

NGFN-PLUS
Nationales Genomforschungsnetz

***„Deciphering oncogene dependencies in human cancer
oncogene mutation space“***

Schlussbericht
Förderkennzeichen 01GS08101

Universität zu Köln

TP0: Coordinating Office (Prof. R. Thomas)

TP1: Evaluation of tools for clinical detection of mutations and copy number changes (Prof. P. Nürnberg)

TP2: Analysis of patient mutation space and clinical outcome (Prof. J. Wolf)

TP3: Systematic high-throughput analysis of oncogenicity of human oncogene mutations (Prof. R. Thomas)

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Ziel des Verbundes *Oncogene dependencies* war eine systematische und interdisziplinäre Untersuchung von Zusammenhängen zwischen Onkogen-Mutationen, intrazellulären Signalwegen, Inhibitor-Empfindlichkeit von Tumorzellen sowie klinischem Therapie-Ansprechen. Im Rahmen dieses Verbundes sollte im Teilprojekt TP0 ein Koordinierungsbüro etabliert werden, welches Aktivitäten des Forschungsverbundes koordiniert und steuert. Im Teilprojekt TP1 sollte eine Diagnostik-Pipeline zur systematischen Erfassung von Onkogenmutationen und genomischen Imbalancen in Lungentumorgewebeproben etabliert und eine umfassende und sensitive genetische Analytik aufgebaut werden. Im TP2 sollten umfassende genomische Analysen und Charakterisierungen von Patienten mit Lungenkrebs sowie die Durchführung genetisch individualisierter klinischer Studien durchgeführt werden. Im wissenschaftlichen Teilprojektes TP3 sollte der Einfluss von Onkogenmutationen auf die maligne Entartung von Zellen systematisch untersucht werden.

2. Voraussetzungen des Vorhabens

Es handelte sich bei dem Vorhaben *Oncogene dependencies* um ein Verbundprojekt mit insgesamt 7 Teilprojekten an verschiedenen deutschen Institutionen. An der Universität zu Köln wurden insgesamt 4 Teilprojekte bearbeitet wobei die Teilprojekte TP0 und TP3 unter der Leitung von Prof. Thomas (vorher Max-Planck-Institut für Neurologische Forschung), TP1 unter der Leitung von Prof. Nürnberg und TP2 unter der Leitung von Prof. Wolf durchgeführt wurden. Das Teilprojekt TP2 wird im Rahmen der kostenneutralen Laufzeitverlängerung noch bis zum 31.05.2015 bearbeitet. Alle Ziele der anderen Teilprojekte konnten zum 31.05.2013 erfolgreich abgeschlossen werden

3. Planung und Ablauf des Vorhabens:

Die wichtigsten Schritte im Vorhaben:

Voraussetzung für den Erfolg des Verbundes *Oncogene dependencies* und die Erfüllung der Ziele in den Teilprojekten der Universität zu Köln (**TP1**, **TP2** und **TP3**) war u.a. die Etablierung des Koordinierungsbüros (**TP0**, **R. Thomas**). Hierdurch konnte der intensive fachliche Austausch und die starke Vernetzung zwischen den einzelnen Teilprojekten gefördert werden. Im Förderzeitraum erfolgte eine intensive Koordination und engmaschigen Kontrolle der Probenaufnahme sowie der experimentell-analytischen Arbeiten im Rahmen des *ClinicalLungCancerProject* (CLCGP). Außerdem wurden regelmäßige Projekttreffen und Telefonkonferenzen organisiert. Das Teilprojekt TP0 hatte auch einen entscheidenden Einfluss auf die Translationale Forschung des Gesamtverbundes. Es konnten bereits mehrere Forschungsergebnisse erfolgreich in die Klinik übertragen werden durch die intensive Zusammenarbeit mit dem *Netzwerk Genomische Medizin* (NGM) und dem *Centrum für Integrierte Onkologie* (CIO Köln – Bonn).

Im Teilprojekt **TP1** (**P. Nürnberg**) erfolgten neben dem Plattformausbau auch die weitere Methodenentwicklung. Hierunter gehörten die Transkriptom- und Exom-

Sequenzierung inklusive Methodenevaluierung. Durch die erzielte höhere durchschnittliche Coverage konnte eine verbesserte Sensitivität bei der Identifizierung somatischer Varianten erzielt werden. Zur Identifizierung von Genfusionen wurden Transkriptomsequenzierungen durchgeführt und es erfolgten sowohl methodische als auch analytische Optimierungsschritte. Mit Hilfe des Agilent Sure Select Protokolls erfolgte eine Anreicherung von Zielsequenzen zur Validierung von Mutationen mit unterschiedlichem Ausgangsmaterial.

