

# Neue Entwicklungen der molekularen Tumordiagnostik: Chancen und Grenzen



Univ.-Prof. Dr. Irene Esposito  
Institut für Pathologie  
Zentrum für Personalisierte Medizin – Onkologie Düsseldorf



# Agenda

---

- Personalisierte Medizin
  - Chemotherapie vs zielgerichtete Therapie
  - Molekulare Tumordiagnostik: Praktische Aspekte
  - Das Molekulare Tumorboard (MTB)
  - Gewebe nicht vorhanden: Was nun?
  - Chancen und Grenzen
-

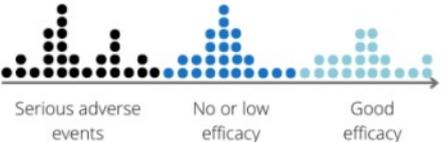
# Personalisierte Medizin – was ist das?



## Personalised medicine



### Single treatment (one-fits-all)



### DIAGNOSTIC



Genetic analysis

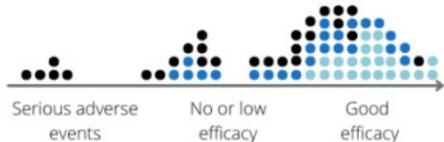


Biomarker analysis

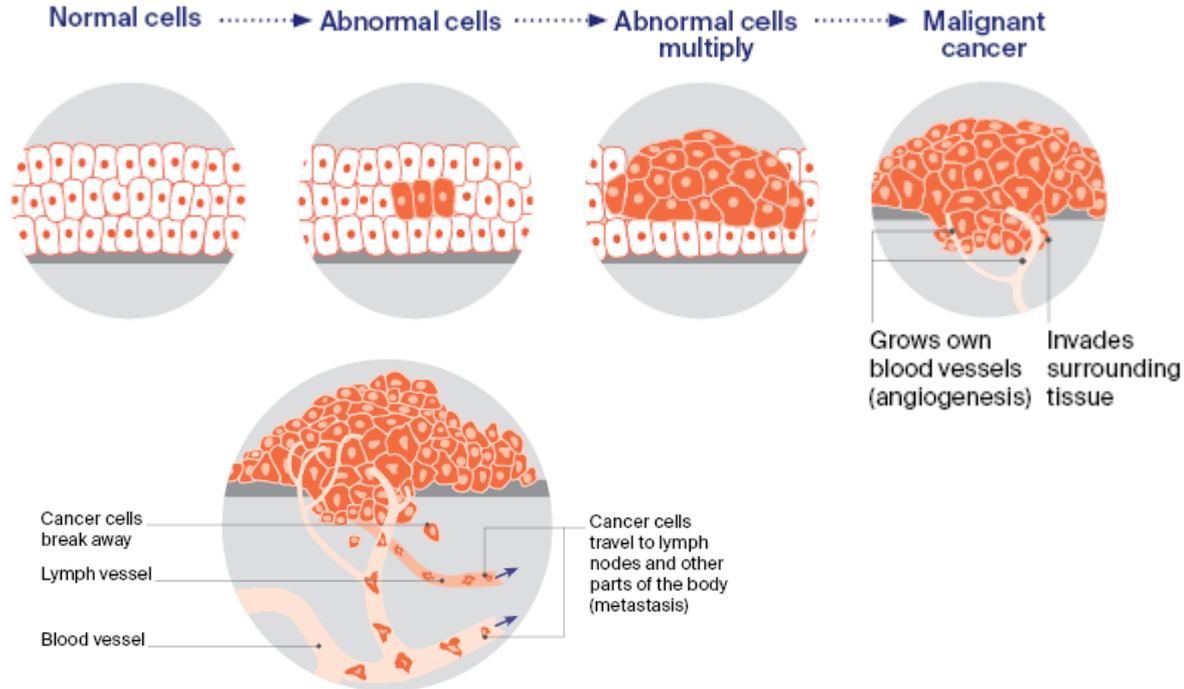


Life style analysis

### Personalised treatment

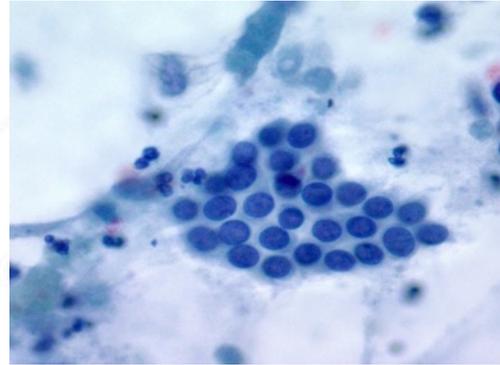
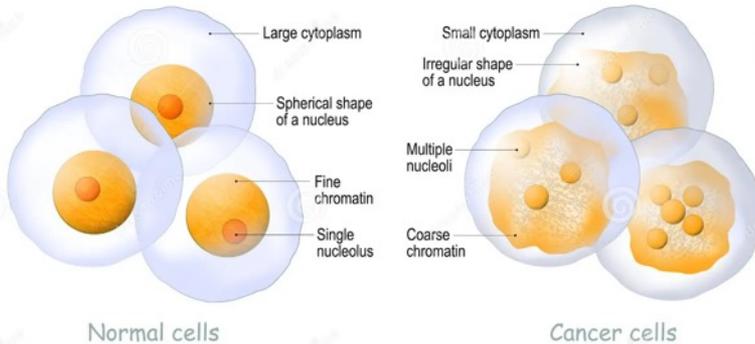


# Wie entsteht Krebs?

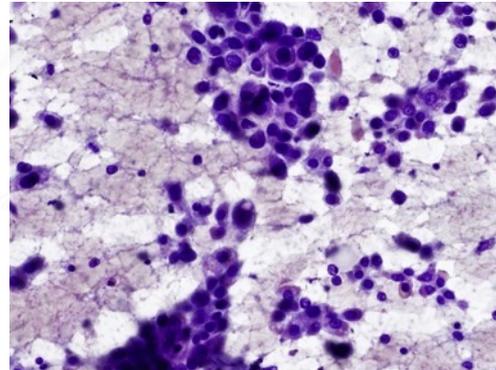


# Normale Zelle vs Krebszelle

## NORMAL CELLS and CANCER CELLS



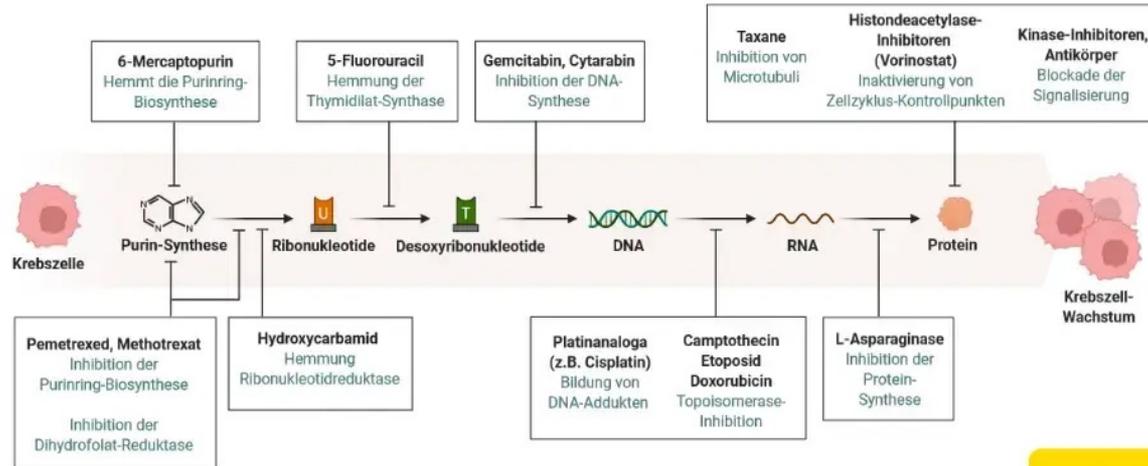
Normale Zellen der Bauchspeicheldrüse



Bauchspeicheldrüsenkrebs

# Wie funktioniert eine Chemotherapie?

## Angriffsorte von Chemotherapeutika



# Wie funktioniert eine Chemotherapie?

---



**Chemotherapie wirkt auf sich schnell teilende Zellen**

→ **Krebszellen**

... aber auch:

→ Haarwurzelzellen

→ Schleimhaut (z.B. Darm, Mund)

→ Knochenmark ...

