

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Liver SystemsMedicine

Schlussbericht

LiSyM - Liver Systems Medicine

LiSyM - Verbundprojekt: Pillar II/III - Chronische
Lebererkrankungen (CLD), Regeneration und
Reparatur in Acute-on-Chronic Liver Failure (ACLF)

Förderkennzeichen: 031L0047

1. Januar 2016 – 30. Juni 2021

Projektleiter:

Prof. Dr. Dr. Fabian J. Theis
Helmholtz Zentrum München
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)
Ingolstädter Landstraße 1
D-85764 Neuherberg

Kontakt: anna.sacher@helmholtz-muenchen.de

Tel.: +49 3187 2926

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor

Muenchen, 25.04.2022

I. Kurze Darstellung:

1. Aufgabenstellung

Pillar II

Chronische Lebererkrankungen (CLD) werden durch chronische Schädigung, z.B. durch kalorienreiche Ernährung und chronischen Alkoholkonsum, hervorgerufen. Diese erzeugen eine chronische Entzündung, die die Entwicklung von Fibrose begünstigt, an der parenchymale und nicht-parenchymale Zellen der Leber beteiligt sind. Fortschreitende CLD führen zu Leberzirrhose und kulminieren schließlich in Leberkrebs, Organversagen und Tod. Aufgrund der Komplexität der Zusammenhänge wurde ein systemmedizinischer Ansatz gewählt, um Strategien zu entwickeln, den Prozess des Fortschreitens und der Resolution der Fibrose besser zu verstehen. Daher war das Ziel von Pillar II „Progression der chronischen Lebererkrankung“, Schlüsselmechanismen und strukturelle Veränderungen in der Gewebsarchitektur während CLD auf Zell-, Gewebe- und Organebene zu visualisieren und zu quantifizieren. Die Translation in die klinische Anwendung ist durch die komplexe Krankheitsdynamik und die multidimensionale Zell-Zell-Kommunikation beeinträchtigt. Daher wurden die dynamischen und vielseitigen Interaktionen während verschiedener Krankheitsstadien auf verschiedenen Skalen untersucht, quantifiziert und mit iterativen mathematischen Modellierungsansätzen kombiniert. Diese mathematischen Modelle ermöglichen, das Krankheitsstaging, die Vorhersage der Krankheitsprogression und Krankheitsresolution zu optimieren und neue therapeutische und diagnostische Möglichkeiten zu definieren.

Pillar III

Die häufigste Todesursache in Patienten mit chronischer Lebererkrankung ist Organversagen, das durch akute Schädigung, insbesondere Entzündung, Medikamente oder Operationen, ausgelöst wird. Die Inzidenz dieser lebensbedrohlichen Acute-on-Chronic Liver Failure (ACLF) nimmt beständig zu. Daher sind eine frühe Detektion von Patienten mit besonderem ACLF-Risiko und Behandlungsmöglichkeiten von größter klinischer Bedeutung. In Pillar III "Regeneration und Reparatur in ACLF" wurde ein systemmedizinischer Ansatz eingesetzt, um Schlüsselmechanismen zu identifizieren, die zu ACLF beitragen, und die für eine Unterstützung der Leberregeneration und Reparatur genutzt werden können. Es wurden zeitaufgelöste Analysen der Reaktionen auf eine akute Schädigung einer chronisch geschädigten Leber (Maus und Mensch) durchgeführt. In iterativen Zyklen wurden diese Daten für die Entwicklung dynamischer Signalwegsmodelle, multiskalen Gewebe-Modelle und pharmakokinetischer Modelle genutzt. Ziel war es, basierend auf mechanistischen Erkenntnissen verlässliche Biomarker zu identifizieren, die für eine Stratifizierung von Hoch-Risiko-Patienten bezüglich des Bedarfs an einer Lebertransplantation geeignet sind. Außerdem sollten Strategien entwickelt werden, um therapeutisch die Leberregeneration zu fördern. Damit wurden neue Möglichkeiten eröffnet, klinische Entscheidungen zu treffen und damit das Überleben von ACLF-Patienten zu verbessern.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das LiSyM Projekt wurde in enger Kooperation mit mehreren experimentellen, klinischen und modellierenden Partnern durchgeführt. Der systembiologische Ansatz zur Charakterisierung der Signalwegtransduktion in Leberzellen beruhte auf Vorarbeiten und Erkenntnissen der vorangehenden Fördermaßnahmen HepatoSys, HepatoSys II und Virtual Liver Network (VLN). Dort wurde die TGF β -induzierte und die HGF-induzierte Signaltransduktion anhand mathematischer Modellierung in gesunden Hepatozyten untersucht. Ziel in LiSyM war es diese Modelle auf weitere Zellsysteme auszuweiten. Weiterhin wurde die Western Diät eingeführt um ein Mausmodell zur Erforschung der molekularen Veränderungen in chronischen Lebererkrankungen zu etablieren.

