

Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Frau
Dr. Erika Muster
Paul-Ehrlich-Str. 23
72076 Tübingen
Deutschland

Name	Mustermann, Max (*TT.MM.JJJJ)
Geschlecht	männlich
Patienten-ID	XXXXXX
Befunddatum	TT.MM.JJJJ
Befund-ID	R999999999

Indikation **Überprüfen der Möglichkeit einer medikamentösen Therapie mit einem EGFR-Inhibitor der dritten Generation**

Überprüfen der Möglichkeit einer medikamentösen Therapie mit einem MET-Inhibitor

Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom

Previously Reported Findings

External ID <i>receipt date</i>	Institution	Tumor / Tissue	Marker
XXXXXX MM/YYYY	Model Institution, Model City	Tissue: FFPE XXXX, lung, right upper lobe collected: MM/YYYY	Variants: EGFR: c.2573T>G; p.L858R Wild-type Genes: BRAF IHC Results: ALK: negative, PD-L1 (CP score): negative, ROS1: negative

Information in table above makes no claim to completeness.

Medical History

Date	Treatment / Staging
MM/YYYY	lung wedge resection (primary in lung - right upper lobe - with result R0) pT2a, pN2 (10/21), V0, L1, Pn0, G2 (stage IIIA1)
MM/JJJJ - MM/JJJJ	cisplatin + vinorelbine (4 cycles)
MM/JJJJ	SD (CT of thorax)
MM/JJJJ - MM/JJJJ	erlotinib
MM/JJJJ	PD (CT of thorax)

Information in table above makes no claim to completeness. Stated staging results do not comply with RECIST or RANO rules as applied in clinical studies but aim to generally describe the course of the patient's disease.



Zentrum für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Frau
Dr. Erika Muster
Paul-Ehrlich-Str. 23
72076 Tübingen
Deutschland

Name	Mustermann, Max (*TT.MM.JJJJ)
Geschlecht	männlich
Patienten-ID	XXXXXX
Befunddatum	TT.MM.JJJJ
Befund-ID	R999999999

Zellfreie DNA Analyse Befund - Mustermann, Max (*TT.MM.JJJJ)

Indikation Überprüfen der Möglichkeit einer medikamentösen Therapie mit einem EGFR-Inhibitor der dritten Generation

 Überprüfen der Möglichkeit einer medikamentösen Therapie mit einem MET-Inhibitor

 Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom

Ergebnis

- Nachweis der vorbekannten aktivierenden p.Leu858Arg-Mutation in *EGFR* sowie erstmals der p.Thr790Met-Mutation in der aktuellen Probe. Eine medikamentöse Therapie mit einem EGFR-Inhibitor der dritten Generation ist auf Grundlage der Sequenzierdaten indiziert.
- Kein Nachweis einer therapierelevanten *MET*-Exon-14-Skipping-Variante, die auf Basis der aktuellen Datenlage mit einem Ansprechen auf eine medikamentöse Therapie mit einem MET-Inhibitor assoziiert ist.

Potenziell therapierelevante Veränderungen und rekurrente Tumor-Treiber:

Gen	Funktionelle Klasse	Variante	NAF	Einfluss auf die Proteinfunktion	Therapie-Option zur Diskussion im MTB	Zulassung in der vorliegenden Entität (EMA/FDA)
EGFR NM_005228.5	missense	c.2369C>T; p.Thr790Met, Exon 20 chr7:55249071 C>T (hg19)	0,0024 (0,24%)	aktivierend OS2;VS, OS3, OP4	3. Generation EGFR TKI Mögliche Resistenz ggü. HER2(mono)-Inhibitor Resistenz ggü. Immun-Checkpoint-Inhibitor, EGFR-Inhibitor	EMA & FDA N/A N/A
	missense ¹	c.2573T>G; p.Leu858Arg, Exon 21	0,0043 (0,43%)	aktivierend OS2, OS3, OM2, OP4	EGFR-Inhibitor Mögliche Resistenz ggü.	EMA & FDA N/A



HER2(mono)- Inhibitor	
Resistenz ggü. Immun-Checkpoint- Inhibitor	N/A

NAF: *Novel allele frequency*, entspricht der Frequenz, mit der das veränderte Allel in der Sequenzierung detektiert war (1 entspricht 100 %). Die beobachteten Frequenzen im Tumor werden durch den Tumorgehalt und durch Kopienzahlveränderungen beeinflusst und entsprechen nicht direkt der Häufigkeit der Variante im Tumor. **1:** Vorbekannt.

