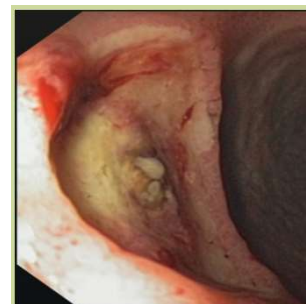
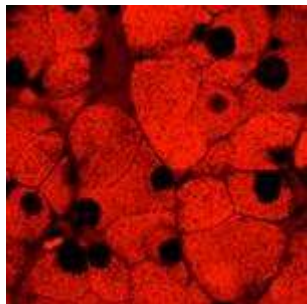
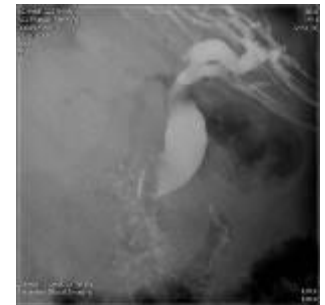
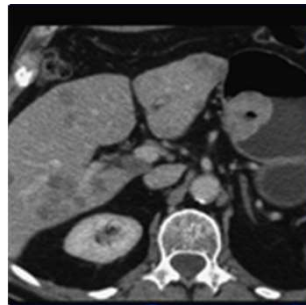
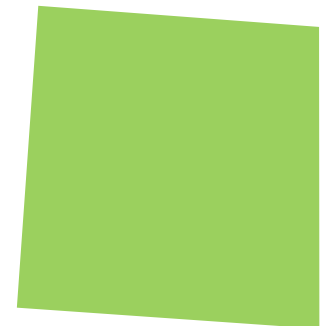


MUNICH MASTERCLASS OF GASTROENTEROLOGY

Graduierung und molekulare Diagnostik beim fortgeschrittenen Dickdarmkarzinom

JENS NEUMANN



Der **Falk Foundation e.V.** unterstützt
das Referat, ist jedoch nicht für dessen Inhalt
verantwortlich.

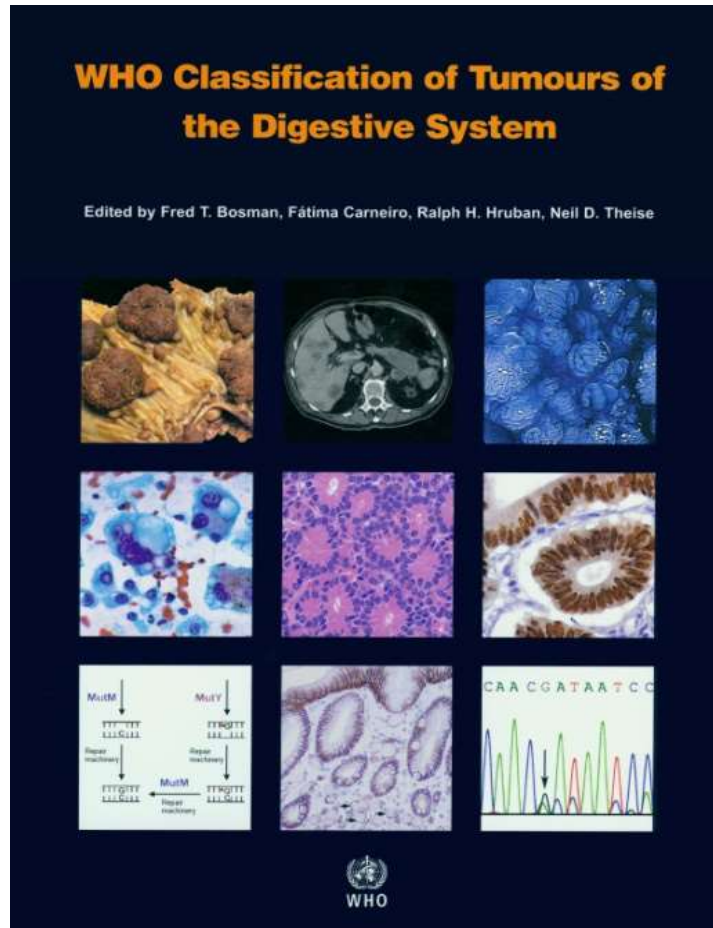
Inhalt des Referats obliegt der
wissenschaftlichen Freiheit des Referenten.



Offenlegung von Interessenskonflikten

- Referent: Jens Neumann
- Ich habe folgende Verbindungen zu Unternehmen offenzulegen:
 - Beratendes Gremium/Komitee: Pierre Fabre
 - Referent: Roche, Pfizer, MSD, Falk

WHO-Klassifikation der kolorektalen Karzinome



4th Edition 2010



5th Edition 2019

WHO-Klassifikation 2010

Adenokarzinom, NOS

Spezielle Subtypen

- muzinöses Adenokarzinom
- Siegelringzellkarzinom
- medulläres Karzinom
- serratiertes Karzinom
- kribriiformes (Komedotyp) Karzinom
- mikropapilläres Karzinom
- adenosquamöses Karzinom
- spindelzelliges Karzinom
- undifferenziertes Karzinom

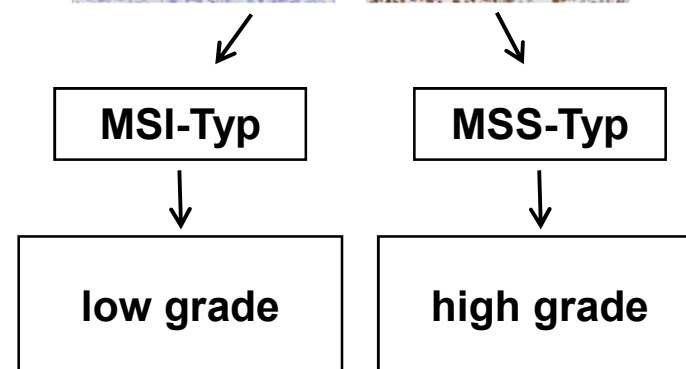
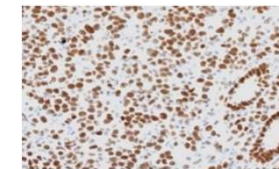
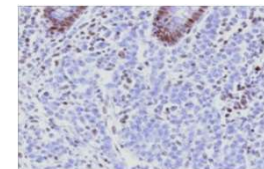
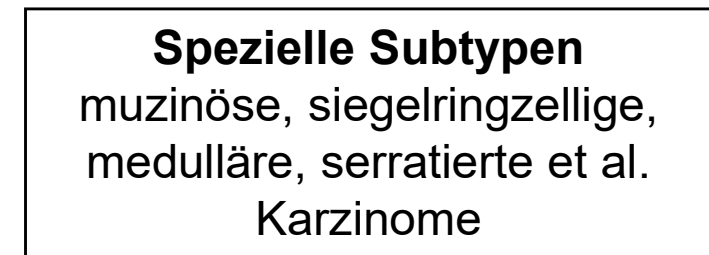
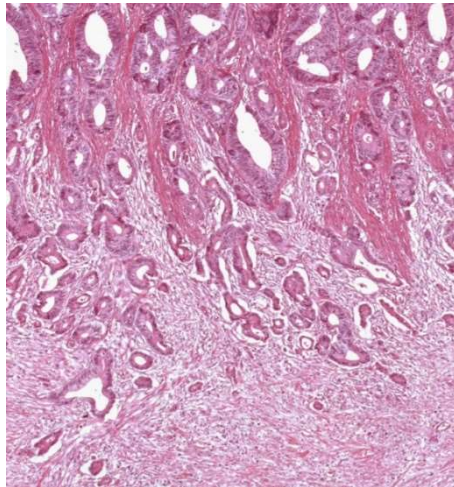
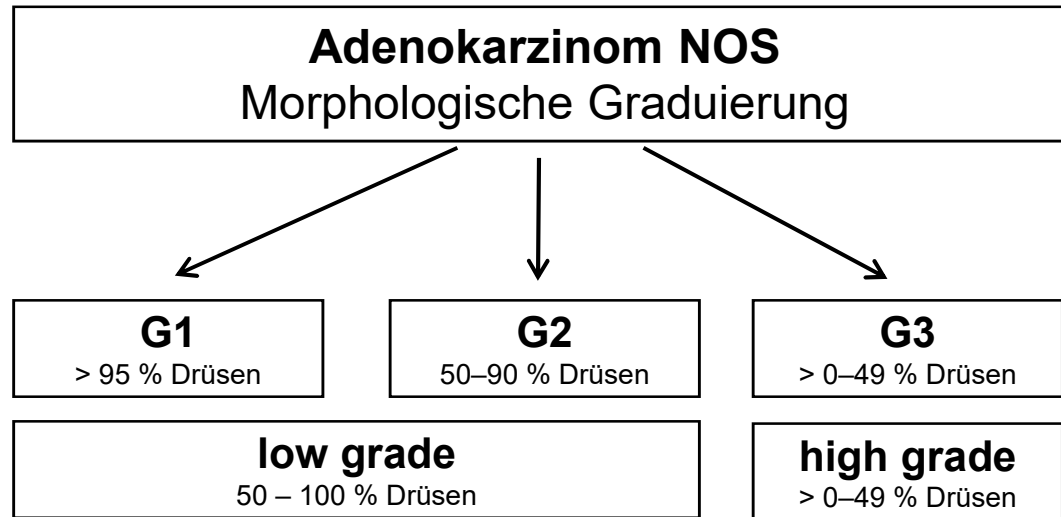
WHO-Klassifikation 2019

