

# Mutationsanalyse bei GIST

-

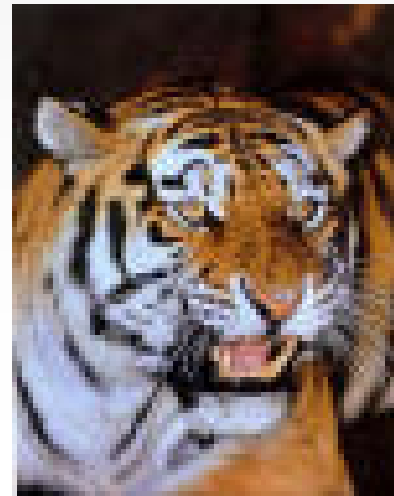
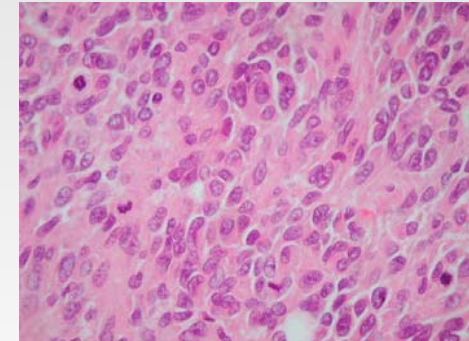
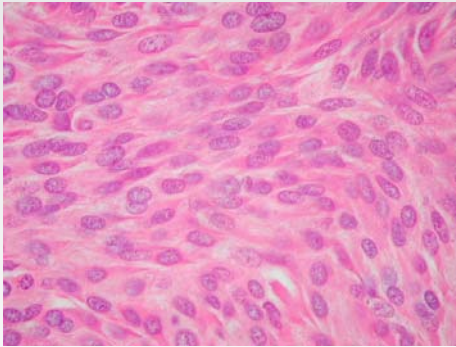
## Gibt es eine klinische Bedeutung?

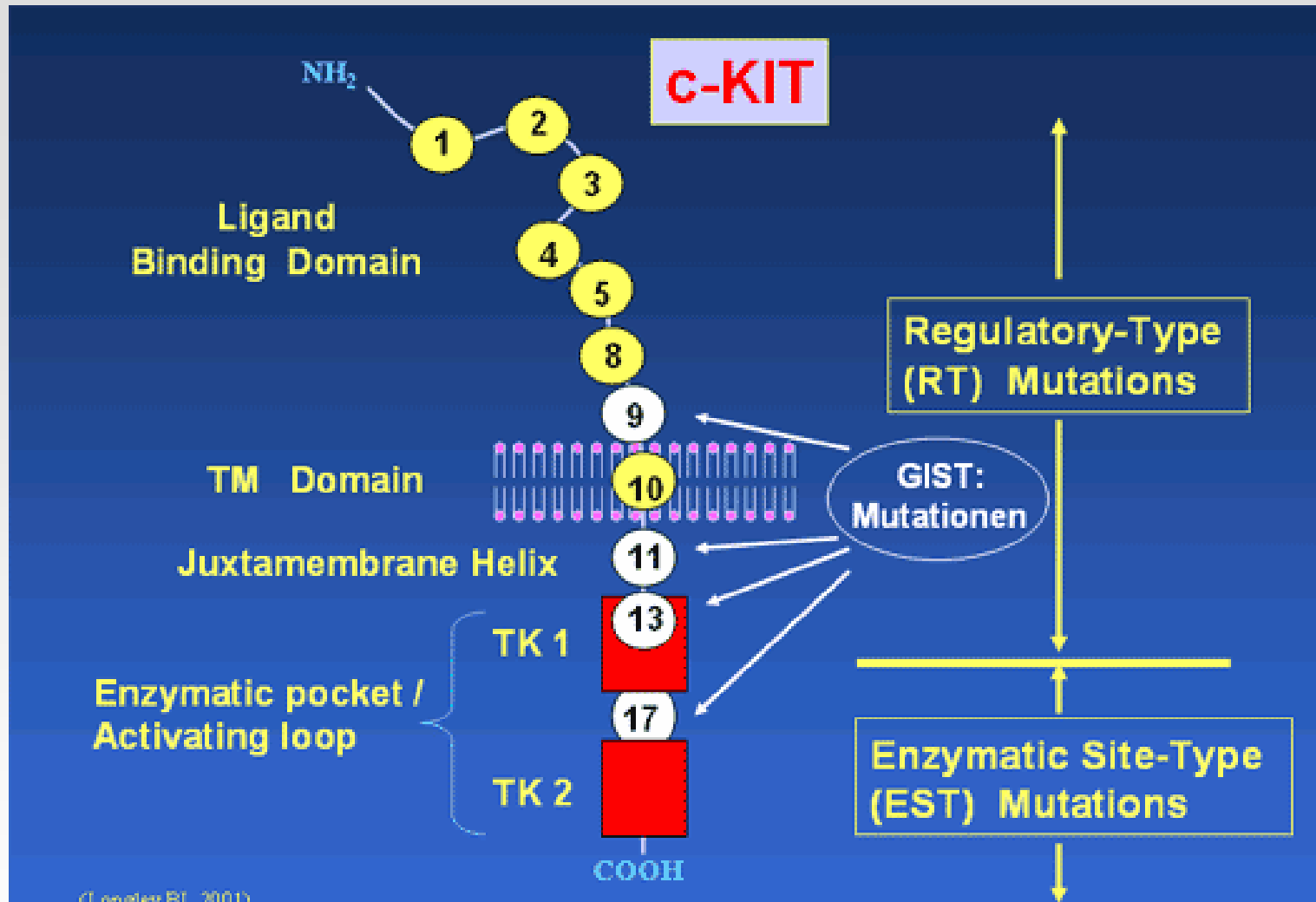


**Prof. Dr. rer. nat. habil. Regine Schneider-Stock**

# Prognostische Faktoren

- molekularzytogenetische und zytogenetische Marker
- Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen (p16, p53)
- Mdm2 Amplifikation
- Telomeraseaktivität
- **Mutationsanalyse im c-kit und PDGFR-Gen**