Die wichtigsten Schritte im Teilprojekt **TP2 (J. Wolf)** waren die umfassende genomische Analyse und phänotypische Charakterisierung von Patienten mit Lungenkrebs im klinischen Alltag, der Aufbau einer Biobank für Lungenkrebs, die Analyse der Assoziation zwischen Genotyp des Tumors und klinischem Phänotyp sowie die Initiierung genetisch individualisierter klinischer Studien. Innerhalb der „first in man“ Studie mit dem pan FGFR-Kinase-Inhibitor BGJ398 werden Patienten mit FGFR1-amplifizierten Plattenepithelkarzinomen behandelt. Im Rahmen der kostenneutralen Laufzeitverlängerung wird die TRY-Studie (Behandlung mit Trastuzumab und AUY922) für Lungenkrebspatienten mit amplifizierten HER2-Gen abgeschlossen.

Die wichtigsten Schritte im Vorhaben **TP3 (R. Thomas)** waren u.a. die Etablierung der Proben-Kollektion und die anschließende Genotypisierung der über 1500 Lungentumorproben im Rahmen des CLCGP. Voraussetzung für die Auswertung der Daten war außerdem die Entwicklung verschiedener Algorithmen und neu entwickelte Ansätze der Genomanalyse, die ebenfalls in unserer Gruppe erfolgten. Die im Rahmen der Sequenzierprojekte im CLCGP sowie des Kleinzelligen Bronchialkarzinoms erzielten Ergebnisse wurden anschließend durch zelluläre und Maus-Modelle verifiziert und weiter charakterisiert. Unsere Ergebnisse wurden in international anerkannten Zeitschriften publiziert sowie auf internationalen Konferenzen wie dem AACR präsentiert.

Zur direkten Umsetzung von Forschungsergebnissen in die Klinik (TP2) war eine intensive Kommunikation mit pharmazeutischen Firmen und dem Lead-Discovery Center (LDC) einerseits und mit den Klinikern des CIO Köln-Bonn andererseits notwendig. Es konnten bereits auf Grund unserer wissenschaftlichen Ergebnisse erste Studien an internationalen Prüfzentren initiiert werden in Zusammenarbeit mit TP2 (Jürgen Wolf). Hierdurch konnte bereits Patienten eine personalisierte Therapie angeboten werden.

4. Wissenschaftlicher/technischer Stand:

Folgende Methoden wurden u.a. im Rahmen der Teilprojekte zur Erzielung der nachfolgend dargestellten Ergebnisse (II.1) angewendet:

TP0

- Methoden des Projektmanagements
- Veranstaltung von Telefonkonferenzen und Meetings

- Koordination und Kontrolle der experimentell-analytischen Arbeiten im CLCGP Projekt
- Projektplattform für Austausch von Reagenzien und Stoffen

TP1

- Exom-, Transkriptom- Whole-Genome-Sequenzierungen
- Methodenentwicklung Cancer Genomics
- Plattformausbau
- Target-Enrichment-Sequenzierungen

TP2

- genomische und phänotypische Charakterisierung von Lungenkrebspatienten
- Aufbau einer Biobank
- Rebiopsieprogramm
- Genetisch individualisierte klinische Studien

TP3

- Sammlung und Sequenzierung von 1500 klinischen Tumorproben im Rahmen des CLCGP
- Sequenzierung des Kleinzelligen Bronchialkarzinoms
- Entwicklung der Mutationsdetektion in klinischen Tumorproben
- High-Throughput zelluläre Screens
- Chemogenomische Hochdurchsatz-Profilierung von Zelllinien
- SNP-Analysen, Transkriptom-, Exom- und Whole Genome-Sequenzierungen
- Etablierung zellulärer Modelle und HAT-Analyse der Onkogenität
- Mausmodelle von onkogenen Mutanten

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Partner des Verbundes *Oncogene dependencies* wurden zu Beginn des Vorhabens so ausgewählt, dass Experten aus den Bereichen Krebsgenomforschung, Molekulare Zellbiologie, Strukturbiologie, Chemische Genetik, Computational Biology und klinische Onkologie vereint wurden und auf bereits bestehenden Kooperationen aufgebaut werden konnte. Im Rahmen des Projektes konnte eine sehr gute Zusammenarbeit mit allen Beteiligten verzeichnet werden, die durch regelmäßige Treffen gefördert wurde, u.a. erkennbar an folgenden Erfolgen:

- Etablierung der Mutationsdetektion in klinischen Tumorproben (Thomas TP0 und TP3, Wolf TP2, Nürnberg TP1)
- Genetische und klinische Charakterisierung von 1500 Lungentumoren im Rahmen des *Clinical Cancer Genome Projekt* (Thomas TP0 und TP3, Wolf TP2, Nürnberg TP1)
- Drug Discovery im Bereich der Genotyp-spezifischen Therapie des Bronchialkarzinoms (Thomas TP0 und TP3, Waldman, Rauh TP5)
- Entwicklung von Studienkonzepten für die Behandlung genetisch definierter Lungenkrebspatienten mit Mek und Pi3-Kinase Inhibitoren (Thomas TP0 und TP3, Wolf TP2, Rauh/Waldman TP5, Ahmadian/Wittinghofer TP4)

