

Prediktivní testování: komplexní molekulární testování a molekulární nádorové boardy

Pavel Dundr

Ústav patologie 1. LF UK a VFN v Praze



Molekulární nádorový board

- **Cíl boardu:** identifikace a diskuze potenciálních terapeutických možností zejména u pacientů neodpovídajících na „standard-of-care“ systémovou léčbu
- multidisciplinární složení
- podklady
 - výsledky komplexního molekulárního testování
 - další výsledky (IHC, FISH..)
 - klinický stav pacienta (PS, komorbidity)

- **Složení boardu (metaanalýza):**

- onkolog (100 %)
- patolog (90,6 %)
- genetik (68,7 %)
- bioinformatik (37,5 %)
- molekulární biolog (25 %)
- farmakolog (21,9 %)
- bioetik (9,4 %)

Molekulární nádorový board

■ Podklady:

- „driver“ mutace
 - strukturální aberace (fúze)
 - CNV (amplifikace)
 - mikrosatelitová instabilita
 - nádorový mutační load (TMB)
 - (další - PD-L1 exprese, TILs? ...)
-
- terapeuticky ovlivnitelné aberace
 - rezistentní aberace
 - dostupné klinické studie (?)

■ Které nádory by měly být diskutovány na MNB?

- obvykle nádory, u kterých není léčba dle dostupných guideline efektivní
- jakýkoliv histologický typ nádoru
- Metaanalýza nádorů řešených v rámci MNB: 440 nádorů s definovanou histologií
 - sarkomy 21,4 %
 - karcinom prsu 20 %
 - nádory mozku 15,5 %
 - nádory plic 7,3 %
 - kolorektální karcinom 6,4 %

Molekulární nádorový board

■ Typy molekulárních analýz

- NGS – multigenové panely: 57,4 %
- NGS – celoexomové sekvenování: 16,4 %
- RNA sekvenování: 13,1 %
- CGH: 4,9 %
- NGS – celogenomové sekvenování: 3,3 %
- Sangerovo sekvenování: 3,3 %
- mRNA: 1,6 %

- nejvhodnější: NGS sekvenování vybraných panelů genů, optimálně doplněné o analýzu klinicky relevantních fúzí

Molekulární nádorový board

- **Optimální doba odezvy**
- není přesně definováno – musí být zaručen potenciál pro nasazení vhodné léčby
 - průměr (metaanalýza) - molekulární testování a rozhodnutí MNB: 38,4 dnů (rozmezí 12,4 – 86)
- doporučována je průměrná doba odezvy 28 dnů (zahrnující molekulární testování i rozhodnutí MNB)

Klasifikace molekulárních nálezů

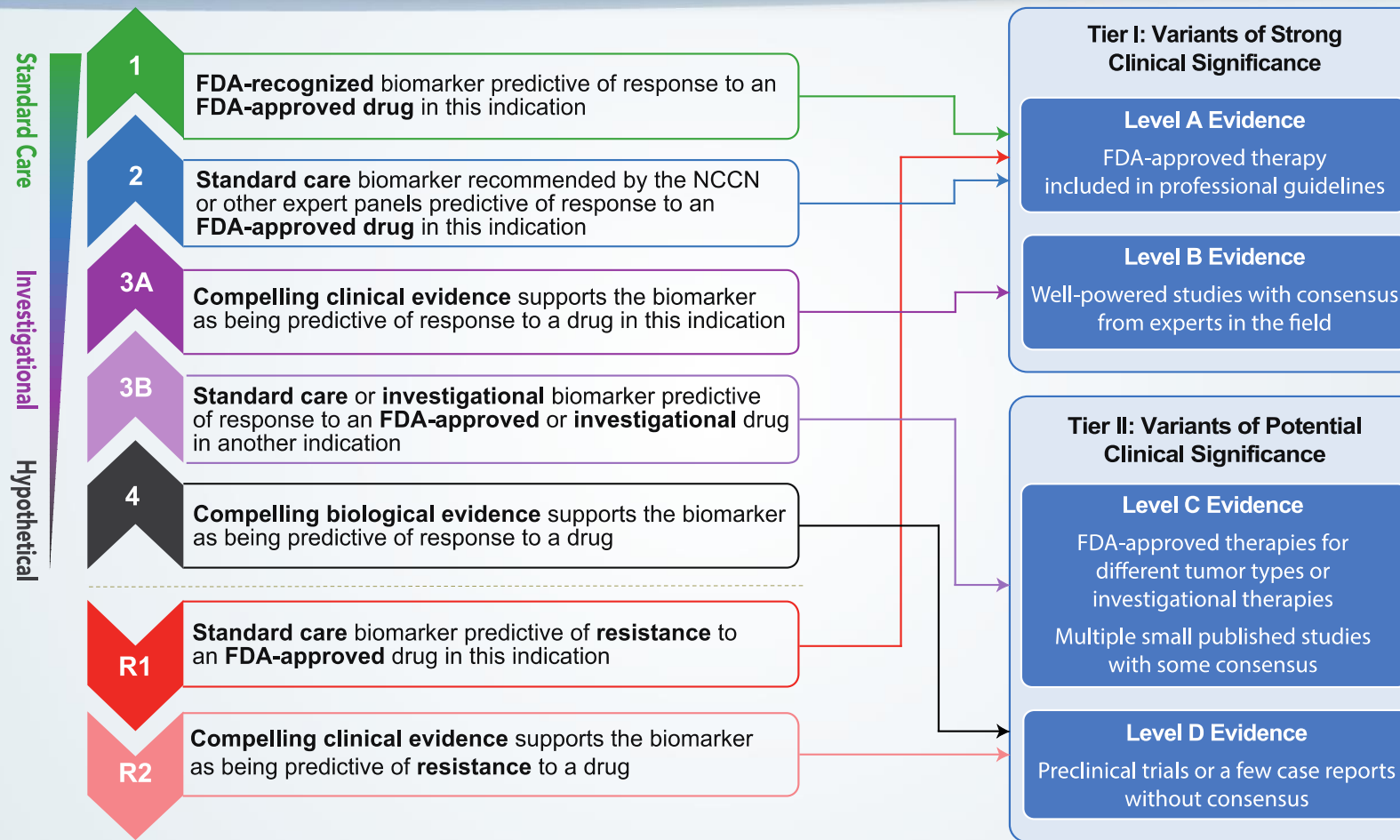
- JCR
 - Joint consensus recommendation – Association for Molecular Pathology / American College of Medical / Genetics / ASCO / CAP)
- ESCAT
 - ESMO scale for clinical actionability of molecular targets
- OncoKB
 - Memorial Sloan Kettering Cancer Center

ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT)

Třída I	dostupná léčba na základě klinických studií	
IA	prospektivní, randomizované, survival endpoint	ERBB2 amplifikace, germinální BRCA1/2, PIK3CA
IB	prospektivní, jednoramenné, specifický nádorový typ, klinický benefit (ESMO MCBS1.1)	
IC	prospektivní, vícečetné histologické typy, klinický benefit (ESMO MCBS1.1)	NTRK, MSI
Třída II	dostupná léčba, avšak nejsou prospektivní data o klinickém benefitu	
IIA	retrospektivní analýzy prospektivních studií	PTEN (ztráta), ESR1 (mutace)
IIB	prospektivní studie, prokázaná odpověď (OR), bez jednoznačných dat na outcome	AKT1 mutace, ERBB2 mutace
Třída III	dostupná léčba pro stejnou aberaci u jiného typu nádoru či aberace genu z třídy I	
IIIA	jiný typ nádoru	somatické BRCA1/2 mutace, MDM2 amplifikace
IIIB	aberrace genu ve třídě I	ERBB2 mutace, ERBB3 mutace
Třída IV	preklinická data	
IVA	preklinická data in vivo a in vitro modely	ARID1A/B, ATR/ATM/PALB2, MT4, MYC, NF1, PIK3R1
IVB	preklinická data in silico analýzy	
Třída X	alterace u kterých klinická data svědčí pro neúčinnost léčby	CCND1 a FGFR1 amplifikace

- Klasifikace do 5 tříd
- Vyhodnocení klinického významu

Mapping between the **OncoKB** and AMP/ASCO/CAP Levels of Evidence



OncoKB

AMP/ASCO/CAP



Memorial Sloan Kettering
Cancer Center

Level 1 FDA-approved 8 Genes
Level 2 Standard care 0 Genes
Level 3 Clinical evidence 0 Genes
Level 4 Biological evidence 0 Genes
Level R1 Standard care 0 Genes
Level R2 Clinical evidence 0 Genes

Showing 24 biomarker-drug associations (8 genes, 2 tumor types, 1 level of evidence) [Associations](#) [Reset filters](#)

Level	Gene	Alterations	Tumor Type	Drugs
1	ALK	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Crizotinib
1	ALK	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Ceritinib
1	ALK	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Alectinib
1	ALK	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Lorlatinib
1	ALK	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Brigatinib
1	BRAF	V600E	Non-Small Cell Lung Cancer	Trametinib + Dabrafenib
1	EGFR	Exon 19 deletion, L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Gefitinib
1	EGFR	Exon 19 deletion, L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib
1	EGFR	Exon 19 deletion, L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Osimertinib
1	EGFR	Exon 19 deletion, L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Dacomitinib
1	EGFR	S768I	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib
1	EGFR	G719	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib
1	EGFR	L861Q	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib
1	EGFR	T790M	Non-Small Cell Lung Cancer	Osimertinib
1	EGFR	Exon 19 deletion, L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Erlotinib
1	NTRK1	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
1	NTRK1	Fusions	All Solid Tumors	Entrectinib
1	NTRK2	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
1	NTRK2	Fusions	All Solid Tumors	Entrectinib
1	NTRK3	Fusions	All Solid Tumors	Larotrectinib
1	NTRK3	Fusions	All Solid Tumors	Entrectinib
1	Other Biomarkers	Microsatellite Instability-High	All Solid Tumors	Pembrolizumab
1	ROS1	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Crizotinib
1	ROS1	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Entrectinib

