

### ***Abschlussbericht Teilprojekt 1.3***

**Projekttitle:** Etablierung einer zentralen Serum- und DNA-Bank

**Projektleiter:** Prof. Dr. med. Michael Roggendorf  
Universitätsklinikum Essen  
Institut für Virologie  
Hufelandstr. 55  
45122 Essen

**Telefon:** +49 (0) 201 / 723-3550

**Fax:** +49 (0) 201 / 723-5929

**E-Mail:** roggendorf@uni-due.de

**Berichtszeitraum:** 01.02.2005 – 31.01.2007

## **I. Kurze Darstellung**

### **Aufgabenstellung**

Das Hauptziel des Projektes war es, die Zusammenarbeit zwischen klinischen Forschergruppen und „Teams“ aus der Grundlagenforschung zu vereinfachen, die im Rahmen der HepNet-Tätigkeit zusammenarbeiteten. Zu diesem Zweck wurde eine zentrale Serum- und DNA-Bank etabliert, die allen Teilnehmern des Netzwerkes freien Zugriff auf die gesammelten Materialien verschaffte. Das asservierten Proben konnten zu verschiedenen Forschungszwecken verwandt werden, wie beispielsweise zu Studien über virale Varianten, IFN-resistente und –sensitive HCV-Stämme oder virale Mutationen.

### **Voraussetzungen**

Der Erfolg klinischer und medizinisch orientierter Studien hängt in erheblichem Maße von der Wahl der unterschiedlichen Patientenkollektive und der Beschaffenheit der klinischen Materialien ab. Besonders wichtig ist in diesem Zusammenhang die standardisierte Gewinnung und Prozessierung der Specimen. Einen der besten Wege, ein solches Ziel zu erreichen, stellt die zentrale Lagerung der klinischen Proben in entsprechenden „Banken“ dar. Diese aufzubauende Serum- und DNA-Bank sollte allen im HepNet zusammengeschlossenen Forschergruppen auf Antrag zur Verfügung stehen. Zu Beginn des Projektes existierte unseres Wissens in Deutschland auf dem Gebiet der viralen Hepatitis keine vergleichbare Sammlung.

### **Zusammenarbeit mit anderen HepNet Stellen**

Das Projekt setzte zwingend die enge Zusammenarbeit mit allen teilnehmenden Institutionen des HepNets – und insbesondere den einzelnen Modellregionen - voraus. Die gesammelten Materialien waren auf Antrag für alle Mitglieder des Netzes zugänglich, wobei eine zu Beginn des Projektes erarbeitete „Satzung“ die notwendigen prozeduralen Einzelheiten regelte.

## **II. Eingehende Darstellung**

Im ersten Stadium des Projekts bestand die Hauptaufgabe darin, die generelle Infrastruktur zu etablieren und insbesondere die Logistik der Probensammlung, die eindeutige Kennzeichnung der Materialien und eine verlässliche DV-gestützte Erfassung bzw. Archivierung der Specimen zu gewährleisten. Zu diesem Zweck wurden zunächst den „Zentralen“ der Modellregionen „West“ und „Ost“, später dann auch den übrigen „Rekrutierungsstellen“ entsprechende Formulare und Hinweisblätter, alle für die Blutentnahmen wichtigen „Utensilien“, bruch sichere Transportbehälter und schließlich vorfrankierte, bauartgeprüfte Umschläge für die Rücksendung der gewonnenen Materialien an die zentrale Serum- und DNA-Bank in Essen zur Verfügung gestellt.

Seit dem Jahr 2003 erhielt die Serumbank Blutproben von Patientinnen und Patienten, die in den HepNet-Modellregionen rekrutiert wurden. Abbildung 1 zeigt die auf dem entsprechenden Begleitschein enthaltenen Informationen, die in Essen sämtlich erfasst wurden und auch in die Datenbank der zentralen „IT-Unit“ am Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie der Universität München (HepNet-Projekt 1.2) eingingen.

**Begleitschein für Blut- / Serumprobe**

1. Patienten-ID: E W X 3 A 7 4 P 9  
C N P 5 B D N E N      Geburtsjahr: 1947

2. Zentrum/Arzt-ID: W 0 1 0 1

3. Entnahme-Datum: 1 8 0 5 2 0 0 5

4. Diagnose:  
 Hepatitis A  
 Hepatitis B/D  
 Hepatitis C  
 Hepatitis E  
 Hepatitis unklarer Genese

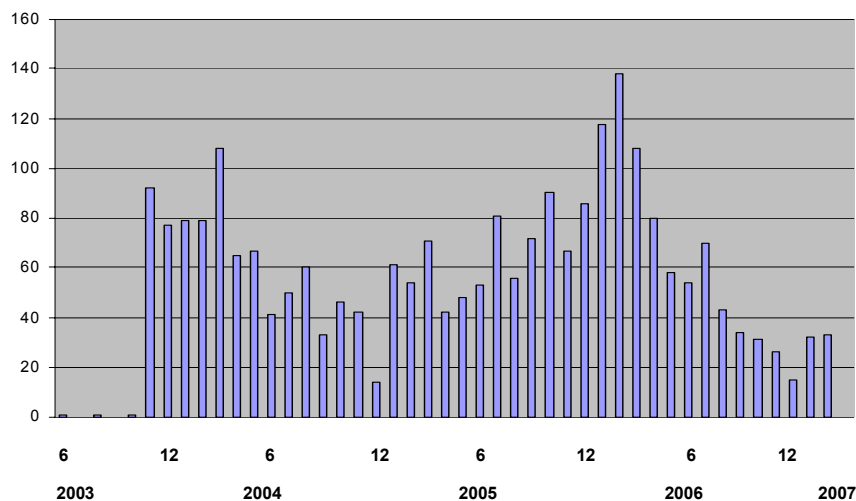
5. Anlass der Einweisung:  
 Erstdokumentation  
 Therapieabbruch bei primärem Therapieversagen  
 Rückfall während der Nachbeobachtung