Adenokarzinom, NOS

Spezielle Subtypen

- muzinöses Adenokarzinom
- Siegelringzellkarzinom
- medulläres Karzinom
- serratiertes Karzinom
- mikropapilläres Karzinom
- Adenoma-artiges Karzinom
- adenosquamöses Karzinom
- Karzinom mit sarkomatoider Komponente
- undifferenziertes Karzinom

WHO-Klassifikation 2010



WHO-Klassifikation 2019

Zweistufige Graduierung aller kolorektalen Karzinome

“Grading of CRC is based on gland formation: low-grade (formerly well- to moderately differentiated) and high-grade (formerly poorly differentiated) tumours. Grading is based on the least differentiated component. The invasive front.... should not be taken into account...” WHO 2019, p. 182

Abschaffung der molekularen Graduierung

*Empfehlung etablierter
Standardbiomarker für Prognose
& Prädiktion, jedoch ohne
Aussage, wann diese - z.B. BRAF
und MSI - einzusetzen sind*

Adenokarzinom NOS und Sondertypen Morphologische Graduierung



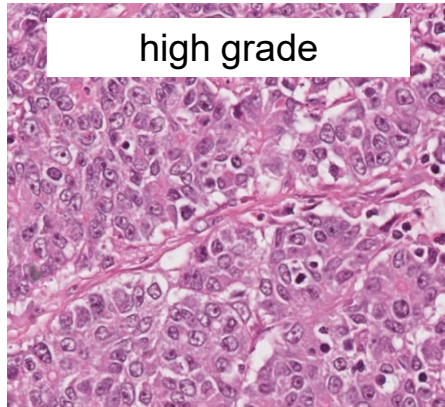
low grade
50 – 100 % Drüsen

high grade
> 0–49 % Drüsen

Etablierte Standardbiomarker für Prognose & Prädiktion

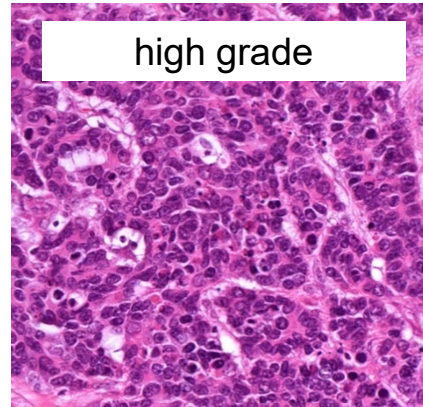
RAS Gene
BRAF
Mikrosatelliteninstabilität (MSI)

Probleme bei einer Graduierung nach WHO-Klassifikation 2019



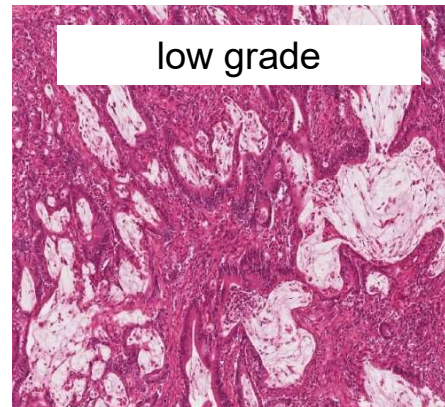
high grade

medullärer Subtyp
MSI (MLH1-Verlust)
BRAF(V600E)mut



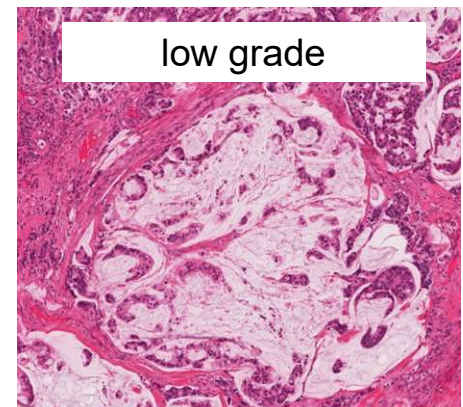
high grade

undifferenzierter Subtyp
MSS
CTNNB1mut / BRAFwt



low grade

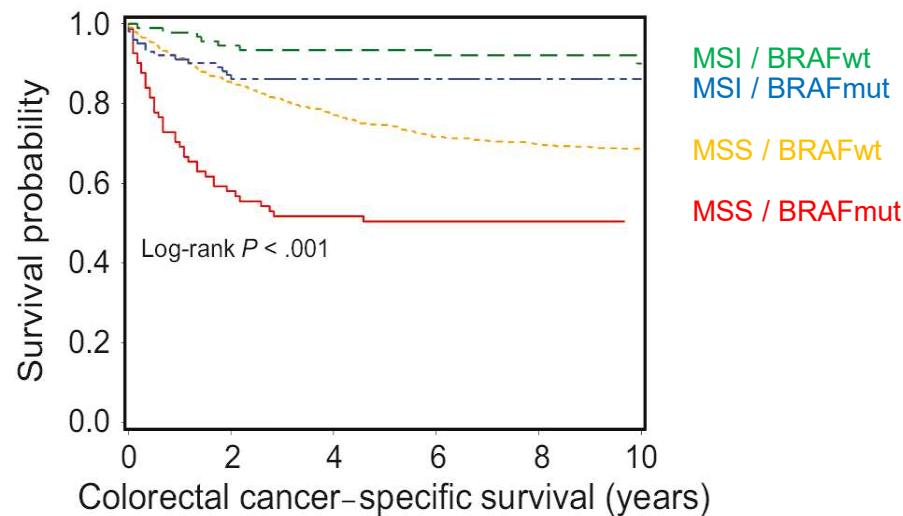
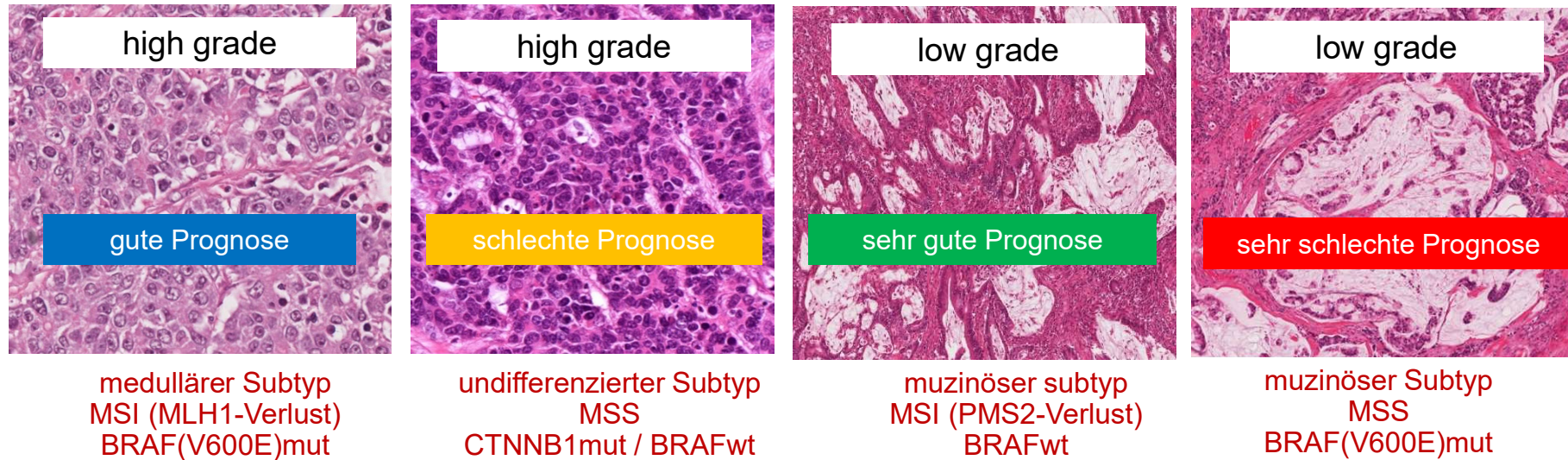
muzinöser Subtyp
MSI (PMS2-Verlust)
BRAFwt



low grade

muzinöser Subtyp
MSS
BRAF(V600E)mut

Probleme bei einer Graduierung nach WHO-Klassifikation 2019



Mucinous carcinoma of the colon: correlation of loss of mismatch repair enzymes with clinicopathologic features and survival
Kakar S et al. (2004) Modern Pathology 17: 696

<i>Variable</i>	<i>Hazard ratio</i>	<i>95% hazard ratio confidence limits</i>	<i>P-value</i>
Age	1.039	1.019–1.059	< 0.0001
MSI	1.008	0.561–1.808	0.9798
Stage	3.155	2.193–4.538	< 0.0001
Grade	1.378	1.034–1.837	0.0285
Crohn's-like infiltrate	0.634	0.426–0.944	0.0248

In *multivariate analysis* of mucinous carcinoma MSI status is **not** an independent predictor of survival.

