



## Neues DNA-Sequenzierungspanel für Präzisionsonkologie

I. Letovanec, A. Sciarra, J.-Ph. Rey, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

### Einleitung

Die Onkologie hat in den letzten fünfzehn Jahren wichtige wissenschaftliche Fortschritte gemacht, die insbesondere zur Entwicklung zahlreicher gezielter Therapien geführt haben (Präzisionsonkologie). Diese Moleküle sind bei einer wachsenden Anzahl von Krebsarten wirksam, jedoch nur bei Patienten, die auf der Grundlage des molekularen Profils des Tumors ausgewählt wurden. Die Molekularpathologie identifiziert diese Patienten durch verschiedene Techniken und insbesondere durch die Suche nach Mutationen durch Sequenzierung. Da die Anzahl potenzieller Ziele kontinuierlich zunimmt, wurde das vom Labor für Molekulare Pathologie der Abteilung für Histozytopathologie des Zentralinstituts der Spitäler vorgeschlagene Panel aktualisiert.

### Hochdurchsatz-Sequenzierung

Die klassische Sequenzierung, wie die Sanger-Methode, ermöglicht die Analyse einer bestimmten DNA-Sequenz aus einer Gewebeprobe. Vereinfacht gesagt, ermöglicht die Next Generation Sequencing (NGS) oder Hochdurchsatz-Sequenzierung die gleichzeitige Sequenzierung von Hunderttausenden von kleinen DNA-Fragmenten, die durch das verwendete Panel vordefiniert sind. Diese kurzen Sequenzen werden dann mit einem Bioinformatik-Tool zusammengestellt, um das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Mutationen in den fraglichen Genen zu bestimmen. Dieser Ansatz ermöglicht es, Zielregionen (Hotspots) einer Vielzahl von Genen gleichzeitig zu analysieren und Proben von mehreren Patienten in der gleichen Analyse zu verarbeiten, was zu einer verkürzten Analysezeit beiträgt. Die Abteilung für Histozytopathologie des Zentralinstituts der Spitäler war eine der ersten Abteilungen für Pathologie in der Westschweiz, die diese Technologie 2013 eingeführt hat.

### Entwicklung und Design des neuen DNA-Sequenzierungspanels

Um Krebspatienten eine optimale Versorgung zu bieten, wurde beschlossen, ein massgeschneidertes, zukunftsgerichtetes Panel zu entwickeln, das nicht nur alle Gene umfasst, für die derzeit eine zielgerichtete Therapie empfohlen wird, sondern auch die Gene, die für eine Behandlungsresistenz verantwortlich sind, und Gene, für die klinische und biologische Daten eine zielgerichtete Behandlung, ausgewählt nach eingehender Analyse verschiedener Datenbanken, nahelegen (OncoKB, ClinVar, VICC). Dieses Panel nimmt daher die Validierung neuer therapeutischer Ziele vorweg und liefert die notwendigen Informationen für die Einbeziehung von Patienten in mögliche Studien und für die Diskussion innovativer therapeutischer Optionen in einem Molekularen Tumorboard.

In dieses Panel wurden auch prognostische und diagnostische Gene aufgenommen, wobei das Vorhandensein spezifischer Mutationen einige Tumore prägt. Dieses neue Panel für Onkotherapie deckt daher kodierende Exone für bekannte pathogene Varianten von 57 Genen ab (siehe Tabelle für die vollständige Liste der Gene), verglichen mit 26 unter dem vorherigen Panel.

Dieses Panel wird durch ein zweites ergänzt, das die Mängel der homologen Rekombination (Homologous Repair Recombination, HRR) untersucht, die in Zusammenarbeit mit der Genetik entwickelt wurde und alle Exone der folgenden 15 Gene abdeckt: *ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, PPP2R2A, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L*.

### Analyse der Sequenzierungsdaten

Die erhaltenen Sequenzierungsdaten werden je nach klinischem Kontext bioinformatisch analysiert. Dies ist der sogenannte „virtuelle Panel“-Ansatz. Standardmässig werden nur die betroffenen, vom Tumortyp bestimmten Gene analysiert, berichtet und mit Anmerkungen versehen. Dabei handelt es sich um Gene, für die eine Behandlung zugelassen ist oder derzeit zugelassen wird. Auf Wunsch kann die Analyse auch auf andere Gene oder auf das gesamte Panel ausgedehnt werden, insbesondere bei Erschöpfung der Therapiemöglichkeiten (therapeutische Sackgasse).

Die Analyse kann an Gewebe durchgeführt werden, das mit Formalin fixiert und in Paraffin oder in zytologischen Proben (ThinPrep) eingeschlossen ist. Die Wartezeit für ein Ergebnis beträgt in der Regel 10 Werktage.

Die Identifizierung von Rearrangements wird derzeit durch alternative Techniken zur Sequenzierung (Immunhistochemie, FISH, RNA-Analyse nach der Idylla®-Methode) vorgeschlagen.

Dieses neue Panel wurde im Rahmen des Akkreditierungsverfahrens validiert.

ABL1	AKT1	ALK	APC	ARAF	BTK	BRAF	CDH1	CDKN2A	CTNNB1
EGFR	ERBB2	ERBB3	ERBB4	ERCC2	ESR1	EZH2	FGFR1	FGFR2	FGFR3
FLT3	GNA11	GNAQ	GNAS	HRAS	IDH1	IDH2	JAK2	KDM6A	KIT
KRAS	MAP2K1	MAP2K2	MET	MTOR	MYD88	NF1	NOTCH1	NPM1	NRAS
NTRK1	NTRK3	PDGFRA	PIK3CA	POLE	PTCH1	PTEN	PTPN11	RAF1	RB1
RET	SMARCB1	STK11	TP53	TSC1	TSC2	VHL			

**Grün:** Vorausschauend gemäss FDA und anderen Richtlinien (Angaben können von Swissmedic abweichen). **Blau:** Diagnostisch. **Orange:** Diagnostisch und vorausschauend

### Literatur

- [1] <https://www.oncokb.org>
- [2] National Comprehensive Cancer Network Guidelines. <https://www.nccn.org>.
- [3] Gambardella V. et al. Personalized Medicine : Recent Progress in Cancer Therapy. *Cancers* (2020) 12 (4) : 1009.

### Kontaktpersonen

PD Dr. Igor Letovanec  
Dr. Amedeo Sciarra  
Dr. Jean-Philippe Rey

igor.letovanec@hopitalvs.ch  
amedeo.sciarra@hopitalvs.ch  
j.-philippe.rey@hopitalvs.ch