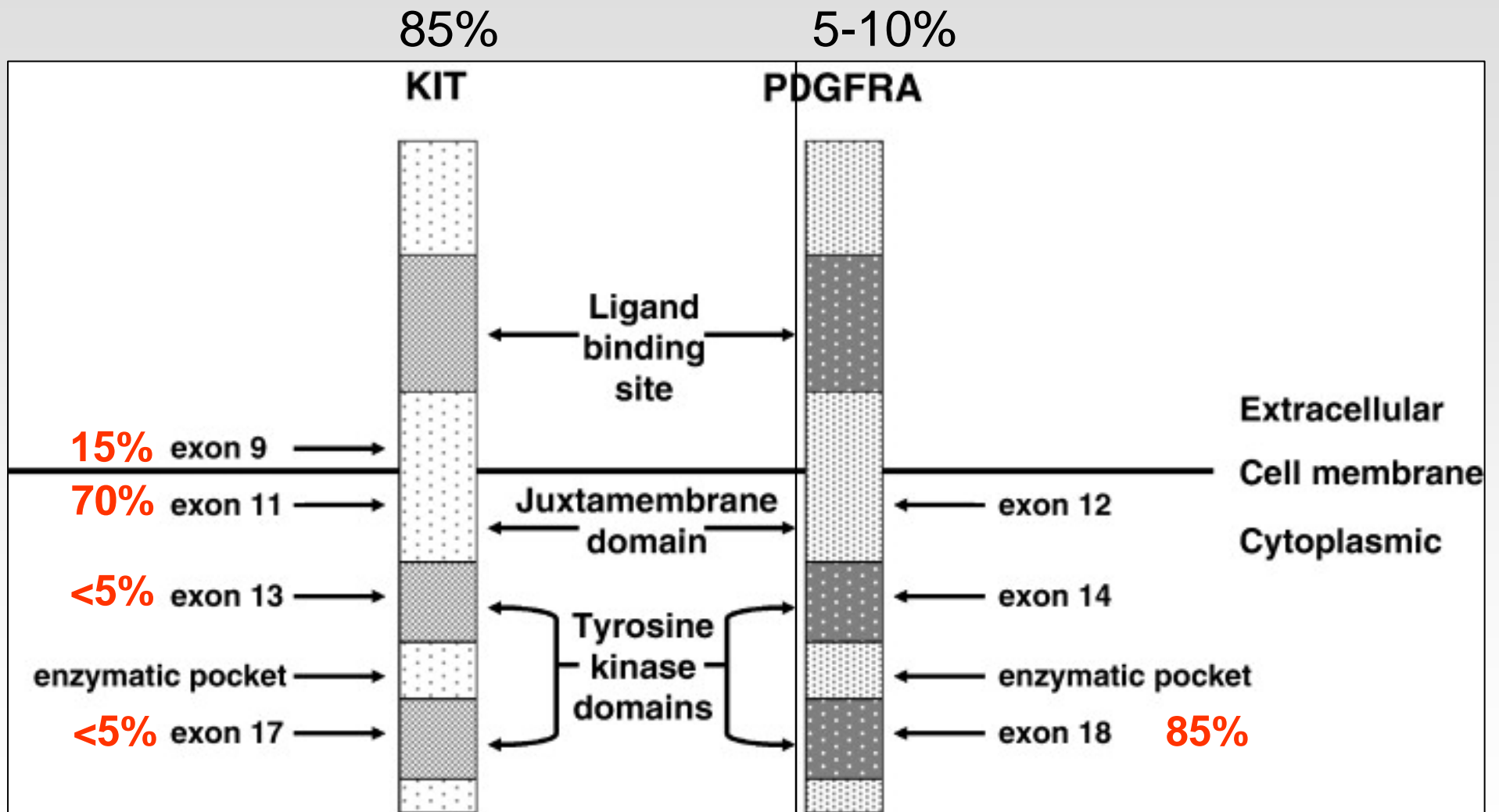




Exon 11 > Exon 9 > Exon 13 > Exon 17  
 70%      15%      <5%      <5%

- auch in sehr kleinen GIST
- frühes pathogenetisches Ereignis

# Mutationen im Kit- und PDGFR-Gen



Exon 18 > Exon 12 > Exon 14  
 85%            5%            <5%

## CD117 Färbung und Mutationsstaus

⇒ KIT-Immunfärbung – Differentialdiagnose  
>95% sind KIT-positiv

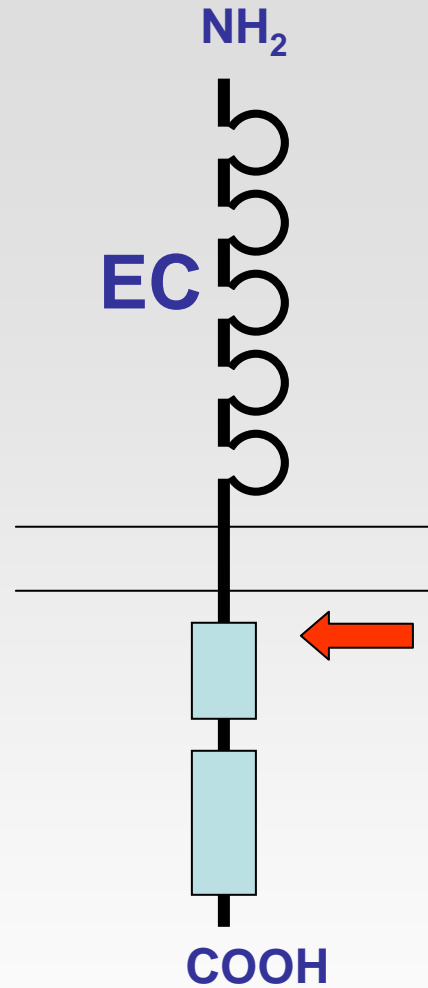
- Meistens starke zytoplasmatische Färbung
- Manchmal „Spot“-ähnliche Färbung oder membranös

***Gibt es auch CD117-positive GIST ohne Mutationen  
im c-kit ?***

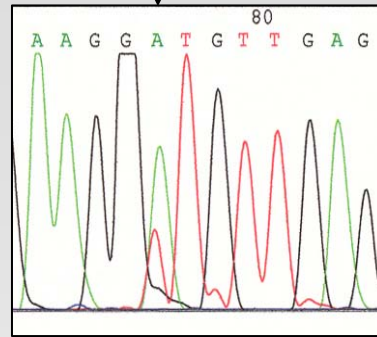
⇒ 5-10% aller GIST haben keine Kit-Mutation  
(dennoch Kit-Immunopositiv, Aktivierung über Phosphorylierung) ????

