

TGA 2023 • Tumorgenetische Arbeitstagung

Akademie Humangenetik

Eine Einrichtung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik e.V.

Programm



35. Tumorgenetische Arbeitstagung 2023
20.–22.04.2023, Rostock

Wir danken den Sponsoren für die freundliche Unterstützung

Erklärung zur Firmen- und Produktneutralität

Hiermit versichern wir, dass die Inhalte und die Darstellung der ärztlichen Fortbildung unabhängig von wirtschaftlichen Interessen Dritter sowie frei von werbenden Einflüssen sind und den aktuellen Empfehlungen der Bundesärztekammer zur ärztlichen Fortbildung entsprechen.

Sponsoren	Firma	Sponsoring-Betrag in €	Leistung
 Abbott	Abbott GmbH	1.950 €	Messestand
	AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG	4.950 €	Messestand und Industrie-Symposium
	ADS Biotec Ltd.	3.080 €	Unternehmens-Kurzpräsentation, Messestand
	AHF analysetechnik AG	1.950 €	Messestand
	AstraZeneca GmbH	1.950 €	Messestand
	Bionano Genomics	3.080 €	Messestand und Unternehmens-Kurzpräsentation
	GEPADO - Softwarelösungen für Genetik - GmbH	1.950 €	Messestand
	HISS Diagnostics	1.950 €	Messestand
 Jazz Pharmaceuticals	Jazz Pharmaceuticals Germany GmbH	5.950 €	Messestand und Industrie-Symposium

Sponsoren	Firma	Sponsoring-Betrag in €	Leistung
	Limbus Medical Technologies GmbH	2.450 €	Messestand und Vortragspreis
	MetaSystems Probes GmbH	1.950 €	Messestand
	Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG	1.950 €	Messestand
	Standard Biotools	1.950 €	Messestand
	Sysmex Deutschland GmbH	1.950 €	Messestand
	Zytomed Systems GmbH	1.950 €	Messestand

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

es ist mir eine besondere Freude, Sie zur **35. Tumorgenetischen Arbeitstagung** in der Hanse-Stadt Rostock begrüßen zu dürfen. Obwohl ich die längste Zeit meines Berufslebens in Berlin tätig war, verbindet mich doch mit dem Norden als meiner Heimat sehr viel. Rostock ist nicht nur die größte, sondern vielleicht auch die attraktivste Stadt in Mecklenburg-Vorpommern und wird geprägt durch ihre Lage am Meer, ihren Hafen sowie die Universität, die 1419 gegründet wurde und zu den ältesten Hochschulen Deutschlands zählt. Der Rostocker Hafen ist nicht nur für den Fährverkehr und Güterumschlag bedeutend, sondern auch der größte deutsche Kreuzfahrthafen. Das bekannte Ostseebad Warnemünde liegt im Stadtgebiet. Wir hoffen, Ihnen unseren Wirkungsort rund um die Tagung näherbringen zu können. Das Tagungshotel liegt in unmittelbarer Nähe zum Stadthafen.

Wie immer erwarten Sie ein spannendes wissenschaftliches Programm mit Übersichtsvorträgen, Vorträgen über eigene Forschungsprojekte, Fallvorstellungen und hoffentlich regen Diskussionen, ein Industriesymposium mit Industrieausstellung sowie der inzwischen schon traditionelle und sehr gefragte MTA-Workshop. Wir hoffen, dass wir Sie einerseits mit dem wissenschaftlichen Programm und andererseits dem maritimen Flair des Tagungsortes und des Rahmenprogramms begeistern können, und freuen uns sehr auf den persönlichen Austausch mit Ihnen.

Ihre Gundula Kadgien



Tagungsleitung

Prof. Dr. med. Gundula Kadgien
MVZ für Humangenetik und
Molekularpathologie
Robert-Koch-Str. 10
18059 Rostock

Tagungsort

Radisson Blu Hotel
Lange Str. 40
18055 Rostock

Tagungsausrichter

Deutsche Gesellschaft für Humangenetik
Lützenstr. 11
10711 Berlin
E-Mail: organisation@gfhev.de

Informationen

www.tumorgenetische-arbeitstagung.de

Programmablauf

Legende: ❖ = Vortragende(r) bewirbt sich für den TGA-Vortragspreis

Donnerstag, 20. April 2023

Raum: Ostseesaal 2	
Ab 14 Uhr	Anreise und Registrierung / Begrüßungskaffee in der Industrieausstellung
14:30–14:45 Uhr	Begrüßung Gundula Kadgien (MVZ für Humangenetik und Molekularbiologie, Rostock)
14:45–16:00 Uhr	Industrie-Symposium (Jazz Pharmaceuticals Germany GmbH) Vorsitz: Gudrun Göhring, Hannover
	Neue AML-Klassifikation 2022 (WHO/ELN/ICC) Claudia Haferlach (MLL Münchner Leukämielabor GmbH)
	Neue WHO-Klassifikation zu MDS/MPN Detlef Haase (Universitätsmedizin Göttingen Georg-August-Universität)
	Diskussion
16:00–16:15 Uhr	Unternehmens-Kurzpräsentation (Bionano Genomics)
	Next Generation Cytogenomics: Optical Mapping for the detection of structural variation in human genome Julika Borde
16:15–17:00 Uhr	Kaffeepause / Besuch der Industrieausstellung
17:00–17:45 Uhr	Session 1 Qualitätssicherung Moderation: Claudia Haferlach, München Harald Rieder (Universität Marburg) - remote Claudia Haferlach (MLL Münchner Leukämielabor GmbH)
17:45–18:00 Uhr	Das Tagungschromosom Janine Wehrhahn (MVZ für Humangenetik Rostock)
18:00–18:30 Uhr	Das große Rostocker Quiz der Molekulargenetik Oskar Haas (St. Anna Kinderspital, Wien)
18:45 Uhr	Gruppenfoto
ab 19:30 Uhr	Gemeinsames Abendessen und Get-Together in der Industrieausstellung