**= Chemotherapie ist nicht zielgerichtet**

---

# Zurück zur personalisierten Medizin...

---



## Personalisierte Medizin berücksichtigt:

- Art und Stadium der Krebserkrankung
  - Allg. Gesundheitszustand und “Lifestyle” des Patienten/der Patientin
  - Mögliche Begleiterkrankungen
  - Mögliche Vor-Therapien
  - **Molekulares Profil (molekulare Eigenschaften) des Tumors**
-

# Wie funktioniert eine zielgerichtete Therapie?

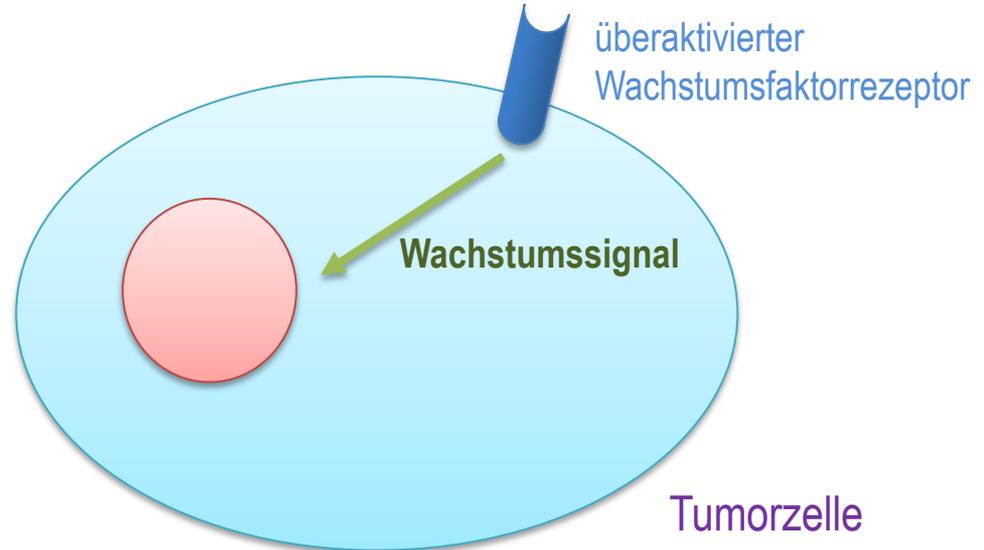
---

Molekulares Profil des Tumors = Gesamtheit der molekularen Eigenschaften (z.B. Mutationen) eines Tumors

**Mutationen** in Tumorzell-DNA



Ausbildung von **tumor-spezifischen Zell-Strukturen**  
(z.B. überaktiverer  
Wachstumsfaktorrezeptor)



# Wie funktioniert eine zielgerichtete Therapie?

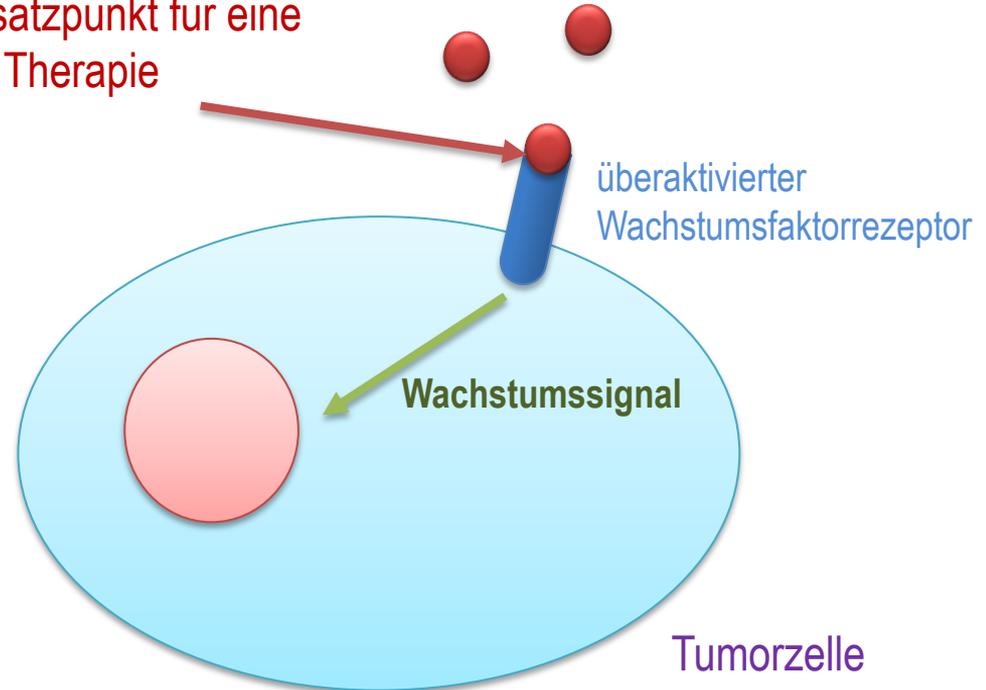
---

**Mutationen** in Tumorzell-DNA

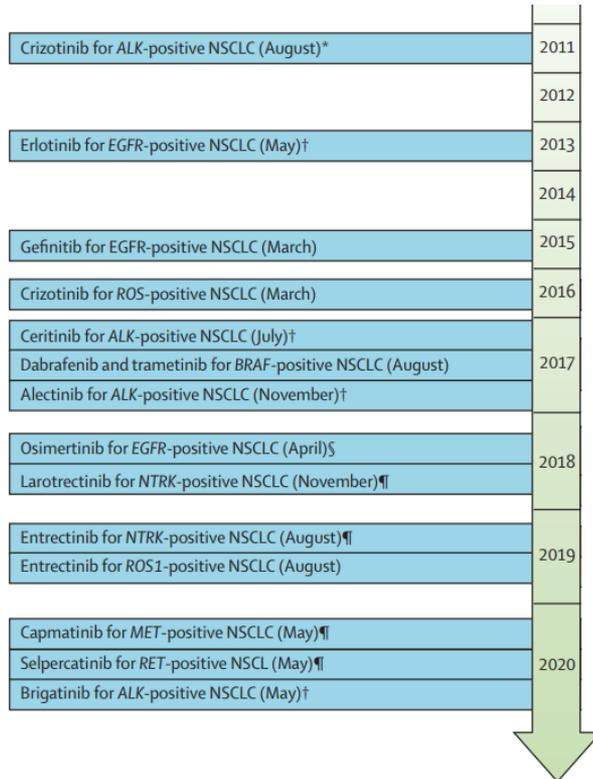


Ausbildung von **tumor-spezifischen Zell-Strukturen**  
(z.B. überaktiverer  
Wachstumsfaktorrezeptor)

Möglicher Ansatzpunkt für eine  
zielgerichtete Therapie



# Personalisierte Medizin – Rasante Entwicklung



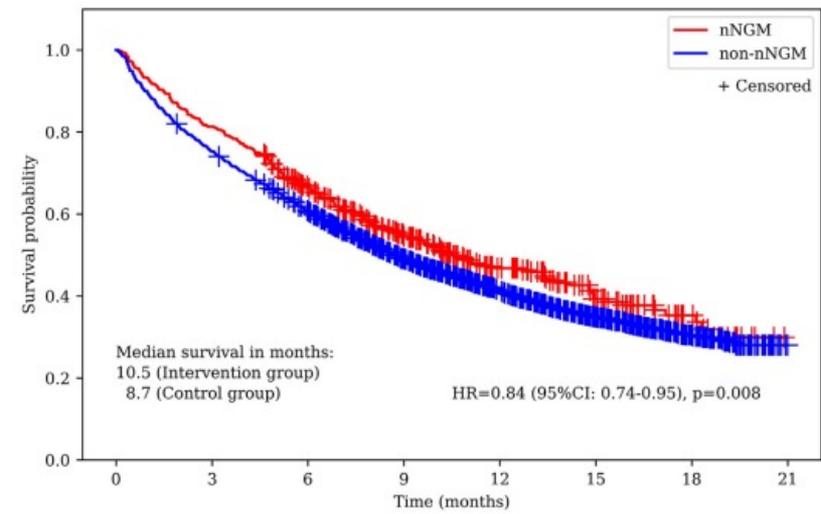
Neue Zulassungen von zielgerichteten Therapien für nicht-kleinzelligen Lungenkrebs durch die Food & Drug Administration (FDA) USA bzw. die Europäische Arzneimittelbehörde (EMA)

