notwendigkeit des Einsatzes von sehr intensiven Therapiemaßnahmen nach wie vor ein schlechteres Langzeitergebnis als die ALL. Diesbezügliche, neue Forschungsinitiativen unserer Gruppe umfassen zum einen ein weiteres internationales Projekt zur Entwicklung einer standardisierten durchflusszytometrischen Methode für die Detektion von MRD eben bei AML-Patienten – mit dem Ziel, die große Lücke in der bisherigen Diagnostik des Ansprechens für die Therapieplanung bei Kindern und Jugendlichen mit dieser Erkrankung zu schließen. Hierbei arbeiten unter unserer Koordination Forschungsgruppen aus Deutschland, Italien, Polen, Russland sowie Argentinien zusammen.

Zum anderen arbeiten wir im Rahmen eines extensiven kollaborativen Projekts an der Entwicklung geeigneter Labormethoden für die Analyse von aktivierten intrazellulären Signalwegen bei AML und, davon abgeleitet, für die personalisierte Anwendung von neuen Krebsmedikamenten aus der Klasse der Signalweginhibitoren (Warsch et al., Blood 2011). Das Gesamtportfolio unserer Forschungsaktivitäten wird abgerundet durch Untersuchungen zur Bedeutung der Stromazellnische im Knochenmark für die Vitalität von Leukämiezellen und Möglichkeiten für diesbezügliche interventionelle Therapieansätze (Husak und Dworzak, Stem Cell Research & Therapy 2017)

*in the previous diagnosis of treatment response for therapy planning in children and adolescents with AML. The project has brought together research groups from Germany, Italy, Poland, Russia and Argentina that are working under our coordination.*

*In yet another endeavour, we are pursuing an extensive collaborative project to develop laboratory methods suitable for the analysis of activated intracellular signalling pathways in AML and, derived from this, for the personalised application of new cancer drugs from the signalling pathway inhibitor class (Warsch et al., Blood 2011). The overall portfolio of our research activities is rounded off by studies on the importance of the stroma cell niche in the bone marrow for the vitality of leukaemia cells and possibilities for interventional therapies (Husak and Dworzak, Stem Cell Research & Therapy 2017).*

# Klinische Zellbiologie und FACS Core Unit\*

## *Clinical Cell Biology and FACS Core Unit\**

**Kurz zusammengefasst:** Die allogene Stammzelltransplantation (SZT) ermöglicht zwar die Heilung bösartiger Erkrankungen (z. B. der Leukämie), kann aber auch zu schweren Komplikationen führen. Wir analysieren daher den Vorgang der Immunrestitution nach SZT und entwickeln neuartige Immuntherapien, um mögliche lebensbedrohliche virale Infektionen zu bekämpfen.

**Short Summary:** Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an effective therapy for various malignant diseases (e.g., leukaemia); it may, however, lead to severe complications. Therefore, we analyse the process of immune reconstitution after HSCT and develop novel immunotherapies to fight life-threatening viral infections

Nach Gründung des Forschungsinstituts wurde Ende 1989 das Stammzelllabor als letztes der ursprünglich fünf Forschungseinheiten bezogen. Erstes Ziel war die durchflusszytometrische (FACS) Analyse der blutbildenden Stammzellen, die bei der Regeneration der Blutzellen nach einer Chemotherapie eine wichtige Rolle spielen und auch als klinischer Indikator verwendet werden. Bereits nach einem Jahr konnten wir diese Stammzellen aus Patientenblut isolieren und anreichern und somit erstmals mikroskopisch sichtbar machen. Untersuchungen von Knochenmark, Blut und Nabelschnurblut zeigten, dass diese Materialien nicht nur unterschiedlich viele, sondern vor allem jeweils typische Stammzellsubtypen enthalten (Fritsch et al., Blood 1993, 81:2301-09; Fritsch et al., Klin Päd 1995, 207:211-14).

Eine Studie unseres Labors belegte, dass sich Stammzellen aus mobilisiertem Blut besonders gut für die Transplantation eignen (Fritsch et al., Blood 1994, 83:3420-21), und so wurde die FACS- Zellanalyse stetig optimiert, bis ab 1996 die 4-Farben-FACS-Routine zur Verfügung stand. Unsere durchflusszytometrischen Analyseverfahren wurden mit den Jahren immer weiter verbessert und auf die gleichzeitige Messung von aktuell bis zu 18 verschiedenen Farben aus-

Following the foundation of the research institute, at the end of 1989 the stem cell laboratory was set up as the last of originally five research units. Our first goal was to identify, by means of flow-cytometric cell analysis (FACS), the blood-forming stem cells which play an important role in the regeneration of blood cells after chemotherapy and are also used as clinical indicators. After just one year we were able to isolate and enrich these stem cells from patient blood and thus to render them microscopically visible for the first time. Analyses of bone marrow, blood and umbilical cord blood showed differences not only in terms of quantity but also subtypes of stem cells contained in these materials (Fritsch et al., Blood 1993, 81:2301-09; Fritsch et al., Klin Päd 1995, 207:211-14; Fritsch et al., BMT 1996, 17:169-78).

After a study conducted at our laboratory had revealed that stem cells from mobilised blood were particularly well suited for transplantation (Fritsch et al., Blood 1994, 83:3420-21), we went about optimising the FACS analysis until, by 1996, an upgraded, 4-colour FACS routine panel was available. Over the years, these flow-cytometric analysis methods were further improved and expanded so that today we can simultaneously measure up to 18 different colours and rou-



• **Gruppenleiter / Group Leader: Priv.-Doz. Dr. René Geyeregger (PhD, Assoc. Prof.), seit / since 10/17.**

• **Gruppenleiter / Group Leader:**

Dr. Gerhard Fritsch (PhD, Assoc. Prof.), bis / until 09/17

• **Wissenschaftlicher Mitarbeiter / Staff Scientist:**

Dr. Wolfgang Paster (PhD)

• **Diplomandin / MSc Student:**

Sandra Sonderegger BSc, until 06/18

• **Technische MitarbeiterInnen / Technicians:**

DI (FH) Angela Halfmann (MSc), Mag. Christine Hoffmann-Freimüller (MSc),  
Ing. Dieter Printz, Daniela Scharner, Julia Stemberger, Dijana Trbojevic, Elke Zipperer

• **Klinische MitarbeiterInnen / Clinical Collaborators:**

Univ.-Prof. Dr. Susanne Matthes (MD, Prof.), Dr. Herbert Pichler (MD),  
Dr. Volker Witt (MD)

geweitet. Heute werden – neben den Stammzellen und deren Subtypen – alle Arten der weißen Blutzellen routinemäßig analysiert und die Ergebnisse der Klinik zur Verfügung gestellt. Aus den ursprünglichen Experimenten zur Anreicherung und Reinigung von Stammzellen für den klinischen Einsatz entstand ab 1996 die positive Stammzellselektion, ab 2003 die Lymphozytendepletion und ab 2012 eine spezielle T-Zell-Subtypendepletion, was die hämatopoetische Stammzellentransplantation (HSZT) über HLA-Barrieren hinweg ermöglichte (Fritsch et al., *Onkologie* 2000, 23:449-56).

Mit Beginn der therapeutischen Stammzellsammlung übernahm das Labor auch die Kryokonservierung von autologen Stammzellen und von Spenderzellen für die allogene Zellspende samt dazugehöriger Logistik. In enger Zusammenarbeit mit ÄrztInnen und WissenschaftlerInnen wurden viele Methoden in der klinischen Anwendung optimiert, wie das Monitoring der hämatopoetischen Regeneration (Fritsch et al., *Cytotherapy* 1999, 1(4):295-309; Pichler et al., *Cytometry* 2002, 50:231-37), die standardisierte Quantifizierung von Stammzellen (Fritsch et al., *Transfusion* 1997, 37:775-84; Fritsch et al., *Pediatr Hematol Oncol* 2012, 29:595-610), die Steuerung des Chimärismus in transplantierten PatientInnen (Lion et al., *Leukemia* 2001, 15:292; Matthes-Martin et al., *Leukemia* 2003, 17:1934-42) oder die Optimierung der Sammeleffizienz bei der Zellapherese (Witt et al., *J Clin Apher.* 2007, 22(4):306-313; Witt et al., *J Clin Apher.* 2011, 26(4):195-9).

Einen wichtigen Aspekt der HSZT bildet das Immunsystem, das supprimiert werden muss, um eine Spender-gegen-Empfänger (Graft-versus-Host)-Erkrankung zu verhindern. Dadurch kommt es jedoch zu einer nur langsamen Rekonstitution des Immunsystems. In dieser Phase müssen PatientInnen eine Zeit lang ohne T-Zell-vermittelte Immunabwehr auskommen. In der Folge können Infektionen entstehen, z. B. mit Adenoviren (ADV), Cytomegaloviren (CMV) oder Epstein-Barr-Viren (EBV). ADV- und CMV-disseminierte Infektionen sind trotz antiviraler Behandlung mit einer Mortalitätsrate von 50-60 Prozent assoziiert (Matthes-Martin et al., *Transpl Infect Dis* 2012, 6:555-63). Die Effektivität antiviraler Therapien war und ist jedoch noch immer fraglich. Mit unserer im Jahr 2009 „in-house“ entwickelten Methodik zur Detektion virusspezifischer T-Zellen konnten wir eine deutliche Korrelation zwischen der Präsenz virusspezifischer T-Zellen nach HSZT und der Abnahme zirkulierender Viruspartikel – und somit dem Rückgang der Infektion – nachweisen (Geyeregger et al., *PLoS One* 2013, 8(4) e59592).

Im letzten Jahrzehnt gab es bereits einige erfolgreiche Zelltherapien gegen virale Infektionen, jedoch verzögerte der komplexe und teure Herstellungsprozess virusspezifischer T-Zellen eine breitere Anwendung. Auf Basis unserer Entwicklungen aus dem Jahr 2009 zum Nachweis virusspezifischer T-Zellen im diagnostischen Bereich konnten wir ab 2011 eine neuartige Zelltherapie etablieren, die es er-

*tinely analyse stem cells, their subtypes, as well as all types of white blood cells for the clinic. Experiments initially carried out to enrich and purify stem cells for clinical use in 1996 grew into positive stem cell selection, followed by lymphocyte depletion in 2003, and a special T cell subtype depletion in 2012, all of which has facilitated stem cell transplantation (HSCT) across HLA barriers (Fritsch et al., *Onkologie* 2000, 23:449-56).*

*In addition to therapeutic stem cell collection, the laboratory also started the cryopreservation of autologous stem cells and donor cells for allogeneic cell donation, including the implementation of the relevant logistics. In close collaboration with physicians and scientists, many methods were optimised and introduced into the clinical setting, such as the monitoring of haematopoietic regeneration (Fritsch et al., *Cytotherapy* 1999, 1(4):295-309; Pichler et al., *Cytometry* 2002, 50:231-37), the standardised quantification of stem cells (Fritsch et al., *Transfusion* 1997, 37:775-84; Fritsch et al., *Pediatr Hematol Oncol* 2012, 29:595-610), the control of chimerism in the transplanted patient (Lion et al., *Leukemia* 2001, 15:292; Matthes-Martin et al., *Leukemia* 2003, 17:1934-42), or the optimisation of collection efficiency in cell apheresis (Witt et al., *J Clin Apher* 2007, 22(4):306-313; Witt et al., *J Clin Apher* 2011, 26(4):195-9).*

*One important aspect to be considered after HSCT is the immune system. In order to prevent graft-versus-host disease it has to be suppressed, which, however, leads to delayed immune reconstitution, especially of T cells. As a result, infections may occur, e.g., with adenovirus (ADV), cytomegalovirus (CMV) or Epstein-Barr virus (EBV). Despite antiviral treatment, disseminated ADV and CMV infections are associated with a mortality rate of 50-60 percent (Matthes-Martin et al., *Transpl Infect Dis* 2012, 6:555-63). The effectiveness of virostatic therapies is still questionable, though. Based on our in-house developed method for the improved detection of virus-specific T cells, we discovered a clear correlation between the presence of virus-specific T cells after HSCT and the decrease of circulating virus particles and, consequently, infection (Geyeregger et al., *PLoS One* 2013, 8(4) e59592).*

*Although a number of virus-specific T cell therapies were successfully performed in the last decade, the complex and expensive production process has delayed wider application. Based on our developments in the field of diagnostics we had started in 2009, in 2011 we began to establish a new type of cell therapy which made it possible to increase the amount of virus-specific T cells by 2-4 log levels within only twelve days. This could be achieved by stimulating white blood cells with viral peptide pools and cytokines such as interleukin-15. After making improvements to the production process in compliance with GMP, in 2012 we were for the first time able to treat two patients at the St. Anna Children's Hospital in Vienna on a "named-patient-use" basis (Geyeregger et al., *J Immunother* 2014, 37(4) 245-9). Because this manufacturing process includes a substantial manipulation of cells, the cell product be-*

möglichte, durch Stimulation von weißen Blutzellen mittels viraler Peptidfragmente und Zytokine – wie z. B. Interleukin-15 – virusspezifische T-Zellen in nur zwölf Tagen um 2-4 log-Stufen zu vermehren. Eine in weiterer Folge verbesserte Herstellung im GMP-Labor ermöglichte 2012 erstmals die Behandlung zweier Patienten auf Heilversuchsbasis im St. Anna Kinderspital in Wien (Geyeregger et al., *J Immunother* 2014, 37(4) 245-9). Da dieser Herstellungsprozess mit einer substanziellen Manipulation an Zellen einherging, wurde das Zellprodukt den „Arzneimitteln neuartiger Therapien“ (ATMP) zugeordnet. Es bedurfte daher noch drei weiterer Jahre, bis wir im Mai 2015 die Herstellungserlaubnis von der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) erhielten, um im darauffolgenden Jahr eine klinische Studie zu starten (EudraCT-Nr.: 2013-002492-17 oder ClinicalTrials.gov: NCT02702427). Zurzeit arbeiten wir an der Herstellungserlaubnis für EBV- und Polyomavirus (BKV)-spezifische T-Zellen, damit wir in Zukunft auch PatientInnen mit diesen viralen Infektionen helfen können.

Alle zelltherapeutischen Arbeiten des klinischen Labors laufen seit der Betriebsbewilligung durch das Bundesministerium (2004) gemäß den Anforderungen der GMP (Good Manufacturing Practice) im Reinraum ab. Wir unterziehen uns regelmäßigen Inspektionen durch die AGES und arbeiten nach den Vorgaben des österreichischen Gewerbe- sicherheits- und Arzneimittelgesetzes.

*longs to the category Advanced Therapy Medicinal Product (ATMP). It therefore took another three years before in May 2015 we received the manufacturing authorisation from AGES so that in 2016 we could finally start a clinical trial (EudraCT No.: 2013-002492-17 or ClinicalTrials.gov: NCT 02702427). Currently we are working on the further extension of our manufacturing permission with a view to the production of EBV- and Polyomavirus BKV-specific T cells.*

*Since their operational approval by the Austrian Federal Ministry (2004), all cell-based therapies have been produced under GMP (Good Manufacturing Practice) conditions. We undergo regular inspections by AGES and work in accordance with the specifications of the Austrian Tissue Safety Act and the Austrian Medicines Act.*

# Klinische Genetik\*

## *Clinical Genetics\**

**Kurz zusammengefasst:** Leukämien sind bösartige, durch genetische Störungen verursachte Erkrankungen des blutbildenden Systems. Unsere primäre Aufgabe ist es, diese vielfältigen, für eine spezifische Behandlung und Grundlagenforschung wichtigen Veränderungen mit zyto- und molekulargenetischen Methoden zu diagnostizieren und detailliert zu charakterisieren.

**Short Summary:** Leukaemias are malignant diseases of the haematopoietic system that are caused by genetic defects. Our primary task is to diagnose and characterise in detail these diverse changes that are important for specific treatment and basic research, using molecular and cytogenetic methods.

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit Gründung des Forschungsinstituts vor 30 Jahren mit der Abklärung, Klassifizierung und Erforschung sowohl von angeborenen und erworbenen genetischen Erkrankungen als auch von Tumorprädispositionssyndromen. Unser besonderes Augenmerk gilt dabei aber vor allem der effizienten Diagnostik all jener für bestimmte lymphatische und myeloische Leukämieformen des Kindesalters ursächlich verantwortlicher Veränderungen, die in allen nationalen und internationalen Behandlungsstudien einerseits eine wesentliche Grundlage für Therapieentscheidungen bildet, andererseits aber auch für die nachträgliche Beurteilung und Vergleichbarkeit des jeweiligen Therapieerfolges gebraucht wird. Die für diese Untersuchungen notwendigen zyto- und molekulargenetischen Methoden wurden von uns über die Jahre laufend verfeinert, stetig weiterentwickelt und dem jeweiligen Stand der Technik entsprechend angepasst und optimiert (Harrison et al., *Brit J Haematol* 2010, 151:132; van der Does-van der Berg et al., *Med Ped Oncol* 1992, 20:497).

Dabei haben wir sowohl eigene Testsysteme entwickelt als auch neu verfügbare eingehend evaluiert (Weinhäusel et al., *Hum Mutation* 2003, 22:404; König et al., *Br J Haematol* 2002, 116:758; Strehl et al., *Blood* 2001, 97:805; Weinhäusel & Haas, *Hum Genet* 2001, 108:450; Haas et al., *Leukemia* 1998, 12:474). In der Folge erarbeiteten wir Strategien zur raschen und effizienten Erfassung aller für die Behandlung von Leukämien entscheidenden genetischen Parameter, die

Since the opening of the research institute 30 years ago, our working group has dedicated itself to the diagnostic evaluation, classification and research of congenital and acquired genetic diseases, of which tumour predisposition syndromes form part. Our primary focus has been on the efficient clarification of the entirety of changes that are responsible for the various heterogeneous forms of lymphatic and myeloid leukaemias in children. The results obtained not only constitute an essential basis for therapeutic decisions in national and international therapy studies but are also required for the subsequent assessment and comparison of treatment outcomes. Over the years, we have continuously developed and refined the cyto- and molecular genetic methods underlying these investigations, adapting and optimising them according to any given state of the art (Harrison et al., *Brit J Haematol* 2010, 151:132; van der Does-van der Berg et al., *Med Ped Oncol* 1992, 20:497).

At the same time, we have both developed our own test systems and thoroughly evaluated newly available ones (Weinhäusel et al., *Hum Mutation* 2003, 22:404; König et al., *Br J Haematol* 2002, 116:758; Strehl et al., *Blood* 2001, 97:805; Weinhäusel & Haas, *Hum Genet* 2001, 108:450; Haas et al., *Leukemia* 1998, 12:474). Building on the experience gained, we devised novel strategies to facilitate the rapid and efficient evaluation of any genetic parameter crucial for leukaemia treatment. These algorithms will form the essential diagnostic basis of the newly designed international treatment protocols. Our strong and active



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. Dr. Oskar A. Haas (MD, Prof.)**

• **Wissenschaftliche Mitarbeiterinnen / Staff Scientists:**

Gerda Modarres MSc, Dr. Karin Nebral (PhD),  
Dr. Mai Sören (PhD), Dr. Petra Zeitlhofer (PhD)

• **Diplomandin / MSc Student:**

Sandra Sonderegger BSc, bis/until 06/18

• **Technische MitarbeiterInnen / Technicians:**

DI Clemens Brunner (MSc), Ulrike Engel, Brigitte Grimm MSc,  
Sabrina Haslinger MSc, Dr. Andrea Inthal (PhD),  
DI Michael Kainz (MSc), Margit König, Bettina Nocker,  
Maya Plank BSc, Michaela Pregesbauer, Eva Winkler,  
Sven Wohlmacher

• **Klinische Mitarbeiter / Clinical Collaborators:**

Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.)  
Univ.-Prof. Dr. Michael N. Dworzak (MD, Prof.)  
Univ.-Doz. Dr. Leo Kager (MD, Assoc. Prof.)  
Priv.-Doz. Dr. Georg Mann (MD, Assoc. Prof.)

zukünftig die wesentliche diagnostische Grundlage der neuen internationalen Behandlungsprotokolle bilden werden. Wie unsere vielfältigen Beiträge zeigen, sind wir in all diesen Studien federführend mitvertreten (Stanulla et al., *J Clin Oncol* 2018, 36(12):1240; Locatelli et al., 2017, 130:2146; Rasche et al., *Leukemia* 2017, 31:2807; Zaliouva et al., *Haematologica* 2016, 101:1082; Fischer et al., *Nature Genet* 2015, 47:1020; Harrison et al., *Leukemia* 2014, 28:1015; Coenen et al., *Blood* 2013, 122:2704; Conter et al., *Blood* 2010, 115:3206; Göhring et al., *Blood* 2010, 116:3766; von Neuhoff et al., *J Clin Oncol* 2010, 28:2682; Forrestier et al., *Blood* 2008, 111:1575; Hasle et al., *Blood* 2007, 109:4641).

Die Erkenntnisse unserer diagnostischen Arbeit bilden aber auch die Basis für weiterführende Forschungsprojekte, die sich primär immer an einer möglichen klinischen Verwertbarkeit orientieren. So gelang es uns in intensiver Zusammenarbeit mit anderen Gruppen im Haus sowie den für die nationalen und internationalen Therapiestudien Verantwortlichen, die biologische, funktionelle und klinische Bedeutung mehrerer neu identifizierter subgruppenspezifischer Merkmale zu definieren und im Detail abzuklären. Dazu zählt unter anderem eine Reihe von Publikationen, die sich mit verschiedenen Aspekten solcher Veränderungen beschäftigen (mehrere von Attarbaschi et al., *Brit J Haematol* 2012, 158:772; *Brit J Haematol* 2010, 148:293; *Leukemia* 2007, 21:584; *Leukemia* 2007, 21:584; *Clin Cancer Res* 2006, 12:2988; *Genes Chrom Cancer* 2006, 45:608; *Leukemia* 2004, 18:1611; Panzer-Grümayer et al., *Oncotarget* 2017, 8:96466; Pichler et al., *Brit J Haematol* 2010, 149:93; Nebral et al., *Leukemia* 2009, 23:134; Boer et al., *Leukemia* 2016, 30(1):32-8; Strehl et al., *Clin Cancer Res* 2008, 14:977; Akasaka et al., *Blood* 2007, 109:3451; Kager et al., *Haematologica* 2007, 92:1561; Nebral et al., *Brit J Haematol* 2007, 139:269; Strehl et al., *Genes Chrom Cancer* 2006, 45:104; Nebral et al., *Haematologica* 2005, 90:746; Strehl et al., *Leukemia* 2003, 17:1121; Lion et al., *Blood* 1992, 79:3325). Unsere Untersuchungen der Verteilung von Spender- und Empfängerzellen (Chimärismus) bei Knochenmarks- und Stammzelltransplantationen dienen vor allem der Therapieüberwachung und -steuerung. Die Bedeutung der Untersuchungsergebnisse für die klinische Betreuung der betroffenen PatientInnen war daher auch Gegenstand mehrerer diesbezüglicher Publikationen (Heitzeneder et al., *Bone Marrow Transplantation* 2015, 50:1127; Pichler et al., *Brit J Haematol* 2016, 173:905; Matthes-Martin et al., *Leukemia* 2003 17:1934). Ein weiterer Interessensschwerpunkt ist die Aufklärung von zu bösartigen Erkrankungen prädisponierenden genetischen Faktoren – nicht nur bei Kindern mit Leukämien und soliden Tumoren, sondern auch bei jenen mit nicht bösartigen Erkrankungen des blutbildenden und immunologischen Systems, die ja alle auch im St. Anna Kinderspital entsprechend betreut werden und unter Umständen ebenso potenzielle KandidatInnen für Stammzelltransplantationen sind (Kager et al., *Brit J Haematol* 2018,

*involvement in these study groups' committees has manifested itself through the multitude of contributions we have made to joint publications (Stanulla et al., J Clin Oncol 2018, 20;36(12):1240; Locatelli et al., 2017, 130:2146; Rasche et al., Leukemia 2017, 31:2807; Zaliouva et al., Haematologica 2016, 101:1082; Fischer et al., Nature Genet 2015, 47:1020; Harrison et al., Leukemia 2014, 28:1015; Coenen et al., Blood 2013, 122:2704; Conter et al., Blood 2010, 115:3206; Göhring et al., Blood 2010, 116:3766; von Neuhoff et al., J Clin Oncol 2010, 28:2682; Forrestier et al., Blood 2008, 111:1575; Hasle et al., Blood 2007, 109:4641).*

*Moreover, our diagnostic work forms an indispensable basis for a variety of primarily translational research projects, which are always aimed at generating clinically applicable results. Hence, 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. Our findings were published in a number of reports discussing various aspects of such changes (several by Attarbaschi et al., Brit J Haematol 2012, 158:772; Brit J Haematol 2010, 148:293; Leukemia 2007, 21:584; Leukemia 2007, 21:584; Clin Cancer Res 2006, 12:2988; Genes Chrom Cancer 2006, 45:608; Leukemia 2004, 18:1611; Panzer-Grümayer et al., Oncotarget 2017, 8:96466; Pichler et al., Brit J Haematol 2010, 149:93; Nebral et al., Leukemia 2009, 23:134; Strehl et al., Clin Cancer Res 2008, 14:977; Akasaka et al., Blood 2007, 109:3451; Kager et al., Haematologica 2007, 92:1561; Nebral et al., Brit J Haematol 2007, 139:269; Strehl et al., Genes Chrom Cancer 2006, 45:104; Nebral et al., Haematologica 2005, 90:746; Strehl et al., Leukemia 2003, 17:1121; Lion et al., Blood 1992, 79:3325). Our analyses of the distribution of donor and recipient cells (chimerism) in the setting of bone marrow and stem cell transplantations primarily serve the purpose of monitoring and controlling therapy. The relevance of the respective results for the clinical care of these patients was outlined in several publications dealing with this topic (Heitzeneder et al., Bone Marrow Transplantation 2015, 50:1127; Pichler et al., Brit J Haematol 2016, 173:905; Matthes-Martin et al., Leukemia 2003 17:1934). Another focal point of our interest is the elucidation of genetic factors predisposing to malignant diseases, not only in children with leukaemias and solid tumours but also in those with non-malignant diseases of the haematopoietic and immunological system, since these, too, are looked after and treated at St. Anna Children's Hospital, with some of them even being prospective candidates for stem cell transplantation (Kager et al., Brit J Haematol 2018, in print; Kager et al., Pediatr Blood Cancer 2017, 64:e26227; Kager et al., Pediatr Blood Cancer 2016, 63:914; Pichler et al., Eur J Pediatr 2012, 171:1711). In this context, we can refer to more than 20 years of experience with germline mutation screening approaches, which we have gained primarily through our Austria-wide*



in Druck; Kager et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64:e26227; Kager et al., *Pediatr Blood Cancer* 2016, 63:914; Pichler et al., *Eur J Pediatr* 2012, 171:1711). Wir können dabei auf eine mehr als 20-jährige Erfahrung verweisen, die wir primär mit der österreichweiten Analyse von sogenannten multiplen endokrinen Neoplasien-Prädispositionssyndromen gewonnen haben (Fink et al., *Int J Cancer* 1996, 69:312; Weinhäusel et al., *Wiener Klin Wochenschr* 2002, 114:252, Weinhäusel et al., *Thyroid* 2008, 18:1269). Dank der ständig wachsenden Vielfalt an neuen technologischen und bioinformatischen Möglichkeiten der Genomanalyse sind wir nunmehr in der Lage, diese zunehmend an Bedeutung gewinnende Diagnostik wesentlich effizienter und präziser zu gestalten, um sie in Zukunft noch besser zum Wohle der uns anvertrauten Patienten einsetzen zu können.

