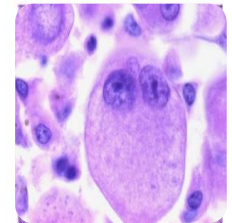
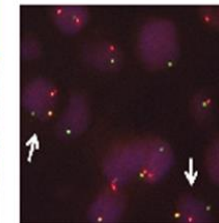


Early microscope



Personalisierte Therapieansätze bei Sarkomen: Molekulare Diagnostik aus Sicht der Pathologie

13. Oktober 2023 | Eva Wardelmann, Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Münster

Offenlegung Interessenskonflikte



Ich erhielt Honorare und Reisemittel von Nanobiotix, Milestone/Menarini, New Oncology, Lilly, Novartis Oncology, Roche, Boehringer Ingelheim, blueprint, Bristol Myers-Squibb, Sanofi und Bayer.

Ich fungiere als ehemalige Präsidentin der Deutschen Division der Internationalen Akademie für Pathology als beratendes Mitglied im Vorstand sowie im educational board, ferner als Referentin.

Ich bin Gründungsmitglied der Deutschen Sarkomstiftung, Vorsitzende der Gerhrad-Domagk-Stiftung und stellvertretende Vorsitzende des medizinischen Fachbeirats des Landeskrebsregisters NRW. Ich bin Mitglied des Subcommittee for Pathology and Translational Research der STBSG (Soft Tissue and Bone Sarcoma Group der EORTC).

Seit 2018 bekleide ich eine Gastprofessur an der Yerevan State Medical University in Armenien.

Ohne korrekte histopathologische Diagnose
keine zielgerichtete Therapie!

Molekulare Diagnostik verfolgt in der Tumorpathologie prinzipiell folgende Ziele:

korrekte Typisierung eines Tumors

Hilfe bei der prognostischen Einschätzung

Identifizierung therapeutischer Targets

Detektion residueller Tumorzellen und Verlaufskontrolle („liquid biopsy“)

Welches Material steht zur molekularen Typisierung zur Verfügung?

Stanzbiopsien (Feinnadel/Tru Cut/Vakuumbiopsien)

Inzisionsbiopsien

Schlingenbiopsien

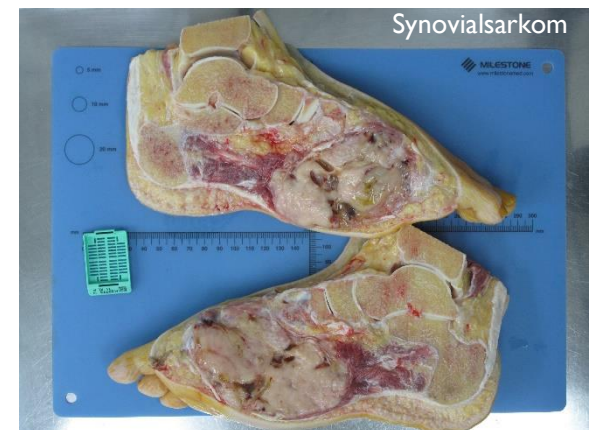
Kürettagen

Excisionsbiopsien

Resektate

Blut

andere Körperflüssigkeiten



Art der Aufarbeitung

Anfertigung von Schnellschnitten an Frischgewebe

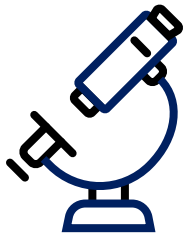


**Schnellschnitte sind zur
Artdiagnose von Sarkomen
ungeeignet!**

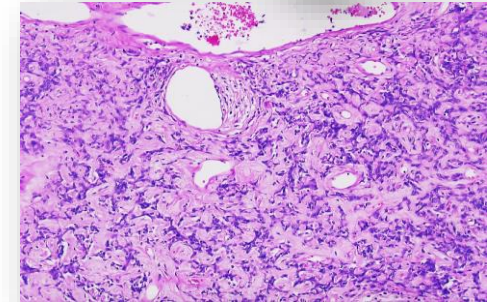
Diagnostischer workflow:



Makroskopie: das bloße Auge



Mikroskopie: HE-Färbung



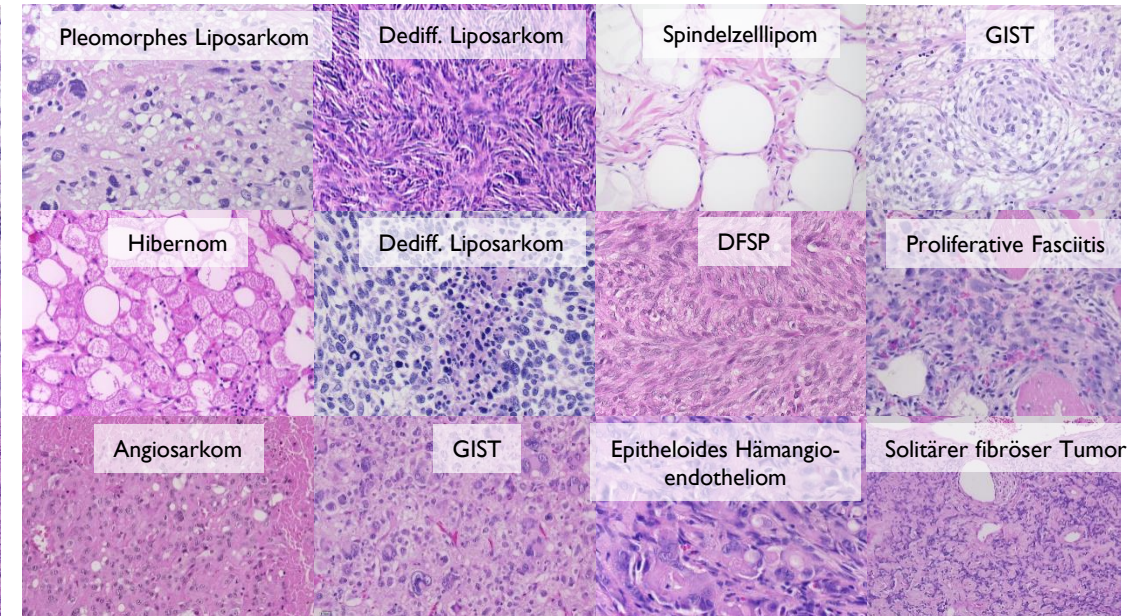
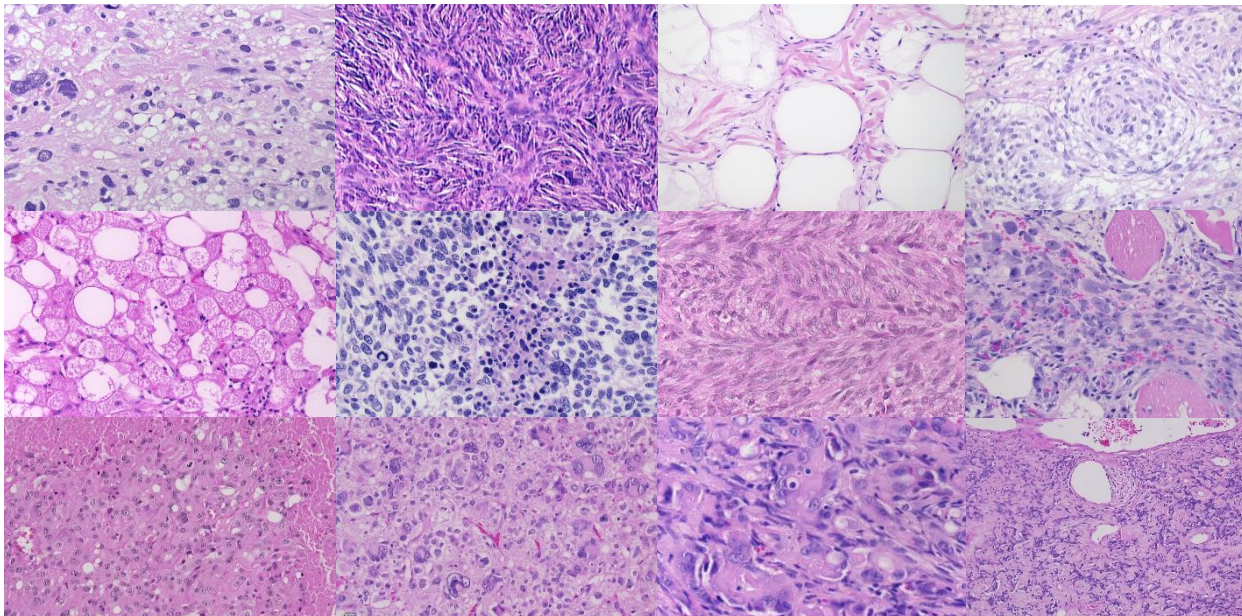
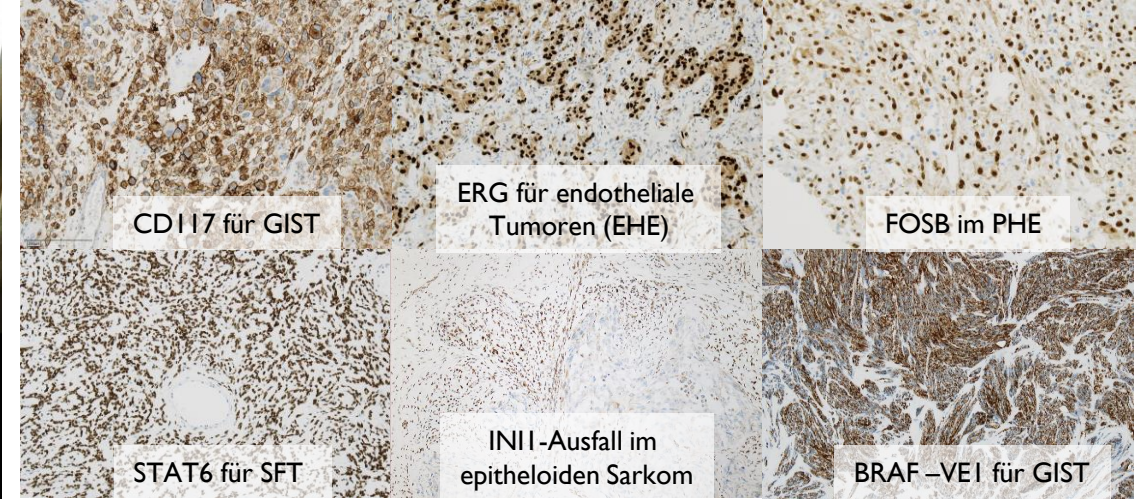
Mikroskopie: Immunhistochemie