- **Level 1 (FDA approved)**
 - 8 genů
 - 15 léků



Level 1
FDA-approved
0 Genes
**Level 2
Standard care
4 Genes**
Level 3
Clinical evidence
0 Genes
Level 4
Biological evidence
0 Genes
Level R1
Standard care
0 Genes
Level R2
Clinical evidence
0 Genes

4 actionable genes | Non-Small Cell Lung Cancer | 7 drugs

Showing 6 biomarker-drug associations (4 genes, 1 tumor type, 1 level of evidence)

Associations

Reset filters

Level	Gene	Alterations	Tumor Type	Drugs
2	EGFR	A763_Y764insFQEA	Non-Small Cell Lung Cancer	Erlotinib, Afatinib, Gefitinib
2	ERBB2	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Ado-Trastuzumab Emtansine
2	MET	Amplification	Non-Small Cell Lung Cancer	Crizotinib
2	MET	D1010mut, Exon 14 Deletion, Exon 14 splice mutation, Y1003mut	Non-Small Cell Lung Cancer	Crizotinib
2	RET	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Cabozantinib
2	RET	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	Vandetanib

- **Level 2 (standard care)**
 - 4 geny
 - 7 léků



Level 1 FDA-approved 0 Genes | Level 2 Standard care 0 Genes | **Level 3 Clinical evidence 7 Genes** | Level 4 Biological evidence 0 Genes | Level R1 Standard care 0 Genes | Level R2 Clinical evidence 0 Genes

7 actionable genes | Non-Small Cell Lung Cancer | 13 drugs

Showing 15 biomarker-drug associations (7 genes, 1 tumor type, 1 level of evidence)

Associations

Reset filters

Level	Gene	Alterations	Tumor Type	Drugs
3	ARAF	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Sorafenib
3	EGFR	E709_T710delinsD	Non-Small Cell Lung Cancer	Gefitinib, Afatinib, Erlotinib
3	EGFR	E709K	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib, Gefitinib, Erlotinib
3	EGFR	L833V	Non-Small Cell Lung Cancer	Gefitinib, Afatinib, Erlotinib
3	EGFR	L861R	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib, Erlotinib, Gefitinib
3	EGFR	Kinase Domain Duplication	Non-Small Cell Lung Cancer	Afatinib, Erlotinib, Gefitinib
3	EGFR	Exon 20 insertion	Non-Small Cell Lung Cancer	Pozotinib
3	EGFR	Exon 19 insertion	Non-Small Cell Lung Cancer	Erlotinib, Gefitinib, Afatinib
3	ERBB2	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Neratinib
3	KRAS	G12C	Non-Small Cell Lung Cancer	AMG-510
3	MAP2K1	Oncogenic Mutations	Non-Small Cell Lung Cancer	Cobimetinib, Trametinib
3	MET	D1010mut, Exon 14 Deletion, Exon 14 splice mutation, Y1003mut	Non-Small Cell Lung Cancer	Capmatinib
3	MET	D1010mut, Exon 14 Deletion, Exon 14 splice mutation, Y1003mut	Non-Small Cell Lung Cancer	Cabozantinib
3	RET	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	LOXO-292
3	RET	Fusions	Non-Small Cell Lung Cancer	BLU-667

■ Level 3 (clinical evidence)

- 7 genů
- 13 léků



Level 1 FDA-approved 0 Genes | Level 2 Standard care 0 Genes | Level 3 Clinical evidence 0 Genes | **Level 4 Biological evidence 13 Genes** | Level R1 Standard care 0 Genes | Level R2 Clinical evidence 0 Genes

13 actionable genes | Non-Small Cell Lung Cancer | 24 drugs

Showing 17 biomarker-drug associations (13 genes, 2 tumor types, 1 level of evidence)

