

3.2.2 Molekulare Tumorboards (MTBs)

L. Illert, M. Börries, J. Duyster

Def: Molekulare Tumorboards (MTBs) haben zum Ziel, aus zahlreichen Patienten-Einzelfällen Daten zu spezifischen molekularen Mechanismen der Tumorentstehung und -progression zu erheben, um wissenschaftliche und klinische Evidenz zur Effektivität der darauf ausgerichteten Therapieansätze zu etablieren. Langfristiges Ziel ist die Überführung hochwirksamer molekularer Therapien in die klinische Routine-Versorgung.

Meth: *Zusammensetzung des MTB (Universitätsklinikum Freiburg UKF)*
Das Molekulare Tumorboard besteht aus einem multidisziplinären Team, welches medizinische und wissenschaftliche Expertise mit translationaler Onkologie, molekularer Biologie und Bioinformatik vereint. Im MTB des *Comprehensive Cancer Center der Universität Freiburg (CCCC)* sind neben Vertretern der verschiedenen klinischen Disziplinen (z. B. Internistische Onkologie, Gynäkologie, Urologie, Gastroenterologie, Pulmologie) auch weitere medizinische (z. B. Pathologie, Human-genetik, Radiologie, Nuklearmedizin) und naturwissenschaftliche (z. B. Molekularbiologie, molekulare Medizin, Bioinformatik) Disziplinen vertreten. Im 2-wöchentlich stattfindenden MTB werden Patienten mit fortgeschrittenen bzw. seltenen Tumorerkrankungen eingeschlossen, für die in absehbarer Zeit keine leitlinien-gerechten Therapieoptionen zur Verfügung stehen.

Arbeitsweise des MTB

Im MTB des CCCC wurden 2022 mehr als 800 Patientenfälle analysiert. Etwa 30 % der Fälle waren Zuweisungen externer Onkologen, was den Bedarf an präzisions-onkologischer Expertise im Umland eines akademischen Zentrums widerspiegelt.

Nach Eingang des Patientenfalles wird dieser entitätenspezifisch durch eine/n Arzt/Ärztin, das Molekularpathologie-Team sowie das „Early Clinical Trial Unit“ (ECTU) Studienteam (ECTU-Team) betreut. Die initiale Diskussion im MTB umfasst zum Beispiel:

- klinische Beurteilung
- Review des vorhandenen pathologischen Materials sowie der bereits verfügbaren pathologischen Untersuchungen, inklusive tumorspezifischen genetischen Veränderungen sowie bekannten prädiktiven und/oder prognostischen Biomarkern
- zugelassene und „off-Label“ verfügbare potentielle molekulare Therapieoptionen
- aktuell rekrutierende klinische Studien

Für die Durchführung weiterer molekularer Diagnostik wird ein standardisierter Prozess initiiert (gemäß SOP), der um patienten-individuelle Tests ergänzt werden kann. Die Diagnostik beinhaltet eine Reihe über die klassische Routinediagnostik hinausgehende molekulare, qualitätsgesicherte Analysen, wie z. B. Next-Generation Sequencing (NGS), In-situ Hybridisierung (FISH/CISH), Immun-Histochemie (IHC), Einzelgen-Sequenzierung, Proteomdiagnostik sowie auch „whole exome“ (WES) und Transkriptom-Sequenzierungen.

Analysemethoden

Für die molekulargenetischen Untersuchungen im MTB existieren verschiedene erweiterte analytische Ansätze, die ein unterschiedliches Spektrum an genetischen Veränderungen identifizieren können. Wichtige Methoden sind:

- *NGS-Ansätze* zur Identifikation spezifischer Targets (oder spezifischer Gen-Kombinationen), für die es zugelassene Medikamente gibt („actionable mutations“)
- *erweiterte genetische Diagnostik*, z. B. mittels WES, welche alle proteinkodierenden Gene (etwa 1 % des gesamten Genoms) abdeckt.

Zusätzlich zu den genetischen Analysen werden auch Expressionsdaten verschiedener Gene analysiert, z. B. durch

- RNA-Sequenzierung
- direkten Nachweis einzelner Proteine (z. B. per IHC, FISH, CISH)
- Fusionspanel oder Transkriptom-Sequenzierung weisen sogenannte Fusionsgene nach, welche als therapeutische Zielmoleküle genutzt werden können.

