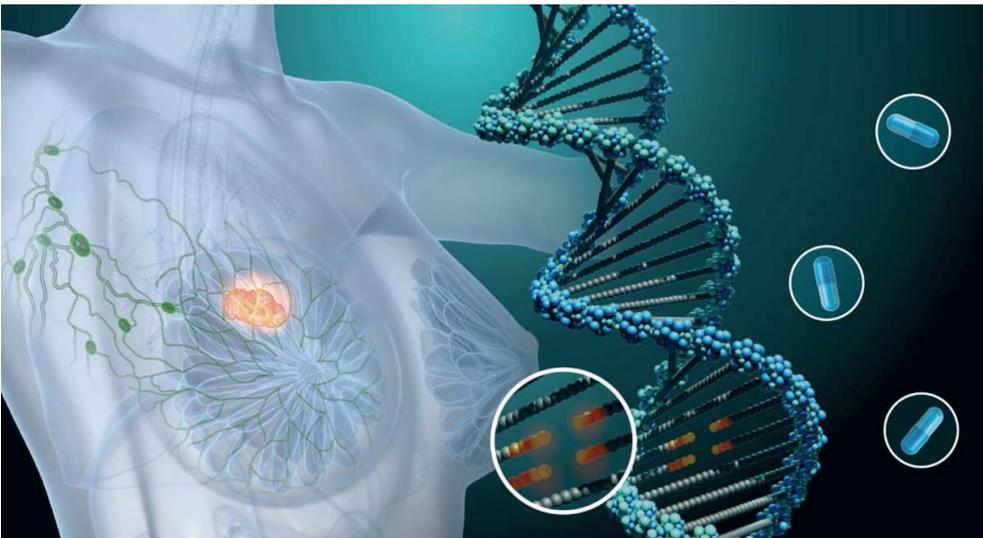


# Molekulare Tumordiagnostik beim Mammakarzinom

Prof. Dr. med. Christian Jackisch, Prof. Dr. med. Peter J. Wild

VNR: 2760602022333750001

Ein Abkürzungsverzeichnis findet sich online unter [www.laekh.de](http://www.laekh.de), Ausgabe 01/2023.



## Zusammenfassung

Die Therapie des Mammakarzinoms hat sich in den beiden vergangenen Dekaden von der „one size fits all“ Therapie zu einer individualisierten Therapie weiterentwickelt. Die Analyse von genetischen Veränderungen kann eine therapeutische Relevanz in jeder Krankheitsphase für die betroffene Patientin haben und bietet darüber hinaus auch eine Möglichkeit zur Prävention für nicht betroffene Familienangehörige.

Die Anpassung der Radikalität der lokalen operativen und strahlentherapeutischen Maßnahmen hat zu einer relevanten Morbiditätsreduktion mit Verbesserung der Lebensqualität geführt. Als Grundlage für die systemische adjuvante Therapie ist die Bestimmung des Rückfallrisikos heute mit einer Vielzahl molekularer Marker möglich, die zur risikoadaptierten Auswahl der geeigneten Behandlungen führen. Durch eine erweiterte Diagnostik unter Verwendung von größeren Genpanels können neben der Bestimmung prädiktiver obligatorischer Biomarker auch Informationen über mögliche Resistenzmechanismen sowie über die potenzielle

Wirksamkeit von derzeit in klinischen Studien untersuchten Therapieoptionen gewonnen werden. In welchem Umfang molekulare Analysen im individuellen Fall sinnvoll sind, sollte von der lokalen Tumorkonferenz entlang definierter Algorithmen festgelegt werden und durch Angebote der molekularen Tumorboards ergänzt werden, um zukünftig das Monitoring des Krankheitsverlaufs minimal invasiv mit Hilfe der „Liquid Biopsy“ Methode überwachen zu können.

In diesem Beitrag sollen die Grundlagen für die molekulare Diagnostik und deren klinische Konsequenzen für das frühe und metastasierte Mammakarzinom aufgezeigt und diskutiert werden.

## Fortbildungsziele

- Welche Marker sind für die adjuvante Therapieauswahl des frühen Mammakarzinoms (early breast cancer, EBC) relevant?
- Welche Biomarker haben eine therapeutische Konsequenz in der Therapie des metastasierten Mammakarzinoms (metastatic breast cancer, MBC)? Wie sind molekulare Analysen in der adju-

vanten und metastasierten Erkrankungsphase zu interpretieren?

- Welche Anforderungen werden an die Pathologie und Molekularpathologie gestellt?
- Was ist der Nutzen der klassischen Prognosefaktoren und wie sind diese vor dem Hintergrund der neuen molekularen Analysen und dem Einsatz von Methoden künstlicher Intelligenz (KI) zu interpretieren?

## Einleitung

Moderne Sequenzierungstechnologien erweitern die Diagnostik von Krebserkrankungen und ermöglichen einen tieferen Einblick in die Tumorbioogie. Beim Mammakarzinom sind inzwischen mehrere Genveränderungen bekannt, die für die Abklärung des familiären Risikos und der Prognose der betroffenen Patientin etabliert sind. Die Bestimmung prädiktiver Marker mittels molekulargenetischer Methoden sind z. B. beim metastasierten Mammakarzinom für Alterationen der Gene *BRCA1/2* (Keimbahn), *PIK3CA* und optional *NTRK1-3* bereits obligat.

Durch eine erweiterte Diagnostik mit größeren Genpanels können der Status prädiktiver obligatorischer Marker sowie Informationen über mögliche Resistenzmechanismen gewonnen werden. Die zunehmende Herausforderung der klinischen Interpretation molekularer Analysen erfordert die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Klinikern, Humangenetikern, Pathologen und Molekularpathologen, Psychologen und Software-Experten bis hin zur Nutzung von KI-Algorithmen in molekularen Tumorboards. Dabei werden auch spezialisierte Softwarepakete verwendet, die Molekularpathologen bei der Analyse der genetischen Veränderungen und behandelnde Ärzte bei Therapieentscheidungen unterstützen. Das Mammakarzinom befindet sich damit bereits im Zeitalter der molekular stratifizierten Therapieplanung.

