

JESSA
ZIEKENHUIS

Tumorsequencing: basisbegrippen

Dr. Brigitte Maes
Laboratorium voor Moleculaire Diagnostiek
Jessa Ziekenhuis
23rd Regional Symposium – IOC – 14 November 2015

1

Overzicht

- DNA - Humaan genoom
- Sequencing – Next Generation Sequencing (NGS)
- Klinische toepassingen
- Tumorsequencing
- Targeted therapie
- Tumorsequencing met NGS in Jessa
- Toekomst perspectief

2

DNA

- DNA sequentie = specifieke opeenvolging van de 4 nucleotiden met **4 basen**:
Adenine – A
Guanine – G
Cytosine – C
Thymine – T
- In essentie **2 functies**:
 - coderen voor alle nodige eiwitten
 - doorgeven van de informatie naar volgende generaties

gene

DNA

3

Humaan Genoom – DNA in cijfers

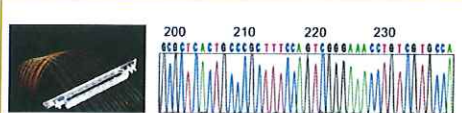
- Gecondenseerd in **46 chromosomen**
- Ontrold **2 meter** lang
- Opeenvolging van **3 MILJARD** nucleotiden (A, T, G, C) in specifieke volgorde
- Onderverdeeld in **32 000 GENEN** = functionele eenheden van het genoom die coderen voor alle nodige eiwitten
“molecule of life”
“genetische code”
- Aangetoond met SEQUENCING

4

Sequencing

Klassieke Sequencing

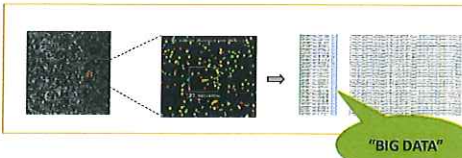
- Sanger Sequencing = “First generation” sequencing
- Sinds **1977**
- capillair-electroforese gebaseerd
- **Capaciteit**: +/- 50 000 nucleotiden per analyse
= +/- 1 specifiek gen voor 50 patiënten of 50 genen voor 1 patiënt



5

Next Generation Sequencing

- Sinds **2004** (Roche)
- Zelfde scheikundige principes maar op **microchip**
- **Capaciteit**: +/- 500 000 000 000 nucleotiden per analyse
- “Massive parallel sequencing”
- Bio-informatica!! (software en hardware)




6

Next Generation Sequencing

Ter illustratie – **VOOR** het NGS tijdperk

- Humaan genoom = opeenvolging van **3 MILJARD nucleotiden** (A, T, G, C) met specifieke volgorde
- Voor eerste maal volledig gesequenced in "The Human Genome Project"
 - Gestart in 1990, met klassieke sequencing
 - **14 jaar (1990 – 2003)**
 - **3 miljard \$**
 - Mijlpaal!



Februari 2001

LOC symposium - 14 Nov 2015

Next Generation Sequencing

Ter illustratie – **Na** het NGS tijdperk

- Volledige sequencing van een genoom met NGS:
 - Kwestie van **dagen**
 - +/- **1000 \$**
 - Ondertussen wereldwijd al **> 200 000** volledige humane genomen gesequenced
 - Enorme boost aan de medische research

LOC symposium - 14 Nov 2015

Detectie van DNA varianten met NGS (1)

Associatie met **voorbeschiktheid** voor bepaalde kanker of andere aandoeningen

- Mutaties in BRCA – genen:
 - 85 % risico op borstkanker
 - 25 – 50 % risico op ovariumkanker
- Screening van de populatie op gekende mutaties??
 - Identificatie van voorbeschiktheid laat **preventie** toe
 - Haalbaar met NGS
 - 1 à 2 % van de bevolking
 - Voer voor gezondheidseconomen
 - Ethische aspecten



Diabetes?
Alzheimer?
Asthma?
Kanker?
...