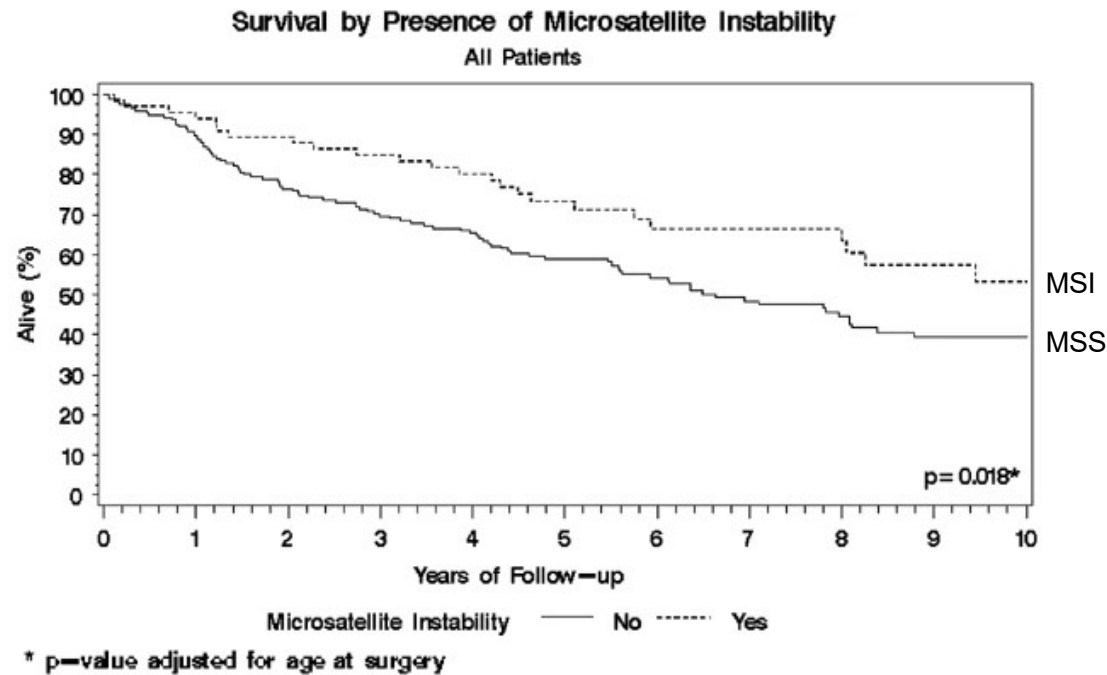
Mismatch repair deficiency as a prognostic factor in mucinous colorectal cancer

Andrici J et al. (2016) Modern Pathology 29: 266

<i>Variable</i>	<i>Univariate cox regression HR (95% CI), P-value</i>	<i>Multivariate cox regression HR (95% CI), P-value</i>
Age at diagnosis	1.03 (1.01–1.05), 0.004	1.04 (1.01–1.07), 0.006
<i>Gender</i>	1.00	1.00
Male		
Female	0.80 (0.52–1.24), 0.316	0.80 (0.44–1.43), 0.449
<i>Site</i>	1.00	1.00
Caecum		
Ascending colon	0.71 (0.37–1.35), 0.298	1.16 (0.53–2.58), 0.704
Transverse colon	1.04 (0.50–2.14), 0.925	1.81 (0.74–4.45), 0.196
Descending colon	1.38 (0.48–3.95), 0.551	0.22 (0.04–1.32), 0.098
Sigmoid colon	1.02 (0.50–2.05), 0.996	0.94 (0.32–2.74), 0.911
Rectum	0.94 (0.52–1.72), 0.849	1.13 (0.49–2.60), 0.772
<i>Overall stage</i>	1.00	1.00
Stage I		
Stage II	1.68 (0.68–4.15), 0.258	1.06 (0.30–3.83), 0.926
Stage III	2.55 (1.07–6.06), 0.035	2.07 (0.57–7.48), 0.270
Stage IV	10.80 (3.72–31.29), < 0.001	10.50 (1.84–59.83), 0.008
<i>Tumour grade</i>	1.00	1.00
Low grade		
High grade	2.18 (1.22–3.89), 0.008	2.66 (1.38–5.12), 0.003
<i>MSI status</i>	1.00	1.00
MSS		
MSI	0.66 (0.41–1.04), 0.071	0.49 (0.23–1.04), 0.062
<i>BRAF status</i>	1.00	1.00
BRAF negative		
BRAF positive	0.80 (0.51–1.26), 0.341	1.18 (0.56–2.46), 0.666
Tumour size	1.004 (0.994–1.013), 0.431	0.998 (0.985–1.012), 0.828

In *multivariate analysis* of mucinous carcinoma MSI/MMRd status **just failed** to have prognostic significance.

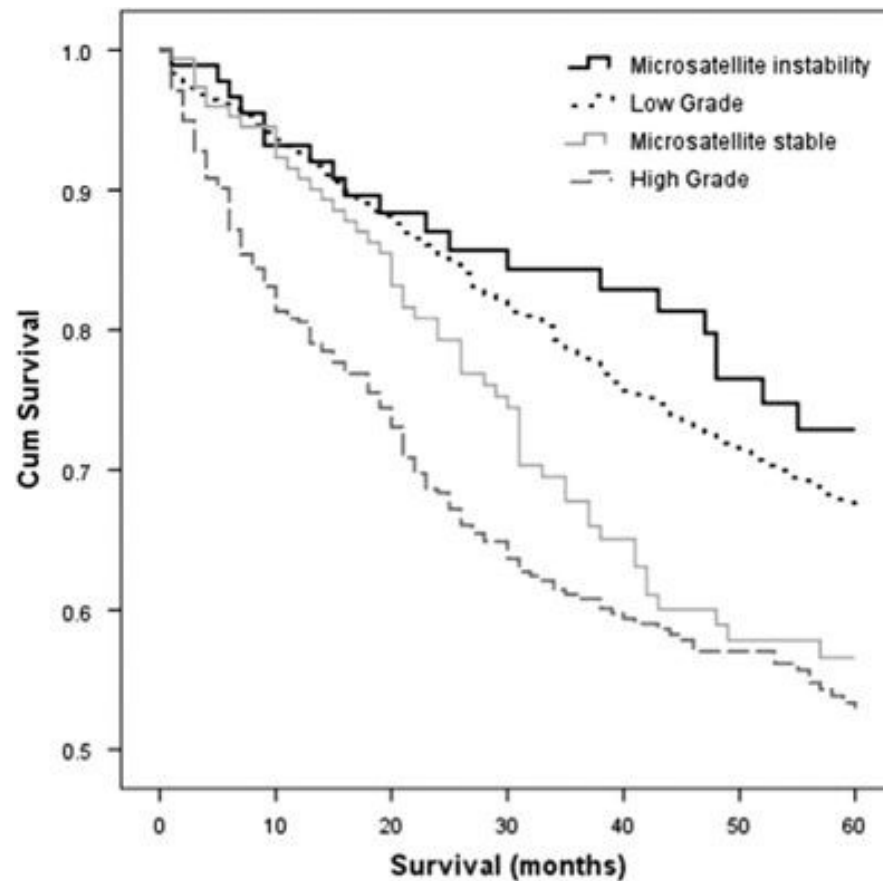
Mucinous carcinoma of the colon: correlation of loss of mismatch repair enzymes with clinicopathologic features and survival
Kakar S et al. (2004) Modern Pathology 17: 696



In univariate analysis MSI had a favorable effect on age-adjusted survival
Outcome of MSI mucinous carcinoma is better than of MSS mucinous carcinoma