- Erstellung einer Website für die Zusammenstellung klinisch relevanter Veränderungen in Krebsgenomen für klinisch tätige Onkologen (Thomas TP0 und TP3, Wolf TP2, Lengauer TP6)

Akademische Partner außereuropäisch:

Matthew Meyerson, Broad Institute, Cambridge MA, USA

William Pao, Vanderbilt Medical Center, Nashville TN, USA

Akademische Partner Europa:

verschiedenste Kollaborationspartner im Rahmen des *Clinical Lung Cancer Genome Projects* und im *Netzwerk Genomische Medizin (NGM)*

Akademische Partner Inland:

Ulrike Korf, DKFZ

Stefan Wiemann, DKFZ

Bodo Lange, MPI Berlin

Hans Lehrach, MPI Berlin

Nicht-akademische Partner Inland:

Lead-Discovery Center GmbH (LDC)

Neu gegründete Firma Blackfield AG (Firmensitz: Köln, Gründer: Axel Ullrich, Roman Thomas, Andreas Jenne)

II. Eingehende Darstellung

1. Ergebnisse (kurze, für Laien verständliche Zusammenfassung)

Im Rahmen des Verbundprojektes *Oncogene dependencies* konnten vielfältige Ergebnisse im Bereich der systematischen Untersuchung von Onkogenmutationen auf die maligne Entartung von Zellen sowie klinischem Therapie-Ansprechen erzielt werden. Hierbei konnten umfangreiche Genotyp-Phänotyp Untersuchungen bei Lungentumoren abgeschlossen werden und eine genetische Signatur für die Vorhersage von Therapieerfolgen unter Verwendung des Inhibitors Dasatinib entwickelt werden (**Sos et al, J Clin Invest., 2009**). Darüberhinaus gelang die Identifizierung eines neuen, klinisch relevanten Resistenzmechanismus gegenüber dem EGFR Inhibitor Erlotinib beim nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom (**Sos et al, Cancer Res**). Schließlich konnte nachgewiesen werden, dass Tumore mit genetischen Veränderungen in Rezeptor-Tyrosinkinasen in besonderer Weise vom Pi3-Kinase-Signalweg abhängig sind (**Sos et al, PNAS 2009**).

Im Rahmen des *ClinicalLungCancerProject* (CLCGP) konnten über 1200 Proben mit klinischen Daten weltweit gesammelt und genomisch charakterisiert werden. Wir konnten eine Genom-basierte Klassifikation von humanen Lungentumoren sowie eine Reklassifikation von über 15 % aller Lungentumore beschreiben (**Seidel et al., Sci Transl Med, 2013**). Des weiteren konnte unsere Lungentumorgewebekbank weiter ausgebaut werden. Zusammen mit den gesammelten Tumorproben im CLCGP standen am Ende der Förderperiode kryokonserviertes Material von 2400 Lungentumoren mit kompletter klinischer Annotation zur Verfügung für weitere genetische Analysen.

Außerdem konnten wir u.a. eine FGFR1 Amplifikation beim Lungenkrebs nachweisen, die einhergeht mit Therapieempfindlichkeit gegenüber FGFR Inhibitoren (**Weiss et al., Sci Transl Med, 2010**). Aufgrund dieser Ergebnisse hat Novartis eine Phase-I Studie in Deutschland initiiert (Jürgen Wolf, TP2). Eine zweite Entdeckung sind Mutationen in der Rezeptor-Tyrosinkinase DDR2, ebenfalls in Plattenepithelkarzinomen der Lunge (**Hammerman et al., Cancer Discovery 2011**). Insgesamt zwei klinische Studien konnten zur Überprüfung von in diesem NGFN Projekt generierten präklinischen Hypothesen durchgeführt werden, was auch den translationalen Erfolg des Gesamtverbundes zeigt.

Gemeinsam mit verschiedenen Verbundpartnern konnte im Projekt *Oncogene Dependencies* die Gesamtgenomsequenzierung des kleinzelligen Bronchialkarzinoms abgeschlossen werden. Die Studie, die in der Fachzeitschrift *Nature Genetics* veröffentlicht wurde, zeigt, dass bei kleinzelligen Bronchialkarzinomen im Vergleich zu anderen Lungenkrebsarten eine extrem hohe Mutationsrate (7,4 protein-verändernde Mutationen pro Millionen Basenpaare) beobachtet wird (**Peifer et al., 2012, Nature Genetics**). Mit Hilfe von neu entwickelten Ansätze der Genomanalyse und Computer-Algorithmen konnten einzelne mutierte Gene in SCLC- Tumoren identifiziert werden, die für das Wachstum der Tumoren entscheidend sind. Solche Gene könnten nach weiterer Charakterisierung die Grundlage darstellen für neue, molekular ausgerichtete Therapieansätze.