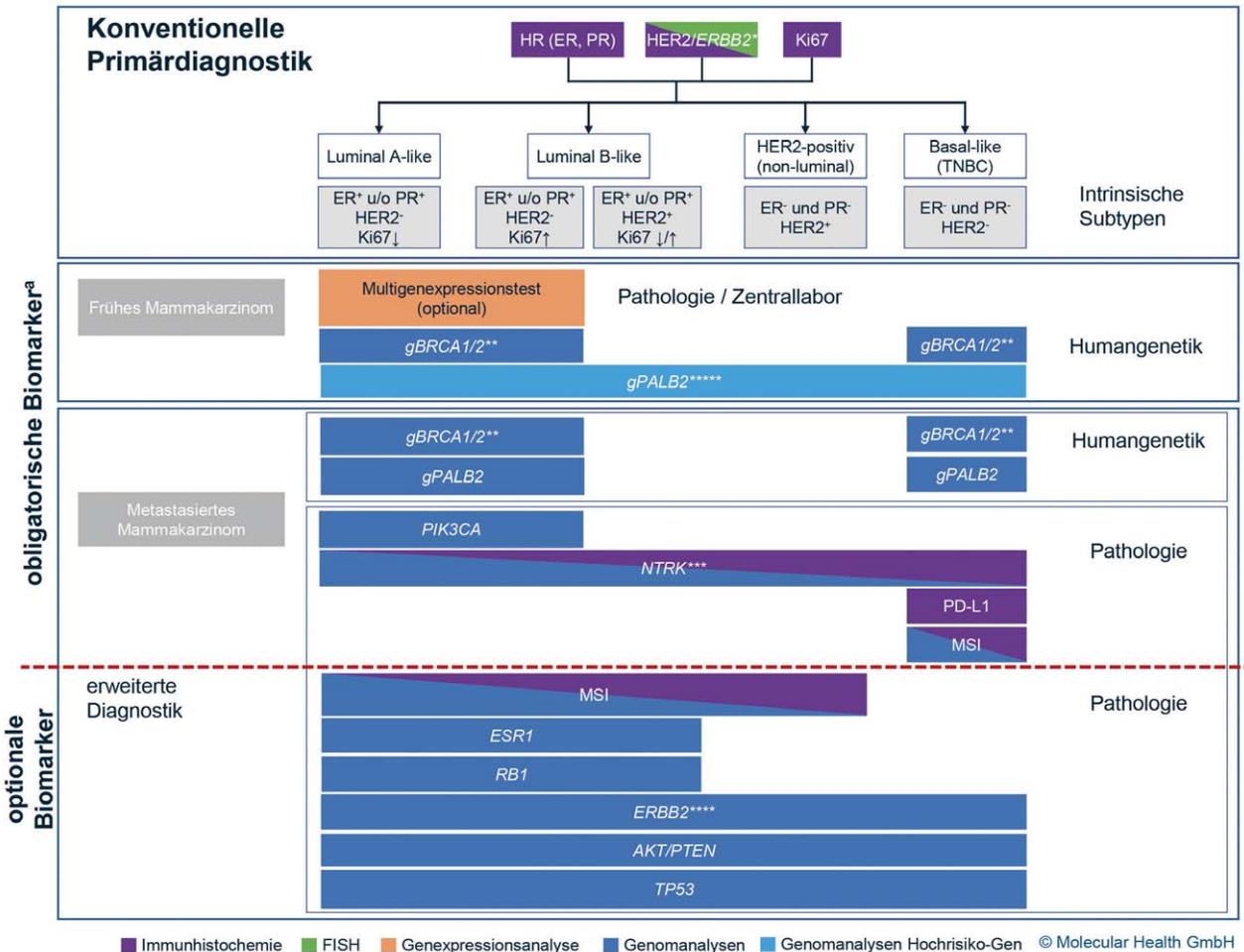


Abb. 1: Überblick therapierelevanter Biomarker beim Mammakarzinom (mit freundlicher Genehmigung von Molecular Health).

### Molekulare Diagnostik beim frühen Mammakarzinom (early breast cancer, EBC)

Die aktuellen Therapieempfehlungen basieren derzeit auf der im Jahr 2000 publizierten Subtypisierung des Mammakarzinoms von Charles Perou [1]. Bei luminalen Karzinomen (HR+/HER2-) hat die Kenntnis des individuellen Rückfallrisikos einen Einfluss auf die Auswahl der adjuvanten Therapie (endokrine Therapie versus chemo-endokrine Therapie). Hier ist die einfache Immunhistochemie nicht mehr ausreichend. Die hier zugelassenen Multi-Gen Assays können beim nodal negativen, frühen Mammakarzinom (HR+/HER2-) den Nutzen einer adjuvanten Chemotherapie prognostisch und zum Teil prädiktiv abschätzen. Sie erfassen die Expression von relevanten Genen und ermöglichen die quantitative Abschätzung des Rückfallrisikos bzw. den wahrscheinlichen Nutzen einer adjuvanten chemo-endokrinen Thera-

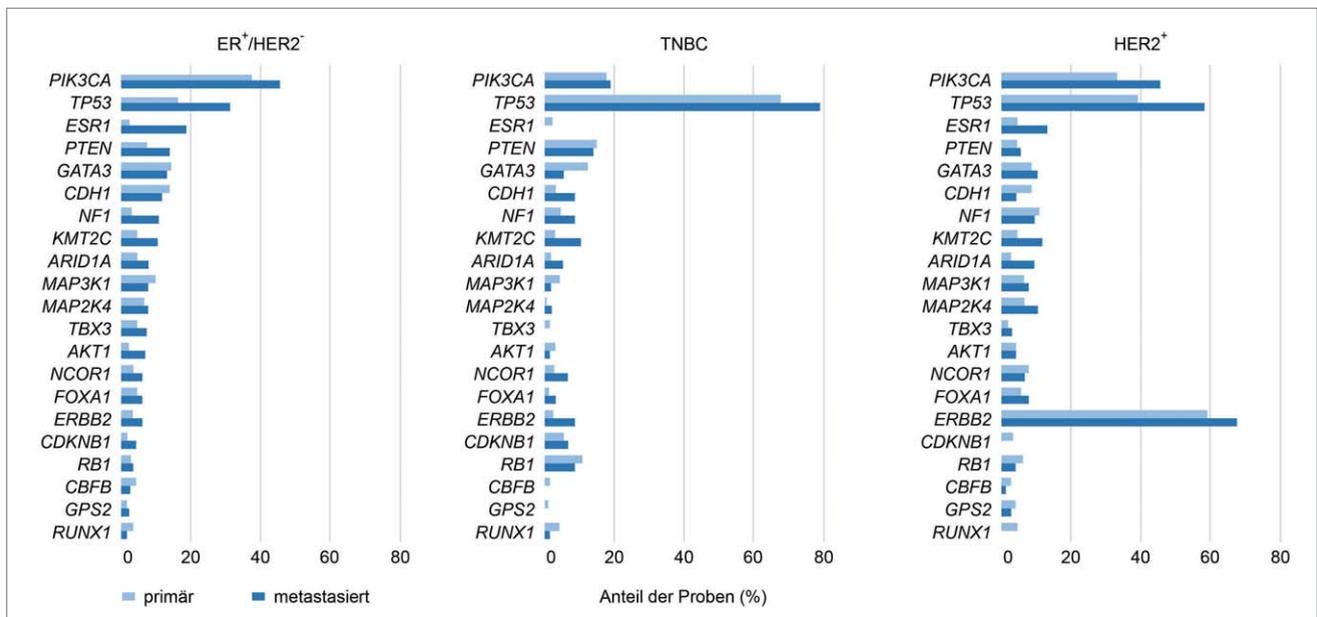
pie gegenüber einer alleinigen endokrinen Therapie [2].