Zusätzlich zu den oben genannten Methoden, welche sich auf Gewebeproben einer metastasierten Tumorerkrankung beziehen, werden auch „Liquid Biopsy“ Untersuchungen aus zirkulierender freier Tumor-DNA („ctDNA“) aus Patientenblut durchgeführt, die das gesamte Mutationsspektrum vorhandener Tumorzellen unabhängig von ihrer Lokalisation darstellen können.

Als unmittelbare Konsequenz werden eine zunehmende Anzahl an Veränderungen, sowohl auf genetischer als auch transkriptioneller Ebene, jenseits der für einzelne Medikamente zugelassenen Indikationen identifiziert, was einen potenziellen Zugang zu „off-label“ Behandlungen und molekular stratifizierten klinischen Studien bietet. Mit zunehmender Komplexität der verfügbaren genetischen Daten müssen molekularpathologische Veränderungen nach vordefinierten Standards interpretiert und schließlich im MTB interdisziplinär überprüft werden.

Ablauf des Molekularen Tumorboards

Die Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen werden zusätzlich zur klinischen Vorstellung im MTB vom Diagnostik-Team der Molekularpathologie und der Bioinformatik vorgestellt und zusammen interdisziplinär mit den weiteren Mitgliedern des MTB diskutiert.

Die therapeutische Interpretation der molekularen Daten sowie die Beurteilung pathogener Mutationen erfordert neben hoher wissenschaftlicher Interdisziplinarität und Expertise eine kontinuierliche Literaturrecherche. Aufgrund der komplexen Ergebnisse existiert dabei ein hoher Bedarf an Tools zur Datenanalyse sowie Interpretation und Darstellung der Ergebnisse. Für die Interpretation der genetischen Varianten werden diese mit Hilfe verschiedenster Datenbanken (z. B. COSMIC, dbNSFP) annotiert und auf ihre klinische und therapeutische Relevanz (z. B. InterVar, OncoKB, CIVic, TARGET) sowie Polymorphismen („single nucleotide polymorphisms“ SNPs, gnomAD Datenbank) überprüft.

Tumorspezifische Mutationen können durch Vergleiche zum Keimbahn-Gewebe genetisch identifiziert oder durch bioinformatische Algorithmen berechnet werden. Die Unterteilung in sogenannte „Driver“ (Treiber) und „Passenger“ (Mitläufer) Mutationen, die auf ihre Funktion bei der Tumor-Entstehung und -Progression abzielen, kann trotz der oben dargestellten Analysen nicht immer bioinformatisch klar vorhergesagt werden, so dass neben bereits beschriebenen und annotierten Mutationen unzählige Veränderungen unklarer Signifikanz zurückbleiben. In beiden Fällen muss im MTB abschließend entschieden werden, ob eine spezifische Veränderung als therapeutische Zielstruktur für molekulare Medikamente eingesetzt werden kann. Neben einzelnen Genmutationsanalysen werden im MTB z. B. auch immunohistochemische Ergebnisse (z. B. dMMR „Deficiency in Miss-Match-Repair“, Androgenrezeptor-Expression, TPS-, CPS-Scores), bioinformatische Gensignaturen (z. B. „BRCAness“) und weitere Biomarker (z. B. TMB „Tumor-Mutational Burden“) auf ihre therapeutische Relevanz überprüft und eventuelle molekulare Therapieoptionen evaluiert.

Prozess der Entscheidungsfindung im MTB

Ein wichtiger Prozess für die Entscheidungsfindung im MTB ist somit die Auswertung, Zusammenstellung und Darstellung der hochdimensionalen Sequenzierungsdaten, die sowohl für die Vorbereitung als auch für die Fallvorstellung aller Beteiligten genutzt werden sollte.

Für die Auswertung der Sequenzierungsdaten müssen verschiedene sequenzielle Schritte berücksichtigt werden (Abbildung 1A). Für die bioinformatische Zusammenfassung der Ergebnisse wird am MTB des CCCF ein interaktiver Report bereitgestellt, der alle nötigen Informationen beinhaltet, von der Anzahl der Mutation bis zu Kopienzahlveränderungen und Mutationssignaturen, (Abb. 1B).