Mit Hilfe der Next Generation Sequenzieretechnologie wurden außerdem erfolgsversprechende Pilotexperimente durchgeführt um Mutationen, Rearrangements und Kopienzahlveränderungen in Tumorproben mit einer einzigen Analyse zu diagnostizieren (**Querings et al., 2011**). Die enge internationale Vernetzung des Verbundes mit exzellenten Projekten im Bereich der Krebsgenomforschung zeigt sich auch durch die gemeinsame Publikation im Rahmen des *The Cancer Genome Atlas Research Project* (TCGA) in *Nature* (**TCGA, Nature, 2012**).

2. Positionen

Die uns im Rahmen der Förderung zur Verfügung gestellten Zuwendungsmittel wurden für Verbrauchsmaterial sowie Sequenzierungen im Rahmen der Projekte verwendet sowie für die Einstellung wissenschaftlichen Personals und technischer Assistenten. Für die Präsentation wissenschaftlichen Ergebnisse auf nationalen und internationalen Meetings sowie für Kooperationstreffen wurden die zur Verfügung gestellten Zuwendungsmittel zur Deckung der Reisekosten verwendet.

3. Notwendigkeit

Das ursprünglich im Antrag anvisierte Ziel in allen Teilprojekten der Universität zu Köln konnte im Berichtszeitraum erreicht werden. Die erzielten Ergebnisse wurden in einer Vielzahl an hochrangigen Publikationen, die im Förderzeitraum entstanden sind, publiziert sowie in Rahmen von verschiedenen Patenten verwertet.

4. Nutzen

Zum einen konnten wir im Berichtszeitraum Patente anmelden wobei wir bereits gebührenpflichtige Lizenznahmen für unsere bisherige IP vertraglich sichern

konnten. Des Weiteren befinden sich bereits mehrere Ergebnisse aus unserem TP in klinischer Prüfung an mehreren Zentren weltweit, aber vor allem innerhalb des Verbundes in TP2, welches durch Jürgen Wolf geleitet wird. Hierdurch konnten bereits Patienten von einer personalisierten Therapie profitieren.

5. Fortschritt

Es gibt soweit bekannt, keine wesentlichen Ergebnisse anderer Gruppen, die Einfluss auf die Verwertung unserer Ergebnisse nehmen könnten.

6. +Veröffentlichungen

2013

The Clinical Lung Cancer Genome Project (CLCGP) and Network Genomic Medicine (NGM). **A genomics-based classification of human lung tumor.** Science Translational Medicine, 2013.

Kerstin Becker, Claudia Vollbrecht, Ulrike Koitzsch, Katharina Koenig, Jana Fassunke, Sebastian Huss, Peter Nuernberg, Lukas C Heukamp, Reinhard Buettner, Margarete Odenthal, Janine Altmueller, Sabine Merkelbach-Bruse. **Deep ion sequencing of amplicon adapter ligated libraries: a novel tool in molecular diagnostics of formalin fixed and paraffin embedded tissues.** Journal of Clinical Pathology, jclinpath-2013-201549.

Florian Malchers, Felix Dietlein, Jakob Schöttle, Xin Lu, Lukas C. Heukamp, Lucia Nogova, Jürgen Wolf, Kerstin Albus, Lynnette Fernandez-Cuesta, Johannes M. Heuckmann, Oliver Gautschi, Joachim Diebold, Frauke Leenders, André Richters, Martin Peifer, Alexandra Florin, Prathama S. Mainkar, Nagaraju Karre, Srivari Chandrasekhar, Julie George, Steffi Silling, Daniel Rauh, Roland T. Ullrich, H. Christian Reinhardt, Francois Ringeisen, Reinhard Büttner and Roman K. Thomas. **Cell-autonomous and non-cell-autonomous mechanisms of transformation by amplified FGFR1 in lung cancer.** In review

Richters A, Ketzner J, Getlik M, Grütter C, Schneider R, Heuckmann JM, Heynck S, Sos ML, Gupta A, Unger A, Schultz-Fademrecht C, Thomas RK, Bauer S, Rauh D. **Targeting Gain of Function and Resistance Mutations in Abl and KIT by Hybrid Compound Design.** J Med Chem. 2013 Jul 10. [Epub ahead of print]

Chatterjee S, Heukamp LC, Siobal M, Schöttle J, Wiczorek C, Peifer M, Frasca D, Koker M, König K, Meder L, Rauh D, Buettner R, Wolf J, Brekken RA, Neumaier B, Christofori G, Thomas RK, Ullrich RT. **Tumor VEGF:VEGFR2 autocrine feed-forward loop triggers angiogenesis in lung cancer.** J Clin Invest. 2013 Apr 1;123(4):1732-40.