Wissenschaftlich war das Netzwerk in vier wissenschaftlichen Säulen ("Pillar") aufgeteilt. Diese beschäftigen sich mit (I) den Frühstadien von Lebererkrankungen, (II) der Fibrogenese und deren Progression, (III) Reparatur- und Regenerationsmechanismen bei dem akut auf chronischen Leberversagen (ACLF), sowie (IV) diagnostischen Leberfunktionstests. Ergänzt wurde das Programm durch die Förderung von vier unabhängigen Juniorgruppen, dem zentralen Datenmanagement und einem Programmdirektorium.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Theis-Gruppe war an Pillar II und Pillar III beteiligt. Folgende Meilensteine wurde während der Projektlaufzeit bearbeitet:

Pillar II: Progression der chronischen Lebererkrankung

MS 2.1: Quantifizierung der Leberläppchen-architektur und zelluläre Dynamik während der CLD Progression in muriner und humaner Leber für Modell-prädiktionen in beiden Spezies

Pillar III: Regeneration und Reparatur im Akuten-auf-Chronischen Leberversagen (ACLF)

MS1.1: Identifizierung von molekularen Veränderungen in ACLF-Patienten

MS1.3: Modell-basierte Identifikation von molekularen Mechanismen, die zu ACLF beitragen.

MS1.5: Identifizierung von Schlüsseler-änderungen mit einer Eignung als Biomarker

MS4.1: Klinische Validierung der molekularen und der Imaging Biomarker für ACLF.

Laufzeitverlängerung

Aufgrund der COVID-19 Pandemie und der Schließung der Forschungseinrichtungen im Frühjahr 2020 kam es zu Verzögerungen bei der Abschließung geplanter Meilensteine. Sowohl die Laboratorien als auch die Büros wurden geschlossen und die Wissenschaftler waren gezwungen, zu Hause zu arbeiten und mussten ihre Familien unterstützen. Darüber hinaus wurden Tierexperimentelle Einheiten geschlossen, Studien mit Mäusekolonien mit spezieller Ernährung mussten beendet werden und der Datenfluss von den Experimentatoren und

klinischen Gruppen zu den Modellierern und dem Daten-Management-Team wurde gestoppt, oder erheblich reduziert. Die Auswirkungen der COVID-19 Pandemie sind nicht nur alleine auf die zwei Monate des tatsächlichen Lockdowns beschränkt, sondern es ist ein erheblich längeren Zeitraum betroffen welcher den Fortschritt in dem Projekt verzögerte. Aufgrund der reduzierten klinischen und experimentellen Arbeit konnten weniger Daten generiert werden, was wiederum zu ähnlichen Verzögerungen bei der mathematischen Modellierung führte.

Daher war eine Verlängerung der Projektlaufzeit um sechs Monate von Januar bis Juni 2021 zwingend erforderlich und wurde vom Projektträger bewilligt.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Prof. Fabian Theis leitet das Helmholtz Munich Computational Health Center und ist W3 Professor an der Technischen Universität München. Seine Expertise liegt vor allem in der Analyse, Modellierung und Interpretation umfangreicher Datensätze aus der Biomedizin mittels Methoden der künstlichen Intelligenz.

Innerhalb des LiSym Konsortiums wurde vor allem an die Zusammenarbeit mit Klingmüller Lab angeknüpft

- **Angabe bekannter Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte, die für die Durchführung des Vorhabens benutzt wurden:**

Nicht zutreffend.

- **Angabe der verwendeten Fachliteratur sowie der benutzten Informations- und Dokumentationsdienste:**

Es wurde primär auf die Online-Fachliteratur in der PubMed-Datenbank zurückgegriffen. Im Folgenden sind ausgewählte Publikationen aufgeführt.

1. Winkler, Theis, et al. Diabetologia. 58(1):206 (2015).
2. Kowarsch, Preusse, Marr, Theis (2011). miTALOS: Analyzing the tissue-specific regulation of signaling pathways by human and mouse microRNAs. RNA, 17(809-819).
3. Raue A, Schilling M, Bachmann J, Matteson M, Schelker M, Kaschek D, Hug S, Kreutz C, Harms BD, Theis FJ, Klingmüller U and Timmer J. 2013. Lessons learned from quantitative dynamical modeling in systems biology. PLoS One 8:e74335.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Zu Beginn des Projektes wurde ein Kooperationsvertrag zwischen allen Partnern geschlossen. Es wurden häufige Telefonkonferenzen und seit der Corona-Pandemie auch Videokonferenzen mit allen Projektpartnern organisiert und mindestens einmal im Jahr ein Treffen aller Projektteilnehmenden durchgeführt. Innerhalb dieses Teilprojekts waren vor allem Interaktionen mit dem Klingmüller Pillar III auf im Rahmen der Western Diet und Proteomics analysen von noeten. Des weiteren wurde in Pillar II eng mit dem Dooley lab kollaboriert, um zelluläre Dynamik während der CLD Progression in muriner Leber mittels multimodaler Modelle zu analysieren. Des weiteren fand ein Austausch von Personal statt, um Mausproben auf Einzellebene zu messen und analysieren. Auch wurde mit dem Hoffmann lab (Klinikum Heidelberg) die Analyse von Patientendaten vorangetrieben um neue Biomarker für postoperative Leberregeneration zu identifizieren.