Molekularpathologie



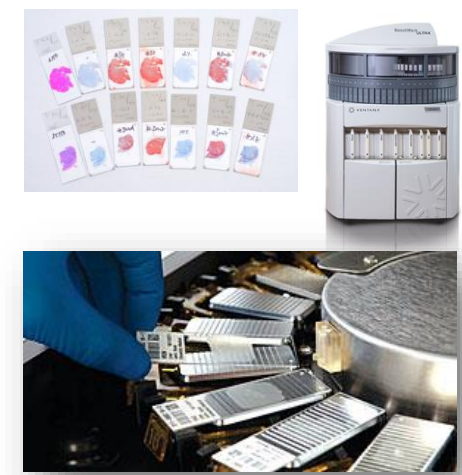
Automatisierte Immunhistochemie erlaubt neben der korrekten Diagnose den Nachweis von onkogenen Treibern und therapeutischen Targets



Immunhistochemische Marker als potentielle Targets

- GIST DOG1, KIT, SDHB, BRAF VE1
- Leiomyosarkom SMA, Desmin, h-Caldesmon, Calponin (mind. 2)
- WDLS, DDLS MDM2, CDK4
- UPS keine
- ESS CD10, ÖR, PR, Cyclin D1, BCOR
- MPNST S100, CD56, H3K27me3, INI1
- Synovialsarkom TLE1, SSX, SS18-SSX
- Klarzellensarkom S-100, HMB45, MelanA
- Angiosarkom CD34, CD31, ERG, D2-40 (Kaposi HHV8)
- Intimasarkom MDM2
- SFT CD34, bcl2, CD99, STAT6, LSD1
- LGFMS/SEF MUC-4
- IMFT ALK, ROS1...
- *NTRK*-Sarkom pan-Trk

SFT = solitärer fibröser Tumor, WDLS/DDLS = hoch/dedifferenziertes Liposarkom, UPS = pleomorphes high grade Sarkom, ESS = endometriales Stromasarkom, GIST = gastrointestinaler Stromatumor, MPNST = maligner peripherer Nervenscheiden-tumor, LGFMS = low grade fibromyxoides Sarkom, SEF = sklerosierendes epitheloides Fibrosarkom, IMFT = inflammatorischer myofibroblastärer Tumor;



Molekulare Analyse als Schlüssel für die Diagnose und/oder Therapie von Knochen- und Weichgewebstumoren

- **spezifische Translokationen:** Bsp. Synovialsarkom, Ewing-Sarkom, Klarzellsarkom, GNET, myxoides Liposarkom, low grade fibromyxoides Sarkom...
- **spezifische Mutationen:** Bsp. GIST, Riesenzelltumor des Knochens, Myxom
- **Amplifikationen:** Bsp. hoch/dedifferenziertes Liposarkom, sekundäres Angiosarkom
- **komplexe Karyotypen:** Bsp. primäres Angiosarkom, dedifferenziertes Chondrosarkom, Osteosarkom, Myxofibrosarkom, undifferenziertes pleomorphes Sarkom...

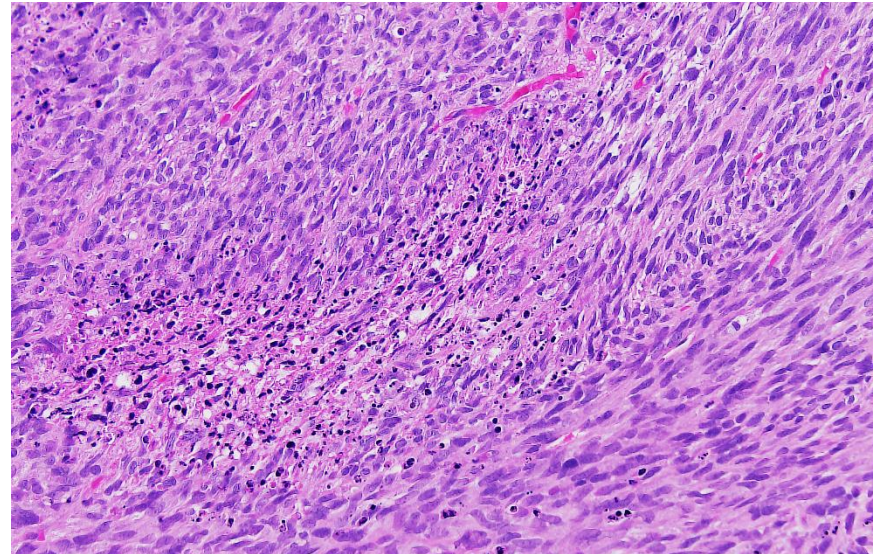


Tumor entity	Genomic aberration	Fusion gene, mutated gene
Alveolar rhabdomyosarcoma (ARMS)	t(2;13)(q35;q14) t(1;13)(p36;q14) t(2;2)(p23;q36) t(X;2)(q13;q36)	PAX3-FOXO1A PAX7-FOXO1A PAX3-NCOA1 PAX3-FOXO4
Alveolar soft part sarcoma (ASPS)	t(X;17)(p11;q25)	ASPSCR1-TFE3
Angiomatoid fibrous histiocytoma (AFH)	t(12;16)(q13;p11) t(2;22)(q33;q12) t(12;22)(q13;q12)	TLS-ATF1 EWSIR-CREB1 EWSIR-ATF1
Angiosarcoma (ASA)	missense mutation amplification	KDR, FLT4 c-MYC
Clear cell sarcoma (CCS)	t(12;22)(q13;q12) t(2;22)(q33;q12)	EWSIR-ATF1 EWSIR-CREB1
Congenital fibrosarcoma (CGFS)	t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3
Dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP)	t(17;22)(q22;q13) der(22)t(17;22) ring chromosome	COL1A1-PDGFB
Desmoplastic small round cell tumor (DSRCT)	t(11;22)(p13;q12)	EWSIR-WT1
Endometrial stromal sarcoma (ESS)	t(7;17)(p15;q21) t(10;17)(q22;p13)	JAZF1-JJAZ1 YWHAE-FAM22A/B
Epithelioid hemangioendothelioma (EHE)	t(1;3)(p36.3;q25) t(X;11)	WWTRI-CAMTA1 YAPI-TFE3
Epithelioid sarcoma (ES)	intragenic deletions	SMARCB1/INI1
Ewing sarcoma (ES)	t(11;22)(q24;q12) t(21;22)(q22;q12) t(7;22)(p22;q12) t(17;22)(q12;q12) t(2;22)(q33;q12) t(16;21)(p11;q22)	EWSIR-FLI1 EWSIR-ERG EWSIR-ETV1 EWSIR-EIAF EWSIR-FEV FUS-ERG
Extrarenal rhabdoid tumor (ERT)	Homozygous inactivation by deletion	hSNF/INI1/SMARCB1/BAF47 or SMARCA4 (BRG1) loss

Extraskelettal myxoid chondrosarcoma (EMCS)	t(9;22)(q22;q12) t(9;17)(q22;q11) t(3;9)(q12;q22) t(9;17)(q22;q11)	EWSIR-CHN TAF2N-CHN TFG-NR4A3 TCF12-NR4A3
Fibromatosis (desmoid type)	CTNNB1 mutations, APC mutations	missense mutations
Gastrointestinal stromal tumor (GIST)	mutations	KIT, PDGFRA, SDH, NFI, BRAF or other genes
Inflammatory myofibroblastic tumor (IMFT)	t(2p23)	div. ALK fusion partners
Low grade fibromyxoid sarcoma (LGFS)	t(7;16)(q33-34;p11) t(11;16)(p11;p11)	FUS-CREB3L2 FUS-CREB3L1 EWSIR-CREB3L1
Sclerosing epithelioid fibrosarcoma (SEF)		
Myxoinflammatory fibroblastic sarcoma (MIFS)	t(1;10)(p22;q24) Ring chromosome	deregulation of FGF8+NPM3 amplification of VGLL3
Solitary fibrous tumor/hemangiopericytoma (SFT)	der(12)(q13-15)	NAB2-STAT6
Synovial sarcoma (SS)	t(X;18)(p11;q11) t(X;18)(p11;q11) t(X;18)(p11;q11) t(X;20)(p11;q13)	SS18-SSX1 SS18-SSX2 SS18-SSX4 SS181-SSX1
Tenosynovial giant cell tumor (TGCT)	t(1;2)(p13;q37)	CSF-COL6A3
Well differentiated liposarcoma (WDLs)/atypical lipomatous tumor (ALT)	Ring chromosome/giant marker	amplification of MDM2, CDK4, HMGA2, GLI-SAS

Wardelmann and Hartmann in: I. Schrijver and G. Netto, Genomic applications in Clinical and Anatomical Pathology

Die Translokationsliste wächst ...



Imatinib Mesylate in Advanced Dermatofibrosarcoma Protuberans: Pooled Analysis of Two Phase II Clinical Trials

Piotr Rutkowski, Martine Van Glabbeke, Cathryn J. Rankin, Włodzimierz Ruka, Brian P. Rubin, Maria Debiec-Rychter, Alexander Lazar, Hans Gelderblom, Raf Sciort, Dolores Lopez-Terrada, Peter Hohenberger, Allan T. van Oosterom, and Scott M. Schuetze



PDGFB::COL1A1

CD34

Viele neue Translokationen führen zu neuen Entitäten...