Associations

Reset filters

Level	Gene	Alterations	Tumor Type	Drugs
4	ATM	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Olaparib
4	BRAF	L597	All Solid Tumors	PLX8394
4	BRAF	K601	All Solid Tumors	PLX8394
4	BRAF	G464, G469A, G469R, G469V	All Solid Tumors	PLX8394
4	CDK12	Truncating Mutations	All Solid Tumors	Pembrolizumab, Cemiplimab, Nivolumab
4	CDKN2A	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Palbociclib, Abemaciclib, Ribociclib
4	EGFR	D761Y	Non-Small Cell Lung Cancer	Osimertinib
4	EGFR	A750P	Non-Small Cell Lung Cancer	Gefitinib, Erlotinib, Afatinib
4	EGFR	L747P	Non-Small Cell Lung Cancer	Erlotinib, Gefitinib, Afatinib
4	FGFR1	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	BGJ398, Debio1347, AZD4547, Erdafitinib
4	FGFR2	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	AZD4547, BGJ398, Debio1347, Erdafitinib
4	FGFR3	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Erdafitinib, Debio1347, BGJ398, AZD4547
4	KRAS	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Trametinib, Binimetinib, Cobimetinib
4	MET	Fusions	All Solid Tumors	Crizotinib
4	MTOR	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Temsirolimus, Everolimus
4	NF1	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	Cobimetinib, Trametinib
4	PTEN	Oncogenic Mutations	All Solid Tumors	GSK2636771, AZD8186

■ Level 4 (biological evidence)

- 13 genů
- 24 léků

NGS – naše pracoviště

ABL1	DICER1	HDAC2	NBN	ROS1	BRIP1	FGF10	KMT2C	PMS2	TET2
ABL2	DNMT3A	HGF	NCOA4	RRM1	BTK	FGF14	KMT2D	POLD1	TGFBR2
AKT1	DPYD	HIST1H3B	NF1	RUNX1	C11orf30	FGF19	KRAS	POLE	TOP1
AKT2	EGFR	HMGA2	NF2	RUNX1T1	CCDC6	FGF23	LYN	POLQ	TOP2A
AKT3	ELK1	HNF1A	NFKBIA	SDHA	CCND1	FGF3	LZTR1	POT1	TOPBP1
ALK	EML4	HNF1B	NKX2-1	SDHB	CCND2	FGF4	MAP2K1	PPM1D	TP53
APC	EPHA3	HRAS	NOTCH1	SDHC	CCND3	FGF6	MAP2K2	PPP2R1A	TPM3
AR	EPHA5	CHD2	NOTCH2	SDHD	CCNE1	FGFR1	MAP2K4	PPP2R2A	TSC1
ARAF	EPHA7	CHD4	NOTCH3	SF3B1	CD274	FGFR2	MAP3K1	PPP6C	TSC2
ARID1A	EPHB1	CHEK1	NPM1	SLC29A1	CD79A	FGFR3	MAPK1	PRKAR1A	U2AF1
ARID1B	ERBB2	CHEK2	NRAS	SMAD2	CD79B	FGFR4	MAPK3	PRKCI	UGT1A1 p
ARID2	ERBB3	IDH1	NT5C2	SMAD3	CDA	FH	MCL1	PRKDC	UIMC1
ATM	ERBB4	IDH2	NT5C3A	SMAD4	CDH1	FOXL2	MDC1	PTEN	VEGFA
ATR	ERCC3	IGF1R	NT5C3B	SMARCA4	CDK12	FOXP1	MDM2	PTCH1	VHL
ATRX	ERG	IGF2	NT5E	SMARCB1	CDK4	GATA1	MDM4	QKI	WISP3
AURKA	ESR1	IKZF1	NTRK1	SMO	CDK6	GATA2	MED12	RAD50	WRN
AURKB	ESR2	IRF2	NTRK2	SOX10	CDK8	GATA3	MEN1	RAD51	WT1
B2M	EZH2	IRF4	NTRK3	SOX2	CDKN1A	GATA4	MET	RAD51AP1	XPO1
BAP1	F11R	IRS2	PAK3	SOX9	CDKN1B	GATA6	MITF	RAD51B	ZBTB2
BARD1	FAM175A	JAK1	PALB2	SPEN	CDKN2A	GNA11	MLH1	RAD51C	ZNF217
BCL2	FAM46C	JAK2	PARD3	SPTA1	CDKN2B	GNA13	MLH3	RAD51D	ZNF703
BCL2L1	FANCA	JAK3	PAX5	SRC	CDKN2C	GNAQ	MPL	RAD54B	
BCL2L2	FANCB	JUN	PDGFRA	STAT3	CLTC	GNAS	MRE11A	RAD54L	
BCL6	FANCC	KAT6A	PDGFRB	STAT4	CREBBP	GRB2	MSH2	RAF1	
BIRC5	FANCD2	KDM5A	PDK1	STK11	CTNNA1	GRIN2A	MSH6	RARA	
BIRC5 p	FANCE	KDM6A	PIK3C2B	SUFU	CTNNB1	GRM3	mTOR	RB1	
BLM	FANCF	KDR	PIK3CA	SYK	CYP19A1	GSK3B	MUTYH	RBBP8	
BRAF	FANCG	KEAP1	PIK3CB	TAF1	DAXX	H2AFX	MYC	RET	
BRCA1	FANCI	KIF5B	PIK3CG	TBX3	DCK	H3F3A	MYCL	RICTOR	
BRCA2	FANCL	KIT	PIK3R1	TERT	DCTD	H3F3B	MYCN	RIT1	
BRD4	FBXW7	KMT2A	PIK3R2	TERT p	DDR2	H3F3C	NACC2	RNF8	