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Beiträge zu Pillar II: Progression der chronischen Lebererkrankung

MS 2.1 Quantifizierung der Leberläppchenarchitektur und zelluläre Dynamik während der CLD Progression in muriner und humaner Leber für Modellprädiktionen in beiden Spezies

Im Detail wurden die vorhandenen Transkriptom-, Proteom- und Blut-Parameter mit unserer multi-modalen Netzwerkinferenz-Methode (genannt Kimono) analysiert (siehe Abbildung 1). Wir extrahierten Subnetzwerke, um alle spät-regulierten Gene und Proteine zu untersuchen, die während der Leberfibrose-Adaptionsphase differenziell reguliert sind.

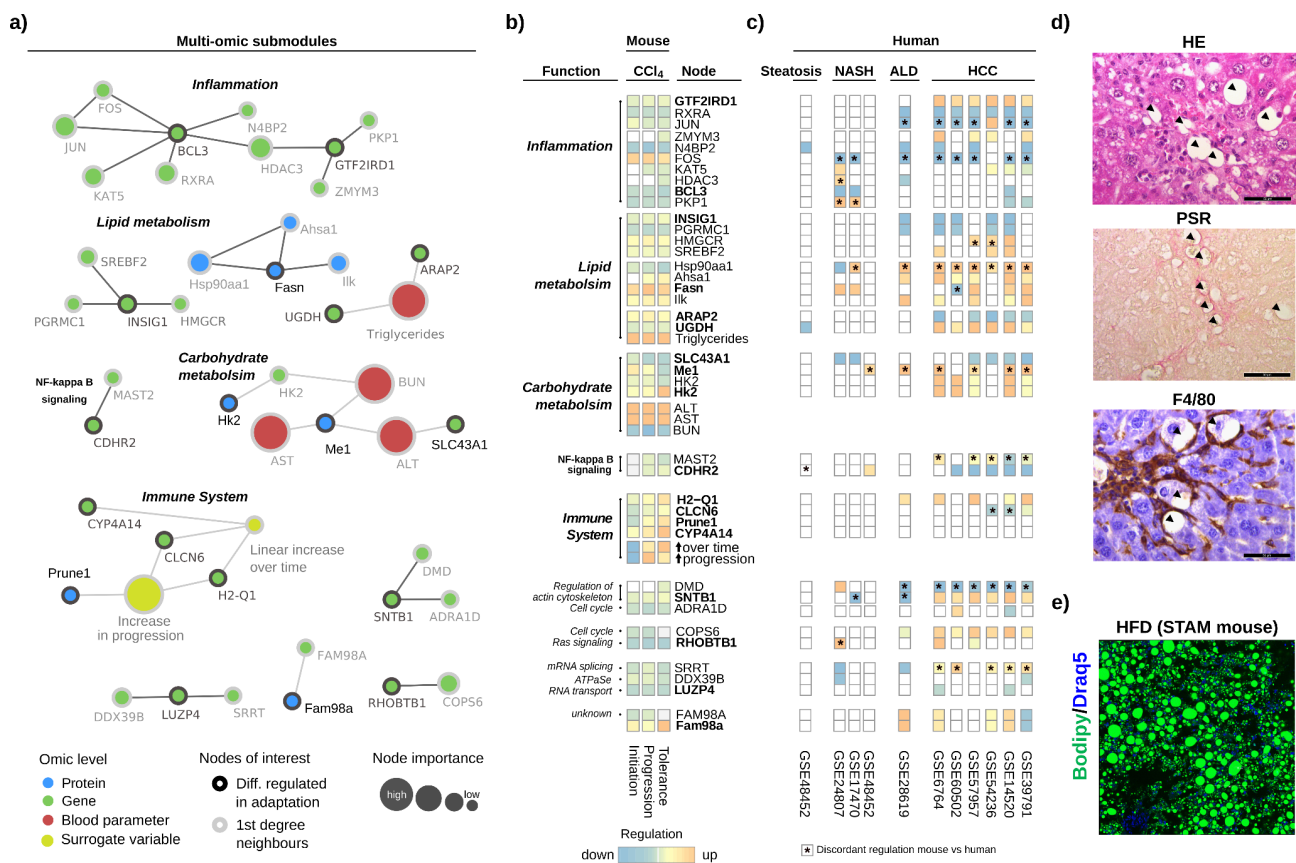


Abbildung 1: Das globale Netzwerk enthält 8.199 Knoten, die über 16.398 Verbindungen verbunden sind, die statistische Effekte innerhalb der Multi-Omic-Daten darstellen. a) Visualisierung von 11 (von 13) identifizierten Fibrose-verwandten modulen mit potenten Biomarkern. Knoten-Größen beziehen sich auf ihre Bedeutung innerhalb des globalen Netzwerks in direktem Zusammenhang mit Fibrose-assoziierten Effekten. b) Funktionale Annotation und durchschnittliche Regulation von Netzwerkknoten für verschiedene Krankheitsstadien.