Altmüller J, Budde BS, Nürnberg P. **Enrichment of target sequences for next generation sequencing applications in research and diagnostics.** Biol Chem. 2013 Sep 6. doi:pii: /j/bchm.just-accepted/hsz-2013-0199/hsz-2013-0199.xml.

10.1515/hsz-2013-0199.

Becker K, Vollbrecht C, Koitzsch U, Koenig K, Fassunke J, Huss S, Nürnberg P, Heukamp L, Buettner R, Odenthal M, Altmüller J, Merkelbach-Bruse S. **Deep ion sequencing of amplicon adapter ligated libraries: a novel tool in molecular diagnostics of formalin fixed and paraffin embedded tissues.** Journal of Clinical Pathology, in press

2012

Zhang J, Zhang L, Su X, Li M, Xie L, Malchers F, Fan S, Yin X, Xu Y, Liu K, Dong Z, Zhu G, Qian Z, Tang L, Schöttle J, Zhan P, Ji Q, Kilgour E, Smith PD, Brooks AN, Thomas RK, Gavine PR. **Translating the therapeutic potential of AZD4547 in FGFR1-amplified non-small cell lung cancer through the use of patient-derived tumor xenograft models.** Clin Cancer Res. 2012 Dec 15;18(24):6658-67.

Sos ML, Dietlein F, Peifer M, Schöttle J, Balke-Want H, Müller C, Koker M, Richters A, Heynck S, Malchers F, Heuckmann JM, Seidel D, Evers PA, Ullrich RT, Antonchick AP, Vintonyak VV, Schneider PM, Ninomiya T, Waldmann H, Büttner R, Rauh D, Heukamp LC, Thomas RK. **A framework for identification of actionable cancer genome dependencies in small cell lung cancer.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Oct 16;109(42):17034-9. doi: 10.1073/pnas.1207310109. Epub 2012 Oct 3.

Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, Hernandez B, Pugh TJ, Hodis E, Cho J, Suh J, Capelletti M, Sivachenko A, Sougnez C, Auclair D, Lawrence MS, Stojanov P, Cibulskis K, Choi K, de Waal L, Sharifnia T, Brooks A, Greulich H, Banerji S, Zander T, Seidel D, Leenders F, Ansén S, Ludwig C, Engel-Riedel W, Stoelben E, Wolf J, Goparju C, Thompson K, Winckler W, Kwiatkowski D, Johnson BE, Jänne PA, Miller VA, Pao W, Travis WD, Pass HI, Gabriel SB, Lander ES, Thomas RK, Garraway LA, Getz G, Meyerson M. **Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing.** Cell. 2012 Sep 14;150(6):1107-20. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.029.

Cancer Genome Atlas Research Network. **Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers.** Nature. 2012 Sep 27;489(7417):519-25. doi: 10.1038/nature11404. Epub 2012 Sep 9. Erratum in: Nature. 2012 Nov 8;491(7423):288. Rogers, Kristen [corrected to Rodgers, Kristen].

Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, George J, Seidel D, Kasper LH, Plenker D, Leenders F, Sun R, Zander T, Menon R, Koker M, Dahmen I, Müller C, Di Cerbo V, Schildhaus HU, Altmüller J, Baessmann I, Becker C, de Wilde B, Vandesompele J, Böhm D, Ansén S, Gabler F, Wilkening I, Heynck S, Heuckmann JM, Lu X, Carter SL, Cibulskis K, Banerji S, Getz G, Park KS, Rauh D, Grütter C, Fischer M, Pasqualucci L, Wright G, Wainer Z, Russell P, Petersen I, Chen Y, Stoelben E, Ludwig C, Schnabel P, Hoffmann H, Muley T, Brockmann M, Engel-Riedel W, Muscarella LA, Fazio VM, Groen H, Timens W, Sietsma H, Thunnissen E, Smit E, Heideman DA, Snijders PJ, Cappuzzo F, Ligorio C, Damiani S, Field J, Solberg S, Brustugun OT, Lund-Iversen M, Sängler J, Clement JH, Soltermann A, Moch H,

Weder W, Solomon B, Soria JC, Validire P, Besse B, Brambilla E, Brambilla C, Lantuejoul S, Lorimier P, Schneider PM, Hallek M, Pao W, Meyerson M, Sage J, Shendure J, Schneider R, Büttner R, Wolf J, Nürnberg P, Perner S, Heukamp LC, Brindle PK, Haas S, Thomas RK. **Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer.** Nat Genet. 2012 Oct;44(10):1104-10. doi: 10.1038/ng.2396. Epub 2012 Sep 2.

Heuckmann JM, Rauh D, Thomas RK. **Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling and covalent EGFR inhibition in lung cancer.** J Clin Oncol. 2012 Sep 20;30(27):3417-20. doi: 10.1200/JCO.2012.43.1825.