A) Schrittweises Vorgehen der Analyse von Sequenzierungsdaten (WES).
B) Ausschnitt aus dem interaktiven Report eines MTB-Falles (Beispiel)

A	B																																																												
Sequenzierungsfiles	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="5">Übersicht der Ergebnisse</th> </tr> <tr> <th colspan="3">Eigenschaften</th> <th colspan="2">Wert</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mutationslast (VAF >10 %)</td> <td colspan="2"></td> <td colspan="2">2,29/Mb</td> </tr> <tr> <td>Anzahl somatischer Mutationen (VAF > 10 %)</td> <td colspan="2"></td> <td colspan="2">57</td> </tr> <tr> <td>BRCAness</td> <td colspan="2"></td> <td colspan="2">< 1,0 %</td> </tr> <tr> <td>Anzahl CNV-Regionen</td> <td colspan="2"></td> <td colspan="2">106 Regionen</td> </tr> <tr> <td>Anzahl seltener Keimbahnmutationen (VAF > 10 %)</td> <td colspan="2"></td> <td colspan="2">174</td> </tr> <tr> <th colspan="5">Zusammenfassung der identifizierten Mutationen</th> </tr> <tr> <th>Mutationstyp</th> <th>Anzahl</th> <th>Suppressoren</th> <th>Onkogene</th> <th>Hotspots</th> </tr> <tr> <td>SNV</td> <td>51</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>InDel</td> <td>4</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>LoH</td> <td>2</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	Übersicht der Ergebnisse					Eigenschaften			Wert		Mutationslast (VAF >10 %)			2,29/Mb		Anzahl somatischer Mutationen (VAF > 10 %)			57		BRCAness			< 1,0 %		Anzahl CNV-Regionen			106 Regionen		Anzahl seltener Keimbahnmutationen (VAF > 10 %)			174		Zusammenfassung der identifizierten Mutationen					Mutationstyp	Anzahl	Suppressoren	Onkogene	Hotspots	SNV	51	2	1	2	InDel	4	2	1	0	LoH	2	0	0	0
Übersicht der Ergebnisse																																																													
Eigenschaften			Wert																																																										
Mutationslast (VAF >10 %)				2,29/Mb																																																									
Anzahl somatischer Mutationen (VAF > 10 %)				57																																																									
BRCAness				< 1,0 %																																																									
Anzahl CNV-Regionen				106 Regionen																																																									
Anzahl seltener Keimbahnmutationen (VAF > 10 %)				174																																																									
Zusammenfassung der identifizierten Mutationen																																																													
Mutationstyp		Anzahl	Suppressoren	Onkogene	Hotspots																																																								
SNV	51	2	1	2																																																									
InDel	4	2	1	0																																																									
LoH	2	0	0	0																																																									
Prä-Prozessierung																																																													
Alignment																																																													
Coverage / Abdeckung																																																													
Variantenbestimmung																																																													
Kopienzahlbestimmung																																																													
Annotation																																																													
Report																																																													

VAF variant allele frequencies, SNV single nucleotide variant, InDel insertions or deletions, LoH loss of heterozygosity, Mb megabases

Auf Basis der diagnostischen und molekularpathologischen Befunde werden abschließend gemeinsame Therapieempfehlungen nach festen molekularen Evidenzkriterien festgelegt. Diese werden durch entsprechende Publikationen sowie ggf. Möglichkeiten zum Studieneinschluss ergänzt.

Für die Evidenzkriterien wurden in letzter Zeit mehrere Klassifizierungssysteme vorgeschlagen. Deutschlandweit konnte im Rahmen verschiedener Konsortien ein Standard festgelegt werden, um die Kommunikation und Diskussion von molekularen Befunden und ihrer klinischen Relevanz zu erleichtern und zu standardisieren (☞ Tabelle).

Die klinische Umsetzung der molekularen Therapieempfehlungen eines MTB ist aktuell entweder im Rahmen eines off-Label Einsatzes auf Einzelfall-Basis nach Krankenkassen-Kostenübernahme oder im Rahmen von klinischen Studien möglich. Die Transition der häufigen Einzelfall-Behandlungen zur großflächigen Möglichkeit eines molekular zielgerichteten Studien-Einschlusses ist eine der größten Aufgaben der molekularen Tumorboards und unabdingbar, um fortlaufend Evidenz für die molekulare Präzisionsonkologie zu gewinnen.