Die Organkommission Mamma der Arbeitsgemeinschaft für gynäkologische Onkologie empfiehlt die Nutzung von Multigen-Tests zur individuellen Abschätzung des Rückfallrisikos [3], vgl. im Internet [www.ago-online.de](http://www.ago-online.de) → Leitlinien/Empfehlungen → Prognostische und prädiktive Faktoren; Kurzlink: <https://tinyurl.com/mr2s8644/>.

Ob der Einsatz eines Multigen-Tests jedoch für eine Patientin sinnvoll ist, sollte im Einzelfall nach Abklärung der klinisch-pathologisch relevanten Parameter, die Aufschluss über die Prognose und das individuelle Rezidivrisiko geben können, im Rahmen einer interdisziplinären Tumorkonferenz empfohlen werden. Die prospektiv randomisierten Studienergebnisse der MINDACT-Studie (NCT00433589) und der TAILORx-Studie (NCT00310180) haben dazu geführt, dass beim nodal negativen EBC die Kosten der Tests von den

gesetzlichen Krankenkassen übernommen werden. Durch diese Vorgehensweise konnten in jüngerer Zeit ca. 30–40 % von nicht indizierten adjuvanten Chemotherapien eingespart werden.

Bisher wurde die Bestimmung weiterer molekularer Biomarker beim frühen Mammakarzinom nicht gefordert, weil zielgerichtete Therapieoptionen noch nicht zur Verfügung standen. Die Relevanz des BRCA1/2-Mutationsnachweises beim HER2/neu negativen frühen Mammakarzinom (HR+/HER2- und tripel-negativen EBC) hat durch die Publikation der OlympiA Studie an Therapiebedeutung gewonnen. Die Ergebnisse der OlympiA-Studie (NCT02032823) haben belegt, dass Patientinnen mit frühem HER2-negativen Mammakarzinom und einer Keimbahnmutation der BRCA1/2-Gene (gBRCAm) von einer einjährigen adjuvanten Therapie mit dem PARP-Inhibitor Olaparib mit einem verbesserten Krankheits- und fernmetastatenfreien Überleben profitieren [4].



Grafiken: Rechte bei den Autoren

Abb. 2: Vergleich der „Treiber Gene“ beim frühen (EBC) und metastasierten (MBC) Brustkrebs [8].

Im März 2022 erteilte die FDA die Zulassung von Olaparib für die adjuvante Behandlung von Patientinnen mit einem frühen HER2-negativen Mammakarzinom und einer nachgewiesenen BRCA1/2-Keimbahnmutationen (gBRCA1/2m) nach vorhergehender adjuvanter oder neoadjuvanter Chemotherapie mit Anthrazyklinen und/oder Taxanen sowie einem hohen Rezidivrisiko. Die Europäische Arzneimittelbehörde (EMA) hat im Juni 2022 eine Zulassungserweiterung in Anlehnung an die FDA-Empfehlung beschlossen.

Somit ist die gBRCA1/2m der Biomarker für den Einsatz einer zweijährigen oralen Therapie mit Olaparib (2 x 300 mg/die) beim HER2-EBC mit einem erhöhten Rückfallrisiko entsprechend den Einschlusskriterien der OlympiA Studie. In jedem Fall sollte für die bisher nicht betroffenen Familienmitglieder eine humangenetische Beratung und ggf. Testung empfohlen werden. Eine Auswahl therapie-relevanter Biomarker beim Mammakarzinom ist in Abb. 1 dargestellt.

**Fazit**

- Zum Ausschluss eines hereditären Mammakarzinoms sollte die Familienanamnese an Hand des Fragebogens der DKG und der LÄKWL genutzt werden (<https://www.onkozert.de/informationen-zertifizierung/hinweise>

downloads/checkliste\_erbliche\_belastung\_brust\_gyn-210212)

- Multigen-Expressionstests können bei luminalen Karzinomen die Therapieentscheidung für oder gegen eine adjuvante Chemotherapie durch eine quantitative Abschätzung des Rückfallrisikos unterstützen.
- Beim tripel-negativen Mammakarzinom sollte in frühen Stadien für allen Betroffenen < 60. Lebensjahr der BRCA1/2-Mutationsstatus bestimmt werden, um das Vorliegen einer hereditären Erkrankung abzuklären.
- Der Nachweis einer Keimbahnmutation im BRCA1/2-Gen ist der Biomarker für alle HER2/neu negativen Mammakarzinome nach einer neo-adjuvanten Chemotherapie mit einem erhöhten Rückfallrisiko für eine zweijährige Therapie mit dem oralen PARP-Inhibitor Olaparib.

**Obligatorische molekulare Diagnostik beim metastasierten Mammakarzinom (MBC)**

**Prädiktive Biomarker für in klinischer Entwicklung befindliche Wirkstoffe**

Fehlen Standardtherapieoptionen, können mithilfe umfassender Genomanalysen prädiktive Biomarker für potenziell wirksame Therapieansätze und geeigne-

te klinische Studien identifiziert werden. Bei der vergleichenden Suche nach biologisch relevanten Treibermutationen zeigen sich im Vergleich zwischen dem EBC und dem MBC überraschenderweise in den drei relevanten Gruppen (HR<sup>+</sup>/HER<sup>-</sup> versus TNBC versus HER2<sup>+</sup>) keine großen Abweichungen bei den klinisch relevanten Mutationen, die bei ca. 40 % aller Mammakarzinome nachgewiesen werden können.