## ***Gibt es auch CD117-negative GIST ?***

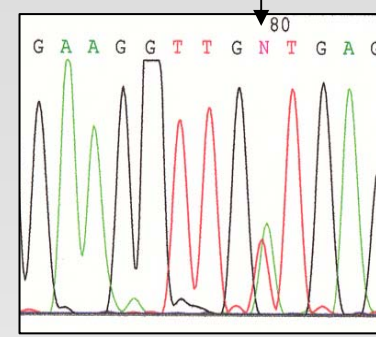
- ⇒ Etwa 4% aller GIST sind CD117-negativ (Magen, epithelioid)  
Kit-negative Tumoren → PDGFR Mutation
- ⇒ Mehrkernige Riesenzellen oft Hinweis auf PDGFR-Mutation
- ⇒ Kein verfügbarer PDGFR Antikörper



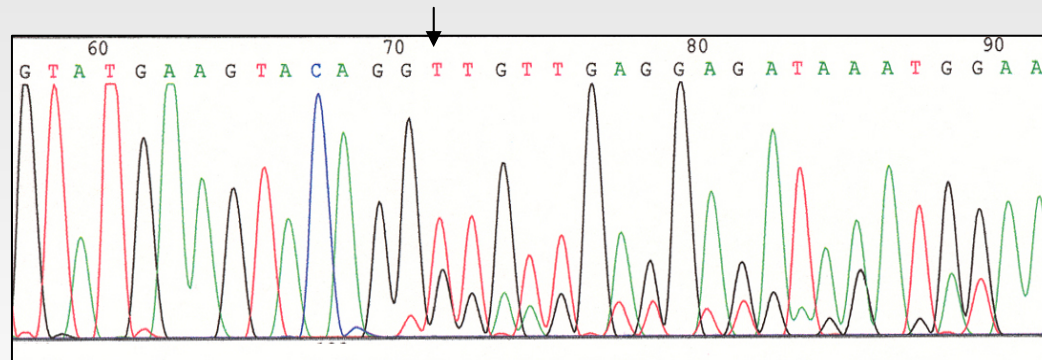
## Kit-Mutationen und Prognose



V559D



V560D



Del 557-558

## KIT exon 11 Deletion

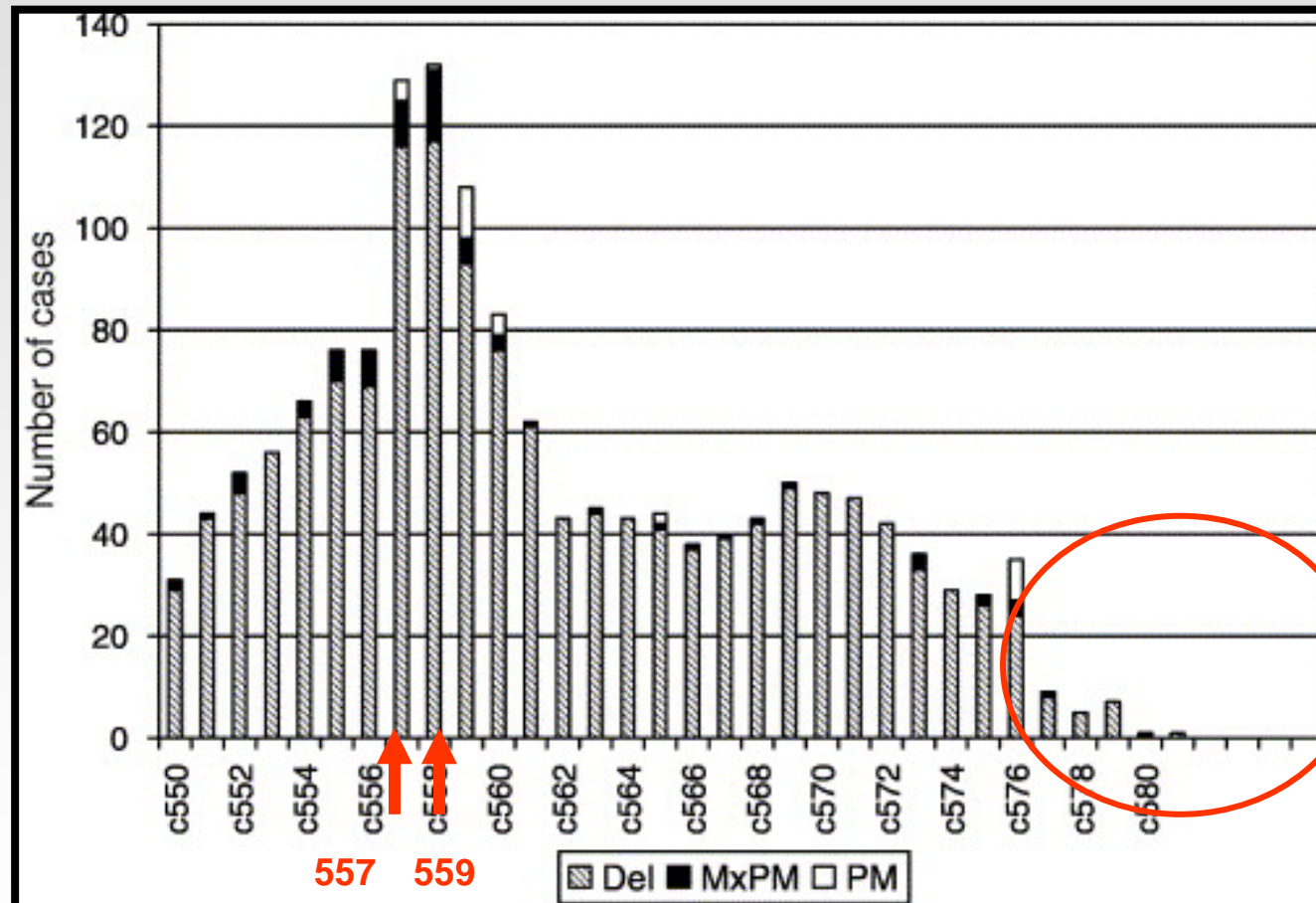
Wardelmann et al. (2003) Deletionen 557-558 → hohes Metastasierungspotential

Miettinen et al. (2005) Magentumoren mit Deletionen haben schlechtere Prognose als solche mit Punktmutationen



