

RET als Tumormarker beim NSCLC und Schilddrüsenkarzinom

Prof. Dr. Peter J. Wild



Darlegung potentieller Interessenkonflikte

Der Inhalt des folgenden Vortrages ist Ergebnis des Bemühens um größtmögliche Objektivität und Unabhängigkeit. Als Referent weise ich darauf hin, dass es persönliche Verbindungen zu Unternehmen gibt, deren Produkte im Kontext des folgenden Vortrages von Interesse sind. Dabei handelt es sich um die folgenden Unternehmen und Verbindungen:

Unternehmen	Verbindungen
BMS	Honorar für Vortragstätigkeit
Thermo Fisher Scientific	Honorar für Vortragstätigkeit
Novartis	Honorar für Vortragstätigkeit
MSD	Honorar für Vortragstätigkeit
Qiagen	Honorar für Vortragstätigkeit, Erstattung von Reise- und Übernachtungskosten, Erstattung von Teilnahmegebühren
Molecular Health	Honorar für Vortragstätigkeit
Eli Lilly	Honorar für Vortragstätigkeit
Bayer	Honorar für Vortragstätigkeit
Roche	Honorar für Vortragstätigkeit
Astra Zeneca	Honorar für Vortrags- und Autoorentätigkeit

Disclaimer

- Thermo Fisher Scientific and its affiliates are not endorsing, recommending, or promoting any use or application of Thermo Fisher Scientific products presented by third parties during this seminar.
- Information and materials presented or provided by third parties are provided as-is and without warranty of any kind, including regarding intellectual property rights and reported results.
- Parties presenting images, text and material represent they have the rights to do so.
- Speaker was provided travel and hotel support by Thermo Fisher Scientific for this presentation, but no remuneration.
- Speaker was provided an honorarium by Thermo Fisher Scientific for this presentation.
- The products from Thermo Fisher Scientific displayed in this presentation are labeled as follows: **"For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures."**



Outline – *RET* Alterationen

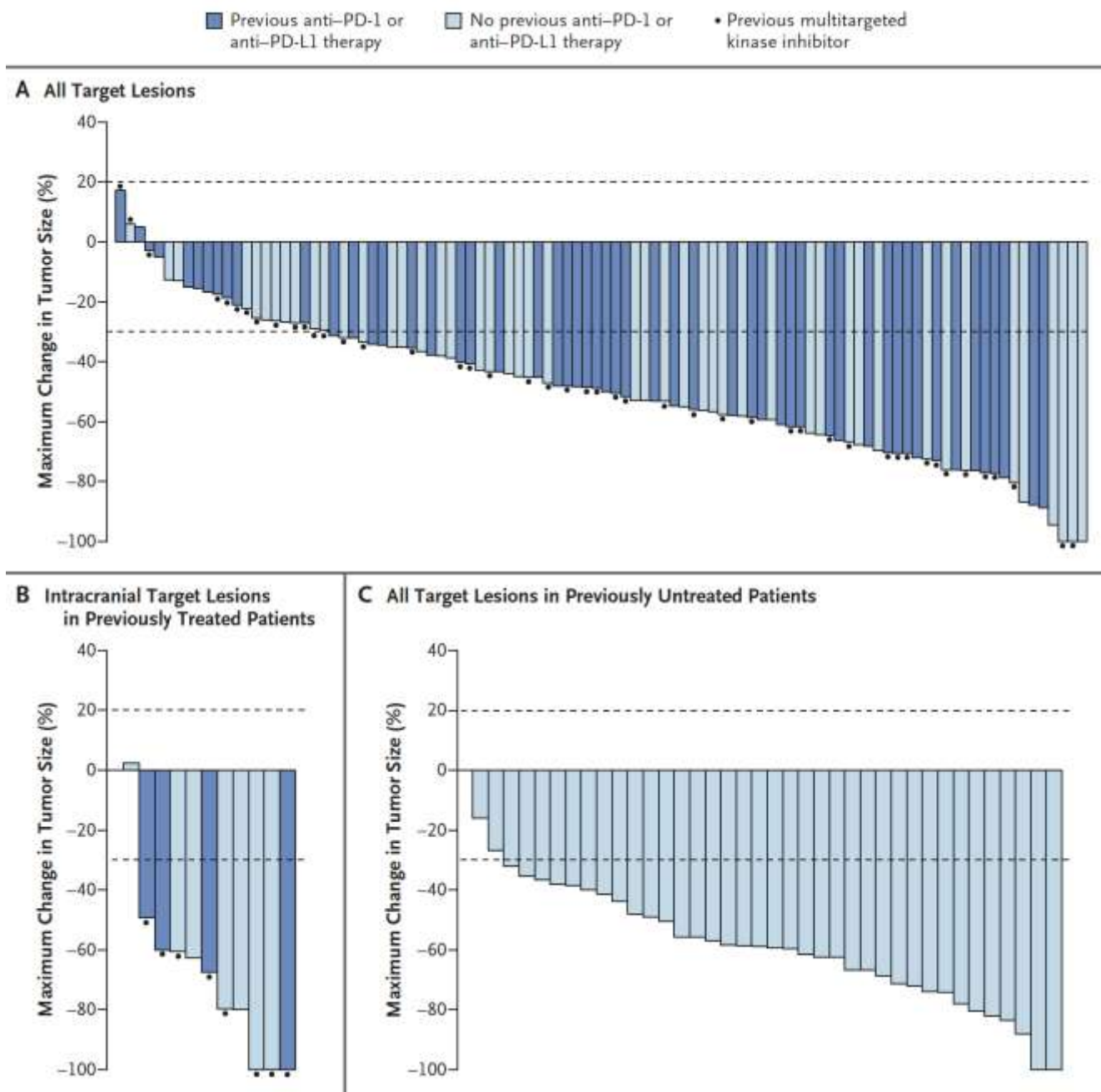
- **Klinische Bedeutung**
- Methodische Untersuchungsmöglichkeiten
- Oncomine Reporter Demoreport
- Quiz