Proteinfunktion: Der Einfluss der detektierten Variante auf die Funktion des Proteins wurde basierend auf der aktuellen Datenlage in die Kategorien inaktivierend/aktivierend/Funktion verändert, wahrscheinlich inaktivierend/aktivierend/Funktion verändert, unklar oder benigne eingeteilt. Details hierzu entnehmen Sie bitte dem Methodenteil.

Zulassung: Nur diejenigen Organisationen, welche eine Zulassung für die jeweilige Therapieoption erteilt haben, werden hier aufgelistet. Blau hervorgehobene Therapie-Optionen sind in der vorliegenden Entität zugelassen und erfüllen alle mit unseren Methoden überprüfbaren Zulassungskriterien.

N/A: Nicht angegeben.

Zugelassene zielgerichtete Therapeutika (EMA/FDA), die unter Therapie-Option gelistet sind, sowie genauere Zulassungskriterien und Angaben zu möglichen Resistenzen, entnehmen Sie bitte der Tabelle im Anhang.

Im Anhang finden Sie ebenfalls eine Tabelle mit für andere Entitäten zugelassenen Medikamenten auf Basis der detektierten Veränderungen. Diese kann Ihnen als Anhaltspunkt für mögliche off-label Therapieoptionen dienen.

Empfehlung

Wir empfehlen Befunde molekulargenetischer Tumoranalysen in ein interdisziplinäres Tumorboard einzubringen.

Für Rückfragen stehen wir selbstverständlich jederzeit gerne zur Verfügung.

Befund erstellt von: XXX

Geprüft durch: XXX

Validiert durch: XXX

Mit freundlichen Grüßen


Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup
Fachärztin für Humangenetik

Ergänzende Informationen

Auftrag	Hoch sensitive UMI-basierte molekulargenetische Analyse einer Liquid biopsy Probe
Probenmaterial	Tumorgewebe: zellfreie DNA (cfDNA) Probenentnahme TT.MM.JJJJ cfDNA-Isolierung mit diagnostisch geschätztem Tumorgehalt von 1 %
Probeneingang	TT.MM.JJJJ (Tumor-DNA: Blut für cfDNA, ID PXXXXXX_1)