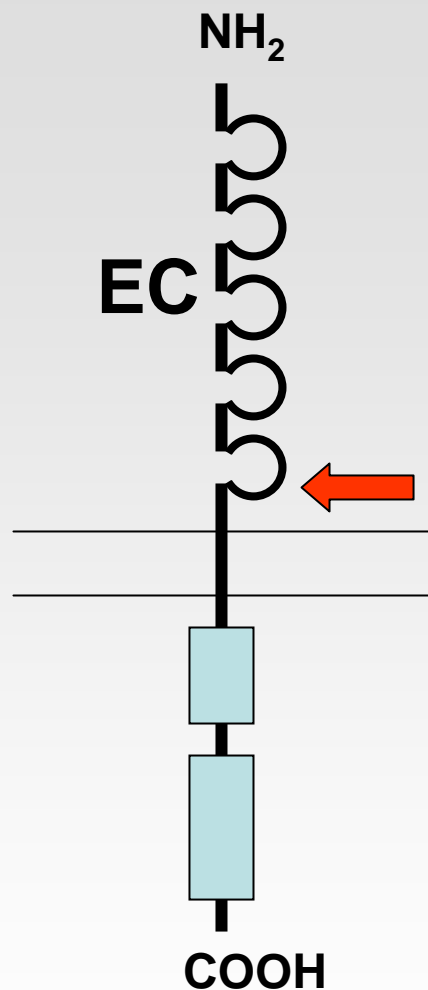
# Mutations-Hot spots in Exon 11

557-558

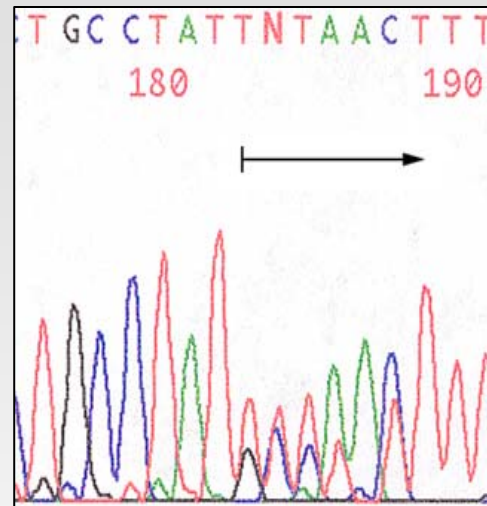


Lasota et al. (2003) Duplikationen im distalen Part von Exon 11 haben bessere Prognose

# Kit-Mutationen und Prognose



## KIT Exon 9 (Extrazelluläre Domäne)



**Tandemduplikation  
(Insertion) in Exon 9  
führt zur Duplikation  
von Ala<sup>502</sup> und Tyr<sup>503</sup>**

### **1530ins6 KIT Mutation:**

- Tumoren sind morphologisch heterogen
- meistens mit malignem Krankheitsverlauf

*Die KIT 1530ins6 Mutation definiert eine Untergruppe von größtenteils malignen GIST bei intestinaler Lokalisation*

„ ... Detection of 1530ins6 KIT mutation could be an additional independent pathologic feature that identifies intestinal GISTs with high probability of malignant behaviour“

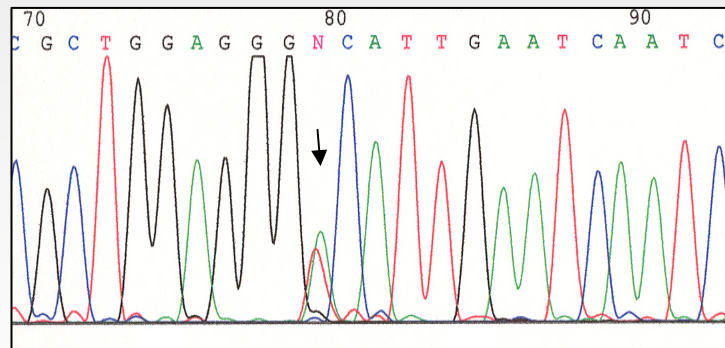
# PDGFRA Activating Mutations in Gastrointestinal Stromal Tumors

Michael C. Heinrich,<sup>1\*</sup> Christopher L. Corless,<sup>2</sup>  
Anette Duensing,<sup>3</sup> Laura McGreevey,<sup>1</sup> Chang-Jie Chen,<sup>3</sup>  
Nora Joseph,<sup>3</sup> Samuel Singer,<sup>4</sup> Diana J. Griffith,<sup>1</sup> Andrea Haley,<sup>1</sup>  
Dimitrios Demetri,<sup>5</sup> Christopher D. M. Fletcher,<sup>3</sup>  
Nathan A. Fletcher<sup>3,5\*</sup>

## PDGFR-Mutationen und Prognose

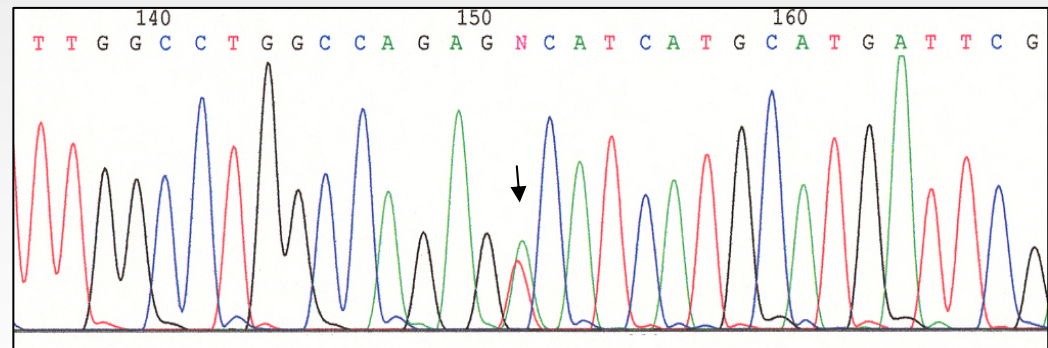
Most gastrointestinal stromal tumors (GISTs) have activating mutations in the KIT receptor tyrosine kinase, and most patients with GISTs respond well to Gleevec, which inhibits KIT kinase activity. Here we show that ~35% (14 of 40) of GISTs lacking *KIT* mutations have intragenic activation mutations in the related receptor tyrosine kinase, platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  (*PDGFRA*). Tumors expressing KIT or PDGFRA oncoproteins were indistinguishable with respect to activation of downstream signaling intermediates and cytogenetic changes associated with tumor progression. Thus, *KIT* and *PDGFRA* mutations appear to be alternative and mutually exclusive oncogenic mechanisms in GISTs.

### PDGFRA exon 12



V561D

### PDGFRA exon 18



D842V

**Lasota et al. (2004, 2006) PDGFR Exon 18 Mutation: niedrige Proliferation  
Lokalisation Magen, epitheliod, geringes Metastasierungspotential**