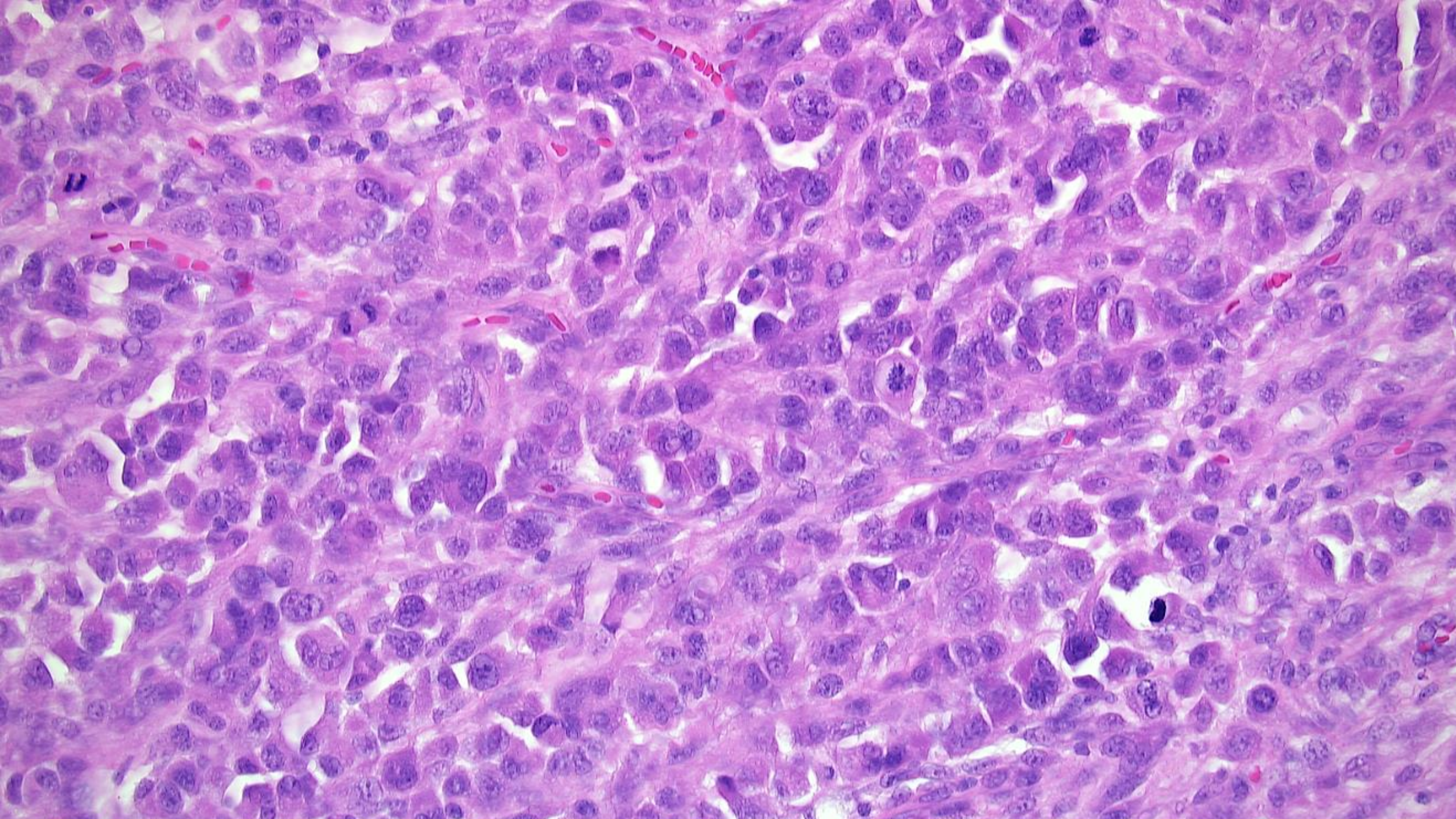
Fallbeispiel

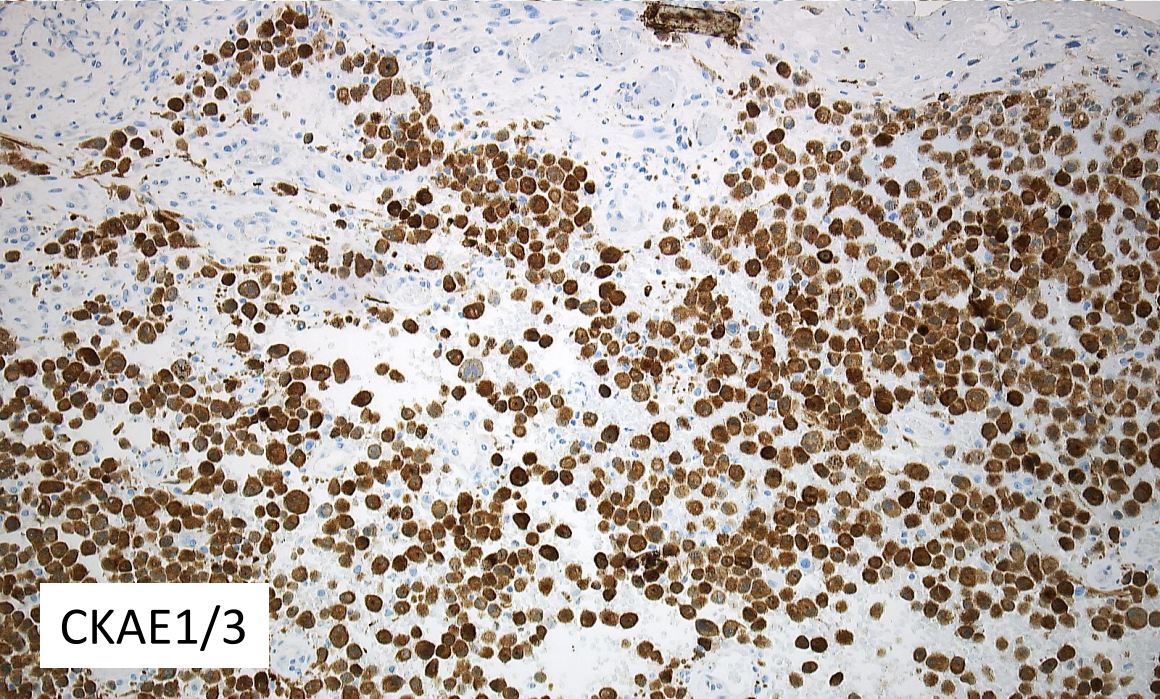
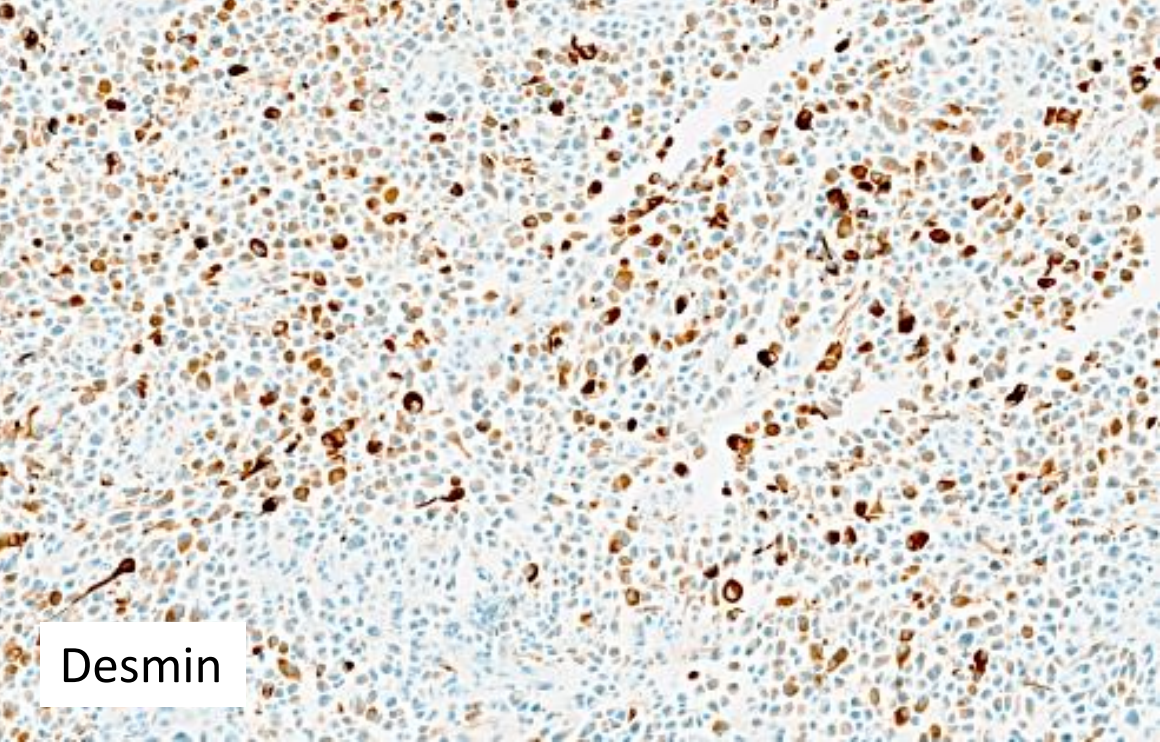
Anamnese:

25-jähriger Mann mit einem rasch wachsenden Tumor über der rechten Skapula.