Heuckmann JM, Balke-Want H, Malchers F, Peifer M, Sos ML, Koker M, Meder L, Lovly CM, Heukamp LC, Pao W, Küppers R, Thomas RK. **Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants.** Clin Cancer Res. 2012 Sep 1;18(17):4682-90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3260. Epub 2012 Aug 21.

Scheffler M, Kobe C, Zander T, Nogova L, Kahraman D, Thomas R, Neumaier B, Dietlein M, Wolf J. **Monitoring reversible and irreversible EGFR inhibition with erlotinib and afatinib in a patient with EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC) using sequential [18F]fluorothymidine (FLT)-PET.** Lung Cancer. 2012 Sep;77(3):617-20. doi: 10.1016/j.lungcan.2012.05.110.

Perez-Moreno P, Brambilla E, Thomas R, Soria JC. **Squamous cell carcinoma of the lung: molecular subtypes and therapeutic opportunities.** Clin Cancer Res. 2012 May 1;18(9):2443-51. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2370.

Frommolt P, Abdallah AT, Altmüller J, Motameny S, Thiele H, Becker C, Stemshorn K, Fischer M, Freilinger T, Nürnberg P. **Assessing the enrichment performance in targeted resequencing experiments.** Hum Mutat. 2012 Jan 30. doi: 10.1002/humu.22036.

2011

Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, Brace LE, Woods BA, Lin W, Zhang J, Deng X, Lim SM, Heynck S, Peifer M, Simard JR, Lawrence MS, Onofrio RC, Salvesen HB, Seidel D, Zander T, Heuckmann JM, Soltermann A, Moch H, Koker M, Leenders F, Gabler F, Querings S, Ansén S, Brambilla E, Brambilla C, Lorimier P, Brustugun OT, Helland A, Petersen I, Clement JH, Groen H, Timens W, Sietsma H, Stoelben E, Wolf J, Beer DG, Tsao MS, Hanna M, Hatton C, Eck MJ, Janne PA, Johnson BE, Winckler W, Greulich H, Bass AJ, Cho J, Rauh D, Gray NS, Wong KK, Haura EB, Thomas RK, Meyerson M. **Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer.** Cancer Discov. 2011 Apr 3;1(1):78-89.

Heuckmann JM, Hölzel M, Sos ML, Heynck S, Balke-Want H, Koker M, Peifer M, Weiss J, Lovly CM, Grütter C, Rauh D, Pao W, Thomas RK. **ALK mutations**

conferring differential resistance to structurally diverse ALK inhibitors. Clin Cancer Res. 2011 Dec 1;17(23):7394-401. Epub 2011 Sep 26.

Querings S, Altmüller J, Ansén S, Zander T, Seidel D, Gabler F, Peifer M, Markert E, Stemshorn K, Timmermann B, Saal B, Klose S, Ernestus K, Scheffler M, Engel-Riedel W, Stoelben E, Brambilla E, Wolf J, Nürnberg P, Thomas RK. **Benchmarking of mutation diagnostics in clinical lung cancer specimens.** PLoS One. 2011 May 5;6(5):e19601.

Herrmann A, Haake A, Ammerpohl O, Martin-Guerrero I, Szafranski K, Stemshorn K, Nothnagel M, Kotsopoulos SK, Richter J, Warner J, Olson J, Link DR, Schreiber S, Krawczak M, Platzer M, Nürnberg P, Siebert R, Hampe J. **Pipeline for large-scale microdroplet bisulfite PCR-based sequencing allows the tracking of hepitype evolution in tumors.** PLoS One. 2011;6(7):e21332. Epub 2011 Jul 5. PMID: 21750708

2010

Ansén S, Bangard C, Querings S, Gabler F, Scheffler M, Seidel D, Saal B, Zander T, Nogová L, Töpelt K, Markert E, Stoelben E, Ernestus K, Thomas RK, Wolf J. **Osteoblastic response in patients with non-small cell lung cancer with activating EGFR Mutations and bone metastases during treatment with EGFR kinase inhibitors.** J Thorac Oncol. 2010 Mar;5(3):407-9

Chmielecki J, Peifer M, Jia P, Socci ND, Hutchinson K, Viale A, Zhao Z, Thomas RK, Pao W. **Targeted next-generation sequencing of DNA regions proximal to a conserved GXGXXG signaling motif enables systematic discovery of tyrosine kinase fusions in cancer.** Nucleic Acids Res. 2010 Nov 1;38(20):6985-96. Epub 2010 Jun 29

Pawar VG, Sos ML, Rode HB, Rabiller M, Heynck S, van Otterlo WA, Thomas RK, Rauh D. **Synthesis and biological evaluation of 4-anilinoquinolines as potent inhibitors of epidermal growth factor receptor.** J Med Chem. 2010 Apr 8;53(7):2892-901.