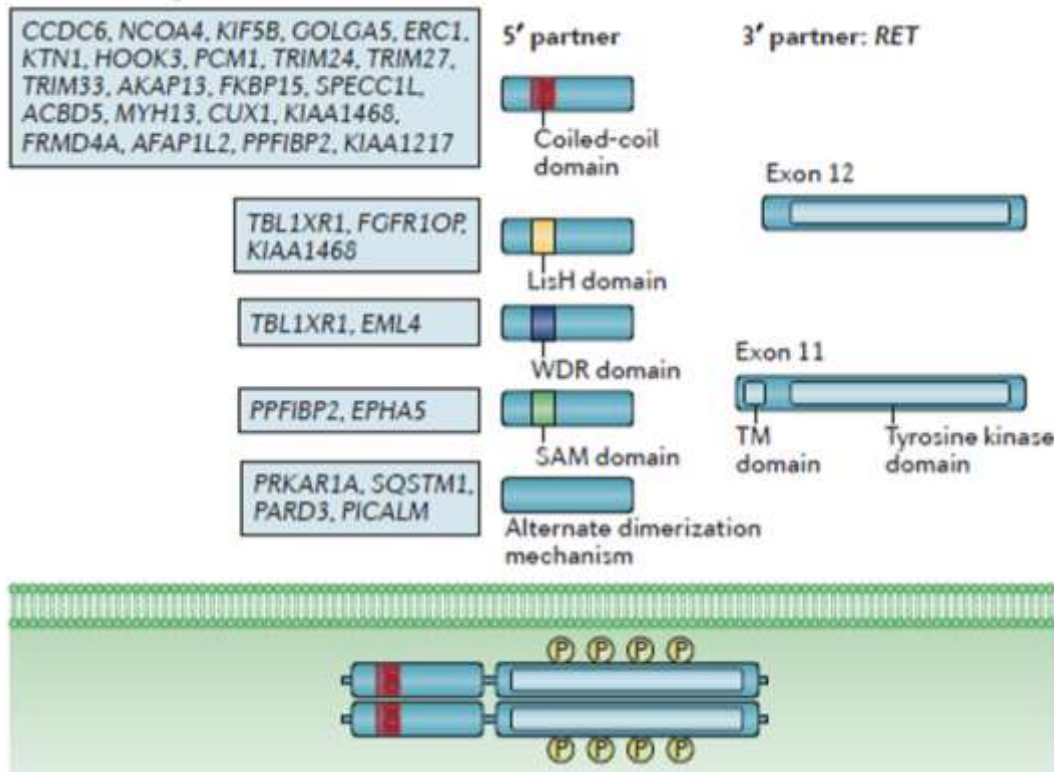
Hintergrund: RET

- Das **RET** Gen kodiert eine Tyrosinkinase
- **RET**-Genveränderungen durch Punktmutationen und Genfusionen wurden bei verschiedenen Krebsarten gefunden¹
 - Aktivierende in-frame **Genfusionen** der RET-Kinase liegen bei etwa 1-2 % aller NSCLC sowie bei 10-20 % aller papillären Schilddrüsenkarzinome vor.
 - Onkogen wirkende **Punktmutationen** des Gens sind bei rund 60 % der Patienten mit einem medullären Karzinom der Schilddrüse (MTC) nachweisbar, beim selteneren familiären MTC sogar bei 90 %.
- **Selpercatinib** ist ein selektiver RET-Kinasehemmer, der zugelassen ist zur Behandlung von nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC), medullärem Schilddrüsenkarzinom oder anderen Formen von Schilddrüsenkrebs, wenn Mutationen oder Fusionen im RET-Gen nachgewiesen wurden
- In den USA ist mit **Pralsetinib** bereits ein zweiter selektiver RET-Kinase-Inhibitor zugelassen.

Efficacy



Mechanisms of RET Activation in Cancers

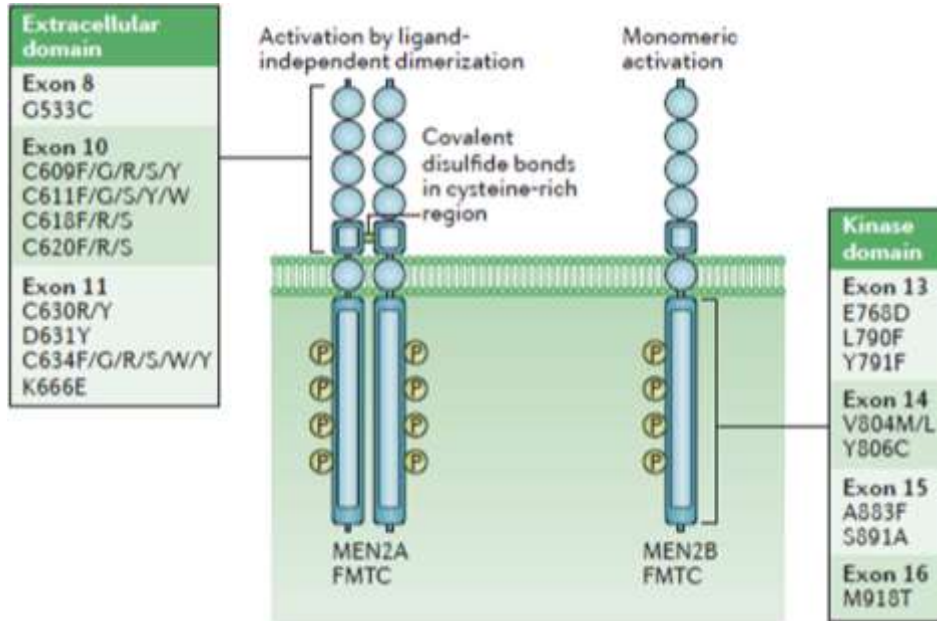


a) *RET* fusion genes: multitude of 5' partners

- NSCLC
- Papillary Thyroid Cancer (PTC)

In-frame *RET* rearrangements result in fusion proteins containing the RET kinase domain that lead to the activation of oncogenic RET signalling