Signifikante (FDR < 0,05) Herunterregulierung (blau) und Hochregulierung (rot) werden in der Heatmap visualisiert. c) Signifikant differentiell exprimierte Gene von 11 unabhängigen, öffentlich zugänglichen Humanstudien, d) Histopathologische Validierung von Lipidstoffwechsel Markern. Weißliche Hohlräume bei Leberfibrose sind Lipidtröpfchen, die Hepatozyten enthalten. Bei HE (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) und PSR (Picrosirius-Rot-Färbung) haben diese Hohlräume eine spezifische kreisförmige Struktur und in einigen Fällen kleine Kerne, die von F4/80-positiven Zellen umgeben sind. e) Bodipy-Färbung zur Visualisierung und Analyse der Akkumulation von Lipidtröpfchen (Hammad et. al. 2022).

Das Ergebnis ist ein Netzwerk, welches in 13 Module (mit 2-29 Knoten) zerfällt. Diese Module konnten wir mit PathwAX, einer Netzwerkanalysemethode, biologischen Funktionen (Pathways) zuordnen. Die identifizierten Pathways sind sowohl bereits bekannte Pathways, die bei der Leberfibrose eine Rolle spielen, wie z. B. der "Immunsystem Pathway" oder der "Carbohydrate Metabolism Pathway", als auch bisher unbekannte Pathways. Einer dieser unbekannt, spannenden und vielversprechenden Pathways ist der Lipidstoffwechsel-Pathway, welchem wir zwei Module zuordnen konnten. Dieses Ergebnis legt nahe, dass der Fettmetabolismus eine der Schlüsselkomponenten in der frühen Phase der Leberfibrose sein könnte. Diese Hypothese konnte im Dooley Lab nach spezieller Einfärbung von Maus-Leber-Gewebeproben bestätigt werden: unter CCl₄-Behandlung sammeln sich Lipidtröpfchen an fibrotischen Stellen der Leber an.

Des Weiteren wurden die multi-omics Subnetzwerke mit orthologen Genen und Proteinen mit humanen Daten verglichen. Hierzu verwendeten wir öffentliche Genexpressionsdatensätze von über 900 verschiedenen Patienten aus 11 verschiedenen Studien zu den Themen NASH (non-alcoholic fatty liver), ALD (alcoholic liver disease), HCC (hepatocellular carcinoma) und Steatose (=Verfettung). In diesen humanen Datensätzen konnten ähnliche Expressionsmuster wie in CCL₄-behandelten Mäusen gefunden werden. Dies deutet darauf hin, dass speziell in dieser frühen Phase der Erkrankung (wie im CCL₄ Maus Modell) tiefgreifende molekulare Veränderungen stattfinden, die sich in späteren Krankheitsbildern (im Menschen) wiederfinden lassen.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass durch die integrative Analyse aller multi-omics Ebenen mit Fokus auf späte Antworten der CCL₄-Behandlung nicht nur bereits bekannte Pathways dieser Behandlung identifiziert werden können, sondern auch neue Pathways. Die Überaktivität der neu identifizierten Pathways konnte mit einer weiteren unabhängigen experimentellen Technik im Labor nachgewiesen werden. Das Besondere daran ist, dass Standard-single-omics-Analysen sehr viele Ergebnisse und eher unspezifische Hinweise auf viele Pathways und Veränderungen erzielen, aber keine eine scharfe Fokussierung auf wenige molekulare Komponenten und keine treffgenaue "Auswahl" von essentiellen Pathways zulässt. Unsere Ergebnisse zeigen die Leistungsfähigkeit unserer innovativen multimodalen Netzwerk-Inferenz-Methode und ihren Vorteil gegenüber Standard-omics-Analysen, welche typischerweise multi-omics Ebenen separat betrachten und analysieren.

Pillar II.

Beiträge zu Pillar III: Regeneration und Reparatur im Akuten-auf-Chronischen Leberversagen (ACLF)