Bei fehlenden Standardtherapieoptionen können mithilfe umfassender Genomanalysen prädiktive Biomarker für potenziell wirksame Therapieansätze oder den Einschluss in geeignete klinische Studien identifiziert werden. ERBB2-Mutationen, welche unabhängig von einer Genamplifikation bei 5–6 % der Mammakarzinome nachgewiesen wurden, können auf eine mögliche Wirksamkeit der Tyrosinkinase-Inhibitoren Neratinib bzw. Lapatinib hinweisen. Bei den in 5,8 bzw. 12,3 % der Tumorproben detektierten Genveränderungen in AKT und PTEN können die AKT-Inhibitoren Capivasertib oder Ipatasertib den PIK3CA-Signalweg blockieren [15].

Der Nachweis einer Mikrosatelliteninstabilität (MSI) bei 1,7 % der Mammakarzinome weist auf die potenzielle Wirksamkeit von Immuncheckpoint-Inhibitoren in dieser kleinen Gruppe hin [16]. Für Pembrolizumab besteht eine Pantumor-Zulassung der FDA als „late line therapy“ für

### Multiple Choice-Fragen

Die Multiple Choice-Fragen zu „Molekulare Tumordiagnostik beim Mammakarzinom“ von Prof. Dr. med. Christian Jackisch und Prof. Dr. med. Peter J. Wild finden Sie auch im Mitglieder-Portal (<https://portal.laekh.de>) sowie auf den Online-Seiten des Hessischen Ärzteblattes ([www.laekh.de](http://www.laekh.de)). Die Teilnahme zur Erlangung von Fortbildungspunkten ist ausschließlich online über das Mitglieder-Portal vom 25. Dezember 2022 bis

24. Juni 2023 möglich. Die Fortbildung ist mit zwei Punkten zertifiziert. Mit Absenden des Fragebogens bestätigen Sie, dass Sie dieses CME-Modul nicht bereits an anderer Stelle absolviert haben. Dieser Artikel hat ein Peer-Review-Verfahren durchlaufen. Nach Angaben der Autoren sind die Inhalte produkt- und/oder dienstleistungsneutral, etwaige Interessenkonflikte werden im Literaturverzeichnis (online) offengelegt.

solide Tumoren mit MSI. Inaktivierende *TP53*-Mutationen sind beim metastasierenden Mammakarzinom häufig. Derzeit befinden sich verschiedene Substanzen in klinischer Entwicklung, welche die Funktion des Tumorsuppressorgens direkt oder indirekt wiederherstellen [17]. Die molekulare Diagnostik beim metastasierten Mammakarzinom gehört zur Routine der Therapieplanung. Gemäß den AGO-Empfehlungen 2022 ist die Biopsie einer Metastase immer empfohlen, um einerseits die Dignität der Läsion zweifelsfrei zu klären und ebenso den aktuellen Subtyp zu kennen und ggf. weitere molekulare Marker zu bestimmen. Alterationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2*, *PIK3CA* sowie optional *NTRK1–3* haben bereits heute therapeutische Implikationen [3, 4] und sind als obligate Biomarker im metastasierten Stadium zu verzeichnen (vgl. Abb. 2).

#### **BRCA1/2-Diagnostik**

Patientinnen mit HER2/neu-negativem, lokal fortgeschrittenen oder metastasiertem Brustkrebs können bei Vorliegen einer Keimbahnmutation in *BRCA1/2* mit PARP-Inhibitoren behandelt werden [5,6]. Bei der Diagnostik einer Keimbahnmutation im *BRCA1/2*-Gen für eine Therapie mit einem PARP-Inhibitor handelt es sich um diagnostische genetische Untersuchung nach dem Gendiagnostikgesetz (GenDG) [7]. Diese erfolgt an einer Blutprobe und kann von jedem approbierten Arzt veranlasst werden. Im Falle einer Keimbahnmutation sollte eine humangenetische Bera-

tung der Familienangehörigen angeboten werden. Dieses Therapie- und Beratungsangebot gilt für das TNBC und die luminalen Karzinome in der metastasierten Situation gleichlautend, um *gBRCA1/2m* nachzuweisen und die Option einer PARP-Inhibitor Therapie nicht zu übersehen [2, 3]. Leider wird dieses Angebot in der Routineversorgung noch viel zu selten umgesetzt.

#### **Bestimmung weiterer Risikogene bei positiver Familienanamnese oder *gBRCA1/2m* beim MBC**

Im Rahmen einer humangenetischen Beratung oder bei Nachweis einer *gBRCA1/2*-Mutation kann eine ergänzende Paneltestung von Risikogenen erforderlich sein. Das Panel enthält Gene mit bekannt hohem Risiko für die Erkrankung an Mammakarzinom (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*) sowie Gene mit moderat erhöhtem Risiko (*ATM*, *CHEK2*, *BARD1*, *RAD51C*, *RAD51D*) [2, 3, 9]. Nur so können auch nicht *BRCA1/2*-assoziierte Karzinom-Syndrome ausgeschlossen werden (vgl. Tab. 1).

#### **PIK3CA-Mutationsdiagnostik**

Beim metastasierten Mammakarzinom findet man in ca. 40 % eine Mutation im *PIK3CA*-Gen, die somit die häufigste Mutation darstellt [10]. Bei Nachweis einer solchen Mutation besteht seit der Zulassung des *PIK3CA*-Inhibitors Alpelisib eine sehr gute Therapieoption in Kombination mit dem Östrogenrezeptor-Antagonisten

Fulvestrant beim HR<sup>+</sup>/HER2<sup>-</sup> endokrin vortherapierten metastasierten Mammakarzinom. Die Mutationsdiagnostik kann einerseits an Tumor- oder Metastasengewebe durchgeführt werden oder an freier Tumor-DNA aus einer Plasmaprobe (Liquid Biopsy). Hierbei ist zu beachten, dass für die Testung an Gewebe möglichst aktuelles Tumor- oder Metastasengewebe verwendet wird. Ein negatives Testergebnis einer Liquid Biopsy sollte bei zu geringer ctDNA-Menge und niedrigen Allelfrequenzen – wo immer möglich – an einer Gewebeprobe überprüft werden.

Bedauerlicherweise muss derzeit die Kostenübernahme für Alpelisib beantragt und der Wirkstoff über die internationale Apotheke angefordert werden. Antragsunterlagen sind bei der AGO Organkommission Mamma erhältlich [11].