In-house panel (DNA) (rutinní)

- 300 genů
- 944 kbp / 765 kbp kódující sekvence
- Mutační load (TMB)
- MSI
- Genové přestavby (z DNA)

NGS – naše pracoviště

In-house panel (DNA) („výzkumný“)

- 714 genů
- 2,235 kbp
- Mutační load (TMB)
- MSI
- Genové přestavby (z DNA)

BRCA1	BRIP1
BRCA2	CDK12
PALB2	PPP2R2A
FANCA	H2AX
FANCL	RNF8
FANCI	MDC1
FANCC	RAP80
RAD50	MRE11
RAD51	PNBS1
RAD51B	TOPBP1
RAD51C	RBBP8
RAD51D	ATR
RAD54L	CHEK1
ATM	CHEK2

28 genů HRR

ABL2	CCNE1	EML4	FOXO1	INPP4A	MSH2	PHOX2B	RFC4
ABRAXAS2	CD22	EPCAM	FRS2	INSR	MSH5	PIK3C2G	RHEB
ACVR1	CD274 (PD-1)	EPHA3	FUBP1	IRF2	MSH6	PIK3C3	RHOA
ACVR1B	CD276	EPHA5	FYN	IRF4	MSR1	PIK3CA	RICTOR
ACVR2A	CD70	EPHA7	GABRA6	IRS1	MST1	PIK3CB	RIT1
ADGRA2	CD74	EPHB1	GADD45A	IRS2	MST1R	PIK3CD	RNF146
AIP	CD79A	EPHB4	GATA1	JAK1	MTAP	PIK3CG	RNF168
AJUBA	CD79B	EPHB6	GATA2	JAK2	MTDH	PIK3R1	RNF43
AKT1	CDK73	EPHX1	GATA3	JAK3	mTOR	PIK3R2	RNF8
AKT2	CDH1	EPPK1	GATA4	JAM2	MUS81	PIK3R3	RCS1
AKT3	CDK12	ERBB2	GATA6	JAM3	MUTYH	PIM1	RPA1
ALK	CDK4	ERBB3	GEN1	JUN	MYB	PLA2G2A	RPL22
ALOX12B	CDK6	ERBB4	GID4	KAT5	MYC	PLCG2	RPL5
AMER1	CDK8	ERCC1	GLI1	KAT6A	MYCL	PLK2	RP56KA4
ANKRD11	CDKN1A	ERCC2	GNA11	KCNJ5	MYCN	PMAIP1	RP56KB1
ANKRD26	CDKN1B	ERCC3	GNA13	KDM5A	MYD88	PMS1	RP56KB2
APC	CDKN1C	ERCC4	GNAQ	KDM5C	MYO1	PMS2	RPTOR
APEX1	CDKN2A	ERCC5	GNAS	KDM6A	NAB2	PNRC1	RUNX1
AR	CDKN2B	ERCC6	GPC3	KDR	NACC2	POLB	RUNX1T1
ARAF	CDKN2C	ERG	GPS2	KEAP1	NAT1	POLD1	RYBP
ARFRP1	CEBPA	ERRF1	GRB2	KEL	NAV3	POLE	SDHA
ARHGAP35	CENPA	ESR1	GRB7	KIF5B	NBN	POLQ	SDHAF2
ARID1A	CEP57	ESR2	GREM1	KIT	NCAM1	POT1	SDHB
ARID1B	CFTR	ETS1	GRIN2A	KLIF4	NCOA3	PPARA	SDHC
ARID2	CIC	ETV1	GRM3	KLHL6	NCOA4	PPARD	SDHD
ARID5B	CLSPN	ETV4	GSK3B	KMT2A	NCOR1	PPARG	SETBP1
ASXL1	CLTC	ETV5	H3F3A	KMT2B	NEGR1	PPM1D	SETD2
ASXL2	COP1	ETV6	H3F3B	KMT2C	NELFB	PPP2R1A	SETX
ATM	CREBBP	EWSR1	H3F3C	KMT2D	NF1	PPP2R2A	SF3B1
ATMIN	CRIPAK	EXO1	HDAC1	KRAS	NF2	PPP6C	SGK1
ATR	CRKL	EXT1	HDAC2	LAMP1	NFE2L2	PRDM1	SH2B3
ATRIP	CRLF2	EXT2	HELQ	LATS1	NFE2L3	PREX2	SH2D1A
ATRX	CSF1R	EYA2	HGF	LATS2	NFKBIA	PRF1	SHPRH
AURKA	CSF3R	EZH2	HIST1H1C	LIFR	NFKBIZ	PRKAR1A	SHQ1
AURKB	CSNK1A1	F11R	HIST1H2BD	LIG1	NHEJ1	PRKC1	SIN3A
