

## Genveränderungen in Fibroblasten-Wachstumsfaktorrezeptoren (FGFR)

- FGFR sind eine Familie von Rezeptortyrosinkinasen.<sup>1,2</sup> Die FGFR-Signalwege spielen eine zentrale Rolle bei zahlreichen zellulären Prozessen wie Proliferation, Migration und dem Überleben von Zellen<sup>1,2</sup>
- Veränderungen in *FGFR*-Genen haben sich als tumorigene Treiber bei Krebsarten wie iCCA, Urothelkarzinomen, myeloiden/lymphoiden Neoplasien und anderen malignen Erkrankungen erwiesen<sup>1,3,4</sup>
- *FGFR*-Amplifikationen, -Mutationen und -Fusionen werden bei allen *FGFR*-Subtypen (*FGFR1-4*) beobachtet.<sup>5</sup> Chromosomale Rearrangements unter Beteiligung von *FGFR2* – die zur Bildung onkogener Fusionsproteine führen – sind bei iCCA häufig zu finden<sup>6</sup>
- Bei Genfusionen handelt es sich um Genveränderungen, bei denen sich zwei unabhängige Gene oder Teile von Genen miteinander verbinden, was zu einem hybriden Gen führt<sup>7,8</sup>
- Aus Genfusionsereignissen, unter Beteiligung einer Reihe verschiedener Partnergene, können sich Fusionsproteine mit onkogenem Potenzial entwickeln<sup>7</sup>

## Genomische *FGFR*-Veränderungen

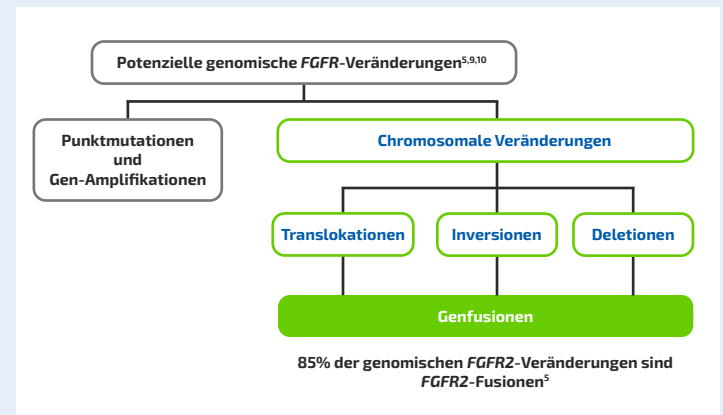


Abbildung basiert auf Jain A, et al. 2018,<sup>5</sup> Lowery MA, et al. 2018,<sup>9</sup> und Shibata T, et al. 2018<sup>10</sup>

## *FGFR2*-Fusionen

- *FGFR2*-Fusionen oder -Rearrangements liegen bei 10–16 % der iCCA-Fälle vor<sup>5,11-13</sup>
- *FGFR2*-Fusionen resultieren in ligandenunabhängiger Aktivierung von assoziierten Signalwegen, was zur Tumorgenese führt<sup>1,14,15</sup>
- Ein molekulares Tumorprofiling ist notwendig, um *FGFR2*-Fusionen zu identifizieren.<sup>5,9</sup> Die Untersuchung auf Vorliegen von *FGFR2*-Fusionen sollte mit einem geeigneten diagnostischen Test erfolgen<sup>7</sup>
- *FGFR2*-Fusionen werden mit einem breiten Spektrum an Fusionspartnern eingegangen.<sup>9</sup> Um Patienten mit *FGFR2*-fusionspositivem Cholangiokarzinom (CCA) identifizieren zu können, ist es daher wichtig, einen geeigneten Assay auszuwählen, der:

## Abnormale *FGFR2*-Signalgebung

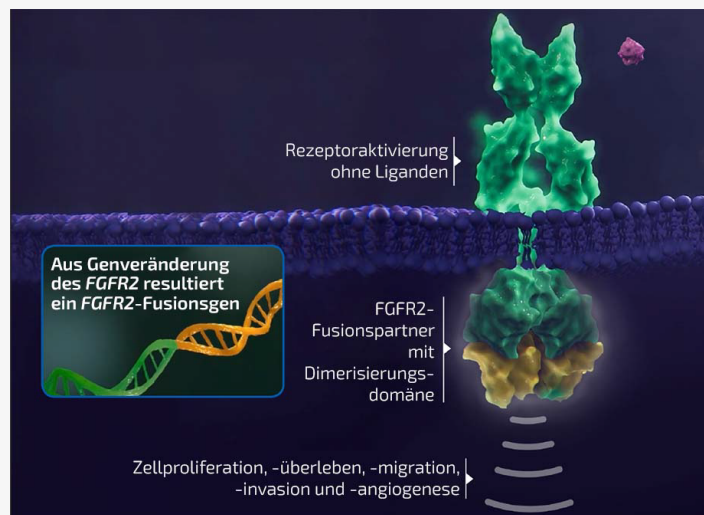


Abbildung nach Babina IS, Turner NC. 2017,<sup>1</sup> Moeini A, et al. 2015,<sup>14</sup> und Touat M, et al. 2015<sup>15</sup>