Peifer M, Weiss J, Sos ML, Koker M, Heynck S, Netzer C, Fischer S, Rode H, Rauh D, Rahnenführer J, Thomas RK. **Analysis of compound synergy in high-throughput cellular screens by population-based lifetime modeling.** PLoS One. 2010 Jan 27;5(1):e8919.

Sos ML, Rode HB, Heynck S, Peifer M, Fischer F, Klüter S, Pawar VG, Reuter C, Heuckmann JM, Weiss J, Ruddigkeit L, Rabiller M, Koker M, Simard JR, Getlik M, Yuza Y, Chen TH, Greulich H, Thomas RK, Rauh D. **Chemogenomic profiling provides insights into the limited activity of irreversible EGFR Inhibitors in tumor cells expressing the T790M EGFR resistance mutation.** Cancer Res. 2010 Feb 1;70(3):868-74.

Weiss J, Sos ML, Seidel D, Peifer M, Zander T, Heuckmann JM, Ullrich RT, Menon R, Maier S, Soltermann A, Moch H, Wagener P, Fischer F, Heynck S, Koker M, Schöttle J, Leenders F, Gabler F, Dabow I, Querings S, Heukamp LC, Balke-Want H,

Ansén S, Rauh D, Baessmann I, Altmüller J, Wainer Z, Conron M, Wright G, Russell P, Solomon B, Brambilla E, Brambilla C, Lorimier P, Sollberg S, Brustugun OT, Engel-Riedel W, Ludwig C, Petersen I, Sängler J, Clement J, Groen H, Timens W, Sietsma H, Thunnissen E, Smit E, Heideman D, Cappuzzo F, Ligorio C, Damiani S, Hallek M, Beroukhim R, Pao W, Klebl B, Baumann M, Buettner R, Ernestus K, Stoelben E, Wolf J, Nürnberg P, Perner S, Thomas RK. **Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer.** *Sci Transl Med.* 2010 Dec 15;2(62):62ra93

2009

Barbie DA, Tamayo P, Boehm JS, Kim SY, Moody SE, Dunn IF, Schinzel AC, Sandy P, Meylan E, Scholl C, Fröhling S, Chan EM, Sos ML, Michel K, Mermel C, Silver SJ, Weir BA, Reiling JH, Sheng Q, Gupta PB, Wadlow RC, Le H, Hoersch S, Wittner BS, Ramaswamy S, Livingston DM, Sabatini DM, Meyerson M, Thomas RK, Lander ES, Mesirov JP, Root DE, Gilliland DG, Jacks T, Hahn WC. **Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS- driven cancers require TBK1.** *Nature.* 2009 Nov 5;462(7269):108-12

Gong Y, Yao E, Shen R, Goel A, Arcila M, Teruya-Feldstein J, Zakowski MF, Frankel S, Peifer M, Thomas RK, Ladanyi M, Pao W. **High expression levels of total IGF-1R and sensitivity of NSCLC cells in vitro to an anti-IGF-1R antibody (R1507).** *PLoS One.* 2009 Oct 6;4(10):e7273.

LaFramboise T, Winckler W, Thomas RK. **A flexible rank-based framework for detecting copy number aberrations from array data.** *Bioinformatics.* 2009 Mar 15;25(6):722-8

Sos ML, Fischer S, Ullrich R, Peifer M, Heuckmann JM, Koker M, Heynck S, Stückerath I, Weiss J, Fischer F, Michel K, Goel A, Regales L, Politi KA, Perera S, Getlik M, Heukamp LC, Ansén S, Zander T, Beroukhim R, Kashkar H, Shokat KM, Sellers WR, Rauh D, Orr C, Hoeflich KP, Friedman L, Wong KK, Pao W, Thomas RK. **Identifying genotype-dependent efficacy of single and combined PI3K- and MAPK-pathway inhibition in cancer.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Oct 27;106(43):18351-6

Sos ML, Koker M, Weir BA, Heynck S, Rabinovsky R, Zander T, Seeger JM, Weiss J, Fischer F, Frommolt P, Michel K, Peifer M, Mermel C, Girard L, Peyton M, Gazdar AF, Minna JD, Garraway LA, Kashkar H, Pao W, Meyerson M, Thomas RK. **PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR.** *Cancer Res.* 2009 Apr 15;69(8):3256-61.