Freitag, 21. April 2023

Raum: Ostseesaal 2	
08:45–09:30 Uhr	Industrie-Symposium (Abbvie) Vorsitz: <i>Jens Kisro, Lübeck</i>
	Fallvorstellung Multiples Myelom <i>Jens Kisro, Hämato-onkologische Schwerpunktpraxis Lübeck</i>
	Die pathologische Befundung des MM <i>Holger Hauspurg, Institut für Hämatopathologie Hamburg</i>
	Die zytogenetische Befundung des MM <i>Lana Harder, Institut für Tumorgenetik Kiel</i>
	Die klinische Relevanz der Befunde <i>Jens Kisro, Hämato-onkologische Schwerpunktpraxis Lübeck</i>
	Interdisziplinäre Zusammenarbeit bei der Befundung des MM
	Schlussworte
09:30–09:45 Uhr	Unternehmens-Kurzpräsentation (ADS Biotec) Joachim Fischer
09:45–10:15 Uhr	Kaffeepause / Besuch der Industrieausstellung
10:15–11:45 Uhr	Session 2 Hämatologische Neoplasien Vorsitz: <i>Ulrike Beyer, Hannover</i>
10:15–10:30 Uhr	❖ Myeloische Neoplasien mit MYC-positiven Double minutes – eine spezifische Subgruppe? <i>Clara Lettl (MLL Münchner Leukämielabor GmbH)</i>
10:30–10:45 Uhr	Fälle mit initialen und neu erworbenen TP53-Mutationen bei Myelodysplastischen Syndromen mit 5q-Deletion <i>Christina Ganster (UMG Göttingen)</i>
10:45–11:00 Uhr	What is dic(9;20) ALL? The problem of accepting it as a distinct entity <i>Karin Nebral (Labdia Labordiagnostik GmbH)</i>
11:00–11:15 Uhr	Recurrent DNMT3B gene rearrangements are associated with unfavorable outcome in dicentric (9;20)-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia <i>Zeljko Antic (Medizinische Hochschule Hannover)</i>
11:15–11:30 Uhr	Die Detektion von Deletionen im IKZF1-Gen in der ALL-Diagnostik mittels FISH <i>Katharina Schulz (Institut für Tumorgenetik Nord)</i>
11:30–11:45 Uhr	❖ Fallbeispiel: Junge Patientin mit gleichzeitigem Vorliegen einer CML und einer high count MBL mit CLL-Phänotyp und TCR-Rearrangement <i>Anna Kossek (MVZ Martinsried GmbH)</i>

11:45–12:15 Uhr	Vergabe Lore-Zech-Preis Laudatio von S. Urbschat und Vortrag der/des Preisträger/in
12:15–13:15 Uhr	Mittagspause / Besuch der Industrieausstellung
13:15–14:15 Uhr	MTA-Workshop // parallel Sitzung der TGA-Programmkommission
	Einführung <i>Kathleen Bohnebeck</i>
	Die RC-Bänderung <i>Christine Matthews</i>
	Cytospins <i>Katja Seib, Rostock</i>
14:15–15:30 Uhr	Session 3 Neue Methoden Vorsitz: <i>Christina Ganster (UMG Göttingen)</i>
14:15–14:30	Von einer unklaren zu einer therapeutisch relevanten Diagnose: der Mehrwert von WGS und WTS am Beispiel eines diagnostisch herausfordernden Falls <i>Bettina Balk (MLL Münchner Leukämielabor GmbH)</i>
14:30–14:45	Fallbeispiel: Nachweis einer MSH2-Duplikation in tandem mittels bionano optical mapping bei einem Patienten mit V.a. Lynch-Syndrom <i>Charlotte Singrün (MVZ Martinsried GmbH)</i>
14:45–15:00	❖ Impact of reference materials for analytical performance evaluation of liquid biopsy NGS assays <i>Ariane Hallermayr (Medizinisch Genetisches Zentrum München)</i>
15:00–15:15	Epigenetically regulated microRNA-449a inhibits triple negative breast cancer by inducing chromosomal instability <i>Beate Vajen (Medizinische Hochschule Hannover)</i>
15:15–15:30	Integration von Algorithmen der künstlichen Intelligenz in die Diagnostik der kindlichen akuten lymphatischen Leukämie <i>Jana Lentes (Medizinische Hochschule Hannover)</i>
15:30–16:15 Uhr	Kaffeepause / Besuch der Industrieausstellung
16:15–16:45 Uhr	Session 4 Wissenswertes über Rostock
	<i>Hagen Pommerenke (MVZ für Humangenetik Rostock)</i>
ab 18:30 Uhr	Abendprogramm

Samstag, 22. April 2023

Raum: Ostsesaal 2	
08:45–09:45 Uhr	Session 5 Wege zur Diagnose Vorsitz: <i>Janine Wehrhahn, Rostock</i>
08:45–09:05	Einblicke ins Hämatologielabor: hämatologische Stufendiagnostik auf dem Weg zum integrativen Befund <i>Carl Thomas Nebe (Haema, hämatologisches Speziallabor)</i>
09:00–09:20	Die Zytogenetik als wichtiges Puzzleteil – eine Sammlung von Fallbeispielen aus dem diagnostischen Alltag <i>Steffi Hahn (MVZ für Humangenetik Rostock)</i>
09:20–09:40	❖ Beauty and the beast: how combining molecular and cytogenetics can clarify enigmatic findings <i>Paolo Mazzeo (UMG Göttingen)</i>
09:45–10:15 Uhr	Kaffeepause / Besuch der Industrieausstellung
10:15–11:45 Uhr	Session 6 Solide Tumoren und Prädispositionssyndrome Vorsitz: <i>Heidrun Holland, Leipzig</i>
10:15–10:30	❖ Genotyp-Phänotyp-Assoziation bei Personen mit Keimbahnveränderungen in TP53 <i>Johannes Wagner (Praxis für Humangenetik Berlin, Dr. med. Eun-Kyung Suk)</i>
10:30–10:45	Sclerosing epitheloid fibrosarcoma in a patient harboring multiple germline variants in tumor predisposition genes <i>Jutta Bradtke (Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Onkogenetisches Labor)</i>
10:45–11:00	Capture RNA-seq as supplement to DNA germline testing to increase diagnostic yield <i>Florentine Scharf (Medizinisch Genetisches Zentrum München, Molekulargenetik)</i>
11:00–11:15	Glioblastoma tissue vs glioblastoma stem-like cells: comparison of genetic, biophysical and bioinformatical properties <i>Vivian-Pascal Brandt (Universität Leipzig)</i>
11:15–11:30	❖ Genome-wide analysis of DNA methylation reveals epigenetic differences between cutaneous melanoma and melanocytic nevi <i>Simon Schwendinger (Institut für Humangenetik Innsbruck)</i>
11:45–12:00 Uhr	Abstimmung Vortragspreis
12:00–12:15 Uhr	Tagungsrückblick 2023 <i>Friedel Wenzel, Basel (Schweiz)</i>
12:15–12:30 Uhr	Vorschau auf die nächste Tagung 2024
12:30–12:45 Uhr	Abschlussveranstaltung Verleihung Vortragspreis Danksagung und Verabschiedung

Dr. Wanda Maria Gerding (geb. Blaszczyk)

Beruflicher Werdegang

Heute: Wissenschaftlicher Mitarbeiterin in der Abteilung Humangenetik der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum

10/2015 - 12/2017: Leitung des Bereiches Zytogenetik in der Abteilung Humangenetik der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum

01/208 - 09/2015: Arbeitsgruppenleiterin in der Abteilung Humangenetik der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum

Akademische Laufbahn

2017: Registriert als „European Clinical Laboratory Geneticist“ durch das European Board of Medical Genetics, Rezertifizierung in 05/2022 für weitere 5 Jahre.