# Evaluation of the effectiveness of a nationwide precision medicine program for patients with advanced non-small cell lung cancer in Germany: a historical cohort analysis



nNGM | Nationales Netzwerk Genomische Medizin Lungenkrebs

Anika Kästner,<sup>a,\*</sup> Anna Kron,<sup>b,c,v</sup> Neeltje van den Berg,<sup>a,v</sup> Kilsan Moon,<sup>a</sup> Matthias Scheffler,<sup>b,c</sup> Gerhard Schillinger,<sup>d</sup> Natalie Pelusi,<sup>b,e</sup> Nils Hartmann,<sup>b,f</sup> Damian Tobias Rieke,<sup>b,g</sup> Susann Stephan-Falkenau,<sup>b,h</sup> Martin Schuler,<sup>b,j</sup> Martin Wermke,<sup>b,j</sup> Wilko Weichert,<sup>b,k,w</sup> Frederick Klauschen,<sup>b,l</sup> Florian Haller,<sup>b,m</sup> Horst-Dieter Hummel,<sup>b,n</sup> Martin Sebastian,<sup>b,o</sup> Stefan Gattenlöhner,<sup>b,p</sup> Carsten Bokemeyer,<sup>b,q</sup> Irene Esposito,<sup>b,r</sup> Florian Jakobs,<sup>b,s</sup> Christof von Kalle,<sup>b,t</sup> Reinhard Büttner,<sup>b,u</sup> Jürgen Wolf,<sup>b,c,x</sup> and Wolfgang Hoffmann<sup>a,x</sup>



nNGM								
At risk	509	414	312	196	113	56	22	0
Censored	0	0	29	95	153	197	227	246
Events	0	95	168	218	243	256	260	263
non-nNGM								
At risk	7213	5430	4370	2843	1852	1008	316	0
Censored	0	1	17	779	1380	1979	2582	2884
Events	0	1782	2826	3591	3981	4226	4315	4329

# Vor- und Nachteile von zielgerichteten Therapien

---

Vorteile	Nachteile
Erhöhte Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit der Therapie, da Ziel bekannt	Teuer, oft nicht durch Krankenkasse bezahlt
Gezieltes Angreifen von Tumorzellen → weniger Effekte auf gesunde Zellen	Zielsuche ist Voraussetzung (Aufwand)
Weniger vielversprechende Therapien werden erspart	Oftmals nur Bremsen des Tumorwachstums

---

# Was passiert in der Pathologie?

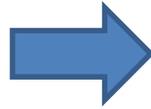
---



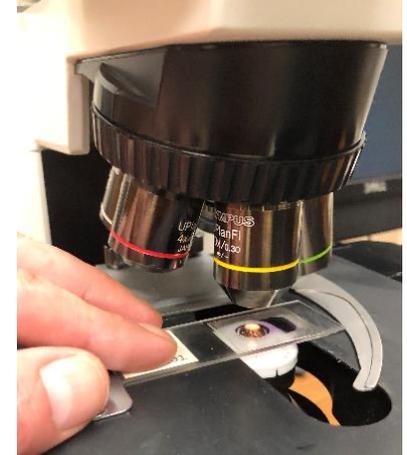
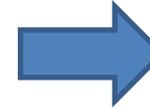
# Was passiert in der Pathologie?



**Gewebeprobe wird  
entnommen  
(Biopsie)**

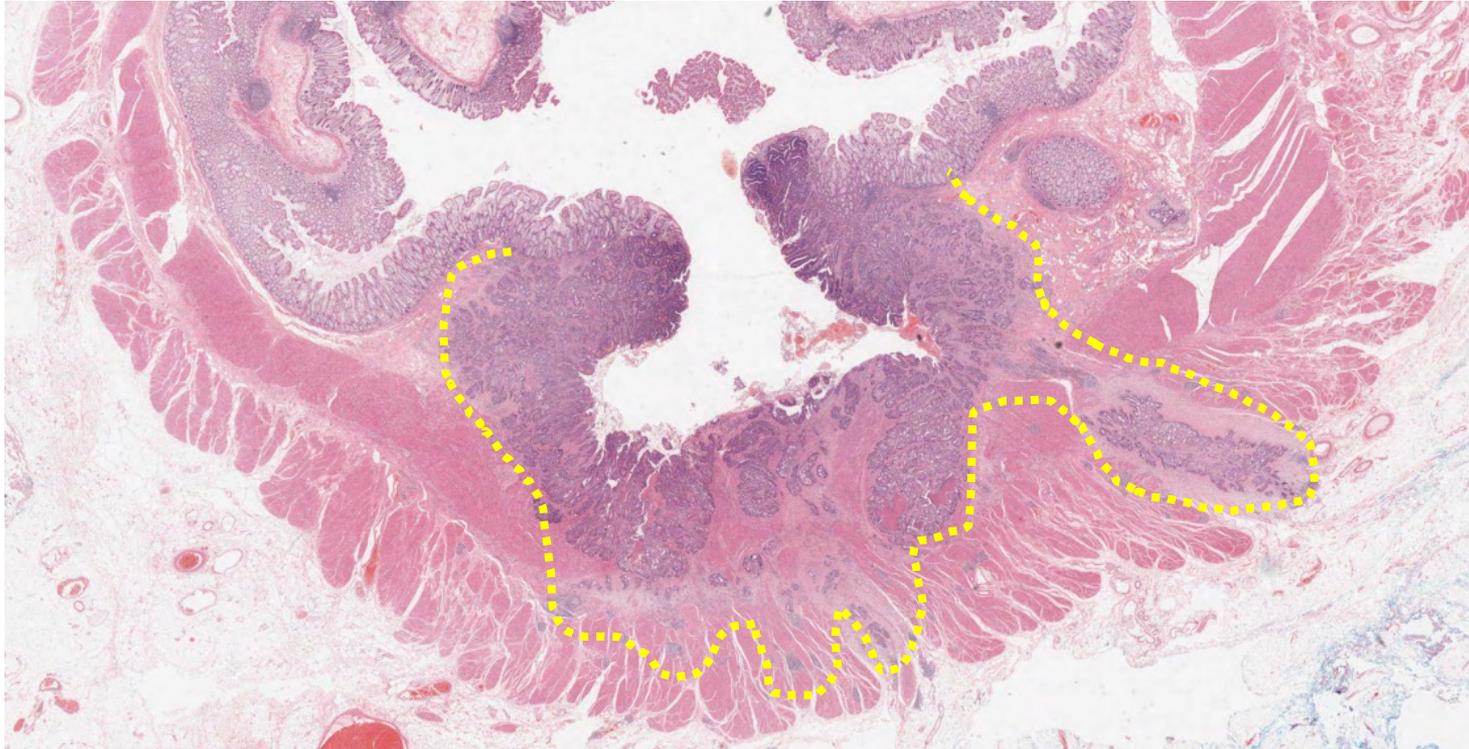


**Gewebeprobe wird  
im Labor bearbeitet**

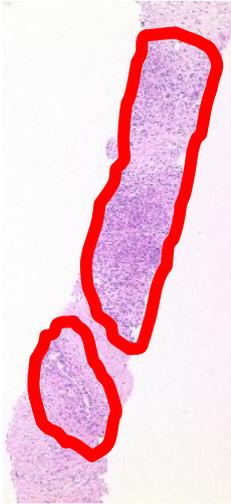


**Gewebeprobe wird  
unter dem Mikroskop  
beurteilt  
(Tumor? Welcher? Wie viel?)**

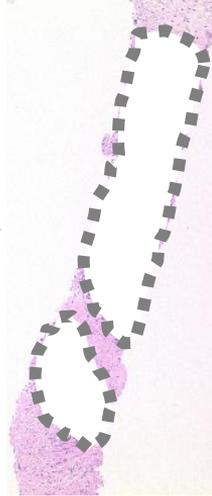
# Tumor unter dem Mikroskop



# Molekulare Untersuchung eines Tumors



Auswahl des  
Tumorgewebes aus  
einer Gewebeprobe



“Herauskratzen” des  
Tumorgewebes



Gewinnung von  
Tumor-DNA aus  
Tumorgewebe



Auslesen der  
Tumor-DNA

# Molekulare Untersuchung eines Tumors



**Gen**  
 AKT1  
 ALK  
 BRAF  
 CTNNB1  
 DDR2  
 EGFR  
 ERBB2  
 ERBB4  
 FBXW7  
 FGFR1  
 FGFR2  
 FGFR3  
 KRAS  
 MAP2K1  
 MET  
 NOTCH1  
 NRAS  
 PIK3CA  
 PTEN  
 SMAD4  
 STK11  
 TP53