# Pädiatrische GIST

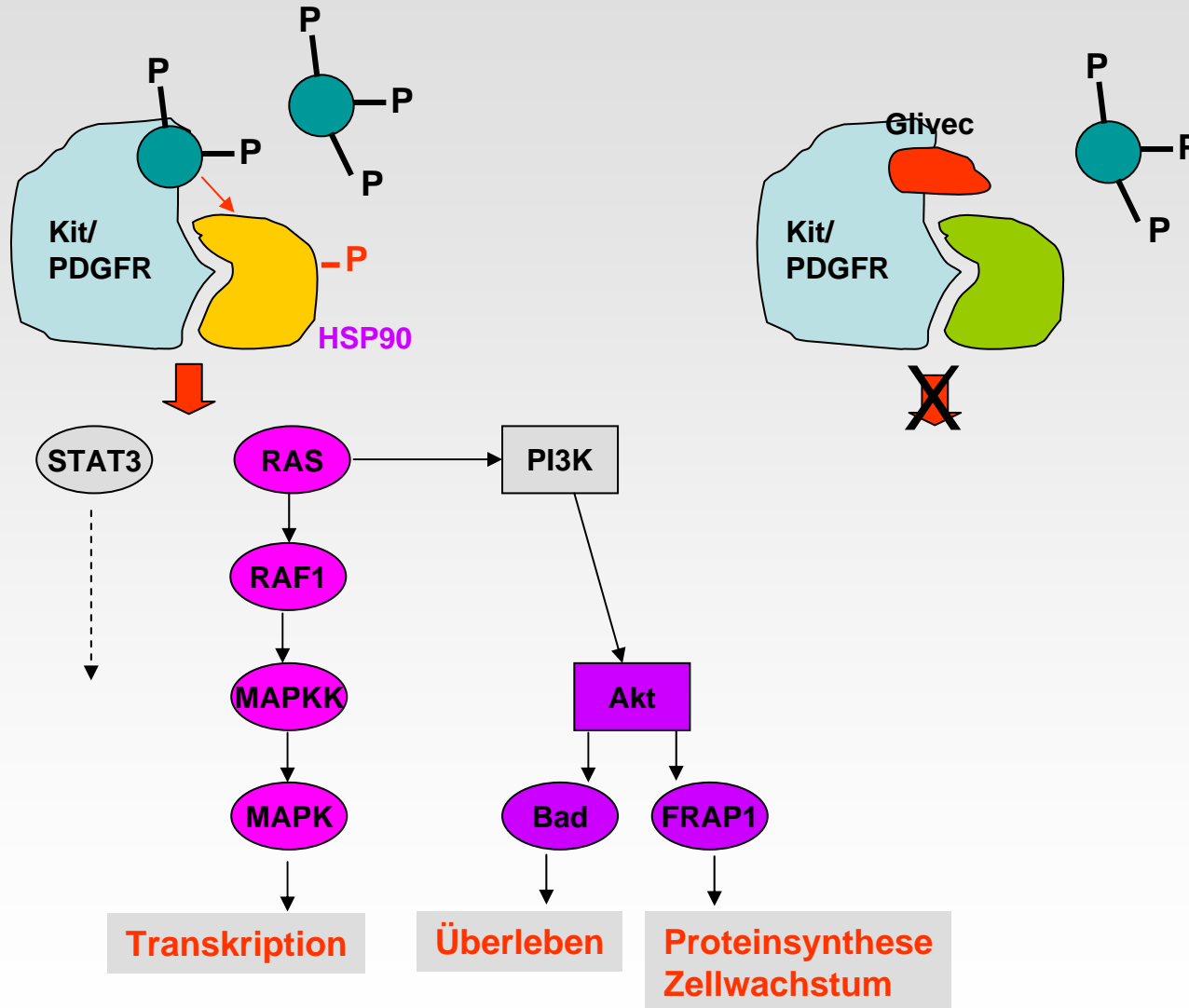
- klinisch und molekular: Subgruppe der GIST
- bevorzugt bei Mädchen
- multifokal → hohes Rezidiv-risiko
- Magen
- epithelioide Histologie oder Mischtyp



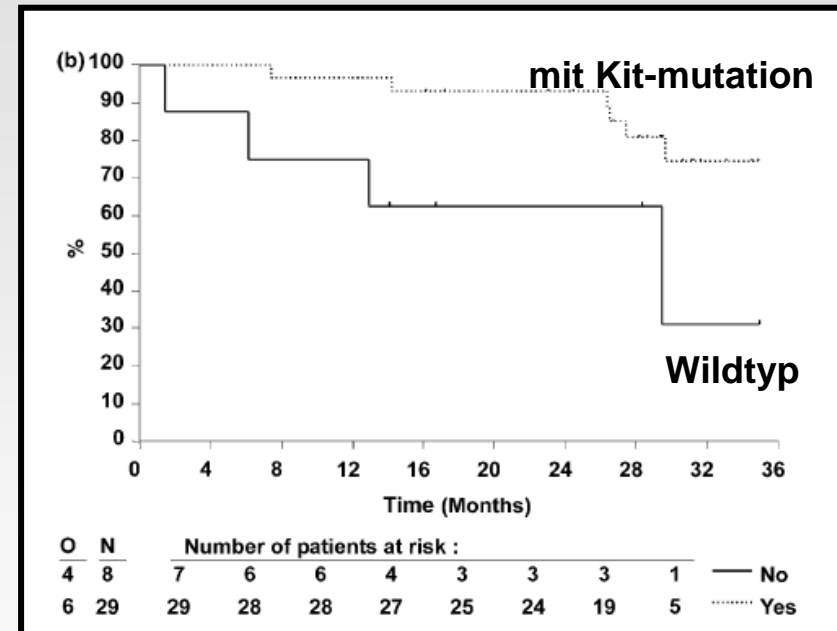
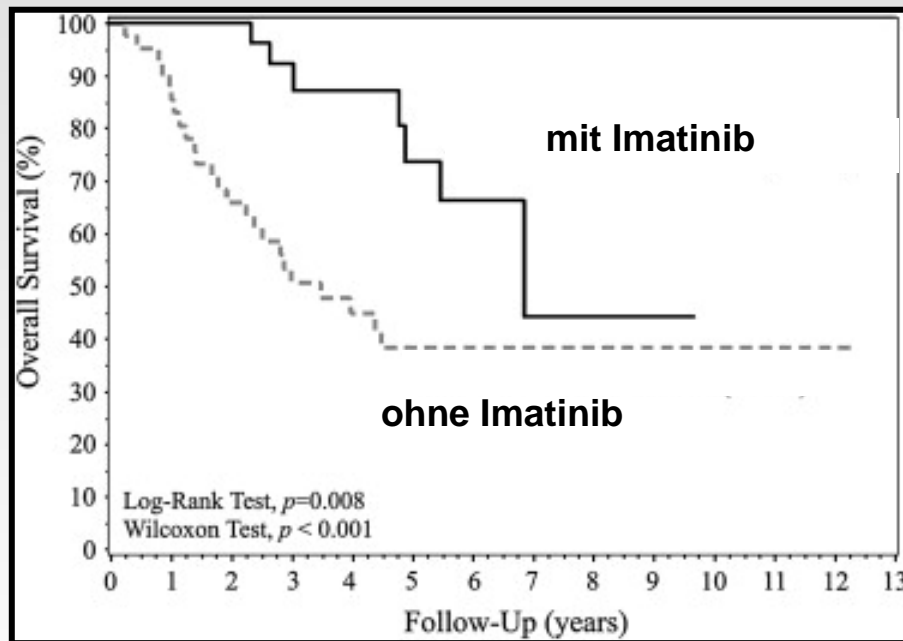
***Findet man Mutationen in c-kit oder PDGFR bei pädiatrischen GIST?***