MS 1.1 Identifizierung von molekularen Veränderungen in ACLF-Patienten

Als präklinisches Modell zur Identifizierung molekularer Veränderungen im Zusammenhang mit ACLF (acute-on-chronic liver failure) setzte Dooley gealterte Abcb4KO-Mäuse CCI4 aus. Diese akute CCI4 Challenge auf eine chronisch geschädigte Leber (verursacht durch den Gen-Knockout Abcb4) soll das ACLF (acute-on-chronic liver failure) modellieren. Verabreichung einer hohen Dosis von CCI4 an Mäusen mit genetisch induzierten fibrotischen Lebern führte zu einem Phänotyp, der einige Merkmale von ACLF-Patienten widerspiegelt. Speziell das kurze Zeitfenster entscheidet wahrscheinlich über das Überleben. Während der ersten 24 Stunden nach der CCI4-Exposition starben bereits 30-40% der Mäuse. Vergleichbar sieht man bei Menschen mit einem chronischem Leberschaden, dass ein Teil der Patienten nach einer weiteren akuten Leberschädigung stirbt. Im Mausmodell kann man aufgrund des Erscheinungsbildes der Maus prognostizieren, welches Individuum eine CCI4-Behandlung nicht überleben wird. Überraschenderweise haben Lebern von Mäusen der Gruppe mit schlechter Prognose, weder nekrotische Anzeichen noch erhöhte Leberenzymwerte (ALT und AST) im Vergleich zu unbehandelten Mäusen oder Mäusen mit guter Prognose. Dies zeigt, dass andere Mechanismen als Schädigung oder Zelltod für das Überleben nach CCI4-Injektion entscheidend sind (siehe Abbildung 2).

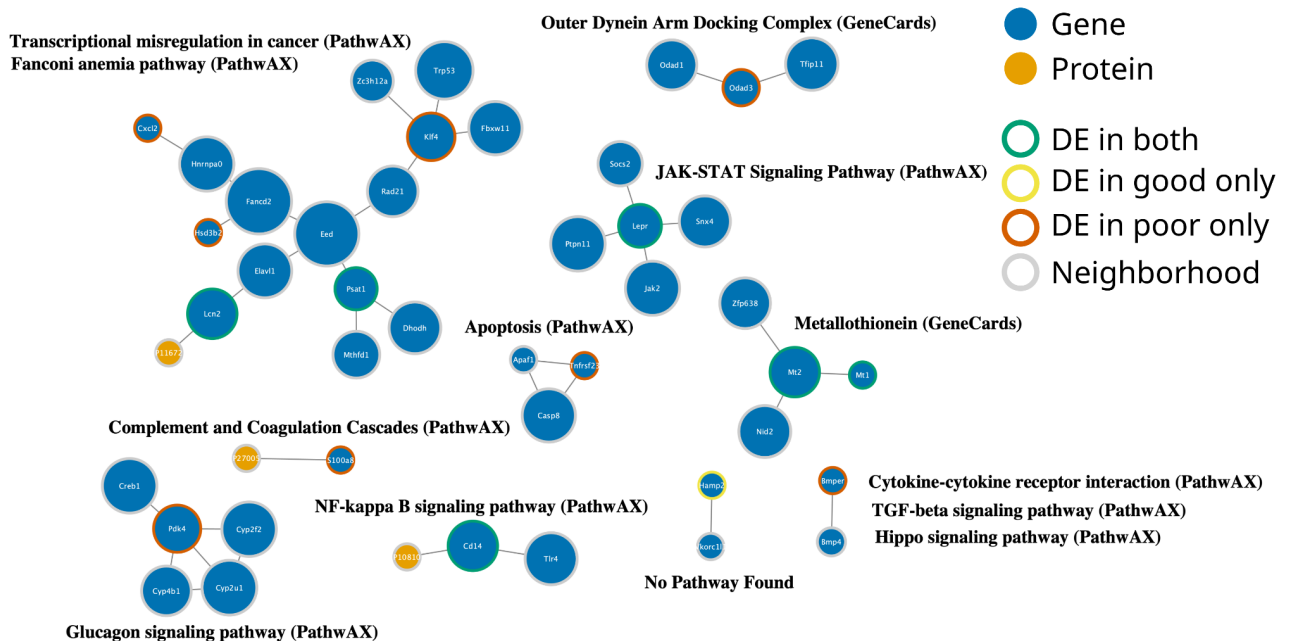


Abbildung 2. Netzwerkmodule um differentiell exprimierte Gene im Netzwerkraum. Die 10 Module, wie sie im Netzwerkbereich gefunden werden. Knoten Größen sind proportional zu denen der Knoten Betweenness. Betweenness ist eine Metrik welche die Schlüsselrolle in dem Phänotyp repräsentiert.

Um das bislang nicht untersuchte Zeitfenster der ersten 24 Stunden im Detail zu durchleuchten und somit zusätzlich die Unterschiede von guter und schlechter Prognose zu verstehen, haben

wir unseren multi-omics Ansatz, welcher sich in PII/MS2.2 als valide erwiesen hat, angewendet. Um eine bessere statistische Aussagekraft zu erzielen, wurde die Anzahl der Mäuse pro Kondition (Kontrolle, gute & schlechte Prognose) auf 5 erhöht. Pro Geschlecht und Kondition kommen wir auf insgesamt 30 Proben für die multi-omics Messungen. Transkriptom- und Proteom-Messungen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb der ersten 24h nach der Behandlung durchgeführt, was eine zeitliche Analyse des Krankheitsverlaufs ermöglicht. Nach den Standard-Analysen auf den einzelnen multi-omics Ebenen, adaptierten wir unseren multi-omics Integrations-Analyse (s. o. Ergebnisse auf Pillar 2) an um die Schlüsselemente und biologischen Funktionen dieser kritischen Phase (die ersten 24 Stunden) zu identifizieren.