Untersuchte Regionen	<i>MET</i> (NM_001127500.3: Exon 14), <i>EGFR</i> (NM_005228.5: Exons 18-21; inkl. T790M) Die Nummerierung der Exons bezieht sich auf die kodierenden Exons des jeweiligen Gens (CDS)
Allgemeine Hinweise	Die chromosomalen Positionen der im Befund aufgeführten Varianten beziehen sich auf das humane Referenzgenom hg19. Die Nomenklatur gefundener Varianten erfolgt nach den Richtlinien der HGVS, jedoch ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten, da diese meist nicht bekannt ist.
Methoden	<p>DNA-Isolierung: Die Isolierung der cfDNA wurde durch das Zentrum für Humangenetik Tübingen durchgeführt.</p> <p>Probenqualität: Die Eignung einer Probe für molekulargenetische Analysen wird durch den Tumorgehalt und die Qualität des Ausgangsmaterials beeinflusst. Im Falle schlechter Probenqualität kann die Detektion von Varianten unter Umständen nur stark eingeschränkt oder gar nicht erfolgen.</p> <p>Sequenzierung: Die extrahierten DNA-Moleküle wurden mit dual unique molecular indices (UMI) versehen. Die Zielregion wurde mittels in-solution-hybridization Technologie angereichert und anschließend mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf dem Illumina NovaSeq X Plus System analysiert.</p> <p>Bioinformatik: Die Sequenzierdaten wurden mit Illumina bcl2fastq2 aufbereitet. Mitsequenzierte Adaptersequenzen wurden mit Skewer entfernt und die so erhaltenen Sequenzen durch den Burrows Wheeler Aligner gegen das humane Referenzgenom (hg19) aligniert. Sequenzen, die nicht eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, wurden entfernt, ebenso Sequenzierduplikate, die wahrscheinlich auf die Amplifikation zurückzuführen sind. Die UMI Informationen wurden genutzt, um die Sequenzen in einer einzelnen Konsensus-Sequenz zu kombinieren. Nur DNA-Moleküle, die in beiden Richtungen mit passendem Konsensus sequenziert wurden, wurden für die Bestimmung von Sequenzvarianten (Einzelnukleotidaustausche und kurze Insertionen/Deletionen) herangezogen. Diese wurden mit verschiedenen internen und externen Datenbanken annotiert.</p> <p>Genetische Datenauswertung: Bewertet werden alle somatischen Varianten (SNVs/Small Indels) mit einer Novel Allelfrequenz (NAF) von $\geq 0,25\%$ in der Tumorprobe. Eine klinische Interpretation erfolgt anhand unterschiedlicher externer und interner Datenbanken sowie einer Literaturrecherche. Die Sensitivität des Tests ist abhängig vom Tumorgehalt des Untersuchungsmaterials, der Probenqualität sowie der Sequenziertiefe. Bei einer Sequenziertiefe von 1000 Reads pro Base wird eine theoretische Sensitivität von $> 91\%$ für die Detektion von Varianten mit einer NAF $\geq 0,25\%$ erreicht. Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenziertiefe von min. 2000X für 96,02% der kodierenden Bereiche erreicht. Bitte beachten Sie, dass befundete Varianten auch in der Keimbahn vorliegen können.</p> <p>Variantenklassifizierung (SNVs/small indels): Die Klassifizierung der nachgewiesenen Veränderungen erfolgt auf Basis der ClinGen/CGC/VICC-Richtlinien (Horak et al., 2022, PMID: 35101336). Zur Präzisierung des Pathomechanismus werden Varianten, die anhand dieser Richtlinien als (wahrscheinlich) onkogen bewertet wurden, entsprechend ihrem Einfluss auf die Proteinfunktion des veränderten Gens den Kategorien (wahrscheinlich) inaktivierend/aktivierend/Funktion verändert zugeordnet. Die Einteilung erfolgt im Rahmen der Bewertung nach Horak et al. und basierend auf der aktuellen Datenlage (u. a. cBioPortal, My Cancer Genome, Clinical Interpretations of Variants in Cancer (CIVIC), MD Anderson Personalized Medicine Center Datenbank, TP53 Datenbank (tp53.cancer.gov), Clinical Knowledge Database (CKB), OncoKB, PubMed Recherche) und/oder auf einer <i>in silico</i>-Vorhersage (MetaLR, PrimateAI und SpliceAI). Varianten, die nach den ClinGen/CGC/VICC-Richtlinien als unklar oder (wahrscheinlich) benigne bewertet wurden, erhalten keine funktionelle Kategorie.</p> <p>Variantenklassifizierung (strukturelle Veränderungen): Die Einteilung der Relevanz der beobachteten strukturellen Veränderungen auf die Funktion des betroffenen Proteins bzw. des entstehenden Fusionsproteins erfolgt basierend auf der aktuellen Datenlage (u. a. FASMIC, PubMed Recherche) in die Kategorien aktivierend/inaktivierend/Funktion verändert, wahrscheinlich aktivierend/inaktivierend/Funktion verändert oder unklar. Einteilung in „aktivierend“ und „Funktion verändert“: Bekannt aktivierende/funktionsverändernde strukturelle Varianten mit gesicherter Evidenz der funktionellen Relevanz auf Proteinebene, die über funktionelle <i>in vivo/in vitro</i> Analysen gezeigt wurde. Einteilung in „inaktivierend“: Bekannt inaktivierende Veränderungen sowie solche, die aufgrund ihrer Lage mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einem Verlust des Proteinproduktes führen (<i>nonsense-mediated decay</i>). Einteilung in „wahrscheinlich aktivierend/inaktivierend/Funktion verändert“: Ein Einfluss der strukturellen Variante auf die Funktion des entstehenden Fusionsproteins ist wahrscheinlich auf Grundlage der betroffenen Gene/Bruchpunktbereiche innerhalb dieser Gene (Literaturrecherche, Häufigkeit in Tumoren). Für diese strukturellen Varianten existieren keine funktionellen Daten. Einteilung in „unklar“: Eine genaue Einschätzung ist anhand der derzeit verfügbaren Daten nicht möglich.</p>