#### **Neurotrophe Tyrosin-Rezeptor-Kinase (*NTRK*)-Gene – *NTRK*-Genfusionen**

Ein molekulargenetischer Marker, der derzeit in den Fokus rückt und eine zielgerichtete, personalisierte Behandlung von Tumoren ermöglicht, betrifft Fusionen der neurotrophen Tyrosin-Rezeptor-Kinase (*NTRK*)-Gene. Die *NTRK*-Inhibitoren Larotrectinib und Entrectinib sind indikationsübergreifend bei soliden Tumoren mit *NTRK1–3*-Fusion und lokal fortgeschrittener oder metastasierter Erkrankung zugelassen. Die Genveränderungen sind selten und diese agnostische Analytik ist aufwendig. Wird aber eine entsprechende Genveränderung nachgewiesen, können die Patientinnen lang anhaltend von der Therapie mit *NTRK*-Inhibitoren profitieren. Der Nachweis der Fusionen erfolgt meist mithilfe von RNA-basierten Assays, ggf. nach Vorscreening zum Nachweis der Expression der *NTRK*-Proteine 1, 2 oder 3 mittels Immunhistochemie [12].

Beim Mammakarzinom sind *NTRK*-Fusionen sehr selten. Aktuelle Untersuchungen deuten darauf hin, dass Genfusionen mit *NTRK*-Beteiligung bisher ausschließlich beim sekretorischen (juvenilen) Mammakarzinom nachgewiesen werden, welches unter 1 % der invasiven Mammakarzinome ausmacht [13]. Der klinische Verlauf beim sekretorischen Mammakarzinom ist meist indolent und meist mit einer günsti-

gen Prognose assoziiert, obwohl es generell zum Spektrum der tripel-negativen, basal-like Typen gezählt wird. Nur in diesem Fall ist daher die Anforderung einer entsprechenden Analytik sinnvoll. Der molekulargenetische Nachweis der *ETV6-NTRK3*-Genfusion, hervorgerufen durch eine balancierte Translokation  $t(12;15)$ , sichert letztlich die Diagnose [14].

**Marker für eine primäre oder sekundäre endokrine Resistenz**

Ganzgenom-Analysen (Whole Genome Sequencing, WGS) des primären und metastasierten Mammakarzinoms zeigen ein unterschiedliches Mutationsprofil. Aufgrund des durch die Therapie ausgelösten zellulären Selektionsdrucks finden sich beim endokrin behandelten luminalen Subtyp vermehrt Mutationen in *ESR1*, beim HER2-positiven Subtyp Mutationen in *ERBB2*, vgl. Abb. 2 [29]. *ESR1*-Mutationen, die zu einer ligandenunabhängigen Aktivierung des Östrogenrezeptors führen, sind unter Aromatasehemmern, im Gegensatz zu Tamoxifen, häufig beobachtete Resistenzmechanismen gegen endokrine Therapien [18]. Bei bestehender Indikation zur Fortführung einer endokrinen Therapie sollte der selektive Östrogen-Degrader (SERD) Fulvestrant bei Vorliegen einer *ESR1*-Mutation eingesetzt werden. Eine Abklärung durch Genomsequenzierung unter Abdeckung re-

levanter Genbereiche kann die Wahl der Folgetherapie unterstützen. Auch eine primäre Resistenz gegen CDK4/6-Inhibitoren z. B. aufgrund eines Verlusts des *RBI*-Gens oder des Vorliegens einer *BRCA2*-Mutation könnte so erkannt werden [19].

Spätestens bei Resistenz gegen CDK4/6-Inhibitoren ist eine umfassende genomische Analytik sinnvoll, um Resistenzmechanismen abzuklären, und die Therapieausrichtung zu adjustieren. In der PADA-1-Studie konnte erstmals prospektiv gezeigt werden, dass unter einer laufenden endokrinen Therapie mit einem Aromatasehemmer der Nachweis einer *ESR1* Mutation in der Liquid Biopsie bei einem frühzeitigen Therapiewechsel auf einen SERD + CDK4/6-Inhibitor das krankheitsfreie Überleben signifikant verbessern kann, bevor klinische Symptome der Progression erkennbar waren [20].

**Wachsende Herausforderungen an die Interpretation NGS-basierter Analysen**

Die Interpretation von Next-Generation-Sequencing-(NGS-)Daten ist hoch komplex und erfordert eine hohe Expertise von zahlreichen Experten. Durch die parallele Sequenzierung von Millionen kurzer DNA-Fragmente generiert NGS eine enorme Menge an Rohdaten, die analysiert werden müssen, um das Vorliegen einer Mutation zu bestätigen oder aus-

zuschließen. Die gewonnenen Sequenzdaten werden bioinformatisch mit einem humanen Referenzgenom abgeglichen, um abweichende Veränderungen zu erfassen. Die Verlässlichkeit der Informationen wird unter Einbeziehung wichtiger Qualitätsparameter wie z. B. Variantenallelfrequenz, Coverage und Tumorzellgehalt von der Molekularpathologie bzw. Humangenetik bewertet. Anschließend wird die therapeutische Bedeutung der detektierten Genveränderungen in der Regel anhand von öffentlich zugänglichen Datenbanken recherchiert (z. B. ClinVar) und die Varianten nach ihrer Bedeutung in fünf Stufen klassifiziert. Für die Therapie beispielsweise mit PARP-Inhibitoren müssen *BRCA1/2*-Varianten der Klasse 4 (wahrscheinlich pathogen) oder 5 (sicher pathogen) nachgewiesen werden. Grundsätzlich werden sämtliche Genvarianten in fünf Klassen unterteilt:

- Klasse 1: nicht pathogen
- Klasse 2: wahrscheinlich nicht pathogen
- Klasse 3: Variante unklarer Signifikanz (VUS)
- Klasse 4: wahrscheinlich pathogen
- Klasse 5: pathogen

Sind die gefundenen Varianten klassifiziert, muss eine Interpretation der klinischen Bedeutung der Varianten erfolgen. Dazu sollten internationale Klassifizierungssysteme wie der AMP/CAP- oder

**Tab. 1: Nicht-BRCA1/2-assoziierte Karzinom-Syndrome**

Syndrom	Gene	Karzinomrisiko
Li Fraumeni	TP53	Brust, Endometrium, Kolorektal, Dünndarm, Magen, Leber, Haut, Osteosarkom, Weichteilsarkom, Urogenital, zentrales Nervensystem (ZNS), adrenokortikales Karzinom (ACC), Lymphom, Lunge
Cowden	PTEN	Brust, Endometrium, Schilddrüse, Kolorektal, Niere, Melanom
erbliches diffuses Magenkrebsyndrom	CDH1	erblicher diffuser Magenkrebs, lobulärer invasiver Brustkrebs
Peutz-Jeghers	STK11/LKB1	Kolorektal, Dünndarm, Magen, Pankreas, Hoden, Endometrium
Lynch	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, ECAM	Endometrium, Ovar, Kolorektal, Dünndarm, Magen, Leber, Niere, Pankreas, Urogenital, ZNS