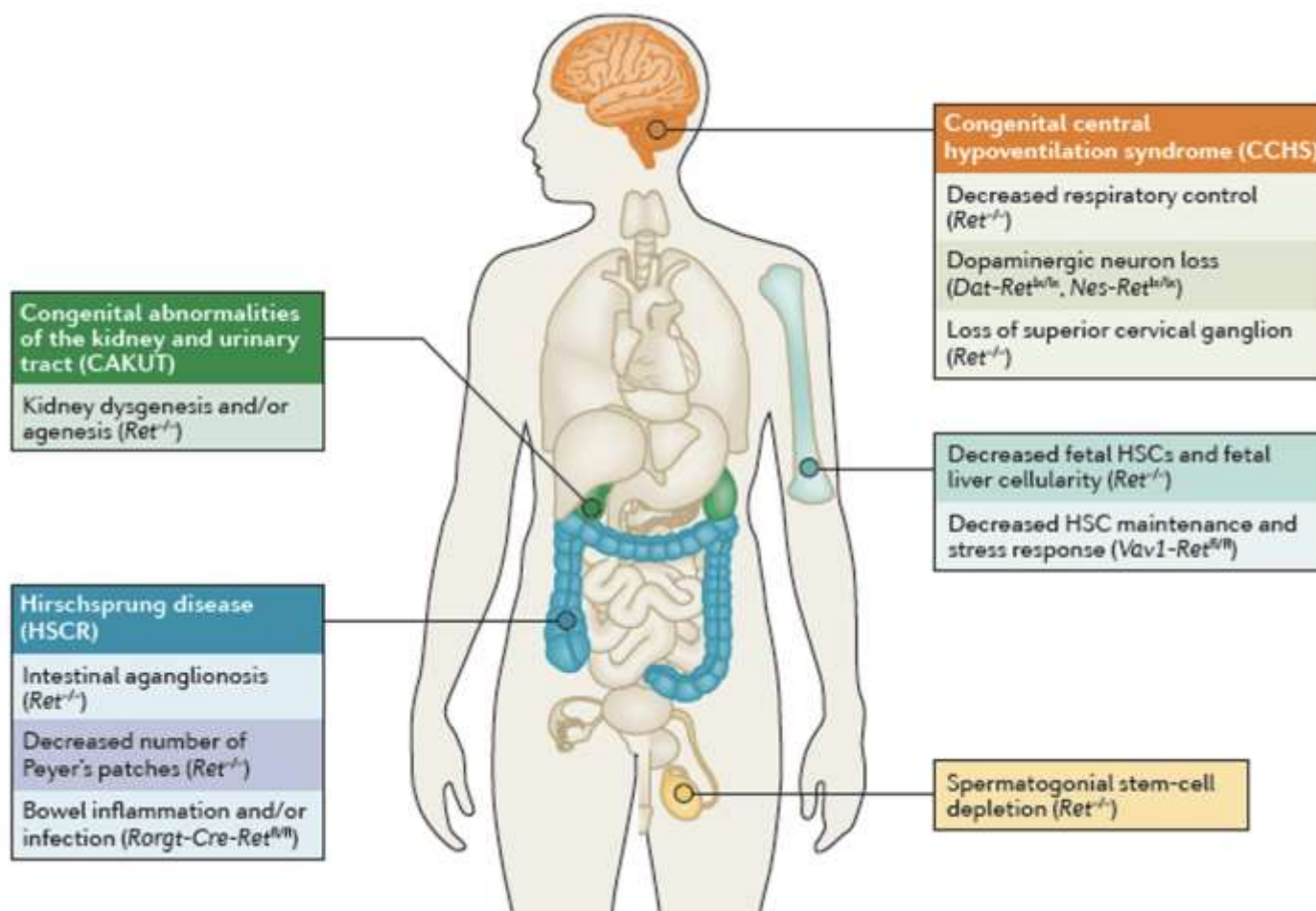
Mechanisms of RET Activation in Cancers



b) *RET* non-synonymous point mutations:
Papillary Medullary Cancer

Activating *RET* mutations can result in substitutions of extracellular cysteine residues for alternate amino acids, which disrupt intramolecular disulphide bridges, enabling the formation of novel intermolecular covalent disulphide bonds that lead to ligand-independent dimerization

Consequences of inactivating *RET* mutations or *Ret* knockout



Zusammenfassung

- *RET* Genfusionen treten mit vielen verschiedenen Partnern auf
- Selpercatinib ist ein selektiver *RET* Kinasehemmer
- *RET* Genfusion (in-frame) → NSCLC und PTC
- *RET* Mutation → MTC (auch FMTC, MEN2A)



Outline – *RET* Alterationen

- Klinische Bedeutung
- **Methodische Untersuchungsmöglichkeiten**
- Oncomine Reporter Demoreport
- Quiz



Methoden der Molekularpathologie

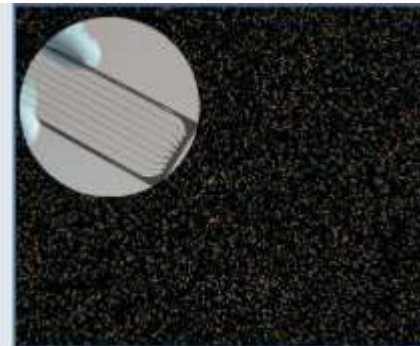
Fluoreszenz in situ
Hybridisierung (FISH)



PCR
Einzelgentests

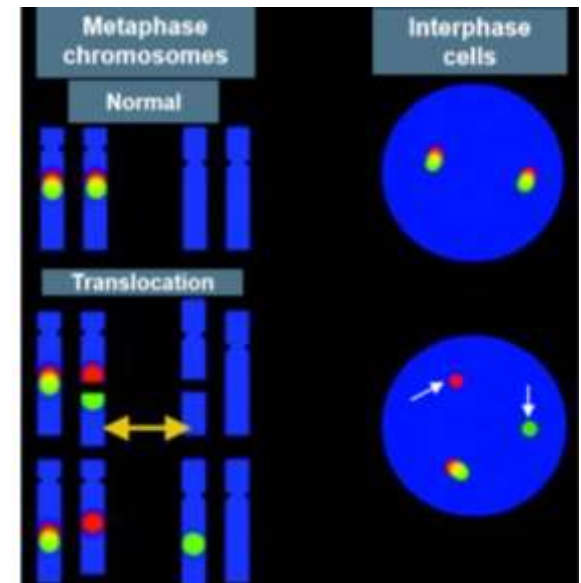


Next-Generation-
Sequencing (NGS)



Identifying *RET* Gene Fusions: FISH

- ✓ High sensitivity and specificity
- ✓ Novel fusion partners can be detected if break-apart probes used
 - Requires individual section for each gene
 - Break-apart FISH identifies gene disruptions in DNA but cannot confirm in-frame, functional fusions or fusion variants