Vorhersage struktureller Varianten: Genomische Regionen, die bekanntermaßen Bruchpunkte für Translokationen, Gen-Fusionen oder größere Insertionen/Deletionen beinhalten können, werden ebenfalls angereichert. Die Alignments werden bioinformatisch nach diskordanten Read-Paaren oder gesplitteten Reads als Hinweis auf das mögliche Vorliegen struktureller Veränderungen untersucht (Chen et al., 2016, PMID: 26647377). Die Ergebnisse werden visuell überprüft und ggf. vorliegende strukturelle Varianten manuell annotiert. Die auf strukturelle Varianten untersuchten genomischen Bereiche stellen eine Auswahl häufig veränderter Regionen dar und erheben keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sollten keine strukturellen Varianten befundet werden, garantiert dies nicht die Abwesenheit struktureller Veränderungen.

Therapeutische Optionen: Für die Kategorisierung von Medikamenten in unterschiedliche Medikamentengruppen wurden die Informationen aus FDA, EMA und PubChem zusammengetragen. Zulassungsstatus und Limitationen wurden von www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/ (FDA - Food and Drug Administration) und ema.europa.eu (EMA - European Medicines Agency) übernommen.

Medikamente die im Appendix als „Für die Tumorentität Ihres Patienten zugelassene Medikamente“ gelistet sind, schließen gegebenenfalls auch Medikamente ein, die entitätsunabhängig für solide Tumoren zugelassen sind.

Ist der Biomarker gemäß aktueller Leitlinien (NCCN - National Comprehensive Cancer Network) mit einem Nicht-Ansprechen, einem verminderten Ansprechen oder einer Resistenz gegenüber der angegebenen Medikamentenklasse in der vorliegenden Entität assoziiert, oder liegen in der aktuellen Literatur Daten für ein Nicht-Ansprechen, vermindertes Ansprechen oder eine Resistenz vor, werden entsprechende Medikamente mit einem Warnsymbol im Anhang versehen.

Die Probe hat die bei uns geltenden Qualitätskriterien nach Probeneingang und den jeweiligen analytischen Bearbeitungsschritten im Labor eingehalten.

Bei dem oben beschriebenen Verfahren handelt es sich um einen inhouse entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test; LDT). Dabei wurde ein Mindesttumorgehalt von 0,5 % zugrunde gelegt.

Bezüglich Mitteilung, Weitergabe und wissenschaftlicher Verwendung dieses Befundes gelten die Bestimmungen des GenDG.



Anhang - In Frage kommende Medikamente

Wir weisen darauf hin, dass die hier erstellten Listen nur eine Auswahl an in Frage kommenden Medikamenten darstellen können. Die Aufzählung beschränkt sich zudem auf zielgerichtete Therapien und enthält keine gängigen Chemotherapien.

Für eine umfassende Beurteilung der aufgeführten Therapieoptionen berücksichtigen Sie bitte auch die Vorbefunde und den Krankheits-/Therapieverlauf Ihrer Patientin (eine Übersicht finden Sie im Abschnitt „Onkologischer Verlauf“ auf Seite 1). Darüber hinaus kann für bestimmte Biomarker eine Überprüfung mittels einer von der FDA/EMA zugelassenen Methode nötig sein.

