

## Einsatz der hochauflösenden Sequenzierung zur Steuerung der Behandlung solider Tumoren

I. Letovanec<sup>1</sup>, G. Berthod<sup>2</sup>, J.-P. Rey<sup>1</sup>, S. Vijgen<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Zentralinstitut der Spitäler, <sup>2</sup>Spitalzentrum des französischsprachigen Wallis, Spital Wallis, Sitten

### Einleitung

Im Verlauf der letzten zehn Jahre sind in der Krebsbehandlung grosse Fortschritte erzielt worden. Diese stehen unter anderem in Verbindung mit der Entwicklung zahlreicher Therapien, zu denen auch die sogenannten gezielten Therapien gehören. Diese Moleküle, oft Tyrosinkinase-Hemmer, sind bei zahlreichen Krebsarten wirksam, allerdings nur bei präzise ausgewählten Patienten. Diese Fortschritte in der Onkologie sind durch technologische Innovationen, insbesondere im Bereich der Sequenzierung der DNA und der RNA, mit der Entwicklung der Sequenzierung der neuen Generation (NGS) oder der hochauflösenden Sequenzierung ermöglicht worden. Sie hat zur Bestimmung und zur Charakterisierung von spezifischen molekularen Alterationen beigetragen, welche für die Entwicklung und das Fortschreiten von Tumoren verantwortlich sind. Diese onkogenen Veränderungen können die künftige Entwicklung des Tumors prognostizieren oder, was noch interessanter ist, die voraussichtliche Reaktion auf die gezielten Therapien anzeigen. Die bedeutendsten Fortschritte werden beim Lungen- und Dickdarmkrebs, bei den Melanomen, den gynäkologischen Krebsarten sowie den gastrointestinalen Stromatumoren (GISTs) beobachtet. Die Technik der hochauflösenden Sequenzierung ermöglicht mit einer einzigen Analyse den raschen Nachweis von genetischen Alterationen auf der Ebene der Tumor-DNA oder der Tumor-RNA und ist in die Vorgehensweise der personalisierten Onkologie integriert. Dieser Bereich befindet sich in ständiger Entwicklung und wir diskutieren hier nur über die Analysen mit klinischer Auswirkung.

### Die molekularen Biomarker gemäss Krebsart

Beim **Adenokarzinom der Lunge** findet man genetische Alterationen, die in 10-20 % der Fälle für eine onkogene Abhängigkeit verantwortlich sind. In einer metastatischen Situation muss immer nach diesen Anomalien gesucht werden. Die Guidelines des National Comprehensive Cancer Network (NCCN) und der Europäischen Gesellschaft für Medizinische Onkologie (ESMO) empfehlen insbesondere die Analyse der Exons 18, 19, 20 und 21 des Gens *EGFR*. Mutationen wie p.L858R oder Deletionen im Exon 19 sind assoziiert mit einer Sensibilität auf Medikamente, welche die Aktivität der Tyrosinkinase des EGFR (Anti-EGFR) hemmen. Andere Mutationen hingegen sind assoziiert mit einer Resistenz auf die Anti-EGFR der ersten und zweiten Generation. Es handelt sich insbesondere um die meisten Exon-20-Insertionen und besonders um die Mutation T790M, die sich meistens nach einer Erstbehandlung durch ein Anti-EGFR zeigt, auf die aber auch selektiv eine Anti-Kinase-Therapie der dritten Generation ausgerichtet sein kann. Die Patienten mit Adenokarzinom zeigen eine Mutation in den Genen *BRAF* oder *ERBB2* und können zu einem bestimmten Zeitpunkt auch von Therapien profitieren, welche auf diese Alterationen abzielen.

Vor kurzem sind im Adenokarzinom der Lunge Umordnungen der Gene *ALK*, *ROS1*, *RET* und *NTRK* nachgewiesen worden. Die Anwesenheit dieser Umordnungen zeigt ebenfalls die voraussichtliche Reaktion auf gewisse gezielte Therapien auf. Ihr Nachweis ist deshalb notwendig. Im Gegensatz zu den Mutationen können auch andere Techniken wie die Immunhistochemie oder die FISH (Fluorescence in Situ Hybridization) eingesetzt werden.

Die Liste der charakteristischen onkogenen Alterationen als Ursache der Adenokarzinome der Lunge (Driver-Mutationen) wird immer länger, so dass künftig gezielte Therapien für eine grössere Anzahl von Patienten in Betracht gezogen werden können (siehe Abbildung 1).

Gemäss den Empfehlungen muss bei allen Patienten mit einem metastatischen **kolorektalen Krebs** nach Mutationen in den Genen *KRAS* (Exons 2, 3, 4), *NRAS* (Exons 2, 3, 4) und *BRAF* gesucht werden. Diese Patienten profitieren nicht von einer Behandlung mit Antikörpern Anti-EGFR. Die Mutation *BRAF* V600E, die in rund 8 % der Fälle vorliegt, bewirkt eine ungünstige Prognose und eine sehr unwahrscheinliche Reaktion auf die Anti-EGFR, ausser wenn sie mit einer Behandlung assoziiert wird, die spezifisch das *BRAF* hemmt.