Identifying *RET* Gene Fusions: RNA-based NGS

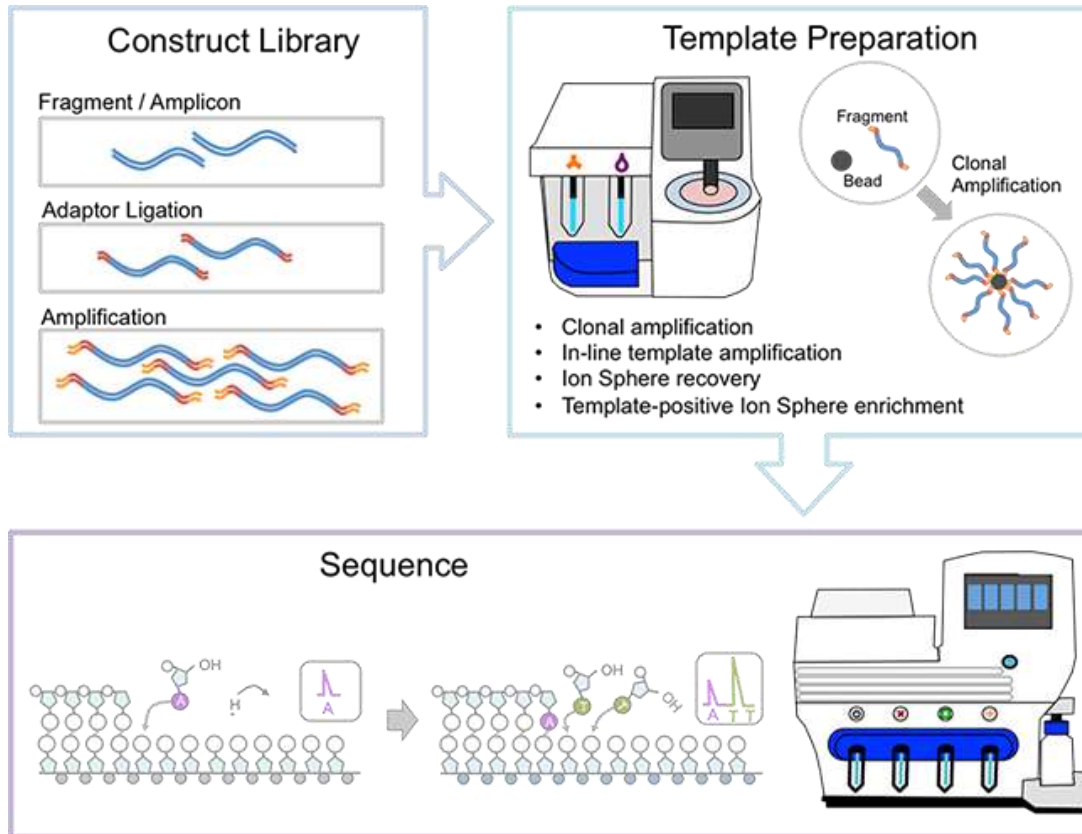
- ✓ High sensitivity and specificity potential
- ✓ Multiplexing: simultaneously queries multiple potentially actionable targets (e.g. *ALK*, *ROS1*, *RET*, *NTRK*)
- ✓ Detects both known and novel fusions, regardless of break point or fusion partner
- ✓ Able to distinguish in-frame, transcribed gene fusions vs. out-of-frame fusions and fusion variants
- ✓ Avoids difficulties of sequencing large intronic regions in the *NTRK* genes

RNA-based NGS as preferred research method for detecting *RET* gene fusion



NGS: Targeted (Amplicon) Re-Sequencing

cDNA with *RET* Fusion



Reads



Alignment



Reference

Quantification

KIF5B-RET Fusion
% reads with fusion



Genexus System

**Ion Torrent™
GX5™ Chip:**
12–15M
reads/lane



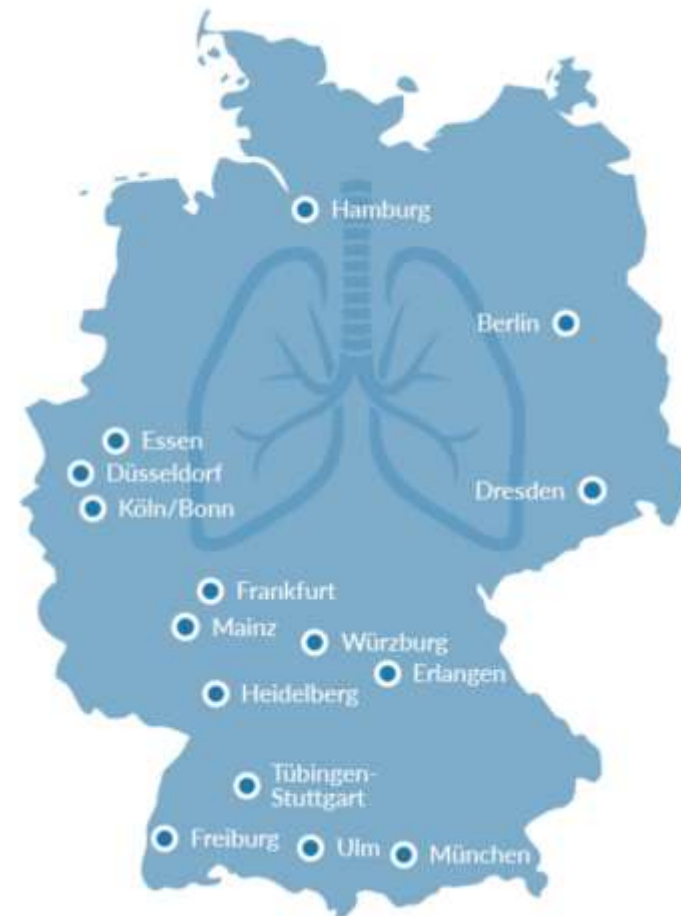
14 hours for a single-lane run
(approx. 24 to 30 hours for full chip)
Up to 32 Samples per run

Research Use Only.
Not for use in diagnostic procedures.

- Short turnaround time
- Automated sample purification, library prep, sequencing, and analysis reporting
- E.g. Oncomine Comprehensive Assay v3 Panel

Aims of the nNGM Task Force 1a Molecular Diagnostics

- Standardization of Testing
- Standardization of Interpretation and Reporting



Extensive comprehensive genetic analysis

1. nNGM Lung Cancer DNA Panel v2.0 (26 genes)

2. Archer FusionPlex Lung Cancer Panel
(*ALK*, *ROS1*, *RET*, *MET*, *NTRK1-3*, etc.)

Panel 2.0 (Indikation: AC, PC)

Gen	NCBI	Ensembl	Exone
ALK	NM_004304.4	ENST00000389048	22, 23, 24, 25
BRAF	NM_004333.4	ENST00000288602.6	11, 15
CTNNB1	NM_001904.3	ENSG00000168036	3
EGFR	NM_005228.3	ENST00000275493.2	18, 19, 20, 21
ERBB2	NM_004448.2	ENST00000269571.5	8, 19, 20
FGFR1	NM_023110.2	ENST00000447712.2	4, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14, 15
FGFR2	NM_000141.4	ENST00000358487.9	6, 7, 8(b), 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18
FGFR2	NM_022970.3	ENST00000457416.2	8(a)
FGFR3	NM_000142.4	ENST00000440486.2	3, 6, 7, 9, 10, 12, 14, 16, 18
FGFR4	NM_213647.1	ENST00000292408.4	3, 6, 9, 12, 13, 15, 16
IDH1	NM_005896.2	ENST00000345146.2	4
IDH2	NM_002168.2	ENST00000330062.3	4
KRAS	NM_033360.2	ENST00000256078.4	2, 3, 4
MAP2K1	NM_002755.3	ENST00000307102.5	2, 3
MET	NM_001127500.2	ENST00000397752.3	14, 16, 17, 18, 19
MET	NM_001127500.2	ENST00000397752.3	Intron 13, ersten 100 bp von Intron 14
NRAS	NM_002524.4	ENST00000369535.4	2, 3, 4
PIK3CA	NM_006218.2	ENST00000263967.3	8, 10, 21
PTEN	NM_000314.4	ENST00000371953.3	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
ROS1	NM_002944.2	ENST00000368508.3	34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41
TP53	NM_000546.5	ENST00000269305.4	4, 5, 6, 7, 8
NTRK1	NM_002529.3	ENST00000524377.5	13, 14, 15, 16, 17
NTRK2	NM_006180.3	ENST00000277120.7	14, 15, 16, 17, 18, 19
NTRK3	NM_001012338.2	ENST00000360948.6	15, 16, 17, 18, 19, 20
RET	NM_020975.6	ENST00000355710.8	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18
HRAS	NM_005343.4, NM_001130442.1	ENST00000311189.8	2, 3, 4
STK11	NM_000455.4	ENST00000326873.11	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
KEAP1	NM_203500.2	ENST00000171111.10	2, 3, 4, 5, 6