*analyses of the group of so-called multiple endocrine neoplasia predisposition syndromes (Fink et al., Int J Cancer 1996, 69:312; Weinhäusel et al., Wiener Klin Wochenschr 2002, 114:252, Weinhäusel et al., Thyroid 2008, 18:1269). The manifold technological and bioinformatic possibilities of genome analysis that have emerged in recent years are significant factors enhancing both the efficiency and preciseness of this increasingly important diagnostic field, which, in turn, will enable us to optimise our efforts for the benefit of the patients entrusted to us.*

# Entwicklung zellulärer Therapien

## *Development of Cellular Therapeutics*

**Kurz zusammengefasst:** Die CAR-T-Zelltherapie zählt zu den vielversprechendsten Ansätzen der modernen Krebstherapie, allerdings verhinderten potenziell lebensbedrohliche Nebenwirkungen bisher die klinische Translation von Strategien, die auch bei soliden Tumoren wirksam wären. Um diese Translation zu ermöglichen, entwickeln wir molekulare Werkzeuge, die diese Therapie tumorspezifischer und kontrollierbarer machen.

**Short Summary:** CAR-T cell therapy is one of the most promising approaches in modern cancer therapy. However, potentially life-threatening side effects have so far prevented the clinical translation of strategies that would also be effective for solid tumours. In order to facilitate this translation, we are developing molecular tools that will render this therapy more tumour-specific and controllable.

Die Gruppe zur Entwicklung zellulärer Therapien wurde von Prof. Wolfgang Holter im Zuge seiner Übernahme der Position des Ärztlichen Direktors des St. Anna Kinderspitals im Jahr 2012 gegründet.

Der Fokus der Forschung lag ursprünglich auf der Entwicklung neuer Therapieansätze für virale Infektionen, wie sie häufig nach Stammzelltransplantationen im Rahmen der Leukämiebehandlung auftreten. Ziel war dabei die Etablierung einer Immuntherapie basierend auf T-Zellen, welche mit chimären Antigenrezeptoren (CARs) ausgestattet wurden (sogenannten CAR-T-Zellen). CARs entsprechen im Prinzip Antikörpermolekülen, die an die Signalübertragungsmaschinerie des T-Zell-Rezeptors gekoppelt wurden. Durch sie lassen sich T-Zellen gegen beliebige Antigene auf Zielzellen richten. Wir postulierten, dass diese Form der CAR-basierten Immuntherapie auch eine neue Behandlung von Infektionen mit dem Zytomegalovirus (CMV) ermöglichen müsse. CMV bietet insofern einen interessanten Angriffspunkt für die CAR-Therapie, als mehrere virale Proteine in hoher Dichte an die Oberfläche infizierter Zellen gelangen. In Zusammenarbeit mit unserem Partner Prof. Armin Ensser vom Virologischen Institut des Universitäts-

*The Development of Cellular Therapeutics Group was founded by Prof. Wolfgang Holter upon his assumption of the position of Medical Director of St. Anna Children's Hospital in 2012.*

*The initial research focus was on the development of new therapeutic approaches for viral infections, which frequently occur after stem cell transplantations in the context of leukaemia treatment. The aim was to establish an immunotherapy based on CAR-T cells, i.e., T cells expressing chimeric antigen receptors (CARs). In principle, CARs represent antibody molecules that have been coupled to the signal transduction machinery of the T cell receptor and can be used to direct T cells against any antigens on target cells. We postulated that this form of CAR-based immunotherapy could also be suitable for the treatment of cytomegalovirus (CMV) infections. CMV constitutes an attractive target for CAR therapy because several viral proteins reach the surface of infected cells in high density. So, in cooperation with our partner, Prof. Armin Ensser from the Institute of Virology at the University Hospital in Erlangen, we generated a CMV-specific CAR against the viral glycoprotein B (gB); with this gB-specific CAR*



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter (MD, Prof.)**

• **Wissenschaftlicher Mitarbeiter / Staff Scientist:**

Dr. rer. nat. Dr. habil. med. Manfred Lehner (PhD, MD)

• **DoktorandInnen / PhD Students:**

DI Charlotte Brey (MSc), DI Benjamin Salzer (MSc)

• **DiplomandInnen / MSc Students:**

Markus Dobersberger, von / from 02/17,

Christina Schüller, von / from 02/17

klunikums in Erlangen generierten wir daher einen CMV-spezifischen CAR gegen das virale Glykoprotein B (gB). Mit diesem gB-spezifischen CAR gelang es, T-Zellen gezielt gegen CMV-infizierte Zellen zu lenken und die Ausbreitung des Virus zu blockieren (Proff et al., *J Transl Med* 2018, 16(1):26). Diesen Ansatz entwickelten wir gemeinsam mit einem Biotech-Unternehmen weiter und generierten basierend auf unserem CAR einen bispezifischen Antikörper, dessen Funktion wir inzwischen ebenfalls zeigen konnten (Brey et al., Manuskript eingereicht). Im Zuge dieser Arbeiten deckten wir auch einen bisher unbekanntem Mechanismus auf, mit dem CMV die infizierten Wirtszellen sehr effizient gegen die zytotoxischen Effektorfunktionen von T-Zellen schützt (Proff et al., *Front Microbiol* 2016, 7:844).

Das Hauptziel des Forschungslabors ist die Anwendung der CAR-Strategie zur Entwicklung wirksamerer Therapiemöglichkeiten für kindliche Hochrisikotumore. Dieses vor Augen generierten wir ursprünglich einen CAR, der anstatt einer antikörperabgeleiteten Bindedomäne die Ektodomäne des NK-Zell-Rezeptors NKG2D enthält (Lehner et al., *PLoS One* 2012, 7(2):e31210). Neben der Tatsache, dass die Liganden dieses Rezeptors besonders in kindlichen Hochrisikotumoren (Ewing-Sarkom, Osteosarkom, Rhabdomyosarkom, Gliom) sehr häufig exprimiert werden, bietet dieser CAR zwei entscheidende Vorteile: Erstens erkennt er im Gegensatz zu antikörperbasierten CARs gleich acht verschiedene Antigene und erschwert dadurch den Immun-Escape, und zweitens ist dieser Rezeptor sehr wahrscheinlich nicht immunogen, da die Bindedomäne von einem endogenen Protein stammt und im Gegensatz zu einem Antikörper keine potenziell immunogenen Mutationen enthält. Letzteres ist eine wichtige Voraussetzung für die Persistenz der CAR-T-Zellen nach der Verabreichung. NKG2D-basierte CAR-Strategien werden derzeit auch von anderen Gruppen verfolgt und befinden sich bei der akuten myeloischen Leukämie in klinischer Testung.

Bislang offenbarte sich das große Potenzial der CAR-T-Zelltherapie in der Behandlung von malignen B-Zell-Erkrankungen, bei der CAR-T-Zellen eine sehr hohe Wirksamkeit mit akzeptablen Nebenwirkungen zeigten. Durch internationale klinische Studien, an denen auch das St. Anna Kinderspital teilnahm, bestätigt, führten diese Ergebnisse im Jahr 2017 in den USA zu ersten Zulassungen. Für solide Tumoren gibt es bisher keine vergleichbaren Erfolge. Hier besteht das zentrale Problem darin, dass man einerseits die Wirksamkeit der CAR-T-Zellen weiter erhöhen muss, andererseits aber – aufgrund der Tatsache, dass CAR-T-Zellen immer mehr oder weniger stark auch gesunde Zellen angreifen, da tumorassoziierte Antigene grundsätzlich immer auch auf einem Teil der gesunden Zellen vorkommen – bereits jetzt schwere Nebenwirkungen auftreten. Diese können je nach betroffenem Gewebe rasch lebensbedrohlich werden und hindern uns damit bis heute an der klinischen Anwendung wirksamerer CAR-T-Zellen.

*it was possible to direct T cells specifically against CMV-infected cells and to block the spread of the virus (Proff et al., *J Transl Med* 2018, 16(1):26). Taking this approach a step further and joining efforts with a biotech company, we generated a bispecific antibody, whose function we have also been able to demonstrate recently (Brey et al., manuscript submitted). In the course of this work we also uncovered a previously unknown mechanism that CMV uses to very efficiently protect the infected host cells against the cytotoxic effector functions of T cells (Proff et al., *Front Microbiol* 2016, 7:844).*

*In pursuit of the laboratory's main goal – the development of more effective therapies for high-risk childhood tumours with CAR-T cells –, we originally generated a CAR which, instead of an antibody-derived binding domain, contained the ectodomain of the NK cell receptor NKG2D (Lehner et al., *PLoS One* 2012, 7(2):e31210). In addition to the fact that the ligands of this receptor are very frequently expressed in high-risk childhood tumours (Ewing's sarcoma, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, glioma), this CAR offers two decisive advantages: first, unlike antibody-based CARs, it recognises eight different antigens, thereby hampering immune escape and, second, it is most probably not immunogenic because the binding domain is derived from an endogenous protein and, unlike an antibody, does not contain potentially immunogenic mutations. The latter is an important prerequisite for the persistence of CAR-T cells after administration. NKG2D-based CAR strategies are currently pursued by other research groups, as well and are in clinical testing for treatment of acute myeloid leukaemia.*

*The great potential of CAR-T cell therapy has so far been demonstrated in the treatment of malignant B cell diseases, with CAR-T cells for these diseases showing very high efficacy with acceptable side effects. These findings, which have been corroborated by international clinical studies in which St. Anna Children's Hospital participated, led to the first approvals in the USA in 2017. No comparable successes can be reported for solid tumours, though. Here, the central problem is that the effectiveness of CAR-T cells must be further increased, when, at the same time, current CARs can cause life-threatening side effects. The latter is due to the fact that CAR-T cells always attack healthy cells to some extent, since tumour-associated antigens invariably also occur on a small fraction of healthy cells. Depending on what particular tissue has been affected, these side effects can quickly become life-threatening, which still prevents the clinical application of more effective CAR-T cells.*

*Our research therefore focuses on the development of new molecular tools with which we can minimise the recognition of healthy tissue and, at the same time, reversibly control CAR-T cell activity through the oral administration of approved and safe drugs. In a highly*

Im Zentrum unserer Forschung steht daher die Entwicklung neuer molekularer Werkzeuge, mit denen wir die Erkennung von gesundem Gewebe minimieren und gleichzeitig die Aktivität von CAR-T-Zellen durch die Verabreichung von Medikamenten reversibel steuern können. In einem hoch interdisziplinären Projekt, in dem wir sehr erfolgreich mit der Abteilung für Proteinchemie an der Universität für Bodenkultur (Prof. Christian Obinger, Dr. Michael Traxlmayr) zusammenarbeiten, verfolgen wir für die reversible Steuerung der CAR-Funktion ein Konzept, in dem wir die Interaktion von Proteinen durch kleine Moleküle spezifisch steuern. Das zugrunde liegende Proteinsystem wurde dabei so ausgewählt, dass wir größtmögliche Freiheit bei der Wahl der Moleküle haben. Dies erlaubt uns, die Moleküle nach Verträglichkeit und pharmakokinetischen Eigenschaften auszuwählen und so molekulare Schalter zu konstruieren, die auch für eine Anwendung im Menschen geeignet sind. Inzwischen konnten wir bereits beweisen, dass sich unser Proteinsystem für eine hochspezifische Steuerung der CAR-Funktion durch ein gewähltes Molekül eignet.

In einer weiteren Kooperation – mit Prof. Thierry Langer vom Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien – konnten wir durch In-silico-Screening eine Reihe von interessanten Kandidatenmolekülen identifizieren. Aus diesen werden wir mittels biochemischer Tests die vielversprechendsten Kandidaten auswählen und dann unser Proteinsystem für die Steuerung durch diese Moleküle engineeren. In einem zweiten Ansatz unseres Konzepts arbeiten wir an einer neuen CAR-Architektur, die uns erlauben wird, die Spezifität von CAR-T-Zellen zu erhöhen. Auch hier konnten wir mit einem ersten CAR experimentell beweisen, dass es möglich ist, CAR-T-Zellen gezielt nur dann zu aktivieren, wenn zwei bestimmte Antigene gleichzeitig auf einer Zielzelle vorhanden sind – und eben nicht, wenn nur eines der Antigene vorhanden ist. Auf Basis unserer bisherigen Ergebnisse haben wir inzwischen ein erstes Patent angemeldet, zwei weitere Patente befinden sich in Arbeit. Die Realisierung unseres Konzepts wäre ein wichtiger Fortschritt im Feld, böte sich damit doch erstmals die Möglichkeit, CARs breit einzusetzen und bei Eintreten lebensbedrohlicher Situationen besser zu steuern.

*interdisciplinary project with the Department of Protein Chemistry of the University of Natural Resources and Applied Life Sciences (Prof. Christian Obinger, Dr. Michael Traxlmayr), we are pursuing a concept whereby we specifically control the interaction of proteins through small molecules. The underlying protein system has been selected with a view to offering the greatest possible freedom in the choice of molecules, i.e., allowing us to select them according to tolerability and pharmacokinetic properties in order to construct molecular switches suitable for use in humans. Meanwhile, we have been able to prove that our protein system is in fact suitable for highly specific control of CAR function with a selected molecule.*

*In another cooperative project – with Prof. Thierry Langer from the Department of Pharmaceutical Chemistry of the University of Vienna –, a number of interesting candidate molecules were identified through in silico screening. Using biochemical tests, we will select the most promising candidates and then engineer our protein system for control by those molecules. In our second approach, we are working on a new CAR architecture that would allow us to increase the specificity of CAR-T cells. Here, again, we were able to experimentally prove with a first CAR that it is possible to activate CAR-T cells only if on a target cell two specific antigens are present simultaneously, and to not activate them if only one of the antigens is present. Based on these results, we have filed a first patent application and two further patent applications are in progress. Full implementation of our concept would enable us not only to introduce CARs on a broad basis but also to better control them in the event of life-threatening situations, thus marking an important step forward in the field.*

# LCH Biologie\*

## *LCH Biology\**

**Kurz zusammengefasst:** Das LCH-Labor arbeitet an der Erforschung der Langerhans-Zell-Histiocytose (LCH), einer seltenen neoplastischen Erkrankung, die durch die Infiltration verschiedener Organe mit makrophagenähnlichen Zellen charakterisiert ist. Wir wollen zwei grundlegende Fragen lösen: Welche pathologischen Mechanismen liegen der LCH zugrunde? Wie können wir die Behandlung von Kindern mit dieser Krankheit verbessern?

**Short Summary:** Focusing on the investigation of the pathobiology of Langerhans cell histiocytosis, a rare disease marked by the accumulation of histiocyte-like cells, the LCH Lab seeks to provide an answer to two fundamental questions: What are the mechanisms behind LCH, and how can we improve treatment of children affected by this disease?

Die LCH ist eine Erkrankung aus dem Formenkreis der Histiocytosen, die oft durch eine aktivierende Mutation im BRAF-Gen verursacht wird. Grundlegende Fragen zu dieser Krankheit werden immer noch diskutiert. LCH ist nicht leicht zu untersuchen – es handelt sich um eine seltene Krankheit, für die es keine geeigneten präklinischen Modelle gibt. Ungeachtet dessen kam es in den letzten Jahren zu revolutionären Entdeckungen, die zur Klassifizierung der LCH als Neoplasie führten und neue Strategien für eine gezielte Behandlung von LCH lieferten.

Die Geschichte der LCH ist eng mit dem St. Anna Kinderspital und der St. Anna Kinderkrebsforschung verbunden – das St. Anna Kinderspital fungierte ab 1983 als Studienzentrum für eine der ersten internationalen Studien zur Behandlung von LCH bei Kindern und Jugendlichen (die DAL-HX-Studien). An der derzeit laufenden Studie (LCH-IV) nehmen mehr als 22 Länder weltweit teil. Diese Kooperationen führten zu einer signifikanten Verbesserung der Überlebensrate und einer deutlichen Abnahme von Rezidiven bei Kindern mit LCH.

Das LCH-Labor wurde formal im Jahr 2017 gegründet, doch bereits zuvor hatte Caroline Hutter, die sich während ihrer Facharztzubereitung am St. Anna Kinderspital für die Biologie dieser Krankheit zu interessieren begann, Unterstützung und einen Arbeitsplatz am CCRI in der Gruppe von

*LCH is an enigmatic disease. Despite many efforts by a worldwide network of scientists, fundamental questions about the nature of this disease are still debated: In most cases it is caused by an activating mutation in BRAF, a well-known oncogene, but is it cancer? And what is the mechanistic basis for the diverse clinical manifestations? A rare disease, LCH has been notoriously difficult to study – and yet the past years have seen revolutionary discoveries that have led to a clearer understanding of LCH as a neoplastic disease and also provided new strategies for the targeted treatment of LCH.*

*The history of LCH has been tightly linked with both St. Anna Children's Hospital and St. Anna Children's Cancer Research Institute since 1983, when the former started to serve as the study centre for one of the first international collaborative trials for the treatment of LCH in children and adolescents (the DAL-HX studies). In the current trial (LCH-IV) more than 22 countries are participating. These large collaborative efforts have led to a significant improvement in terms of survival rates of children with LCH and a decrease of relapses.*

*Even before the LCH laboratory was formally established in 2017, Caroline Hutter – who took an interest in the biology of this disease while working as a fellow in paediatrics at St. Anna Children's Hospital – had been given*



• **Gruppenleiter / Group Leader: DDr. Caroline Hutter (MD, PhD)**

• **Postdoktorandin / Postdoctoral Research Fellow:**  
Dr. Raphaela Schwendtner (PhD)

• **Technische Mitarbeiterin / Technician:**  
Ing. Gunhild Jug

Heinrich Kovar gefunden. Gemeinsam mit KollegInnen der Universitätsklinik für Dermatologie der Medizinischen Universität Wien begann das Team, die Genexpression von LCH-Zellen zu analysieren. Dabei stellte sich heraus, dass LCH-Zellen zwar Merkmale sowohl von epidermalen Langerhans-Zellen als auch von dendritischen Zellen aufwiesen, auf transkriptionaler Ebene aber einen eigenen Zelltyp darstellten (Hutter et al., *Blood* 2012, 120(26):5199-20). Diese Analysen zeigten auch, dass der Notch-Signalweg – ein hochkonserviertes System zur Signaltransduktion – Monozyten dazu bringen konnte, in Zellen zu differenzieren, die typische Merkmale von LCH-Zellen tragen. Dies lieferte ein hypothetisches Modell, wie LCH entstehen könnte: von aus dem Blut stammenden Vorläuferzellen, die sich innerhalb ausgewählter Nischen in CD1a+ CD207+ LCH-Zellen entwickeln. Darüber hinaus kann dieses auf der In-vitro-Differenzierung von Monozyten basierende System als Modell für die Untersuchung der Krankheit verwendet werden.

Diese Bemühungen haben sich inzwischen zu einem interdisziplinären Projekt entwickelt, in das neben bioinformatischer und molekularbiologischer Expertise von Kollegen des CeMM-Forschungszentrums für Molekulare Medizin der Österreichischen Akademie der Wissenschaften auch die klinische Expertise von Kollegen aus dem St. Anna Kinderspital und anderen Zentren in Europa einfließt. Die Analyse der LCH-Biopsien mittels genomweiter Sequenzierung und Durchflusszytometrie hat eine beträchtliche zelluläre Heterogenität innerhalb der LCH-Zellen gezeigt und es ermöglicht, die Architektur der LCH-Läsionen zu beschreiben und so die Krankheit besser zu verstehen.

In einem zweiten Projekt arbeitet das LCH-Labor an der Entwicklung biologischer Marker, die eine bessere Stratifizierung der PatientInnen gewährleisten sollen. Gemessen wird das Vorhandensein LCH-assoziiierter Mutationen im peripheren Blut von PatientInnen zum Zeitpunkt der Diagnose und während der Behandlung (Kolenova et al., *Blood Advances* 2017, 1(6):352-356; Heisig et al., *Oncotarget* 2018, 9(31):22236-22240). Sollte die Etablierung dieser Biomarker gelingen, würden sich die Möglichkeiten zur Diagnosestellung der LCH grundlegend verändern und eine gezieltere Behandlung von Kindern mit LCH erlauben.

*support and bench-space by the CCR's Molecular Biology of Solid Tumours Group. That was the setting for Caroline Hutter and her team to start to systematically investigate LCH cells isolated from patient biopsies. Together with colleagues from the Department of Dermatology of the Medical University of Vienna they analysed the transcriptome of LCH cells along with epidermal Langerhans cells and different dendritic cell types. They found that at the transcriptional level, LCH cells had features of both epidermal Langerhans cells and myeloid dendritic cells but nevertheless formed a distinct cell entity (Hutter et al., *Blood* 2012, 120(26):5199-20). These experiments also showed that the Notch signalling pathway – a highly conserved signalling system across species – could induce monocytes to differentiate into cells that carry typical features of LCH cells. This provided a hypothetical model of how LCH could arise: from blood-derived precursor cells developing inside selected niches in CD1a+ CD207+ LCH cells. In addition, this system can be used as an in vitro model for the disease.*

*These efforts have since then evolved into an interdisciplinary project that brings together expertise on bioinformatics and molecular biology from colleagues at the CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences and clinical expertise from colleagues from St. Anna Children's Hospital and other European research centres. Dissection of the composition of LCH samples by means of next-generation sequencing techniques and flow analysis has revealed a considerable cellular heterogeneity within LCH lesions, which will facilitate the investigation of the architecture of LCH lesions towards a better understanding of the disease.*

*In another, clinically orientated project, the LCH lab is now seeking to develop biomarkers that can be used to determine high-risk disease at time of diagnosis and to evaluate treatment response. To this end, they are tracking the level of LCH-associated mutations in the peripheral blood of patients with LCH at time of diagnosis and during treatment (Kolenova et al., *Blood Advances* 2017, 1(6):352-356; Heisig et al., *Oncotarget* 2018, 9(31):22236-22240). If successful, these biomarkers will fundamentally change diagnosis and enable targeted treatment of children affected by LCH.*





# Molekularbiologie solider Tumoren

## *Molecular Biology of Solid Tumours*

**Kurz zusammengefasst:** Das Ewing-Sarkom ist ein sehr bösartiger Knochentumor bei Kindern und Jugendlichen unbekannter Genese. Wir untersuchen die molekularen Ursachen seiner Entstehung und die Grundlagen klinischer Variation, um innovative Konzepte für neue Diagnose- und gezielte Behandlungsstrategien zu entwickeln.

**Short Summary:** Ewing's sarcoma is a very aggressive, malignant bone tumour of unknown histogenesis affecting both children and adolescents. We investigate the molecular causes underlying its pathogenesis and its clinical variability in order to develop innovative concepts for novel diagnostic tools and targeted treatment strategies for the disease.

Das Forschungslabor Molekularbiologie Solider Tumoren wurde als eine der ersten Arbeitsgruppen des CCRI vor 30 Jahren gegründet. Schon sehr bald fokussierte es sich vornehmlich auf die Erkundung der molekularen Grundlagen des Ewing-Sarkoms, des zweithäufigsten Knochentumors im Kindes- und Jugendalter. Zu dieser Zeit hatten MitarbeiterInnen des Wiener Universitätsinstituts für experimentelle Pathologie in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Tumorbilologie des CCRI einen Antikörper gegen menschliches Ewing-Sarkom in der Maus entwickelt, von dem man sich therapeutisches Potenzial erhofft hatte. Um das tumorspezifische Antigen, das von dem Antikörper erkannt wurde, zu identifizieren und zu charakterisieren, konstruierten wir die weltweit erste komplementäre DNA-Bibliothek für Ewing-Sarkom, in der jedes Tumorprotein von bakteriellen Viren (Bakteriophagen) vermehrt und präsentiert wird. Aus dieser Bibliothek konnten wir das von dem Antikörper erkannte Zelloberflächenprotein als CD99 (alias MIC2) identifizieren, welches bis heute weltweit in der Routinepathologie als differenzielles Diagnosemerkmal eingesetzt wird (Kovar et al., *Oncogene* 1990, 5(7):1067-1070).

Darüber hinaus diente diese Bibliothek in einer Kollaboration mit dem Institut Curie in Paris der Klonierung des ersten onkogenen Fusionsproteins bei soliden Tumoren

The Molecular Biology of Solid Tumours Lab was founded 30 years ago as one of the first CCRI research groups. Soon it became obvious that its predominant focus would be on the exploration of the molecular underpinnings of Ewing's sarcoma, the second most frequent bone cancer in children and adolescents. By that time, researchers at the Department for Experimental Pathology of the University of Vienna had developed, in collaboration with the CCRI Tumour Biology Lab, a mouse antibody targeting human Ewing's sarcoma, which was hoped to have therapeutic potential in this disease. In order to identify and characterise the tumour antigen recognised by the antibody, we constructed the first Ewing's sarcoma-specific complementary DNA library worldwide, in which each tumour protein was displayed and amplified by bacterial viruses (phages). Thanks to this library we succeeded in identifying the cell surface protein CD99 (alias MIC2) as the antigen recognised by the tumour-specific antibody, which has become one of the mainstays of differential Ewing's sarcoma diagnosis in worldwide routine pathology (Kovar et al., *Oncogene* 1990, 5(7):1067-1070).

Importantly, in a collaboration with the Institute Curie in Paris, our library also served the cloning of the first oncogenic fusion protein in solid tumours (EWS-FLI1) and its precursor



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. Dr. Heinrich Kovar (PhD, Prof.)**

• **Wissenschaftliche Mitarbeiter / Staff Scientists:**

Priv.-Doz Dr. Dave N.T. Aryee (PhD, Assoc. Prof.), Dr. Jozef Ban (PhD)

• **PostdoktorandInnen / Postdoctoral Research Fellows:**

Dr. Eleni Tomazou (PhD); Dr. Murat Tugrul (PhD)

• **Doktorandinnen / PhD Students:**

Lisa Bierbaumer MSc, Marion Janschitz (MSc),  
Dr. Anna Katschnig (PhD), Dr. Cornelia Mutz (PhD)

• **Technische Mitarbeiterin / Technician:**

Ing. Karin Mühlbacher

überhaupt (EWS-FLI1) und dessen Vorläufers (EWS) (Delattre et al., *Nature* 1992, 359(6391):162-165). Es stellte sich heraus, dass die Genumlagerung, die zur Bildung der EWS-FLI1- (oder einer eng verwandten) Fusion führt, die einzige genetische Veränderung ist, die allen Ewing-Sarkomen gemeinsam ist. Diese Entdeckung prägte die Arbeit unserer Forschungsgruppe, die sich seitdem vorrangig der Erkundung der für die Entstehung und Progression der Erkrankung verantwortlichen EWS-FLI1-abhängigen molekularen Mechanismen widmete.

So waren wir unter den Ersten, die einen Zusammenhang zwischen EWS-FLI1 und Tumorwachstum nachweisen konnten (Kovar et al., *Cell Growth Differ* 1996, 7(4):429-437). In der Folge beschrieben wir Proteinkomplexe, in denen EWS-FLI1 mit Bestandteilen des zellulären RNA-Transkriptions- und DNA-Reparaturapparats interagiert (Petermann et al., *Oncogene* 1998, 17(5):603-610; Spahn et al., *Cancer Res* 2002, 62(16):4583-4587). Dies wies darauf hin, dass die pathogene Wirkung von EWS-FLI1 auf die Störung der Genexpression von Ewing-Sarkom-Zellen zurückzuführen ist, die wir 2009 im Detail beschrieben haben (Kauer et al., *PLoS One* 2009, e5415).