Mismatch repair deficiency as a prognostic factor
in mucinous colorectal cancer

Andrici J et al. (2016) *Modern Pathology* 29: 266

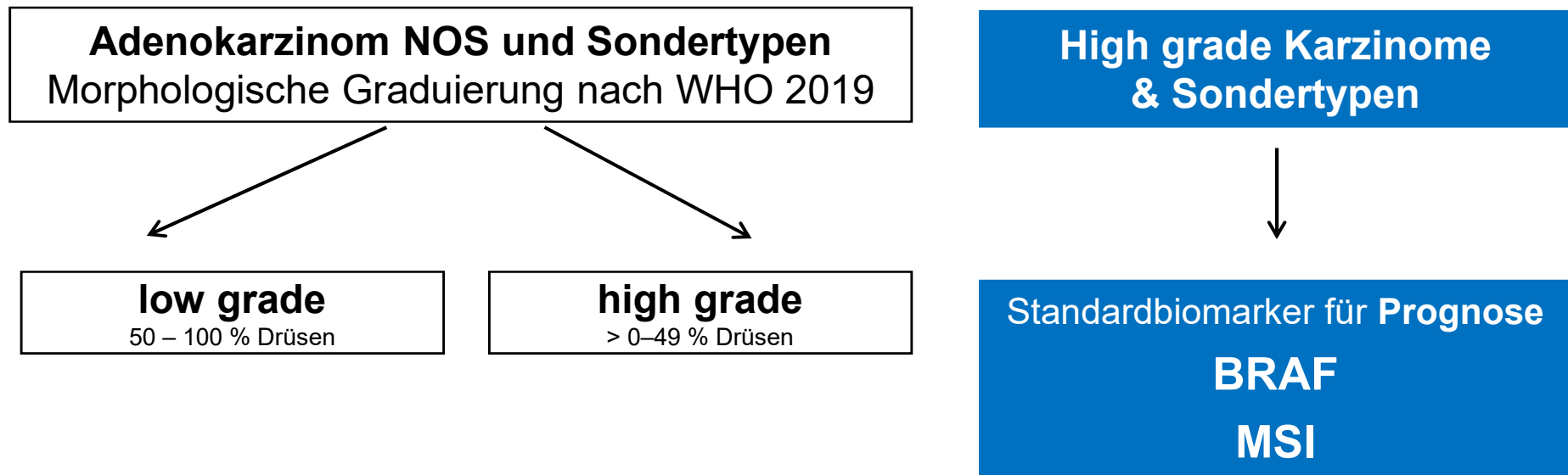


5-year survival rate of MSI mucinous carcinoma is

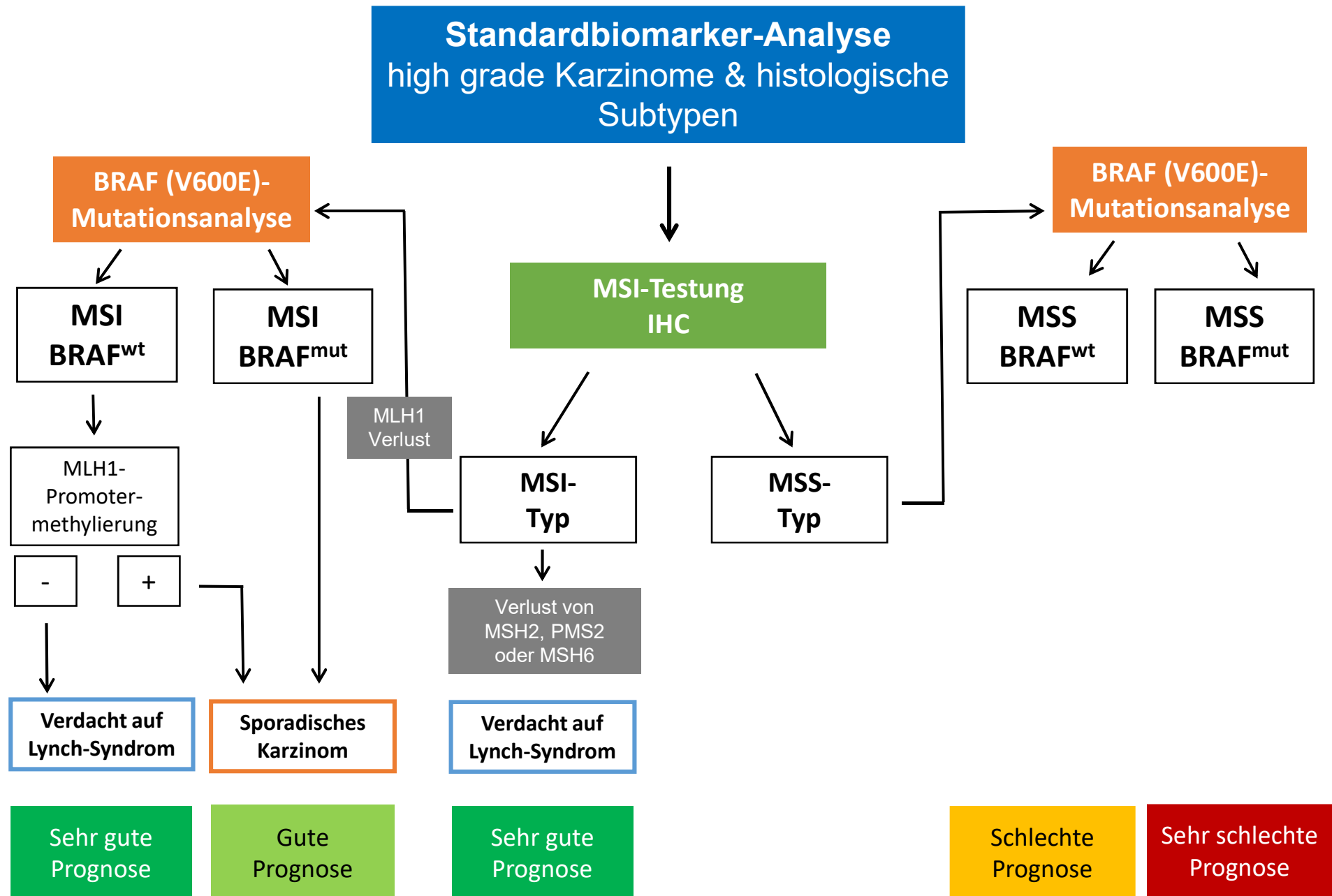
- similar to non-mucinous low grade carcinoma and
- **better** than MSS mucinous and non-mucinous high grade carcinoma.

“The findings support the WHO 2010 approach that as a group MSS mucinous colorectal cancers are biologically aggressive.”

Morphologische Graduierung nach WHO 2019 kombiniert mit **prognostischen Standardbiomarkern**



Prognostischer Algorithmus für das kolorektale Karzinom



S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Essentielle molekularpathologische Untersuchungen beim mKRK

Einleitungstext 9.2.

Das vorrangige Ziel besteht zunächst in der **molekularpathologischen Charakterisierung** der Erkrankung. Diese dient der **prognostischen Einschätzung** sowie der Gewinnung **prädiktiver Informationen** hinsichtlich der Therapiewahl.

Die molekularpathologischen Untersuchungen kolorektaler Karzinome umfassen **essentiell** eine Analyse des

- Mutationszustands der **RAS-Gene** *KRAS* und *NRAS* (hotspot-Regionen der Exone 2, 3 und 4), des
- **BRAF-Gens** (hotspot region in Exon 15) sowie des
- Status der **Mikrosatelliteninstabilität** (MSS, Mikrosatellitenstabil; MSI-H, hochgradig Mikrosatelliten-instabil)

S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Initiale molekulardiagnostische Diagnostik vor Therapiebeginn

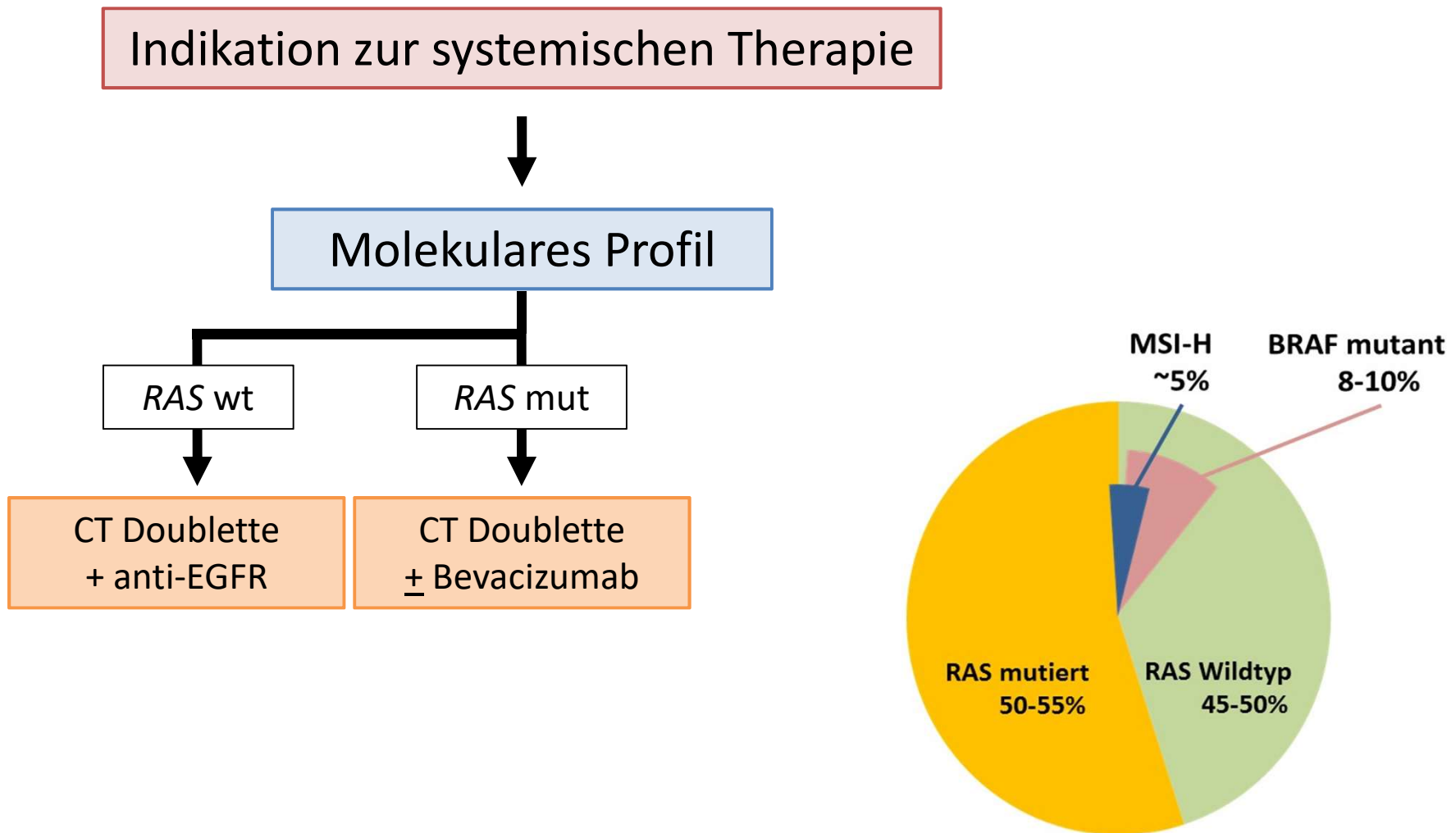
Empfehlung 9.4. 2017 (A / 1a)

9.4.	Evidenzbasierte Empfehlung	2017
Empfehlungsgrad A	Die Bestimmung von (ALL) RAS- und BRAF-Mutationen soll möglichst noch vor Einleitung der Erstlinientherapie erfolgen.	
Level of Evidence 1a	Quelle: [1040]	
	Starker Konsens	

Hintergrundtext

Die Bestimmung des *RAS*- und *BRAF*-Mutationsstatus kann im Rahmen einer Stufendiagnostik erfolgen. Die *BRAF*-Analytik erfolgt dann erst nach Ausschluss einer *RAS*-Mutation, da sich in der Regel *RAS*- *BRAF*-Mutationen ausschließen.