2008-2015: 5-jährige Ausbildung in Molekular- sowie Zytogenetik in der Abteilung Humangenetik der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum mit Abschluss „Fachhumangenetikerin (gfh)“

2003-2007: Promotionsstudium und Stipendium der International Graduate School of Neuroscience (IGSN) der Ruhr-Universität Bochum

1997-2003: Biologiestudium an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster und Ruhr-Universität Bochum



Der Lore Zech-Preis wird verliehen für die Arbeit

Optical genome mapping reveals additional prognostic information compared to conventional cytogenetics in AML/MDS patients

Gerding WM, Tembrink M, Nilius-Eliwi V, Mika T, Dimopoulos F, Ladigan-Badura S, Eckhardt M, Pohl M, Wünnenberg M, Farshi P, Reimer P, Schroers R, Nguyen HP, Vangala DB.

Email: wanda.gerding@rub.de

Cytogenetic diagnostics play a crucial role in risk stratification and classification of myeloid malignancies such as acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS), thus influencing treatment decisions. Optical genome mapping (OGM) is a novel whole genome method for the detection of cytogenetic abnormalities. Our study assessed the applicability and practicality of OGM as diagnostic tool in AML and MDS patients. In total, 27 patients with AML or MDS underwent routine diagnostics including classical karyotyping and fluorescence in situ hybridization (FISH) or real-time PCR analysis wherever indicated as well as OGM following a recently established workflow. Methods were compared regarding concordance and content of information. In 93%, OGM was concordant to classical karyotyping and a total of 61 additional variants in a predefined myeloid gene-set could be detected. In 67% of samples the karyotype could be redefined by OGM. OGM offers a whole genome approach to cytogenetic diagnostics in AML and MDS with a high concordance to classical cytogenetics. The method has the potential to enter routine diagnostics as a gold standard for cytogenetic diagnostics widely superseding FISH. Furthermore, OGM can serve as a tool to identify genetic regions of interest and future research regarding tumor biology.

Legende: ❖ = Vortragende(r) bewirbt sich für den TGA-Vortragspreis

❖ Myeloische Neoplasien mit MYC-positiven Double Minutes – eine spezifische Subgruppe?

Clara Lettl

Email: clara.lettl@mll.com

MLL Münchner Leukämielabor GmbH

Co-Autor/en: Isolde Summerer, Wencke Walter, Manja Meggendorfer, Torsten Haferlach, Stephan Hutter, Niroshan Nadarajah, Constance Baer, Anna Stengel, Wolfgang Kern, Claudia Haferlach

Double Minutes (dmin) sind kleine azentrische chromosomale Strukturen, die ein seltenes Phänomen bei hämatologischen Neoplasien darstellen und meist mit der Diagnose einer akuten myeloischen Leukämie (AML) assoziiert sind. In der Regel gehen dmin mit der Amplifikation eines Onkogens, z.B. MYC, einher. Aufgrund ihrer geringen Größe sind dmin in der Chromosomenbänderungsanalyse (CBA) z.T. schwer zu detektieren. Um die entsprechende Genamplifikation zu identifizieren können neben anderen Methoden FISH-Analysen hilfreich sein. Einzelne Fallbeispiele deuten auf eine Assoziation von MYC-positiven dmin mit einer der akuten Promyelozytenleukämie (APL) ähnlichen Zytomorphologie hin. Deshalb wurden in der vorliegenden Studie 68 Patienten mit myeloischer Neoplasie und MYC-positiven dmin hinsichtlich Zytogenetik, Zytomorphologie, Genexpression und Genmutationen analysiert. Ein großer Anteil der Patienten mit MYC-positiven dmin zeigte die für eine APL typischen Auerstäbchen (35% der Patienten), sowie einen Anteil von >75 % Myeloperoxidase positiver Zellen der myeloischen Reihe (85% der Patienten). Während in 28% der Fälle MYC-positive dmin als alleinige chromosomale Aberration vorlagen, wiesen 31% der untersuchten Patienten einen komplex aberranten Chromosomensatz auf. Bei 97% der Patienten lag eine Mutation in mindestens einem der Gene TET2 (71%), TP53 (33%), U2AF1 (25%) und NRAS (18%) vor, wohingegen AML-typische Mutationen in Genen wie CEBPA, NPM1 oder FLT3 nicht detektiert wurden. Myeloische Neoplasien mit MYC-positiven dmin stellen möglicherweise eine spezifische Subgruppe mit zytomorphologischer Ähnlichkeit zur APL dar. Bei Patienten mit Verdacht auf APL können - nach Ausschluss einer PML::RARA-Fusion oder anderer RARA-Fusionen - FISH und CBA zur Detektion MYC-positiver dmin hilfreich sein, um diesen seltenen Subtyp myeloischer Neoplasien zu identifizieren.