Für die Tumorentität Ihrer Patientin zugelassene Medikamente

Nachfolgend gelistet sind für die Tumorentität sowie das Alter Ihrer Patientin zugelassene Medikamente mit Biomarker-basierten Zulassungsbeschränkungen, welche durch die detektierten Veränderungen **erfüllt** sind. Es werden weiterhin Medikamente gelistet, deren Zulassungsbeschränkungen im Rahmen dieser Analyse nicht geprüft werden können.

⚠ Bitte beachten Sie, dass aufgrund der *EGFR*-Variante c.2369C>T; p.Thr790Met eine Resistenz gegen therapierelevante EGFR-Inhibitoren im Tumor Ihrer Patientin bestehen könnte.

Medikament	Betroffene Gene	Zulassung	Erfüllte Zulassungsbeschränkungen	Weitere zu prüfende Zulassungsbeschränkungen	Zulassung in Kombination mit weiterem Wirkstoff
⚠ Afatinib EGFR-Inhibitor HER2-Inhibitor HER4-Inhibitor	<i>EGFR</i>	EMA	adult	locally advanced or metastatic, squamous histology, progress on or after platinum-based chemotherapy	
		EMA	adult and activating <i>EGFR</i> mutation(s)	locally advanced or metastatic, squamous histology, progress on or after platinum-based chemotherapy, EGFR TKI-naïve	
		FDA		metastatic, squamous histology, progress after treatment with platinum-based chemotherapy	
⚠ Amivantamab EGFR-Inhibitor MET-Inhibitor	<i>EGFR</i>	EMA	adult and <i>EGFR</i> Exon 19 deletions or Exon 21 L858R mutation	advanced, first-line	Lazertinib
		EMA	adult and <i>EGFR</i> exon 19 deletions or exon 21 L858R substitution mutation	advanced, after failure of prior therapy including an EGFR tyrosine kinase inhibitor	Carboplatin, Pemetrexed
		FDA	adult and <i>EGFR</i> exon 19 deletions or exon 21 L858R substitution mutation	locally advanced or metastatic, progression on or after treatment with an EGFR tyrosine kinase inhibitor	Carboplatin, Pemetrexed
		FDA	adult and <i>EGFR</i> exon 19 deletions or exon 21 L858R substitution mutation	locally advanced or metastatic, first-line	Lazertinib
⚠ Dacomitinib EGFR-Inhibitor HER2-Inhibitor HER4-Inhibitor	<i>EGFR</i>	EMA	adult and <i>EGFR</i> activating mutation	locally advanced or metastatic, first-line	
		FDA	<i>EGFR</i> exon 19 deletion or L858R	metastatic, first-line	
⚠ Erlotinib EGFR-Inhibitor	<i>EGFR</i>	EMA		locally advanced or metastatic, failure of at least one prior chemotherapy, other treatment options not considered suitable	



△ Gefitinib EGFR-Inhibitor	EGFR	EMA	EGFR activating mutations	- locally advanced or metastatic, first line - locally advanced or metastatic, stable disease after first-line chemotherapy as switch maintenance treatment - locally advanced or metastatic, after failure of at least one prior chemotherapy regimen	
		FDA	EGFR exon 19 deletion or L858R	metastatic, first-line, maintenance, or second or greater line treatment after progression following at least one prior chemotherapy regimen	
		EMA	adult and EGFR activating mutation	locally advanced or metastatic	
		FDA	EGFR exon 19 deletions or exon 21 (L858R) substitution mutations	metastatic, first-line	
Lazertinib 3. Generation EGFR TKI EGFR-Inhibitor	EGFR	EMA	adult and EGFR exon 19 deletion or exon 21 L858R	advanced, first-line	Amivantamab
		FDA	adult and EGFR exon 19 deletion or exon 21 L858R	locally advanced or metastatic, first-line	Amivantamab
△ Necitumumab EGFR-Inhibitor	EGFR	FDA		metastatic, squamous histology, first-line	Cisplatin, Gemcitabin
Osimertinib 3. Generation EGFR TKI EGFR-Inhibitor	EGFR	EMA	adult and EGFR mutation	locally advanced or metastatic, first-line	
		EMA	adult and EGFR exon 19 deletions or exon 21 L858R mutations	- stage IB-IIIa, adjuvant treatment after complete tumour resection - locally advanced, unresectable, no progress during or following platinum-based chemoradiation therapy	
		EMA	adult and EGFR exon 19 deletions or exon 21 L858R mutations	advanced, first-line	Carboplatin, Cisplatin, Oxaliplatin, Pemetrexed
		EMA	adult and EGFR T790M	locally advanced or metastatic	
		FDA	adult and EGFR exon 19 deletions or exon 21 L858R mutations	- adjuvant therapy after tumor resection - locally advanced, unresectable (stage III), no progress during or following concurrent or sequential platinum-based chemoradiation therapy - metastatic, first-line	
		FDA	adult and EGFR exon 19 deletions or exon 21 L858R mutations	locally advanced or metastatic, first-line	Carboplatin, Cisplatin, Oxaliplatin, Pemetrexed
		FDA	adult and EGFR T790M mutation	metastatic, progress on or after EGFR TKI therapy	