Therapiealgorithmus metastasiertes Dickdarmkarzinom



S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Molekularpathologische Untersuchungen beim mKRK

Biomarker	Prognostisches und humangenetisches Risiko	Prädiktiv für Therapieplanung
RAS^{wt} KRAS Exon 2-4 & NRAS Exon 2-4	⊖	⊕ First line Stage IV Doublette + anti-EGFR-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
BRAF_(V600E)^{mut}	⊕	
MSI immunhistochemisch o. molekulargenetisch	⊕	
HER2 Überexprression/Amplifikation	⊖	

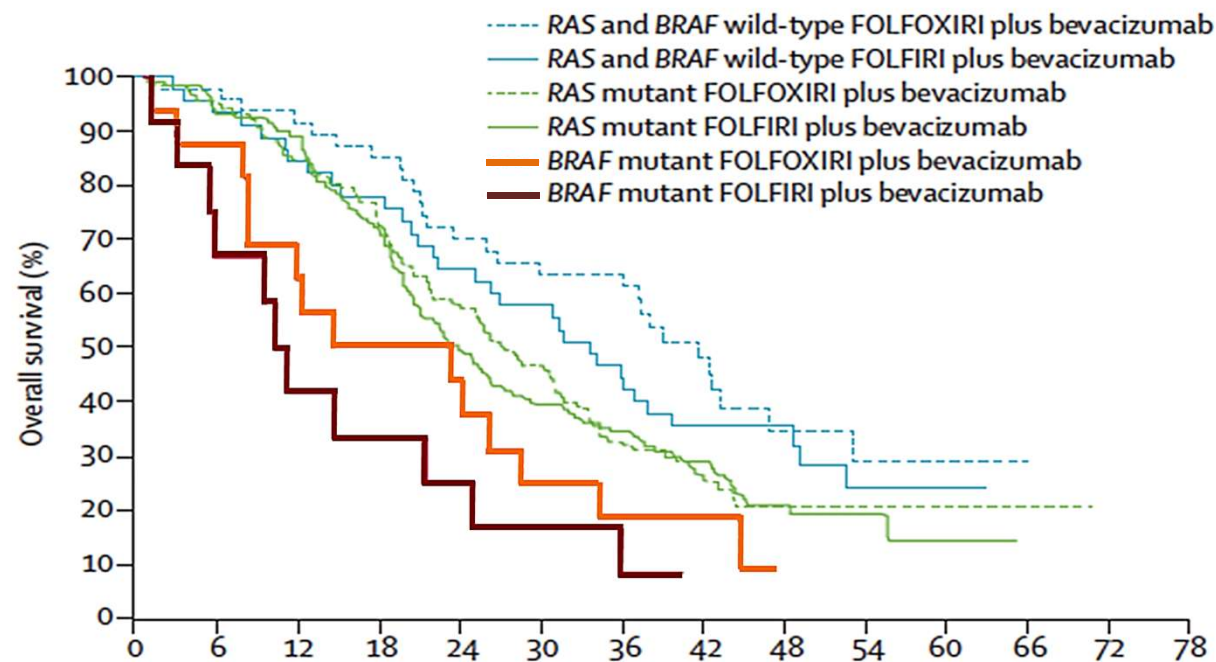
S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Wahl der systemischen Therapie beim mKRK

Empfehlung 9.23. 2017 (B / 4)

9.23.	Evidenzbasierte Empfehlung	2017
Empfehlungsgrad B	Liegt eine BRAF-Mutation vor, sollte primär eine möglichst effektive Chemotherapie z. B. mit einer Triplette oder der Einschluss in eine klinische Studie erfolgen.	
Level of Evidence 4	Quellen: [1060, 1117]	
	Konsens	

TRIBE Study

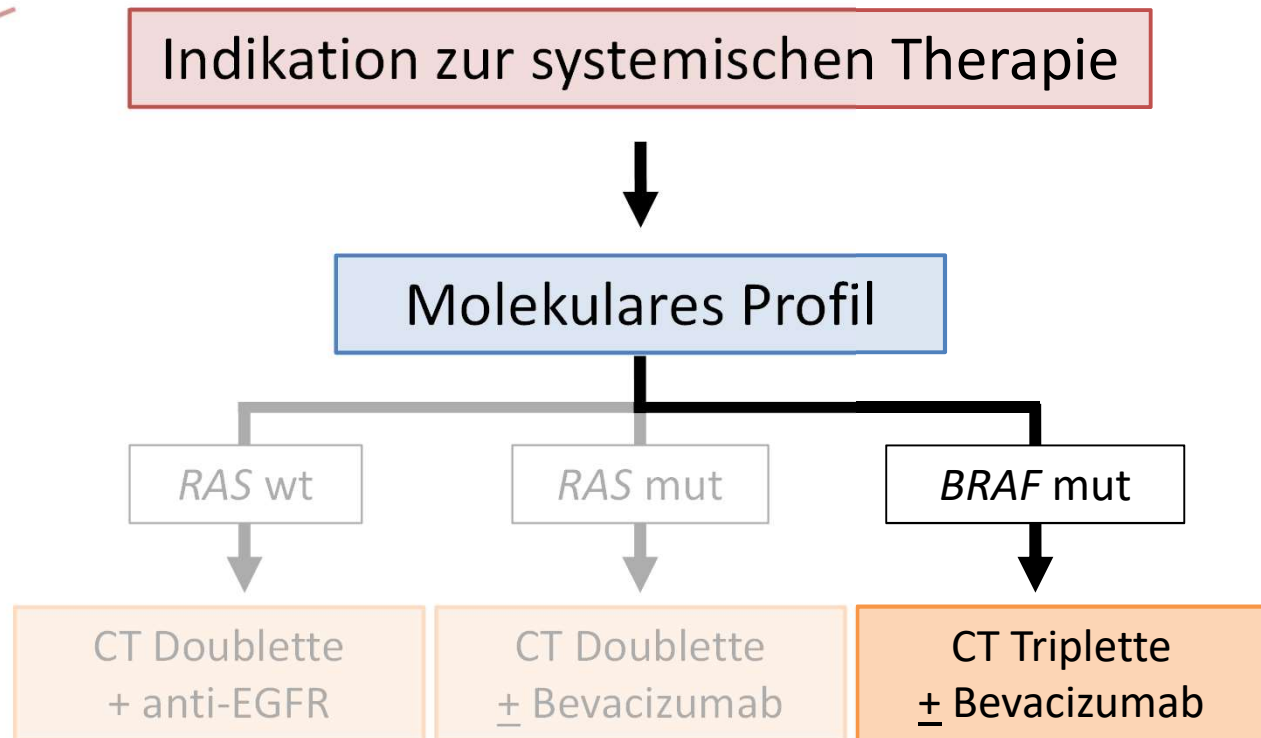
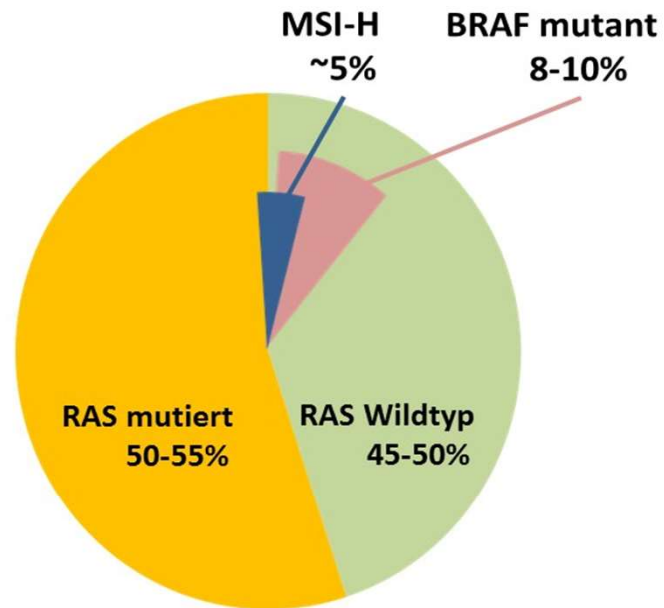


BRAF mt patients analyzed:
n=28

	Events	Median OS
—	28	41.7 months
—	32	33.5 months
---	88	27.3 months
—	93	23.9 months
—	14	19.0 months
—	11	10.7 months



Therapiealgorithmus metastasiertes Dickdarmkarzinom



S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Molekularpathologische Untersuchungen beim mKRK

Biomarker	Prognostisches und humangenetisches Risiko	Prädiktiv für Therapieplanung
RAS^{wt} KRAS Exon 2-4 & NRAS Exon 2-4	⊖	⊕ First line Stage IV Doublette + anti-EGFR-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
BRAF_(V600E)^{mut}	⊕	⊕ First line Stage IV Triplette + Anti-VEGF-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
MSI immunhistochemisch o. molekulargenetisch	⊕	
HER2 Überexprression/Amplifikation	⊖	