2018/2019

Update 2020

Die Liste der Marker der indikationsbezogenen Diagnostik sowie der Studien-Diagnostik wird jährlich auf den Treffen der Task Force Molekulare Diagnostik des nNGM entsprechend den im nNGM angebotenen Studien und den Zulassungen überarbeitet und gegebenenfalls ergänzt.

Molekularpathologische Diagnostik nNGM

1. Analyse der zugelassenen Therapiemarker = indikationsbezogene Diagnostik
2. Umfassende zusätzliche Diagnostik = Studien-Diagnostik im Rahmen des nNGM

Indikationsbezogene Diagnostik (Marker für zugelassene Therapien):

- Nachweis einer aktivierenden *EGFR*-Mutation (Mutationsanalyse)
- Nachweis einer *BRAF*-V600-Mutation (Mutationsanalyse oder IHC)
- Nachweis einer *ALK*-Translokation (IHC, FISH oder NGS)
- Nachweis einer *ROS1*-Translokation (IHC, FISH oder NGS)
- **Nachweis einer *RET*-Translokation (FISH oder NGS)**
- Nachweis einer *NTRK1-3* Translokation
- PD-L1-Status (Quantifizierung membranständig positiver Tumorzellen und Immunzellen)

Bei Zulassung eines neuen Medikaments in der Indikation fortgeschrittenes nicht-operables/metastasiertes nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom in Deutschland wird dieses automatisch in die Liste der indikationsbezogenen Diagnostik Marker aufgenommen.

Anforderung & Kostensicherung

[illegible]

„Actionable“ ➔

„Drugable“
Companion
Dx →

RET

Kapitel 19 EBM Pathologische Gebührenordnungspositionen*
Abschnitt 19.4 EBM: Übersicht (inkl. GOPs 19310 und 19332)

Kapitel	Kurzbezeichnung**				a en. 10 st	Punkte Abgabefelg	Höchstwert/ Quartal
1	19.3	Diagnostische Gefäßflussdiagnostik					
2	19.10	Histologische o. zytologische Untersuchung eines Materials				83	
3	19.132	Histologisch-topographisches Bestimmung (Mikrodissektion)				265	
4	19.4	In-vitro-Diagnostik tumorgerichteter Veränderungen					
5	19.4.1	Pathologie der in-vitro Diagnostik tumorgerichteter Veränderungen					
6	19.401	Arzt: Ärztliche Begutachtung und Befundung, 1 s im Quartal	Un/			145	
7	19.402	Arzt: Zuschlag für komplexe Fälle, schriftlicher Befundbericht mit wiss. Beurteilung, 1 s im Quartal	Un	U		416	
8	19.403	Labor: Probenvorbereitung Archivierung, 1 s im Quartal	Un			383	
9	19.404	Aufarbeitung einer Gewebe- oder Organprobe				236	944 = 4x
10	19.406	Schriftliches Gutachten zum Antrag auf Durchführung GOP 19425 (Ausschluss zur 19425), 1 s in 4 Quartalen	Un/	Un		500	
11	19.4.2	In-vitro-Diagnostik tumorgerichteter Veränderungen					
12	19.410	In-situ-Hybridisierung (Charakterisierung struktureller chromosomaler Aberrationen), je Zielsequenz		C		518	
13	19.411	Translokation, je Zielsequenz		C		858	4.290 = 5x
14	19.421	Nachweis oder Ausschluss Punktmutation / Deletion / Duplikation, je Zielsequenz		Un		211	3.165 = 15x
15	19.424	Mutationsuche in bis zu 20 kh kodierender Sequenz, je vollendete 250 Basen (kleines Panel)		Un	Je 250 Basen 678	21x 339	24.914
16	19.425	Gesamtingangspflichtige Mutationsuche in mehr als 20 kh kodierender Sequenz (großes Panel) 1 s in 4 Quartalen	Un/	Un		30.663	
17	19.426	MSI am Tumor, 1 s in 4 Quartalen		Un/		867	
18	19.4.3	Indikationsbezogene Diagnostik hämatologischer Neoplasien					
19	19.430	Affinitätsanreicherung mittels Ligand-Zell-Interaktion				278	556 = 2x
20	19.431	Anzucht von Zellen				906	2.718 = 3x
21	19.432	Karyotyp lichtmikroskopische Klonierungsanalyse		C		842	2.526 = 3x
22	19.433	B-Zell oder T-Zell Klonalitätsanalyse, 1 s im Quartal		Un/		5.512	
23	19.434	Chromosomenanalyse, 3 s im Quartal		Un/		1.156	
24	19.435	Quantifizierung einer Zielsequenz, minimale Rasterkrankung, 4 s im Quartal		Un		1.348	
25	19.439	Zuschlag zu GOP 19435				1.973	
26	19.4.4	In-vitro-Diagnostik tumorgerichteter Veränderungen zur Indikationsstellung einer pharmakologischen Therapie					
27	19.451	Punktmutation / Deletion / Duplikation, je Zielsequenz		Un/		211	3.165 = 15x
28	19.452	Translokation		Un/	Un	858	4.290 = 5x
29	19.453	Mutationsuche in bis zu 20 kh kodierender Sequenz, je vollendete 250 Basen (kleines Panel)		Un/	Je 250 Basen 678	21x 339	24.914
30	19.454	Mutationsuche in mehr als 20 kh kodierender Sequenz (großes Panel), 1 s in 4 Quartalen		Un/	Un	30.663	
31	19.456	BRCA1 / 2 zur Indikationsstellung Therapie, 3s in 4 Quartalen		Un/	Un/	19.643	