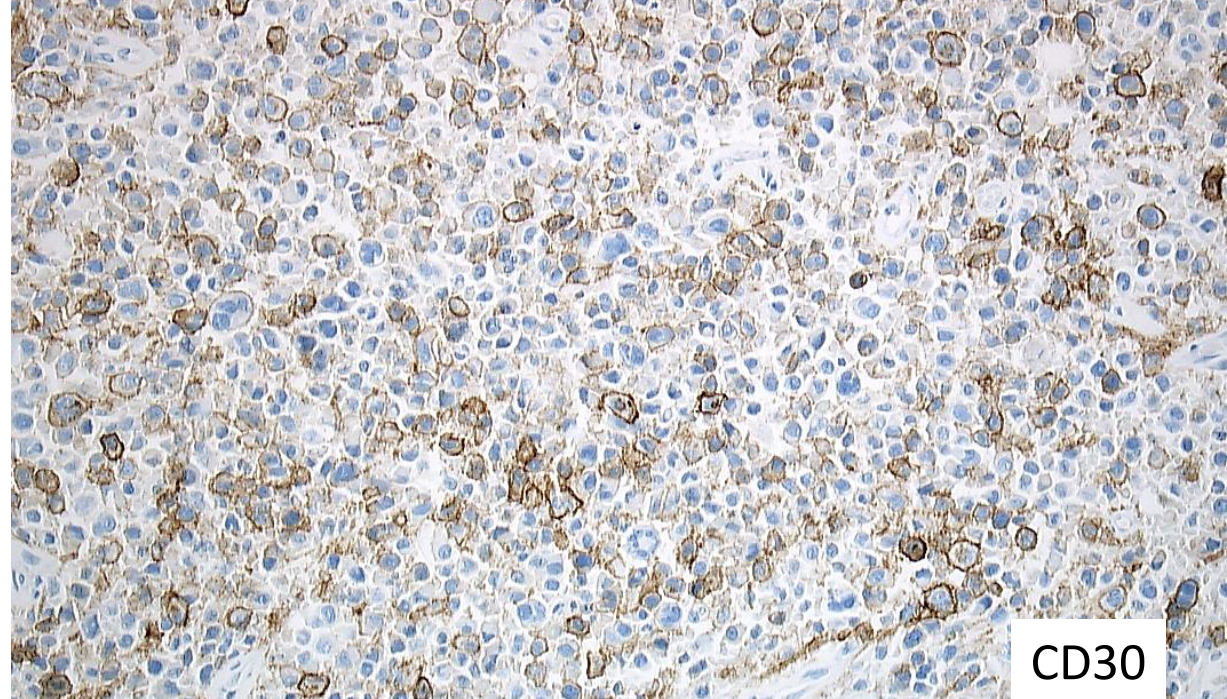
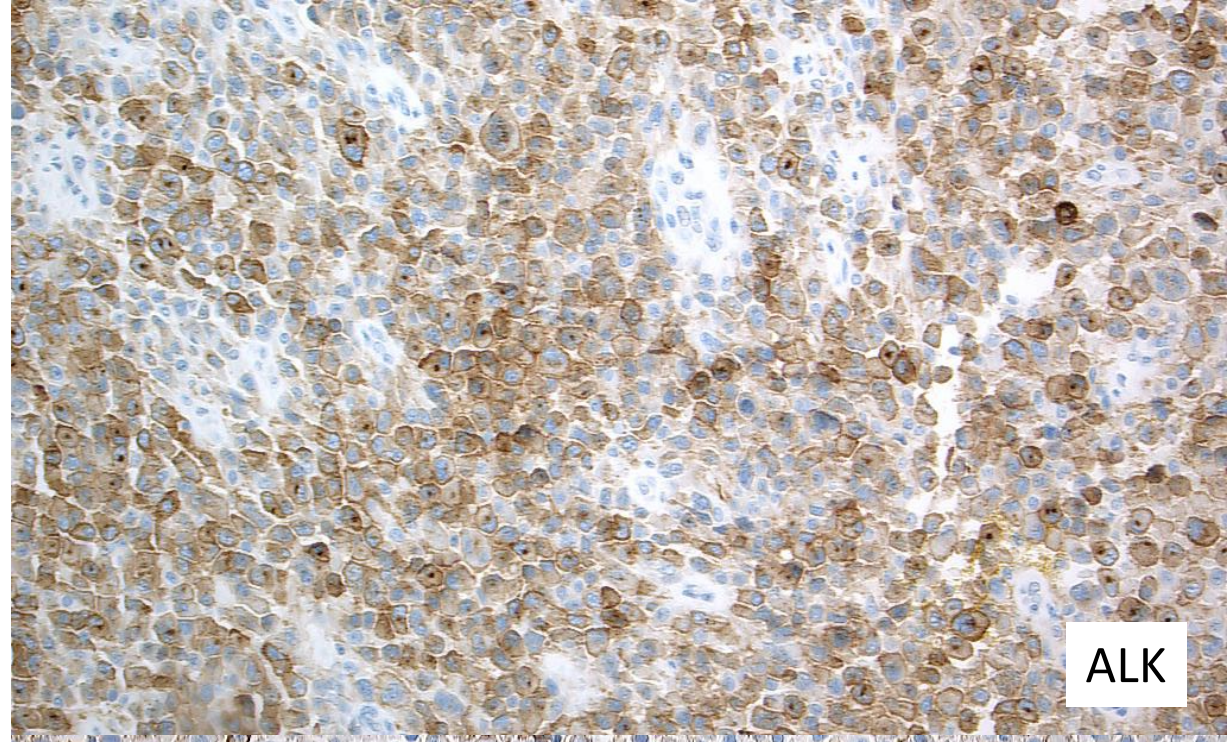


Dank an PD Dr. Stephan Braun
und Prof. Dieter Metze
Hautklinik UKM





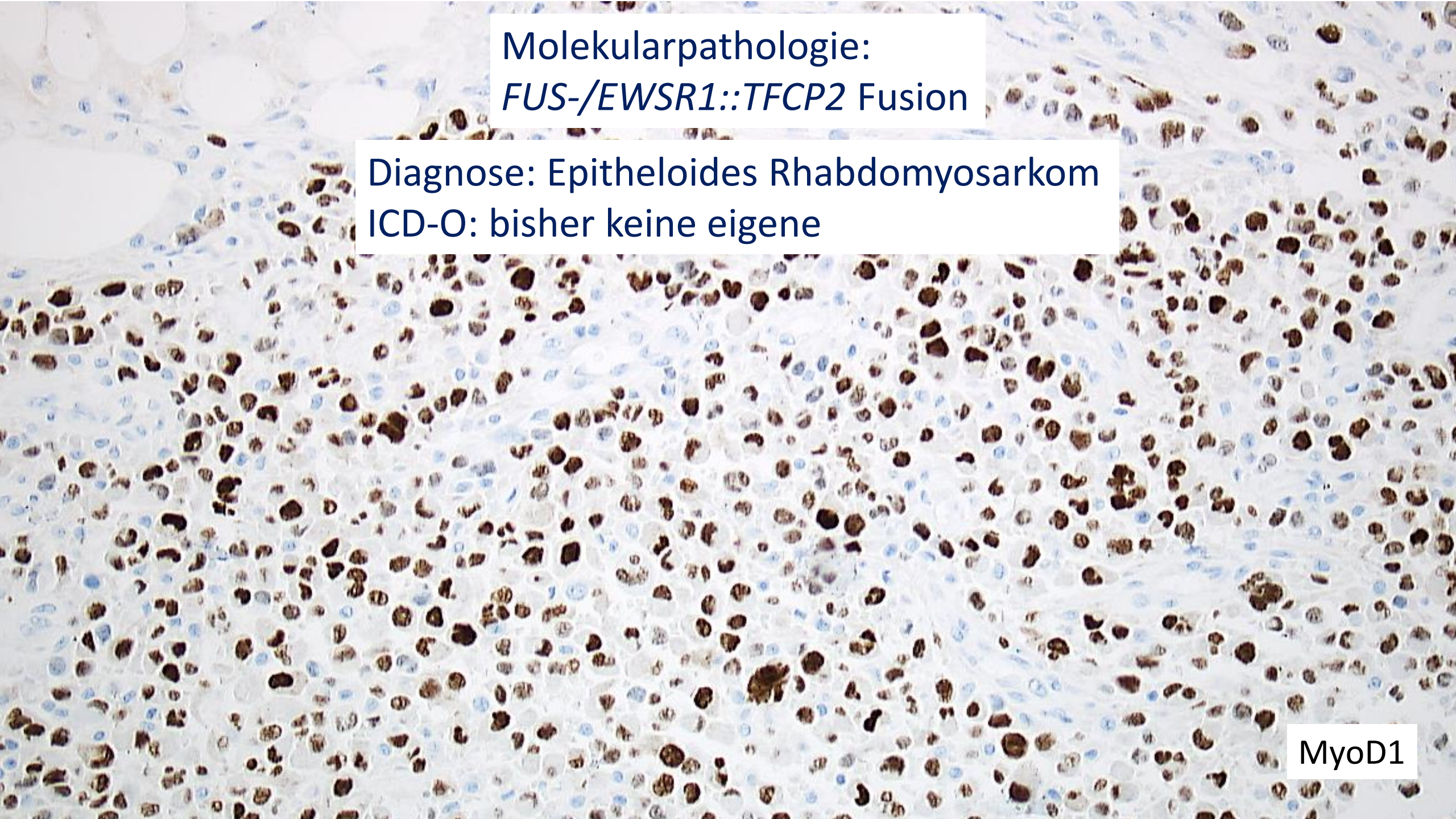
?