- speziell *FGFR2*-Fusionen erkennen kann (die sich von *FGFR2* Punktmutationen unterscheiden)<sup>16,17</sup>
- *FGFR2*-Fusionen mit einem breiten Spektrum an bekannten und neuartigen Fusionspartnern erkennen kann<sup>16,17</sup>
- Die molekulare Diversität von CCA spricht für die Anwendung von DNA- oder RNA-basierten NGS-(Next-Generation Sequencing-) Assays als Standard für die Erkennung sowohl bekannter als auch neuartiger *FGFR2*-Fusionen oder -Rearrangements<sup>18</sup>

# Testmethoden für die Erkennung von *FGFR2*-Fusionen

- Eine Reihe von Methoden mit unterschiedlicher Spezifität kann bei der Suche nach *FGFR2*-Fusionen zum Einsatz kommen<sup>7</sup>



Am wenigsten geeignet<sup>7,19-27</sup> Am besten geeignet<sup>7,19-27</sup>

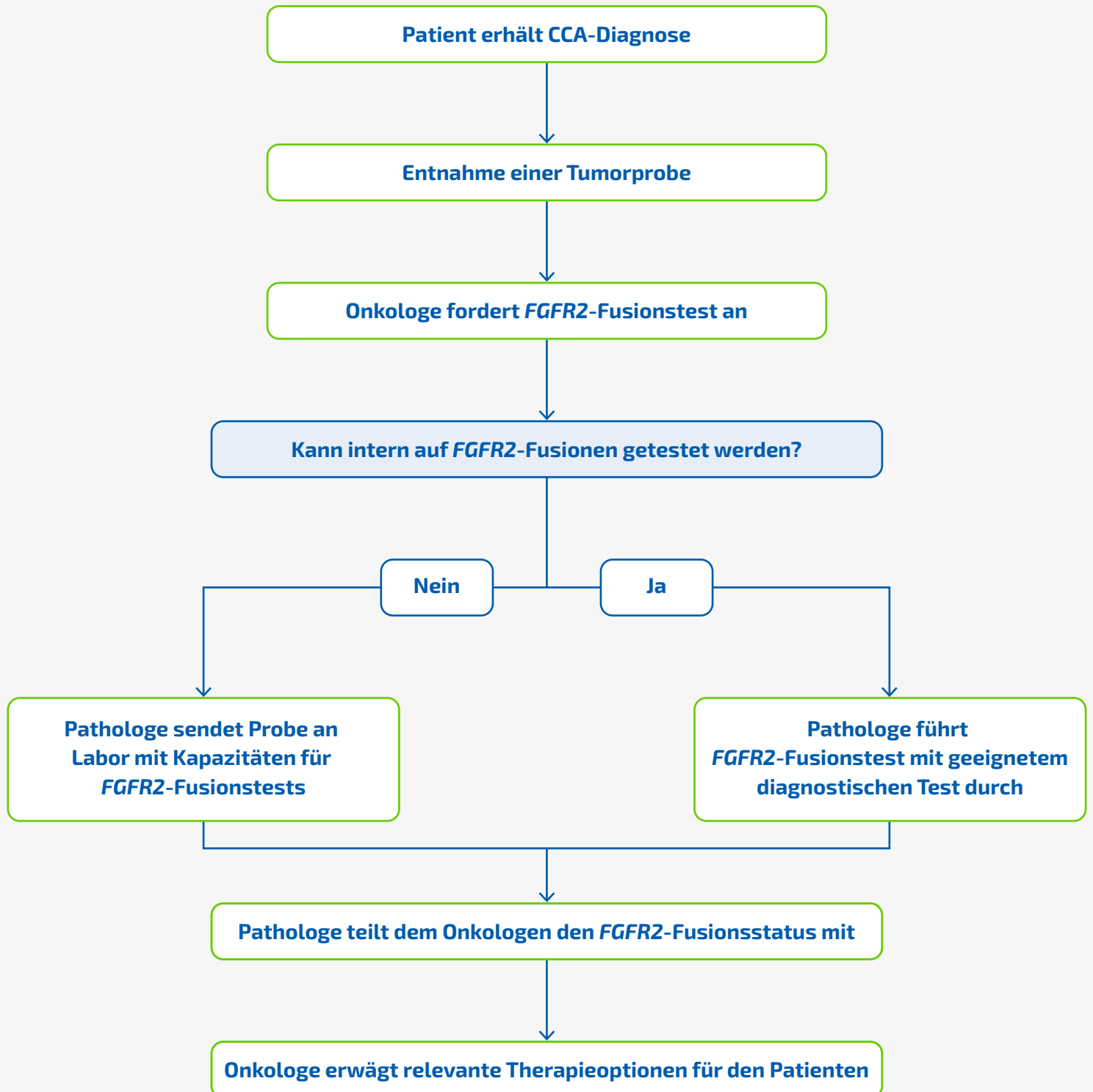
## + Vorteile

## - Nachteile

Immunhistochemie (IHC) <sup>7,17</sup>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ Kostengünstiges Verfahren</li> <li>+ Kann Fusionen erkennen, wenn Rearrangements zur Überexpression des fusionierten Proteins führen</li> <li>+ Kann abhängig von der Proteinlokalisierung Informationen über spezifische Fusionen liefern</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sehr niedrige Sensitivität bei der Identifizierung seltener Fusionen</li> <li>- Viele IHC-Ansätze verwenden Antikörper, die <i>FGFR2</i> vom Wildtyp nicht von Fusionsproteinen unterscheiden können</li> <li>- Keine IHC-Methode hat ausreichend Sensitivität und Spezifität zur Erkennung von <i>FGFR</i>-Fusionen bewiesen</li> </ul>
Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) <sup>17,20,21</sup>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ Hoch sensitiv</li> <li>+ Der Assay ist multiplexfähig: eine Reihe von Mutationen kann mit einer einzigen Testreaktion nachgewiesen werden</li> <li>+ Kann einfach an klinischen Formalin fixierten, Paraffin eingebetteten Proben vorgenommen werden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Die Methode ist auf <i>FGFR2</i>-Genfusionen mit bekannten Fusionspartnern beschränkt</li> <li>- Beide Fusionspartner müssen bekannt sein; neuartige Fusionspartner werden nicht erkannt</li> <li>- Für jede spezifische Fusionskombination müssen Testsonden entworfen werden</li> <li>- Gefahr von Kreuzkontamination durch amplifizierte PCR-Produkte oder positive Proben/Kontrollen</li> </ul>
Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) <sup>7,22-25</sup>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ Kostengünstiges Verfahren</li> <li>+ Gut etablierte Methode mit breiter Verfügbarkeit in klinischen Labors</li> <li>+ Erfordert keine lebenden Zellen</li> <li>+ Kann einfach an klinischen Formalin fixierten, Paraffin eingebetteten Proben vorgenommen werden</li> <li>+ Break-Apart FISH-Sonden können unbekannte Fusionspartner identifizieren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Methode mit niedriger Auflösung</li> <li>- Vorwiegend auf die Detektion von DNA beschränkt</li> <li>- Komplexe Rearrangements sind normalerweise nicht leicht zu erkennen</li> <li>- Intrachromosomale Rearrangements, die ca. 50 % der <i>FGFR2</i>-Fusionen beim intrahepatischen Cholangiokarzinom ausmachen, können zu falsch-negativen Ergebnissen führen</li> <li>- Break-Apart FISH-Sonden können den Fusionspartner nicht identifizieren</li> <li>- Arbeitsintensiv und erfordert erfahrene Pathologen</li> </ul>
Next-Generation sequencing (NGS) <sup>7,22,23,26,27</sup>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ In einer einzigen Probe werden zahlreiche Zielgene gleichzeitig analysiert</li> <li>+ Hohe Sensitivität und Spezifität</li> <li>+ Erkennt sowohl bekannte als auch neuartige Fusionen, unabhängig von Bruchstellen oder Fusionspartnern (abhängig von der Methode zur Vorbereitung der Genbibliothek)</li> <li>+ Kits für den Nachweis von Genfusionen sind kommerziell verfügbar</li> <li>+ <b>RNA-basiert:</b> Kann transkribierte In-frame-Genfusionen von Out-of-frame-Fusionen unterscheiden und vermeidet die Schwierigkeiten der Sequenzierung großer Intronregionen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lange Durchsatzzeit</li> <li>- Bei kleinen Probenzahlen nicht kosteneffektiv</li> <li>- Erfordert Bioinformatik und geschultes Personal</li> <li>- <b>DNA-basiert:</b> Die Detektion neuartiger Fusionen kann eingeschränkt sein, insbesondere wenn große Intronregionen betroffen sind</li> <li>- <b>RNA-basiert:</b> Die Sensitivität hängt vom Expressionsgrad des neuartigen Fusionsgens ab; RNA ist weniger stabil als DNA</li> </ul>