Durch diese Datenintegration war es uns möglich ACLF Pathways zu identifizieren, (z.b.: Apoptosis, Glucagon Signaling, TGF-Beta Signaling,..), welche nur in Mäusen mit schlechter Prognose auftreten.

Da es die Hypothese gibt, dass unter Stressbedingungen, wie bei ACLF, eine Veränderung einiger Hepatozyten-Einzelzellen stattfindet wurden, die Proben nicht nur mit Querschnittsanalysen zu untersuchen, sondern auch mit Einzelzell-Methoden zu analysieren. Hier konnten wir die gefundenen Pathway-Modulen einzelnen Zellpopulationen zuordnen. Die gewonnenen Ergebnisse werden zur Zeit experimentell validiert ,z. B. über Histologie-Stainings, und in einem Manuskript zusammengefasst.

MS 1.3 Modell-basierte Identifikation von molekularen Mechanismen, die zu ACLF beitragen.

Wir entwickelten im Rahmen des Projektes mehrere Methoden, die das Verständnis von genetischen Einflüssen auf Krankheiten, die in direkten regulatorischen Regulationen stehen (*Arloth et al. 2020*), die das Rauschen in single Cell Messungen schätzen und durch Vorhersagen ersetzen kann (*Eraslan et al. 2019*) und für Lisym zeitaufgelöste Proteomics Analysen etabliert (*Hammad et al. in preparation, Sobotta et al., 2017*). Für zwei ACLF Mausmodelle (Western Diet und CCl4 Behandlung), wurden zeitaufgelöste TMT-labelling und label-free Proteomics Messungen durchgeführt. In enger Zusammenarbeit mit dem Klingmüller Lab, in dem die Daten erhoben wurden, haben wir die Präprozessierung etabliert, was die Qualität der Daten sicherstellt, und in einem zweiten Schritt mit gemischten Modellen auswerten kann. In einem weiteren Schritt wurde die Methode mit dem Knolle lab für die Analyse des LSEC Proteoms geteilt.

MS 1.5. Identifizierung von Schlüsselveränderungen mit einer Eignung als Biomarker & 4.1 Klinische Validierung der molekularen und der Imaging Biomarker für ACLF.

Eine Störung der Synthese-, Ausscheidungs- und Entgiftungsfunktionen definiert Leberversagen. Nach Leberresektion ist das Leberversagen nach Hepatektomie (PHLF) aufgrund der hohen Letalität und des begrenzten Therapieerfolgs eine zu Recht gefürchtete Komplikation. Individuelle Zytokin- und Wachstumsfaktor Profile können potente prädiktive Marker für die Wiederherstellung der Leberfunktion darstellen.

Wir entwickelten einen zeitabhängigern Zytokin- und Wachstumsfaktor-Profilings-Datensatz einer Trainings-Kohorte (30 Patienten) und einer Validierungs-Kohorte (14 Patienten), die sich einer größeren Leberresektion unterzogen. Hier wandten wir statistische und prädiktiven Modelle an,

um individuelle Pathway-Signaturen zu identifizieren. Expressionsverläufe von Zytokinen und Wachstumsfaktoren mit starker Korrelation zu PHLF, Morbidität und Mortalität wurden trotz höchst individueller perioperativer Dynamik identifiziert. EGF-Abfall, HGF-Trajektorie und PLGF-Schwankungen waren mit Mortalität assoziiert. PLGF-Schwankungen waren mit PHLF und Komplikationen verbunden. Ein globales Assoziationsnetzwerk wurde gemäß den Arten der zugrunde liegenden Risikofaktoren berechnet und validiert. Präoperative Zytokin- und Wachstumsfaktor-Signaturen wurden zur Vorhersage der Sterblichkeit nach einer großen Leberresektion durch regularisierte Regressions Modellierung identifiziert. Anschließend war die Vorhersage von PHLF bereits am POD1 (AUC über 0,75) möglich. Mithilfe des Regressionsmodells elastic-net konnte die Sterblichkeit auf POD1 vorhergesagt werden (AUC=0,75). Die Proliferationsanalyse entsprechender primärer menschlicher Hepatozyten zeigte signifikante Assoziationen des individuellen Regeneration-Potenzials mit den klinischen Resultaten. Wir konnten somit zeigen, dass die Vorhersage von PHLF und Sterblichkeit auf POD1 mit Risikoprofilierung auf Basis von Flüssigkeits Biopsien möglich ist.