Molekularpathologie:
FUS-/EWSR1::TFCP2 Fusion

Diagnose: Epitheloides Rhabdomyosarkom
ICD-O: bisher keine eigene

MyoD1

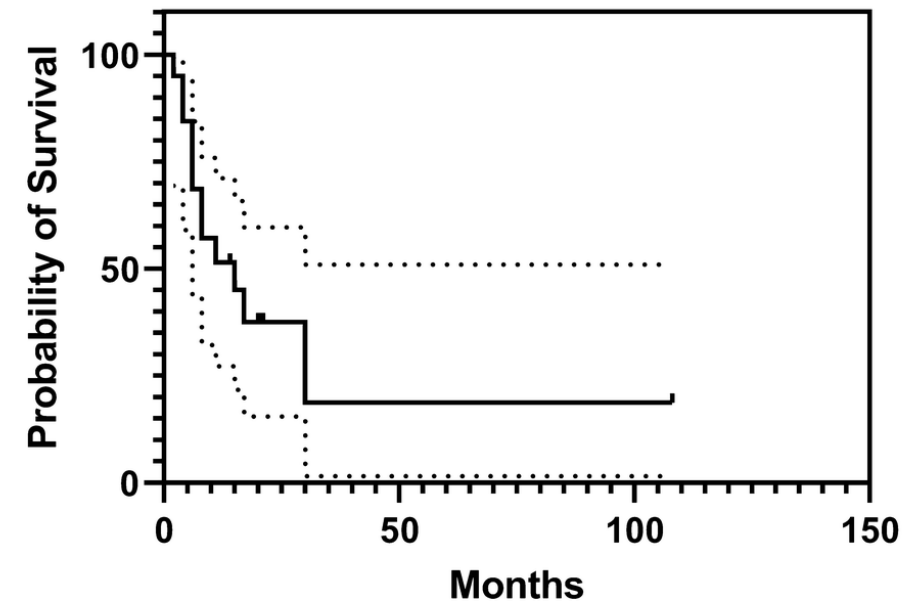


Study	Age (years)	Sex	Location	Follow-up (months)	Outcome
Dashti 2018	72	M	Mandible	2	ANED
Wong 2019/Lewin 2019	23	M	Nasal cavity	4	DOD
Agaram 2019	27	F	Skull	Recent	Recent
Agaram 2019	33	F	Maxilla	Recent	Recent
Agaram 2019	20	M	Femur	108	ANED
Agaram 2019	37	F	Iliac	Recent	Recent
Agaram 2019	21	F	Femur	30	AWD
Tagami 2019	70	F	Vertebra	6	AWD
Zhu 2019	74	F	Maxilla	Unknown	Unknown
Le Loarer 2019	16	F	Sphenoid	15	DOD
Le Loarer 2019	26	F	Sacrum	4	DOD
Le Loarer 2019	38	F	Peritoneum	2	DOD
Le Loarer 2019	32	M	Hard palate and upper lip	8	DOD
Le Loarer 2019	20	M	Orbito-temporal-sphenoid	6	DOD
Le Loarer 2019	86	M	Inguinal	6	DOD
Le Loarer 2019	18	F	Femur	8	DOD
Le Loarer 2019	17	F	Cervico-occipital	15	AWD
Le Loarer 2019	31	M	Left occipital	6	DOD
Le Loarer 2019	32	M	Mandible	14	AWD
Le Loarer 2019	58	F	Mandible	21	ANED
Le Loarer 2019	12	F	Mandible	21	ANED
Le Loarer 2019	11	F	Maxilla	Unknown	DOD
Le Loarer 2019	25	M	Mandible	20	ANED
Current 1	Mid-20s–30s	F	Frontal bone	17	DOD
Current 2	20s	F	Pelvic bones	11	DOD

Epithelioid and spindle cell rhabdomyosarcoma with *FUS-TFCP2* or *EWSR1-TFCP2* fusion: report of two cases

[John S.A. Chrisinger](#), et al. [Virchows Archiv](#) volume 477, pages725–732 (2020)

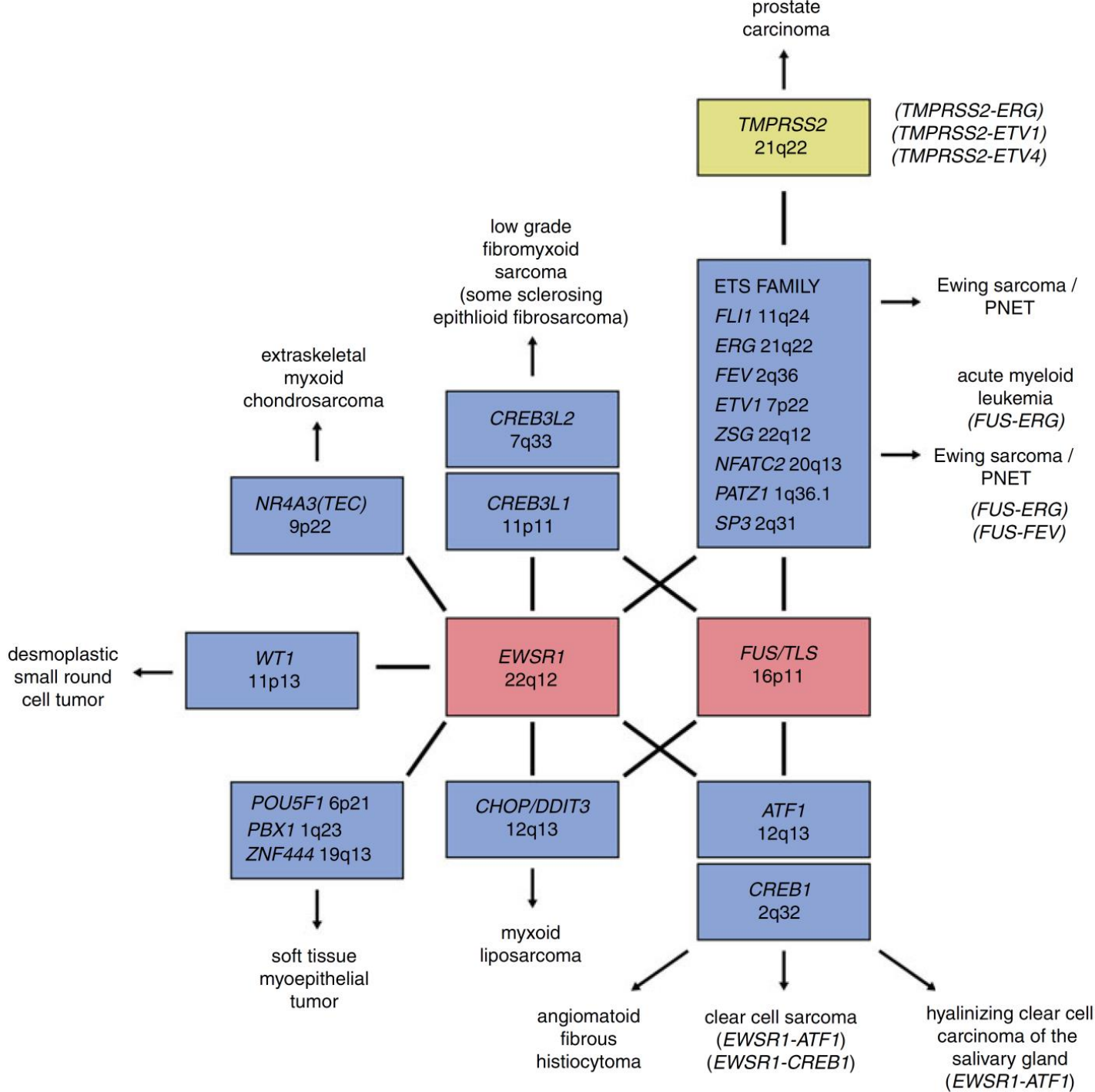
Overall survival, all reported *TFCP2*-rearranged rhabdomyosarcoma



- Ausgang am häufigsten am Stamm gefolgt von den proximalen Extremitäten und der Kopf-Hals-Region, selten andere Lokalisationen
- Junge Erwachsene (F>M)
- Sehr aggressiver Verlauf

1.M male, F female, ANED alive with no evidence of disease, AWD alive with disease, DOD died of disease

EWSR1* oder *FUS
sind häufig in
Translokationen
von Sarkomen
involviert



ACHTUNG!

Promiskuität von Translokationen

EWSR1-Bruchereignisse in der FISH finden sich in:

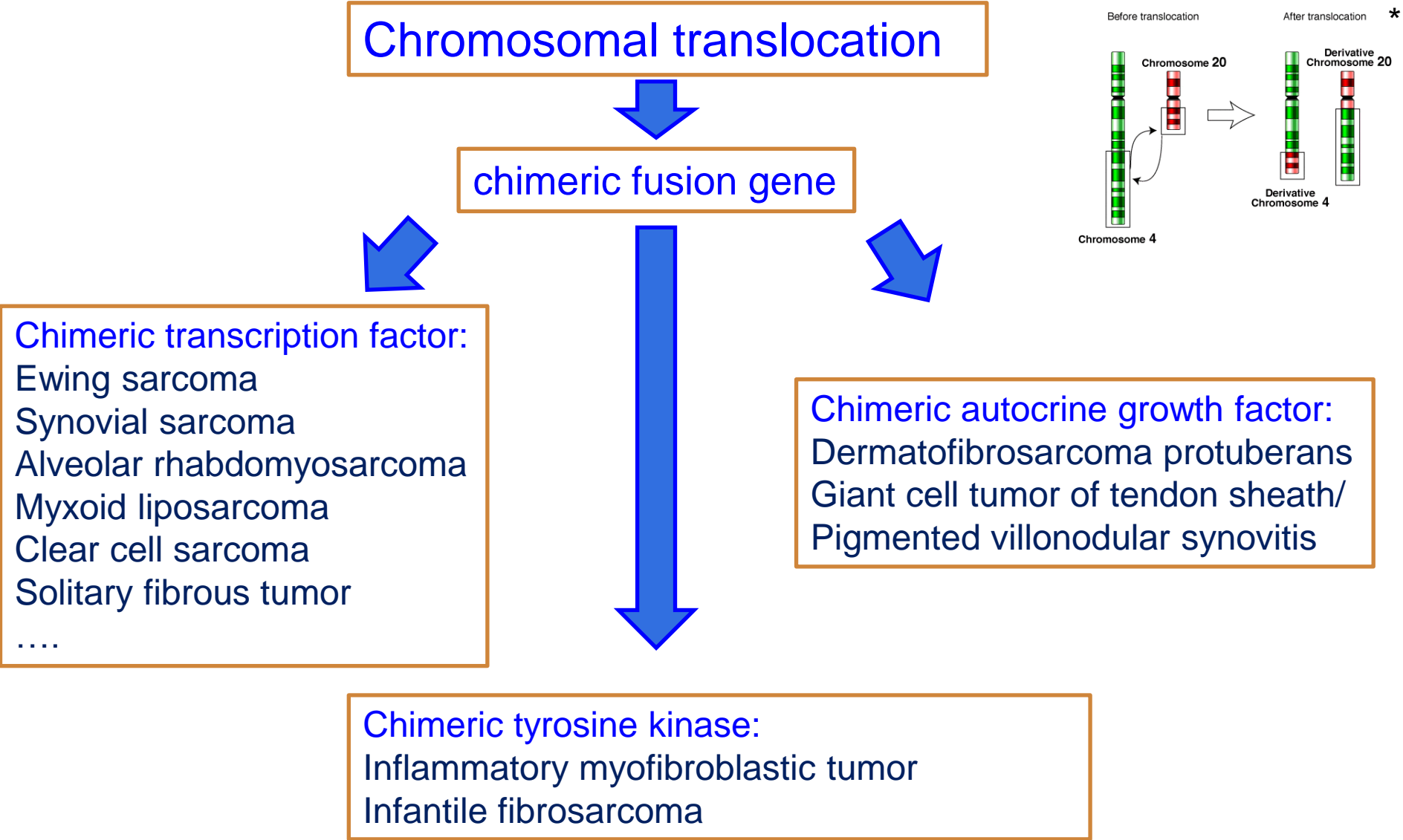
- myxoiden Liposarkomen
- extraskelettalen myxoiden Chondrosarkomen
- desmoplastischen Weichteilsarkomen
- myoepithelialen Tumoren
- Klarzellsarkomen
- gastrointestinalen neuroektodermalen Tumoren
- epitheloiden Rhabdomyosarkomen
- low grade fibromyxoiden Sarkomen
- sklerosierenden epitheloiden Fibrosarkomen...