Aufgrund der EWS-FLI1 Struktur war anzunehmen, dass dieses Protein direkt und spezifisch an Chromatin bindet und so in die Genregulation eingreift. Um diese Hypothese zu überprüfen, versuchten wir bereits in den 1990er-Jahren, aus Ewing-Sarkom-Chromatin an das Fusionsprotein gebundene DNA zu isolieren. Zu diesem Zeitpunkt war jedoch die Technologie noch nicht weit genug entwickelt, um reproduzierbare Ergebnisse für minimale Mengen proteingebundener DNA zu erzielen. So waren wir damals enttäuscht, als wir lediglich repetitive DNA-Sequenzen niedriger Komplexität isolierten (...GGAAGGAAGGAA...), deren Herkunft aufgrund damals noch fehlender Sequenzinformation über das menschliche Genom nicht zugeordnet werden konnte. Wir hielten dieses Resultat für ein experimentelles Artefakt und sahen zunächst von einer Veröffentlichung ab. Mehr als zehn Jahre später, nach der Entschlüsselung des menschlichen Genoms, ließ sich mit neuen, weit potenteren Methoden nachweisen, dass EWS-FLI1 tatsächlich präferenziell an GGAA-Mikrosatellitensequenzen bindet und so neue genaktivierende Elemente formt, die zu gestörter Genexpression führen.

In den folgenden Jahren beschrieben wir die gesamte Landkarte der EWS-FLI1-Bindung an das menschliche Genom (Siligan et al., *Oncogene* 2005, 24(15):2512-2524; Bilke et al., *Genome Res* 2013, 23(11):1797-1809) und der damit einhergehenden epigenetischen Chromatinveränderungen (Tomazou et al., *Cell Rep* 2015, 10(7):1-14). Wir erforschten Mechanismen der veränderten Genregulation über funktionelle Interaktion mit anderen Transkriptionsfaktoren (Schwentner et al., *Nucl Acids Res* 2015, 43(5):2780-2789; Niedan et al., *Oncogene* 2013, 33(30):3927-38), MikroRNAs (Ban et al., *Oncogene* 2011, 30(18):2173-80; Schwentner et

(EWS) (Delattre et al., *Nature* 1992 359(6391):162-165). *It turned out that the gene rearrangement leading to the EWS-FLI1 (or a closely related) fusion is the only genetic aberration commonly present in all Ewing's sarcoma cases. It was this discovery that would shape the direction of our research, which since then has been predominantly dedicated to the exploration of EWS-FLI1-dependent mechanisms responsible for the development and progression of the disease.*

*We were among the first to demonstrate the dependence of Ewing's sarcoma growth on EWS-FLI1 expression (Kovar et al., *Cell Growth Differ* 1996, 7(4):429-437). Subsequently, we described protein complexes in which EWS-FLI1 interacts with components of the RNA transcription and the DNA repair factories (Petermann et al., *Oncogene* 1998, 17(5):603-610; Spahn et al., *Cancer Res* 2002, 62(16):4583-4587). These results suggested that the pathogenic mechanisms driven by EWS-FLI1 are related to perturbed gene expression in Ewing's sarcoma, which we described in detail in 2009 (Kauer et al., *PLoS One* 2009, e5415).*

*Given the EWS-FLI1 protein structure, we had reason to expect the protein to bind to chromatin directly and specifically, thus orchestrating Ewing's sarcoma gene regulation. To test this hypothesis, already in the 1990s we attempted to isolate from Ewing's sarcoma chromatin DNA bound to the fusion protein. At that time, however, technology was not yet sufficiently developed to yield reproducible results on minute amounts of protein-bound DNA. Consequently, we were somewhat disappointed to find that all we had isolated were repetitive DNA sequences of very low complexity (...GGAAGGAAGGAA...), whose origin could not be explained – the human genome sequence was not yet available at the time. Considering this result an experimental artefact, we refrained from making it public. It was not until ten years later, after the human genome had been deciphered, that thanks to much more sophisticated methods it was discovered that in fact EWS-FLI1 preferentially binds with GGAA microsatellites, thereby creating de novo gene-activating regulatory sequences in the genome leading to perturbed gene expression in Ewing's sarcoma.*

*In the following years we described a genome-wide map of EWS-FLI1 chromatin binding in the human genome (Siligan et al., *Oncogene* 2005, 24(15):2512-2524; Bilke et al., *Genome Res* 2013, 23(11):1797-1809) and of the ensuing chromatin changes (Tomazou et al., *Cell Rep* 2015, 10(7):1-14). We explored mechanisms of altered gene regulation via EWS-FLI1 functional interactions with other transcription factors (Schwentner et al., *Nucl Acids Res* 2015, 43(5):2780-2789; Niedan et al., *Oncogene* 2013, 33(30):3927-38), microRNAs (Ban et al., *Oncogene* 2011, 30(18):2173-80; Schwentner et al., *Oncotarget* 2017, 8(7):10980-10993), and via altered signal transduction pathways such as NOTCH and YAP/TAZ (Ban et al., *Cancer Res* 2008, 68(17):7100-7109; Bennani-Baiti et al., *J Pathol* 2011, 225(3):353-63;*

al., *Oncotarget* 2017, 8(7):10980-10993) und über veränderte Signaltransduktionswege, wie etwa NOTCH und YAP/TAZ (Ban et al., *Cancer Res* 2008, 68(17):7100-7109; Ben-nani-Baiti et al., *J Pathol* 2011, 225(3):353-63; Ban et al., *Cancer Res* 2014, 15 (74):6578-6588; Katschnig et al., *Oncogene* 2017, 36(43):5995-6005). Darüber hinaus beschrieben wir den Einfluss von EWS-FLI1 auf den Ewing-Tumor-Metabolismus (Mutz et al., *FEBS Lett* 2017, 590(14):2063-75; Mutz et al., *Oncotarget* 2017, 8(15):24679-24693).

All diese Befunde ermöglichten uns, eine Reihe pharmakologischer Strategien zur Inhibition EWS-FLI1-regulierter Mechanismen vorzuschlagen (Niedan et al., *Oncogene* 2013, 33(30):3927-38; Ban et al., *Cancer Res* 2014, 15(74):6578-6588; Mutz et al., *Oncotarget* 2017, 8(15):24679-24693). Um diese einer weiteren präklinischen Testung zu unterziehen, sind jedoch Tumormodelle im lebenden Organismus vonnöten. Bisher stehen zu diesem Zweck nur Xenograftmodelle menschlicher Tumoren in immunsupprimierten Mäusen zu Verfügung. Weltweite Anstrengungen, ein genetisches Tiermodell mit intaktem Immunsystem zu erzeugen, das dem menschlichen Ewing-Sarkom gleicht, schlugen bislang fehl, da das Ursprungsgewebe für das Ewing-Sarkom unbekannt ist (Minas et al., *Oncotarget* 2017, 8(21):34141-34163). Wir verfolgen zwei unabhängige Strategien: eine in der Maus – in Kooperation mit dem Ludwig Boltzmann Institut für Krebsforschung – und eine im Zebrafisch – mit der CCRI-Arbeitsgruppe Innovative Krebsmodelle. Erste Erfolge konnten kürzlich veröffentlicht werden (Javaheri et al., *Cell Death & Disease* 2016, 7(10):e2419).

Neben den Mechanismen der Tumorentstehung und deren therapeutischer Bedeutung interessieren wir uns für die Variation und Plastizität des Ewing-Sarkoms und deren Bedeutung für die Tumorprogression und Metastasierung. So waren wir die Ersten, die Subgruppen von PatientInnen mit Veränderungen in den Tumorsuppressorgenen TP53 und CDKN2A beschrieben (Kovar et al., *Oncogene* 1993, 8(10):2683-2690; Kovar et al., *Oncogene* 1997, 15(18):2225-2232), die sich später als von hoher prognostischer Bedeutung herausstellten. Wir führten die weltweit bislang größte prospektive molekulargenetische Studie zur Überprüfung der prognostischen Relevanz der Variabilität in der EWS-FLI1 Fusionsstruktur an (LeDeley et al., *J Clin Oncol* 2010, 28(12):1982-1988). Zuletzt deckten wir eine unerwartete Heterogenität von Ewing-Sarkomen auf epigenetischer Ebene auf, die Rückschlüsse auf die Genese und den Verlauf der Erkrankung ermöglicht (Sheffield et al., *Nature Med* 2017, 23(3):386-395).

So haben wir in den 30 Jahren des Bestehens des CCRI und unserer wachsenden Arbeitsgruppe bedeutende Fortschritte im Verständnis der molekularen Eigenheiten des Ewing-Sarkoms erzielt, die eine solide Grundlage für zukünftige translationale Ansätze zur Anwendung an PatientInnen schaffen sollen.

Ban et al., *Cancer Res* 2014, 15 (74):6578-6588; Katschnig et al., *Oncogene* 2017, 36(43):5995-6005). Furthermore, we described the influence of EWS-FLI1 on Ewing's sarcoma metabolism (Mutz et al., *FEBS Lett* 2017, 590(14):2063-75; Mutz et al., *Oncotarget* 2017, 8(15):24679-24693).

Together, these findings enabled us to suggest a number of pharmacological targeting strategies to inhibit EWS-FLI1-driven pathogenic mechanisms (Niedan et al., *Oncogene* 2013, 33(30):3927-38; Ban et al., *Cancer Res* 2014, 15 (74):6578-6588; Mutz et al., *Oncotarget* 2017, 8(15):24679-24693). For these to be validated in further preclinical tests, Ewing's sarcoma models in the living organism are necessary. However, so far only xenograft models of human Ewing's sarcoma in immunosuppressed mice are available. Worldwide efforts to create a fully immunocompetent genetic animal model faithfully recapitulating the human disease have so far been unsuccessful (Minas et al., *Oncotarget* 2017, 8(21):34141-34163) – as we still lack knowledge of the tissue of origin for Ewing's sarcoma. To generate a genetic mouse model for this disease, our group is following two independent strategies: one in the mouse – in collaboration with the Ludwig Boltzmann Institute for Cancer Research –, and one in zebrafish – together with the CCRI Innovative Cancer Models Research Group. First successful results have been published recently (Javaheri et al., *Cell Death & Disease* 2016, 7(10):e2419).

In addition to studying mechanisms of tumour pathogenesis and their therapeutic implications, our interest lies in Ewing's sarcoma variability and plasticity and their relevance to tumour progression and metastasis. We were the first to identify sub-groups of patients with mutations in the tumour suppressor genes TP53 and CDKN2A (Kovar et al., *Oncogene* 1993, 8(10):2683-2690; Kovar et al., *Oncogene* 1997, 15(18):2225-2232), which subsequently proved to be of high prognostic relevance. We led the worldwide so far largest prospective molecular genetic study ever conducted on the evaluation of the prognostic relevance of variations in EWS-FLI1 fusion architecture (LeDeley et al., *J Clin Oncol* 2010, 28(12):1982-1988). Most recently, we discovered unexpected epigenetic heterogeneity of Ewing's sarcoma, which allowed us to draw conclusions about disease pathogenesis and progression (Sheffield et al., *Nature Med* 2017, 23(3):386-395).

In conclusion, during the 30 years life of CCRI and of our expanding research group, we achieved important progress in the understanding of the molecular underpinnings of Ewing's sarcoma which provides a solid basis for future translational applications in patients.

# Studien & Statistik

## *Studies & Statistics for Integrated Research and Projects*

**Kurz zusammengefasst:** Unsere Mission ist es, die klinische und translationale Forschung zu fördern, um die Ergebnisse von hämatologischen Erkrankungen und Krebs im Kindesalter zu verbessern.

**Short Summary:** Our mission is to foster clinical and translational research to improve outcomes of childhood cancer and haematological diseases.

**S**2IRP ist das Kompetenzzentrum für Studien und Statistiken innerhalb des CCRI und fungiert als klinische Studieneinheit, um Good-Clinical-Practice(GCP)-konforme klinische Forschung zur Verbesserung des Überlebens von Kindern und Jugendlichen mit Krebs zu gewährleisten. Es spielt eine bedeutende Rolle an der Schnittstelle von der Laborforschung am CCRI und der klinischen Anwendung von Studien an Klinikstandorten im In- und Ausland. Daher ist die Betreuung internationaler randomisierter Studien zur Förderung der klinischen Ergebnisforschung in der pädiatrischen Onkologie ein zentrales Anliegen. Darüber hinaus liefert die Abteilung wichtige klinische Daten für die translationale Forschung des CCRI und hilft so, stratifizierende diagnostische Marker zu entwickeln, die letztlich optimierte, risikoadaptierte Behandlungen ermöglichen.

Ziel ist die Publikation von klinischen und translationalen Forschungsergebnissen in enger Zusammenarbeit mit nationalen und internationalen Lehrstühlen, klinischen ForscherInnen, Postdocs und StudentInnen. Allein im Zeitraum 2009–2017 resultierte unsere Arbeit in 186 Erst- und Letztautorschaften in internationalen wissenschaftlichen Journalen mit einer Gesamtanzahl von 443 relevanten Publikationen (inklusive Koauthorschaften).

**S**2IRP is the Centre of Expertise for Studies and Statistics within the CCRI that functions as a clinical trial unit to facilitate clinical research in compliance with Good Clinical Practice (GCP) in order to improve survival of children and adolescents with cancer. Located at the interface between laboratory research conducted at the CCRI and the clinical application of trials in hospitals, it has an important role on both the national and international level, notably as regards the supervision and support of international randomised trials aimed at fostering clinical outcome research for paediatric oncology. In addition, the unit provides important clinical data for the CCRI's translational research, helping to develop stratifying diagnostic markers that will eventually allow optimised, risk-adapted treatments.

The primary objective is the publication of clinical and translational research results, which is pursued in close cooperation with national and international study chairs, clinical researchers, postdocs, and students. In the period 2009–2017 alone, our work has resulted in 186 first and last authorships in international scientific journals with a total of 443 relevant publications (including co-authorships).



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein MBA, cPM, (MD, Prof.)**

- **Senior Operation Manager / Senior Operation Manager:**  
Dr. Sonja Schneider-Schwarz (PhD)
- **Assistenz und Organisation / Assistance and Organisation:**  
Andrea Mikolasek, Mag. Claudia Zeiner-Koglin (MSc)
- **Statistikerinnen / Statisticians:**  
Mag. Helga Björk Arnadottir (MSc), Mag. Evgenia Glogova (MSc), Mag. Ulrike Pötschger (MSc)
- **Forschungs- und StudienassistentInnen / Research and Study Assistants:**  
Dorothea Bauer, Saelde Baumgartner BSc, Dr. Tijana Frank (MD), Dr. Dagmar Friede (PhD), Corinne Grafl, Mag. Dasa Janousek (MSc), Dr. Susanne Karlhuber (PhD), Barbara Kristufek, Mag. Nora Mühlegger (MSc), Marek Nykiel, Dr. Ingrid Pribill (PhD), Marion Sebek, Eva Sorz, Mag. Elfriede Thiem (MSc)
- **Klinische StudienleiterInnen und klinische MitarbeiterInnen / Clinical Study Principal Investigators and Clinical Collaborators:**  
Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.), Univ.-Doz. Dr. Michael N. Dworzak (MD, Assoc. Prof.), Dr. Gernot Engstler (MD), Dr. Bernhard Fahrner (MD), DDr. Caroline Hutter (MD, PhD), Univ.-Doz. Dr. Leo Kager (MD, Assoc. Prof.), Univ.-Prof. Dr. Ruth Ladenstein MBA, cPM, Dr. Anita Lawitschka (MD), Priv.-Doz. Dr. Georg Mann (MD, Assoc. Prof.), Univ.-Prof. Dr. Susanne Matthes (MD, Prof.), Univ.-Prof. Dr. Milen Minkov, (MD, Prof.), Univ. Prof. Dr. Christina Peters (MD, Prof.), Dr. Herbert Pichler (MD), Dr. Volker Witt (MD)

## Geschichte

Prof. Gadner ist es durch sein Engagement gelungen, die pädiatrische Hämato-Onkologie in Österreich zu vereinheitlichen und in den ersten Jahren nach seiner Berufung an das St. Anna Kinderspital die österreichischen Standorte in die GPOH (Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie) einzubinden. Dies ermöglichte die Anwendung der besten Therapien nach gängigen klinischen Behandlungsprotokollen und trieb außerdem die Entwicklung einer zentralen Referenzdiagnostik und späterer Forschungsaktivitäten stark voran. Nach und nach wurden engagierte MitarbeiterInnen eingestellt: Auf eine erste Dokumentationsassistentin, eine erste Statistikerin folgten bald weitere, entsprechend den wachsenden Anforderungen. Vor allem junge ÄrztInnen vor Ort wuchsen in dieses inspirierende Umfeld hinein und wurden später in einer Reihe von Studien zu PrüfärztInnen. Dies führte schließlich 1996 zur Gründung einer Abteilung für Klinische Forschung und Studien, als deren Leiterin Prof. Dr. Ruth Ladenstein berufen wurde.

Seit 1981 werden die PatientInnendaten der kooperativen Studien in Österreich zentral erfasst. Seitdem wurden 9130 pädiatrische PatientInnen in 90 verschiedene klinische Studien und PatientInnenregister aufgenommen. Die klinischen Studien der Phasen I, II und III – einschließlich Studien zur Erst- und Zweitlinientherapie sowie zur Stammzelltransplantation – werden auf lokaler, nationaler und internationaler Ebene durchgeführt. So sind einige PatientInnen in mehr als einer Studie registriert, insgesamt beläuft sich die Zahl der Registrierungen auf 9501. Die ersten klinischen Studien wurden bei Leukämie begonnen, gefolgt von Weichteilsarkomen und später der Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH). Als Meilenstein in der Entwicklung der Abteilung erwies sich die Richtlinie für klinische Studien von 2004, die die Notwendigkeit einer Sponsorenrolle mit klar definierten Aufgaben und Verpflichtungen auch für akademische Studien deutlich machte. Prof. Gadner reagierte auf diese dringende Notwendigkeit, indem er diese rechtliche Aufgabe der St. Anna Kinderkrebsforschung e. V. übertrug. Die damit verbundenen studienrelevanten Aufgaben werden seitdem vom S2IRP übernommen.

Aufgrund der zunehmenden internationalen Zusammenarbeit, insbesondere seit 2002, ist ein deutlicher Anstieg der insgesamt akquirierten PatientInnenzahlen zu verzeichnen. Neben 3925 österreichischen PatientInnen (4288 Registrierungen) werden 5205 PatientInnen (5213 Registrierungen) aus anderen Ländern in unsere klinischen Studien einbezogen.

Heute umfasst das S2IRP fünf Arbeitsgruppen: Leukämie und Lymphome, LCH, solide Tumoren, Stammzelltransplantation sowie Statistik und Datenmanagement. Die Einheit ist auf das notwendige Fachwissen hin entwickelt und geschult worden und bewältigt den gesamten Aufga-

## History

*Thanks to the dedicated commitment of Professor Gadner to unifying the field of paediatric haemato-oncology in Austria and the efforts he made during the first years after his appointment as Director of St. Anna Children's Hospital to integrate the Austrian sites into GPOH (Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie; Society for Paediatric Oncology and Haematology), our patients could be given the best therapies according to common clinical treatment protocols. These events significantly advanced the development of centralised reference diagnostics and subsequent research activities. Gradually, dedicated personnel were hired: A first documentation assistant, a first statistician would soon be followed by others, according to the growing demands. Most importantly, newly employed young medical doctors were growing into this inspiring environment to later become principal investigators in a number of trials. Ultimately this resulted in the formation, in 1996, of a clinical trial unit dedicated to clinical research and studies, with Professor Ruth Ladenstein as head of the department.*

*In Austria, since 1981 patient data of the first cooperative studies have been centrally recorded. As of today, 9130 paediatric patients have been included in 90 different clinical trials and patient registries. The phase I, II and III clinical trials are run on a local, national and international level and include first-line and second-line therapy trials, as well as clinical studies on stem cell transplantation. Hence, some patients are registered in more than one trial and a total of 9501 registrations has been performed. The first clinical studies were initiated on leukaemia, followed by soft tissue sarcoma and later Langerhans cell histiocytosis (LCH). A milestone in the unit's development was the Clinical Trial Directive of 2004 that stressed the need for a sponsor with clearly defined duties and liabilities also for academic trials. Prof. Gadner responded to this demand by allowing St. Anna Kinderkrebsforschung e. V. to take on that legal role. Since then, all trial-relevant tasks associated with these functions have been delegated to the S2IRP.*

*Due to the increasing international collaboration, particularly since 2002, the overall number of acquired patients has clearly increased, as well. In addition to a total of 3925 Austrian patients (4288 registrations), our clinical trials include 5205 patients (5213 registrations) from other countries.*

*Today, the S2IRP comprises five task teams: the Leukaemia and Lymphoma, the LCH, the Solid Tumours, the Stem Cell Transplantation as well as the Statistics and Data Management task teams. The unit has been developed and trained towards the necessary expertise and manages the full scope of tasks as required according to GCP and European directives, as well as national legal requirements (AMG [Arzneimittelgesetz]; Austrian*



benbereich gemäß GCP und europäischen Richtlinien sowie den nationalen gesetzlichen Anforderungen (Arzneimittelgesetz), wie sie für die Durchführung klinischer Studien und pädiatrischer hämato-onkologischer Krankheitsregister erforderlich sind.

### Struktur und Aktivitäten

Zur Wahrnehmung der im Zusammenhang mit klinischen Studien anfallenden Aufgaben verfügt das S2IRP aktuell über zwölf klinische ForschungsassistentInnen, drei StatistikerInnen und technische DatenmanagerInnen, einen Monitor, einen Referatsleiter und Assistenten. 2010 wurde mit dem Aufbau eines Qualitätsmanagementsystems begonnen, das Funktionen, Rollen und Regeln, Vertragsvorlagen und SOPs (Standard Operating Procedures) für ein GCP-konformes System festlegt.

Das S2IRP fungiert als österreichisches nationales klinisches Studienzentrum für alle pädiatrischen hämato-onkologischen Erkrankungen mit Ausnahme von Hirntumoren und unterstützt damit die klinischen Studienleiter (PIs), die national die jeweilige Behandlungsstudie inhaltlich verantworten. Es übernimmt zusammen mit den PIs die nationale Sponsorenrolle für die jeweiligen klinischen Studien der Phasen I, II und III und interagiert entsprechend mit dem koordinierenden akademischen Sponsor außerhalb Österreichs. Die meisten dieser Studien werden in enger Zusammenarbeit mit den GPOH-Studienkomitees und internationalen Studienteams durchgeführt. Darüber hinaus unterstützt das S2IRP das Krankenhaus bei der gesetzlichen Meldepflicht von Kinderkrebsfällen an die Statistik Austria. Um dieses Tätigkeitsspektrum abdecken zu können, wird es tatkräftig vom statistischen Team unterstützt, das in enger Zusammenarbeit mit den klinischen ForschungsassistentInnen und verantwortlichen StudienleiterInnen die Aufgaben im Zusammenhang mit der statistischen Methodik – etwa Analyse und Datenmanagement – von der Entwurfsphase bis zur letzten Analyse und endgültigen Veröffentlichung der Ergebnisse begleitet.

Diese nationale Studienaktivität hat zu einer Reihe von studienbezogenen Gemeinschaftspublikationen auf dem Gebiet des Ewing-Tumors, des Weichteilsarkoms und des Wilms-Tumors, insbesondere aber im breiten Spektrum der Leukämiestudien geführt (Ewing-Tumoren: Ranft et al., *J Clin Oncol* 2017, 35(15):1704-1712; Kager et al., *Clin Sarcoma Res* 2016, 6:3; Ruiz-Pinto et al., *Ann Oncol* 2016, (9):1788-93; Grevener et al., *Pediatr Blood Cancer* 2016, 63(4):604-10; Gaspar et al., *J Clin Oncol* 2015, 20:33(27):3036-46; van den Berg et al., *Eur J Cancer* 2015, 51(16):2453-64; Bölling et al., *Klin Pädiatr* 2015, 227(3):108-15; Le Deley et al., *J Clin Oncol* 2014, 32(23):2440-8; Kovar et al., *Front Oncol* 2012, 29:2:54; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2010, 10:28(20):3284-91; Paulussen et al., *J Clin Oncol* 2008, 26(27):4385-93; Fröhlich et al., *Klin Pädiatr* 1999, 211(4):284-90; Zoubek et al.,

*Pharmaceuticals Act) associated with running clinical trials and maintaining paediatric haemato-oncological diseases registries.*

### Structure and activities

*In order to cope with the respective tasks emanating from clinical trial activities, the S2IRP is currently staffed with dedicated personnel (twelve clinical research assistants, three statisticians and technical data managers, a monitor, a head of unit and an assistant). The year 2010 saw the beginning of the establishment of a Quality Management System clearly laying down functions, roles and rules, contract templates and SOPs (Standard Operating Procedures) to ensure the system's compliance with GCP.*

*Functioning as Austrian national clinical trial centre covering the entirety of paediatric haemato-oncological diseases except for brain tumours, the S2IRP provides assistance to the clinical Principal Investigators (PIs) ultimately responsible for treatment trials conducted on the national level. Together with the respective PIs, it assumes the role of national sponsor of phase I, II and III clinical trials, interacting accordingly with the coordinating academic sponsor outside Austria. Most of these trials are performed in close collaboration with the GPOH trial committees and international trial teams. In addition, the S2IRP provides assistance to the hospital in the legal obligation to report childhood cancer cases to Statistics Austria. In order to cope with this spectrum of activities it is supported by the statistical team which, in close interaction with the clinical research assistants and responsible PIs, handle analysis and data management, thereby assisting in tasks related to statistical methodology from the design stage to last analysis and the final publication of results.*

*This national trial activity has resulted in a number of trial-related collaborative publications in the fields of Ewing's tumours, soft tissue sarcoma and Wilms' tumour and, in particular, in the broad spectrum of leukaemia trials (Ewing's tumours: Ranft et al., *J Clin Oncol* 2017, 35(15):1704-1712; Kager et al., *Clin Sarcoma Res* 2016, 6:3; Ruiz-Pinto et al., *Ann Oncol* 2016, (9):1788-93; Grevener et al., *Pediatr Blood Cancer* 2016, 63(4):604-10; Gaspar et al., *J Clin Oncol* 2015, 20:33(27):3036-46; van den Berg et al., *Eur J Cancer* 2015, 51(16):2453-64; Bölling et al., *Klin Pädiatr* 2015, 227(3):108-15; Le Deley et al., *J Clin Oncol* 2014, 32(23):2440-8; Kovar et al., *Front Oncol* 2012, 29:2:54; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2010, 10:28(20):3284-91; Paulussen et al., *J Clin Oncol* 2008, 26(27):4385-93; Fröhlich et al., *Klin Pädiatr* 1999, 211(4):284-90; Zoubek et al., *Int J Cancer* 1998, 79(1):56-60. *Soft tissue sarcomas: Sparber-Sauer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(5):e26943;**

Int J Cancer 1998, 79(1):56-60. Weichteilsarkome: Sparber-Sauer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(5):e26943; Sparber-Sauer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(10); Stegmaier et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(1):89-95; Scheer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2016, 63(7):1198-206; Dantonello et al., *Pediatr Blood Cancer* 2015, 62(1):16-23; Dantonello et al., *Pediatr Blood Cancer* 2013, 60(8):1267-73; Dantonello et al., *J Clin Oncol* 2008, 26(3):406-13; Modritz et al., *Wien Klin Wochenschr* 2005, 117(5-6):196-209; Ladenstein et al., *Cancer* 1993, 71(11):3647-55. Wilms-Tumoren: Hol et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(2); Chagtai et al., *J Clin Oncol* 2016, 34(26):3195-203; Furtwängler et al., *Klin Pädiatr* 2014, 226(3):175-81; Furtwängler et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(1); Furtwängler et al., *Cancer Genet* 2014, 207(9): 434-6. Leukämie: Kaspers et al., *Br J Haematol* 2018, 181(4): 523-527; Schrappe et al., *J Clin Oncol* 2018, 36(3):244-253; Meyer et al., *Leukemia* 2018, 32(2):273-284; Locatelli et al., *Blood* 2017, 130(19):2146-2149; Reismüller et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(6); Perwein et al., *Haematologica* 2016, 101(8):e332-5; Zuna et al., *Br J Haematol* 2016, 173(5): 742-8; Möricke et al., *Blood* 2016, 127(17):2101-12.