Hotspot genes			Full-length genes		
AKT1	ESR1	KIT	PDGFRRB	ARID1A	FBXW7
AKT2	EZH2	KNSTRN	PIK3CB	ATM	MLN1
AKT3	FGFR1	KRAS	PIK3CA	ATR	MRE11
ALK	FGFR2	MADON	PPP2R1A	JTRK	MSH6
AR	FGFR3	MAP2K1	PTEN	BAP1	MSH2
ARAF	FGFR4	MAP2K2	RAC1	BRC1A	NBN
AXL	FLT3	MAP2K4	RAC2	NF1	RNF43
BRAF	FOXO2	MAPK1	RET	CDK12	NF2
BTX	GATA2	MAX	RBE1	CDKN1B	NOTCH1
CBL	GNA11	MDM4	RHOA	CDKN2A	NOTCH2
CCND1	GNAQ	MDM2	ROS1	CDKN2B	NOTCH3
CDK4	GNA3	ME1	SF3B1	CHN1	RLLB2
CDK6	H3F3A	MTOR	SMAD4	CREBBP	PKC1R1
FGFR3	CHK2	HISTH3B	MYC	SMO	FANCA
FGFR3	CSF1R	MYCN	SPOC	FANCB	PTG2
CTNND1	DDR2	IDH1	NFE2L3	STAT3	PTCH1
EGFR	ERBB2	JAK1	NTRK1	TOP1	
ERBB3	JAK2	NTRK2	LOXAF1		
ERBB4	JAK3	NTRK3	XPO1		
ERCC2	KDR	PDGFRA			

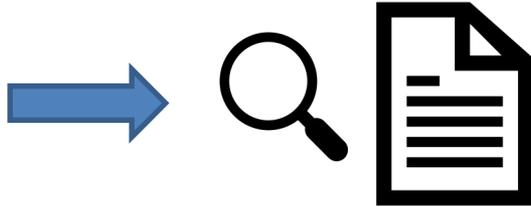
Gene																			
ABL1	BCORL1	CHD2	EPCAM	FGF19	GPR124	IGF1	LYN	MYO8B	PDGFRB	PTPRS	SDHC	TAF1	ZNF217						
ABL2	BCR	CHD4	EPHA3	FGF2	GPS2	IGF1R	LYR1	MYO10	PDK1	PTPR	SETBP1	TBK1	ZNF703						
ACVR1	BIRC3	CHEK1	EPHA5	FGF23	GREM1	IGF2	MAGI2	NAB2	PDPK1	OKI	SETD2	TCEB1	ZRSR2						
ACVR1B	BLM	CHEK2	EPHA7	FGF3	GRIN2A	IKBKE	MALT1	NBN	PGR	RAB35	SF3B1	TCF3							
AKT1	BNP1R1A	CIC	EPHB1	FGF4	GRM3	IGZF1	MAP2K1	NCOA3	PI16	RAC1	SH2B3	TCF7L3							
AKT2	BRAF	CREBBP	EPHB2	FGF5	GSX3B	IL10	MAP2K2	NCOR1	PHOX2B	RAD21	SHD1A	TERC							
AKT3	BRC1A1	CRKL	ERBB3	FGF6	H3F3A	IL7R	MAP2K4	NEGR1	PIK3C2B	RAD50	SHO1	TERT							
ALK	BRC1A2	CRF2	ERBB4	FGF7	H3F3B	INH1A	MAP3K1	NF1	PIK3C2G	RAD51	SU12	TE11							
ALX1	BRD4	CSF1R	ERCC1	FGF8	H3F3C	INH1B	MAP3K13	NF2	PIK3C3	RAD51B	SLM4	TYT2							
ANKRD11	BRP1	CSF3R	ERCC2	FGF9	HGF	INPP4A	MAP3K14	NFE2L2	PIK3CA	RAD51C	SMAD2	TFE3							
ANKRD26	BTG1	CSNK1A1	ERCC3	FGFR1	HIST1H1C	INPP4B	MAP3K4	NFKBIA	PIK3CB	RAD51D	SMAD3	TTRC							
APC	BTX	CTCF	ERCC4	FGFR2	HIST1H2BD	INSR	MAPK1	NKX2-1	PIK3CD	RAD51E	SMAD4	TGFBRL1							
AR	C11orf30	CTSL4	ERCC5	FGFR3	HIST1H3A	IRF2	MAP3K5	NKX2-1	PIK3CG	RAD54L	SMARCA2	TGFB2							
ARAF	CALR	CTNNA1	ERG	FGFR4	HIST1H3B	IRF4	MAX	NOTCH1	PIK3R1	RAF1	SMARCB1	TMEM127							
ARFRP1	CARD11	CTNNB1	ERRF1	FH	HIST1H3C	IRS1	MCCL1	NOTCH2	PIK3R2	RANBP2	SMARCD2	TMPPS52							
ARID1A	CAS9	CUL3	ESK1	FLCN	HIST1H3D	IRS2	MCC1	NOTCH3	PIK3R3	RARA	SMC1A	TNFAIP3							
ARID1B	CBR1	CUX1	ETS3	FU1	HIST1H3E	JAK1	MDM2	NOTCH4	PIW1	RASA1	SMO	TNFRSF14							
ARID2	CBL	CXCR4	ETV1	FLT1	HIST1H3F	JAK2	MDM4	NPM1	PLCG2	RBL1	SMC3	TOP1							
ARID5B	CCND1	CVLD	ETV4	FLT3	HIST1H3G	JAK3	MED12	NRAS	PLK2	RBM10	SNAIIP	TOP2A							
ASXL1	CCND2	DAXX	ETV5	FLT4	HIST1H3H	JUN	MEZB	NRG1	PMAIP1	RECQL4	SCC1	TP53							
ASXL2	CCND3	DCUN1D1	ETV6	FOXA1	HIST1H3I	KAT5A	MEN1	NSD1	PMS1	REL	SOX10	TP63							
ATM	CCNE1	DDR2	ESWR1	FOXO2	HIST1H3J	KDM5A	MET	NTRK1	PMS2	RET	SOX17	TRAF2							
ATR	CD274	DDX41	EZH2	FOXO1	HIST2H3A	KDM5C	MGA	NTRK2	PARG1	RFWD2	SOX2	TRAF7							
ATRAX	CD276	DHX15	FAM123B	FOXP1	HIST2H3C	KDM6A	MITE	NTRK3	POU1F1	RHB18	SOX9	TSC1							
AURKA	CD74	DICER1	FAM175A	FRS2	HIST2H3D	KDR	MLL1	NUP93	POLE	RHOA	SFEN	TSC2							
AURKB	CD79A	DUS3	FAM446C	FUBP1	HIST3H3	KEAP1	MLL	NUTM1	PPARG	BICTOR	SPON	TSHR							
AXIN1	CD79B	DNAH1B	FANCA	FYI	HLLA-A	KEL	MLT13	PAK1	PPM1D	RIT1	SPTA1	UZAF1							
AXIN2	CDK7	DNMT1	FANCC	GABRA6	HLLA-B	NF5B	MPL	PAK3	PPP1R1A	RNF43	SRC	VSGFA							
AXL	CDH1	DNMT3A	FANCD2	GATA1	HLLA-C	KIT	MRE11A	PAK7	PPP2R2A	ROS1	SRSF2	WHL							
B2M	CDK12	DNMT3B	FANCE	GATA2	HNF1A	KLFA	MSH2	PALB2	PPP6C	RPS6KA4	STAG1	VTGNC1							
BAP1	CDH4	DOTY1	FANCF	GATA3	HRN1PW	KLHL6	MSH3	PAK13	PPP1R1B	RPS6KB1	STAG2	WSP1							
BARD1	CDK6	E2F3	FANCG	GATA4	HNOX13	KMT2B	MSH6	PARP1	PREX2	RPS6KB2	STAC3	WT1							
BBC3	CDK8	EED	FANCI	GATA6	HRAS	KMT2C	MST1	PAX3	PRKARIA	RPTOR	STAT4	XIAP							
BCL10	CDKN1A	EGFL7	FANCL	GEN1	HSD3B1	KMT2D	MST1R	PAX5	PRKCI	RUNX1	STAT5A	XPO1							
BCL2	CDKN1B	EGFR	FANCD1	GIG4	HSP90AA4	HRAS	MTOR	PAK7	PRKDC	RUNX1T1	STAT5B	KCC2							
BCL2L1	CDKN2A	E1F1AX	FAT1	GLI1	ICOSLG	LAMP1	MUTYH	PAX8	PRSS8	RYBP	STK11	YAP1							
BCL2L11	CDKN2B	E1F4A2	FBXW7	GNA11	ID3	LATS1	MYB	PBRM1	PTCH1	SDHA	SKAO	YES1							
BCL2L2	CDKN2C	E1F4E	FGF1	GNA13	IDH1	LATS2	MYC	PCD1	PTEF	SDHAF2	SUFU	ZBTB8							
BCL6	CEP3A	EML4	FGF10	GNAO1	IDH2	LMO1	MYCL1	PCD11LG2	PTPN11	SOH1	SUZ12	ZBTB7A							
BCOR	CENPA	EP300	FGF14	GNAS	IFNGR1	LRR1B	MYCN	PDGFRA	PTPRD	SDHC	SYK	ZHX3							