S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

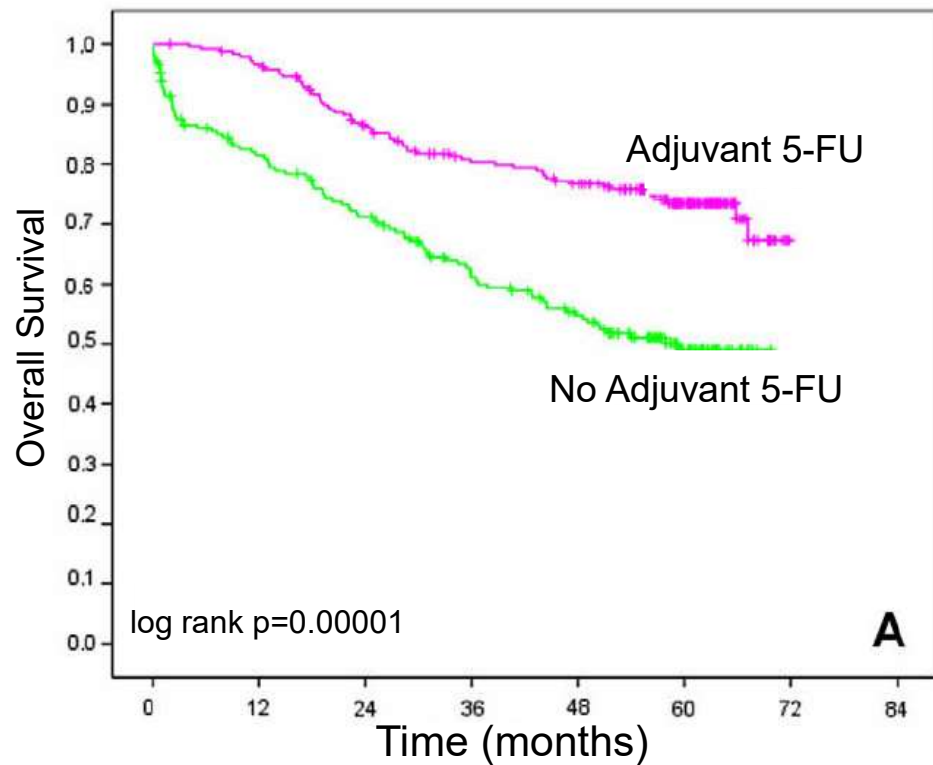
Adjuvante Therapie

Empfehlung 8.7. 2017 (B / 3b)

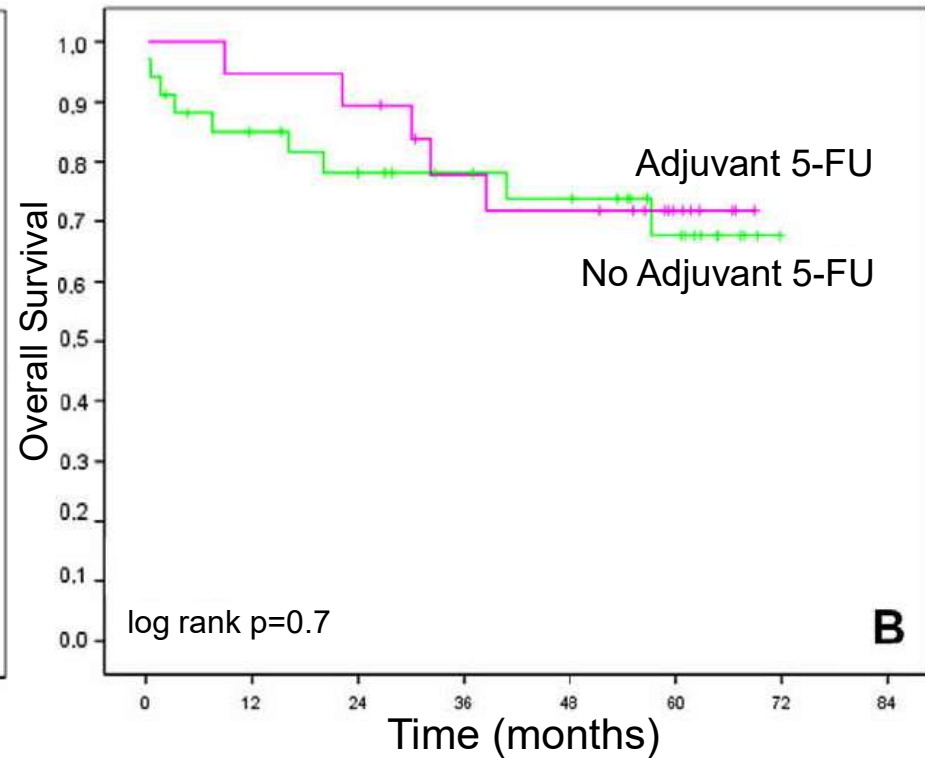
8.7.	Evidenzbasierte Empfehlung	2017
Empfehlungsgrad B	Bei Patienten im Stadium II soll vor der Indikationsstellung für eine adjuvante Chemotherapie der Mikrosatellitenstatus bestimmt werden. Weitere Parameter (z. B. CEA-Spiegel, Differenzierungsgrad, 18q Verlust, isolierte Tumorzellen in Lymphknoten oder im Knochenmark, DNA-Ploidie und TS/p53 Expression, Lymph- und Blutgefäßinvasion, molekulargenetische Analysen) sollen nicht zur Indikationsstellung für eine adjuvante Chemotherapie benutzt werden.	
Level of Evidence 3b	Quellen: [899-902]	
	Starker Konsens	

Kein Effekt der adjuvanten 5-FU Monotherapie bei UICC-Stadium II/III Dickdarmkarzinomen mit MSI-H

MSS (n = 496)



MSI-H (n = 60)



Validierungsstudien zum prädiktiven Wert von MSI-H für die 5-FU-Monotherapie

Sargent-Analyse (491 Patienten)

- Dickdarmkarzinompatienten im Stadium II und III mit MSI-H Tumoren profitieren nicht von einer 5-FU-Monotherapie

Sargent et al. J Clin Oncol (Abstracts) 29, 4008 (2008)

PETACC-3 Studie (1564 Patienten)

- Dickdarmkarzinompatienten im Stadium II mit MSI-H Tumoren profitieren nicht von einer 5-FU-Monotherapie

Tejpar et al. J Clin Oncol (Abstracts) 27, 4001 (2009)

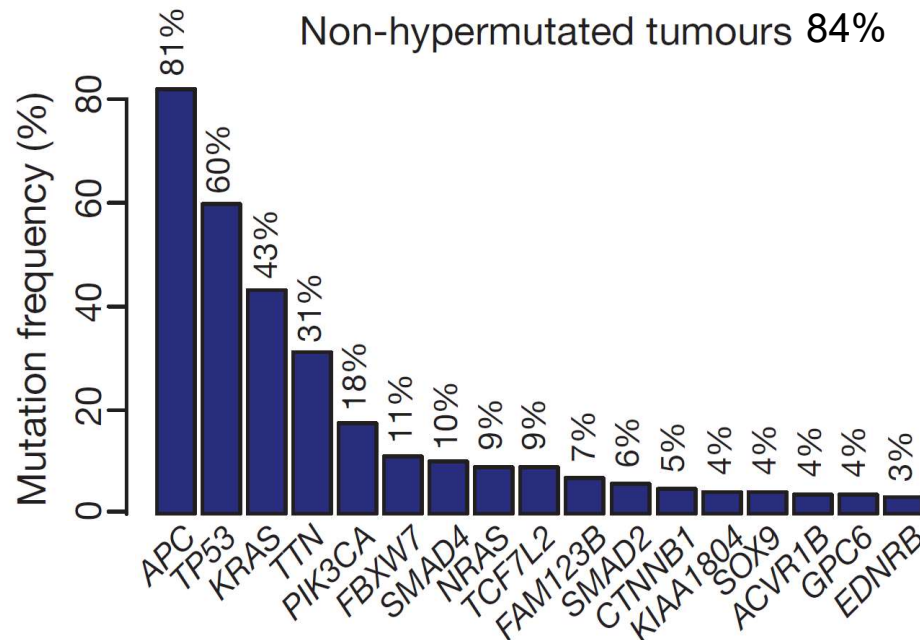
8.8.	Evidenzbasierte Empfehlung	2017
Empfehlungsgrad B	Bei nachgewiesener Mikrosatelliteninstabilität (MSI-H) sollte eine adjuvante Chemotherapie im Stadium II nicht erfolgen.	
Level of Evidence 2a		
	Starker Konsens	

S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)
Diagnostik ohne unmittelbare Relevanz für die Erstlinientherapie
Fakultative prädiktive Biomarker beim mKRK
Hintergrundtext, keine Empfehlung

Testung der Mikrosatelliteninstabilität (MSI)

- MSI als *potentieller* prädiktiver Biomarker für den Einsatz des Checkpoint-Inhibitors Pembrolizumab

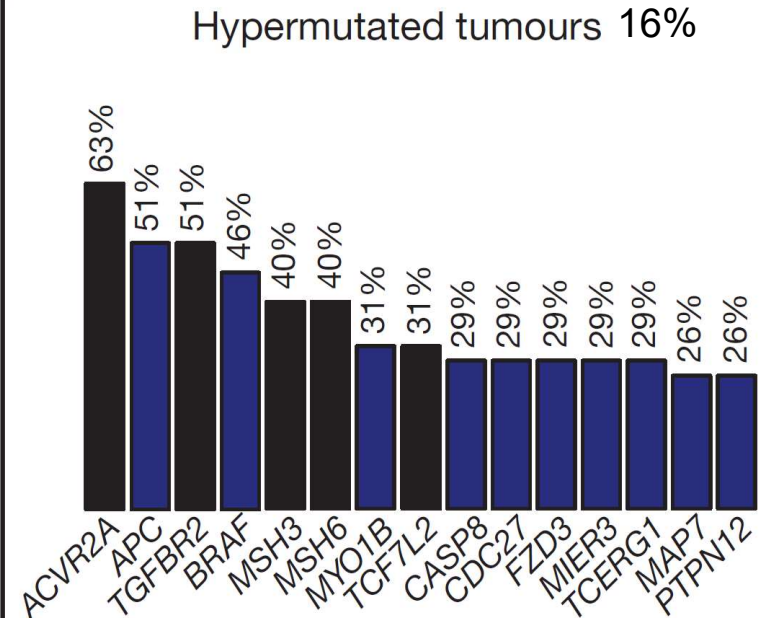
Mutationslast bei mikrosatelliteninstabilen kolorektalen Karzinomen