Sos ML, Michel K, Zander T, Weiss J, Frommolt P, Peifer M, Li D, Ullrich R, Koker M, Fischer F, Shimamura T, Rauh D, Mermel C, Fischer S, Stückerath I, Heynck S, Beroukhim R, Lin W, Winckler W, Shah K, LaFramboise T, Moriarty WF, Hanna M, Tolosi L, Rahnenführer J, Verhaak R, Chiang D, Getz G, Hellmich M, Wolf J, Girard L, Peyton M, Weir BA, Chen TH, Greulich H, Barretina J, Shapiro GI, Garraway LA, Gazdar AF, Minna JD, Meyerson M, Wong KK, Thomas RK. **Predicting drug**

susceptibility of non-small cell lung cancers based on genetic lesions. J Clin Invest. 2009 Jun;119(6):1727-40

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel „ <i>Defining oncogene dependencies in human cancer oncogene mutation space</i> “ Verbundprojekt: Onkogen, Anteil Universität Köln TP0: Coordinating Office TP1: Evaluation of tools for clinical detection of mutations and copy number TP2: Analysis of patient mutation space and clinical outcome TP3: Systematic high-throughput analysis of oncogenicity of human oncogene mutations	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Prof. Dr. Roman Thomas (TP0 und TP3) Prof. Dr. Peter Nürnberg (TP1) Prof. Dr. Jürgen Wolf (TP2)	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.05.2014
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation Schlussbericht
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Universität zu Köln 50932 Köln	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 01GS08101-0 01GS08101-1 01GS08101-2 01GS08101-3
	11. Seitenzahl
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Im NGFNplus Verbundprojekt <i>Onkogen</i> erfolgten systematische und interdisziplinäre Untersuchungen von Zusammenhängen zwischen Onkogen-Mutationen und der resultierenden Abhängigkeit von nachgeschalteten intrazellulären Signalwegen, Inhibitor-Empfindlichkeit von Tumorzellen, klinischem Therapie-Ansprechen sowie weiteren klinischen Parametern. Im Rahmen des <i>Clinical Lung Cancer Project (CLCGP)</i> konnten in den Teilprojekten der Universität zu Köln über 1500 Proben tief genetisch und klinisch charakterisiert werden. Ein Hauptbefund ist die genomische Reklassifikation von über 15% der Lungentumore. Auf Grund unserer klinisch relevanten Entdeckungen (FGFR1 Amplifikation und Mutationen in der Rezeptor-Tyrosinkinase DDR2) wurden bereits zwei klinische Studien initiiert. Des Weiteren wurden im Rahmen der Gesamtgenomsequenzierung des kleinzelligen Bronchialkarzinoms zahlreiche Entdeckungen jenseits von TP53 und RB1 Mutationen verzeichnet. So weisen etwa 6% dieser Tumore FGFR1-Amplifikationen auf. Aus diesem Grund werden mittlerweile auch SCLC-Patienten mit FGFR1 Amplifikation in die FGFR1-Studie aufgenommen und somit in die personalisierte Behandlung. Unser Vorhaben hat während der Projektlaufzeit auch einen enormen Beitrag zur Entwicklung geeigneter Diagnosemethoden zur Mutationsdetektion in klinischen Tumorproben geleistet, die bereits jetzt Eingang in die klinisch diagnostische Routine gefunden haben.	
19. Schlagwörter Personalisierte Medizin, Genomsequenzierung, Lungenkrebs, Onkogenmutationen	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) final report
3. title „Deciphering oncogene dependencies in human cancer oncogene mutation space“ TP0: Coordinating Office TP1: Evaluation of tools for clinical detection of mutations and copy number TP2: Analysis of patient mutation space and clinical outcome TP3: Systematic high-throughput analysis of oncogenicity of human oncogene mutations	
4. author(s) (family name, first name(s)) Prof. Dr. Roman Thomas Prof. Dr. Peter Nürnberg Prof. Dr. Jürgen Wolf	5. end of project 31.05.2014
	6. publication date
	7. form of publication final report
8. performing organization(s) (name, address) Universität zu Köln 50923 Köln	9. originator's report no.
	10. reference no. 01GS08101-0 01GS08101-1 01GS08101-2 01GS08101-3
	11. no. of pages
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references
	14. no. of tables
	15. no. of figures
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract In the NGFNplus joint project <i>oncogene</i> we performed systematic and interdisciplinary studies of correlations between oncogene mutations and the resulting dependence of downstream intracellular signaling pathways, inhibitor sensitivity of tumor cells, clinical treatment response and other clinical parameters. As part of the Clinical Lung Cancer Project (CLCGP) about 1500 samples were genetically and clinically characterized. A major finding is the genomic reclassification of about 15% of the lung tumors. Based on our clinically relevant findings (FGFR1 amplification and mutations in the receptor tyrosine kinase DDR2) two clinical studies have been initiated. Moreover, we discovered in the whole genome sequencing of small cell lung cancer numerous mutations beyond TP53 and RB1 mutations. About 6% of these tumors have a FGFR1 amplification. For this reason, SCLC patients with FGFR1 amplification are now included in the FGFR1-study and thus into personalized treatment. Our project has also made an enormous contribution to the development of appropriate diagnostic methods for detection of mutations in clinical tumor samples and it has already been included in the clinical diagnostic routine.	
19. keywords Personalized Medicine, Lung Cancer, Whole Genome Sequencing, Oncogene mutations	
20. publisher	21. price