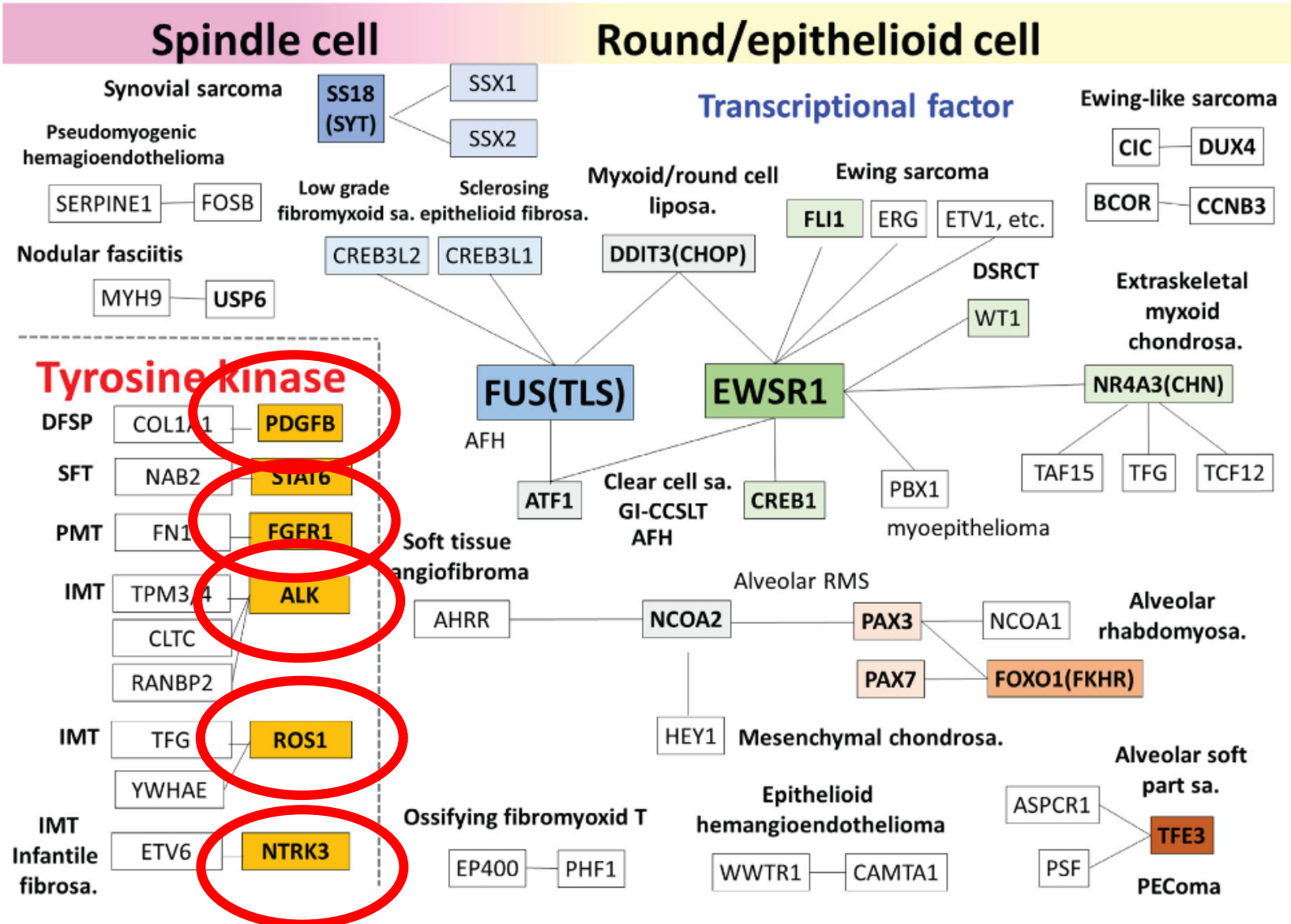
TABLE 1 Ewing Sarcoma Translocations and Related *TET*- and *-ETS* Fusions

Translocation	Genes
Ewing sarcoma	
t(11;22)(q24;q12)	<i>EWSR1-FLI1</i>
t(21;22)(q22;q12)	<i>EWSR1-ERG</i>
t(7;22)(p22;q12)	<i>EWSR1-ETV1</i>
t(17;22)(q12;q12)	<i>EWSR1-ETV4</i>
t(2;22)(q35;q12)	<i>EWSR1-FEV1</i>
t(16;21)(p11;q22)	<i>FUS-ERG</i>
t(2;16)(q35;p11)	<i>FUS-FEV</i>
Clear cell sarcoma	
t(12;22)(q13;q12)	<i>EWSR1-ATF1</i>
t(2;22)(q34;q12)	<i>EWSR1-CREB1</i>
Desmoplastic small round-cell tumor	
t(11;22)(p13;q12)	<i>EWSR1-WT1</i>
t(21;22)(q22;q12)	<i>EWSR1-ERG</i>
Extraskeletal myxoid chondrosarcoma	
t(9;22)(q22;q12)	<i>EWSR1-NR4A3</i>
t(9;17)(q22;q11)	<i>TAF15-NR4A3</i>
t(9;15)(q22;q21)	<i>TCF12-NR4A3</i>
Myxoid liposarcoma	
t(12;16)(q13;p11)	<i>FUS-DDIT3</i>
t(12;22)(q13;q12)	<i>EWSR1-DDIT3</i>
Small round-cell/undifferentiated sarcomas	
t(1;22)(p36.1;q12)	<i>EWSR1-ZNF278</i>
t(6;22)(p21;q12)	<i>EWSR1-POU5F1</i>
t(2;22)(q31;q12)	<i>EWSR1-SP3</i>
Ring chromosome with portions of chromosomes 20 and 22	<i>EWSR1-NFATc2</i>
Angiomatoid fibrous histiocytoma	
t(12;16)(q13;p11)	<i>FUS-ATF1</i>
t(12;22)(q13;q12)	<i>EWSR1-ATF1</i>
Low-grade fibromyxoid sarcoma	
t(7;16)(q33;p11)	<i>FUS-CREB3L2</i>
Acute myelogenous leukemia	
t(16;21)(p11;q22)	<i>FUS-ERG</i>
Acute myelogenous, lymphoblastic, or undifferentiated leukemia	
t(12;22)(p13;q12)	<i>EWSR1-ZNF384</i>

Potratz et al. PHO 2012

Lassen sich unter den Fusionspartnern therapeutische Targets finden?



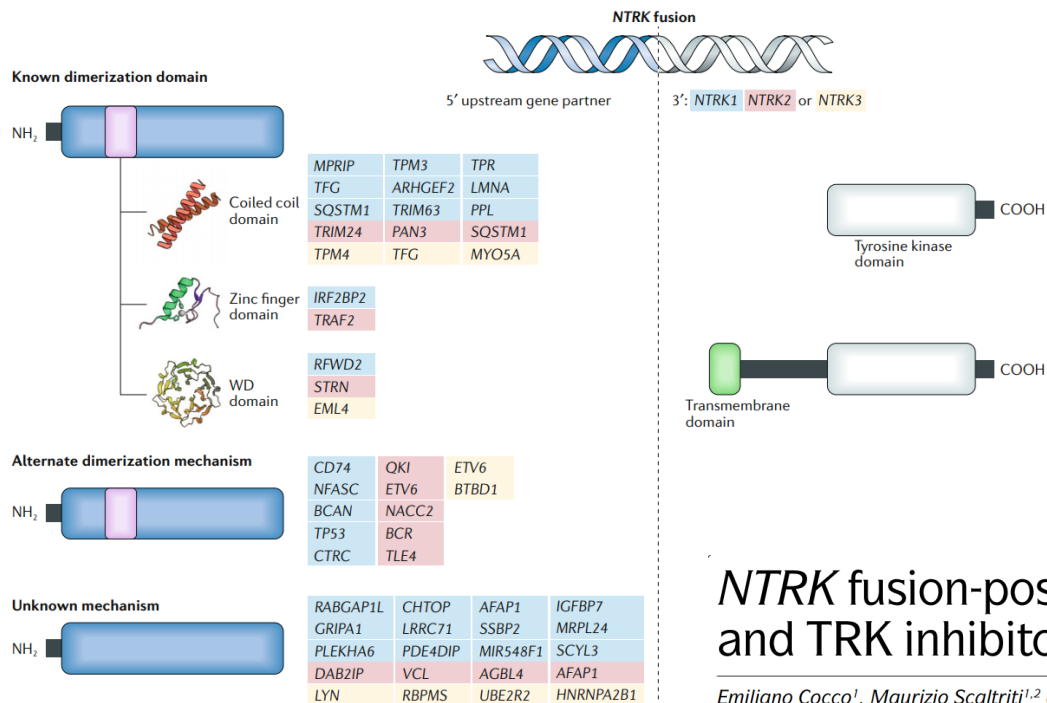
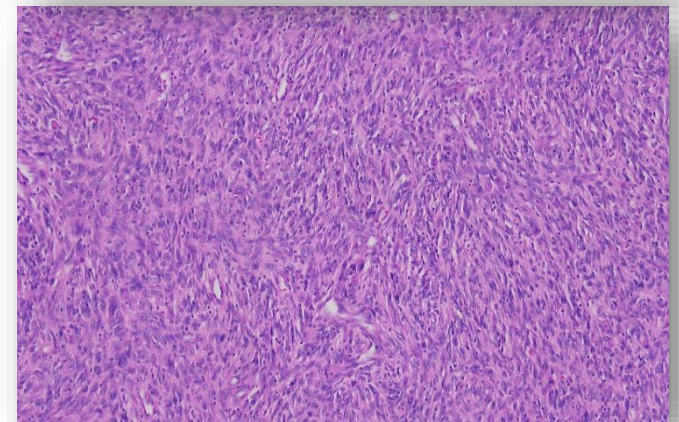
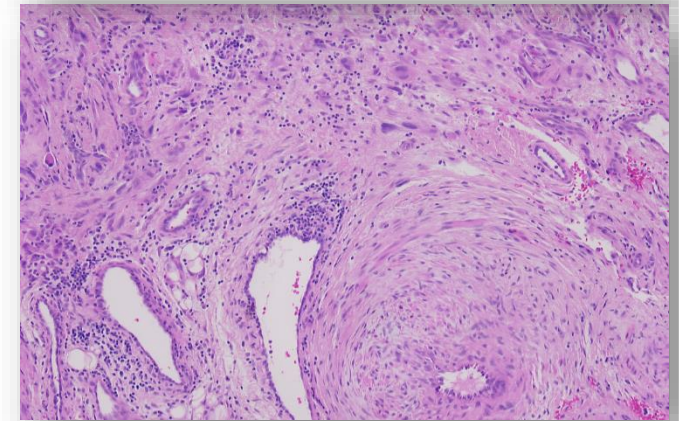
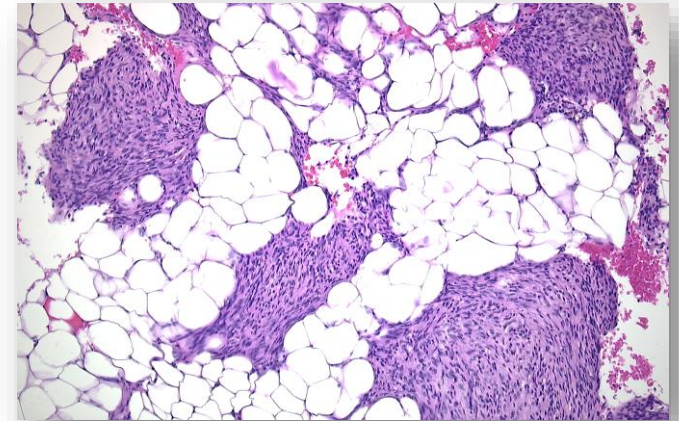