**kleines Genpanel**  
 (ca. 20 Gene)

**mittleres Genpanel**  
 (ca. 150 Gene)

**großes Genpanel**  
 (> 500 Gene)

# Molekulare Untersuchung des Tumors



## Analyse, Interpretation, Befund

Welche Mutationen gibt es?

Welche sind relevant für den Tumor (“pathogen”)?

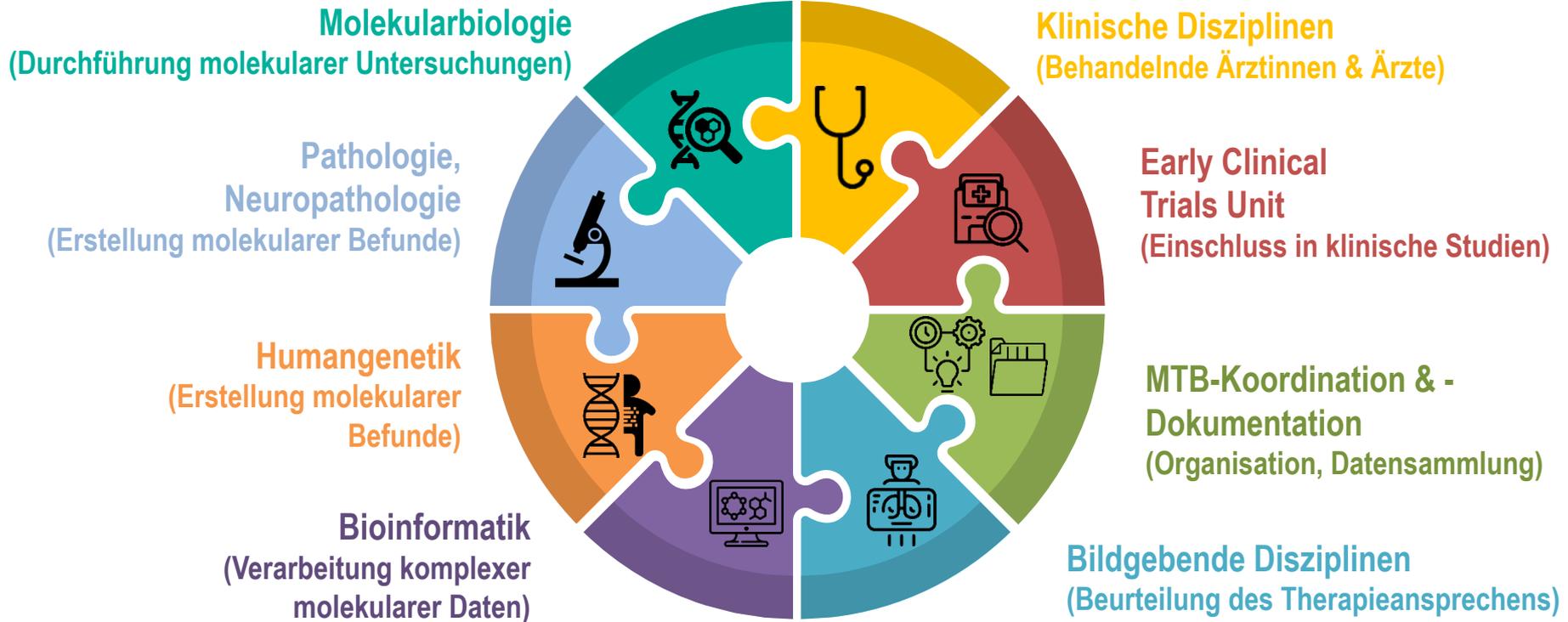
Ergeben sich Therapieempfehlungen?

### Ergebnis:

Es wurden folgende Mutationen bzw. Sequenzvarianten unbekannter Signifikanz (VUS) identifiziert:

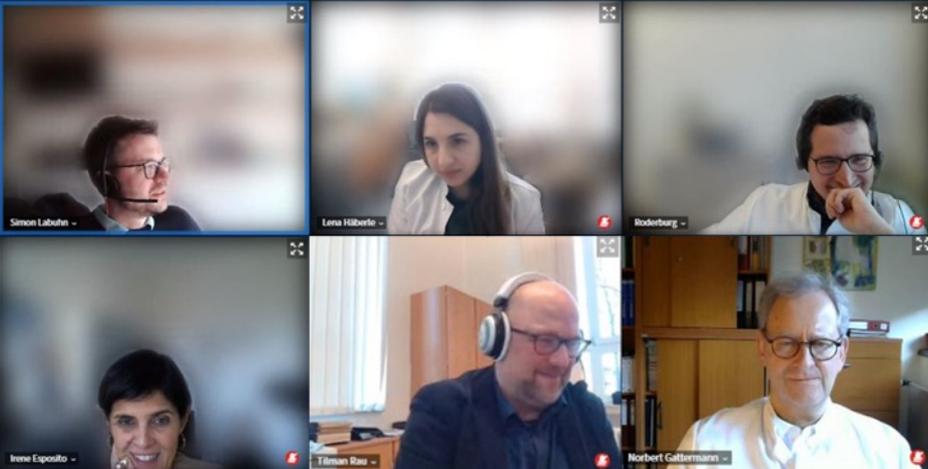
Gen	Allel-freq. %	Exon	HGVS_c	HGVS_p	Bewertung	Referenz
BRCA2	51,48	11	c.3847_3848del	p.Val1283Lysfs	pathogen; wahrsch. onkogen & wahrsch. loss-of-function	ClinVar; cBioPortal; dbSNP
NOTCH2	46,56	27	c.4897G>A	p.Val1633Ile	VUS; SNP rs116321057 (TOPMED AF=0.00091)	ClinVar; cBioPortal; dbSNP
NOTCH3	39,23	17	c.2738C>T	p.Pro913Leu	VUS; SNP rs370422650 (GnomADex AF=0.00019)	ClinVar; cBioPortal; dbSNP
TERT	26,63	3	c.1663G>C	p.Glu555Gln	VUS; SNP rs1413965241 (Keine AF)	ClinVar; cBioPortal; dbSNP
TSC2	45,77	34	c.4105C>T	p.Arg1369Trp	VUS; SNP rs45517328 (GnomADex AF=0.00024)	ClinVar; cBioPortal; dbSNP