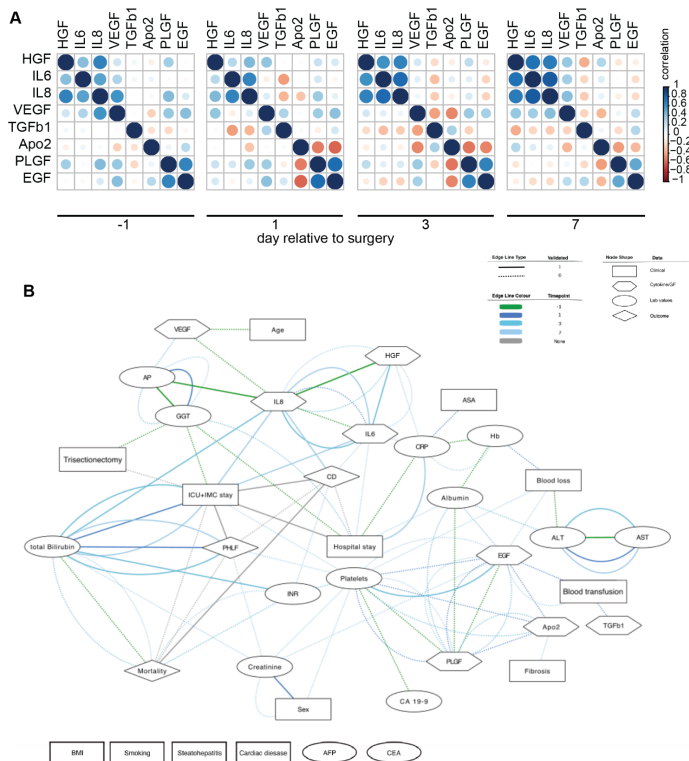


Abbildung 3. Zeitpunktabhängige Zytokin- und Wachstumsfaktor Konzentrationen und Assoziation zwischen Plasmaproteinen und klinischen Merkmalen. A. Paarweise Korrelation der Faktor Konzentrationen getrennt nach Zeitpunkten. B. Globales Assoziationsnetzwerk von bekannten/Routing- und neuartigen Studienparametern. Ovale Knoten zeigen die Laborwerte, rechteckige Knoten die klinischen Informationen, sechseckige Knoten Zytokine oder Wachstumsfaktoren und die interessierenden rautenförmigen Ergebnisparameter. Jede Linie zeigt eine signifikante Assoziation zwischen zwei Knoten an. Gepunktete Linien zeigen Assoziationen in Trainings Kohortendaten, durchgezogene Linien validierte Assoziationen in den Validierungsdaten. PHLF numerisch und kategorisiert zeigten genau die gleichen Interaktionen und wurden zur einfacheren Visualisierung als PHLF kombiniert (Dehlke et. al 2021).

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

2.1. Personalkosten

Bewilligte Stellen im Rahmen der regulären Projektlaufzeit:

0,5 Postdoktorand/ 1 Doktorand über Gesamtlaufzeit; Hiwi Position während kostenneutraler Laufzeitverlängerung

Bei der bewilligten Stelle wurde das Personal zeitweise gewechselt. In unserem Feld ist es sehr schwer geeignete Postdoktoranden zu finden, deshalb beschäftigten wir auch Doktoranden auf dem Projekt.

Die im Rahmen der Laufzeitverlängerung beantragten Stellen wurden weitestgehend nach Planung besetzt.

Für die OMICS Experimente benötigten wir folgende Posten (veranschlagte Kosten der Core Facility des Helmholtz Zentrum München):

- RNAseq & Full-Proteomics für ca 16T €
- Single Cell RNAseq für die Untersuchung von Veränderungen der Zell-typen für ca. 24T €.
- Kosten für Probenvorbereitung in der Dooley Gruppe: 1.3T €.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die durchgeführten Schritte waren für die planmäßige Erfüllung des Projektes notwendig. Die im Rahmen des Vorhabens etablierten Verfahren und die gewonnenen Ergebnisse wurden teilweise bereits veröffentlicht. Weitere Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Fachzeitschriften werden momentan zusammengefasst (6 Artikel, siehe Abschnitt 6). Weiterhin werden derzeit mehrere Veröffentlichungen in wissenschaftlichen Zeitschriften zusammengefasst/eingereicht (Abschnitt 6). In Pillar II wurden dank unserer entwickelten Modelle mehrere funktionelle Protein- und Genmodule in Netzwerken identifiziert, welche eine Leberadaption von CCl₄-induzierter Fibrose. In Pillar II wurden dank unserer entwickelten Methoden mehrere funktionelle Protein- und Genmodule in Netzwerken identifiziert welche eine Leberadaption von CCl₄-induzierter Fibrose modellieren. Die erreichten Erkenntnisse demonstrieren die Bedeutung interdisziplinärer systembiologischer Ansätze und deren Anwendbarkeit für biomedizinische Fragestellungen.

4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Mathematische Modelle, welche die Datenintegration und -etablierung von diagnostischen und therapeutischen Targets, die während der LiSyM-Förderperiode ausführlich beschrieben wurden, ermöglichten, stehen momentan im Fokus neuer Fördermittel des ERC, DFG und BMBF. Die entwickelten Computer Skripte und Software sind open source und stehen der wissenschaftlichen Community auf GitHub zur Verfügung. Die biologischen Erkenntnisse werden

im Rahmen von LiSyM-Cancer in Patienten umfangreich überprüft und können bereits in Zusammenarbeit mit klinischen Partnern in der Praxis Anwendung finden.