Targets?

Figure 2 Fusion genes in soft tissue tumors. PMT, phasphaturic mesenchymal tumor; IMT, inflammatory myofibroblastic tumor; GI-CCSLT, gastrointestinal clear cell sarcoma-like tumor; AFH, angiomatoid fibrous histiocytoma; RMS, rhabdomyosarcoma; DSRCT, desmoplastic small round cell tumor.

NTRK-rearrangierte Spindelzellneoplasien (emerging)

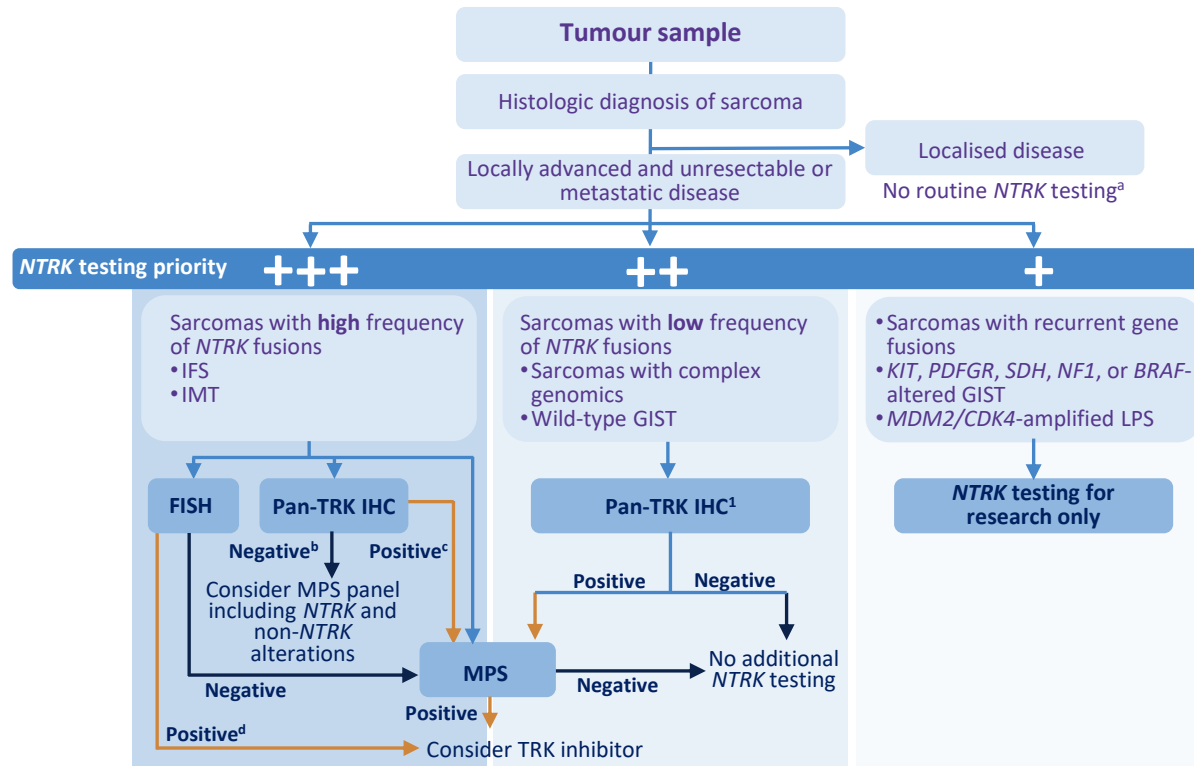
- bisher keine ICD-O-Kodierung
- breites morphologisches Spektrum mit Ähnlichkeit zu MPNST (H3K27me3 aber +)
- lipofibromatöse Tumoren mit infiltrativem Wachstumsmuster
- IHC: meist CD34- und S-100-positiv bei Negativität für SOX10
- pan-TRK positiv (zytoplasmatisch und/oder nukleär)
- sehr großes Spektrum von Fusionspartnern
- alternativ *BRAF*- oder *RAF1*-Fusionen
- TRK-Inhibitoren können bei aggressiven Tumoren sehr effizient sein



NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy

Emiliano Cocco¹, Maurizio Scaltriti^{1,2} and Alexander Drilon^{1,3,4*}

Testalgorithmus für *NTRK* Genfusionen in Sarkomen



NTRK fusion Testing

- In **primary, resectable sarcomas** → not necessary
- For patients at **high risk of relapse** → might provide clinically actionable information for later in the disease course
- For patients with **locally advanced, unresectable tumours** → Should be performed
- For patients with **metastatic disease failing conventional therapies** → Should be performed

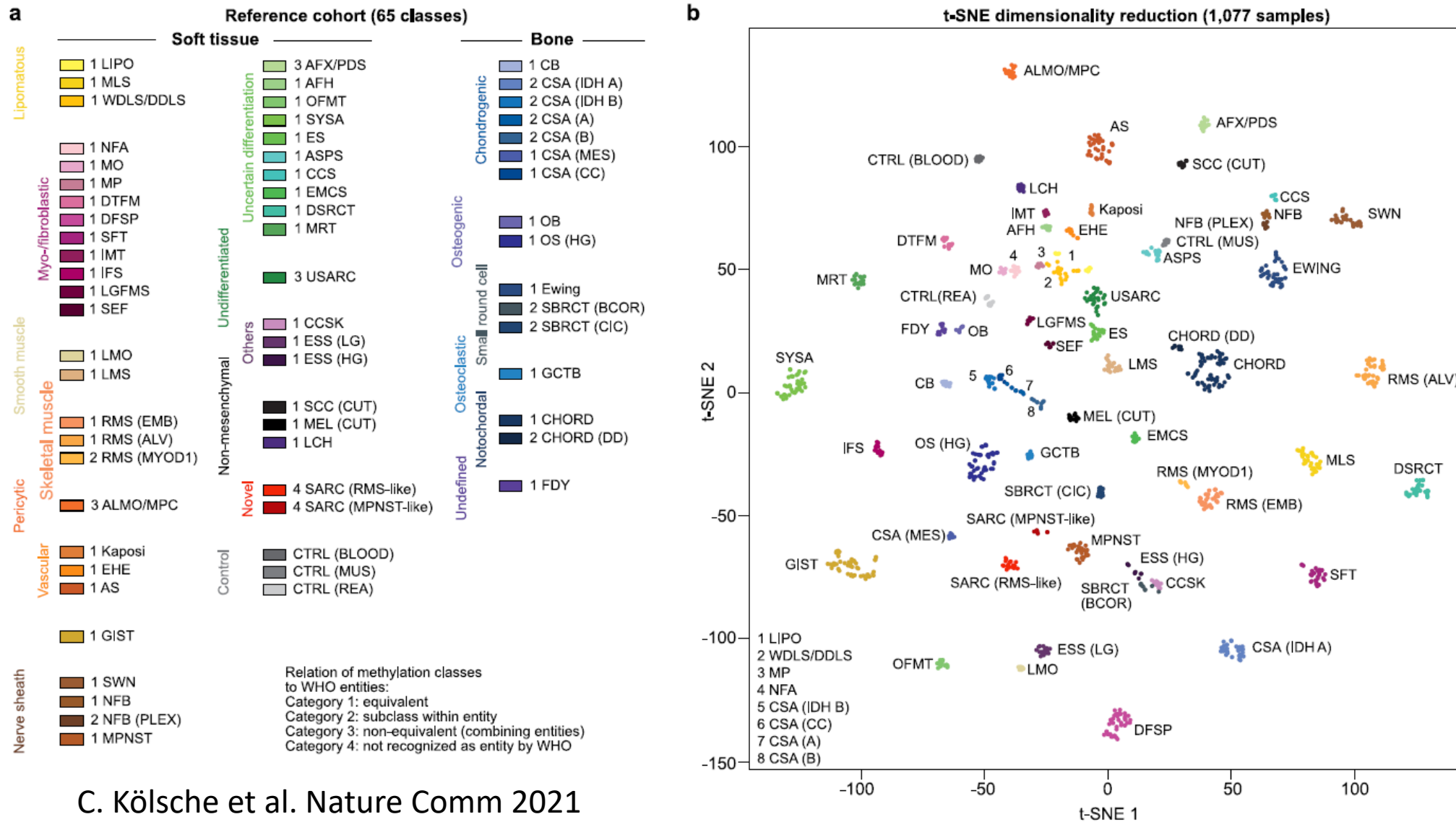
^aFor patients at high risk of relapse, *NTRK* gene fusion testing might provide clinically actionable information for later in the disease course. ^bIf histology is typical then confirmation by MPS is recommended. ^cTreatment may be considered concurrently with confirmatory MPS. ^dConsider parallel validation by MPS or RT-PCR to confirm that fusion is in-frame. Avoid IHC screening in cases with myogenic and neural differentiation due to the high rate of false positivity. FISH, fluorescence in situ hybridization; GIST, gastrointestinal stromal tumour; IFS, infantile fibrosarcoma; IHC, immunohistochemistry; IMT, inflammatory myofibroblastic tumour; LPS, liposarcoma; MPS, massive parallel sequencing; *NTRK*, neurotrophic tyrosine receptor kinase; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; TRK, tropomyosin receptor kinase.