Fälle mit initialen und neu erworbenen TP53-Mutationen bei myelodysplastischen Syndromen mit 5q-Deletion

Christina Ganster

Email: christina.ganster@med.uni-goettingen.de

Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie, INDIGHO-Labor, Universitätsmedizin Göttingen

Co-Autor/en: Lea Naomi Eder, Katharina Rittscher, Elzbieta Brzuszkiewicz, Friederike Braulke, Paolo Mazzeo, Katayoon Shirneshan, Detlef Haase

Die 5q-Deletion (5q-) ist die häufigste zytogenetische Aberration bei myelodysplastischen Syndromen (MDS) und unter bestimmten Bedingungen prognostisch günstig. Begleitende TP53-Mutationen können das Outcome im natürlichen Erkrankungsverlauf und unter Lenalidomid-Therapie verschlechtern. Zwischen 2019 und 2022 haben wir in unserem Labor 230 MDS-Patienten untersucht, bei denen sowohl der Karyotyp mittels Bänderungsanalyse ermittelt wurde als auch Mutationsanalysen mittels NGS durchgeführt wurden. Klone mit einer 5q- als alleiniger Aberration wurden bei 22 Patienten nachgewiesen, von denen bei fünf eine Lenalidomid-Therapie (LEN) dokumentiert wurde. Zum Zeitpunkt der Diagnose wurde bei 13/22 Patienten ein TP53-Wildtyp festgestellt, 9 zeigten eine TP53-Mutation (VAF 2%-50%, Median 21%). Bei zwei Wildtyp-Patienten konnten wir im Krankheitsverlauf neu aufgetretene TP53-Mutationen nachweisen. Ein Patient zeigte zwei neue TP53-Mutationen 45 Monate nach Beginn der Behandlung mit LEN, bei dem anderen Patienten trat eine neue TP53-Mutation 55 Monate nach Beginn der LEN-Therapie auf. Beide Patienten waren 7 und 49 Monate nach erstmaligem Nachweis der TP53-Mutationen klinisch und zytogenetisch weiterhin stabil. Bei den initial TP53-mutierten Fällen beobachteten wir zum Zeitpunkt der Diagnose die folgenden zusätzlichen Mutationen: DNMT3A (2), TET2 (3), ASXL1, IDH2, JAK2, SF3B1, SRSF2 (jeweils ein Patient). Die Anzahl der zusätzlichen Mutationen lag zwischen 0 und 3 (Median: 1). Bei einem dritten Patienten folgte auf eine bereits vor Beginn der Therapie mit LEN nachweisbare TP53-Mutation 25 Monate nach Therapiebeginn eine zweite TP53-Mutation (Multihit-Status), rasch gefolgt von einem komplex aberranten Karyotyp und Progression in eine AML mit initial gutem Ansprechen auf eine Therapie mit Azacitidin. Zu einem Rezidiv kam es 18 Monate nach erstmaligem Nachweis der zweiten TP53-Mutation. Eine neu auftretende TP53-Mutation unter LEN sollte als Warnsignal betrachtet werden, insbesondere wenn sie von einem komplexen Karyotyp begleitet wird, der in einem unserer Fälle einen raschen Progress der Erkrankung einleitete. Auch wenn der Zeitraum zwischen der ersten TP53-Mutation und der Manifestation eines komplex aberranten Karyotyps variabel ist und sogar mehrere Jahre andauern kann, sollte eine regelmäßige zytogenetische und molekulargenetische Nachsorge von Patienten mit 5q- erfolgen, um einen Progress-initiierten TP53-Multi-Hit-Status frühzeitig zu detektieren.

What is dic(9;20) ALL? The problem of accepting it as a distinct entity.

Karin Nebral^{1,2}

Email: karin.nebral@labdia.at

Co-Autor/en: Dagmar Schinnerl², Andrea Inthal^{1,2}, Sabrina Haslinger^{1,2}, Margit König^{1,2}, Marion Riebler², Oskar A. Haas³, Sabine Strehl²

¹ Labdia Labordiagnostik GmbH, Vienna, Austria;

² St. Anna Children's Cancer Research Institute (CCRI), Vienna, Austria;

³ St. Anna Children's Hospital, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is a genetically diverse disease, whose subgroups are defined by gene fusions, ploidy changes, copy number alterations (CNAs) and sequence mutations. In addition, several subgroups are specified and recognizable by their distinct gene expression signatures.

The presence of a dic(9;20) chromosome has been observed in about 2% of childhood B-ALL. It is a cytogenetically defined disease entity, but lacks a molecular genetic lesion that may be considered as common denominator. In general, a dic(9;20) is associated with loss of genetic material (9p, 20q), homozygous deletions of CDKN2A (9p21) and various aberrations of PAX5 (9p13).

We analyzed 30 pediatric dic(9;20) B-ALL cases by SNP array, fluorescence in situ hybridization (FISH), and 21/30 by whole transcriptome sequencing (RNA-seq). The patients showed heterogeneous breakpoints at 9p and 20q, as already described, however, all but one showed PAX5 heterozygous and CDKN2A homozygous deletions. Mutation analysis of PAX5 revealed a PAX5 P80R in 16.7% (5/30) and other PAX5 single nucleotide variants (SNVs) in 20% (5/25). In 10.0% (3/30) and 16.7% (5/30) of the cases PAX5::NOL4L and P2RY8::CRLF2 gene fusions, respectively, were detected. Two of the five P2RY8::CRLF2 positive patients showed additional fusions either PAX5::NOL4L or PAX5::ZCCHC7. One exceptional case presented with complex chromothripsis-like CNAs of chromosome 7 associated with a PDAP1::WIPI2 fusion. The most frequent additional chromosomal changes were trisomy 21 and a gain of chromosome X. Remarkably, 30% (9/30) of the patients showed an IKZF1plus deletion pattern, which is much higher than observed in B-ALL in general.

Furthermore, RNA-seq analysis used for gene expression profiling and mutation calling in hotspot genes, revealed a high percentage (52%; 11/21) of RAS-pathway mutations (KRAS, NRAS, PTPN11), one JAK2 and two SH2B3 SNVs. However, apart from PAX5 P80R, using the classifiers ALLSorts, ALLSpice and ALLCatchR, most cases could not be classified into a specific subtype by their gene expression profile.

Our comprehensive analysis uncovered a substantial genetic heterogeneity in dic(9;20) leukemia. In fact, dic(9;20) B-ALL can be subgrouped into several subtypes, including PAX5 P80R, PAX5-rearranged/altered, P2RY8::CRLF2 or BCR::ABL1-like. Hence, classifying dic(9;20) leukemia merely by cytogenetics fails to determine the actual disease entity and may confound outcome analysis.