ESCAT-Score verwendet werden [21, 22]. Mit wachsender Komplexität der NGS-Analysen werden vermehrt seltene und/oder neue Genveränderungen detektiert. Die Klassifizierung dieser Varianten bindet zunehmend Zeit- und Personalressourcen. Aufwendige Recherchen zur Abklärung möglicher diskrepanter Ergebnisse und der Zuordnung der klinischen Relevanz können erforderlich sein. Hier werden intelligente Softwarelösungen wie z. B. Molecular Health Guide, Pierian DX oder QCI Interpret verwendet, die die zeitraubenden Recherchen in biomedizinischen Datenbanken für die Variantenklassifikation (sog. Annotation) automatisiert durchführen und außerdem die klinische Interpretation unterstützen und standardisieren, vgl. Abb. 3 (nur online) [23–25].

### Perspektiven der molekularen Diagnostik in der Krankenversorgung

Die Anforderungen an molekulare Analysen und die klinische Relevanz detektierter Varianten müssen klaren Evidenzen zugeordnet werden, wie eine aktuelle

Auswertung der Studie SAFIRO2 (NCT02299999) beim endokrin resistenten Mammakarzinom zeigt. Nur Patientinnen mit genomischen Aberrationen von hoher therapeutischer Relevanz (sog. ESCAT Level I/II) profitierten von einer entsprechend gewählten zielgerichteten Therapie im Vergleich zur Chemotherapie [26].

Mit zunehmendem Bedarf an ausgedehnten molekularen Analysen wird die Bedeutung der molekularen Tumorboards für das Mammakarzinom zunehmen. Dies stellt Anforderungen an die rechtzeitige Schaffung der entsprechenden Infrastruktur. An Standorten, an denen eine entsprechende Struktur noch nicht flächendeckend angeboten werden kann, ist daher die Bildung von Netzwerken mit Zugang zu molekularen Tumorboards sinnvoll. Im Rahmen der klinischen Netzwerkstruktur des OnKoNetRhein Main ([www.onkonetrheinmain.de](http://www.onkonetrheinmain.de)) sind diese infrastrukturellen Voraussetzungen seit Jahren etabliert und bieten einen interdisziplinären und sektorenübergreifenden Zugriff auf molekulare Tumorboards und verschiedene Tumorboards in der Region.

#### Prof. Dr. med. Christian Jackisch

Chefarzt der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Sana Klinikum Offenbach  
E-Mail: christian.jackisch@sana.de



Foto: André Berger

#### Prof. Dr. med. Peter J. Wild

Direktor des Dr. Senckenbergischen Instituts für Pathologie am Universitätsklinikum Frankfurt sowie Universitätsklinikum Frankfurt MVZ GmbH –Wildlab



Foto: Frank Bröderli

Die beiden Autoren sind Mitglieder des OnkoNet Rhein Main e. V., im Internet: [www.onkonetrheinmain.de](http://www.onkonetrheinmain.de)

Abb. 3, ein Abkürzungsverzeichnis sowie die Literatur findet sich auf der Website [www.laekh.de](http://www.laekh.de) unter der Rubrik „Hessisches Ärzteblatt“.

# Multiple-Choice-Fragen: Molekulare Tumordiagnostik beim Mammakarzinom

VNR: 2760602022333750001

(eine Antwort ist richtig)

## 1. Bei welcher Fragestellung kommen bei diagnostiziertem frühem Mammakarzinom Multigen-Expressionstests in Frage?

- 1) Entscheidung für oder gegen endokrine Therapie.
- 2) Abschätzung des Rezidivrisikos bei unklarem Nutzen einer chemo-endokrinen Therapie bei luminalen Karzinomen im Stadium pN0-1.
- 3) Wahl der adjuvanten Chemotherapie abhängig vom Rezidivrisiko.
- 4) Genomische Profilierung zur Einbindung in klinische Studien für das metastasierte Mammakarzinom.
- 5) Bestimmung von Resistenzmarkern gegen CDK4/6-Inhibitoren.

## 2. Wie sollte beim metastasierten Mammakarzinom bei geplanter PARP-Inhibitortherapie der BRCA-Status bestimmt werden?

- 1) Parallele Bestimmung an einer Blut- und Gewebeprobe.
- 2) Analyse auf Brustkrebsrisiko an einer Blutprobe.
- 3) Analyse auf BRCA-Mutation an Gewebe.
- 4) Die Bestimmung des BRCA-Status ist nicht erforderlich.
- 5) Analyse auf BRCA1/2-Keimbahnmutation an einer Blutprobe.

## 3. Wie ist durch die Tumorkonferenz zu verfahren, wenn bei Paneldiagnostik an Tumorgewebe eine BRCA-Mutation detektiert wurde und für die betreffende Patientin eine PARP-Inhibitor-Therapie vorgesehen ist?

- 1) Wiederholung der Testung an ctDNA (Liquid Biopsy).
- 2) Einleitung einer endokrin-basierten Therapie.
- 3) Es sollte durch Veranlassung einer Testung an Blut abgeklärt werden, ob eine Keimbahnmutation vorliegt.
- 4) Keine weiteren Maßnahmen.
- 5) Einleitung einer Therapie mit CDK4/6-Inhibitoren.

## 4. In welchem Prozentsatz sind beim MBC PIK3CA-Mutation nachzuweisen?

- 1) PIK3CA-Mutationen sind sehr selten.
- 2) 10 %
- 3) 40 %
- 4) 70 %
- 5) 90 %

## 5. Wie ist zu verfahren, wenn in der Liquid Biopsy bei geplanter Therapie mit Alpelisib keine PIK3CA-Mutation nachgewiesen wurde?

- 1) Es sollte eine Analyse an aktuellem Tumormaterial einer Metastase erfolgen.
- 2) Wiederholung der Liquid Biopsy an derselben Plasmaprobe.
- 3) Analyse einer Blutprobe auf Nachweis einer Keimbahnmutation.
- 4) Es sind keine weiteren Analysen angezeigt.
- 5) Erneute Blutentnahme für eine Liquid Biopsy.