Darüber hinaus ist das S2IRP internationales Studienzentrum in drei Hauptbereichen: ALL-Stammzelltransplantationen (ALL-SCT-FORUM-Studie), Langerhans-Zell-Histiozytose (LCH IV-Studie) und Hochrisiko-Neuroblastom (HR-NBL1.5-1-7/SIOPEN-Studie) mit allen damit verbundenen Aufgaben und Verantwortlichkeiten des wissenschaftlichen Koordinators St. Anna Kinderkrebsforschung e. V. und der koordinierenden österreichischen Studienleiter.

### Studienreferenzzentrum für Stammzelltransplantation

Die hämatopoetische Stammzelltransplantation ermöglicht die Heilung bei vielen schweren angeborenen Erkrankungen sowie bei bösartigen und nicht bösartigen Erkrankungen des Blutes und einigen soliden Tumoren. Blutstammzellen von einem gesunden, verwandten oder nicht verwandten, Spender oder autologe Zellen werden infundiert, um die normale Hämatopoese wiederherzustellen und eine ausreichende Funktion verschiedener Zelltypen zu gewährleisten. Das Gelingen der Transplantation und die dauerhafte Funktion der transplantierten Zellen erfordern in den meisten Fällen eine Chemotherapie und manchmal eine Ganzkörperbestrahlung, um den Verlust des Transplantats und das Wiederauftreten bösartiger Zellen zu verhindern. Obwohl heute mehr als zwei Drittel aller PatientInnen einen solchen Eingriff überleben, stellen akute und späte Nebeneffekte für viele Kinder, die sich dieser Therapie unterziehen müssen, immer noch eine erhebliche Gefahr dar. Es gilt, die verschiedenen Einflussfaktoren zu dokumentieren und zu bewerten und sodann in internationalen wissenschaftlichen Kooperationen Strategien zur Vermeidung und Behandlung dieser Komplikationen zu entwickeln.

Sparber-Sauer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(10); Stegmaier et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(1):89-95; Scheer et al., *Pediatr Blood Cancer* 2016, 63(7):1198-206; Dantonello et al., *Pediatr Blood Cancer* 2015, 62(1):16-23; Dantonello et al., *Pediatr Blood Cancer* 2013, 60(8):1267-73; Dantonello et al., *J Clin Oncol* 2008, 26(3):406-13; Modritz et al., *Wien Klin Wochenschr* 2005, 117(5-6):196-209; Ladenstein et al., *Cancer* 1993, 71(11): 3647-55. Wilms' tumours: Hol et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(2); Chagtai et al., *J Clin Oncol* 2016, 34(26):3195-203; Furtwängler et al., *Klin Pädiatr* 2014, 226(3):175-81; Furtwängler et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 65(1); Furtwängler et al., *Cancer Genet* 2014, 207(9):434-6. Leukaemia: Kaspers et al., *Br J Haematol* 2018, 181(4):523-527; Schrappe et al., *J Clin Oncol* 2018, 36(3):244-253; Meyer et al., *Leukemia* 2018, 32(2):273-284; Locatelli et al., *Blood* 2017, 130(19):2146-2149; Reismüller et al., *Pediatr Blood Cancer* 2017, 64(6); Perwein et al., *Haematologica* 2016, 101(8):e332-5; Zuna et al., *Br J Haematol* 2016, 173(5):742-8; Möricke et al., *Blood* 2016, 127(17):2101-12.

Moreover, the S2IRP is the international trial centre in three main areas: ALL stem cell transplantation (ALL-SCT FORUM trial), Langerhans cell histiocytosis (LCH IV trial) and high-risk neuroblastoma (HR-NBL1.5-1-7/SIOPEN trial), covering the full scope of associated tasks and responsibilities for the academic coordinating sponsor, St. Anna Kinderkrebsforschung e. V. and the Austrian coordinating Principal Investigators.

### Stem cell transplantation study centre

Haematopoietic stem cell transplantation is a curative option for many severe congenital disorders and for acquired malignant and non-malignant blood diseases as well as for some solid tumours. Blood stem cells from a healthy, related or unrelated donor, or autologous cells are infused to restore normal haematopoiesis and to ensure sufficient functioning of different cell types. To enable engraftment and permanent function of the transplanted cells, in most cases chemotherapy and sometimes total body irradiation is necessary to prevent graft loss and the recurrence of malignant cells. Although nowadays more than two thirds of all patients survive such a procedure, acute and late effects are still a substantial problem for many children who have to undergo this therapy. It is essential to document and evaluate the different influencing measures and develop strategies in international scientific collaborations to prevent and treat such complications.

Since the first allogeneic stem cell transplantation (SCT) in 1980, more than 1000 patients were transplanted in our unit at St. Anna Children's Hospital. From early on, international collaboration with other

Seit der ersten allogenen Stammzelltransplantation (SCT) im St. Anna Kinderspital 1980 wurden mehr als 1000 PatientInnen transplantiert. Die internationale Zusammenarbeit mit anderen europäischen und außereuropäischen pädiatrischen Transplantationszentren erlaubte es uns schon früh, zeitgemäße Behandlungsstrategien zu etablieren und den Erfahrungsaustausch mit allen beteiligten Partnern zu intensivieren. Insbesondere die Zusammenarbeit mit ÄrztInnen und Krankenschwestern aus osteuropäischen Ländern und der nach der Katastrophe von Tschernobyl durch die GIGAX-Stiftung vermittelte enge Kontakt mit dem Kinderzentrum in Minsk halfen diesen Ländern, eigene Kindertransplantationseinheiten aufzubauen.

Innerhalb der EBMT (European Society of Blood and Marrow Transplantation) Paediatric Diseases Working Party und Inborn Error Working Party fungierte unsere Gruppe als Koordinator einiger wichtiger internationaler Studien. Zu nennen sind hier vor allem die Studien ALL SCT BFM und BFM international 2007 und 2009 unter der Leitung von Univ.-Prof. C. Peters. Mehr als 1000 PatientInnen aus zwölf Ländern waren beteiligt und es wurde gezeigt, dass allogene SCT von Geschwisterspendern vergleichbare Ergebnisse wie SCT von unabhängigen Spendern lieferten (Peters et al., J Clin Oncol 2015; Dalle et al., Biol Blood Marrow Transplant 2018; Kuhlen et al., Br J Haematol 2018).

Weitere maßgebliche Analysen zu EBMT-Daten für SCT bei Kindern wurden von unserer Gruppe veröffentlicht: Witt et al., Transfus Apher Sci 2016, 55:221-4; Boztug et al., Paediatric Blood Cancer 2016, 63:139-48; Boztug et al., Ann Haemato 2015, 94(2):297-306; Matthes-Martin et al., Eur J Haematol 2013, 90:308-12; Slatter et al., Bone Marrow Transplant 2015, 50:1536-41; Bresters et al., Bone Marrow Transplant. 2016;51(11):1482-9; Lawitschka et al., Curr Oncol Rep 2018, 20(9):74; Peters et al., Paediatric Clinics of North America 2010, 57(1):27-46; Peters, Biol Blood Marrow Transplant 2018, 24:1107-8.

Derzeit führt unsere Gruppe eine prospektive randomisierte multinationale Studie (FORUM) durch, in der wir die Frage nach der Notwendigkeit einer Ganzkörperbestrahlung bei Kindern und Jugendlichen, die HSCT bei akuter lymphatischer Leukämie benötigen, stellen. Bisher wurden mehr als 750 PatientInnen in 28 Ländern rekrutiert, und wir erwarten, dass sich uns weitere Zentren anschließen, um diese entscheidende Frage zu beantworten.

### **Studienreferenzzentrum für Langerhans-Zell-Histiozytose**

Das CCRI fungierte von 1983 bis 1990 als Koordinationszentrum der prospektiven LCH-Studien (DAL-HX-83 und DAL-HX-90) im deutschsprachigen Raum und übernahm 1991 die internationale Verantwortung für die prospektiven klinischen Studien der Histiozytose-Gesellschaft. Drei aufeinanderfolgende Studien – LCH-I, LCH-II und LCH-III –

*European and non-European paediatric transplant centres enabled us to implement contemporary treatment strategies, and exchange of experience augmented the knowledge and expertise of all participating partners. Especially collaboration with doctors and nurses from eastern European countries and the close contact with the Minsk Paediatric Centre established through the GIGAX-foundation in the wake of the Chernobyl disaster, helped these countries to build their own paediatric transplant units.*

*Within the EBMT (European Society of Blood and Marrow Transplantation) Paediatric Diseases Working Party and Inborn Error Working Party some pivotal international studies were coordinated by our group. The most important ones were the ALL SCT BFM and BFM international 2007 and 2009 studies overseen by Prof. C. Peters. Involving more than 1000 patients from twelve countries, the study demonstrated that allogeneic SCT from sibling donors yielded results comparable to SCT from unrelated donors (Peters et al., J Clin Oncol 2015; Dalle et al., Biol Blood Marrow Transplant 2018; Kuhlen et al., Br J Haematol 2018).*

*Other important analyses on EBMT data for SCT in children were published by our group: Witt et al., Transfus Apher Sci 2016, 55:221-4; Boztug et al., Paediatric Blood Cancer 2016, 63:139-48; Boztug et al., Ann Haemato 2014; Matthes-Martin et al., Eur J Haematol 2013, 90:308-12; Slatter et al., Bone Marrow Transplant 2015, 50:1536-41; Bresters et al., Bone Marrow Transplant 2016;51(11):1482-9; Lawitschka, Curr Oncol Rep 2018, 20(9):74; Peters et al., Paediatric Clinics of North America 2010, 57(1):27-46; Peters, Biol Blood Marrow Transplant 2018, 24:1107-8.*

*Currently, our group is conducting a prospective randomised multinational trial (FORUM) dealing with the question whether total body irradiation is necessary for children and adolescents who need HSCT for acute lymphoblastic leukaemia. So far, more than 750 patients have been recruited from 28 countries and we expect more centres to join us in resolving this important question.*

### **International Langerhans cell histiocytosis study reference centre:**

*Between 1983 and 1990 the CCRI served as coordinating centre of the prospective LCH studies (DAL-HX-83 and DAL-HX-90) of the German-speaking countries, and in 1991 it took over international responsibility for the prospective clinical trials of the Histiocyte Society. The successful completion of three consecutive trials –*

wurden erfolgreich abgeschlossen und die Ergebnisse veröffentlicht (Gadner et al., *J Pediatr* 2001, 138(5):728-34; Gadner et al., *Blood* 2008, 111(5):2556-62; Gadner et al., *Blood* 2013, 121(25):5006-14).

Die kumulative Datenbank der bisher durchgeführten Studien (> 3000 PatientInnen) ermöglicht eine retrospektive Analyse des klinischen Verlaufs und der prognostischen Faktoren (Minkov et al., *J Paediatric* 2008, 153(5):700-5, 705.e1-2). Hauptaufgaben des Wiener LCH-Teams waren Planung, Design, Start und Administration der laufenden klinischen Studie LCH-IV (EudraCT-Nummer: 2011-001699-20) unter der Leitung von Prof. M. Minkov. LCH-IV (LCH-IVTPS) ist eine klinische Studie mit dem ehrgeizigen Ziel, ungelöste klinische Fragen, die für die PatientInnen von primärer Bedeutung sind, anzugehen (z. B. Behandlung von PatientInnen, bei denen eine etablierte Standardbehandlung scheitert; Behandlung von PatientInnen mit Rezidiven; Behandlung von LCH des Gehirns). Daher umfasst die LCH-IV-Studie neben der Bewertung der Wirksamkeit von Standard-Frontlinien-Behandlungsmethoden mehrere zusätzliche Behandlungsalternativen.

Das Sammeln von Informationen über Behandlungserfolge, Nebenwirkungen und PatientInnenresultate wäre ohne ein Datenerfassungssystem nicht möglich. In Zusammenarbeit mit dem Austrian Institute of Technology hat das Team des LCH-Studienreferenzzentrum ein Online-Datenerfassungssystem entwickelt, die klinische Studiendatenbank der Histiocytose-Gesellschaft. Die Kosten für deren Entwicklung wurden vollständig durch einen Zuschuss der Histiocytose-Gesellschaft gedeckt. Rund 630 PatientInnen mit LCH wurden bereits in die laufende Studie aufgenommen. Außerdem führt unsere Gruppe auf die klinischen Studien abgestimmte Projekte in der Grundlagenforschung durch, die sich auf zelluläre Signalwege mit möglichen Auswirkungen auf die Pathobiologie der Erkrankung konzentrieren (Hutter et al., *Blood* 2012, 120(26):5199-5208).

### **SIOPEN Neuroblastom Studienreferenzzentrum**

Da Neuroblastome selten sind, kann eine Verbesserung der Ergebnisse für die PatientInnen nur durch internationale Zusammenarbeit erreicht werden. S2IRP beteiligte sich daher maßgeblich an der 2009 in Wien erfolgten Gründung der European SIOP Neuroblastoma Group (SIOPEN, International Society of Paediatric Oncology European Neuroblastoma), einer internationalen Organisation für kooperative Neuroblastomforschung. Das S2IRP fungiert nun als Verbindungsbüro und Kontaktstelle für die Mitglieder. Unter der Koordination von Prof. Ladenstein wurde das Forschungsnetzwerk SIOPEN-R-NET aufgebaut, um die Nutzung bereits bestehender europäischer Infrastrukturen zu optimieren und deren Konsistenz und Komplementarität zu verbessern. Die Zusammenführung von Daten trägt zu harmonisierten Standardverfahren für ein gemeinsames europäisches Hochrisiko-Neuroblastom-

LCH-I, LCH-II and LCH-III – was followed by the publication of the results (Gadner et al., *J Pediatr* 2001, 138(5):728-34; Gadner et al., *Blood* 2008, 111(5):2556-62; Gadner et al., *Blood* 2013, 121(25):5006-14).

The cumulative database formed during the previous trials (> 3000 patients) allows for retrospective analysis of clinical courses and prognostic factors (Minkov et al., *J Paediatric* 2008, 153(5):700-5, 705.e1-2). The major recent tasks of the Vienna LCH team included the planning, design, launch and administration of the ongoing LCH-IV clinical trial (EudraCT number: 2011-001699-20) chaired by Prof. Minkov. LCH-IV (LCH-IVTPS) is a clinical trial pursuing the ambitious goal to address unsolved clinical issues of primary importance for patients (e.g., treatment of patients failing established standard treatment, treatment of patients with disease relapse, treatment of LCH of the brain). Hence, besides evaluating the effectiveness of standard front-line treatment methods, the LCH-IV Study incorporates multiple treatment alternatives in addition to the front-line treatment.

Collecting information of treatment success, drug side effects and patient outcomes would be impossible without a remote data entry system. In cooperation with the Austrian Institute of Technology, the team of the LCH Study Reference Centre have developed the Histiocyte Society Clinical Trials Database System, an online, remote data entry system whose costs were fully covered by a grant of the Histiocytosis Association. Around 630 patients with LCH have been already enrolled into the ongoing trial. In line with the clinical trials, our group runs some basic science projects focused on cellular pathways with possible implications for the pathobiology of the disease (Hutter et al., *Blood* 2012, 120(26):5199-5208).

### **SIOPEN neuroblastoma study reference centre**

Since neuroblastoma is uncommon, improvement of outcomes for patients can be ensured only by international cooperation. S2IRP therefore took a major role in the foundation of the European SIOP Neuroblastoma Group (SIOPEN, International Society of Paediatric Oncology European Neuroblastoma) in 2009 in Vienna, an international organisation for collaborative neuroblastoma research. The S2IRP now acts as the liaison office and contact point for members. Under the coordination of Prof. Ladenstein, the SIOPEN-R-NET research network was built to optimise the use of existing European infrastructures and to improve their consistency and complementarity. The pooling of data contributes to harmonised standard procedures for a common European high-risk neuroblastoma treatment protocol. It includes a virtual tumour bank to allow biological studies

Behandlungsprotokoll bei. Dieses umfasst eine virtuelle Tumorbank für biologische Studien zur weiteren Identifizierung prognostischer Parameter und eine zentrale Serumbank für pharmakokinetische Studien.

Das SIOOPEN-R-NET koordiniert potenzielle multinationale risikoangepasste Studien und ist die Grundlage für Erfahrungsaustausch, Verbreitung der Ergebnisse und Information für die Anwender.

### **Meilensteine: vom Labor zum Krankenbett**

Entwicklung des Ch14.18Anti-GD2/CHO-Antikörpers – Zugang zur Immuntherapie für Kinder mit Hochrisiko-Neuroblastom (NBL) in Europa

Der Ch14.18Anti GD2/CHO-Antikörper wurde in Zusammenarbeit mit internationalen Studiengruppen und Forschungszentren entwickelt. Er wurde schließlich hier in Wien in Zusammenarbeit mit Polyimmun Scientific neu geklont, produziert und verabreicht. Die gesamte Entwicklung und Produktion erfolgten im Rahmen einer europaweiten Förderkampagne, da die Immuntherapie eine große Hoffnung auf bessere Therapieergebnisse ist. Alle relevanten Studien der Phasen I, II und III wurden im S2IRP initiiert und betreut, die Phase-III-Studie umfasste 25 Länder und 3000 PatientInnen. Nach Rücksprache mit der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) wurde deren Empfehlung befolgt, für die weitere Entwicklung des Antikörpers aktiv die Industrie zu kontaktieren. Nachdem gemeinsam mit einem Industriepartner (APEIRON Biologics AG) die Zulassungsreife erreicht worden war, wurde der Antikörper 2017 zugelassen – an diesem Prozess war S2IRP kontinuierlich beteiligt (Ladenstein et al., *Lancet Oncol* 2018 [zur Publikation angenommen], Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2011, 441-8; Ladenstein et al., *MABs* 2013, 5(5):801-9; Zeng et al., *Mol Immunol* 2005, 42(11):1311-9). Im Rahmen einer Behandlungsoptimierungsstrategie für PatientInnen mit primärem refraktärem oder rezidiviertem Neuroblastom führt S2IRP als internationales Studienzentrum auch die Phase I/II-Dosisfindungsstudie von Ch14.18/CHO in Kombination mit subkutanem Aldesleukin (Il-2) durch. Erste Veröffentlichungen zu den Studienergebnissen liegen vor (ASCO 2011–2018; Mueller et al., *MABs* 2018, 10(1):55-61; Siebert et al., *MABs* 2016, 8(3):604-16).

HR-NBL-1 (1 bis 1,8) /SIOOPEN-Studie (EudraCT-Nummer: 2006-001489-17)

Dies ist eine randomisierte Studie von SIOOPEN beim Hochrisiko-Neuroblastom (Stadium 2, 3, 4 und 4s MYCN-amplifiziertes Neuroblastom, Stadium 4 MYCN nicht amplifiziert > 12 Monate bei Diagnose). Die Studie hat bisher hoch relevante Publikationen zu Therapiestandards in der Induktionstherapie, der Hochdosistherapie und der Stammzelltransplantation sowie der Immuntherapie hervorgebracht (Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2010, 3516-24; Ladenstein et al., *Lancet Oncol* 2017, 500-14 and presented at 47th ASCO Meeting 2011, Ladenstein Plenary Session;

for further identification of prognostic parameters and a central serum bank for pharmacokinetic studies.

SIOOPEN-R-NET co-ordinates prospective multi national risk adapted trials and is the basis to exchange the experience acquired, to disseminate results and to inform users.

### **Milestones: from bench to bedside**

Development of the Ch14.18Anti GD2/CHO antibody – access to immunotherapy for children with high-risk neuroblastoma (NBL) in Europe

The Ch14.18Anti GD2/CHO antibody was developed in cooperation with international study groups and research centres. It was ultimately recloned, produced and administered in Vienna in co-operation with Polyimmun Scientific. In view of the great promises immunotherapy holds in terms of better therapy results, the development and production runs were entirely sponsored through a Europe-wide funding campaign. All relevant trials of phases I, II and III were initiated and supervised in the S2IRP, with the phase-III study involving 25 countries and 3000 patients. Heeding the advice of the EMA, for further development of the antibody the industry was contacted, and readiness for approval was prepared together with an industrial partner (APEIRON Biologics AG). Finally, the antibody was approved in 2017, with S2IRP being continuously involved in this process (Ladenstein et al., *Lancet Oncol* 2018 [accepted for publication], Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2011, 441-8; Ladenstein et al., *MABs* 2013, 5(5):801-9; Zeng et al., *Mol Immunol* 2005, 42(11):1311-9). As part of a treatment optimising strategy, S2IRP also serves as international trial centre to run the phase I/II dose schedule finding study of ch14.18/CHO continuous infusion combined with subcutaneous aldesleukin (Il-2) in patients with primary refractory or relapsed neuroblastoma. First publications on study results have been generated (ASCO 2011-2018; Mueller et al., *MABs* 2018, 10(1):55-61; Siebert et al., *MABs* 2016, 8(3):604-16).

HR-NBL-1 (1 to 1.8) /SIOOPEN trial (EudraCT number: 2006-001489-17)

This is a randomised study of SIOOPEN in high-risk neuroblastoma (stages 2, 3, 4 and 4s MYCN-amplified neuroblastoma, stage 4 MYCN non-amplified > 12 months at diagnosis). To date, the study has produced highly relevant publications on therapy standards in induction therapy, high-dose therapy and stem cell transplantation as well as immunotherapy (Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 2010, 3516-24; Ladenstein et al., *Lancet Oncol* 2017, 500-14 and presented at 47th ASCO Meeting 2011, Ladenstein Plenary Session; Ladenstein

Ladenstein et al., *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017; Amoroso et al., *Cancer Res Treat* 2018, 50(1):148-155; Morgenstern et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 17:e27363). Zusätzlich wurde eine Reihe von HR-NBL1/SIOPEN-Studienendaten aus den SIOPEN-Fachausschüssen veröffentlicht.

### Weitere internationale Kooperationen

Da die Leiterin des S2IRP auch Vorsitzende der EBMT-Arbeitsgruppe für pädiatrische solide Tumoren ist, wurde mit Unterstützung des S2IRP auf Basis von EBMT-Quellendaten eine Reihe von kooperativen Publikationen auf dem Gebiet der Stammzelltransplantation für solide Tumoren erstellt (Thiel et al., *Ann Oncol* 2011, 22(7):1614-21; Gratwohl et al., *Ann Oncol* 2004, 15(4):653-60; Burdach et al., *Ann Oncol* 2000, 11(11):1451-62; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1995, 15(5):697-705; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 2008, 41 Suppl 2:S118-27; Dallorso et al., *Bone Marrow Transplant* 2005, 35 Suppl 1:S31-4; Rosti et al., *Crit Rev Oncol Hematol* 2002, 41(2):129-40; Peters et al., *Bone Marrow Transplant* 1998, 22(5):431-7; Philip et al., *Eur J Cancer* 1997, 33(12):2130-5; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 1998, 16(3):953-65; Ladenstein et al., *Ann NY Acad Sci* 1997, 824:38-64; Ladenstein et al., *Blood* 1997, 90(8):2921-30; Ladenstein et al., *Klin Pädiatr* 1997, 209(4):201-8; Ladenstein et al., *Curr Opin Pediatr* 1997, 9(1):55-69; Peters et al., *Bone Marrow Transplant* 1996, 18 Suppl 2:17-24; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1995, 15(5):697-705; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1994, 14(1):37-46; Garaventa et al., *Med Pediatr Oncol* 1994, 22(1):11-4; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 1993, 11(12):2330-41; Ladenstein et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(7):947-56; Garaventa et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(4):487-91; Philip et al., *Br J Cancer* 1993, 67(1):119-27; Ladenstein et al., *Ann Oncol* 1993, 4 Suppl 1:45-58; Ladenstein et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(11):1632; Ladenstein et al., *Lancet* 1992, 340(8824):916-7).

### Internationale Projekte

Ein weiterer Pluspunkt sind auf langjähriger Zusammenarbeit mit Tumor- und Leukämiegruppen beruhende, vielschichtige internationale Kooperationen, zum Teil durch die EU geförderte Projekte/Grants, akademische Kooperationen oder die vertragliche Zusammenarbeit mit der Pharmaindustrie. Als eine von nur zwei Institutionen in Österreich wurde das CCRI zusammen mit dem St. Anna Kinderspital von der Europäischen Kommission mit dem Logo European Reference Network on Rare Diseases (ERN) mit Schwerpunkt Kinderkrebs (ERN-PaedCan) ausgezeichnet. Dieses von Prof. Ruth Ladenstein koordinierte, große Netzwerk ist eine weitere Motivation für die ständige Weiterentwicklung der Abteilung.

et al., *Eur J Nucl Med. Mol. Imaging* 2017; Amoroso et al., *Cancer Res Treat* 2018, 50(1):148-155; Morgenstern et al., *Pediatr Blood Cancer* 2018, 17:e27363). Also, a number of HR-NBL1/SIOPEN trial data-related publications has come from the SIOPEN expert committees).

### Further international collaborations:

Since the head of the S2IRP is also chair of the EBMT Paediatric Solid Tumour Working Party, a number of cooperative publications in the field of stem cell transplantation for solid tumours has been produced with support of the S2IRP based on EBMT source data (Thiel et al., *Ann Oncol* 2011, 22(7):1614-21; Gratwohl et al., *Ann Oncol* 2004, 15(4):653-60; Burdach et al., *Ann Oncol* 2000, 11(11):1451-62; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1995, 15(5):697-705; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 2008, 41 Suppl 2:S118-27; Dallorso et al., *Bone Marrow Transplant* 2005, 35 Suppl 1:S31-4; Rosti et al., *Crit Rev Oncol Hematol* 2002, 41(2):129-40; Peters et al., *Bone Marrow Transplant* 1998, 22(5):431-7; Philip et al., *Eur J Cancer* 1997, 33(12):2130-5; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 1998, 16(3):953-65; Ladenstein et al., *Ann NY Acad Sci* 1997, 824:38-64; Ladenstein et al., *Blood* 1997, 90(8):2921-30; Ladenstein et al., *Klin Padiatr* 1997, 209(4):201-8; Ladenstein et al., *Curr Opin Pediatr* 1997, 9(1):55-69; Peters et al., *Bone Marrow Transplant* 1996, 18 Suppl 2:17-24; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1995, 15(5):697-705; Ladenstein et al., *Bone Marrow Transplant* 1994, 14(1):37-46; Garaventa et al., *Med Pediatr Oncol* 1994, 22(1):11-4; Ladenstein et al., *J Clin Oncol* 1993, 11(12):2330-41; Ladenstein et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(7):947-56; Garaventa et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(4):487-91; Philip et al., *Br J Cancer* 1993, 67(1):119-27; Ladenstein et al., *Ann Oncol* 1993, 4 Suppl 1:45-58; Ladenstein et al., *Eur J Cancer* 1993, 29A(11):1632; Ladenstein et al., *Lancet* 1992, 340(8824):916-7).