Rund 50 % der **Melanome** sind Träger einer Mutation des Gens *BRAF*, hauptsächlich im Codon V600, die zu einer konstitutionellen Aktivierung dieser Kinase führt. Diese Mutation sensibilisiert das Melanom auf die Hemmer von *BRAF* und von *MEK*. Bei Mutationen des Gens *KIT*, die hauptsächlich im Melanom der Schleimhaut und im akrolentiginösen Me-

lanom vorhanden sind, variiert die Sensibilität auf die Hemmer von *KIT* erheblich anhand der Mutation. Die Mutationen des *NRAS* sind Marker einer ungünstigen Prognose. Nur eine Minderheit der Patienten mit einer Mutation *NRAS* reagiert auf die Hemmer von *MEK*.

Ungefähr 80 % der **GISTs** weisen eine Mutation im Gen *KIT* auf und 5 bis 10 % der verbleibenden GISTs weisen eine Mutation im Gen *PDGFRA* auf. Das Vorhandensein oder das Fehlen von Mutationen in gewissen sehr spezifischen Regionen der Gene *KIT* und *PDGFRA* steht in Beziehung zu einer Reaktion (oder einer Nichtreaktion) auf die spezifischen Anti-Kinasen. Bei den restlichen 10 bis 15 % der Fälle können seltenere molekulare Alterationen in anderen Genen vorhanden sein.

Das Risiko für eine **gynäkologische Krebsart** wie den Brustkrebs oder den Eierstockkrebs ist im Fall einer Mutation der Gene *BRCA 1* und *2* erheblich erhöht. Diese Mutationen können auf der Ebene der Keime oder auf somatischer Ebene gesucht werden. Sie lassen eine Reaktion auf die PARP-Hemmer (Poly[ADP-ribose]-Polymerase) voraussehen. Diese Behandlungen sind gegenwärtig zur Erhaltung nach einer Chemotherapie indiziert und haben einen erheblichen Einfluss auf das Überleben dieser Patienten.

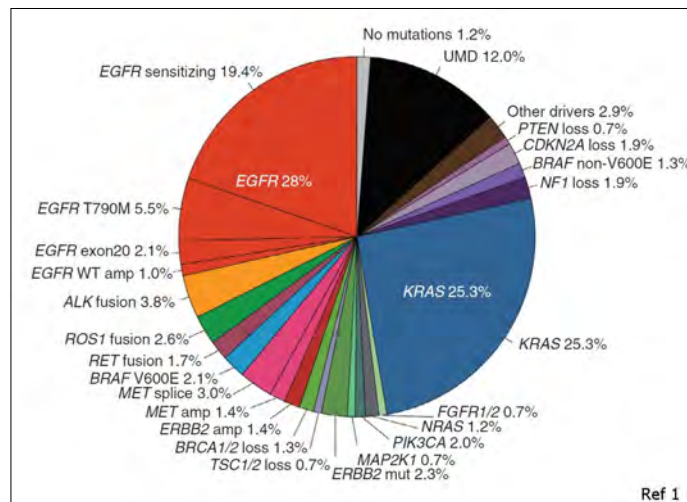


Abbildung 1 : Gegenwärtig im Adenokarzinom der Lunge nachgewiesene Driver-Mutationen

### Im ZIS angebotene Analyse

Unser NGS-Panel (Tumor Hotspot, Agilent) ermöglicht die Sequenzierung der Hotspot-Regionen von 26 Genen, die in soliden Tumoren häufig mutiert sind. Folgende Gene (Exons) werden analysiert: *AKT* (4); *ALK* (20 bis 29); *BRAF* (11,15); *CDKN2A* (1 bis 3); *CTNNB1* (3); *DDR2* (4 bis 18); *EGFR* (18 bis 21); *ERBB2* (19 bis 21); *ERBB4* (10,12); *FGFR2* (7,12,14); *FGFR3* (7,9,14,16); *H3F3A* (2); *HIST1H3B* (1); *HRAS* (2 bis 4); *IDH1* (4); *IDH2* (4); *KIT* (8 bis 11, 13, 14, 17, 18); *KRAS* (2 bis 4); *MEK1* (2,3); *MET* (2,10,14 bis 20); *NRAS* (2 bis 4); *PDGFRA* (12,14,18); *PIK3CA* (2,3,10,11,21); *PIK3R1* (11 bis 13); *PTEN* (1 bis 9); *STK11* (1 bis 9).

Die Analyse kann auf mit Formalin fixiertem und in Paraffin eingebetteten Gewebe oder anhand von zytologischen Entnahmen (ThinPrep®) durchgeführt werden. Die Frist für ein Ergebnis beträgt üblicherweise 10 Arbeitstage.

Der Nachweis von Umordnungen wird mit alternativen Techniken angeboten (Immunhistochemie und FISH). Der Nachweis der Mutationen von *BRCA1/2* erfolgt mit der entsprechenden Sequenzierung.

### Literatur

- [1] Jordan, E. J. et al. Prospective Comprehensive Molecular Characterization of Lung Adenocarcinomas for Efficient Patient Matching to Approved and Emerging Therapies. *Cancer Discov.* (2017) 7 (6) : 596-609.
- [2] National Comprehensive Cancer Network Guidelines. <https://www.nccn.org>.
- [3] Naoum, G. E. et al. Novel targeted therapies and immunotherapy for advanced thyroid cancers. *Mol. Cancer* (2018) 17 (1) : 51.
- [4] Gambardella V. et al. Personalized Medicine : Recent Progress in Cancer Therapy. *Cancers* (2020) 12 (4) : 1009.

### Kontaktperson

Dr. med. Igor Letovanec

[igor.letovanec@hopitalvs.ch](mailto:igor.letovanec@hopitalvs.ch)

[www.hopitalvs.ch](http://www.hopitalvs.ch)  
[www.spitalvs.ch](http://www.spitalvs.ch)