Personalized Oncology Program



Dr. Melanie Demes

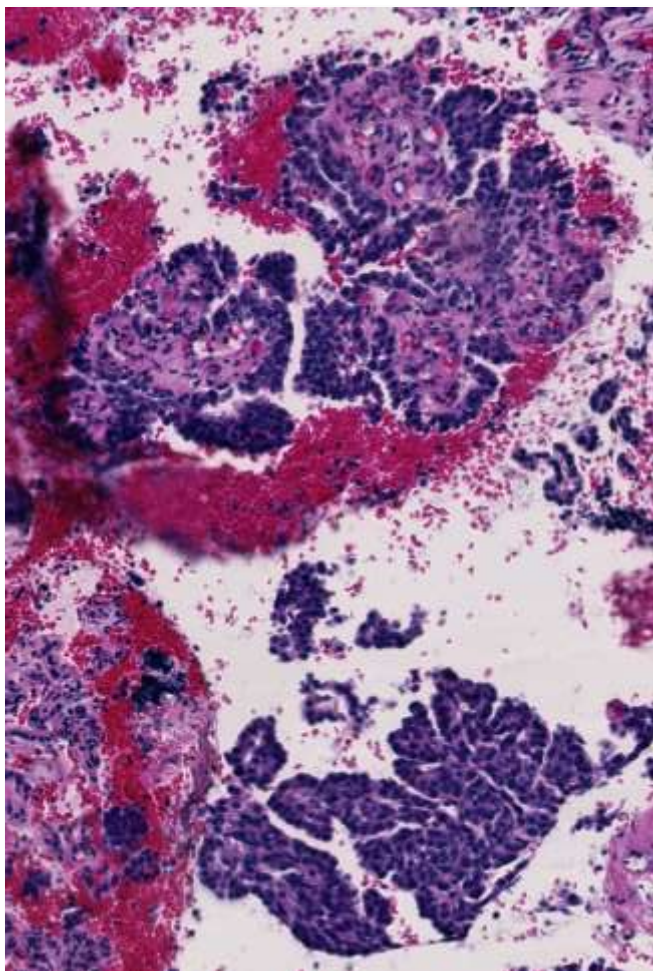
Molecular Assays (SIP & WILDLAB)

- Thermo Fisher Oncomine Comprehensive Assay v3 (161 genes inkl. HRR)
- Thermo Fisher Oncomine cfTNA Assays (Liquid Biopsy)
- Thermo Fisher OncoScan Array Platform (CNVs, HRD)
- Thermo Fisher nNGM DNA Assay v2.0
- Illumina TruSight Oncology 500 (500 genes, TMB, MSI)
- Archer FusionPlex Lung RNA Panel Assay (nNGM)
- Archer FusionPlex Sarcoma RNA Panel (26 genes)
- NanoString platform (CNVs)
- Myriad EndoPredict Test (mRNA, 12 genes)
- Proteomedix Proclarix Serum Test

4 NSCLCs mit *RET*-Fusion in 2020

- | | |
|------------------|---------------------------|
| 1. LCNEC: | <i>KIF5B(15)-RET(12)</i> |
| 2. ADCA + LCNEC: | <i>CCDC6(1)-RET(12)</i> |
| 3. ADCA: | <i>KIF5B(15)-RET(12)</i> |
| 4. ADCA: | <i>KIF5B(16)-RET(12)*</i> |

RET-Fusion positives ADCA der Lunge



Next-Generation Sequencing (DNA nNGM2.0, RNA ARCHER FusionPlex Lung):

1. Mutation:

-> Kein Nachweis einer Mutation, bei ausreichender DNA-Sequenzierqualität.

2. Amplifikation:

-> Kein Nachweis einer Amplifikation, bei ausreichender DNA-Sequenzierqualität.

3. Fusion/Translokation:

-> Nachweis einer Fusion der Gene *KIF5B* und *RET*, Locus: chr10:32311776,chr10:43612032, Read Counts: 9864, Variant ID: 6940 (Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology).

C. Biologische Bewertung

-> *RET* ist ein Protoonkogen und kodiert eine Rezeptor-Thyrosinkinase (PMID: 24561444), die normalerweise in der Embryonalentwicklung exprimiert wird und für die Entwicklung von neuronale und neuroendokrinen Zellen verantwortlich ist (PMID: 8306871). Mutationen in diesem Gen, die zu einer andauernden Enzymaktivität führen, sind mit einer Reihe von Tumoren assoziiert. *KIF5B* (Kinesin-1 heavy chain) kodiert ein Mikrotubuli-abhängiges Motorprotein, welches beteiligt ist an der Regulation von Zentrosomen und der Kernposition während des Eintritts in die Mitose (PMID: 20386726). Die vorliegende *KIF5B-RET* Fusion ist als onkogen bekannt (OncoKB). Ca. 1,36 % der Patienten mit Lungenkrebs weisen eine *KIF5B-RET* Fusion auf (PMID: 31289444). Derzeit laufen vielversprechende klinische Studien mit RET-Inhibitoren bei Patienten mit NSCLC und RET-Fusion: BLU-667-1101 (ARROW), Phase 1/2-Studie, BLU-667 (=Pralsetinib, spez. RET-Inhibitor), Einschluss: alle Linien, Studienzentren: Essen, München, Heidelberg, Oldenburg. LOXO-RET-17001, Phase 1/2-Studie, LOXO-292 (Selpercatinib = spez. RET-Inhibitor), Einschluss: nach Standardtherapie, Standorte: Köln, Würzburg. Sofern Zugang zu einer der genannten Studien mit einem neuen spezifischen RET-Inhibitor besteht, sollte eine Studienteilnahme aufgrund der vielversprechenden vorläufigen Daten unabhängig von der Therapielinie dringend erwogen werden. Darüber hinaus existieren für fortgeschrittene Therapielinien Compassionate Use Programme für Loxo-292 (Selpercatinib) und Blu-677 (Pralsetinib). Quelle: *Muripedia*

Zusammenfassung

- RET-Fusionsproteine und Mutationen sind onkogene Treiber
- *RET*-Genfusionen bzw. Mutationen können durch spezifische Testmethoden (RNA-basiertes NGS) zuverlässig nachgewiesen werden
- *RET*-Genfusionen und Mutationen werden routinemäßig im Rahmen umfassender genomischer Profiling-Assays (CGP) getestet



Outline – *RET* Alterationen

- Klinische Bedeutung
- Methodische Untersuchungsmöglichkeiten
- **Oncomine Reporter Demoreport**
- Quiz