LOC symposium - 14 Nov 2015

Detectie van DNA varianten met NGS (2)

Andere klinische toepassingen

- "Pharmacogenomics"
 - Sequencing van medicatie metaboliserende enzymen
 - Identificatie van "poor" en "ultrapid" metabolizers van medicaties
 - "**gepersonaliseerde**" dosering van antidepressiva, marcoumar en vele andere
- Microbiologie
 - Microbiële genomen
 - Identificatie van bacteriën en hun resistentiemechanisme
- Forensische wetenschap
- NIPT-test
- Oncologie - tumorsequencing

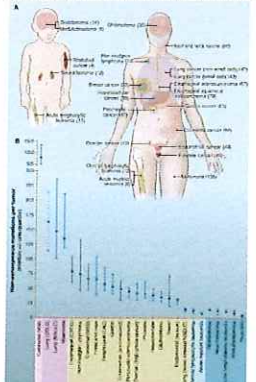
LOC symposium - 14 Nov 2015

Tumorsequencing

- Kanker research met NGS
 - 10-duizenden volledige kankergenomen gesequenced
 - 10-tallen mutaties in "kankergenen" per tumor
 - "**Kanker is een ziekte van het genoom**"
 - **Nieuw inzicht**: elke tumor is anders - elke kankerpatiënt is anders

LOC symposium - 14 Nov 2015

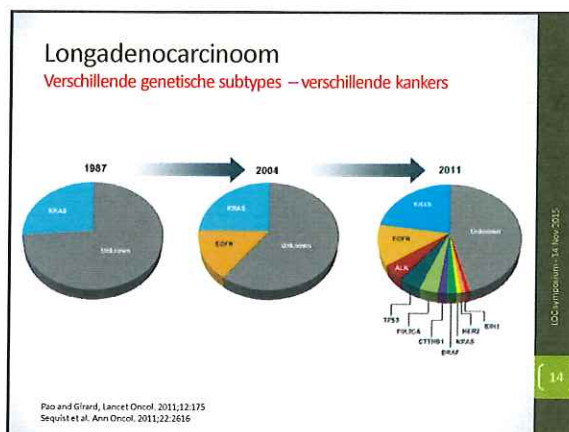
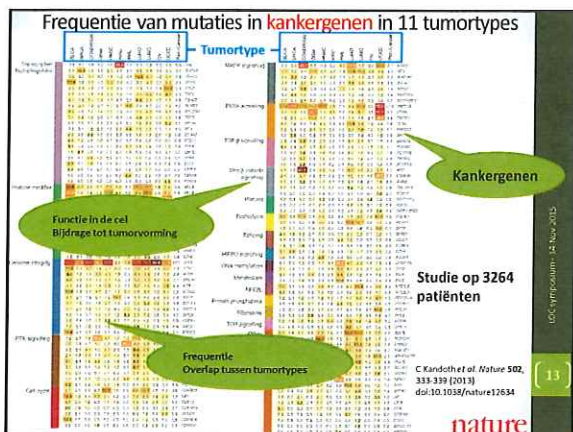
Aantal mutaties in kankers aangetoond met NGS



Kleincellig long	163
Niet-kleincellig long	147
Melanoma	135
Colon	65
Maag	53
AML	8