Recurrent DNMT3B gene rearrangements are associated with unfavorable outcome in dicentric (9;20)-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

Zeljko Antic

Email: antic.zeljko@mh-hannover.de

Department of Human Genetics, Hannover Medical School (MHH)

Co-Autor/en: Alena van Bömmel, Konstantin Riege, Jana Lentes, Charlotte Schröder, Julia Alten, Cornelia Eckert, Lara Fuhrmann, Doris Steinemann, Martin Zimmermann, Martin Schrappe, Brigitte Schlegelberger, Gunnar Cario, Steve Hoffmann and Anke K. Bergmann

The dicentric chromosome dic(9;20)(p11~13;q11), occurs in 2% of the cases with pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). However, prognostic significance of the dic(9;20) alterations, as well as the mechanism in which these alterations drive leukemogenesis remains elusive. The aim of this study was to investigate the demographic, clinical, prognostic and molecular characteristics of the dic(9;20)-positive ALL in the cohort of 57 pediatric B-ALL patients. Targeted RNA-seq and ArrayCGH analysis unraveled heterogeneous breakpoints on the chromosomes 9 and 20, as well as frequent deletions of the IKZF1 gene. Together with the intrinsic susceptibility towards deletions of the CDKN2A/B and PAX5 genes in the dic(9;20)-positive ALL, these patients are eligible for treatment escalation. Survival analysis revealed poor outcome in dic(9;20)-positive ALL cases, compared to ALL subtypes with favorable prognosis in modern treatment protocols. Furthermore, we identified a subset of dic(9;20)-positive cases and rearrangements involving DNMT3B gene, who have abysmal outcome compared to dic(9;20)-positive cases without these rearrangements (5-year EFS of 25% (SE=20.4) VS 75.4% (SE=8.2)). Since the DNMT3B gene functions as a de novo methyltransferase, we examined whether genomic rearrangements in these cases can lead to global changes in methylation, but we did not observe either global hypermethylation, or global hypomethylation in the DNMT3B-rearranged cases who experienced relapse compared to the ones who did not, as well as other B-ALL genetic subtypes. Interestingly, in all cases that relapsed, breakpoints in the DNMT3B gene clustered in introns 6 and 7, indicating presence of a distinct mechanism leading to treatment failure in these cases. Differential gene expression analysis of DNMT3B-rearranged ALL unraveled a dysregulation of genes involved in hematopoiesis, lymphocyte maturation and AKT/PI3K signaling pathway in the cases that experienced relapse, suggesting that rearrangements involving introns 6 and 7 of the DNMT3B may cause distinct transcriptional perturbations that lead to relapse development. Overall, we describe a novel group of dic(9;20) B-ALL cases with rearrangements involving DNMT3B gene and unfavourable prognosis compared to other cases with dic(9;20). Once confirmed in an independent cohort, dic(9;20)-positive cases with rearrangements involving DNMT3B gene should be considered high-risk for relapse and treated accordingly.

Die Detektion von Deletionen im IKZF1-Gen in der ALL Diagnostik mittels FISH

Katharina Schulz

Email: kschulz@tumorgenetik-nord.de

Institut für Tumorgenetik Nord

Co-Autor/en: /

Patienten/innen mit ALL werden nach den WHO Richtlinien 2022 anhand definierender genetischer Veränderungen eingestuft. Während fast alle Fusionstranskripte problemlos über die von der GMALL-Studie empfohlene Transkriptomsequenzierung erkannt werden können, sind die Deletionen und Duplikationen im Rahmen eines komplex aberranten Klons schwierig zu erfassen. Aufgrund der bei ALL häufig fehlenden Zellproliferation ist die FISH-Diagnostik im Gegensatz zur Zytogenetik eine geeignete Referenzmethode, um das Vorliegen genetischer und zum Teil komplexer Veränderungen zu identifizieren. Deletionen im Bereich des IKZF1-Gens stellen, insbesondere bei Ph+ ALL, eine häufige zusätzliche Veränderung dar. Sie können aber auch im Rahmen komplexer Klone auftreten und werden zunehmend als ein unabhängig prognostischer Parameter betrachtet. Die Größe der Deletion im Bereich des IKZF1-Gens kann jedoch variieren und ist aufgrund der in einigen Fällen sehr geringen Größe der Deletion zytogenetisch meist nicht zu erfassen. Aktuell stehen zwei kommerzielle FISH-Assays der Firmen Abnova und MetaSystems zum Nachweis von IKZF1-Aberrationen zur Verfügung. Aufgrund der Heterogenität der Deletionen und des unterschiedlichen Designs der Sonden können sehr kleine Deletionen des IKZF1-Gens zum Teil nur mit der MetaSystems-Sonde erfasst werden.

❖ Fallbeispiel: Junge Patientin mit gleichzeitigem Vorliegen einer CML und einer high count MBL mit CLL Phänotyp und TCR Rearrangement

Anna Kossek¹

Email: anna.kossek@medicover.com

Co-Autor/en: Tanja Hinrichsen¹, Burkhard Schmidt²

¹ MVZ Martinsried GmbH

² Hämato Onkologische Überörtliche Gemeinschaftspraxis Pasing und Fürstenfeldbruck

Während eine MBL durch eine monoklonale B Zell Lymphozytose gekennzeichnet ist und meist einer CLL vorausgeht, findet sich bei der CML eine neutrophile Granulozytose mit Linksverschiebung. Das simultane Vorliegen einer CML und einer MBL bzw. einer CLL ist nur in wenigen Dutzend Fällen beschrieben wobei die Entwicklung einer MBL oder CLL auf eine CML sehr selten ist.

Im Juni 2021 wurde bei einer 45 jährigen Patientin eine CML mit Nachweis des Philadelphia Chromosoms sowie BCR: ABL1 Transkripten vom Typ e13a2 diagnostiziert. Unter Therapie mit Imatinib konnte nach 15 Monaten keine MR3 erreicht werden und es erfolgte eine Umstellung auf Dasatinib Hierunter wurde eine MR3 18 Monate nach Diagnose erreicht. Im Verlauf der CML zeigte sich zudem eine zunehmende Lymphozytose. In der Immunphänotypisierung fand sich eine high count MBL mit CLL Phänotyp Zytogenetisch konnte zu diesem Zeitpunkt der folgende Karyotyp in einem kleinen Zellklon nachgewiesen werden: 46,XX, t(10;14) (q24;q11.2), der(12)t(12;12) (p13;q13). Eine FISH Analyse konnte einen Zugewinn von 12q15 (und eine Involvierung von 14q11.2 (TRA/ bestätigen. Molekulargenetisch fand sich eine Variante in NOTCH1 so wie ein unmutierter IGHV Status. Die Translokation t(10;14)(q24;q11.2) unter Involvierung von TCR alpha/delta findet sich in 5 10% der Fälle mit T ALL und wurde bisher in einem Fall mit CD5+ reifzelliger B Zell Neoplasie beschrieben Der gleiche Fall trägt zudem eine Trisomie 12, die bei der unserer Patientin als verändertes Chromosom 12 mit Zugewinn von Chromosom 12q vorliegt. Generell finden sich Zugewinne von Chromosom 12 bzw. eine Trisomie 12 in 15 20% der CLL/SLL Patienten, können aber auch bereits zum Zeitpunkt der MBL vorliegen. Auch Varianten in NOTCH1 wurden initial bei T ALL beschrieben, wo sie vor allem die HD Domäne betreffen. Sie werden jedoch auch in 3% der MBL sowie 10 15% der CLL Fälle detektiert und betreffen vor allem die C terminale PEST Domäne, wie auch die bei unserer Patientin gefundene Variante