Example of Oncomine Reporter Sample Report

Sample ID: 00-123456789		Date: 12 Jan 2021		1 of 7																													
Sample Type: FFPE		Primary Tumor Site: Lung																															
Sample ID: 7878		Sample Collected: 010101																															
Sample Cancer Type: Non-Small Cell Lung Cancer																																	
Relevant Non-Small Cell Lung Cancer Findings																																	
<table><tr><td>Gene</td><td>Finding</td><td>Gene</td><td>Finding</td></tr><tr><td>ALK</td><td>Not detected</td><td>NTRK1</td><td>Not detected</td></tr><tr><td>BRAF</td><td>Not detected</td><td>NTRK2</td><td>Not detected</td></tr><tr><td>EGFR</td><td>Not detected</td><td>NTRK3</td><td>Not detected</td></tr><tr><td>ERBB2</td><td>Not detected</td><td>RET</td><td>KIF5B-RET fusion</td></tr><tr><td>KRAS</td><td>Not detected</td><td>ROS1</td><td>Not detected</td></tr><tr><td>MET</td><td>Not detected</td><td></td><td></td></tr></table>						Gene	Finding	Gene	Finding	ALK	Not detected	NTRK1	Not detected	BRAF	Not detected	NTRK2	Not detected	EGFR	Not detected	NTRK3	Not detected	ERBB2	Not detected	RET	KIF5B-RET fusion	KRAS	Not detected	ROS1	Not detected	MET	Not detected		
Gene	Finding	Gene	Finding																														
ALK	Not detected	NTRK1	Not detected																														
BRAF	Not detected	NTRK2	Not detected																														
EGFR	Not detected	NTRK3	Not detected																														
ERBB2	Not detected	RET	KIF5B-RET fusion																														
KRAS	Not detected	ROS1	Not detected																														
MET	Not detected																																
Relevant Biomarkers																																	
<table><tr><td>Tier</td><td>Genomic Alteration</td><td>Relevant Therapies (In this cancer type)</td><td>Clinical Trials</td></tr><tr><td>IA</td><td>KIF5B-RET fusion kinesin family member 5B - ret proto-oncogene Locus: chr10:32317356 - chr10:43612032</td><td>pralsetinib¹ seelpercatinib¹ cabozantinib vandetanib</td><td>20</td></tr><tr><td>IIC</td><td>PIK3CA G1049R phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha Locus: chr3:178952090 Transcript: NM_006218.4</td><td>None</td><td>11</td></tr></table>						Tier	Genomic Alteration	Relevant Therapies (In this cancer type)	Clinical Trials	IA	KIF5B-RET fusion kinesin family member 5B - ret proto-oncogene Locus: chr10:32317356 - chr10:43612032	pralsetinib ¹ seelpercatinib ¹ cabozantinib vandetanib	20	IIC	PIK3CA G1049R phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha Locus: chr3:178952090 Transcript: NM_006218.4	None	11																
Tier	Genomic Alteration	Relevant Therapies (In this cancer type)	Clinical Trials																														
IA	KIF5B-RET fusion kinesin family member 5B - ret proto-oncogene Locus: chr10:32317356 - chr10:43612032	pralsetinib ¹ seelpercatinib ¹ cabozantinib vandetanib	20																														
IIC	PIK3CA G1049R phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha Locus: chr3:178952090 Transcript: NM_006218.4	None	11																														
Public data sources included in relevant therapies: FDA ¹ , NCCN, EMA ² , ESMO																																	
Tier Reference: Li et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. J Mol Diagn. 2017 Jan;19(1):4-23.																																	

Disclaimer: The data presented here is from a curated knowledgebase of publicly available information, but may not be exhaustive. The data version is 2020.08 (002). The content of this report has not been evaluated or approved by FDA or other regulatory agencies.



Example of Oncomine Reporter Sample Report

Sample ID: 00-123456789

Date: 12 Jan 2021

2 of 7

Variant Details

DNA Sequence Variants

Gene	Amino Acid Change	Coding	Variant ID	Allele Frequency	Transcript	Variant Effect	ClinVar ¹
PIK3CA	p.(G1049R)	c.3145G>C	COSM12597	27.18%	NM_006218.4	missense	Likely pathogenic

¹ Based on Clinvar version 20190909

Gene Fusions (RNA)

Genes	Variant ID	Locus
KIF5B-RET	KIF5B-RET.K15R12.COSF1232.1	chr10:32317356 - chr10:43612032

Disclaimer: The data presented here is from a curated knowledgebase of publicly available information, but may not be exhaustive. The data version is 2020.08 (002). The content of this report has not been evaluated or approved by FDA or other regulatory agencies.

Example of Oncomine Reporter Sample Report

RET (ret proto-oncogene)

Background: The RET gene encodes the RET receptor tyrosine kinase which is activated by a ligand family of glial cell line-derived neurotrophic factors (GDNF)²¹. RET is the target of recurrent chromosomal rearrangements that generate fusion proteins containing the intact RET tyrosine kinase domain combined with several fusion partner genes. RET fusion kinases are constitutively activated and drive oncogenic transformation which can lead to activation of PI3K/AKT, RAS/RAF/MEK/ERK, and PLCγ/PKC pathways resulting in cell survival and proliferation²².

Alterations and prevalence: RET fusions occur in approximately 55% of papillary thyroid carcinomas (PTC) with even higher frequencies observed in PTC patients with radiation exposure^{23,24,25}. RET rearrangement is also present in 1-2% of non-small cell lung cancer (NSCLC)²⁶. Point mutations in RET are relatively common in sporadic medullary thyroid cancer (MTC), with 6% of patients found to contain germline mutations²⁷. Somatic mutations (specifically at codon 918), which leads to increased kinase activity, have been observed in at least 25% of MTC cases²⁷.

Potential relevance: Selpercatinib²⁸ is approved (2020) for RET fusion-positive NSCLC and thyroid cancer. Selpercatinib²⁸ is also approved for RET-mutation positive medullary thyroid cancer (MTC). Additionally, the RET inhibitor, pralsetinib²⁹, was approved for RET fusion-positive NSCLC (2020) and was granted breakthrough therapy designation (2019) for RET mutation-positive MTC³⁰. The FDA approved small-molecule tyrosine kinase inhibitors, vandetanib (2011), and cabozantinib (2012), are recommended for the treatment of NSCLC patients with RET rearrangements³¹. Cabozantinib has also demonstrated clinical benefit in RET mutated medullary thyroid cancer patients³². Point mutations involving codons 804 and 806 have been shown to confer resistance to selective kinase inhibitors including vandetanib^{33,34}. RET mutations at codon 918 are associated with high risk and adverse prognosis in patients diagnosed with MTC³⁵.

Disclaimer: The data presented here is from a curated knowledgebase of publicly available information, but may not be exhaustive. The data version is 2020.08 (002). The content of this report has not been evaluated or approved by FDA or other regulatory agencies.