- keine Mutationen in c-kit und PDGFR
- Überexpression von CD117

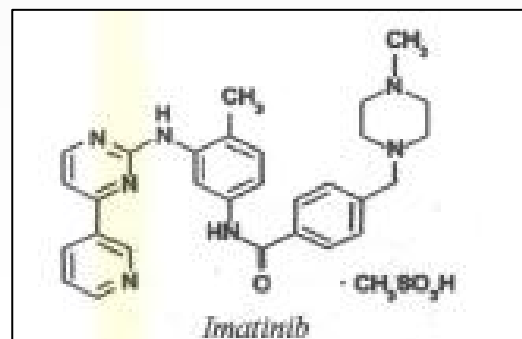
# Wirkungsweise von Imatinib



# GIST mit Kit-Mutationen zeigen ein besseres Ansprechen auf Therapie



Debiec-Rychter et al. 2004 Eur. J Cancer

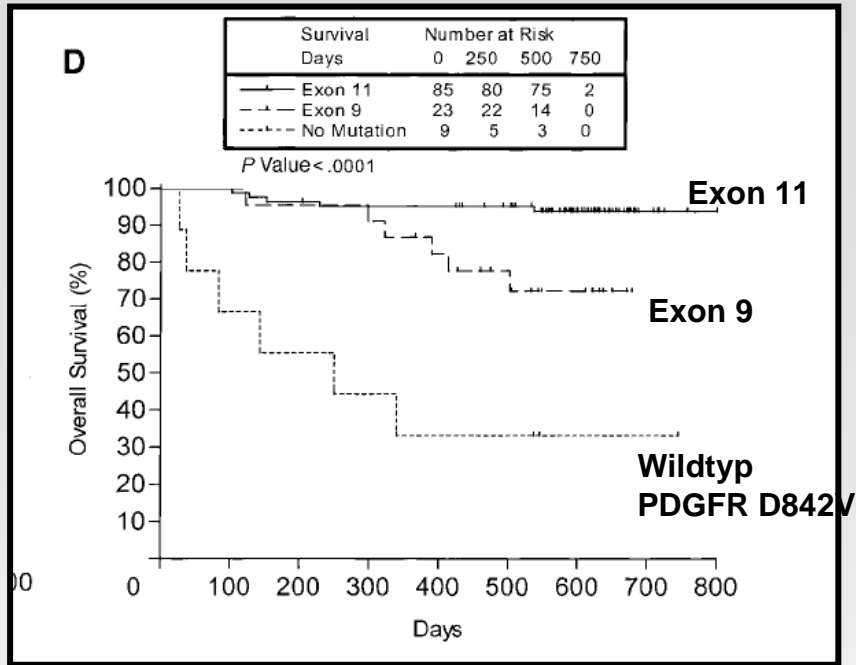




***Welcher Mutationsbefund hat eine unmittelbare  
Therapeutische Konsequenz?***

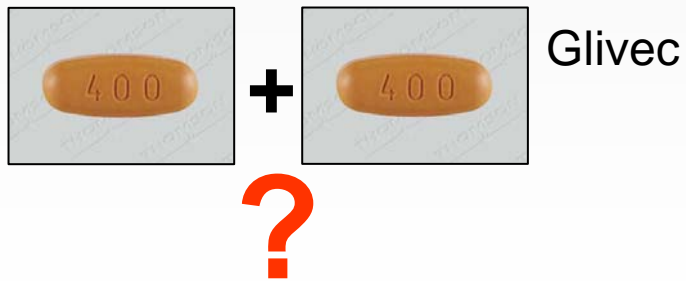
1. Exon 11 Deletion
2. Resistenzmutation im PDGFR-Gen Exon 18 !
3. Exon 9 Duplikation !
4. Wildtyp-Nachweis



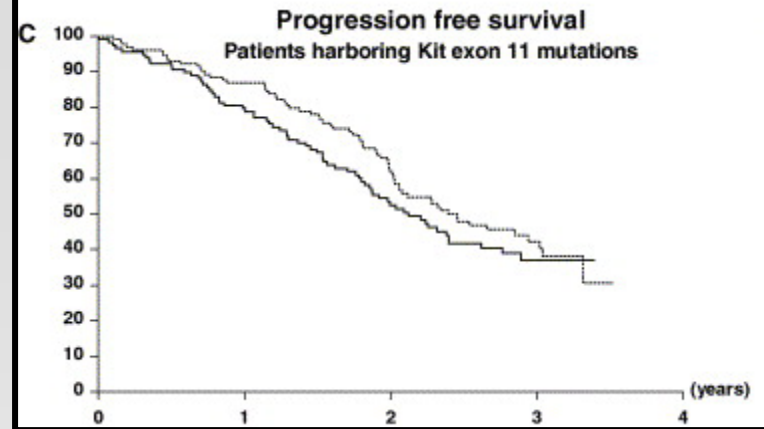


Heinrich et al. 2003 J Clin Oncol

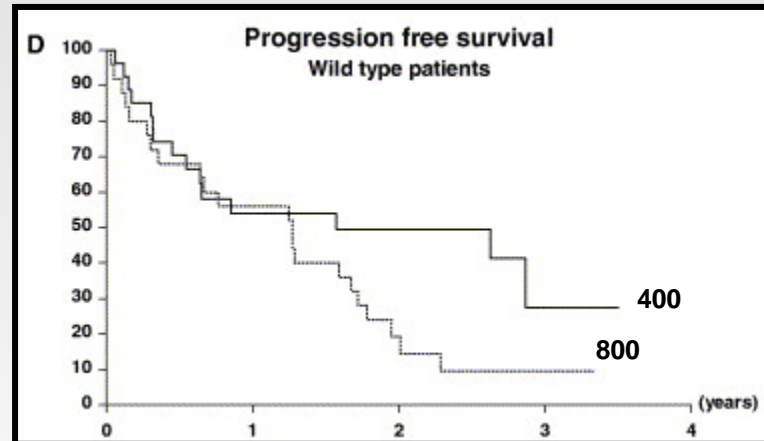
ASCO GI 2008



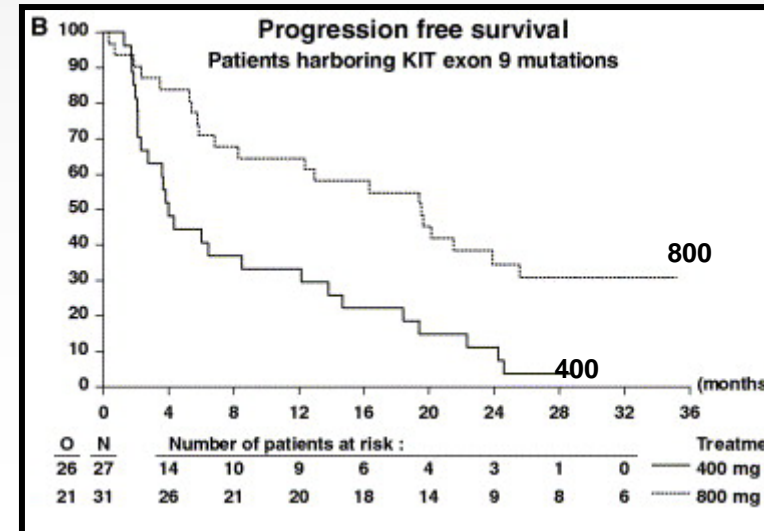
bei Exon 9 Mutation mit 800mg beginnen !