## 6. Bei welchem Typ des Mammakarzinoms kommen NTRK-Fusionen mit relevanter Häufigkeit vor?

- 1) Inflammatorischen Mammakarzinom.
- 2) Tripel negatives Mammakarzinom.
- 3) HER2neu positives non-luminales Mammakarzinom.
- 4) Duktales invasives Mammakarzinom.
- 5) Sekretorisches Mammakarzinom.

## 7. Bei der NGS-Panelanalyse eines Hormonrezeptor-positiven metastasierten Mammakarzinoms wurde im Gewebe eine ESR1-Mutation nachgewiesen. Worauf weist diese hin?

- 1) Resistenz durch Mutation des Östrogenrezeptors gegen jede weitere endokrine Therapie.
- 2) Endokrine Resistenz durch Mutation des Östrogenrezeptors. Es sollte für die Folgetherapie ein SERD wie Fulvestrant gewählt werden.
- 3) Resistenz gegen CDK4/6-Inhibitoren
- 4) Gesteigerte Sensitivität gegenüber Aromatasehemmer.

## 5) Gesteigerte Sensitivität gegenüber Tamoxifen.

## 8. Welche Bedeutung hat der Nachweis einer ERBB2-Mutation beim metastasierten Mammakarzinom?

- 1) Potenzielle Wirksamkeit von Neratinib und Lapatinib.
- 2) Indikation für Trastuzumab und andere monoklonale gegen HER2 gerichtete Antikörper.
- 3) Dieser Nachweis hat keine therapeutische Relevanz.
- 4) Wirksamkeit endokriner Therapien.
- 5) Indikation für SERDs wie Fulvestrant.

## 9. Welche Bedeutung hat der Proliferationsmarker Ki67?

- 1) Heute nicht mehr relevanter Marker.
- 2) Gilt nur bei nodal positivem Mammakarzinom zur Festlegung einer Chemotherapie.
- 3) Ist alleiniger Prognosefaktor für eine endokrine adjuvante Therapie.
- 4) Kann zum Indikator eines Multi-Gen Assays beim nodal negativen Mammakarzinom eingesetzt werden.
- 5) Kann den Einsatz eines Multi-Gen Assays ersetzen.

## 10. Für die endokrine Therapie beim gBRCAwt MBC gilt:

- 1) Hier kann ein PARPi eingesetzt werden.
- 2) Der Einsatz eines CDK4/6-Inhibitors mit einer endokrinen Therapie ist Therapiestandard.
- 3) Eine endokrine Therapie sollte immer mit einer Chemotherapie eingesetzt werden.
- 4) Eine PIK3CA-Mutation sollte ausgeschlossen werden.
- 5) Bisphosphonate sind obligater Bestandteil der Therapie.

# Molekulare Tumordiagnostik beim Mammakarzinom

von Prof. Dr. med. Christian Jackisch und Prof. Dr. med. Peter J. Wild

- [1] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portrait of human breast tumors. *Nature* 2000; 406:747–752.
- [2] AWMF online. Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms. Langversion 4.4 – Juni, 2021. AWMF Registernummer: 032–045OL. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/032–045OLI\\_S3\\_Mammakarzinom\\_2021–07.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032–045OLI_S3_Mammakarzinom_2021–07.pdf) Stand: 03.09.2022.
- [3] Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V. Empfehlungen gynäkologische Onkologie Kommission Mamma. Im Internet: <https://www.ago-online.de/leitlinien-empfehlungen/leitlinien-empfehlungen/kommission-mamma> Stand: 03.09.2022.
- [4] Tutt ANJ, Garber JE, Kaufmann B et al. Adjuvant Olaparib for patients with BRCA1– or BRCA2 mutated Breast Cancer. *N Engl J Med* 2021;384(25):2394–2405.
- [5] Robson M, Im SA, Senkus E et al. Olaparib for metastatic Breast Cancer in Patients with Germline BRCA Mutations. *N Engl J Med* 2017;377:523–533.
- [6] Litton JK, Hurvitz SA, Mina LA et al. Talazoparib versus chemotherapy in patients with germline BRCA1/2-mutated HER2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from the EMBRACA trial. *Ann Oncol* 2020;31:1526–1535.
- [7] Gendiagnostikgesetz vom 31. Juli 2009 (BGBl. I S. 2529, 3672), zuletzt geändert durch Art. 2 Abs. 1 G v. 4.11.2016 BGBl. 2460
- [8] Angus L, Smid M, Wilting SM et al. The genomic landscape of metastatic breast cancer highlights changes in mutation and signature frequencies. *Nature Genetics* 2019; 51:1450–1458
- [9] Deutsches Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs. <https://www.konsortium-familiärer-brustkrebs.de>. Letzter Zugriff 03.09.2022
- [10] Campell IG, Russel SE, Choong DYH et al. Mutation of the PIK3CA Gene in Ovarian and Breast Cancer. *Cancer Res* 2004;64:7678–7681
- [11] Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V. Kommission Mamma. <https://www.ago-online.de/ago-kommissionen/kommission-mamma>
- [12] Remoué A, Conan-Charlet V, Bourhis A. et al. Non-secretory breast carcinomas lack NTRK rearrangements and TRK protein expression. *Pathol Int* 2019;69:94–96
- [13] Li D, Xiao X, Yang W et al. Secretory breast carcinoma: a clinicopathological and immunophenotypic study of 15 cases with a review of the literature. *Mod Pathol* 2012;25:567–575
- [14] Positionspapier der DGHO <https://www.dgho.de/publikationen/stellungnahmen/gute-aerztliche-praxis/ntrk-inhibitoren/tumordiagnostische-arzneimittel-202200113.pdf> Letzter Zugriff 03.06.2022
- [15] Martorana F, Motta G, Pavone G et al. AKT Inhibitors: New weapons in the fight against breast cancer. *Front Pharmacol* 2021;12:662232
- [16] Cortes-Cirano I, Lee S, Park WY et al. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. *Nat Commun* 2017;8:15180
- [17] Hu J, Cao J, Topatana W et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *J Hematol Oncol* 2021;14:157
- [18] Fribbens C, O’Leary B, Kilburn L et al. Plasma ESR1 Mutations and the treatment of Estrogen Receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2016;34:2961–2968
- [19] O’Leary B, Finn R, Turne NC. Treating cancer with selective CDK4&6 inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13:417–430
- [20] Bidard FC, Hardy-Bessard AC, Dalenc F et al. Switch to fulvestrant and palbociclib versus no switch in advanced breast cancer with rising ESR1 mutation during aromatase inhibitor and palbociclib therapy (PADA-1): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2022; published online September 29. [https://doi.org/10.1016/S1470–2045\(22\)00555–1](https://doi.org/10.1016/S1470–2045(22)00555–1)
- [21] Mosele F, Remon F, Mateo J et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 2020;31:1491–1505
- [22] Li MM, Datto M, Duncavage EJ et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer. A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn* 2017;19:4–23
- [23] <https://www.molecularhealth.com/de/applicationen-guide/> Letzter Zugriff 30.09.2022
- [24] <https://digitalinsights.qiagen.com/products-overview/clinical-insights-portfolio/qiagen-insight/qci-interpret>. Letzter Zugriff 30.09.2022
- [25] <https://www.piwriandx.com>. Letzter Zugriff 30.09.2022
- [26] Mosele F, Stefanovska B, Lusque A et al. Outcome and molecular landscape of patients with PIK3CA-mutated metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2020;31:377–386