Nachfolgend gelistet sind für die Tumorentität Ihres Patienten zugelassene Medikamente mit Biomarker-basierten Zulassungsbeschränkungen, welche durch die detektierten Veränderungen **nicht erfüllt** sind.

⚠ Bitte beachten Sie, dass aufgrund der *EGFR*-Variante c.2369C>T; p.Thr790Met eine Resistenz gegen therapierelevante EGFR-Inhibitoren im Tumor Ihrer Patientin bestehen könnte.

Medikament	Betroffene Gene	Zulassung	Nicht erfüllte Zulassungsbeschränkungen	Weitere zu prüfende Zulassungsbeschränkungen	Zulassung in Kombination mit weiterem Wirkstoff
⚠ Afatinib EGFR-Inhibitor HER2-Inhibitor HER4-Inhibitor	EGFR	FDA	adult and non-resistant EGFR mutations	ER positive metastatic, first-line	
⚠ Amivantamab EGFR-Inhibitor MET-Inhibitor	EGFR	EMA	adult and EGFR Exon 20 insertion mutation	advanced, after failure of platinum-based chemotherapy	
		EMA	adult and EGFR Exon 20 insertion	advanced, first-line	Carboplatin, Pemetrexed
		FDA	adult and EGFR Exon 20 insertion mutation	locally advanced or metastatic, first-line	Carboplatin, Pemetrexed
		FDA	adult and EGFR Exon 20 insertion mutation	locally advanced or metastatic, progress after platinum-based chemotherapy	
⚠ Sunvozertinib EGFR-Inhibitor	EGFR	FDA	adult and EGFR exon 20 insertion mutation	locally advanced or metastatic, progress on or after platinum-based chemotherapy	

Weitere für andere Tumorentitäten zugelassene Medikamente

Nachfolgend werden basierend auf den detektierten Veränderungen alle Medikamente gelistet, die für andere Tumorentitäten zugelassen sind.

⚠ Bitte beachten Sie, dass aufgrund der *EGFR*-Variante c.2369C>T; p.Thr790Met eine Resistenz gegen therapierelevante EGFR-Inhibitoren im Tumor Ihrer Patientin bestehen könnte.

Medikament	Betroffene Gene	Tumorentität	Zulassung
⚠ Cetuximab EGFR-Inhibitor	EGFR	Kolonkarzinom	EMA, FDA
		Kopf-Hals-Karzinom	EMA, FDA
		Rektumkarzinom	EMA, FDA
⚠ Lapatinib EGFR-Inhibitor HER2-Inhibitor	EGFR	Brustkrebs	EMA, FDA
⚠ Neratinib EGFR-Inhibitor HER2-Inhibitor	EGFR	Brustkrebs	EMA, FDA
⚠ Panitumumab EGFR-Inhibitor	EGFR	Kolonkarzinom	EMA, FDA
		Rektumkarzinom	EMA, FDA
⚠ Vandetanib EGFR-Inhibitor RET-Inhibitor VEGFR-Inhibitor	EGFR	Schilddrüsenkarzinom	EMA, FDA