Molecular Tumor Board



October 22nd, 2020

- Weekly interdisciplinary **molecular tumor board** in Frankfurt
- Combined monthly **virtual meeting** (V-MTB)
 - Discussion of selected current case studies
 - Current technical trends in molecular and computational pathology



Outline – *RET* Alterationen

- Klinische Bedeutung
- Methodische Untersuchungsmöglichkeiten
- Oncomine Reporter Demoreport
- Quiz





RET-veränderte Tumoren

Wie viel wissen Sie tatsächlich über *RET*-veränderte Tumoren?

RET-veränderte Tumoren

1. Das **RET**-Protein ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die eine wichtige Rolle bei der Unterstützung des Zellüberlebens und der Verminderung des Zelltods während einer gesunden Embryogenese spielt.

RET-veränderte Tumoren

1. Das **RET**-Protein ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die eine wichtige Rolle bei der Unterstützung des Zellüberlebens und der Verminderung des Zelltods während einer gesunden Embryogenese spielt.

RICHTIG

RET-veränderte Tumoren

2. Zur Tumorentwicklung kommt es, wenn das Wildtyp-**RET**-Protein durch seinen Liganden aktiviert wird.

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology
Knowledge into Practice, www.onckip.com



RET-veränderte Tumoren

2. Zur Tumorentwicklung kommt es, wenn das Wildtyp-**RET**-Protein durch seinen Liganden aktiviert wird.

FALSCH

Zur Tumorentwicklung kommt es wenn das *RET*-Protein fehlaktiviert wurde, häufig ohne Beteiligung eines Liganden.

RET-veränderte Tumoren

3. Die Fehlaktivierung des RET-Proteins tritt auf, wenn sein Gen rearrangiert wird, das Ende der Gensequenz der Anfang und der Anfang das Ende wird.



RET-veränderte Tumoren

3. Die Fehlaktivierung des RET-Proteins tritt auf, wenn sein Gen rearrangiert wird, das Ende der Gensequenz der Anfang und der Anfang das Ende wird.

FALSCH

Eine Fehlaktivierung des RET-Proteins beim Entstehen von Krebs erfolgt hauptsächlich über 2 Mechanismen: (1.) Umlagerungen („Rearrangements“) oder Fusionen, bei denen die RET-Gensequenz mit der Sequenz eines anderen Gens fusioniert (2.) Mutationen, wie z.B. Punktmutationen innerhalb der RET-Gensequenz.

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com

RET-veränderte Tumoren

4. Das hereditäre medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC) ist mit Mutationen im *RET*-Gen assoziiert

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology
Knowledge into Practice, www.onckip.com

RET-veränderte Tumoren

4. Das hereditäre medulläre Schilddrüsenkarzinom (MTC) ist mit Mutationen im *RET*-Gen assoziiert.

RICHTIG

RET-Mutationen (keine Fusionen) sind die grundlegende Ursache einer seltenen Erbkrankheit, der sogenannten multiplen endokrinen Neoplasie Typ 2 (MEN2), die 25% der MTC Fälle verursacht. *RET*-Mutationen werden auch in 40-90% der Fälle von sporadischem MTC vorgefunden.

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com

RET-veränderte Tumoren

5. RET-Mutationen scheinen in etwa 5-35% der Fällen vom papillärem Schilddrüsenkarzinom (PTC) eine onkogene Rolle zu spielen.

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com

RET-veränderte Tumoren

5. *RET*-Mutationen scheinen in etwa 5-35% der Fälle vom papillärem Schilddrüsenkarzinom (PTC) eine onkogene Rolle zu spielen.

FALSCH

Dies ist für *RET*-Fusionen aber nicht für Mutationen der Fall.



RET-veränderte Tumoren

6. 1-2% der Fälle von nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) weisen eine *RET* Fusion auf

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com



RET-veränderte Tumoren

6. 1-2% der Fälle von nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) weisen eine *RET* Fusion auf

RICHTIG

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com



RET-veränderte Tumoren

7. Veränderung der RET-Expression sind nur mit Lungen und Schilddrüsenkarzinom assoziiert

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com

RET-veränderte Tumoren

7. Veränderung der RET-Expression sind nur mit Lungen und Schilddrüsenkarzinom assoziiert

FALSCH

Veränderungen der RET-Expression wurden auch bei Mammakarzinom, duktalem Pankreasadenokarzinom, kolorektalem Adenokarzinom, Melanom, Neuroblastom und neuroendokrinen Dünndarmkarzinomen gefunden.

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com



RET-veränderte Tumoren

8. Multikinasehemmer werden zur Behandlung von *RET*-veränderten Tumoren eingesetzt.



RET-veränderte Tumoren

8. Multikinasehemmer werden zur Behandlung von *RET*-veränderten Tumoren eingesetzt.

RICHTIG

RET-veränderte Tumoren

9. Selektive *RET*-Inhibitoren sind neuartige, tumoragnostische Therapieoptionen für *RET*-veränderte Tumoren.

FALSCH

Selektive *RET*-Inhibitoren sind neuartige Wirkstoffe, aber derzeit keine tumoragnostischen Therapieoptionen. Die klinischen Daten für selektive *RET*-Inhibitoren stammen hauptsächlich vom *RET*-fusionspositivem NSCLC, *RET*-fusionspositivem PTC und *RET*-mutiertem MTC

Angelehnt an die Fortbildungsreihe Oncology Knowledge into Practice, www.onckip.com

Ausblick: Liquid Biopsy

Gene Content of Oncomine cfTNA Assays

 Pan-cancer									
Oncomine Pan-Cancer Cell-Free Assay									
Hotspot genes					Tumor suppressor genes	CNV genes		Gene fusions	
AKT1	EGFR	FLT3	KRAS	PDGFRA	APC	CCND1	ERBB2	ALK	FGFR3
ALK	ERBB2	GNA11	MAP2K1	PIK3CA	FBXW7	CCND2	FGFR1	BRAF	MET
AR	ERBB3	GNAQ	MAP2K2	RAF1	PTEN	CCND3	FGFR2	ERG	NTRK1
ARAF	ESR1	GNAS	MET	RET	TP53	CDK4	FGFR3	ETV1	NTRK3
BRAF	FGFR1	HRAS	MTOR	RGS1		CDK6	MET	FGFR1	RET
CHEK2	FGFR2	IDH1	NRAS	SF3B1		EGFR	MYC	FGFR2	RGS1
CTNNB1	FGFR3	IDH2	NTRK1	SMAD4					
DDR2	FGFR4	KIT	NTRK3	SMO					

- 52 genes
- Single library from DNA and RNA
- 272 amplicons
- >900 hotspots and indels
- Extended coverage of *TP53*
- 96 fusions
- 12 CNVs
- *MET* exon 14 skipping



Impressionen



DR. SENCKENBERGISCHES
INSTITUT FÜR PATHOLOGIE



Impressionen



Vielen Dank für die Aufmerksamkeit