## Erklärung zu Interessenkonflikten

**Prof. Dr. Christian Jackisch** hat Beratungsgebühren und Honorare für Vorträge von AstraZeneca, Pfizer, Celgene, Exact Sciences, Lilly, Pierre Fabre, Roche SanofiGenzyme, Molecular Health, Gilead, medupdate, StreamedUp erhalten. Die Forschung wurde von ExactScienes und Roche unterstützt. Mitgliedschaften: Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe, Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie e. V., Deutsche Krebsgesellschaft e. V., Hessische Krebsgesellschaft e. V.

**Prof. Dr. Peter J. Wild** hat Beratungsgebühren und Honorare für Vorträge von Bayer, Janssen-Cilag, Novartis, Roche, MSD, Astellas Pharma, Bristol-Myers Squibb, Thermo Fisher Scientific, Molecular Health, Guardant Health, Sophia Genetics, Qiagen, Eli Lilly, Myriad, Heder Dx und Astra Zeneca erhalten. Die Forschung wurde von Astra Zeneca und Roche unterstützt. Mitgliedschaften: Deutsch Gesellschaft für Pathologie, Europäische Gesellschaft für Pathologie, Internationale Akademie für Pathologie, Bundesverband Deutscher Pathologen.

## Abkürzungsverzeichnis

AGO	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie
AMP-Score	Amputee Mobility Predictor
BRCA1/BRCA2	Breast-cancer-1 (BRCA1)- oder BRCA2-Gen
ctDNA	Circulating tumor DNA, DNA-Fragmente von malignen Tumoren, die sich im peripheren Blut nachweisen lassen
CDK4/6-Inhibitoren	Inhibitoren der Cyclin-abhängigen Kinasen
DKG	Deutsche Krebsgesellschaft
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBC	early breast cancer, frühes Mammakarzinom
EMA	Europäische Arzneimittelbehörde
ER	Östrogenrezeptor
ERBB2	Genname von HER2
ESR1-Mutation	Mutationen im Östrogenrezeptor
FDA	Food and Drug Administration, US-amerikanische Arzneimittelbehörde
GenDG	Gendiagnostikgesetz
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HR	Hormonrezeptor
HR+/HER2-	luminale Karzinome
KI	künstliche Intelligenz
NTRK	Neurotrophe-Tyrosin-Rezeptor-Kinase-Gen
PARPi	Poly (ADP-Ribose) Polymerase (PARP)-Inhibitoren
PR	Progesteronrezeptor
TNBC	triple negativer Brustkrebs

## SUMMARY OF GENOMIC AND BIOMARKER FINDINGS

Detected biomarkers with therapy implications:

BIOMARKER	VAF (%)	APPROVED TREATMENTS FOR PATIENT DISEASE	BIOMARKER SCORE	TRIALS	OTHER TREATMENTS	DRUG APPROVAL	BIOMARKER SCORE	TRIALS
BRCA1 p.V1688del	51.45	<b>E</b> Olaparib <b>E</b> Talazoparib	1A 7 EMA FDA	1	<b>E</b> Rucaparib <b>E</b> PARP inhibitors	Off-label Other	1B 6 n/a n/a	0 2

**E** Effective: potentially effective treatments

Biomarker score: AMP/ASCO/CAP category and CVI score. See the glossary for more information.  
\* See Biomarker details section for more information.

## PATHOGENIC VARIANTS

Identified pathogenic and likely pathogenic variants:

VARIANT	CODING DNA	TYPE AND EFFECT	VAF (%)	CLASSIFICATION
BRCA1 p.V1688del	ENST00000357654.3 c.5062_5064del	del In-frame	51.45	Pathogenic

© Molecular Health GmbH, Heidelberg

\* Evidence-based variant categorization based on Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists (2017); DOI: [10.1016/j.jmoldx.2016.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.10.002).

\*\* Evidence-based variant categorization based on proprietary MH CVI (Biomarker)-Score: Evidence levels: [1-3] = preclinical, [4-6] = clinical, [7] = clinically approved.

### AMP-Classification\*

- Tier IA Variants of strong clinical significance. FDA-approved therapy or biomarkers included in professional guidelines.
- Tier IB Variants of strong clinical significance. Well-powered studies with consensus from experts
- Tier IIC Variants of potential clinical significance. FDA-approved therapies for different cancer types or investigational therapies. Multiple small published studies with some consensus.
- Tier IID Variants of potential clinical significance. Preclinical trials or a few case reports without consensus.
- Tier III Variants of unknown clinical significance.
- Tier IV Benign or likely benign variants.

### MH CVI score\*\*

- 7 Approved by the FDA and/or EMA for this cancer entity
- 6 Observed and reported at least in one well-powered clinical study with large patient numbers or approved by FDA and/or EMA for a different cancer entity
- 5 Observed in clinical studies with limited patient numbers (typically Phase 1 & Phase 2 studies) for this and other cancer entities
- 4 Observed in individual patient cases reports for this and other cancer entities
- 3 Observed in preclinical experiments (e.g., cell lines or animal models)
- 2 Inferred from the gene, or a similar variant or pathway, a computational method and/or expert-level analysis
- 1 Inferred from the gene or a similar variant by a computational method and/or expert-level analysis

Grafiken: Rechte bei den Autoren

Abb. 3: Ausschnitt aus Molecular Health Report als softwarebasierte Varianteninterpretation für biomarkerbasierte Therapieoptionen (mit freundlicher Genehmigung Molecular Health GmbH, Heidelberg; <https://www.molecularhealth.com/de/application-guide>) [23]