AXIN1	CSNK1D	FAAP24	HIST1H3A	LIG3	NKX2-1	PRKDC	SLIT2
AXIN2	CSNK1E	FAM175A	HIST1H3B	LIG4	NKX3-1	PRKN	SLX4
AXL	CTCF	FAM46C	HIST1H3C	LMO1	NOTCH1	PRSS8	SMAD2
B2M	CTLA4	FAN1	HIST1H3D	LRIG1	NOTCH2	PRX	SMAD3
B4GALT3	CTNNA1	FANCA	HIST1H3E	LRP1B	NOTCH3	PTEN	SMAD4
BABAM1	CTNNB1	FANCB	HIST1H3F	LRRK2	NOTCH4	PTCH1	SMARCA4
BABAM2	CUL3	FANCC	HIST1H3G	LTK	NPM1	PTPN11	SMARCB1
BAP1	CUL4A	FANCD2	HIST1H3H	LYN	NRAS	PTPRD	SMARCD1
BARD1	CUX1	FANCE	HIST1H3I	LZTR1	NRG1	PTPRO	SMARCE1
BBB3	CWF19L2	FANCF	HIST1H3J	MAF	NSD1	PTPRS	SMC1A
BCL10	CXCR4	FANCG	HIST2H3A	MAGI2	NSD2	PTPRT	SMC3
BCL2	CYLD	FANCI	HIST2H3C	MALT1	NSD3	PTTG2	SMO
BCL2L1	CYP17A1	FANCL	HIST2H3D	MAP2K1	NTSC2	QKI	SNAI1
BCL2L11	CYP19A1	FANGM	HIST3H3	MAP2K2	NTRK1	RAB35	SNAI2
BCL2L2	DAXX	FAS	HLA-A	MAP2K4	NTRK2	RAC1	SNAI3
BCL6	DCLRE1C	FAT1	HLA-B	MAP3K1	NTRK3	RAD1	SNCAIP
BCOR	DCUN1D1	FBXW7	HLA-C	MAP3K13	NUP93	RAD17	SCOS1
BCORL1	DDB2	FGF1	HMG2A	MAP3K14	NUTM1	RAD18	SOX10
BCR	DDR1	FGF10	HNF1A	MAP3K4	OGG1	RAD21	SOX17
BIRC3	DDR2	FGF12	HNF1B	MAPK1	P2RY8	RAD23B	SOX2
BIRC5	DDX41	FGF14	HNRNPK	MAPK3	PAK1	RAD50	SOX9
BIRC5 p.	DHFR	FGF19	HOXB13	MAPK8IP1	PAK3	RAD51	SPEN
BLM	DHX15	FGF2	HRA5	MAX	PAK7	RADS1AP1	SPOP
BMPRIA	DICER1	FGF23	HSD3B1	MCL1	PALB2	RAD51B	SPTA1
BRAF	DIS3	FGF3	HSP90AA1	MCPH1	PARD3	RAD51C	SRC
BRAP	DMC1	FGF4	HUS1	MDC1	PARP1	RAD51D	SRSF2
BRCA1	DNAJB1	FGF5	CHD2	MDM2	PARP2	RAD52	STAG1
BRCA2	DNAJC21	FGF6	CHD4	MDM4	PARP3	RAD54B	STAG2
BRCC3	DNMT1	FGF7	CHEK1	MECOM	PAX3	RAD54L	STAT3
BRD4	DNMT3A	FGF8	CHEK2	MED12	PAX5	RAD9A	STAT4
BRIP1	DNMT3B	FGF9	ICOSLG	MEF2B	PAX7	RAF1	STAT5A
BTG1	DOT1L	FGFR1	ID3	MEN1	PAX8	RANBP2	STAT5B
BTG2	DPYD	FGFR2	IDH1	MERTK	PBRM1	RARA	STK11
BTK	E2F3	FGFR3	IDH2	MET	PCBP1	RASA1	STK40
BUB1B	EED	FGFR4	IFNGR1	MGA	PCNA	RB1	SUFU
C11orf30	EGFL7	FH	IGF1	MGMT	PD-1	RBBP8	SUZ12
CALR	EGFR	FLCN	IGF1R	MITF	PD-L2	RBM10	SYK
CARD11	EGR3	FLI1	IGF2	MKKN1	PDGFRA	RECQL	TAI1
CASP8	EIF1AX	FLT1	IKBKE	MLH1	PDGFRB	RECQL4	TAZ
CBFB	EIF4A2	FLT3	IKZF1	MLH3	PDK1	RECQL5	TBL1XR1
CBL	EIF4E	FLT4	IL10	MLL7	PDPK1	REL	TBX3
CCDC6	ELF3	FOXA1	IL7R	MMP8	PGR	RET	TCF3
CCND1	ELK1	FOXA2	INH4	MPL	PHB	RFC1	TCF7L2
CCND2	ELOC	FOXL2	INHBA	MRE11A	PHF6	RFC2	TCL1A