### International projects

Further assets are multifaceted international undertakings based on long-term cooperation with tumour and leukaemia groups, project/grants partly funded by the EU, and academic associations, as well as contract-based collaborations with the pharmaceutical industry. In 2017, the CCRI, together with St. Anna Children's Hospital was awarded, as one of only two institutions in Austria, the logo of the European Reference Network on Rare Diseases (ERN) with focus on paediatric cancer (ERN-PaedCan) by the European Commission. This huge network which is coordinated by Prof. Ruth Ladenstein provides yet another motivation for the continuous further development of the department.



# Molekulare Mikrobiologie\*

## *Molecular Microbiology\**

**Kurz zusammengefasst:** Wir untersuchen Erreger lebensgefährlicher Infektionen bei immungeschwächten KrebspatientInnen, um neue diagnostische und therapeutische Möglichkeiten zu erarbeiten. Darüber hinaus forschen wir über Resistenzmechanismen bei myeloischen Leukämien und anderen malignen Erkrankungen, um Ansatzpunkte für innovative Therapien zu finden.

**Short Summary:** We investigate pathogens implicated in life-threatening infections in immunocompromised patients with cancer in order to provide the basis for novel diagnostic and therapeutic options. Moreover, our research addresses mechanisms of resistance in myeloid leukaemias and other malignant entities with the aim to pave the way to novel innovative therapies

Die Tätigkeitsschwerpunkte der 1989 ins Leben gerufenen Abteilung Molekulare Mikrobiologie liegen in den Bereichen der mikrobiologischen Forschung und Entwicklung sowie der myeloischen Leukämien. Die Anwendung der aus unserer Tätigkeit resultierenden diagnostischen Verfahren wurde – gemeinsam mit einigen Entwicklungsaspekten – in das gemeinnützige Ambulatorium Labdia Labordiagnostik GmbH transferiert, das im Jahr 2006 als Tochterunternehmen der St. Anna Kinderkrebsforschung gegründet wurde. Im Bereich der Mikrobiologie beschäftigen wir uns vor allem mit infektiologischen Problemen von allogenen Knochenmarkstransplantierten und onkologischen PatientInnen unter Chemotherapie. Für schwer immungeschwächte Kinder stellen – neben bakteriellen Infektionen – vor allem Virus- und Pilzinfektionen eine sehr ernste Bedrohung dar. Eine frühzeitige und verlässliche Diagnostik ist eine wichtige Voraussetzung für erfolgreiche Therapie. Wir haben daher quantitative molekulare Detektionsmethoden für viele pathogene Viren und klinisch relevante Pilzformen etabliert und patentieren lassen. Wir konnten zeigen, dass der klinische Einsatz einiger der in unserer Abteilung entwickelten Methoden eine frühzeitige Vorhersage drohender infektiologischer Komplikationen ermöglicht und Grundlagen für optimierte Diagnostik schafft (Landlinger et al., *Leukemia* 2010, 24(12):2032-8; Lion et al., *Leukemia* 2010, 24(4):706-14; Czurda et al., *J Clin Microbiol* 2016, 54(1):148-52; Czurda et al., *Methods Mol Biol* 2017, 1508:257-266). Die neuen diagnostischen Möglichkeiten leisten daher einen wichtigen Beitrag zur Verbesserung der Behandlungsstrategien von lebensbedrohlichen Infektionen bei schwer immungeschwächten PatientInnen. Darüber hinaus

Since its inception in 1989, the main areas of activity of the Division of Molecular Microbiology have been research, development (R&D) and diagnostics in the field of microbiology and myeloid leukaemias. The exploitation of diagnostic assays emanating from our R&D work as well as some specific developmental tasks were transferred to Labdia Labordiagnostik, a non-profit institution established in 2006 as a subsidiary of St. Anna's Children's Cancer Research Institute. A major part of our work is focused on infectious problems in oncological patients undergoing allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) or chemotherapy. Given that in severely immunocompromised children, in addition to bacteria, viral and fungal pathogens are particularly frequent causes of life-threatening infections, 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 indeed permits early assessment of impending infectious complications, thus providing a basis for optimised diagnostics (Landlinger et al., *Leukemia* 2010, 24(12):2032-8; Lion et al., *Leukemia* 2010, 24(4):706-14; Czurda et al., *J Clin Microbiol* 2016, 54(1):148-52; Czurda et al., *Methods Mol Biol* 2017, 1508:257-266). Hence, these new diagnostic approaches constitute a significant contribution to the improvement of treatment strategies against life-threatening infections in severely immunocompromised patients. We have also set the





• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. DDR. Thomas Lion MSc (MD, PhD, Prof.)**

• **Wissenschaftliche MitarbeiterInnen /  
Staff Scientists / PostDocs:**

Dr. Konstanin Byrgazov (PhD), Dr. Karin Kosulin (PhD),  
Dr. Filomena Nogueira (PhD), Dr. Marlene Remely (PhD)

• **Doktorand / PhD Student:**

Leonel Pereira MSc

• **Technische Mitarbeiterinnen / Technicians:**

Temeida Alendar, Ing. Helga Daxberger, Michaela Fortschegger,  
Gisela Hofmann BSc, DI Dragana Jugovic, Silvia Kernbichler,  
Olenka Klimscha, Susanna Koskela, Isabella Krickl BSc,  
Mag. Sandra Preuner (MSc)

• **Klinische MitarbeiterInnen / Clinical Collaborators:**

Dr. Sabine Breuer (MD), Dr. Anita Lawitschka (MD),  
Univ.-Prof. Dr. Susanne Matthes-Leodolter (MD, Prof.),  
Dr. Herbert Pichler (MD), Univ.-Doz. Dr. Andreas Vécsei (MD, Assoc. Prof.)

wurden Grundlagen für neue Therapiestrategien für invasive Infektionen mit Adenoviren erarbeitet, die insbesondere bei Kindern nach allogener Stammzelltransplantation zu schwersten Erkrankungen führen können (Kneidinger et al., *Antiviral Res* 2012, 94(3):195-207; Ibrsimovic et al., *Antiviral Res* 2013 97(1):10-23 und *J Gene Med* 2012, 14(1):3-19; Lion, *Clin Microbiol Rev* 2014, 27(3):441-62; Bellutti et al., *J Virol* 2015, 89(3):1608-27; Kosulin et al., *Clin Microbiol Infect* 2016, 22(4):381.e1-381.e8; Kosulin et al., *J Clin Virol* 2016, 80:60-1; Kosulin et al., *J Clin Virol* 2016, 85:31-36; Kosulin et al., *EBioMedicine* 2018, 28:114-119).

Ein weiterer wichtiger Bereich unserer Tätigkeit ist die Entwicklung spezieller Diagnostik für PatientInnen nach allogener Stammzelltransplantation. Im Rahmen eines von uns koordinierten europäischen Projekts haben wir eine standardisierte Methodik für das quantitative Monitoring von Spender- und Empfängerzellen (Chimärismus) etabliert (Lion et al., *Leukemia* 2012). Das patentierte Verfahren führte zur Entwicklung eines kommerziell erhältlichen diagnostischen Kits. Zudem haben wir diagnostische Methoden etabliert, die eine frühzeitige Vorhersage von Transplantatabstoßungen und anderen Komplikationen ermöglichen, die als Grundlage für zeitgerechte Therapiemaßnahmen dienen können (Breuer et al., *Leukemia* 201, 26(3):509-192; Preuner et al., *Methods Mol Biol* 2014, 1109:271-91; Preuner et al., *Haematologica* 2016, 101(6):741-6).

Die Entwicklung und klinische Anwendung molekularer Verfahren zur Überwachung mutierter Subklone bei PatientInnen mit chronisch myeloischer Leukämie (CML), die mit Therapieresistenz einhergehen, hat es uns ermöglicht, wichtige Erkenntnisse über die klonale Entwicklung der Erkrankung, die frühzeitige Resistenzerkennung und das klonenspezifische Therapieansprechen zu gewinnen (Preuner et al., *Leukemia* 2008, 22(10):1956-61; Preuner et al., *EJC* 2012, 48(2): 233-6; Preuner et al., *Int J Mol Sci* 2016, 29;17(5):E642). Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse haben wir im Rahmen eines Sonderforschungsbereichs (SFB-FWF) weiterführende Forschungsprojekte zum besseren Verständnis der Dynamik dieser Leukämieform initiiert. Die Ergebnisse aus dieser Forschungsarbeit lieferten wesentliche Informationen über die Prinzipien von Resistenzentwicklung und ermöglichten verbesserte diagnostische Optionen bei der CML und anderen Leukämien (Kastner et al., *Eur J Cancer* 2014, 50(4):793-800; Preuner et al., *J Mol Diagn* 2014, 16(4):459-66; Byrgazov et al., *Oncotarget* 2016, 22;7(47):78083-78094; Byrgazov et al., *Leukemia* 2017, 31(1):237-240; Byrgazov et al., *Haematologica* 2018, 103(1):e10-e12).

Neben unserem Forschungs- und Entwicklungsprogramm stellen wir als Referenzlabor für molekulare Infektions- und Leukämiediagnostik Serviceleistungen für nationale und internationale Therapiestudien (ALL-BFM, AML-BFM, CML-paed, BFM-ALL-SCT, EWING, ENEST 1st, ENEST Path, CARRAFLU) zur Verfügung und führen eigene klinische Studien mit infektiologischen Fragestellungen durch.

*groundwork for novel treatment strategies against invasive infections with adenoviruses, which can cause very severe diseases, particularly in children undergoing allo-SCT* (Kneidinger et al., *Antiviral Res* 2012, 94(3):195-207; Ibrsimovic et al., *Antiviral Res* 2013 97(1):10-23 and *J Gene Med* 2012, 14(1):3-19; Lion, *Clin Microbiol Rev* 2014, 27(3):441-62; Bellutti et al., *J Virol* 2015, 89(3):1608-27; Kosulin et al., *Clin Microbiol Infect* 2016, 22(4):381.e1-381.e8; Kosulin et al., *J Clin Virol* 2016, 80:60-1; Kosulin et al., *J Clin Virol* 2016, 85:31-36; Kosulin et al., *EBioMedicine* 2018, 28:114-119).

*Another focus of our activities is on the development of targeted diagnostics in patients after allo-SCT. A European project coordinated by our centre has led to the establishment of a standardised methodology for quantitative analysis of patient- and donor-derived cells (chimerism) (Lion et al., *Leukemia* 2012). The patented technique was exploited to establish a commercially available diagnostic kit. Moreover, we have developed diagnostic approaches facilitating early prediction of graft rejection and other complications, thus permitting timely therapeutic interventions (Breuer et al., *Leukemia* 201, 26(3):509-192; Preuner et al., *Methods Mol Biol* 2014, 1109:271-91; Preuner et al., *Haematologica* 2016, 101(6):741-6).*

*The development and clinical implementation of molecular techniques for the surveillance of mutant, therapy-resistant subclones in patients with chronic myeloid leukaemia (CML) has yielded important insights into the clonal development of the disease, the timely detection of resistance, and clone-specific responses to treatment (Preuner et al., *Leukemia* 2008, 22(10):1956-61; Preuner et al., *EJC* 2012, 48(2):233-6; Preuner et al., *Int J Mol Sci* 2016, 29;17(5):E642). Building on these findings, we continued our research in a long-term project (Special Research Area Program-SFB) funded by the Austrian Science Fund in order to deepen our understanding of the pathogenesis of this type of leukaemia. The results that emanated from this work provided key information on the principles of resistance and improved diagnostic approaches in CML and other types of leukaemia (Kastner et al., *Eur J Cancer* 2014, 50(4):793-800; Preuner et al., *J Mol Diagn* 2014, 16(4):459-66; Byrgazov et al., *Oncotarget* 2016, 22;7(47):78083-78094; Byrgazov et al., *Leukemia* 2017, 31(1):237-240; Byrgazov et al., *Haematologica* 2018, 103(1):e10-e12).*

*Activities we pursue in addition to our R&D programme include providing services as a molecular diagnostics reference laboratory in support of both national and international therapy trials in the fields of infectious diseases and leukaemia (ALL-BFM, AML-BFM, CML-paed, CML-11-CELSG, BFM-ALL-SCT, EWING, ENEST 1st, ENEST Path, CARRAFLU), and performing clinical studies addressing infectious disease-related issues.*



# Leukämiebiologie\*

## *Leukaemia Biology\**

**Kurz zusammengefasst:** Heute kann die Leukämie im Kindesalter in fast allen Fällen geheilt werden. Dennoch erleiden 20 Prozent der Patienten ein Rezidiv. Wir versuchen, die Entwicklung und Progression der Leukämien durch Analyse der genetischen, epigenetischen und transkriptionellen Veränderungen mittels hochauflösender Methoden zu charakterisieren und funktionell zu modellieren. Das daraus resultierende Wissen soll helfen, die Diagnostik zu verbessern und neue Behandlungsstrategien zu entwickeln.

**Short Summary:** Childhood leukaemia can be cured in the vast majority of cases, but 20 percent of patients experience relapse. We are trying to understand why and how leukaemia evolves and progresses by high-resolution profiling of the genetic, epigenetic and transcriptional landscape of cells and functional assays. The resulting knowledge will improve diagnostics and treatment strategies, advancing cure rates and quality of life of affected children.

Die Forschungsgruppe Leukämiebiologie wurde 1991 von Renate Panzer-Grümayer, einer pädiatrischen Hämato-Onkologin aus dem St. Anna Kinderspital, gegründet. Forschungsgebiet ist die akute lymphoblastische Leukämie (ALL), die häufigste Krebserkrankung des Kindes- und Jugendalters. Derzeit ist diese Form der Leukämie in bis zu 90 Prozent der Fälle heilbar. Dies ist jedoch nur um den Preis von – zum Teil schweren – Nebenwirkungen oder Spätfolgen möglich. Die molekularen Ursachen für die Rezidive, die in ungefähr 20 Prozent der Patienten auftreten, sind nach wie vor weitgehend ungeklärt.

Das Hauptinteresse der Gruppe gilt daher dem besseren Verständnis der Entwicklung und Evolution der ALL und des Auftretens von Rezidiven mittels genetischer, epigenetischer und transkriptioneller Charakterisierung sowie der Erfassung des individuellen Ansprechens auf die Therapie. Dadurch sollen neue prognostische und prädiktive Marker für eine bessere Therapiesteuerung und molekulare Targets für zukünftige gezielte Therapien identifiziert werden. Dieses Vorgehen soll sowohl die Heilungsrate von Kindern mit ALL erhöhen als auch die Nebenwirkungen der derzeitigen Therapien reduzieren.

Wir waren unter den ersten Forschern in Europa, die die prognostische Bedeutung der minimalen Resterkrankung

*The CCRI Leukemia Biology Group was founded in 1991 by Renate Panzer-Grümayer, a paediatric haemato-oncologist at St. Anna's Children's Hospital. Research focuses on the acute lymphoblastic leukaemia (ALL), the most common malignancy in childhood and adolescence. The cure rate for this type of leukaemia approaches 90 percent with contemporary treatment protocols, but only at the price of – sometimes quite severe – side and late effects. In approximately 20 percent of cases, the causes for the occurrence of relapses are still largely unknown.*

*Against this background, we seek to gain a deeper understanding of leukaemogenesis and the evolution of ALL, as well as of the occurrence of relapses by assessing the genetic, epigenetic and transcriptional landscape, and to precisely determine the individual patient's response to therapy. This way, we expect to identify novel prognostic and predictive markers for improved treatment stratification and molecular targets for future specific therapies. This approach should help to increase cure rates for patients with ALL as well as to reduce side and late effects of current treatment regimens.*

*We were among the first researchers in Europe to assess the prognostic relevance of minimal residual disease (MRD, i.e., leukaemia below the detection level of conventional light*



• **Gruppenleiter / Group Leader: Univ.-Prof. Dr. Renate Panzer-Grümayer (MD, Prof.)**

• **Postdoktorand / Postdoctoral Research Fellow:**

Dr. Stefan Köhrer (MD)

• **Doktorandin / PhD Student:**

Katarzyna Pietrzykowska MSc

• **Technische Mitarbeiterinnen / Technicians:**

Susanna Fischer, Jovana Jovanovic BSc, Nadine Nirtl MSc,  
DI Astrid Mecklenbräuker (MSc), Marion Zeginigg MSc

• **Klinische MitarbeiterInnen / Clinical Collaborators:**

Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.),  
Univ.-Doz. Dr. Georg Mann (MD, Assoc. Prof.)

kung (MRD, d. h. Leukämie unterhalb der mikroskopischen Nachweisgrenze) für die ALL mittels molekularer Methoden untersuchten (van Dongen et al., *Lancet* 1998, 28;352(9142):1731-8) und feststellten, dass MRD das individuelle Ansprechen auf die Therapie und somit das Zusammenwirken der speziellen Leukämieform mit den genetischen Eigenheiten der PatientInnen und der verabreichten Therapie widerspiegelt. Damit kann erklärt werden, warum sich das Ausmaß der MRD, besonders während der frühen Therapiephasen in AIEOP-BFM-Protokollen, als bester unabhängiger Prognosemarker etabliert hat (Panzer-Grümayer et al., *Blood* 2000, 1;95(3):790-4; Willemse et al., *Blood* 2002, 15;99(12):4386-93).

In der Folge wurde die MRD weltweit als stratifizierender Parameter in die jeweiligen Behandlungsprotokolle für die Erst- und Rezidivtherapie sowie in jene für Stammzelltransplantationen aufgenommen und so zu einem der größten Erfolge der translationalen Forschung (van der Velden et al., *Leukemia* 2007, 21(4):706-13; Flohr et al., *Leukemia* 2008, 22(4):771-82; van der Velden et al., *Leukemia* 2009, 23(6):1073-9; Conter et al., *Blood* 2010, 115(16):3206-14.; Schrappe et al., *Blood* 2011, 118(8):2077-84; Eckert et al., *JCO* 2013, 31(21):2736-42; Eckert et al., *Leukemia* 2015, 29(8):1648-55; Schrappe et al., *JCO* 2018, 36(3):244-253). Als Referenzlabor und Mitglied der EURO-MRD-Gruppe gewährleistet die Forschungsgruppe Leukämiebiologie somit die standardisierte molekulare MRD-Bestimmung aller Kinder mit ALL, aber auch mit AML (akuter myeloischer Leukämie) in Österreich. Interdisziplinäre Projekte der MRD-Labors mit Studienzentralen in Österreich, der EU und den USA garantieren die Weiterentwicklung und klinische Anwendung dieser Forschung.

Im Bereich der Grundlagenforschung konnten wir schon früh zeigen, dass erste krebsauslösende Veränderungen unterschiedlicher genetischer Leukämiegruppen bereits während der Entwicklung des Kindes im Mutterleib auftreten (Fasching et al., *Blood* 2000, 95(8):2722-; Fasching et al., *Blood* 2001, 98(7):2272-4; Panzer-Grümayer et al., *Blood* 2002, 100(1):347-9; Fischer et al., *Blood* 2007, 110(7):2457-65). Dies ließ vermuten, dass eine noch nicht vollständig leukämische (d. h. präleukämische) Zellpopulation bei der Geburt, also lange bevor die Leukämie klinisch manifest wird, vorhanden ist. Da jedoch in den meisten Leukämien für das Auftreten einer klinisch manifesten Leukämie weitere onkogene Veränderungen benötigt werden, haben wir untersucht, ob auch diese in utero auftreten. Wir konnten allerdings keine dieser weiteren Veränderungen nachweisen (Morak et al., *Haematologica* 2013, 98(9):e108-10). Dieses Ergebnis ist mit der Annahme einer postnatalen Entstehung von sekundären Veränderungen vereinbar, schließt jedoch nicht aus, dass solche Veränderungen bereits vorhanden, aber aufgrund ihrer geringen Frequenz nicht nachweisbar sind. Man weiß also derzeit nicht, wann, wenn überhaupt, diese zusätzlichen Mutationen, auftreten. Hingegen ist gesi-

*microscopy) by molecular methods (van Dongen et al., Lancet 1998, 28;352(9142):1731-8), thereby establishing that MRD reflects the individual response to therapy and, accordingly, the interaction of the specific leukaemia with the genetic makeup of the patient and the applied therapy. This may explain why MRD levels, particularly during the early therapy phase in AIEOP/BFM protocols, qualify as best and independent prognostic markers (Panzer-Grümayer et al., Blood 2000, 1;95(3):790-4; Willemse et al., Blood 2002;15;99 (12):4386-93). Consequently, MRD was introduced worldwide as a treatment stratifying parameter in the respective clinical protocols for frontline and relapse, as well as in stem cell transplantation protocols and is still considered one of the big successes of translational research (van der Velden et al., Leukemia 2007, 21(4):706-13; Flohr et al., Leukemia 2008, 22(4):771-82; van der Velden et al., Leukemia 2009, 23(6):1073-9; Conter et al., Blood 2010, 115(16):3206-14.; Schrappe et al., Blood 2011, 118(8):2077-84; Eckert et al., JCO 2013, 31(21):2736-42; Eckert et al., Leukemia 2015, 29(8):1648-55; Schrappe et al., JCO 2018, 36(3):244-253). As a member of the Euro-MRD Group and a reference laboratory, the CCRI Leukaemia Biology Group guarantees that in Austria all affected children undergo the standardised molecular determination of MRD in ALL and, since recently, also in acute myelogenous leukaemia. Interdisciplinary projects of MRD laboratories with study centres in Austria, the EU and the USA promote the development and clinical application of related research.*

*Our basic research projects have shown that leukaemia-initiating genetic alterations of various childhood leukaemias occur as early as during foetal development in utero (Fasching et al., Blood 2000, 95(8):2722-; Fasching et al., Blood 2001, 98(7):2272-4; Panzer-Grümayer et al., Blood 2002, 100(1):347-9; Fischer et al., Blood 2007, 110(7):2457-65). This implies that a not fully leukaemic (i.e., preleukaemic) cell population is already present at birth, long before the clinical manifestation of the leukaemia. Such initiating alterations are, however, usually not sufficient for overt leukemia and require consecutive alterations to occur. We therefore tested whether such secondary alterations also occur in utero, but could not identify any (Morak et al., Haematologica 2013, 98(9):e108-10). Such result is consistent with the current notion that, in fact, they do occur only after birth. It is not known whether ensuing critical alterations need to occur in such an initial mutation-harboring cell population and whether a clinical disease emerges every single time. What is clear, though, is that the persistence of a pre-/leukaemic clone after chemotherapy might be responsible for the emergence of a relapse (Ford et al., Blood 2001, 98(3):558-64; Konrad et al., Blood 2003, 101(9):3635-40). Since secondary alterations are usually very heterogeneous and frequently not preserved at relapse, the leukaemia-initiating alteration would be the ideal target for innovative treatment.*

chert, dass das Fortbestehen eines prä-/leukämischen Zellklons nach einer Leukämiebehandlung in manchen Fällen für eine Rückfallerkrankung verantwortlich ist (Ford et al., *Blood* 2001, 98(3):558-64; Konrad et al., *Blood* 2003, 101(9):3635-40). Da die notwendigen weiteren genetischen Veränderungen jedoch sehr heterogen sind und häufig nicht im Rezidiv erhalten bleiben, kann die Leukämie auslösende Veränderung ein ideales Target für neue gezielte therapeutische Ansätze sein.

Zur Untersuchung einer Leukämie auslösenden Veränderung als mögliches therapeutisches Target haben wir das ETV6-RUNX1-Fusionsgen als Beispiel gewählt. Durch Ausschalten des Fusionsgens bestätigten wir unsere Annahme, dass dieses für das Überleben der Krebszellen sowohl *in vitro* als auch in Mausmodellen notwendig ist (Diakos et al., *Blood* 2007, 109(6):2607-10; Fuka et al., *Leukemia* 2012, 26(5):927-33). In diesen und weiteren Arbeiten haben wir zudem durch ETV6-RUNX1 deregulierte Signalwege identifiziert. Es wurden die molekularen Mechanismen, die einerseits zur Aktivierung des PI3K/mTOR-Signalwegs und andererseits zur Abschwächung der mitotischen Kontrollfunktion und p53-Aktivität führen, aufgeklärt und die Effekte einer spezifischen Blockade getestet (Krapf et al., *Oncogen* 2010, 285(11):7977-85; Fuka et al., *PlosOne* 2011, 6(10):e26348; Kaindl et al., *Leukemia* 2014, 28(3):600-8).

Mittels genomweitem Screening haben wir in ETV6-RUNX1-positiven Leukämien genetische Veränderungen identifiziert, die mit der Progression von Leukämien und dem Entstehen von Rezidiven assoziiert und vermutlich auch ursächlich daran beteiligt sind (Kuster et al., *Blood* 2011, 117(9):2658-67; Grausenburger et al., *Leuk Lymphoma* 2016, 57(5):1163-73). In Zukunft könnten solche kritischen, onkogenen Veränderungen oder die davon betroffenen Signalwege als neue, spezifische therapeutische Targets herangezogen werden. Mausmodelle für präklinische Tests wurden in Kollaboration mit dem Ludwig Boltzmann Institute for Cancer Research, Wien, dafür etabliert.

Dank der Einführung hochauflösender Hochdurchsatzuntersuchungen – Single Nucleotide Polymorphism (SNP), Next Generation Sequencing, (NGS) – erkannte man, dass die Leukämie bei Erstdiagnose generell aus vielen verschiedenen Zellpopulationen besteht, die durch sekundäre, unterschiedliche genetische Veränderungen charakterisiert sind und damit das Darwin'sche Muster der verzweigten Evolution – und nicht das konsequente Anhäufen von Mutationen – reflektieren. Im Rezidiv hingegen liegt sehr häufig eine einheitliche Zellpopulation vor, die durch die Chemotherapie selektiert wurde. Dies wurde von uns für zwei mit erhöhtem Rezidivaufkommen assoziierte Leukämiegruppen gezeigt (Malinowska-Ozdowy et al., *Leukemia* 2015, 29(8):1656-67; Vesely et al., *Leukemia* 2017, 31(7):1491-1501).