© Vogelstein et al. Science 2013;339:1546-1558

LOC symposium - 14 Nov 2015



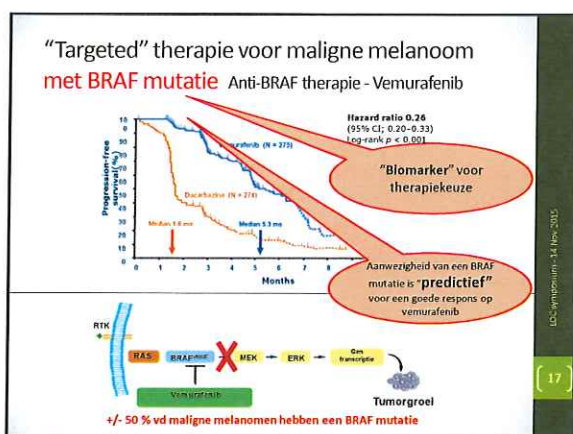
Tumorsequencing

- **Vertaling naar kliniek:**
 - Meer verfijnde diagnose en subtypering van tumoren
 - Kliniek + beeldvorming + histologie + immuunfenotype + **genoom**
 - **Uitdaging voor de behandeling**
 - **Nieuwe "targets" voor therapie** – "targeted" therapie
 - Revolutie in klinische research
 - Selectie van therapie op basis van het genoom van de tumor

→ "gepersonaliseerde behandeling" van kanker – "precision medicine"

"Targeted" therapie in de oncologie

- **Voordelen:**
 - Minder nevenwerkingen/toxiciteit
 - Orale toediening
 - Verbeterde PFS en OS
- **Nadelen:**
 - Nevenwerkingen
 - Kostprijs
 - Selectie op basis van tumorsequencing reduceert kost
 - Kleine subgroepen
 - Weinig patiënten komen in aanmerking
 - Problematisch voor goedkeuring in klinische studies
 - Resistentie
 - Bijkomende mutaties
 - Tumor ontsnapt via andere "pathways"



"Targeted" medicaties anno 2015

Moleculair genetische testen in Jessa

Drug	Classe	Tumor	Gene	Technique
Imatinib Dasatinib Nilotinib	TKI	GIST	<i>BCR-ABL1</i>	Real-time RT-PCR, Karyotyping, FISH
Trastuzumab Lapatinib	Anti-HER2 mAb TKI (EGFR/HER2)	Breast Carcinoma	<i>HER2</i>	FISH
Trastuzumab	Anti-HER2 mAb	Gastric Carcinoma	<i>HER2</i>	FISH
Cetuximab Panitumumab	Anti-EGFR mAb	Colorectal Carcinoma	<i>KRAS</i> <i>NRAS</i>	Real-time PCR, Pyrosequencing
Gefitinib Erlotinib	TKI	Lungcarcinoma	<i>EGFR</i>	Real-time allel-specific PCR
Crizotinib	Anti-ALK	Lungcarcinoma	<i>ALK</i>	FISH
Vemurafenib	Anti-BRAF	Melanoma	<i>BRAF</i>	Real-time allel-specific PCR
Imatinib	TKI	GIST	<i>KIT</i> <i>PDGFRA</i>	Real-time allel-specific PCR

Andere targets voor therapie in longadenocarcinoom

Gene	Therapy	Frequency in NSCLC
AKT1	AKT1-inhibitor	1%
ALK	ALK-inhibitor	3-7%
BRAF	BRAF-inhibitor	1-3%
DDR2	Mutatorn	~4%
EGFR	TKI	10%
FGFR1	FGFR-inhibitor	20%
HER2	HER2-inhibitor	2-4%
KRAS	MEK-inhibitor	15-25%
MEK1	MEK-inhibitor	1%
METa	MET-inhibitor	2-4%
NRAS	MEK-inhibitor	1%
PIK3CA	PI3K-inhibitor	1-3%
PTEN	AKT-inhibitor	4-6%
RET	RET-inhibitor	1%
ROS1a	ALK-inhibitor	1%

Drugs approved in NSCLC
 Drugs approved in NSCLC but for other molecular subtype
 Drugs approved in other cancer
 Drugs in clinical development.