Zusammenfassend können bei unserer Patientin zwei sehr seltene Vorkommnisse detektiert werden: 1. Das gleichzeitige Vorliegen einer CML und einer high count MBL mit CLL Phänotyp mit vermutlich mittelfristigem Übergang in eine CLL; 2. Vorliegen einer T ALL typischen Translokation mit TCR Rearrangement in den Zellen der high count MBL mit CLL Phänotyp Aufgrund des guten Ansprechens der CML auf Dasatinib wird zunächst damit fortgefahren und die MBL beobachtet.

Von einer unklaren zu einer therapeutisch relevanten Diagnose: der Mehrwert von WGS und WTS am Beispiel eines diagnostisch herausfordernden Falls

Bettina Balk

Email: bettina.balk@mll.com

MLL Münchner Leukämielabor GmbH

Co-Autor/en: Marietta Truger, Melanie Zenger, Wencke Walter, Constance Bär, Manja Megendorfer, Wolfgang Kern, Torsten Haferlach, Claudia Haferlach

Whole Genome Sequencing (WGS) und Whole Transkriptome Sequencing (WTS) erweitern die diagnostischen Möglichkeiten der Tumorgenetik und haben zunehmend an Bedeutung gewonnen. Mittels WGS und WTS können im Vergleich zu konventionellen diagnostischen Methoden genomweit sowohl Mutationen, Kopienzahlveränderungen, strukturelle Veränderungen als auch Genexpressionslevel und Fusionstranskripte detektiert werden. Folgendes Fallbeispiel soll demonstrieren, wie mittels der Kombination aus WGS und WTS bei einem Patienten mit diagnostisch und prognostisch unklarer Einordnung wichtige Informationen gewonnen werden konnten. Bei einem 70-jährigen Patienten wurde mittels Immunphänotypisierung eine c-ALL diagnostiziert. Zytogenetisch fand sich ein aberranter Karyotyp

(51,XY,+X,+Y,+der(2)t(2;3)(p21;q26),t(2;3)(p21;q26),+4,+18), der prognostisch schwer einzuordnen war. Einerseits war dieser als hoch hyperdiploid einzuordnen, was grundsätzlich mit einer guten Prognose assoziiert ist, andererseits fand sich auch ein Rearrangement des MECOM-Locus, das typischerweise bei myeloischen Neoplasien auftritt und meist mit einer ungünstigen Prognose einhergeht. Weitere molekulargenetische Aberrationen waren zu diesem Zeitpunkt nicht bekannt. Daraufhin wurde eine WGS und WTS Analyse durchgeführt. Mittels WGS konnte neben einer ASXL1 Mutation und einer IKZF1 Deletion auch ein ETV6::ABL1-Rearrangement nachgewiesen werden, welches mittels WTS und FISH auf aberranten Metaphasen bestätigt wurde. Eine Genexpressionsanalyse zeigte eine erhöhte MECOM Expression und ein Profil, das zu einer hoch hyperdiploiden ALL passt. Retrospektiv wurde zusätzlich Material dieses Patienten untersucht, das zwei Jahre zuvor asserviert wurde, als bei diesem Patienten noch keine Blasten, aber ein hyperzelluläres Knochenmark mit Eosinophilie vorlag. Bereits zu diesem Zeitpunkt lag das ETV6::ABL1-Fusionstranskript, jedoch nicht das MECOM Rearrangement, vor. Zusammenfassend handelt es sich wahrscheinlich um eine myeloische/lymphatische Neoplasie mit Eosinophilie und Tyrosinkinase-Genfusion in Blastenkrise (WHO 2022). Bei frühem Therapiebeginn zeigen Patienten mit ETV6::ABL1-Rearrangement ein gutes Ansprechen auf Tyrosinkinase-Inhibitoren, jedoch ist die Prognose bei akuten Leukämien oder in Blastenphase sehr ungünstig. WGS und WTS können somit bei diagnostisch unklaren Fällen wichtige prognostische und therapeutische Informationen liefern und dadurch die diagnostischen Möglichkeiten der Tumorgenetik ergänzen.

Fallbeispiel: Nachweis einer MSH2-Duplikation in tandem mittels bionano optical mapping bei einem Patienten mit V.a. Lynch-Syndrom

Charlotte Singrün

Email: charlotte.singruen@medicover.com

MVZ Martinsried GmbH

Co-Autor/en: Tanja Hinrichsen

Das Lynch-Syndrom führt zur Ausbildung hauptsächlich gastrointestinaler Tumorerkrankungen, bei Frauen zusätzlich zu Endometrium- und Ovarialkarzinomen, und wird durch inaktivierende Varianten in den DNA-Mismatch-Reparaturgenen MLH1, MSH2, MSH6 und PMS2 verursacht.

Bei einem 46-jährigen, männlichen Ratsuchenden mit mikrosatelliteninstabilem Adenokarzinom des Dünndarms fand sich ein Expressionsverlust von MSH2 und MSH6 im Tumorgewebe. Die Mutter des Ratsuchenden erkrankte mit 66 Jahren an Endometrium- sowie Kolonkarzinom und zeigte ebenfalls einen Expressionsverlust von MSH2 und MSH6 im Tumorgewebe. Die Sequenzanalyse der Gene MSH2 und MSH6 beim Index war unauffällig, jedoch konnte in den NGS-Daten sowie mittels MLPA-Analyse die Duplikation der Exons 9 und 10 des MSH2-Gens nachgewiesen werden. Kartieren die beiden duplizierten Exons im Genom unabhängig vom MSH2-Locus, dann ist die Variante als VUS zu klassifizieren, die Funktion der beiden MSH2-Allele ist vermutlich nicht beeinträchtigt. Liegt die nachgewiesene Duplikation jedoch in tandem vor, kommt es zu einer Leserasterverschiebung und somit zu einem vorzeitigen Stop der Proteinbiosynthese oder zum nonsense-mediated mRNA decay und wahrscheinlich zum Funktionsverlust des betroffenen Allels. Mittels Bionano optical mapping konnte gezeigt werden, dass die duplizierten Exons im MSH2-Gen in tandem im Anschluss an die regulären Exons 9 und 10 liegen.