NGS – RNA (komerční panely)

■ FusionPlex Lung (RNA)

- 14 genů
- EGFR, ALK, BRAF, ROS1
- KRAS, MET, RET
- NTRK1, NTRK2, NTRK3
- FGFR1, FGFR2, FGFR3, NRG3

■ FusionPlex Sarcoma v2 (RNA)

- 55 genů

FusionPlex Lung



- Key fusion detection - excellent small panel for focused interrogation of oncogenic fusion targets
- Detect splice variants and relevant mutations - captures expressed EGFR vIII and MET exon 14 skipping events, as well as prominent mutations in ALK, BRAF, EGFR, KRAS, RET, and ROS1
- Sample versatility - wide sample type compatibility, including FFPE
- Streamlined, lyophilized workflow - minimize hands-on time and replication error

Specifications & Performance

Gene target	14
Number of GSP2s	163
Input requirement*	≥10ng
Recommended # of reads	500K
Unique molecular on-target %	>97%
Hands-on time	2.5 hours
Total time	9 hours

*Input recommendations for FFPE samples vary depending on Archer Preseq® RNA QC score; 50ng input recommended in absence of PreSeq screening

For research use only. Not for use in diagnostic procedures

ESMO doporučení pro využití NGS u metastazujícího „nedlaždicobuněčného“ NSCLC

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT
EGFR	Common mutations (<i>Del19, L858R</i>)	15% (50%–60% Asian)	IA
	Acquired <i>T790M</i> exon 20	60% of <i>EGFR</i> mutant	IA
	Uncommon <i>EGFR</i> mutations (<i>G719X</i> in exon 18, <i>L861Q</i> in exon 21, <i>S768I</i> in exon 20)	NSCLC	IB
	Exon 20 insertions	10%	IIB
		2%	
ALK	Fusions (mutations as mechanism of resistance)	5%	IA
MET	Mutations <i>ex 14 skipping</i>	3%	IB
	Focal amplifications (acquired resistance on <i>EGFR</i> TKI in <i>EGFR</i> -mutant tumours)	3%	IIB
<i>BRAF</i> ^{V600E}	Mutations	2%	IB
ROS1	Fusions (mutations as mechanism of resistance)	1%–2%	IB
NTRK	Fusions	0.23%–3%	IC
RET	Fusions	1%–2%	IC
<i>KRAS</i> ^{G12C}	Mutations	12%	IIB
ERBB2	Hotspot mutations	2%–5%	IIB
	Amplifications		
BRCA 1/2	Mutations	1.2%	IIIA
PIK3CA	Hotspot mutations	1.2%–7%	IIIA
NRG1	Fusions	1.7%	IIB

- **Rutinní praxe:** Doporučení používat NGS multigenový panel
- Četné aberace level 1
- DNA nebo RNA – ale musí obsahovat všechny fúze level 1

Komplexní molekulární testování metodou NGS: situace v ČR

- **Možnosti prediktivního testování metodou NGS v rutinní praxi**
 - probíhají jednání s plátcí
 - předběžný souhlas VZP i SZP
 - příprava „krycích listů“ pro jednotlivá vyšetření
 - další jednání plánována na rok 2021
 - zavedení do praxe – ?

ZÁPIS Z JEDNÁNÍ S VZP ČR, SZP ČR, ČESKÉ ONKOLOGICKÉ
SPOLEČNOSTI ČLS JEP A SPOLEČNOSTI ČESKÝCH PATOLOGŮ
ČLS JEP NA TÉMA PREDIKTIVNÍ DIAGNOSTIKA

23. 11. 2020, PRAHA, ÚSTŘEDÍ VZP ČR

ÚČASTNÍCI JEDNÁNÍ

VZP ČR: Ing. Šmehlík, MHA, MUDr. Sajdlová, MUDr. Švejdomá, Ing. Mrázek, Mgr. Dřímlová, MUDr. Miloslava Dubovská, Ing. Jankůj
SZP ČR: Ing. Benešová, MUDr. Hadravský, zástupci ostatních Svazových ZP prostřednictvím webex
ČOS ČLS JEP: Doc. MUDr. Prausová
SČP ČLS JEP: prof. MUDr. Dunder, prof. MUDr. Matěj

c) Komplexní molekulární testování v prediktivní indikaci metodou NGS u vybraných solidních nádorů