Die European Society for Medical Oncology (ESMO) empfiehlt die routinemäßige Anwendung von NGS zur Erkennung von *FGFR2*-Fusionen bei fortgeschrittenem CCA<sup>28</sup>

## Vorgeschlagener Algorithmus zur Einbindung von *FGFR2*-Fusionstests in den diagnostischen Arbeitsablauf



## Die Einbindung eines multidisziplinären Team (MDT) ist entscheidend für eine optimale Patientenversorgung bei iCCA<sup>29</sup>

- Als Bestandteil dieses MDT-Ansatzes sollte frühzeitig ein Plan für das molekulare Profiling des Tumors aufgestellt werden
- Wichtige Überlegungen zum molekularen Profiling:<sup>30</sup>
  - ✓ Festlegung der klinisch relevanten Gene, auf die getestet werden soll
  - ✓ Kenntnis der Testanforderungen an die Proben (Quantität und Qualität)
  - ✓ Kenntnis der Stärken und Einschränkungen der verschiedenen Testmethoden
  - ✓ Kenntnis der Probenaufbereitungs- und Analysezeiten
  - ✓ Kenntnis der klinischen Implikationen der Testergebnisse

## Externe Qualitätssicherungsprogramme sind wesentlich, um präzise und zuverlässige Tests auf klinische Biomarker zu gewährleisten<sup>31</sup>



Besuchen Sie [www.iqnpath.org](http://www.iqnpath.org) um mehr über externe Qualitätssicherungsprogramme für molekulare Tests in Europa zu erfahren

### REFERENZEN:

1. Babina IS, Turner NC. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:318–32. **2.** Turner N, Grose R. *Nat Rev Cancer*. 2010;10:116–29. **3.** Pandith AA, et al. *Urol Oncol*. 2013;31:398–406. **4.** Gallo LH, et al. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015;26:425–49. **5.** Jain A, et al. *JCO Precis Oncol*. 2018;2:1–12. **6.** Fangda L, et al. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;52:56–67. **7.** DeLuca A, et al. *Int J Mol Sci*. 2020;21:6856. **8.** Latysheva S, Babu M. *Nucleic Acids Research*. 2016;10:4487–50. **9.** Lowery MA, et al. *Clin Cancer Res*. 2018;24:4154–61. **10.** Shibata T, et al. *Cancer Sci*. 2018;109:1282–91. **11.** Ross JS, et al. *Oncologist*. 2014;19:235–42. **12.** Farshidfar F, et al. *Cell Rep*. 2017;18:2780–94. **13.** Graham RP, et al. *Hum Pathol*. 2014;45:1630–8. **14.** Moeini A, et al. *Clin Cancer Res*. 2015;22:291–300. **15.** Touat M, et al. *Clin Cancer Res*. 2015;21:2684–94. **16.** Silverman IM, et al. *Cancer Discov*. 2021;11:326–39. **17.** Barr FG. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16:921–3. **18.** Abou-Alfa GK, et al. *Lancet Oncol*. 2020;21:671–84. **19.** Malka D, et al. *EMJ Oncol*. 2020;8:82–94. **20.** Peter M, et al. *Lab Invest*. 2001;91:905–12. **21.** Arai Y, et al. *Hepatology*. 2014;59:1427–34. **22.** Abel H, et al. *J Mol Diagn*. 2014;16:405–17. **23.** Beadling C. *J Mol Diagn*. 2016;18:165–75. **24.** Hu L, et al. *Biomark Res*. 2014;2:3. **25.** Maruki Y, et al. *J Gastroenterol*. 2021;56:250–60. **26.** Serrati S, et al. *Onco Targets Ther*. 2016;9:7355–65. **27.** Jennings LJ, et al. *J Mol Diagn*. 2017;19:341–65. **28.** Mosele F, et al. *Ann Oncol*. 2020;31:1491–505. **29.** Patel T. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:189–200. **30.** Damodaran S, et al. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015:e175–82. **31.** Dufraing K, et al. *Virchows Arch*. 2021;478:553–65.