Evidenzkriterien des MTB Freiburg (modifiziert nach Horak 2017)

Evidenzkriterium	Level	Erläuterung
Gleiche Tumorentität	m1A	In der gleichen Tumorentität wurde der prädiktive Wert des Biomarkers oder die klinische Wirksamkeit in einer Biomarker-stratifizierten Kohorte einer adäquaten prospektiven Studie oder Metaanalyse gezeigt.
	m1B	In der gleichen Tumorentität wurde der prädiktive Wert des Biomarkers oder die klinische Wirksamkeit in einer retrospektiven Kohorte oder Fall-Kontrollstudie gezeigt.
	m1C	Ein oder mehrere Fallberichte in der gleichen Tumorentität
Andere Tumorentität	m2A	In einer anderen Tumorentität wurde der prädiktive Wert des Biomarkers oder die klinische Wirksamkeit in einer Biomarker-stratifizierten Kohorte einer adäquaten prospektiven Studie oder Metaanalyse gezeigt.
	m2B	In einer anderen Tumorentität wurde der prädiktive Wert des Biomarkers oder die klinische Wirksamkeit in einer retrospektiven Kohorte oder Fall-Kontrollstudie gezeigt.
	m2C	Unabhängig von der Tumorentität wurde beim Vorliegen des Biomarkers eine klinische Wirksamkeit in einem oder mehreren Fallberichten gezeigt.
In vitro oder Tiermodell	m3	Präklinische Daten (in vitro / in vivo Modelle, funktionelle Untersuchungen) zeigen eine Assoziation des Biomarkers mit der Wirksamkeit der Medikation, welche durch eine wissenschaftliche Rationale gestützt wird.
Biologische Rationale	m4	Eine wissenschaftliche, biologische Rationale legt eine Assoziation des Biomarkers mit der Wirksamkeit der Medikation nahe, welche bisher nicht durch (prä)klinische Daten gestützt wird.
Zusatzinformationen	is	In situ-Daten aus Untersuchungen an Patientenmaterial (z. B. ICH, FISH) unterstützen den Evidenzgrad.
	iv	In vitro-Daten / in vivo-Modelle (z. B. Xenografts) derselben Tumorentität unterstützen den Evidenzgrad.
	Z	Zulassungsstatus (z. B. EMA- oder FDA-Zulassung liegt vor)
	R	Verweis auf Resistenzmarker für eine bestimmte Therapie

Lit:

1. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM et al. OncoKB: A precision oncology knowledge base. *JCO Precis Oncol* 2017;2017:PO.17.00011.
2. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P et al. COSMIC: Exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D805-11.
3. Hoefflin R, Lazarou A, Hess ME et al. Transitioning the molecular tumor board from proof of concept to clinical routine: A German single-center analysis. *Cancers (Basel)* 2021;13:1151.
4. Horak P, Heining C, Kreutzfeldt S et al. Comprehensive genomic and transcriptomic analysis for guiding therapeutic decisions in patients with rare cancers. *Cancer Discov* 2021;11:2780-95.
5. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV et al; Exome Aggregation Consortium. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* 2016;536:285-91.
6. Li Q, Wang K. InterVar: Clinical interpretation of genetic variants by the 2015 ACMG-AMP Guidelines. *Am J Hum Genet* 2017;100:267-80.
7. Liu X, Wu C, Li C, Boerwinkle E. dbSNFP v3.0: A one-stop database of functional predictions and annotations for human nonsynonymous and splice-site SNVs. *Hum Mutat* 2016;37:235-41.

8. Stenzinger A, Edsjö A, Ploeger C et al; GMS working group and ZPM working group. Trailblazing precision medicine in Europe: A joint view by Genomic Medicine Sweden and the Centers for Personalized Medicine, ZPM, in Germany. *Semin Cancer Biol* 2022;84:242-54.
9. Wagner AH, Kiwala S, Coffman AC et al. CIViCpy: A python software development and analysis toolkit for the CIViC knowledgebase. *JCO Clin Cancer Inform* 2020;4:245-53.