Sarkomentitäten mit („mehr oder weniger“) erfolgreichen, („mehr oder weniger“) zielgerichteten Therapiekonzepten

Tumor	therapeutisches Target	Substanz
GIST	<i>KIT-/PDGFRA</i> -Mutationen	Imatinib, Sunitinib, Regorafenib
GIST	<i>PDGFRA</i> -Mutation D842V	Avapritinib
PVNS	<i>CSF1-COL6A3</i>	Imatinib
IMFT	<i>ALK</i> -Translokation	Crizotinib
DFSP	<i>PDGFB-COL1A1</i>	Imatinib
RZT Knochen	RANK-ligand	Denosumab
CCS	<i>EWSR1-ATF1</i>	MET-Inhibitoren
ASPS	<i>ASPL-TFE3</i>	Cediranib, MET-Inhibitoren
Angiosarkom	<i>VEGFR</i> -Mutationen	Bevacizumab
PECom	mTOR	mTOR-Inhibitoren
SS	<i>SYT-SSX1/2</i>	Pazopanib
ES	EZH2	EZH2-Inhibitoren

GIST = gastrointestinaler Stromatumor, PVNS = pigmentierte villonoduläre Synovialitis, IMFT = Inflammatorischer myofibroblastischer Tumor, DFSP = Dermatofibrosarcoma protuberans, RZT = Riesenzelltumor, CCS = Klarzellsarkom, ASPS = alveoläres Weichteilsarkom, SS = Synovialsarkom, ES = epitheloides Sarkom

Sind Methylierungsarrays der Schlüssel zum Glück?



The spectrum and significance of secondary (co-occurring) genetic alterations in sarcomas: the hallmarks of sarcomagenesis

Josephine K. Dermawan¹ and Brian P. Rubin^{1*}

Robert J. Tomsich Pathology and Laboratory Medicine Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA

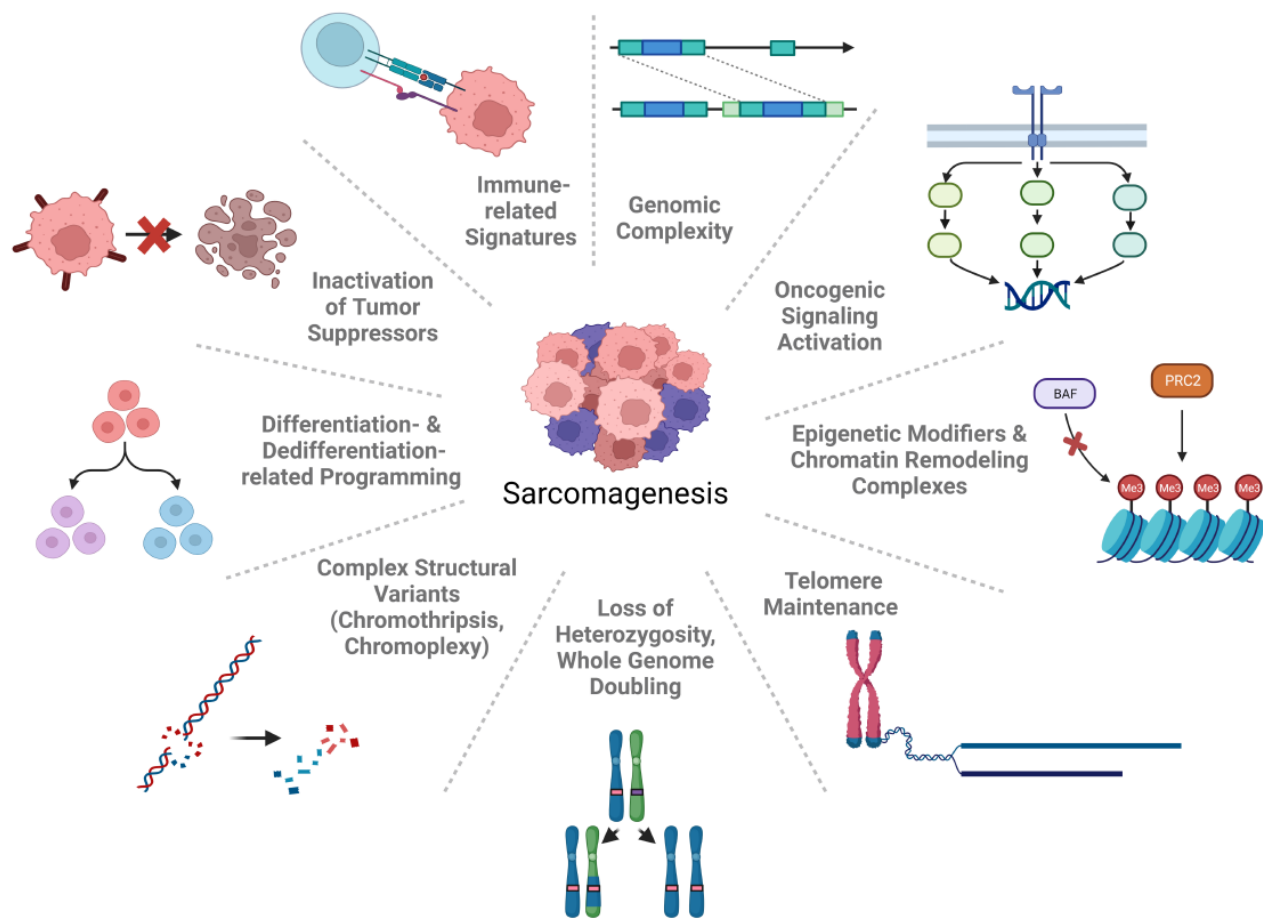


Figure 1. Hallmarks of sarcomas. Major biological mechanisms underlying sarcomagenesis promoted by recurrent co-occurring (secondary) genetic alterations. Illustration was created with [BioRender.com](https://www.biorender.com).

Activation of downstream oncogenic signaling pathways

- PI3K/AKT/MTOR pathway
- MAPK/ETV1 transcriptional program
- Hippo pathway

Inactivation of major tumor suppressors

- *TP53*, *RB1*, *CDKN2A*, *PTEN*, *ATRX*, *NF1*, *APC*, *PTCH1*, *MAX*

Telomere maintenance and homologous recombination defects

Chromosomal instability: loss of heterozygosity and whole-genome doubling

Complex structural variants (SVs)

- Chromoplexy and chromothripsis

Immune-related signatures

- Tumor mutation burden, immune cell-related signatures, mismatch repair deficiency

Epigenetic modifiers and chromatin remodeling complex alterations

- Chromatin remodeling complexes: BAF (SWI/SNF), polycomb repressive complex (PRC1/2)
- Onco-histone mutations (H3F3A G34W, H3F3B K36M)
- (Onco)metabolic enzymes: isocitrate dehydrogenase (IDH), succinate dehydrogenase (SDH)

Lineage-specific genomic alterations: differentiation- and dedifferentiation-related programming

Genomic complexity

- Complexity index in sarcomas (CINSARC)
- Genomic grade index (GGI)
- Immunologic Constant of Rejection (ICR)

Interdisziplinäre Tumorboards sind das A und O...

von	bis	Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag		
08:00	08:15						
08:15	08:30						
08:30	08:45	Mamma	KMT	Mamma			
08:45	09:00						
09:00	09:15						
09:15	09:30						
09:30	09:45						
09:45	10:00						
10:00	10:15						
10:15	10:30						
10:30	10:45						
10:45	11:00						
11:00	11:15			Sarkome			
11:15	11:30						
11:30	11:45						
11:45	12:00						
12:00	12:15			Videokonferenz Steinfurt			
12:15	12:30		interst. Lungenerk.			Nierenkonferenz Patho	
12:30	12:45		Lunge/Thorax				
12:45	13:00						
13:00	13:15						
13:15	13:30				Molekulares TB mit WTZ Essen		
13:30	13:45		Myelome		Hämatologie		
13:45	14:00						
14:00	14:15		Lymphome	Brust II	Videokonferenz Arnsberg	Kopf-Hals	
14:15	14:30						
14:30	14:45						
14:45	15:00						
15:00	15:15		Urologische Tumoren Prostata	Hauttumoren		Neuroonkologie	
15:15	15:30						
15:30	15:45			Gastrointestinale Tumoren			
15:45	16:00						
16:00	16:15	Radiologie Kinderonkologie	Tumorboard Raphaelsklinik				
16:15	16:30						Gyn. Onkologie
16:30	16:45		herzchirurgische Pathokonferenz		NET und Schilddrüse		
16:45	17:00						Kindertumoren
17:00	17:15	Videokonferenz Warendorf					
17:15	17:30						
17:30	17:45						
17:45	18:00						



SARKOMKONFERENZ MITTWOCHS UM 11 UHR



Ein paar Ideen für die Zukunft:

- Register bilden
- zentralisierte und standardisierte Pathologie (Zweitmeinung)
- neue diagnostische Werkzeuge einführen
- Finanzierung komplexer Methoden sichern
- Zertifizierungsrichtlinien schärfen