Anzahl Röhren	Röhrentyp	Erwünschte Anzahl bei...		
		Erst-dokumentation	Therapie-versagen	Rückfall
1	Serum-Röhrechen	1	1	1
1	EDTA	1	1	1

**Abb.: II 1:** Begleitschein für Blut- und Serumproben

Eingehende Proben wurden un verzüglich nach ihrer Ankunft prozessiert. Die Serumproben wurden aliquotiert (4 - 6 „Portionen“ zu je 0,5ml) und bei – 80°C gelagert. Die Blutproben wurden einer Gradienten-Zentrifugation über Ficoll unterzogen und die isolierten peripheren, mononukleären Blutzellen (PBMC) anschließend bei – 80°C in zwei gleichen Aliquots eingefroren

Bis zum April 2007 wurden Seren und EDTA-Blut von insgesamt 2.152 Patientinnen und Patienten an die zentrale “Bank” in Essen gesandt und dort nach dem beschriebenen Standard-Protokoll bearbeitet. Aus Abbildung 2 sowie den Tabellen 1 – 3 gehen die Entwicklung des Probenaufkommens sowie die Zahl der aus den verschiedenen HepNet-Institutionen erhaltenen Specimen detailliert hervor.



**Abb. II 2:** Entwicklung des monatlichen Probenaufkommens.

**Tabelle II 3:** Entwicklung des Probenaufkommens in den HepNet-Modellregionen und Zahl teilnehmender Institutionen.

Modellregion	Zahl teilnehmender Institutionen	Beginn der Proben-sammlung	Gesamtzahl der Proben
West	51	31.10.2003	1306
Ost	56	05.12.2003	513
Nord	16	25.04.2005	125
Süd	1	28.03.2006	95
Insgesamt	124		2039

**Tabelle II 4:** Zahl der von den unterschiedlichen HepNet-Institutionen erhaltenen Proben nach Größenklassen.

Probenzahl je Institution	Zahl der Institutionen (West)	Zahl der Institutionen (Ost)	Zahl der Institutionen (Nord)	Zahl der Institutionen (Süd)
>200	1	-	-	-
101 - 200	1	-	1	-
11 – 100	15	13	1	1
2 – 10	28	33	1	-
1	6	10	14	-

**Tabelle II 3:** Anzahl HBV- und HCV-infizierter Patientinnen und Patienten, von denen Materialien in der zentralen Serum- und DNA-Bank asserviert wurden.

Jahr	HBV	HCV	Insgesamt
2003-2004	171	575	746
2005	168	571	739
2006	130	433	563
2007	16	88	104
Insgesamt (%)	485 (23%)	1667 (77%)	2152 (100%)

Auf Anforderung aus den einsendenden Institutionen wurden durch das Personal der zentralen Serum- und DNA-Bank folgende Analysen durchgeführt:

- Geno- und Subtypisierung von HCV-Isolaten,
- Ermittlung der HCV-RNA-Konzentration,
- Qualitative Detektion von HDV-RNA mittels RT-PCR sowie
- Genotypisierung von HBV-Varianten.

Während der gesamten Förderperiode wurden die asservierten Patientenmaterialien auf Antrag zahlreichen Kooperationspartnern zur Verfügung gestellt (Tabelle 4). Einige weitere Anträge werde derzeit noch vom „Steering Committee“ des HepNet geprüft.

**Tab.II 4:** Projekte, für deren Durchführung Materialien aus der zentralen Serum- und DNA-Bank des HepNet zur Verfügung gestellt wurden.

1. J. Timm (Bochum) – Untersuchungen zur HLA-I-assoziierten Adaptation von HCV-Isolaten des Genotyps 2 auf Populations-Niveau.
2. R. S. Ross (Essen) – Molekulare Charakterisierung von HCV-Varianten, die von intravenös drogenabhängigen HepNet-Patienten isoliert wurden.
3. C. Möllken (Bochum) – Detektion neuer Biomarker der HCV-assoziierten Leberfibrose mittels Proteom-Analyse.
4. M. Odenthal (Köln), A. M. Gressner (Aachen), F. Lammert (Bonn) – Polymorphismen-Analyse von Genen, die mit der Entwicklung einer Leberfibrose assoziiert sind.
5. S. Rothenfusser (München) – Intrazelluläre „pattern recognition“-Rezeptoren für virale RNA und die Bedeutung genetischer Polymorphismen für die Entwicklung einer HCV-Infektion

Die Arbeiten innerhalb des Teilprojekts 1.3 vollzogen sich nach dem initial vorgelegten Finanzierungs- und Zeit-Plan, der während der gesamten Laufzeit nicht verändert werden musste.