- zástupci OS představili návrh panelu pro komplexní prediktivní testování metodou NGS u karcinomu plic, prsu, kolorektálního karcinomu a nádorů neznámého primárního zdroje a dalších méně častých nádorů
- NGS panel u testování somatických aberací se provádí na úrovni DNA i RNA
- pacienti s Ca budou nadále testováni reflexně dle v současné době platných algoritmů pro testování
- testování metodou NGS bude vždy prováděno na žádost KOC buď v průběhu onemocnění, nebo hned v rámci primodiagnózy
- vzorek by měl být vyšetřen do 14 dnů od indikace
- VZP ve spolupráci s OS zpracuje návrhy celkem 8 NGS výkonů (pro jednotlivé Dg, vždy pro DNA a RNA)
- zajištění sítě smluvních poskytovatelů pro nasmlouvány NGS výkonů je v konečné kompetenci jednotlivých zdravotních pojišťoven

Komplexní molekulární testování metodou NGS: situace v ČR

■ Možnosti prediktivního testování metodou NGS v rutinní praxi

- probíhají jednání s plátcí
 - předběžný souhlas VZP i SZP
 - příprava „krycích listů“ pro jednotlivá vyšetření
 - další jednání plánována na rok 2021
 - zavedení do praxe – 2021?
- odhad - 2000 pacientů ročně (různé diagnózy)
 - vždy NGS DNA a NGS RNA panely
 - na úrovni konsenzu odborných společností projednány a schváleny panely testovaných genů pro:
 - karcinom plic
 - kolorektální karcinom
 - karcinom prsu
 - další méně časté diagnózy a nádory neznámého zdroje

Návrh somatického NGS panelu (NSCLC)

Mutace		Fúze	Amplifikace
EGFR	MTOR	ALK	MET
KRAS	NF1	ROS1	FGFR1
BRAF	ATM	NTRK1	FGFR2
MET	HER2	NTRK2	FGFR3
RET	PIK3CA	NTRK3	EGFR
PTEN	STK11	RET	MDM2
ARAF	KEAP1	MET	
MAP2K1	DDR2	FGFR1	
ALK	NTRK1	FGFR2	
CDK12	NTRK2	FGFR3	
CDKN2A	NTRK3	NRG1	
FGFR1	NRAS	NUTM1	
FGFR2	TP53		
FGFR3	MSI		

- Mutace (DNA) – 27 genů
- Fúze (RNA) – 13 genů
- Amplifikace – 6 genů
- MSI

- **Schváleno** na úrovni odborných společností
- **Probíhá** jednání s plátcí

Návrh somatického NGS panelu (karcinom prsu)

Mutace	Fúze	Amplifikace
PIK3CA	NTRK1	FGFR 1
ESR1	NTRK2	FGFR 2
AKT1	NTRK3	FGFR 3
ERBB2	RB1	CCND1
ATM	FAT1	MDM2
CDK12	TP53	MYC
CDKN2A	BRCA1	HER2
BRAF	BRCA2	ALK
KRAS	ARID1A	ROS1
PTEN	ARID1B	RET
FGFR1	ATR	
FGFR2	CHK1	
FGFR3	PALB2	
MTOR	KEAP1	
NF1	PIK3R1	
NRAS	STK11	
MSI		

- Mutace (DNA) – 33 genů
- Fúze (RNA) – 10 genů
- Amplifikace – 7 genů
- MSI

- **Schváleno** na úrovni odborných společností
- **Probíhá** jednání s plátcí

- Testování overexprese / amplifikace HER2 – jako doposud (IHC + FISH)
- Testování mutací HER2 NGS (DNA panel)

Návrh somatického NGS panelu (kolorektální karcinom)

Mutace	Fúze	Amplifikace	
KRAS	STK11	NTRK1	CERBB2
NRAS	KEAP1	NTRK2	MET
BRAF	ERBB2	NTRK3	
CDK12	TP53	MET	
CDKN2A	PIK3CA	FGFR1	
FGFR1	AKT1	FGFR2	
FGFR2	ATM	FGFR3	
FGFR3	NTRK1	ALK	
MTOR	NTRK2	ROS1	
NF1	NTRK3	RET	
PTEN	MSI		

- Mutace (DNA) – 21 genů
- Fúze (RNA) – 10 genů
- Amplifikace – 2 genů
- MSI
- **Schváleno** na úrovni odborných společností
- **Probíhá** jednání s plátcí

Závěr

- Komplexní molekulární testování metodou NGS se stává standardní součástí prediktivních vyšetření
- Indikace vždy ze strany onkologa
- V rámci vztahu mezi konkrétním jednotlivým prediktorem a příslušným lékem (např. EGFR mutace u NSCLC, BRCA mutace u HGSC atd.) je interpretace a význam nalezených aberací jasně daný
- U komplexního molekulárního testování nad rámec stanovení „standardních“ prediktorů je nutná diskuze nálezů u každého pacienta v rámci molekulárních nádorových boardů
- Úzká spolupráce mezi onkology, patology a dalšími odbornostmi

- Jednotný způsob reportování nalezených aberací
- Interpretace
- Komplexní vyhodnocení nalezených molekulárních změn v kontextu celkového stavu pacienta