MyCancerGenome.org


Targetable genomic alterations in breast cancer

Gene	Alteration	Frequency (%)	Targetable
AKT1	Point mutation	1.0	Yes
AKT2	Point mutation	0.0	No
AKT3	Point mutation	0.0	No
AKT4	Point mutation	0.0	No
AKT5	Point mutation	0.0	No
AKT6	Point mutation	0.0	No
AKT7	Point mutation	0.0	No
AKT8	Point mutation	0.0	No
AKT9	Point mutation	0.0	No
AKT10	Point mutation	0.0	No
AKT11	Point mutation	0.0	No
AKT12	Point mutation	0.0	No
AKT13	Point mutation	0.0	No
AKT14	Point mutation	0.0	No
AKT15	Point mutation	0.0	No
AKT16	Point mutation	0.0	No
AKT17	Point mutation	0.0	No
AKT18	Point mutation	0.0	No
AKT19	Point mutation	0.0	No
AKT20	Point mutation	0.0	No
AKT21	Point mutation	0.0	No
AKT22	Point mutation	0.0	No
AKT23	Point mutation	0.0	No
AKT24	Point mutation	0.0	No
AKT25	Point mutation	0.0	No
AKT26	Point mutation	0.0	No
AKT27	Point mutation	0.0	No
AKT28	Point mutation	0.0	No
AKT29	Point mutation	0.0	No
AKT30	Point mutation	0.0	No
AKT31	Point mutation	0.0	No
AKT32	Point mutation	0.0	No
AKT33	Point mutation	0.0	No
AKT34	Point mutation	0.0	No
AKT35	Point mutation	0.0	No
AKT36	Point mutation	0.0	No
AKT37	Point mutation	0.0	No
AKT38	Point mutation	0.0	No
AKT39	Point mutation	0.0	No
AKT40	Point mutation	0.0	No
AKT41	Point mutation	0.0	No
AKT42	Point mutation	0.0	No
AKT43	Point mutation	0.0	No
AKT44	Point mutation	0.0	No
AKT45	Point mutation	0.0	No
AKT46	Point mutation	0.0	No
AKT47	Point mutation	0.0	No
AKT48	Point mutation	0.0	No
AKT49	Point mutation	0.0	No
AKT50	Point mutation	0.0	No
AKT51	Point mutation	0.0	No
AKT52	Point mutation	0.0	No
AKT53	Point mutation	0.0	No
AKT54	Point mutation	0.0	No
AKT55	Point mutation	0.0	No
AKT56	Point mutation	0.0	No
AKT57	Point mutation	0.0	No
AKT58	Point mutation	0.0	No
AKT59	Point mutation	0.0	No
AKT60	Point mutation	0.0	No
AKT61	Point mutation	0.0	No
AKT62	Point mutation	0.0	No
AKT63	Point mutation	0.0	No
AKT64	Point mutation	0.0	No
AKT65	Point mutation	0.0	No
AKT66	Point mutation	0.0	No
AKT67	Point mutation	0.0	No
AKT68	Point mutation	0.0	No
AKT69	Point mutation	0.0	No
AKT70	Point mutation	0.0	No
AKT71	Point mutation	0.0	No
AKT72	Point mutation	0.0	No
AKT73	Point mutation	0.0	No
AKT74	Point mutation	0.0	No
AKT75	Point mutation	0.0	No
AKT76	Point mutation	0.0	No
AKT77	Point mutation	0.0	No
AKT78	Point mutation	0.0	No
AKT79	Point mutation	0.0	No
AKT80	Point mutation	0.0	No
AKT81	Point mutation	0.0	No
AKT82	Point mutation	0.0	No
AKT83	Point mutation	0.0	No
AKT84	Point mutation	0.0	No
AKT85	Point mutation	0.0	No
AKT86	Point mutation	0.0	No
AKT87	Point mutation	0.0	No
AKT88	Point mutation	0.0	No
AKT89	Point mutation	0.0	No
AKT90	Point mutation	0.0	No
AKT91	Point mutation	0.0	No
AKT92	Point mutation	0.0	No
AKT93	Point mutation	0.0	No
AKT94	Point mutation	0.0	No
AKT95	Point mutation	0.0	No
AKT96	Point mutation	0.0	No
AKT97	Point mutation	0.0	No
AKT98	Point mutation	0.0	No
AKT99	Point mutation	0.0	No
AKT100	Point mutation	0.0	No