5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Laufzeit von LiSyM gab es keine neuen Erkenntnisse, die das Versuchsvorhaben grundlegend in Frage gestellt haben.

6. Erfolgte oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr.11

Im Laufe des Projektes wurden folgende Originalarbeit veröffentlicht:

1. Apweiler R, Beissbarth T, Berthold MR, Bluthgen N, Burmeister Y, Dammann O, Deutsch A, Feuerhake F, Franke A, Hasenauer J, Hoffmann S, Hofer T, Jansen PL, Kaderali L, Klingmuller U, Koch I, Kohlbacher O, Kuepfer L, Lammert F, Maier D, Pfeifer N, Radde N, Rehm M, Roeder I, Saez-Rodriguez J, Sax U, Schmeck B, Schuppert A, Seilheimer B, Theis FJ, Vera J, Wolkenhauer O (2018). Whither systems medicine? *Exp Mol Med*. 2018 Mar 2;50(3):e453. doi: 10.1038/emm.2017.290
2. Sobotta S, Raue A, Huang X, Vanlier J, Junger A, Bohl S, Albrecht U, Hahnel MJ, Wolf S, Mueller NS, D'Alessandro LA, Mueller-Bohl S, Boehm ME, Lucarelli P, Bonefas S, Damm G, Seehofer D, Lehmann WD, Rose-John S, Hoeven Fvd, Gretz N, Theis FJ, Ehling C, Bode JG, Timmer J, Schilling M, Klingmuller U (2017). Model Based Targeting of IL-6-Induced Inflammatory Responses in Cultured Primary Hepatocytes to Improve Application of the JAK Inhibitor Ruxolitinib. *Front Physiol*. 2017 Oct 9;8:775. doi: 10.3389/fphys.2017.00775
3. Arloth, J., Eraslan, G., Andlauer, T. F., Martins, J., Iurato, S., Kühnel, B., ... & Mueller, N. S. (2020). DeepWAS: Multivariate genotype-phenotype associations by directly integrating regulatory information using deep learning. *PLoS computational biology*, 16(2), e1007616.
4. Eraslan, G., Simon, L. M., Mircea, M., Mueller, N. S., & Theis, F. J. (2019). Single-cell RNA-seq denoising using a deep count autoencoder. *Nature communications*, 10(1), 1-14.
5. Sobotta Svantje, Raue Andreas, Huang Xiaoyun, Vanlier Joep, Jünger Anja, Bohl Sebastian, Albrecht Ute, Hahnel Maximilian J., Wolf Stephanie, Mueller Nikola S., D'Alessandro Lorenza A., Mueller-Bohl Stephanie, Boehm Martin E., Lucarelli Philippe, Bonefas Sandra, Damm Georg, Seehofer Daniel, Lehmann Wolf D., Rose-John Stefan, van der Hoeven Frank, Gretz Norbert, Theis Fabian J., Ehling Christian, Bode Johannes

G., Timmer Jens, Schilling Marcel, Klingmüller Ursula Model Based Targeting of IL-6-Induced Inflammatory Responses in Cultured Primary Hepatocytes to Improve Application of the JAK Inhibitor Ruxolitinib *Frontiers in physiology* 8 (2017): 775.

6. Guala, D., Ogris, C., Müller, N., & Sonnhammer, E. L. (2020). Genome-wide functional association networks: background, data & state-of-the-art resources. *Briefings in Bioinformatics*, 21(4), 1224-1237.

Die folgenden Publikationen befinden sich derzeit zur Veröffentlichung eingereicht oder in Vorbereitung:

1. Karolin Dehlke, Linda Krause, Silvana Tyufekchieva, Anastasia Lemekhova, Philipp Mayer, Artyom Vlasov, Markus Buechler, Ursula Klingmüller, Nikola Mueller, Katrin Hoffmann (2021). Predicting liver regeneration following major resection. Submitted.
2. Erdoesi Pia, Buettner Maren, Meyer-Bender Matthias, Kamies Rizqah, Deligiannis Ioannis K., Menden Michael P., Nikola Mueller, Dooley Steven, Martinez-Jimenez Celia P., Hammad Seddik, Ogris Christoph (2022) Multi-omics profiling identifies molecular signatures of acute-on-chronic liver failure in Abcb4KO mice upon chemical intoxication. In preparation.
3. Seddik Hammad, Christoph Ogris, Amnah Othman, Pia Erdoesi, Wolfgang Schmidt-Heck, Ina Biermayer, Barbara Helm, Yan Gao, Weronika Piorońska, Lorenza A. D'Alessandro, Fabian J. Theis, Matthias P. Ebert, Ursula Klingmüller, Jan G. Hengstler, Steven Dooley, Nikola S. Mueller. Repeated toxic injuries of murine liver are tolerated through micro steatosis and mild inflammation. Submitted