# Was ist ein molekulares Tumorboard (MTB)?



# Was ist ein molekulares Tumorboard (MTB)?

Molekulares Tumorboard



Es wurden folgende Mutationen identifiziert

Gen	Alter-Freq. %	Exon	HOV1_c	HOV1_p	Bewertung	Referenz
KRAS	43,95	2	c.35G>A	p.Gly12Asp	pathogen; onkogen & gain-of-function	Clarixar, cislaPortal
PIK3CA	20,45	10	c.1835G>A	p.Glu545Lys	pathogen; onkogen & gain-of-function	Clarixar, cislaPortal
BRAD4	48,62	12	c.1810A>G	p.Arg537Gly	wahrsch. pathogen & wahrsch. loss-of-function	cislaPortal

Zusätzlich finden sich folgende Sequenzvarianten unbekannter Signifikanz (VUS):

Gen	Alter-Freq. %	Exon	HOV1_c	HOV1_p	Bewertung	Referenz
FNCA3	48,13	1	c.234>G	p.Asn78Ile	VUS, SNP rs37448768 (GreenDex AP-H100032)	Clarixar, cislaPortal, dbSNP
NOTCH1	49,02	34	c.891T>G	p.Leu2394Val (SAC, AP-H100037)	VUS, SNP rs38892527	Clarixar, cislaPortal, dbSNP
NOTCH1	49,87	17	c.2830G>A	p.Arg750Gln	VUS, SNP rs38811392 (TOPMED AP-H100088)	Clarixar, cislaPortal, dbSNP

Alle weiteren untersuchten Genartschnitte enthalten keine pathogener Varianten, d.h. sie liegen in der Wildtypkonfiguration vor. Eine Aussage bezüglich Genexpressionsänderungen (CNV) ist aufgrund unzureichender DNA-Qualität nicht möglich.

**SI RNA-basierte Genexpressionsanalysen von 48 Tumor-assoziierten Genen durch Parallelisierung:**

**Methodik:**  
 - RNA-Extraktion aus Paraffin-eingebetteten Tumorgewebe.  
 - cDNA-Synthese und Amplifikation 48 generierter Fusionengen mit 400 Fluoreszenzmarkern von NTRK1-3 (Droomba Comprehensive Assay v3 Plus RNA, Thermo Fisher).  
 - Sequenzierung auf einem Ion S5-NGS-System (Thermo Fisher).

**Ergebnis:**  
 Kein Nachweis einer Expression eines Genfusionstranskripts insbesondere von NTRK1-3-Genfusionen.

**Fragestellung**  
 Recidiv?  
 Bitte um Diskussion der molekularpathologischen Befunde insbesondere auf Hinblick auf mögliche zielgerichtete Therapiemöglichkeiten.

**Konferenzbeschluss**

---

**Konferenzteilnehmer**

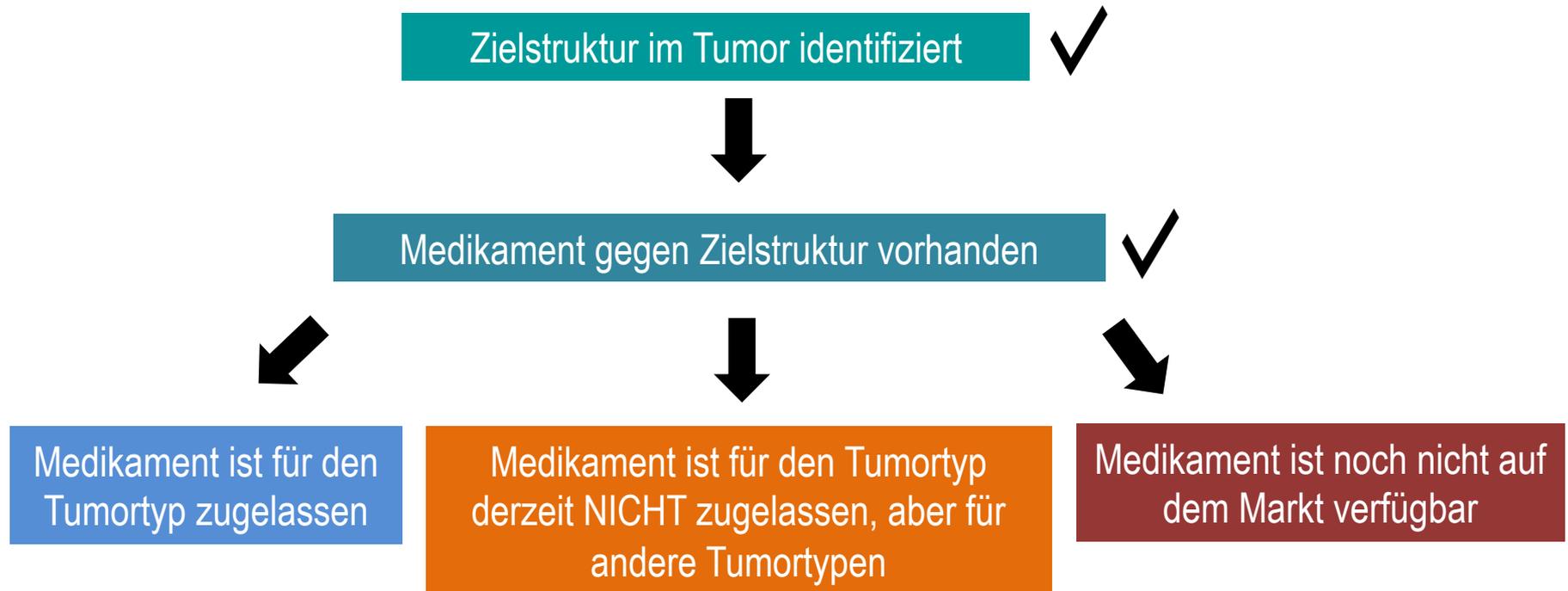
Name	Fachrichtung	Standort

Widerrufen: Tumorboard des Zentrums für Personalisierte Medizin Düsseldorf Seite 4 von 4



# Umsetzung der Personalisierten Medizin / zielgerichteten Therapie in die Praxis

---



# Umsetzung der Personalisierten Medizin / zielgerichteten Therapie in die Praxis

---

Medikament ist für den Tumortyp zugelassen



Therapie unkompliziert möglich

Medikament ist für den Tumortyp derzeit NICHT zugelassen, aber für andere Tumortypen



Therapie im Rahmen von Therapiestudien **oder** als "Off-Label-"Therapie möglich (Kostenübernahmeantrag)