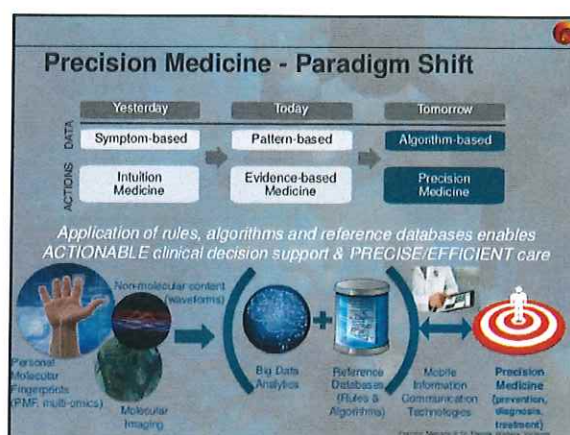
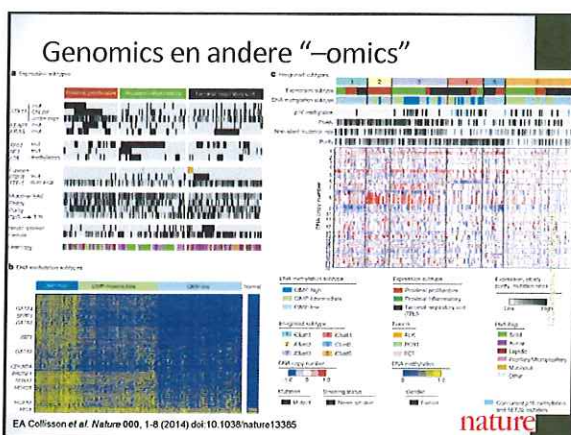
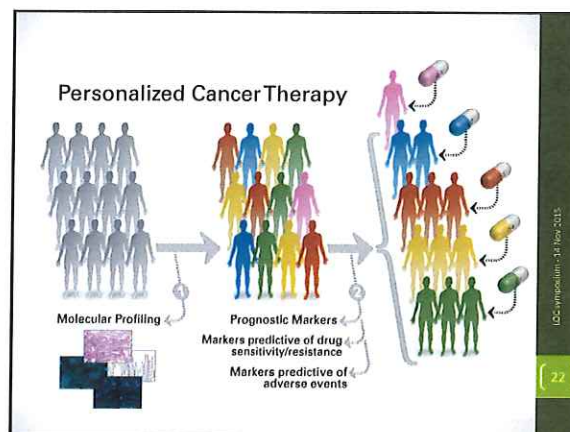
Amobio, M et al (2015) Precision medicine for metastatic breast cancer—limitations and solutions. *Nat Rev Clin Oncol* doi:10.1038/nrco.2015.123

Tumorsequencing met NGS in Jessa

- Gerichte sequencing van **24 "kankergenen"**
 - Verfijnen diagnose – origine
 - "genetisch" subtype
 - Unknown primary
 - Therapiekeuze
 - Colon – long – melanoom – GIST: "approved" medicaties
 - Alle tumoren:
 - "approved" medicaties in ander tumortype
 - Trial medicatie
 - (Prognose)
 - +/- 10 000 nucleotiden per tumorstaal
 - 10 à 20 vaste tumoren per week



AKT1	ALK	APC	BRAF	CTNNB1	EGFR	ERBB2	FBXW7
GNA11	GNAQ	KIT	KRAS	MAP2K1	MET	NRAS	
PDGFRA	PIK3CA	PTEN	RET	SMAD4	STK11	TP53	





Yes, we do prescribe individually targeted, exclusively formulated medicines - but not for indigestion

Copyright © 2015 Novus Publishing Group
Kultur & Reizure | Drug Discovery

25

Bedankt voor uw aandacht