Ex11

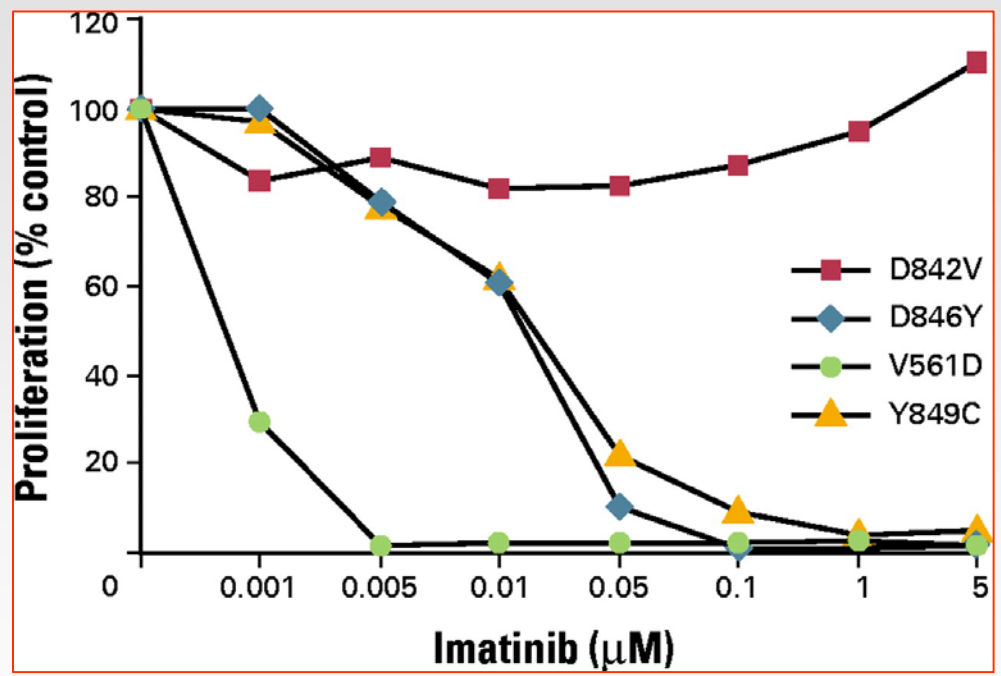
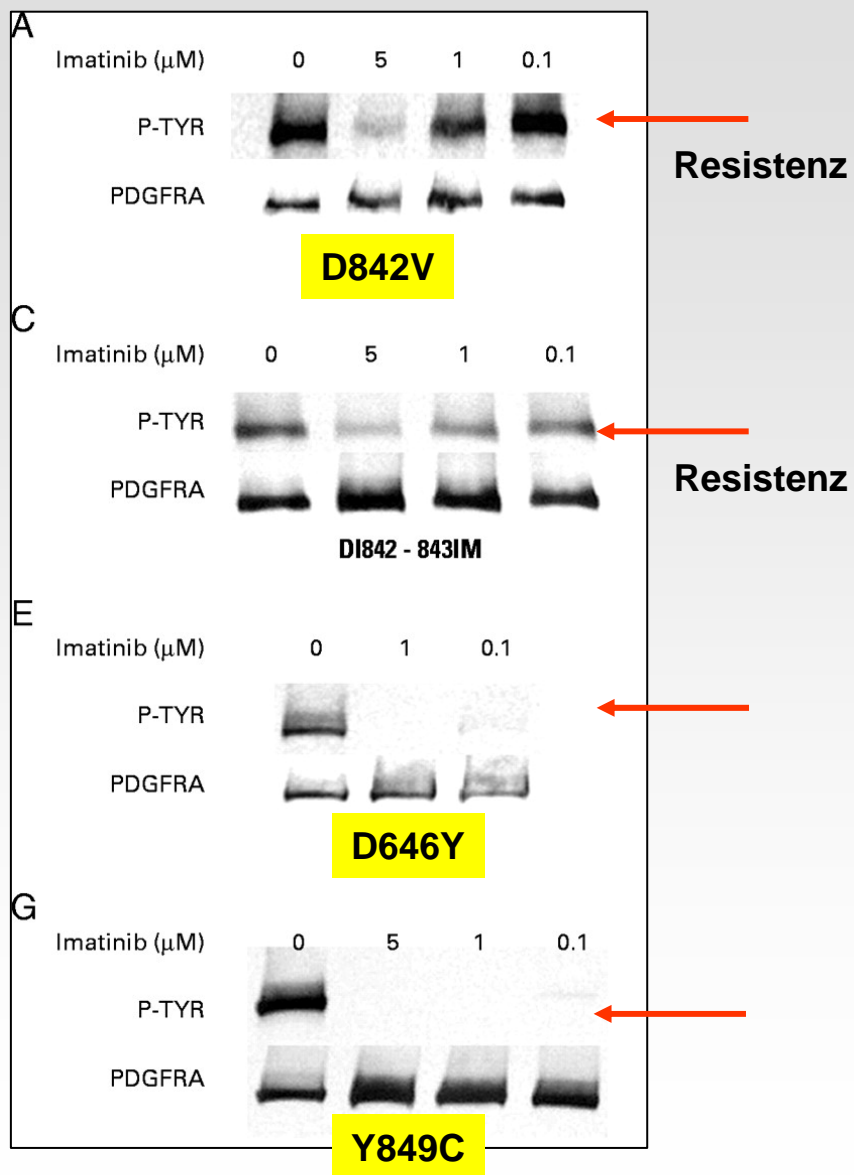