Mediane Mutationsrate **58**

Häufig *APC*-, *TP53*- und *KRAS*-Mutationen

Überwiegend
klassische Adenokarzinome



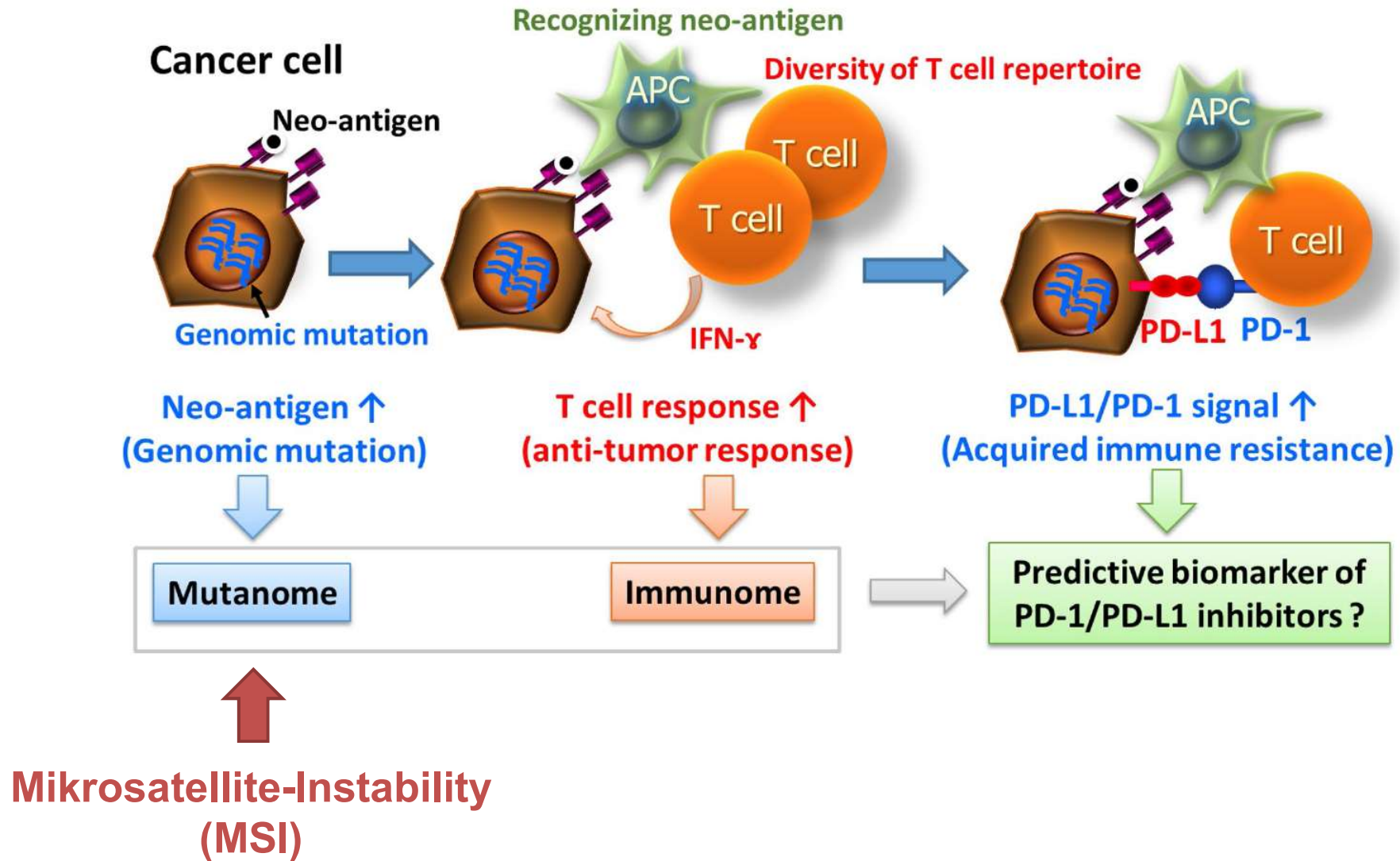
Mediane Mutationsrate **728**

63 % *MLH1* Promotormethylierung

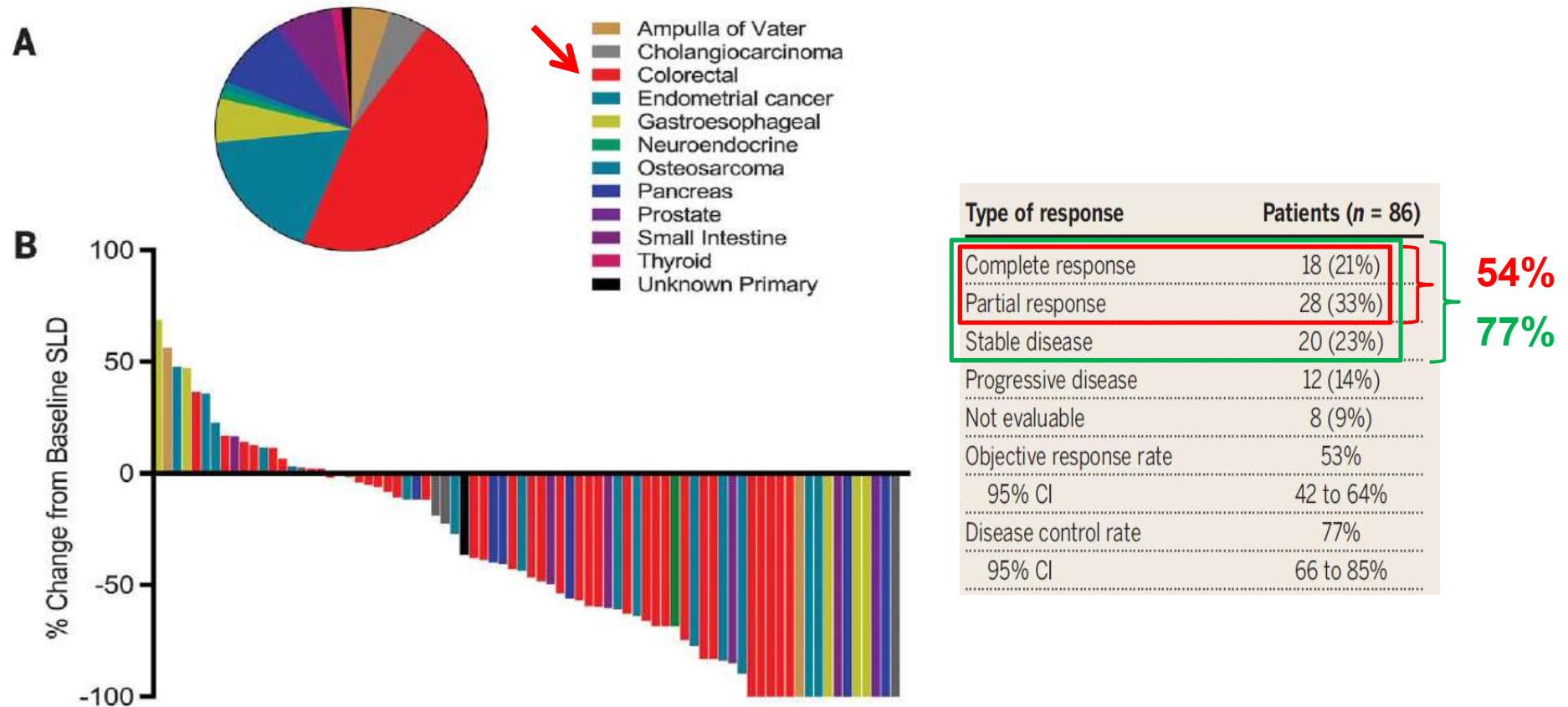
23 % Mutationen in Reparaturgenen

Überwiegend
MSI-Adenokarzinome

MSI and tumour infiltrating lymphocytes (TIL)



Pembrolizumab für MSI-H Tumoren



Pembrolizumab (Keytruda) was granted for treatment of adult and pediatric patients with **unresectable or metastatic microsatellite instability–high (MSI-H) or mismatch repair deficient (dMMR) solid tumors** progressing following prior treatment and who have no satisfactory alternative treatment options.