In unserer translationalen Forschung haben wir spezifische, zu Rezidiven neigende Leukämieuntergruppen, darunter jene der großen Gruppe der Kinder mit einem inter-

*To test this hypothesis, we depleted leukaemic cells for the ETV6-RUNX1 fusion, which confirmed that for survival in vitro and in vivo these leukaemias are still dependent on this fusion (Diakos et al., Blood 2007, 109(6):2607-10; Fuka et al., Leukemia 2012, 26(5):927-33). In these and other papers we also describe pathways that are deregulated by ETV6-RUNX1. Among these were the activation of PI3K/mTOR and the attenuation of the mitotic checkpoint and p53 activity (Krapf et al., Oncogen 2010, 285(11):7977-85; Fuka et al., PlosOne 2011, 6(10):e26348; Kaindl et al., Leukemia 2014, 28(3):600-8). Further, we identified genomic alterations that were associated with and appeared causal in the progression of the leukaemia and emergence of relapse (Kuster et al., Blood 2011, 117(9):2658-67; Grausenburger et al., Leuk Lymphoma 2016, 57(5):1163-73). We expect such critical oncogenic leukaemia-initiating and -maintaining alterations to serve as novel future drug targets. Xenograft mouse models for preclinical testing of novel compounds have been established in collaboration with the Ludwig Boltzmann Institute for Cancer Research, Vienna.*

*Thanks to the introduction of high-resolution whole genome assays (single nucleotide polymorphism, SNP, and next generation sequencing, NGS) we learned that leukaemias at initial diagnosis usually contain multiple subclones that are characterised by distinct secondary alterations, thus mirroring the Darwinian pattern of branching evolution – and not the consecutive acquisition of mutations. By contrast, relapse leukaemias generally emerge via selection by chemotherapy and hence are clonal. We have shown such patterns for two leukaemia subtypes (Malinowska-Ozdowy et al., Leukemia 2015, 29(8):1656-67; Vesely et al., Leukemia 2017, 31(7):1491-1501).*

*In a translational research project we focused on the large group of children with an intermediate MRD risk who lack any other high-risk criteria but have a considerable relapse risk. We detected CREBBP mutations primarily in relapse-prone children with high hyperdiploid ALLs and, due to clonal selection, an increased frequency at relapse (Inthal et al., Leukemia 2012, 26(8):1797-803). In a follow-up study, this finding was confirmed for a large group of cases and, in addition, a significant concurrence of CREBBP mutations with those in KRAS was revealed, suggesting a beneficial interaction between the two mutant proteins in the development of relapses (Malinowska-Ozdowy et al., Leukemia 2015, 29(8):1656-67). For the recently discovered leukaemia-associated P2RY8-CRLF2 fusion, which has a particular association with alterations on chromosome 21, we demonstrated a high incidence in the B-other leukaemia group (lacking recurrent genetic features), although this fusion occurs primarily in a small subclone only. The ensuing comparison of matched diagnosis and relapse samples suggested that in the clinical*

mediären MRD-Risiko, genauer untersucht. Für die hyperdiploiden Leukämien konnten wir nachweisen, dass bei Kindern mit einem Rezidiv nicht nur bei Erstdiagnose Mutationen im CREBBP-Gen vorhanden waren, sondern diese im Rezidiv – durch die Selektion eines mutierten Subklons – an Häufigkeit zunahm (Inthal et al., *Leukemia* 2012, 26(8):1797-803). In einer Folgearbeit wurden diese Ergebnisse an einer großen PatientInnenzahl bestätigt, und zudem die Interaktion von CREBBP- mit KRAS-Mutationen gezeigt (Malinowska-Ozdowy et al., *Leukemia* 2015, 29(8):1656-67). Für Leukämien mit einer P2RY8-CRLF2-Fusion zeigten wir, dass 25 Prozent der bisher nicht ausreichend charakterisierbaren B-Linien-Leukämien diese Fusion aufweisen, sie jedoch oft nur in einem kleinen Subklon vorkommt. Ein Vergleich von Leukämiezellen der Erst- mit der Rezidivverkrankung führte zu der Annahme, dass diese Fusion der Leukämie keinen proliferativen Vorteil verleiht oder das Rezidiv verursacht. In diesen Leukämien finden sich jedoch weitere genetische Veränderungen, die bei PatientInnen mit Rezidiv gehäuft auftreten (Morak et al., *Haematologica* 2013, 98(9):e108-10; Buitenkamp et al., *Blood* 2014, 123(1):70-7; Vesely et al., *Leukemia* 2017, 31(7):1491-1501; Panzer-Grümayer et al., *Oncotarget* 2017, 8(57):96466-96467). In ähnlicher Weise haben wir im Rahmen eines EU-Projekts ein genetisches Muster von Deletionen identifiziert, das nun als risikostratifizierender Parameter Eingang in das nächste AIEOP/BFM-Therapieprotokoll für ALL gefunden hat (Stanulla et al., *JCO* 2018, 36(12):1240-1249).

Die Forschungsgruppe Leukämiebiologie hat somit während ihres Bestehens mit der Etablierung der molekularen MRD-Bestimmung und der detaillierten genomischen Charakterisierung von Leukämien einen wichtigen Beitrag zur translationalen Forschung geleistet. Darüber hinaus hat sie wertvolle Erkenntnisse in der Leukämiebiologie gewonnen, u. a. über den Ursprung der Leukämie im Kindesalter bereits in Mutterleib, die Funktion von bestimmten Leukämie auslösenden Veränderungen und die Möglichkeit, diese auszuschalten. Letzteres ist eine Voraussetzung für eine zukünftige, gezielte Therapie der Leukämie.

*context this fusion lacks proliferative and relapse-causing properties. Based on these insights, we envision P2RY8-CRLF2 as a latent or mini driver mutation. Such mutations are commonly present in subclones, and even though they can positively influence cellular processes, they are not critical for them but may sometimes substitute for a driver mutation. We have, however, also found specific secondary alterations that are associated with and most likely also responsible for the occurrence of relapses in the context of MRD levels (Morak et al., *Haematologica* 2013, 98(9):e108-10; Buitenkamp et al., *Blood* 2014, 123(1):70-7; Vesely et al., *Leukemia* 2017, 31(7):1491-1501; Panzer-Grümayer et al., *Oncotarget* 2017, 8(57):96466-96467). In an EU-funded, similar approach, we have identified a distinct pattern of microdeletions in B lineage leukaemias, which will – in dependence of MRD levels – be used as treatment stratifying parameter in the next treatment protocol (Stanulla et al., *JCO* 2018, 36(12):1240-1249).*

*Summing up, it may be stated that with the establishment of molecular MRD detection for children with ALL and the detailed genomic characterisation of leukaemias the CCRI Leukaemia Biology Group has made a significant contribution to translational research. What's more, adding new findings regarding in utero initiation, the functions and mechanisms of leukaemia-generating alterations and the possibility of specifically treating paediatric leukaemias in the not too distant future, it has considerably deepened our biological understanding of childhood leukaemias.*





# Leukämiegenetik

## *Genetics of Leukaemia*

**Kurz zusammengefasst:** Leukämie ist die häufigste Krebsart im Kindes- und Jugendalter, zugleich handelt es sich dabei um eine genetisch, biologisch und klinisch sehr heterogene Erkrankung. Wir erforschen die Vielfalt der genetischen Veränderungen, die zur Leukämieentstehung beitragen, und die Art und Weise, in der diese zum unkontrollierten Wachstum von Blutzellen führen.

**Short Summary:** Leukaemia is the most common childhood and adolescent cancer, but genetically, biologically and clinically a highly heterogeneous disease. We investigate the diversity of genetic alterations that contribute to the development of leukaemia and the ways in which they lead to the uncontrolled growth of blood cells.

Die Arbeitsgruppe für Leukämiegenetik wurde im Jahr 2006 ins Leben gerufen. Ursprünglich war die Erforschung der genetischen Veränderungen in Leukämien in die zyto- und molekulargenetische Diagnostik hämatologischer Erkrankungen integriert, nach der Auslagerung dieser Diagnostik in die heutige Arbeitsgruppe für Klinische Genetik und in das CCRI Tochterunternehmen Labdia Labordiagnostik erschien es jedoch angebracht, eine eigene Forschungsgruppe zu etablieren, die sich den der Leukämieentstehung zugrunde liegenden genetischen Veränderungen widmet. Bis heute stehen die beiden Arbeitsgruppen in enger Verbindung und profitieren wesentlich voneinander, denn nur durch die Verschränkung von Diagnostik und Grundlagenforschung ist es möglich, Fortschritte in der Behandlung der Leukämie im Kindes- und Jugendalter zu erzielen.

Der Schwerpunkt der Arbeitsgruppe für Leukämiegenetik liegt einerseits auf der Evaluierung der prognostischen Bedeutung genetischer Veränderungen und andererseits auf der Charakterisierung der genetischen Subtypen der Leukämie sowie dem Erkennen der grundlegenden molekularen Mechanismen, die zur Leukämieentstehung führen. Mit nationalen und internationalen Studien und in enger Zusammenarbeit mit den OnkologInnen des St. Anna Kinderspitals haben wir wesentlich dazu beigetragen, die prognostische Bedeutung genetischer Marker zu bestimmen (Kager et al., *Haematologica* 2007, 92(11):1561-

*The Genetics of Leukaemia Research Group was established in 2006. Originally, the exploration of genetic alterations in leukaemia had been an integral part of the cytogenetic and molecular genetic diagnostics work-up of haematological diseases. However, following the outsourcing of diagnostics to what is today the Clinical Genetics Group and to Labdia Laboratory Diagnostics, a subsidiary of the CCRI, it seemed appropriate to set up a special research group tasked with studying the genetic alterations underlying leukaemia development. Still collaborating closely, the two working groups benefit substantially from each other – after all, progress in the treatment of childhood and adolescent leukaemia can only be achieved by the combined efforts of diagnostics and basic research.*

*The main goals of the Genetics of Leukaemia Group are the evaluation of the prognostic significance of genetic alterations, on the one hand, and the characterisation of genetic subtypes of leukaemia and elucidation of the basic molecular mechanisms leading to the development of leukaemia, on the other. Through national and international studies and through close cooperation with oncologists from St. Anna's Children's Hospital, we have significantly contributed to determining the prognostic relevance of genetic markers (Kager et al., *Haematologica* 2007, 92(11):1561-1564; Attarbaschi et al., *Br J Haematol* 2010, 148(2):293-300; Pichler et al., *Br J Haematol* 2010,*



• **Gruppenleiter / Group Leader: Dr. Sabine Strehl (PhD)**

- **PostdoktorandInnen / Postdoctoral Research Fellows:**  
Dr. Klaus Fortschegger (PhD), Dr. Dagmar Schinnerl (PhD)
- **Doktorandinnen / PhD Students:**  
Clara Hechenberger MSc, Anna-Maria Husa MSc
- **Bachelorstudentin / BSc Student:**  
Sophie Lackner
- **Technische Mitarbeiterin / Technician:**  
Margit König
- **Klinische Mitarbeiter / Clinical Collaborators:**  
Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.),  
Univ.-Prof. Dr. Michael N. Dworzak (MD, Prof.)

1564; Attarbaschi et al., *Br J Haematol* 2010, 148(2):293-300; Pichler et al., *Br J Haematol* 2010, 149(1):93-100; Attarbaschi et al., *Br J Haematol* 2012, 158(6):772-777), zudem haben wir das Auftreten bestimmter genetischer Veränderungen mit dem Ansprechen auf spezielle Medikamente korreliert (Strehl et al., *Leukemia* 2013, 27(7):1606-1610; Colomer-Lahiguera et al., *Leuk Lymphoma* 2017, 58(12):2895-2904). Die eingehende molekulargenetische Charakterisierung von seltenen Leukämieformen hat auch zur Beschreibung neuer genetischer Veränderungen geführt (Strehl et al., *Genes Chromosomes Cancer* 2006, 45(11):1041-1049; Nebral et al., *Br J Haematol* 2007, 139(2):269-274; Strehl et al., *Clin Cancer Res* 2008, 14(4):977-983).

Ein weiterer Schwerpunkt unserer Forschungsarbeit liegt auf einem speziellen Gen, nämlich PAX5, das eine zentrale Rolle in der normalen B-Zell-Entwicklung spielt. Auf Grundlage unserer bereits im Jahr 2003 erschienenen ersten Arbeit über die Beteiligung des PAX5 Gens an einer Leukämieassoziierten Genfusion (Strehl et al., *Leukemia* 2003, 17(6): 1121-1123) stellten wir die Hypothese auf, dass Veränderungen dieses Gens eine wichtige Rolle in der Leukämieentstehung spielen. Bis zum Erscheinen einer Arbeit im renommierten Fachblatt „Nature“ im Jahr 2007, in der gezeigt wurde, dass PAX5 in der B-Zell-Leukämie eines der am häufigsten veränderten Gene ist (Mullighan et al., *Nature* 2007, 12;446(7137):758-764) und damit in der internationalen Forschungsgemeinschaft ein enormes Interesse an diesem Gen auslöste, waren wir weltweit praktisch die Einzigen, die diese Idee verfolgten. Daher waren wir auch unter den Ersten, die in einer umfassenden Studie zeigen konnten, dass in ungefähr 2,5 Prozent aller B-Zell-Leukämien PAX5 Genfusionen vorliegen (Nebral et al., *Leukemia* 2009, 23(1):134-143) und PAX5 mit einer großen Anzahl unterschiedlicher Partnergene fusionieren kann (Nebral et al., *Br J Haematol* 2007, 139(2):269-274; Nebral et al., *Leukemia* 2009, 23(1):134-143; Denk et al., *Leuk Res* 2012, 36(8):e178-81; Denk et al., *Mol Cytogenet* 2014, 7(1):13; Anderl et al., *Mol Cytogenet* 2015, 8:48).

Die extrem unterschiedlichen Eigenschaften der Proteine oder Proteinteile, welche an die PAX5-DNA-Bindungsdomäne angekoppelt werden, legten nahe, dass das Partnerprotein eine modulierende Rolle in der Leukämieentwicklung spielen und die veränderten Signalwege beeinflussen könnte. Diese Annahme konnten wir durch die Analyse der biochemischen Eigenschaften von PAX5 Fusionsproteinen, die zeigten, dass diese sowohl gemeinsame als auch unterschiedliche Charakteristiken aufweisen, zumindest indirekt bestätigen (Fortschegger et al., *Mol Cancer Res* 2014, 12(4):595-606). Der endgültige Beweis, dass PAX5 Fusionsproteine in unterschiedlicher Art und Weise zur Leukämieentstehung beitragen, konnte durch die Generierung von genetischen Mausmodellen in der Arbeitsgruppe von Meinrad Busslinger (IMP, Forschungs-

149(1):93-100; Attarbaschi et al., *Br J Haematol* 2012, 158(6):772-777) and have correlated the presence of certain genetic lesions with the response to specific drugs (Strehl et al., *Leukemia* 2013, 27(7):1606-1610; Colomer-Lahiguera et al., *Leuk Lymphoma* 2017, 58(12):2895-2904). Our in-depth molecular genetic characterisation of rare forms of leukaemia has also led to the description of novel genetic alterations (Strehl et al., *Genes Chromosomes Cancer* 2006, 45(11):1041-1049; Nebral et al., *Br J Haematol* 2007, 139(2):269-274; Strehl et al., *Clin Cancer Res* 2008, 14(4):977-983).

Moreover, we have focused our research on a specific gene, namely PAX5, which plays a pivotal role in normal B cell development. Based on our first publication in 2003 regarding the involvement of PAX5 in a leukaemia-associated fusion gene (Strehl et al., *Leukemia* 2003, 17(6):1121-1123), we hypothesised that alterations of this gene might play an important role in the development of leukaemia. Until 2007, when the high-impact journal *Nature* published a paper identifying PAX5 as one of the most frequently altered genes in B cell leukaemia (Mullighan et al., *Nature* 2007, 12; 446 (7137):758-764), provoking tremendous interest in this gene in the international research community, we had been more or less the only ones pursuing this idea. In fact, we were among the first to show in a comprehensive study that PAX5 fusion genes are present in approximately 2.5 percent of all B cell leukaemias (Nebral et al., *Leukemia* 2009, 23 (1):134-143) and that PAX5 may be fused to a large number of different partner genes (Nebral et al., *Br J Haematol* 2007, 139(2):269-274; Nebral et al., *Leukemia* 2009, 23(1):134-143; Denk et al., *Leuk Res* 2012, 36(8):e178-81; Denk et al., *Mol Cytogenet* 2014, 7(1):13; Anderl et al., *Mol Cytogenet* 2015, 8:48).

The highly diverse properties of the proteins or protein moieties coupled to the PAX5 DNA-binding domain suggested that the partner protein might play a modulating role in leukaemia development and influence the altered signalling pathways. This assumption we could, at least indirectly, confirm by analysing the biochemical properties of PAX5 fusion proteins, which showed that they have shared but also individual characteristics (Fortschegger et al., *Mol Cancer Res* 2014, 12(4):595-606). The definitive proof that PAX5 fusion proteins contribute to leukaemia development in distinctive ways was demonstrated by the generation of genetic mouse models by the group of Meinrad Busslinger (IMP, Research Institute of Molecular Pathology, Vienna) (Smeenk et al., *EMBO J* 2017, 36 (6):718- 735).

Compelling evidence that PAX5 fusion proteins lead to leukaemia in different ways has beforehand been demonstrated by the activation of the JAK/STAT signalling pathway by PAX5-JAK2 (Schinnerl et al., *Blood* 2015, 125 (8):1282-1291). To date, PAX5-JAK2 represents the only PAX5 fusion classified as a so-called kinase-

institut für Molekulare Pathologie, Wien) erbracht werden (Smeenk et al., EMBO J 2017, 36(6):718-735).

Eine nachdrückliche Untermauerung, dass PAX5-Fusionen in unterschiedlicher Weise zur Leukämieentwicklung führen, stellte zuvor bereits der Nachweis der Aktivierung des JAK/STAT-Signalwegs durch PAX5-JAK2 dar (Schinnerl et al., Blood 2015, 125(8):1282-1291). PAX5-JAK2 zählt bisher als einzige der PAX5 Fusionen zu den sogenannten kinaseaktivierenden Proteinfusionen, deren onkogene Wirkung durch spezielle Inhibitoren blockiert werden kann (Schinnerl et al., Blood 2015, 125(8):1282-1291). Zur Behandlung von Erwachsenen und Kindern mit Leukämien, die BCR-ABL1 und in Einzelfällen variante ABL1-Genfusionen aufweisen (Perwein et al., Haematologica 2016, 101(8):e332-335), wurden Medikamente, welche die Tyrosinkinase-Aktivität von ABL1 hemmen, bereits erfolgreich eingesetzt. Aus diesem Grund wird die Entwicklung von Molekülen mit ähnlicher Wirkungsweise gegen JAK2 auch stetig vorangetrieben.

Obwohl für die meisten akuten Leukämien die der Tumorentstehung zugrunde liegenden genetischen Veränderungen bereits bekannt sind, gibt es nach wie vor neue zu entdecken. Was dies betrifft, haben wir erst kürzlich in einer groß angelegten internationalen Studie, an der 15 Zentren beteiligt waren, eine Gruppe von PatientInnen beschrieben, die durch Amplifikationen des PAX5 Gens charakterisiert ist, die mit einer eher ungünstigen Prognose einhergehen (Schwab et al., Blood Adv 2017, 1(19):1473-1477). Unsere bisher unveröffentlichten Daten legen nahe, dass es sich bei dieser Mutation um eine tandemartige Amplifikation handelt, die nur einen Teil der internen PAX5 Exons betrifft und die zur Expression eines veränderten PAX5 Proteins, das mehrere DNA-Bindungsdomänen enthält, führt. Eine unserer nächsten Forschungsarbeiten wird es nun sein, zu entschlüsseln, wie diese bisher einzigartige Veränderung zur Leukämieentstehung beiträgt und welche Signalwege verändert sind. Unser Ziel ist es wie immer, Anhaltspunkte für zielgerichtete Therapiemöglichkeiten für PatientInnen zu finden, die von dieser Leukämieform betroffen sind.

Um für die Herausforderungen der nächsten Jahrzehnte gerüstet zu sein, entwickeln wir nicht zuletzt neue zelluläre Modellsysteme. So arbeiten wir derzeit mit induzierten pluripotenten Stammzellen, die uns helfen sollen, die Auswirkungen von genetischen Veränderungen auf zelluläre Prozesse noch besser zu analysieren. Darüber hinaus intensivieren wir unsere Arbeit mit neuesten Technologien wie der CRISPR/Cas9-Genomeditierung und umfassenden Genomanalysen, die aus der Diagnostik bald ebenso wenig wegzudenken sein werden wie aus der Forschung.

*activating fusion protein whose oncogenic effect may be blocked by specific inhibitors (Schinnerl et al., Blood 2015, 125 (8):1282-1291). Since drugs that inhibit the tyrosine kinase activity of ABL1 have already been successfully used for treating adults and children with leukaemia harbouring BCR-ABL1 and – in individual cases – variant ABL1 fusion genes (Perwein et al., Haematologica 2016, 101 (8):e332-335), the development of molecules with similar actions against JAK2 is being driven forward.*

*Although the genetic alterations underlying tumourigenesis are known for most acute leukaemias, there are still new ones to discover. This was recently the case, when in a large-scale international study involving 15 centres we could describe a group of patients characterised by amplifications of the PAX5 gene, which are associated with a rather unfavourable prognosis (Schwab et al., Blood Adv 2017, 1 (19):1473-1477). Our unpublished data suggest that this alteration is a tandem amplification that affects only a subset of the internal exons and results in the expression of an altered PAX5 protein containing multiple DNA-binding domains. Hence, one of our next research projects will be devoted to unravelling how this unique genetic lesion contributes to leukaemia development and to identifying the altered signalling pathways. In doing so, we remain committed to our goal of finding clues for targeted therapeutic options for patients affected by this form of leukaemia.*

*Last but not least, in order to be prepared for the challenges of the next decades, we are continually developing new cellular model systems. Thus, we are currently working with induced pluripotent stem cells to facilitate the analysis of the effects of genetic alterations on cellular processes and, moreover, we are placing increased emphasis on the use of latest technologies such as CRISPR/Cas9 genome editing and comprehensive genome analyses, which will soon be indispensable for both diagnostics and research.*

## Labdia Labordiagnostik GmbH\* *Labdia Laboratory Diagnostics\**

Ärztlicher Leiter / Medical Director: Univ.-Prof. DDr. Thomas Lion MSc (MD, PhD, Prof.)

Ärztlicher Leiter Stellvertreter / Deputy Medical Director: Univ.-Prof. Dr. med. Oskar A. Haas (MD, Prof.)

Sekretariat / Secretariat: Brigitte Glatz, Erika Lakatos

\* Forschung und Diagnostik / Research & Diagnostics

## Affilierte KlinikerInnen des St. Anna Kinderspitals bei Studien und Projekten *Affiliated clinicians from St. Anna Children's Hospital involved in studies and projects*

Dr. Anna Aichinger (MD)

Priv.-Doz. Dr. Andishe Attarbaschi (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Milina Bezakova (MD)

Priv.-Doz. Dr. Kaan Boztug (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Heidrun Boztug (MD)

Dr. Sabine Breuer (MD)

Priv.-Doz. Dr. Christofer Diakos (MD, Assoc. Prof.)

Univ.-Doz. Dr. Michael Dworzak (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Markus Egger (MD)

Dr. Gernot Engstler (MD)

Dr. Bernhard Fahrner (MD)

Dr. Stefan Fiedler (MD)

Dr. Waltraud Friesenbichler (MD)

Dr. Marlies Haslinger (MD)

DDr. Irene Hofer-Popow (MD, PhD)

Univ.-Doz. Dr. Leo Kager (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Hubert Kogler (MD)

Dr. Karoly Lakatos (MD)

Dr. Anita Lawitschka (MD)

Dr. Melanie Loibnegger (MD)

Dr. Stephanie Ludwig (MD)

Dr. Roswitha Lüftinger (MD)

Univ.-Doz. Dr. Georg Mann (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Teresa Matiqi (MD)

Univ.-Prof. Dr. Milen Minkov (MD, Prof.)

Dr. Miriam Pajpach (MD)

Univ.-Prof. Dr. Christina Peters (MD, Prof.)

Dr. Pichler Herbert (MD)

Dr. Fiona Poyer (MD)

Dr. Bettina Reismüller (MD)

Dr. Leila Ronceray (MD)

DDr. Elisabeth Salzer (MD, PhD)

Dr. Monika Schneider-Kempel (MD)

Priv.-Doz. Dr. Andreas Vécsei (MD, Assoc. Prof.)

Dr. Volker Witt (MD)

Dr. Vera Zaller (MD)

Dr. Natalia Zubarovskaya (MD)



# Ein Blick hinter die Kulissen

## *A look behind the scenes*

Die St. Anna Kinderkrebsforschung hat in den 30 Jahren seit Gründung des Instituts gewaltige Fortschritte im Kampf gegen den Krebs bei Kindern erzielt. Neue Erkenntnisse führten zu verbesserten Behandlungsmethoden, zielgerichteter Therapie und innovativen Diagnostikverfahren. Die treibenden Kräfte dieser Entwicklung sind zweifellos die ForscherInnen. Doch um sich voll auf ihre eigentliche Aufgabe – eben Forschung auf allerhöchstem Niveau – konzentrieren zu können, brauchen sie ein perfektes Umfeld, eine funktionierende Infrastruktur und kompetente personelle Unterstützung in den unterschiedlichsten Bereichen. Um die Schaffung und Aufrechterhaltung dieser Voraussetzungen kümmert sich wiederum eine ganze Reihe von SpezialistInnen und hochqualifizierten MitarbeiterInnen, die damit gleichsam das Fundament errichten, auf dem die Erzielung von Spitzenleistungen überhaupt möglich ist.

### **Wissenschaftlicher Support und Core Facilities**

Im Bewusstsein der Unerlässlichkeit von professioneller Unterstützung wurden in der St. Anna Kinderkrebsforschung gruppenweite Analysen, Anwendungen und übergreifender Forschungssupport schon sehr bald in eigenen spezialisierten Einheiten zusammengefasst.

### **Core Unit FACS-Analyse**

Der Zelldiagnostik kommt im Kampf gegen den Krebs wachsende Bedeutung zu. Dementsprechend zählt die 1989 gegründete und untrennbar mit dem Forschungslabor Klinische Zellbiologie verbundene FACS (d. h. Durchflusszytometrie) Core Unit zu den zentralen Serviceeinheiten des Instituts. Schließlich kann die genaue und detaillierte Analyse von Zellen wichtige Aufschlüsse über krankhafte Prozesse liefern. Die Analyseverfahren wurden von René Geyeregger und seinem Team sowie vom ehemaligem Gruppenleiter Gerhard Fritsch in enger Kooperation mit dem St. Anna Kinderspital im Laufe der Jahrzehnte stetig verfeinert, sodass heute Diagnosemöglichkeiten von nie dagewesener Präzision und Aussagekraft zur Verfügung stehen.

*In the 30 years since its foundation, St. Anna Children's Cancer Research Institute has made enormous progress in the fight against childhood cancer. New findings on the development of the disease have led to targeted therapies and innovative diagnostic procedures. The institute's scientific staff are at the forefront of these achievements. However, cutting-edge research, in order to obtain the best possible results, depends on a perfect environment, a functioning infrastructure as well as the support of dedicated people. Accordingly, it is the great number of highly qualified and specialised professionals employed at the institute that lay the groundwork on which excellence in research can be achieved in the first place.*

### **Scientific support and core facilities**

*Acknowledging the significance of professional support, St. Anna Children's Cancer Research has, from early on, organised group-wide analyses, applications and comprehensive research support in separate specialised units.*

### **FACS Core Facility**

*Cell diagnostics is becoming increasingly important in the fight against cancer. Founded in 1989 and inseparably linked to the Clinical Cell Biology research laboratory, the FACS (i.e., Flow Cytometry) Core Unit is one of the institute's central service units. After all, the precise and detailed analysis of cells can provide important information about pathological processes. In close cooperation with St. Anna Children's Hospital, René Geyeregger and his team over the decades have continuously refined their analytical methods in order to obtain ever more precise diagnoses and insights.*

*As a FACS core unit, the laboratory presently has at its disposal three flow cytometers for 15- to 20-parameter*



# Institutsleitung & Abteilungen

## *Management & Departments*

### Direktion / Management

Institutsleiter / Director	Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Holter (MD, Prof.)
Stellvertretender Institutsleiter / Deputy Director	Univ.-Doz. Dr. Peter Ambros (PhD, Assoc. Prof.)
Wissenschaftlicher Direktor / Scientific Director	Univ.-Prof. Dr. Heinrich Kovar (PhD, Prof.), bis / until 2018
Kaufmännischer Leiter / Chief Financial Officer	Mag. Jörg Bürger MBA (MSc, MBA)

### Abteilungen / Departments

Allgemeine Administration / Administration	David Haberl, Helmut Kellner, Ursula Kellner (Gigax Grant Administration)
Core Unit Bioinformatik / Bioinformatics Core Facility	Dr. Florian Halbritter (PhD), Dr. Maximilan Kauer (PhD), Dr. Niko Popitsch (PhD), Dr. Anna Pötsch (PhD)
EDV Support Services / IT-Service	Leiter / Leader: DI Lukas Schneider (MSc) Navid Kamaleyan, DI Florian Kromp (MSc), Senad Mihajlovic, Fabian Neumann, Mark Rossiwall
Forschungssupport / Research Support Office	Gruppenleiter / Group Leader: Dr. Nuno Andrade (PhD) Dr. Caterina Barresi (PhD) , Melanie Brunhofer MSc, Zoltán Dobai MSc
Gebäudemanagement / Facility Management	Kaus Kienzer, Ferdinand Knierim, Lukas Voglmüller
Institutssekretariat / Secretary's Office	Mag. Marion Zavadil (MA)
Personalverwaltung / Human Resources Management	Caroline Schmid
Qualitätsmanagement / Quality Management	Beate Avanesian MSc, Mag. Sandra Ehrenhofer-Weinzettl MSc, DI (FH) Daniela Hell-Böckl MSc. (MMSc)
Rechnungswesen, Controlling / Accounting, Controlling	Mag. (FH) Monika Gomez-Beran (MSc), Alexandra Lidy, Yvonne Schnetzinger MA, Suzana Stanislav, Mag. Amelie Szalony (MSc)
Spendenservice, PR & Kommunikation / Fundraising, PR & Communication	Gruppenleiter / Group Leader: Lisa Huto Spendenservice / Fundraising Department: Gabriel Achter, Anja Fennes, Katarina Krizanac, Mag. (FH) Bettina Nistler, Mag. Andrea Prantl (MA), Mag. Elisabeth Tax (MA) Wissenschaftskommunikation / Science Communication: Priv.-Doz. Dr. Barbara Brunmair (PhD, Assoc. Prof.)