Zusammenfassend lässt sich der Nachweis der Duplikation in tandem und somit der Verdacht auf eine Anlageträgerschaft für ein Lynch-Syndrom bestätigen und kann als ursächlich für die Krebserkrankung des Index angesehen werden. Neue Techniken wie Bionano optical mapping oder long-read-Sequenziertechnologien können zur besseren Klassifizierung von Varianten und Aufklärung beitragen.

❖ Impact of reference materials for analytical performance evaluation of liquid biopsy NGS assays

Ariane Hallermayr^{1,2}

Email: ariane.hallermayr@mgz-muenchen.de

Co-Autor/en: Thomas Keßler^{1,2}, Ben Liesfeld³, Samuel Bernstein³, Verena Steinke-Lange^{1,2,4}, Teresa M. Neuhann¹, Elke Holinski-Feder^{1,2,4}, Julia MA Pickl^{1,2,4};

¹ MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, Munich, Germany;

² European Liquid Biopsy Society, Hamburg, Germany;

³ Limbus Medical Technologies GmbH, Rostock, Germany;

⁴ Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Campus Innenstadt, Klinikum der Universität München, Munich, Germany

Background: Liquid biopsy (LB) enables the non-invasive analysis of genetic tumor variants in circulating free DNA (cfDNA) in plasma to support personalized treatment. The majority of cancer patients present with actionable tumor variants with variant allele frequencies (VAFs) <1%. Therefore, accurate analytical validation of LB assays at the lower end of the measurement scale is mandatory, especially regarding the In Vitro Diagnostic Regulation (IVDR). Selection of appropriate reference materials is the first and key prerequisite for this purpose. **Objective:** We tested three commercially available reference materials for their suitability to be used for LB NGS assay validation. First, background noise was determined, which is critical for accurate assessment of specificity and sensitivity. Second, the similarity of the reference materials to native cfDNA was evaluated. **Methods:** NA24385-based wild-type (WT) cfDNA reference materials from SensID, Coriell, and SeraCare and 15 patient samples were analyzed using Duplex Sequencing-based LB NGS assay. **Results:** To investigate the background noise of the three different WT reference materials, which are important for the evaluation of specificity, the number of variants <0.1% VAF was determined and compared to patient samples. In both SensID and Coriell materials, <0.1 variants/kb were detected, whereas in SeraCare materials, 16.9 variants/kb were detected. For comparison, <0.1 variants/kb were detected in the 15 patient samples. Accordingly, both the SensID and Coriell materials showed very low background noise at low VAFs, which are in the same range as the signals observed in patient samples and are therefore highly suitable for specificity determination. To test the closeness of agreement with native cfDNA, DNA profiles and library yields of reference materials were compared to patient samples. The SeraCare cfDNA reference material more closely resembled native cfDNA than SensID and Coriell materials, allowing for more accurate development of experimental protocols. **Conclusion:** In summary, careful consideration of commercially available reference materials is required for performance evaluation of LB NGS assays. While reference materials with well-defined variants are preferable for determining specificity, reference materials that closely resemble native cfDNA aid in the development of experimental protocols.

Epigenetically regulated microRNA-449a inhibits triple negative breast cancer by inducing chromosomal instability

Beate Vajen¹

Email: Vajen.Beate@mh-hannover.de

Co-Autor/en: Rahul Bhowmick², Luisa Greiwe¹, Vera Schäffer¹, Marlies Eilers¹, Thea Reinkens¹, Amelie Stalke¹, Gunnar Schmidt¹, Jan Fiedler^{3,4}, Thomas Thum^{3,4,5}, David S. DeLuca⁶, Ian D. Hickson², Brigitte Schlegelberger¹, Thomas Illig¹, Britta Skawran¹

¹ Department of Human Genetics, Hannover Medical School, Hannover, Germany

² Center for Chromosome Stability, Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Copenhagen, Blegdamsvej, Denmark

³ Institute of Molecular and Translational Therapeutic Strategies (IMTTS), Hannover Medical School, Hannover, Germany

⁴ Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine (ITEM), Hannover, Germany

⁵ REBIRTH Center for Translational Regenerative Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany

⁶ German Center for Lung Research (BREATH), Hannover Medical School, Hannover, Germany

Background: Chromosomal instability (CIN) can be a driver of tumorigenesis, but is also a promising therapeutic target for cancer associated with poor prognosis such as triple negative breast cancer (TNBC). Treatment of TNBC cells with defects in DNA repair genes with poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor (PARPi) massively increases CIN, resulting in apoptosis. Here, we identified a previously unknown role of microRNA-449a in CIN.

Methods: Newly identified targets of microRNA miR-449a were identified by microarray analyses followed by RNA-immunoprecipitation and luciferase assays in the TNBC cell lines (HCC38, HCC1395, HCC1937). Meta-analyses on gene expression were performed using published annotated breast cancer transcriptomic data. Proliferation and apoptosis were analyzed after ectopic expression of miR-449a or silencing gene expression by si-RNA. Chromosomal instability was detected by immunofluorescence analyses of ultrafine bridges, 53BP1 nuclear bodies and γH2AX signals.

Results: Here, we identified a previously unknown role of microRNA-449a in CIN. Ectopic expression of miR-449a led to induced apoptosis, reduced cell proliferation, and reduced expression of genes in homology directed repair (HDR) in TNBC cell lines. EME1 was identified as a new target gene by immunoprecipitation and luciferase assays. The reduced expression of EME1 led to an increased frequency of ultrafine bridges, 53BP1 foci, and micronuclei. Induced expression of microRNA-449a elevated CIN beyond tolerable levels and induced apoptosis in TNBC cell lines by two different mechanisms: (I) promoting chromatid mis-segregation by targeting endonuclease EME1 and (II) inhibiting HDR by downregulating key players of the HDR network such as E2F3, BIRC5, BRCA2 and RAD51. Ectopic expression of miR-449a enhanced the toxic effect of PARPi in cells with pathogenic germline BRCA1 variants.

Conclusion: The newly identified role makes microRNA-449a an interesting therapeutic target for TNBC.