S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Molekularpathologische Untersuchungen beim mKRK

Biomarker	Prognostisches und humangenetisches Risiko	Prädiktiv für Therapieplanung
RAS^{wt} KRAS Exon 2-4 & NRAS Exon 2-4	⊖	⊕ First line Stage IV Doublette + anti-EGFR-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
BRAF_(V600E)^{mut}	⊕	⊕ First line Stage IV Triplette + Anti-VEGF-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
MSI immunhistochemisch o. molekulargenetisch	⊕	⊕ Second line Stage IV Anti-PDL1-Therapy Fakultativ vor Zweitlinien-therapie
HER2 Überexprression/Amplifikation	⊖	

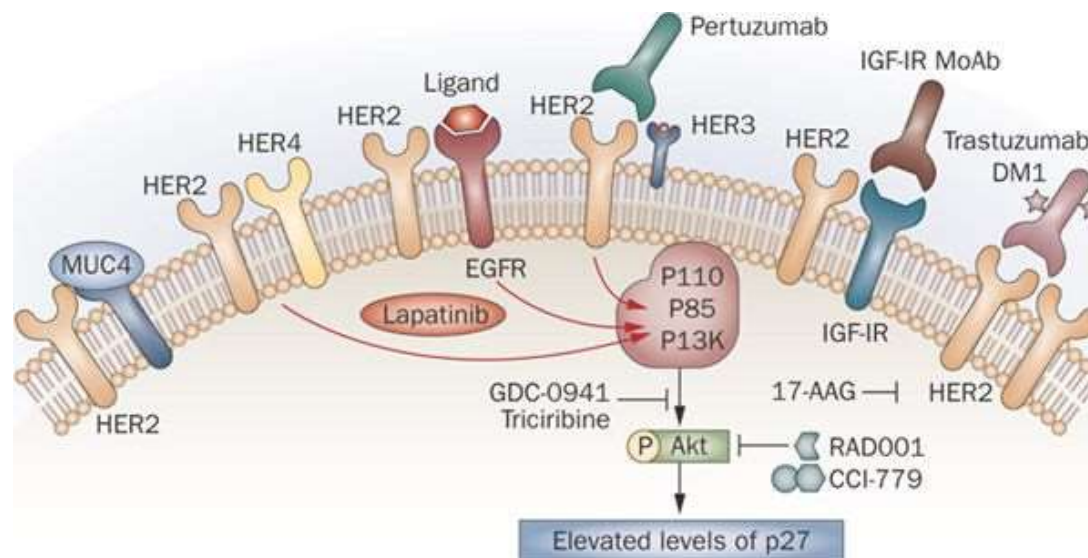
S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Diagnostik ohne unmittelbare Relevanz für die Erstlinientherapie - Fakultative prädiktive Biomarker

Hintergrundtext, keine Empfehlung

Testung auf Her2-neu Amplifikation/Überexpression

→ Her2-neu Positivität als Indikation für Trastuzumab plus Lapatinib bei Patienten mit *RAS*^{wt} KRK und Resistenz gegen anti-EGFR-Antikörper (HERACLES-Studie)



HER2- Therapie Kolorektales Karzinom

HERACLES-Studie

849 patients with mCRC KRAS exon 2 WT

↓ 803 HER2-negative

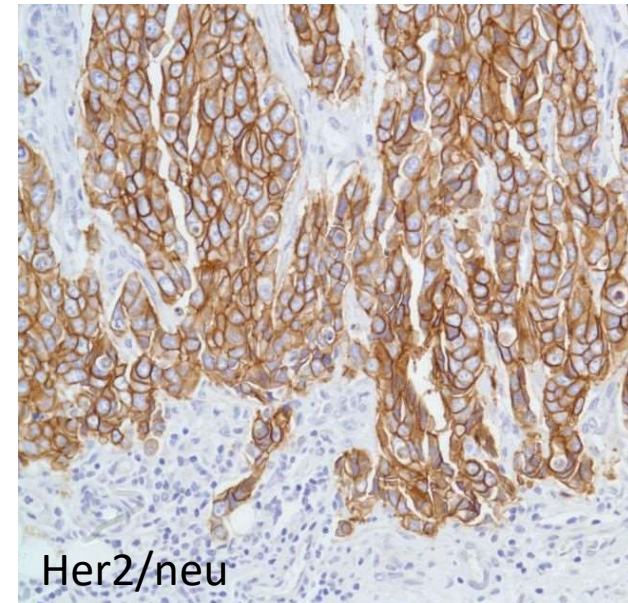
46 HER2+ (5.4%)

↓ 22 not eligible because PS $\geq$ 2 or tumor-related comorbidities

24 enrolled

↓ 1 too early for safety & efficacy assessment

23 evaluable for response



Therapy with:

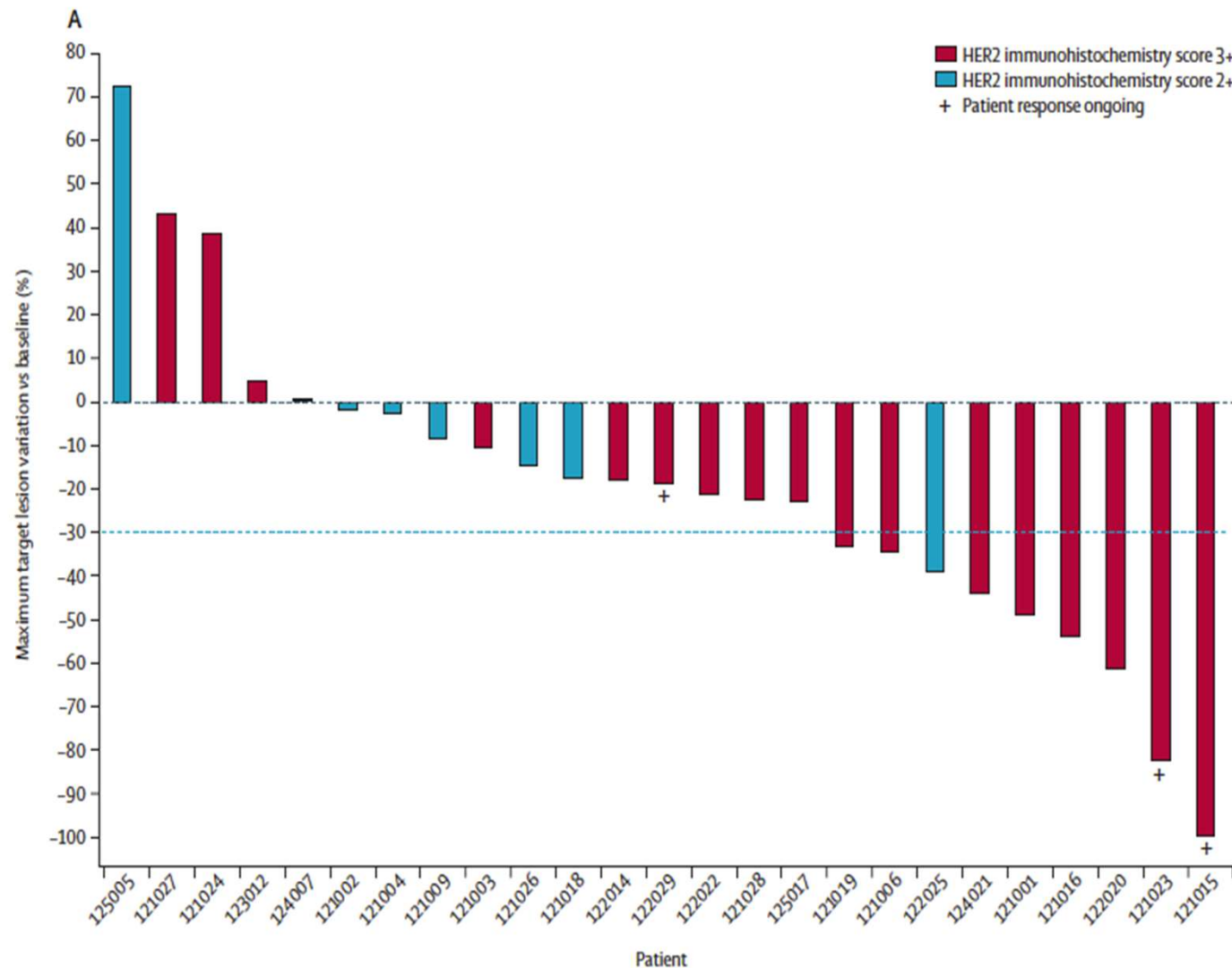
- **Trastuzumab** iv 4mg/kg load and then 2mg/kg/qw
- **Lapatinib** po 1000 mg/qd



re-biopsy if possible

HER2- Therapie Kolorektales Karzinom

HERACLES-Studie



S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom (KRK)

Molekularpathologische Untersuchungen beim mKRK

Biomarker	Prognostisches und humangenetisches Risiko	Prädiktiv für Therapieplanung
RAS^{wt} KRAS Exon 2-4 & NRAS Exon 2-4	⊖	⊕ First line Stage IV Doublette + anti-EGFR-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
BRAF_(V600E)^{mut}	⊕	⊕ First line Stage IV Triplette + Anti-VEGF-AK Obligat vor Erstlinien-therapie
MSI immunhistochemisch o. molekulargenetisch	⊕	⊕ Second line Stage IV Anti-PDL1-Therapy Fakultativ vor Zweitlinien-therapie
HER2 Überexpresssion/Amplifikation	⊖	⊕ Second line stage IV Trastuzumab & Lapatinib Fakultativ vor Zweitlinien-therapie

Seltene therapierbare Mutationen beim Dickdarmkarzinom (KRK)

Care for rare mutations

Zielgerichtete Therapie	Häufigkeit % bei KRK	Mutation	EMA – Zulassung oder erfolgreiche Studie
Ceritinib	2,1%	ALK-Translokation	Lungenkarzinom (NSCLC)
Crizotinib	1,6%	ROS1-Translokation	
	1,1%	RET-Translokation/-mutation	
Afatinib	1,1%	EGFR-aktivierende Mutation	Lungenkarzinom (NSCLC)
Erlotinib			
Gefitinib			
ALK, analplastic lymphoma kinase; BRAF, B-type RAS associated factor; EGFR, epidermal growth factor receptor; EMA, European Medicines Agency; RET, rearrangend during transfection; ROS1, rather often mutated in sarcoma.			

Schlussfolgerungen

- Das von der neuen WHO 2019 vorgeschlagene Graduierungsschema korreliert nur bedingt mit der Prognose
- Die Kombination von *BRAF*- und MSI-Status erlaubt eine prognostische Risiko-Stratifizierung sporadischer Dickdarmkarzinome
- *RAS*- und *BRAF*-Status sind etablierte prädiktive Biomarker für die Erstlinientherapie bei metastasiertem Dickdarmkarzinom
- MSI- und Her2/neu-Status sind fakultative prädiktive Biomarker für die Zweitlinientherapie



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

Kontakt:
jens.neumann@med.uni-muenchen.de