WT



Ex9

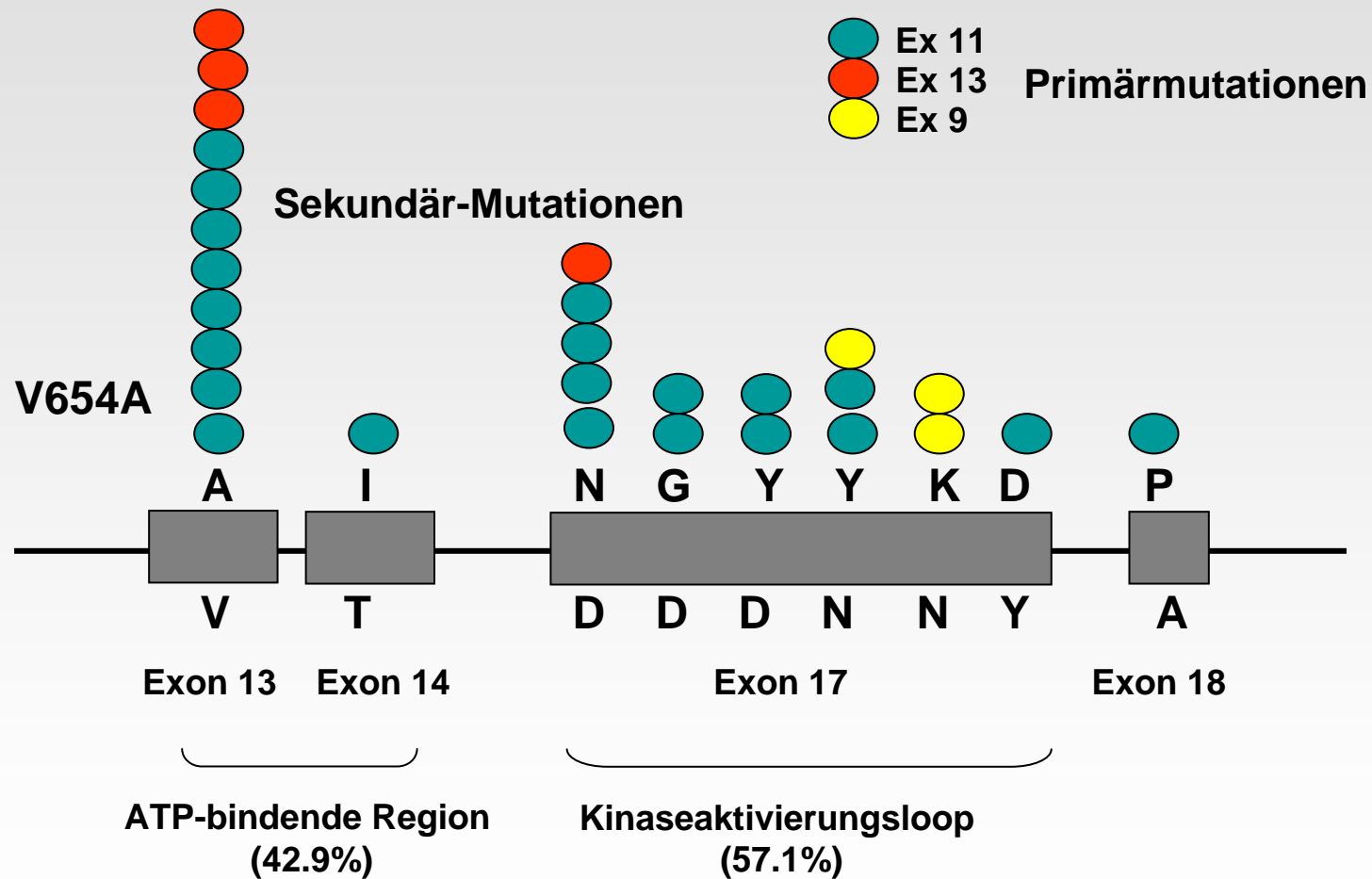
# Imatinib sensitivity of platelet derived growth factor receptor alpha (PDGFRA) mutations in Exon 18



# Heterogenität der Resistenzmutationen

14 Patienten mit Progression  
27/57 Proben

(Fletcher et al. 2008, J Pathol.)



Heterogenität innerhalb und zwischen den Metastasen, keine Resistenzmutationen in WT-GIST  
Exon 17: Sunitinib-resistente Mutationen

# **ESMO 2008**

- **Bestätigung der Diagnose in CD117 fraglichen Fällen**
- **Prädiktiver und prognostischer Wert**
- **Mutationsanalyse ins diagnostische Routineprogramm aufnehmen**
- **Zentralisierung in Laboren mit externer Qualitätskontrolle und mit Expertise für den Tumor**

# Experten-Roundtable zur Mutationsanalyse bei GIST

Frankfurt Nov. 2007, April 2008, Oktober 2008

## Arbeitsgruppen:

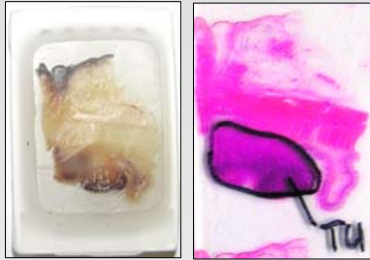
Bonn  
Regensburg  
Hamburg  
Heidelberg  
Göttingen  
Magdeburg

## Ziel:

- Methodische Optimierungsmöglichkeiten aufzeigen
- Qualitätsansprüche formulieren
- Erarbeiten von Empfehlungen zur Mutationsanalyse
- Ringversuch zur Qualitätssicherung vorbereiten

# Logistik der Mutationsbefundung

Versenden von Tumorblöckchen  
(Angabe zu klinisch-pathologischen Faktoren entspr. Formular)

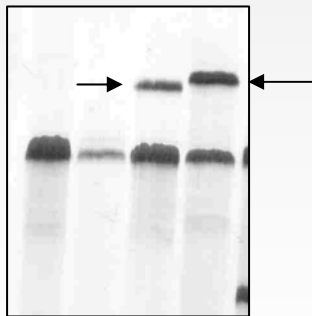


Anfertigung von HE-Schnitt und  
Markierung des relevanten Tumorareals (Makrodissektion)

DNA-Präparation



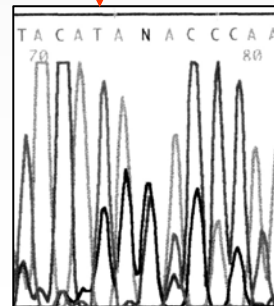
PCR für Kit-Exone 9, 11 und PDGFR Exon 18



Gelelektrophorese

Sequenzierung

Befund



57bp-Deletion



## Molekulardiagnostik bei GIST

### ~~● Molekulargenetik ersetzt die Pathologie~~

- für die Differentialdiagnostik (zB Abgrenzung anderer Tumorentitäten)
- für die Vorhersage der Prognose
- für die Vorhersage des Therapieansprechens
- als Entscheidungshilfe für die Dosierung von Imatinib, und evt. zukünftig für die Wahl des Therapeutikums
- evt. für die Aufklärung von Resistenzmechanismen, falls klinisch relevant

**ein Klassifikationsschema unter Einbeziehung genetischer und histomorphologischer Parameter wäre sinnvoll**