Medikament ist noch nicht auf dem Markt verfügbar

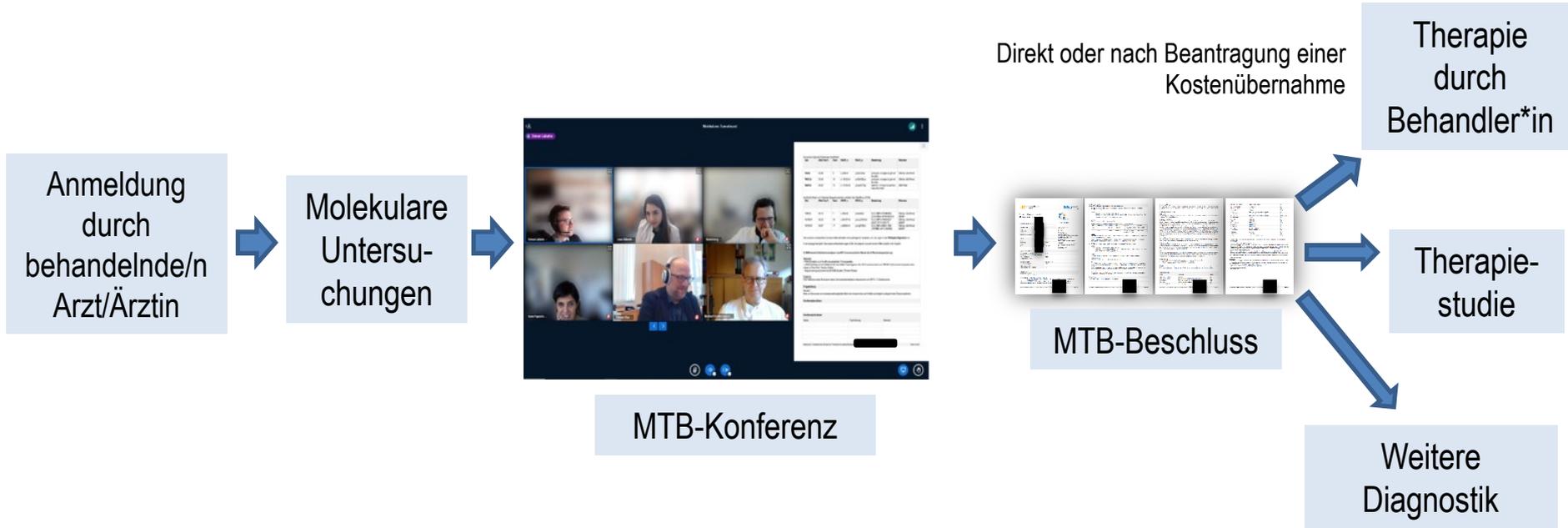


Therapie im Rahmen von Therapiestudien möglich

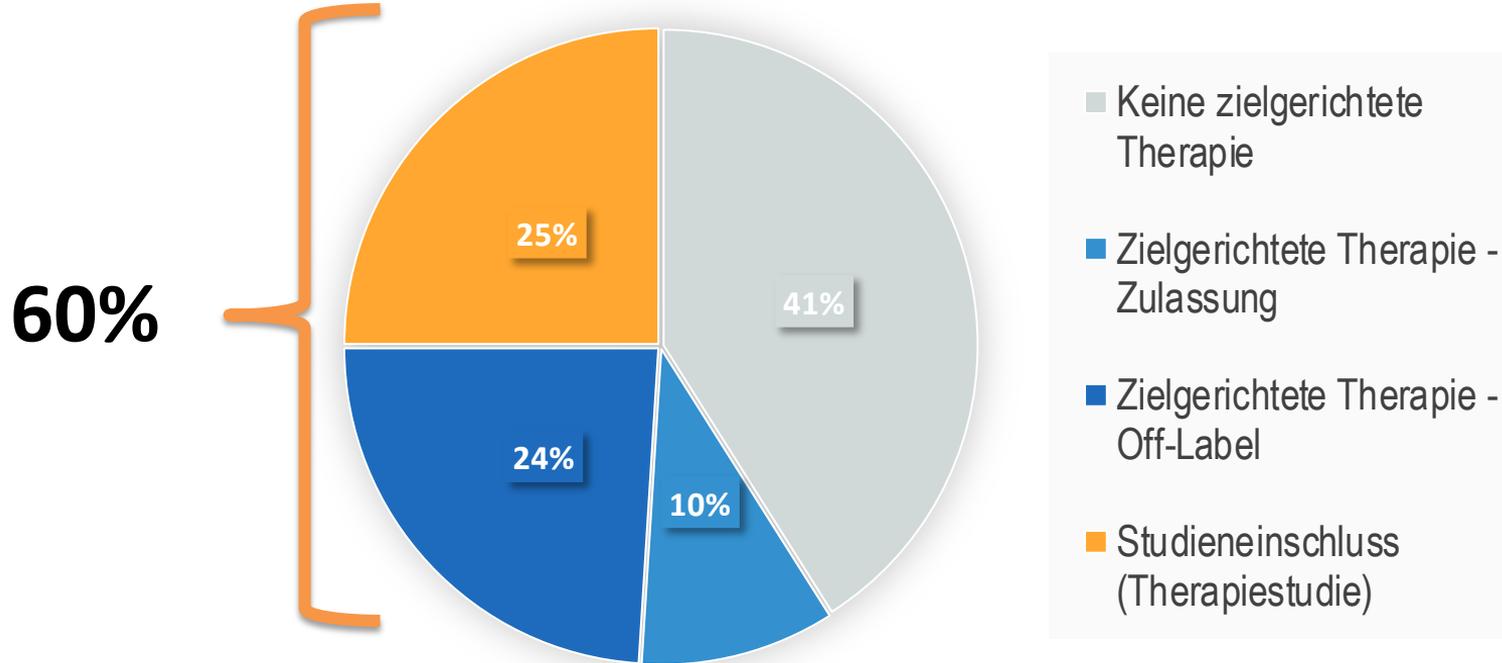
---

# Umsetzung der Personalisierten Medizin / zielgerichteten Therapie in die Praxis

---

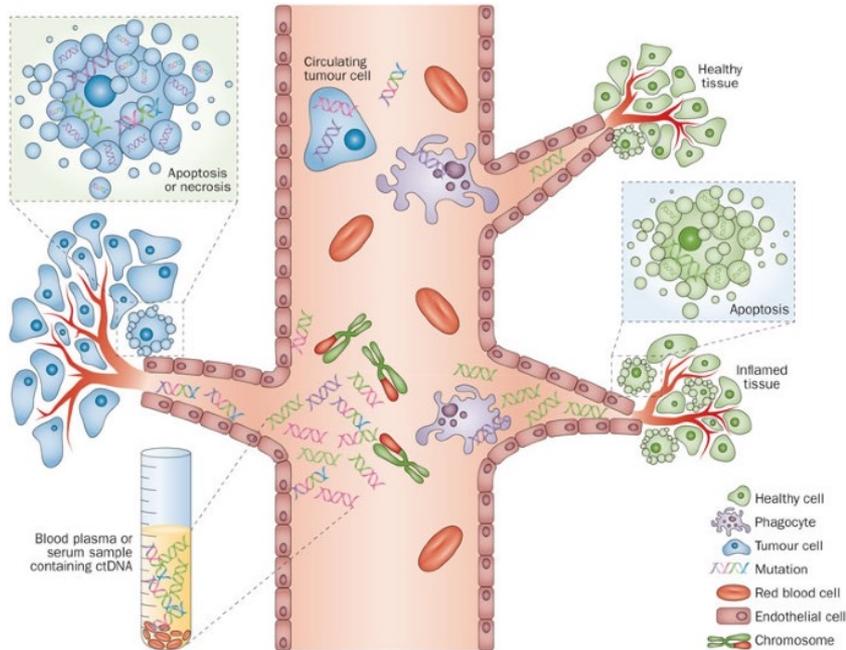


# ZPM-Onkologie Düsseldorf: real-world Daten



# Neue Methoden der molekularen Diagnostik

## Klassische Liquid Biopsy: Liquid Biopsy aus Blut



Tumoren geben Tumorzellen ins Blut ab

→ Blut kann auf zirkulierende Tumorzellen und ihre DNA untersucht werden

→ Mutationen der Tumorzellen können nachgewiesen werden

# Liquid biopsy: Mögliche Anwendungen

---

- Monitoring der fortgeschrittenen Erkrankung: ct-DNA ist spezifischer als konventionelle Tumormarker (bsp. CEA oder CA 19-9)
- Prognose: ct-DNA-Werte korrelieren mit dem Überleben
- Frühdiagnose
- Therapie-Resistenz