In der FACS Core Unit wird von erfahrenen TechnikerInnen an drei Durchflusszytometern für 15- bis 20-Parameter-Zellanalysen eine Fülle an durchflusszytometrischen Analysen für die klinische Routine erstellt. Ganz wesentlichen Anteil an der technischen Einrichtung dieser Einheit hatte Dieter Printz, ein ob seiner langjährigen Erfahrung allseits geschätzter Experte.

Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf der Stammzelltransplantation. Diesbezüglich befasst sich die FACS Core Unit mit der Aufbereitung von Stammzellen, die darauf abzielt, das Risiko einer Immunreaktion der Spenderzellen gegen den Empfänger möglichst gering zu halten.

## Core Unit Bioinformatik

Angesichts der bei Studien, Tests und Laborreihen anfallenden Unmengen von Daten sind Big Data in der medizinischen Forschung längst nicht mehr nur ein Schlagwort. Um diese kümmert sich denn auch in einem weiteren maßgeblichen Bereich, der Core Unit Bioinformatik, das Team rund um Niko Popitsch. Dessen Hauptaufgabe besteht in der Analyse von molekularbiologischen Daten, also der Verknüpfung von Wissen über molekularbiologische Abläufe und biochemische Prozesse mit angewandter Informatik.

Die Core Unit Bioinformatik ist ebenfalls aus dem Institut nicht mehr wegzudenken, ist sie doch verantwortlich für die Verarbeitung aller genomischen Rohdaten aus den Next-Generation-Sequencing-Analysen des Forschungsinstituts und des St. Anna Kinderspitals; darüber hinaus werden in Kooperation mit anderen Gruppen des Instituts und externen Partnern Datenanalysen in Themenbereichen wie Transcriptomics und Epigenomics sowie translationale bioinformatische Forschungsprojekte durchgeführt.

Erst kürzlich wurde die Bioinformatik um eine Einheit erweitert, nämlich um die Gruppe Integrative Analyse mit Florian Halbritter an der Spitze. Hier werden sogenannte Multi-Omics-Analysen mit computergestützten, statistischen und maschinellen Lernmethoden kombiniert, um dem molekularen Aufbau von Krebs im Kindesalter auf den Grund zu gehen.

## Research Support Office

Sie mögen Labors und Mikroskope. Was sie nicht mögen, ist Papierkram, denn der lenkt sie nur von der Forschung ab – ForscherInnen sind ForscherInnen sind ForscherInnen! Weil aber an der bisweilen mühevollen und zeitaufwendigen Einwerbung von Drittmittelprojekten kein Weg vorbeiführt und Förderanträge präziser Konzepte bedürfen, wurde ein eigenes Research Support Office ins Leben gerufen, das den ForscherInnen diesbezüglich kompetent unter die Arme greift und gewährleistet, dass jährlich bis zu einem Drittel des Budgets der St. Anna Kinderkrebsforschung

cell measurements, allowing for a large amount of flow cytometric analyses for clinical routine. As for the technical organisation of the unit, a good deal of credit is due to Dieter Printz, whose many years of experience have made him a most valued expert.

Another focus is on the field of stem cell transplantation. In this regard, the FACS Core Unit is responsible for the preparation of stem cells with a view to minimise the risk of an immune reaction of the donor cells against the recipient.

## Bioinformatics Core Facility

Big Data is no longer just a slogan in medical research. Quite on the contrary, given the huge amount of data generated as a result of studies, tests and laboratory experiments. The evaluation of this data falls within the remit of Niko Popitsch's bioinformatics team, another important core unit. Their main task is to analyse molecular biological data, i.e., to combine knowledge about molecular biological processes and biochemical processes with applied computer science.

The Core Unit Bioinformatics is responsible for the processing of all genomic raw data from Next Generation Sequencing analyses conducted at both the research institute and St. Anna Children's Hospital. Other tasks include the analysis of data relating to topics such as transcriptomics, epigenomics, etc., as well as translational bioinformatics research in cooperation with other in-house groups and external partners.

The field of bioinformatics has recently been expanded to include another unit, the Integrative Analysis group led by Florian Halbritter. "Multi-Omics" analyses are combined with computational, statistical and machine learning methods to dissect the molecular framework of childhood cancer.

## Research Support Office

They like laboratories and microscopes. What they do not like is paperwork, as it only distracts them from research – that's how scientists are – and the preparation of high quality applications is very demanding and time-consuming. Even so, there is no escaping the need to acquire competitive grants – and funding applications have to be based on precise concepts. In matters like these, the researchers are provided competent support by a qualified Research Support Office. Up to one third of the institute's budget

über solche Projekte zustande kommt. Darüber hinaus unterstützt die Abteilung die ForscherInnen auch in Routineangelegenheiten wie dem Projektmanagement, der Dokumentation von Zwischenergebnissen und dem Monitoring des Projektverlaufs.

Die St. Anna Kinderkrebsforschung gehörte zu den ersten Institutionen in Österreich, die für die Einwerbung von Drittmitteln einen dauerhaften Support anboten, um die Annahmerate von Drittmittelprojekten zu steigern. Es ist daher nicht nur der ausgezeichneten Arbeit unserer ForscherInnen, sondern auch der maßgeblichen Unterstützung der Grant ManagerInnen des Research Support Office zu verdanken, dass die St. Anna Kinderkrebsforschung bei der Einwerbung von prestigeträchtigen Drittmittelprojekten sowohl national als auch international seit Langem in der höchsten Liga mitspielt. Mit der Führung dieser Einheit ist seit ihrer Gründung Nuno Andrade betraut, der aktuell von Caterina Barresi und Zoltan Dobai unterstützt wird.

## Wo die Fäden zusammenlaufen: das Institutssekretariat

Wer mit einem organisatorischen Problem nicht weiterkommt oder eine Information braucht, hat im Institut eine fixe Ansprechperson: Bei Marion Zavadil im Sekretariat laufen die Fäden zusammen. Sie weiß alles – und wenn nicht, weiß sie, wer es weiß. Zudem unterstützt sie WissenschaftlerInnen bei Reisen und organisiert Veranstaltungen, Seminare und Kongresse mit – und fungiert schließlich als eine wichtige Stimme nach außen.

## Spendenservice, PR & Kommunikation

Zu den vielen Besonderheiten, die die St. Anna Kinderkrebsforschung auszeichnen, zählt nicht zuletzt der Umstand, dass sich das Institut vorwiegend aus Spenden finanziert. International anerkannte Spitzenforschung auf universitärem Niveau und private Finanzierung – lässt sich das vereinen? Ja, sagt Lisa Huto, Leiterin des Bereichs Spenden, PR & Kommunikation. Gemeinsam mit ihrem Team bringt sie Jahr für Jahr die schier unglaubliche Leistung zustande, mindestens die Hälfte des Budgets der St. Anna Kinderkrebsforschung aus Spendengeldern von Privatpersonen und Unternehmen zu lukrieren. Benefizkonzerte, Events, Spendenübergaben, Mailings, Newsletter für treue Spender – diese und viele andere Aktivitäten gehören neben der Spendenadministration zu den Aufgaben des Teams, die allesamt auf viel persönlichem Engagement beruhen, denn die Wünsche und Bedürfnisse der Spender haben im Spendenbüro Priorität. Unsere Spender tun Gutes – und wir sagen Danke!

*is generated by such projects every year. In addition, the department aids the researchers in performing routine work such as project management, preparation of periodic reports and monitoring of the course of the project.*

*The Children's Cancer Research Institute was one of the first institutions of its kind in Austria to offer dedicated and permanent support in the acquisition of competitive grants in order to improve success rates. It is therefore not only thanks to the excellent work of our researchers, but also to the decisive support of the grant managers, that the Children's Cancer Research Institute has for a long time been playing in the highest league, both nationally and internationally, as regards the acquisition of highly respected public funding projects. Nuno Andrade has been in charge of this unit since its foundation and is currently supported by Caterina Barresi and Zoltan Dobai.*

## The secretary's office: a central hub of information

*Anyone facing an organisational problem or needing information has a contact person at the institute: Marion Zavadil from the secretary's office is where the threads come together. She knows everything – and if she does not, she knows who knows. In addition, she assists scientists with travel arrangements and co-organises events, seminars and congresses – and last but not least she acts as an important mouthpiece on behalf of the institute.*

## Fundraising, PR & Communication

*One of the many special features characterising the Children's Cancer Research Institute is that it is mainly funded by donations. Internationally recognised world-class research at university level and private funding – can this be combined? Certainly, says Lisa Huto, head of Fundraising, PR & Communication.*

*It is thanks to the outstanding, tireless efforts of Lisa and her team that at least half of the institute's annual budget is generated in the form of donations from private individuals and companies. Benefit concerts, events, donations, mailings, newsletters for loyal donors – these are just some of the tasks that fall within the donation service's area of responsibility in addition to donation administration. But above all, it takes a high degree of personal commitment, because the wishes and needs of the donors have priority in the fundraising office. Our donors do good – and we say thank you!*

Neben einem perfekt abgestimmten Marketingkonzept und umfassender PR-Arbeit ist die Wissenschaftskommunikation der Grundpfeiler für die Vermittlung von Forschungsergebnissen an die breite Öffentlichkeit.

## Kaufmännischer Support und Verwaltung

Die diversen sonstigen Aufgaben, die der professionelle Betrieb eines Forschungsinstituts mit sich bringt, sind in der von Jörg Bürger geleiteten kaufmännischen Verwaltung zusammengefasst. Dazu zählen die Bereiche Facility Management, Controlling, Rechnungswesen, Personal, EDV-Services, Quality Management und Rechtsangelegenheiten. Der kaufmännischen Verwaltung obliegt auch die Abwicklung von Verlassenschaften und Schenkungen, die einen wesentlichen und wachsenden Anteil der Einnahmen der St. Anna Kinderkrebsforschung ausmachen.

## EDV Support Services

Damit Big Data in vollem Umfang genutzt werden kann, bedarf es einer zuverlässig funktionierenden IT-Struktur, und darum bemüht sich Lukas Schneider mit seinem Team. Sollte einmal doch ein Problem auftreten – womit angesichts der kontinuierlich wachsenden Mengen von Daten und Programmen ja immer wieder gerechnet werden muss –, ist das St. Anna EDV-Team stets rasch zur Stelle, um es zu beheben. Dabei setzt der Umgang mit den in der Krebsforschung benötigten diversen Schnittstellen und Spezialanforderungen ein besonderes Maß an Flexibilität, Einfallsreichtum und volles Engagement voraus – alles Eigenschaften, die das Team um Lukas Schneider in der Tat einbringt. Für den verantwortungsvollen Umgang mit allem, was mit dem sensiblen Thema Daten zusammenhängt, sorgt Navid Kamaleyan, der Datenschutzbeauftragte im EDV-Team.

## Qualitätsmanagement

Über die Einhaltung aller aus behördlichen Vorschriften, Gesetzesvorgaben und internationalen Standards resultierenden Qualitätsanforderungen wachen Beate Avanesian und Sandra Ehrenhofer-Weinzettl in ihrer Funktion als Qualitätsmanagerinnen; darüber hinaus umfasst ihr Aufgabengebiet die laufende Analyse und Optimierung von wichtigen Prozessen. Gerade die Rolle der St. Anna Kinderkrebsforschung als nationaler und internationaler Sponsor in klinischen Studien macht ein gut strukturiertes, unabhängiges Qualitätsmanagement im Dienste der „Good Clinical Practice (GCP)“ unabdingbar. Zu den Arbeitsschwerpunkten des QM der letzten Jahre zählten die Zertifizierung

*In addition to a perfectly coordinated marketing concept and comprehensive public relations work, science communication is crucial for communicating research results to the general public.*

## Financial Support and Administration

*The professional operation of a research institute involves a number of various task areas, which are concentrated in the Financial Support and Administration unit headed by Jörg Bürger and include Facility Management, Controlling, Accounting, Human Resources Management, IT Services, Quality Management and legal matters. In addition, the unit handles the processing of inheritances and bestowals, which account for a significant and growing proportion of the income of the Children's Cancer Research Institute.*

## IT Service

*The optimal exploitation of Big Data heavily depends on a functioning IT structure. And with requirements increasing as a result of the growing amount of both data and programmes, everything has to work even more reliably. This is what Lukas Schneider and his team take care of. And in case something does not work as it is supposed to, the St. Anna IT team will be on the scene in an instant to solve the problem. Indeed, it takes a great deal of flexibility, ingenuity and commitment on the part of Lukas Schneider's team, given the host of interfaces and special needs involved in cancer research. The careful handling of all data-related issues is guaranteed by Navid Kamaleyan, the data protection officer in the IT team.*

## Quality Management

*As quality managers, Beate Avanesian and Sandra Ehrenhofer-Weinzettl supervise the compliance with quality requirements. In addition to ensuring compliance with official regulations, legal requirements and international standards, their scope of tasks also includes the ongoing analysis and optimisation of important processes. Given the Children's Cancer Research Institute's role as a national and international sponsor for clinical studies, a well-structured, independent quality management adhering to the highest levels of Good Clinical Practice (GCP) is indispensable. In recent years, the main activities of the QM have been directed towards the ISO 9001 certification of the non-profit*

der gemeinnützigen Diagnostiktochter Labdia Labordiagnostik GmbH nach ISO 9001 sowie die laufende Unterstützung von spezialisierten medizinisch-diagnostischen Laboreinheiten in der „Good-Manufacturing-Practice(GMP)“-konformen Arzneimittelproduktion. Ein weiteres wesentliches Element des Aufgabenbereichs des QM ist die kontinuierliche Zusammenarbeit mit Behörden und Zertifizierungsstellen.

## **Gebäudemanagement**

Komplexe Forschungsprojekte, wie sie in der St. Anna Kinderkrebsforschung durchgeführt werden, sind ganz besonders auf eine stabile und zuverlässige Gebäudeinfrastruktur angewiesen – etwa im Hinblick auf ein einheitliches Klima und konstante Temperaturen –, die noch dazu wachsenden behördlichen Auflagen genügen muss. So gilt es, Tag für Tag mehrere Tausend Quadratmeter im Forschungsgebäude mit seinen spezifischen Anforderungen und fast ebenso viel an Bürofläche zu betreuen und zu versorgen. Diese Aufgabe liegt in den Händen des routinierten Teams um Klaus Kienzer, das sich auch regelmäßig um die Behebung von kleineren und größeren Problemen kümmert.

## **Rechnungswesen, Controlling und Personalverwaltung**

Von der Budgetierung des Mitteleinsatzes über die laufende Buchhaltung bis zur Abwicklung des Zahlungsverkehrs und Erstellung des Rechnungsabschlusses – die kompetenten MitarbeiterInnen des Rechnungswesens wie Alexandra Lidy achten darauf, dass Spendenmittel möglichst effizient, effektiv und sparsam verwendet werden, sodass die St. Anna Kinderkrebsforschung auch weiterhin in der Lage ist, mehr als 90 Prozent der Zuwendungen direkt dem Kampf gegen den Kinderkrebs zu widmen. Die KollegInnen vom Controlling wiederum kümmern sich nicht nur um die zeitnahe Steuerung von Forschungsausgaben im Soll-Ist-Vergleich, sondern auch um die effiziente Verwaltung von Drittmitteln und die Unterstützung der ProjektleiterInnen in allen finanziellen Fragen. Dass die GruppenleiterInnen über alle finanziellen Entwicklungen stets bestens informiert sind, dafür sorgt Amelie Szalony. In der Personalverwaltung schließlich ist mit Caroline Schmid eine Mitarbeiterin zugegen, die in allen Belangen – von der Rekrutierung von SpitzenforschernInnen über die laufende Personalverrechnung bis hin zur Abwicklung aller administrativen Personalagenden – seit Jahren konsequente Unterstützung leistet.

*diagnostics subsidiary Labdia Labordiagnostik GmbH, as well as the ongoing support of specialised medical-diagnostic laboratory units in the pharmaceutical production according to Good Manufacturing Practice (GMP). Ongoing cooperation with authorities and certification bodies rounds off the QM's range of tasks.*

## **Facility Management**

*Complex research projects of the kind conducted at the St. Anna Children's Cancer Research Institute need a standardised, stable and reliable infrastructure – for example to maintain uniform climate and temperature conditions –, which, in addition, must comply with growing regulatory requirements. For Klaus Kienzer's team this means looking after and serving, on a daily basis, several thousand square metres of laboratory space with specific requirements and nearly the same amount of office space, and regularly solving problems big and small.*

## **Accounting, Controlling and Human Resources Management**

*Whether in relation to the budgeting of funds, the ongoing bookkeeping, the handling of payment transactions or the preparation of balance sheets, the competent accounting staff – among them Alexandra Lidy – ensure that resources are always used in the most efficient, effective and economical manner, thus guaranteeing that more than 90 percent of the donations collected by St. Anna Children's Cancer Research Institute are dedicated directly to the fight against childhood cancer. The tasks of monitoring research expenditures through target/actual comparison, managing third-party funds and providing support to project managers in all financial matters are most efficiently carried out by the controlling department, where Amelie Szalony, moreover, sees to it that the group leaders are always well informed about all financial developments. Finally, the entire range of human resource matters – from the recruitment of top researchers, ongoing payroll accounting down to the handling of all administrative personnel agendas – has for years been in the best of hands with Caroline Schmid.*

# Zusammenarbeit

## Cooperations

### Nationale und Internationale Kooperationen / National and International Cooperations

A & P Kyriakou Children's Hospital, Athens, Greece

A.O. San Gerardo di Monza, Italy

Aarhus Universitetshospital, Denmark

Academisch Medisch Centrum Amsterdam, Netherlands

Academisch Ziekenhuis Leiden –

Leids Universitair Medisch Centrum, Netherlands

Acibadem University Atakent Hospital, Istanbul, Turkey

Addenbrooke's NHS Trust, Cambridge, UK

AGEA Pharma GmbH, Vienna, Austria

Aghia Sophia Children's Hospital, Athens, Greece

AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica), BFM

AIT Austrian Institute of Technology GmbH, Austria

Akdeniz University School of Medicine, Antalya, Turkey

Alberta Children's Hospital, Calgary, Canada

Alder Hey Children's Hospital, Liverpool, UK

Alleanza Contro il Cancro – Network of Comprehensive Cancer Institutes, Italy

Allgemeines Krankenhaus Wien (AKH), Vienna, Austria

Amgen, Vienna, Austria

Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

A.O.R.N. Santobono-Pausilipon, Napoli, Italy

Apeiron Biologics AG, Vienna, Austria

Asociación Pulseras Candela, Barcelona, Spain

Asserta Global Healthcare Solutions, Sant Quirze del Vallès, Spain

Association Hospitaliere de Bruxelles, Belgium

Austrian Academy of Science, Ce-M-M –

Research Center for Molecular Medicine, Vienna, Austria

Azienda Ospedaliera Universitaria di Modena, Italy

Azienda Ospedaliera A. Meyer, Firenze, Italy

Azienda Ospedaliera di Cosenza, Italy

Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma-Oncoematologia Pediatrica, Italy

Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Italy

Azienda Ospedaliero-

Universitaria Policlinico, Bologna, Italy

Bahcelievler Medicalpark Hospital, Istanbul, Turkey

Bahcesehir University School of Medicine, Turkey

Barts: St Bartholomew's Hospital, London, UK

Bayer AG, Germany

BC Children's Hospital, Vancouver, Canada

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Birmingham Children's Hospital, UK

Bnei Zion Hospital, Israel

Boyne Research Institute, Washington, USA

Bristol Royal Hospital for Children, UK

Cancer Care Manitoba/University of Manitoba, Canada

Carlos Haya Hospital, Malaga, Spain

Carpemedia GbR, Innsbruck, Austria

Casa Sollievo della Sofferenza Hospital, San Giovanni Rotondo, Italy

Celgene, Vienna, Austria

Center for Public Health Genomics, University of Virginia, USA

Center for Advanced Bioanalysis (CBL), Linz, Austria

Centre Anticancereux Leon Berard, Lyon, France

Centre Antoine Lacassagne Nice, France

Centre Hospitalier Angers, France

Centre Hospitalier Regional

Universitaire De Besancon, France

Centre Hospitalier Universitaire Bordeaux, France

Centre Hospitalier Universitaire Clermont-Ferrand, France

Centre Hospitalier Universitaire de Liège, France

Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, France

Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, France

Centre Hospitalier Universitaire Dupuytren

Limoges, France

Centre Hospitalier Universitaire Grenoble, France

Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, France

Centre Hospitalier Universitaire Morvan de Brest, France

Centre Hospitalier Universitaire Nancy, France

Centre Hospitalier Universitaire Nord d'Amiens, France

Centre Hospitalier Universitaire Rouen, France

Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine,

Montreal, Canada

## Nationale und Internationale Kooperationen / National and International Cooperations

Centre Hospitalier Universitaire Strasbourg, France	European Reference Network for Paediatric Oncology (ERN-PaedCan) Consortium Members
Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, France	Evercyte GmbH, Vienna, Austria
Centre Hospitalier Universitaire-Saint Etienne, France	EWOG-MDS (European Working Group of MDS and JMML in Childhood)
Centre Oscar Lambret de Lille, France	Experimental Pharmacology and Oncology Berlin-Buch GmbH, Germany
Charité - University Medicine Berlin, Germany	F. D. Roosevelt University Hospital in Banská Bystrica, Slovakia
Charles University, Prague, Czech Republic	Fakultni Nemocnice V Motole, Prague, Czech Republic
Children's Hospital in Chorzów, Poland	Fondazione IRCCS - Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, Italy
Children's Hospital Linköping, Sweden	Fondazione MBBM, Monza, Italy
Children's Hospital Mitera, Athens, Greece	Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e. V., Germany
Children's Hospital Westmead, Sydney, Australia	Fundacio Privada Centre de Regulacio Genomica, Barcelona, Spain
Children's Memorial Health Institute, Warsaw, Poland	Fundacion de Investigacion Del Cancer de la Universidad de Salamanca, Spain
Children's University Hospital Krakow, Poland	Fundación María Cecilia, Buenos Aires, Argentina
CHR de la Citadelle, Liege, Belgium	Fundación Natalí Dafne Flexer, Buenos Aires, Argentina
CHR Hôpital Sud de Rennes, France	Fundacion para la Investigacion del Hospital Universitario La Fe de la Comunidad Valenciana, Spain
CHR Pellegrin, France	Fundacion Perez Scremini, Montevideo, Uruguay
Christchurch Hospital, New Zealand	Fyziologicky Ustav Akademie Ved Ceske Republiky Verejna Vyzkumna Instituce (Vvi), Czech Republic
Christian-Albrecht-Karls-University, Kiel, Germany	Genedata, Munich, Germany
Clc Bio A/S, Aarhus, Denmark	Ghent University, Belgium
CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague	Glasgow Royal Hospital for Sick Children, UK
CogVis Software und Consulting GmbH, Vienna, Austria	Goethe-University, Frankfurt/Main, Germany
Complejo Hospitalario de Jaen, Spain	GOSH Great Ormond Street Hospital, London, UK
Consorzio Interuniversitario CINECA, Italy	GPOH - Gesellschaft für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie GmbH, Berlin
Cooperative Weichteilsarkom (CWS) Study Group	Grupo Español De Investigación En Sarcomas, Spain
Dana Children's Hospital, Tel Aviv, Israel	Gülhane Training and Research Hospital, Ankara, Turkey
DCOG - ECTC (Dutch Childhood Oncology Group - Early Clinical Trial Consortium)	Hadassah University Hospital, Jerusalem, Israel
Department of Pediatrics, The University of Chicago, USA	Hamburg / Freiburg, Studiengruppe für Hämophagozytische Lymphohistiozytose, Germany
Department of Pediatrics, UHC Zagreb, Croatia	Hanusch Krankenhaus, Vienna, Austria
Deutsches Kinderkrebsregister Mainz, Germany	Haukeland University Hospital, Bergen, Norway
Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ, German Cancer Research Center ) Heidelberg, Germany	Histiozytosehilfe e. V, Germany
Dmitry Rogachev Research and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia	Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland
Dokuzeylul University School of Medicine, Izmir, Turkey	Hôpital Americain de Reims, France
EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation)	Hôpital Clocheville de Tours, France
ECHO (European Consortium for Histiocytosis)	Hôpital de L'Archet Nice, France
ECRM Foundation, Hartley Wintney, UK	Hôpital de Lenval Nice, France
Edinburgh Royal Hospital for Sick Children, UK	Hôpital D'Enfants de Toulouse, France
Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey	Hôpital d'Enfants Dijon, France
Eli Lilly and Co., Indianapolis, USA	
Emc Microcollections GmbH, Tübingen, Germany	
Erasmus Medical Centre, Rotterdam Netherlands	
Erciyes University School of Medicine, Kayseri, Turkey	
European Bioinformatics Institute, Cambridge, UK	
European Organisation For Research and Treatment of Cancer, Brussels, Belgium	

**Nationale und Internationale Kooperationen / National and International Cooperations**

Hôpital d'Enfants Jeanne de Flandres Lille, France	Hospital Xeral Cies, Vigo, Spain
Hôpital des Enfants Brussels, Belgium	Immunomedics Inc. Corporation, New Jersey, USA
Hôpital Hautepierre-CHU Strasbourg, France	Impuls Bildanalyse GmbH, Türkheim, Germany
Hôpital Jean Bernard La Miletrie Poitiers, France	Informations- und Kommunikationsgesellschaft mbH, Neubrandenburg, Germany
Hôpital Necker, Paris, France	Innovative Therapies for Children with Cancer Consortium (ITCC)
Hôpital Trousseau Paris, France	Inselspital Bern, Switzerland
Hôpital Universitaire Des Enfants Reine Fabiola, Brussels, Belgium	INSERM U830, Laboratoire de Génétique et Biologie des Cancers, Paris, France
Hôpitaux de Marseille La Timone, France	Institut Curie, France
Hospital Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Spain	Institut Gustave Roussy, France
Hospital 12 de Octubre, Spain	Institute of Biomedicine of Sevilla (IBiS), Spain
Hospital Central de Asturias, Spain	Institute Mother and Child, Warsaw, Poland
Hospital de Cruces Bilbao, Spain	Institute of Cancer Research (ICR) and The Royal Marsden Hospital, London, UK
Hospital de Donostia Ntra. Sra. de Aranzazu, Spain	Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Brazil
Hospital de Niños Dr. Roberto del Río Independencia, Santiago de Chile	Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil, EPE, Portugal
Hospital de Pediatria samic Professor Dr Juan P Garrahan, Buenos Aires, Brazil	Instituto Ricardo Jorge, Portugal
Hospital de Sabadell, Spain	International Agency for Research on Cancer (IACR), Lyon, France
Hospital General de Albacete, Spain	Ippokrateion Hospital, Athens, Greece
Hospital General de Alicante, Spain	Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy
Hospital General de Galicia, Spain	Istituto Nazionale Tumori di Milano, Italy
Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain	Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna, Italy
Hospital Gregorio Marañon, Madrid, Spain	Istituto per l'Infanzia „Burlo Garofolo“, Trieste, Italy
Hospital Hotel Dieu de Clermont-Ferrand, France	Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy
Hospital Infantil La Paz, Bolivia	John Hunter Children's Hospital, New Lambton Heights, Australia
Hospital Materno Infantil de Badajoz, Spain	John Radcliffe Hospital, Oxford, UK
Hospital Materno Infantil Teresa Herrera, Spain	Kantonspital Aarau, Switzerland
Hospital Materno Infantil Virgen de las Nieves, Granada, Spain	Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden
Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spain	Kepler Medical University Linz, Austria
Hospital Montepincipe, Madrid, Spain	King's College London, UK
Hospital Nino Jesus, Madrid, Spain	Klinikum Dortmund GmbH, Germany
Hospital Ramon y Cajal, Spain	Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan
Hospital Reina Sofia, Madrid, Spain	Landes-Kinderklinik Linz, Austria
Hospital San Rafael, Madrid, Spain	Landeskrankenhaus Klagenfurt, Austria
Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, Spain	Landspítali University Hospital Reykjavik, Iceland
Hospital Sant Pau, Spain	Leicester Royal Infirmary, UK
Hospital São João, Portugal	Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden, Netherlands
Hospital Son Dureta, Spain	Llandough Hospital, Cardiff, Wales
Hospital Torrecardenas, Spain	London Institute of Medical Sciences, UK
Hospital U MaternoInfantil Las Palmas, Spain	Ludwig Boltzmann Institute for Cancer Research, Vienna, Austria
Hospital Universitario de Canarias, Spain	Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, Vienna, Austria
Hospital Universitario de la Candelaria, Tenerife, Spain	Ludwig Maximilian Universität München, Germany
Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain	
Hospital Virgen de la Macarena, Spain	
Hospital Virgen de la Salud, Spain	
Hospital Virgen del Camino, Spain	



## Nationale und Internationale Kooperationen / National and International Cooperations

Luzerner Kantonspital - Kinderspital Luzern, Switzerland

Madarász Children Hospital Budapest, Hungary

Markusovszky Kórház, Szombathely, Hungary

Mattes Medical Imaging, Hagenberg, Austria

Max Planck Institute for Informatics, Saarland

Informatics Campus, Saarbrücken, Germany

Max F. Perutz Laboratories, Vienna, Austria

Max Planck Institut Heidelberg, Germany

Medical University of Graz, Austria

Medical University Hannover, Germany

Medical University of Bialystok, Poland

Medical University of Bydgoszcz, Poland

Medical University of Gdansk, Poland

Medical University of Innsbruck, Austria

Medical University of Lodz, Poland

Medical University of Lublin, Poland

Medical University of Vienna, Austria

Microdimensions GmbH, Munich, Germany

Middlesex Hospital, UK

Mitera Hospital, Athens, Greece

Molzym GmbH & Co. KG, Bremen, Germany

Monash University Melbourne, Australia

Morphisto Evolutionsforschung und Anwendung GmbH,  
Frankfurt, Germany

Muhimbili National Hospital Paediatric Oncology,  
Dar es Salaam, Tanzania

Nagoya Medical Center, National Hospital Organization,  
Aichi, Japan.