# Neue Methoden der molekularen Diagnostik

## Klassische Liquid Biopsy: Liquid Biopsy aus Blut

Zulassung von Elacestrant beim ER+/HER2-  
Mammakarzinom mit ESR1-Mutation

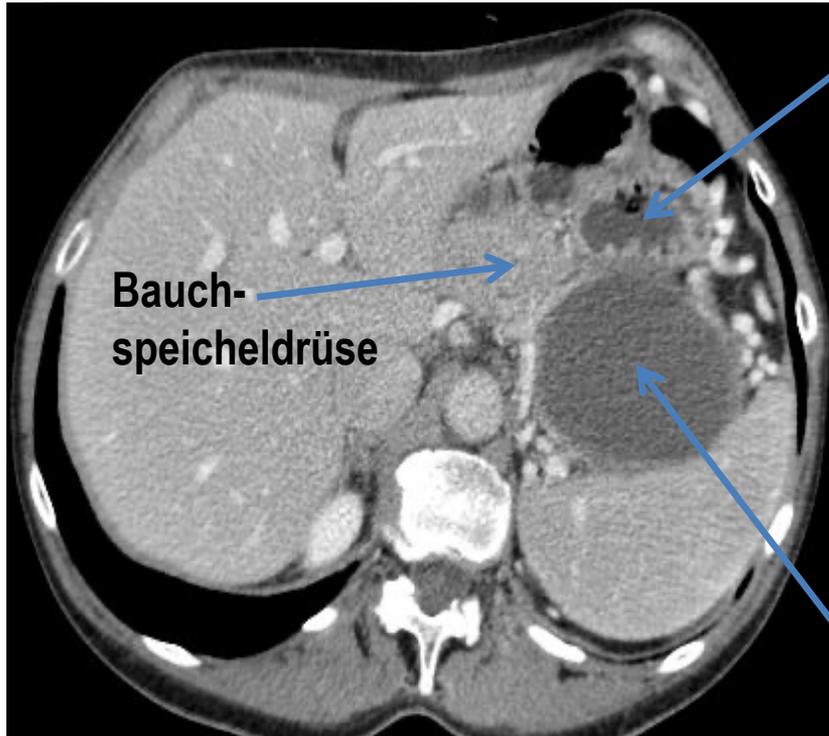
25. September 2023



© Axel Kock - stock.adobe.com

### Beispiel:

Patient\*innen mit Brustkrebs können mit dem Anti-Östrogen Elacestrant behandelt werden, wenn eine ESR1-Mutation im Blut nachgewiesen wurde



Magen

## Liquid Biopsy aus Zysten der Bauchspeicheldrüse

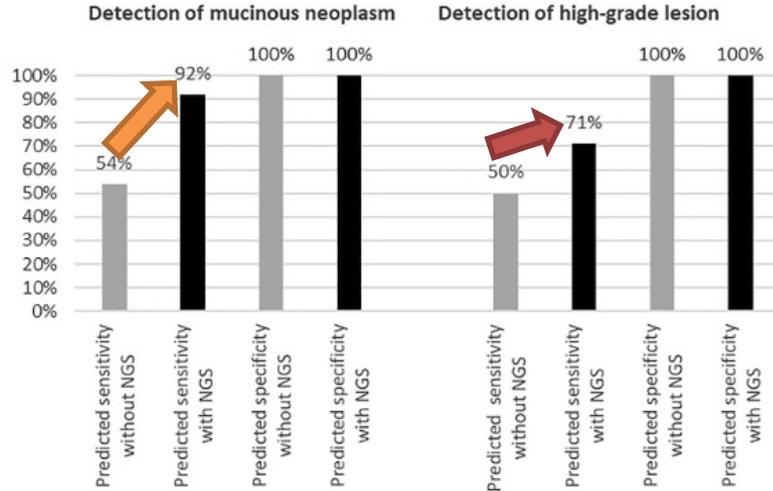
Pankreaszysten als Zufallsbefund im CT

→ gutartig oder bösartig?

Zyste

# Neue Methoden der molekularen Diagnostik

## Liquid Biopsy aus Zysten der Bauchspeicheldrüse



Molekulare Untersuchungen der Zystenflüssigkeit ermöglichen den Nachweis von Mutationen

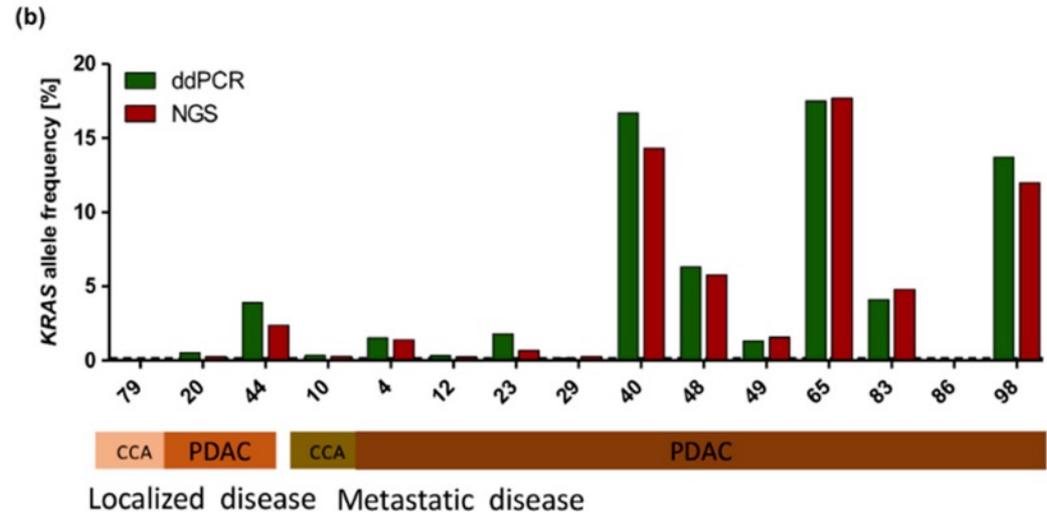
→ Erhöhte Nachweisrate von potenziell bösartigen Zysten

# Neue Methoden der molekularen Diagnostik

## Liquid Biopsy aus Gallenflüssigkeit

Mutationsnachweis in der Gallenflüssigkeit bei Patient\*innen mit Karzinomen der Gallenwege und der Bauchspeicheldrüse

Möglichkeit der Verfolgung des Krankheitsverlaufes („Tumormarker“)



# Chancen und Grenzen

---

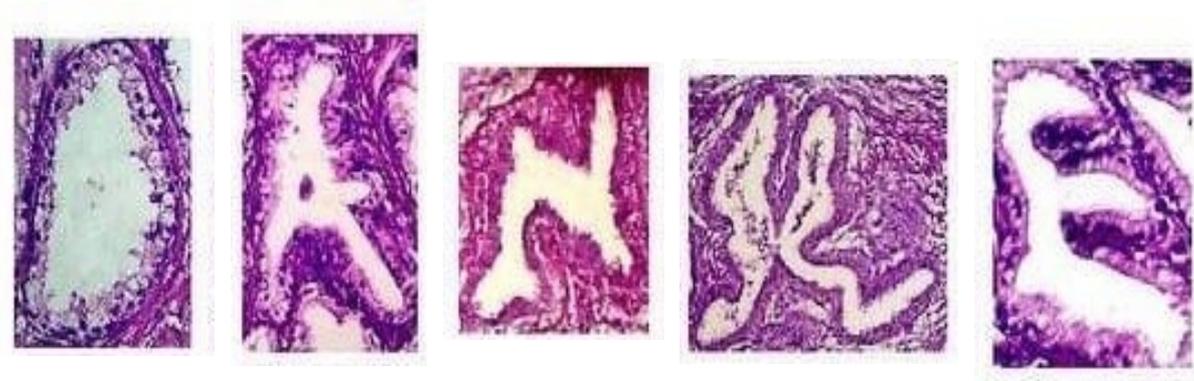


- Fortgeschrittene Erkrankungen
- Technische Limitationen
- Kein Ziel
- Keine Therapiemöglichkeit
- Keine Heilung

- Erweiterte Therapieoptionen
  - Erhöhte Wahrscheinlichkeit der Wirksamkeit mit weniger Komplikationen
  - Kontinuierliche Fortschritte (Material, Methoden, Medikamente)
  - Erweiterte Möglichkeiten der Kostenübernahme am Horizont
  - Evidenzgenerierung für erweiterte Indikation
-

# Wer sind wir?





nNGM

Nationales Netzwerk  
Genomische Medizin  
Lungenkrebs

[zpm@med.uni-duesseldorf.de](mailto:zpm@med.uni-duesseldorf.de)

[mtb@med.uni-duesseldorf.de](mailto:mtb@med.uni-duesseldorf.de)

[irene.esposito@med.uni-duesseldorf.de](mailto:irene.esposito@med.uni-duesseldorf.de)



dnpm  
Deutsches Netzwerk für  
Personalisierte Medizin