National Center for Child Health and Development,  
Tokyo, Japan.

Nikolas Symposium, Athens, Greece

NOPHO Society of Paediatric Haematology and Oncology

Northern Genetics Service, Newcastle upon Tyne,  
United Kingdom

Northern Institute for Cancer Research,  
University of Newcastle

Novartis Pharma GmbH, Basel, Switzerland

O.I.R.M. - S. Anna, Torino, Italy

Oncotest GmbH, Freiburg, Germany

Oslo University Hospital Rikshospitalet, Oslo, Norway

Ospedale Infermi Rimini, Italy

Ospedale Civile Spirito Santo, Pescara, Italy

Ospedale dei Bambini, Palermo, Italy

Ospedale G. Salesi, Ancona, Italy

Ospedale Infantile C. Arrigo, Alessandria, Italy

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy

Ospedale Regionale per le Microcitemie, Cagliari, Italy

Ospedale S. Giovanni, Bellinzona, Switzerland

Ospedale S. Orsola, Bologna, Italy

Ospedali Riuniti, Ancona, Italy

Österreichische-Kinder-Krebs-Hilfe, Vienna, Austria

Ostschweizer Kinderspital, Switzerland

Our Lady's Children's Hospital Dublin, Ireland

Padres de Ninos Con Cancer Asociacion, Spain

Paracelsus Medical University Salzburg, Austria

Pediatric Hospital „Prof. Dr. Juan P. Garrahan“,  
Buenos Aires, Brazil

Pfizer Inc., New York, USA

PharmaMar, Vienna, Austria

Pitman, Histiocyte Society, USA

Platomics GmbH, Vienna, Austria

Policlinico Borgo Roma, Italy

Policlinico San Matteo, Italy

Policlinico Universitario, Italy

Population Genetics Technologies Ltd, Cambridge, UK

Prinses Maxima Center for Pediatric Oncology,  
Utrecht, Netherlands

Queen's Medical Centre Nottingham, UK

Rare Histicytoses Steering Committee, Toronto, Canada

Research Institute of Molecular Pathology (IMP),  
Vienna, Austria

Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

Royal Aberdeen Children's Hospital, UK

Royal Belfast Hospital for Sick Children, Northern Ireland

Royal Manchester Childrens Hospital, UK

Royal Marsden Hospital Surrey, UK

Royal Marsden Hospital, Sutton, UK

Royal Victoria Infirmary, Newcastle, UK

Sackler School of Medicine, Tel Aviv University

Santobono-Pausilipon, Naples, Italy

Sarcoma Patients Euronet e.V., Wölfersheim, Germany

Schneider Children's Medical Center, Petah Tikva, Israel

Seattle Children's Hospital and University of  
Washington School of Medicine, Seattle, USA

Sec. Univ. degli Studi di Napoli - Policlinico, Italy

Semmelweis University of Budapest, Hungary

Sheffield Children's Hospital, UK

SIOP Europe, Brussels, Beldium

SIOPEN Biology Group

SIOPEN International Collaboration  
for Neuroblastoma Research

SIOP-RTSG (Renal Tumour Study Group)

Skejby Hospital, Aarhus, Denmark

Software Competence Center Hagenberg GmbH, Austria

Soroka Medical Center, Beer Sheva, Israel

Southampton General Hospital, UK

Spedali Civili Brescia, Italy

St James's University Hospital, Leeds, UK

## Nationale und Internationale Kooperationen / National and International Cooperations

St. Johanns Spital LKH Salzburg, Austria	University Children's Hospital Geneva, Switzerland
St. László Hospital Budapest, Hungary	University Children's Hospital Ljubljana, Slovenia
St. Olavs Hospital Trondheim, Norway	University College London, UK
Stichting Katholieke Universiteit, Nijmegen, Netherlands	University Hospital Center of Caen, France
Stockholms Universitet, Sweden	University Hospital Gent, Belgium
Studiengruppe Langzeitbeobachtung nach onkologischer Erkrankung Bonn, Germany	University Hospital of Heraklion, Greece
Szegedi Tudományegyetem, Hungary	University Hospital of North-Norway
Tata Medical Centre, Rajarhat Kolkata, India	University Hospital of Odense, Denmark
Technical University Munich, Germany	University Hospital Schleswig Holstein, Germany
Technical University Vienna, Austria	University of Bern, Switzerland
Tesaro Bio Austria GmbH	University of Birmingham, UK
The Chaim Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel	University of British Columbia, USA
The Children's Hospital of Philadelphia, USA	University of Debrecen, Hungary
The Royal Children's Hospital Melbourne, Australia	University of Edinburgh, UK
The University of Manchester, UK	University of Gothenburg, Sahlgrenska University Hospital, Göteborg, Sweden
Tp21 GmbH, Berlin, Germany	University of Graz, Austria
Universidad Complutense de Madrid, Spain	University of Hong Kong
Università degli studi di Bari, Italy	University of Leeds, UK
Università degli Studi di Padova, Italy	University of Lund, Sweden
Università di Milano-Bicocca, Monza, Italy	University of Medical Sciences Poznan, Poland
Università di Pisa, Italy	University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna
Università di Torino, Italy	University of New South Wales, Sydney, Australia.
Università di Siena, Italy	University of Newcastle, UK
Universitaetsmedizin Goettingen - Georg-August-Universitaet Goettingen - Stiftung Oeffen, Germany	University of Pécs, Hungary
Universitair Ziekenhuis Brussel, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium	University of Sheffield, UK
Universitäts-Kinderspital beider Basel, Switzerland	University of Szeged, Hungary
Universitätsklinikum Bonn, Germany	University of Tampere, Finland
Universitätsklinikum Düsseldorf, Germany	University of Tuzla, Bosnia and Herzegovina
Universitätsklinikum Erlangen, Germany	University of Valencia-INCLIVA, Valencia and CIBERONC, Madrid, Spain
Universitätsklinikum Essen, Germany	University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria
Universitätsklinikum Freiburg, Germany	University of Vienna, Austria
Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Germany	University of Zürich, Children's Hospital, Switzerland
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Germany	Uniwersytet Medyczny im. Piastów Slaskich we Wrocławiu, Poland
Universitätsklinikum Münster, Germany	Uppsala Academic Hospital, Sweden
Universitätsklinikum Regensburg, Germany	UZ Gasthuisberg, Leuven, Belgium
Universitätsklinikum Tübingen, Germany	Varsinais-Suomen Sairaanhoidopiirin Kuntayhtymä, Finland
Universitätsmedizin Greifswald, Germany	VRVis Zentrum für Virtual Reality und Visualisierungs-GmbH, Vienna, Austria
Universitätsmedizin Leipzig, Germany	Westfaelische Wilhelms-Universitaet Münster, Germany
Universitätsmedizin Mainz, Germany	Xclinical GmbH, Munich, Germany
Université Paris Diderot, France	XenTech SAS, Evry, France

## Danksagung | Acknowledgments

- 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 Kinderspitals | All employees of St. Anna Children's Hospital
- Bezirksorganisation Alsergrund | District organisation Alsergrund
- Bundesministerium für Arbeit, Soziales, Gesundheit und Konsumentenschutz | Federal Ministry of Labour, Social Affairs, Health and Consumer Protection
- Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung (BMBWF) | Federal Ministry of Education, Science and Research (BMBWF)
- Bundesministerium für Gesundheit und Frauen | Federal Ministry for Health and Women
- Bundesministerium für Inneres | Federal Ministry of the Interior
- Dachverband der Österreichischen Kinderkrebshilfe | Umbrella Organisation of the Austrian Children's Cancer Charity
- Deutsches Krebsregister Universität Mainz | German Cancer Registry, University of Mainz
- Donau Forum Druck Ges.m.b.H.
- 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
- 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
- Ingrid Shaker Nessmann Krebsforschungsvereinigung | Ingrid Shaker Nessmann Cancer Research Association
- Kapsch AG | Kapsch AG
- Kinder-Krebs-Hilfe, Elterninitiative für krebskranke Kinder | Kinder-Krebs-Hilfe, Parents' initiative for children with cancer
- Liddy Shriver Sarkom Initiative | The Liddy Shriver Sarcoma Initiative
- 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
- Nationale und internationale Medienpartner | National and international media partners
- Novartis Pharma Österreich GmbH | Novartis Pharma Austria GmbH
- 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 Rotes Kreuz, Landesverband Wien | Austrian Red Cross, Vienna Regional Association
- Österreichisches Stammzell-Register | Austrian Stem Cell Register
- 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
- Alle Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen der St. Anna Kinderkrebsforschung | All employees of the St. Anna Children's Cancer Research Institute
- Alle Vereins- und Vorstandsmitglieder | All association and board members

# Impressum

## Herausgeber / Editor:

St. Anna Kinderkrebsforschung  
St. Anna Children's Cancer Research Institute  
Zimmermannplatz 10, 1090 Wien / Vienna  
[www.kinderkrebsforschung.at](http://www.kinderkrebsforschung.at)  
[science.ccri.at](mailto:science.ccri.at)

## Mitverantwortlich für den Inhalt / Jointly responsible for the content

Assoc. Prof. Peter F. Ambros, PhD  
Jörg Bürger, MSc, MBA  
Martin Distel, PhD  
Assoc. Prof. Michael Dworzak, MD  
Prof. Gerhard Fritsch, PhD  
Assoc. Prof. René Geyeregger, PhD  
Prof. Oskar Haas, MD  
Prof. Wolfgang Holter, MD  
Caroline Hutter, MD, PhD  
Prof. Heinrich Kovar, PhD  
Prof. Ruth Ladenstein, MD, MBA, cPM  
Prof. Thomas Lion, MD, PhD, MSc  
Prof. Renate Panzer-Grümayer, MD  
Sabine Strehl, PhD

## Projektleitung / Project management

Lisa Huto

## Projektbegleitung / Project support:

Priv.-Doz. Dr. Barbara Brunmair

## Kontakt / Contact

Marion Zavadil  
[Marion.zavadil@ccri.at](mailto:Marion.zavadil@ccri.at)

## Quellen und Bildnachweise / Picture credits:

Cover / Icon: René Gatti  
Page 10: Portrait Wolfgang Holter, Ian Ehm  
Page 12: Helmut Gadner, St. Anna Kinderspital  
Page 14: Portrait Heinz Fischer, Photo Simonis  
Page 16: Portrait Michael Ludwig, Stadt Wien/PID, Jobst  
Page 17: Portrait Markus Müller, Medizinische Universität Wien /Matern  
Page 18: Portrait Reinhard Krepler, M. Hechenberger  
Page 76, 77: CCRI  
Alle weiteren Bilder / all further pictures: Ian Ehm

Creative Director, Projektleitung VGN /  
Creative Director, Project Management VGN  
Gabriele Rosenzopf MSc

## Layout / Layout

Mag. Erwin Edtmayer (Producer)  
René Gatti

## Autor / Author

Alwin Schönberger

## Fotograf / Photographer

Ian Ehm

## Übersetzung / Translation

Mag. Roswitha Fraller  
Megan Gronau (forewords)

## Lektor / Lecturer

Mag. Roswitha Fraller

## Produktion / Production

Martina Höttinger (Leitung / Head: Sabine Stumvoll)

## Lithographie / Lithography

Neue Medientechnologie GmbH  
(Leitung / Head: Günter Tschernitz)

## Verlag / Publishing house

Dieses Buch wurde im Auftrag der St. Anna  
Kinderkrebsforschung von Content Marketing & Corporate  
Editing/VGN gestaltet und produziert (Leitung Content  
Marketing: Mag. Sabine Fanfule, MBA).

This book was commissioned by St. Anna Children's  
Cancer Research Institute and designed and produced  
by Content Marketing & Corporate Editing/VGN  
(Head of Content Marketing: Sabine Fanfule, MBA).

## Druck / Print shop

Donau Forum Druck Ges.m.b.H.,  
Walter-Jurmann-Gasse 9, 1230 Wien

## 1. Auflage 2018 / 1st Edition 2018

Copyright 2018 St. Anna Kinderkrebsforschung, Wien  
Alle Rechte sind vorbehalten.

Copyright 2018 St. Anna Children's Cancer  
Research Institute, Vienna. All rights reserved.



LETH Monika • MMag. LETTNER Christina • LEWIS Ludmila • LIDY Alexandra •  
Univ.-Prof.DDr. LION Thomas MSc • LOBINGER Daniela • LOCSMANDI Silvana •  
Dr. LOIBNEGGER Melanie • LOIDL Cornelia BSc • Dr. LORENZ Viktoria • LOZNICA Salih •  
Dr. LUDWIG Stephanie • Dr. LÜFTINGER Roswitha • LUNACEK Andrea • LUTTENBERGER Jana •  
LUX Gabriele • MACEK Eduard • Dr. MAI Sören • MAJDIAKOVA Angelika • Mag. MALETIC Marica •  
MALLY Romana • Mag. MANGALATH Nisha • Univ.-Doz.Dr. MANN Georg • MANTLIK Angelika •  
MARILLAC VON DE ST.JULIEN Tobias • MARINGER Carina • MARINGER Alexandra •  
MARINOVIC Marica • MARTIS Cecilia-Georgeta • MARTON Virag • Dr. MATIQI Teresa •  
Univ.-Doz.Dr. MATTHES-LEODOLTER Susanne • MAURER Verena •  
MAURER-GRANOFSZKY Margarita PhD • MAYER Anna Maria BSc • MAYERHOFER Doris •  
MAYER-ILCK Bettina BSc • MAYERL Susanne • Dipl. Ing. MECKLENBRÄUKER Astrid • MELCHART Karin •  
Dr. METZLER Vera • Dr. MICHALSKI Jana • MICK Melitta • MIHAJLOVIC Senad • MIKIC Jelena •  
MIKLOS Nikolette • MIKLOSOVICOVA Jana • MIKOLASEK Andrea • MILICIC Gordana •  
MILJKOVIC Sandra • MILLESCHITZ Natascha • MILOSEVIC Sladjana • MILOSEVIC Ljubisa •  
Univ.-Prof. Dr. MINKOV Milen • Dr. MITTHEISZ Edda • MODARRES Gerda MSc • MOHIDEEN Mazeena •  
MOOSBAUER Heidemarie • Dr. MOR Wolfgang • MORELLI Luisa • MÖRTL Monika • MOSER Sandra •  
Ing. MÜHLBACHER Karin • Mag. MÜHLEGGGER Nora • MÜLLER Tanja • Dr. MÜLLNER Michaela •  
MUTILOVIC Suzana • MUYAN Hüseyin • MUYAN Hidir • Dr. NAGEL Thomas MSc • Dr. NAGY Orsolya •  
NAGY-SYMJN Isabella • NAKE Verena • NASAUDEANU Sabina • Dr. NEBRAL Karin •  
NEGROJEVIC Radmila • Mag. NEUDORFER Julia • NEULINGER Michaela • NEUMANN Fabian •  
Mag. NEUSSL Sandra • NIRTL Nadine MSc • Mag(FH) NISTLER Bettina • NOCKER Bettina •  
NOORIZADEH Rahil MSc • NOSKO Eva BScN • NOVOTNY Robert • Dr. NOWAK Martina • NOWAK Ewa •  
NOWORYTA Karoline BSc, MPH • NUSSBAUMER Andre • NYKIEL Marek • Mag. OBERLERCHNER Claudia •  
OKERMÜLLER Sabine • OSTERHAMMER Claudia • Dr. PAJPACH Miriam • PAJVOT Nada •  
Univ.-Prof. Dr. PANZER-GRÜMAYER Renate • Dr. PAPP Edit • PASCOAL Susana PhD •  
Dr. PASTER Wolfgang • PAVICSITS Monika • PAVLÁSEK Sabine • Dr. PAVLIKOVA Alzbeta •  
PAVLOVIC Sladjana • PENEDER Peter BSc • PERL Marianne • Dr. PERNECZKY Eva • Dr. PETER Susanne •  
PETERMANN Julia • Univ.-Prof. Dr. PETERS Christina • PETROCZI Andrea • PETROCZY Lisa •  
PETROVIC Milica • PETROVIC Mirjana • PETROVIC Brigitta • PFEFFER Wolfgang • Dr. PICHLER Herbert •  
PICHLER Claudia • PIETRZYKOWSKA Katarzyna MRes • PISKIN Kathrin • PIWOWARSKA Agata •  
PLANK Maya-Marisol BSc • PLATTNER Agnes • Podrazilová Zuzana • Dr. POETSCH Anna Roswitha •  
PÖHACKER Eva Maria • Dr. POK Stefan • POLEGEG Bianca • POPA Zuzana • DI Dr. POPITSCH Niko •  
PORKARINOVIC Mirjana • Mag. PÖTSCHGER Ulrike • Dr. POYER Fiona • Dr. PRACHER Elisabeth •  
Dr. PRAETORIUS Sibylle • PRAGER Lieselotte • Mag. PRANTL Andrea • PREGESBAUER Michaela •  
Mag. PREUNER-STIX Sandra • DI Dr. PRIBILL Ingrid • Ing. PRINTZ Dieter • PRINZ Martina Katharina •  
PRIX Maria • PRVULOVIC Sanela • PSENKOVA Monika • PUNTIGAM Christoph • PUSCH Helga •  
PUTZ Angelika • RAAB Johanna • RABENSTEINER Claudia • Dr. RADIC-SARIKAS Branka •  
RADOJICIC Ljubisav • RADOLOVICH Denise • RADOVANOVIC Vladica • RAINEL-MOLDERINGS Birgitta •  
Dr. RAMPITSCH Andrea • RAUCHENWALD Doris • RAUNIAK Karin • REDELSTEINER Eva •  
REINHART Katharina • Dr. REINWEIN Martin • REIS Alexandra • Dr. REISMÜLLER Bettina •  
Dr. REITER Michael • REITER Barbara • Dr. REITER-FINK Edith • Dr. REMELY Marlene •  
RIEBLER Marion MSc • RIEGLER Alexandra • RIEGLER-WALTERSKIRCHEN Isabella • RIEPL Dieter •  
RIFATBEGOVIĆ Fikret PhD • Mag. RINNER Sarah • RITTER Petra • RITTER Robert •

Dr. ROBATSCHER Markus • Dr. ROBERTS-MOHR Lisa • ROCKENSCHAUB Edith • ROHRHOFER Johanna • ROISER Nicole • Dr. RONCERAY Leila • ROSENKRANZ Margareta • ROSENMEIER Corinna • Dr. RÖSKA Birgit • ROSSA Erika • ROSSIWALL Mark • ROTH Anja • Dr. ROTHENSTEINER Maria Laurentia • ROZSENICH Katharina • RYBAR-LANGER Eva • SALOBERGER-SINDHÖRINGER Lisa MSc • DI SALZER Benjamin • Dr. SALZER Elisabeth PhD • SAUTNER Eva Karin • SCHABAUER Heike • SCHACHTSIEK Svenja • SCHARNER Daniela • Mag. (FH) SCHAUBACH Silvia • SCHEIBÖCK Erwin • SCHETT Magdalena • SCHIEDER Julia • SCHINDL Tanja • DI Dr. SCHINNERL Dagmar • SCHLUDNIG Barbara • SCHMATZ Silke • Dr. SCHMICKL Cornelia • SCHMID Caroline • SCHMOLL Wolfgang • DI SCHNEIDER Lukas • SCHNEIDER Lukas • Dr. SCHNEIDER-KEMPEL Monika • Dr. SCHNEIDER-SCHWARZ Sonja • SCHNETZINGER Yvonne MA • SCHNÖLLER Thomas MSc • SCHÖBER Michael BSc • SCHODL Michaela • SCHÖNLEITNER Martina • SCHUBERT Roswitha • SCHÜLLER Christina BSc • SCHUMICH Angela • SCHWARZ Brigita MSc • SCHWARZ Martin • SCHWEITZER Sandra • Dr. SCHWENTNER Raphaela • SEBEK Marion • SEDLACEK Karin • SEEBACHER Daniela • Mag. SEIDL Julia MBA • SEIDL Harald • SEVCIK Birgit • SIDLOVA Lubica • SIEBER Karl Heinz • SKODA Emilie • SONDEREGGER Sandra BSc • SORGE Barbara • SORZ Eva • SÖZERI KARABULUT Sevim • SPASOV Emina • SPAVOROVA Maria • SPEISER Lieselotte • SPREIZ Sara • STACH Gerhard • STALANICH Karl • STANISLAV Suzana • STEINDL Elisabeth MSc • STEINER Zuzana • STEINKOGLER Andreas • STEMBERGER Julia • STIFTER Stephanie • Mag. STIX Ute • STIX Andrea • STOCKINGER Irmgard • STÖGERMAYER Robert • STOJANOVIC Vesna • STOJANOVIC Ionica • STOJLOVIC Sasa • STRASSER Renate • STRASSER Renate • STRAUBE Vera • Dr. STREHL Sabine • Streißeberger Gerlinde • STRICKER Manuela • STRIEDINGER Stefanie • STROBL Marcus BSc • STROZER Clara BSc • Dr. STURTZEL Caterina • Dr. STÜTZ Adrian • SUHENDRA-CHEN Susanne MSc • SUSIC Edita • Mag. SZALONY Amelie • TAKVORIAN Corinna • TARNOCZI Nicole BSc • Dr. TASCHNER-MANDL Sabine • Mag. TAX Elisabeth • Mag. THALMAYR Florencia • Mag. THIEM Elfriede • THOMASBERGER Ulrika • THONHAUSER Olivia • TOBIAS Eduard • Dr. TOMAZOU-BOCK Eleni • Dr. TOPF Reinhard Josef • TÖTZL Marcus MSc • TRBOJEVIC Dijana • TRINH My Linh • TRUJKIC Violeta • TUGRUL Murat PhD • ÜBLAGGER Daniel MSc • UHL Raffaella • ULLRICH Jennifer • UNGER Rosemarie • Priv.-Doz. Dr. VECSEI Andreas • VOGLMÜLLER Lukas • VOGT Grace • VRATNY Karin • Mag. WAGNER Ursula • WALLISCH Raffaella • WALTL Brigitta • WEDENIG Edith • WEGSCHEIDER Franziska • WEIGNER Sabine • WEINBAUER Natalie • WEINRICH Marlies • Weißenbäck Bianca • Dr. WENNINGER Ursula • Dr. WESSEL Sara • WESTBOMKE Sarah • WETZL Stephanie • WIECZOREK Susanne MSc • WIEDERMANN Nina BSc • WILFINGER Pia BSc • WILLINGER Lavinia • WINKEL Michaela • WINKLER Eva • WINKLER Sabine • Ing. WINTER Harald • WINTER Maria • WINZER Melanie • Dr. WITT Volker • WITTEK David • WITZ Christiane • WOCHIAN Margarethe • WÖCKINGER Verena • WOHLFAHRT Martha • WOHLMACHER Sven • WOJTASZEK-SCHABOWSKA Agata • Mag. WÖLL-REICHERT Ingrid • Dr. WUKOVITS Petra • WURM Waltraud • WURMBRAND-SONNEK Irene • WÜRTH Marianne • WURZINGER Anna • YILMAZ Zahide • ZAHER Hala • Dr. ZALLER Vera • Mag. ZAVADIL Marion • ZDRAVKOVIC Sonja • ZEILER Jessica BSc • Mag. ZEINER-KOGLIN Claudia • Dr. ZEITLHOFER Petra • ZELENKA Andrea • ZEYRINGER Johanna • ZIDEK Natascha • ZIEGLER Andrea • ZIMMEL Christoph • ZIMMERMANN Jana • ZIPPERER Elke • ZÖCHLING Simon • Dr. ZUBAROVSKAYA Natalia •



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