Integration von Algorithmen der künstlichen Intelligenz in die Diagnostik der kindlichen akuten lymphatischen Leukämie

Jana Lentes

Email: Lentes.Jana@mh-hannover.de

Institut für Humangenetik, MHH

Co-Autor/en: Michelle Tang, Zeljko Antic, Pedram Fardzadeh, Charlotte Schröder, Adrian Eberhardt, Stefan Pietzsch, Winfried Hofmann, Martin Zimmermann, Gabriele Escherich, Gunnar Cario, Martin Stanulla, Anke Katharina Bergmann

Genetische Veränderungen spielen eine große Rolle in der Risikostratifizierung und bei Therapieentscheidungen im Rahmen der akuten lymphatischen Leukämie. Die meisten diagnostischen Methoden zielen hierbei auf die direkte Untersuchung der genetischen Varianten auf DNA- und RNA- Ebene ab. Die funktionellen Konsequenzen betreffen jedoch nicht nur das von der Veränderung betroffene Protein, sondern zeigen sich in ganzen Kaskaden von Expressionsänderungen im Transkriptom. Der immer häufigere Einsatz von Verfahren der Hochdurchsatzsequenzierung (NGS) auf RNA-Ebene erlaubt u.a. die Analyse der Expressionsmuster von Leukämiezellen. Die bioinformatischen Kenntnisse für die Verarbeitung dieser Daten sind jedoch nicht an allen Standorten vorhanden. Wir haben ein nutzerfreundliches, web-basiertes Tool entwickelt, welches mittels der Integration von Algorithmen der künstlichen Intelligenz die Analyse von Expressionsdaten unabhängig vom Standort erlaubt – „clinALL“. In unserem Institut wurden mit „clinALL“ die Daten der gezielten RNA-Sequenzierung von 1849 Patienten mit pädiatrischer akuter lymphatischer Leukämie vom B-Zell-Typ (B-ALL) analysiert. Die Analyse wird durch Algorithmen des maschinellen Lernens unterstützt, um Patienten in Krankheitssubtypen zu klassifizieren. Patienten mit bekannten genetischen Markern wurden mit hoher Übereinstimmung (876/921) der passenden Subgruppe zugeordnet. Eine ergänzende Analyse der Proben die nicht in den erwarteten Subgruppen dargestellt wurden („Outlier“) ergab in einigen dieser Fälle den rückwirkenden Nachweis eines relevanten und bis dahin unbekanntem genetischen Markers. Außerdem konnten in unserer Kohorte mittels „clinALL“ 80 % der Patienten ohne bisher bekannten genetischen Marker einer Subgruppe zugeordnet werden. „clinALL“ ermöglicht außerdem die Analyse von genetischen Daten in Zusammenschau mit klinischen Informationen wie Therapieansprechen und MRD. In zukünftigen Therapiestudien sind dies wichtige Parameter, anhand derer die Intensität der Therapie für die Patienten individuell angepasst werden kann.

Die Zytogenetik als wichtiges Puzzleteil – eine Sammlung von Fallbeispielen aus dem diagnostischen Alltag

Steffi Hahn

Email: steffi.hahn@diagenom.de

Diagenom GmbH

Co-Autor/en: /

Die zytogenetische Untersuchung (Chromosomenbandenanalyse und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung) gehört zu den etablierten Methoden in der hämato-/ onkologischen Routine-Diagnostik des Blutes bzw. Knochenmarks und bietet sowohl den Vorteil eines chromosomalen Gesamtüberblicks als auch die Möglichkeit einer gezielten Diagnostik. Der Nachweis spezifischer Aberrationen ermöglicht eine diagnose- und prognoseweisende Einordnung der Erkrankung laut gültiger Klassifikationen. Im Rahmen dieses Vortrages werden Beispiele aus dem diagnostischen Alltag vorgestellt, bei denen die Zytogenetik einen entscheidenden Hinweis zur Aufklärung der Fälle lieferte und somit ihren Stellenwert in der Diagnostik hämatologischer Neoplasien unterstreicht: sei es mit einer überraschenden Differentialdiagnose, der molekularzytogenetischen Detektion kleiner Klone nach Anreicherung einzelner Zellpopulationen mittels Magnetaktivierter Zellsortierung oder dem Nachweis mehrerer unabhängiger Zellklone, die auf das Vorliegen einer Zweitneoplasie hinweisen.

❖ Beauty and the Beast: how combing molecular- and cytogenetics can clarify enigmatic findings

Paolo Mazzeo

Email: paolo.mazzeo@med.uni-goettingen.de

UMG Göttingen

Co-Autor/en: Christina Ganster, Katayoon Shirneshan, Katharina Rittscher, Elzbieta Barbara Brzuszkiewicz, Detlef Haase

Acute myeloid leukemia (AML) is a clonal, malignant disease of hematopoietic stem cells characterized by the accumulation of (leukemic) blasts and impaired production of normal blood cells. Translocations involving the KMT2A (MLL) gene, located at 11q23, as well as other recurring translocations are recognized as AML-defining with a significant prognostic impact (WHO 2022). To date, 135 different MLL rearrangements have been identified. Therefore, identifying these KMT2A translocation partners has valuable clinical and diagnostic relevance, particularly for the remission assessment. We here describe a 78-year-old pt diagnosed as secondary AML after CMML with 30% bone marrow (BM) blasts. Banding analysis (CBA) was performed on peripheral blood (PB); FISH (CMML panel) and NGS (customized panel, 49 genes) on immunomagnetically enriched CD34+PBCs. Screening for the most recurrent AML gene fusions was performed on BM blood using a multiplex PCR (Mentype® AMLplexQS). CBA revealed t(8;11)(q24;q23) and del(19)(p13.3) in PBCs and FISH showed a KMT2A split-signal in 62% of CD34+PBCs. NGS was negative and the multiplex PCR showed a peak (146bp) that could not be assigned to any of the most common AML fusions. Sequencing cDNA showed that the last 30bp of exon 9–KMT2A and exon 2/3-ELL (located at 19p13) (PMID: 19262598) were involved in the rearrangement. The KMT2A::ELL fusion is covered by AMLplexQS but not the rare translocation detected in this patient. The KMT2A::ELL FISH probe (MetaSystems) also could not detect this rare fusion signal. Recently, in a cohort of 872 AML pts, a translocation involving exon 9 of KMT2A has been described in only 4 pts. Notably, none of those had ELL as a fusion partner. Despite the treatment with demethylating agents and BH3 mimetic, pt has never reached cytogenetic remission. Ultimately, pt died 15 months after sAML diagnosis because of generally poor clinical conditions. These findings suggest that (1) cyto- as well as molecular-genetics play a pivotal role in hematologic diagnostics. Indeed, in our case, despite the unclear PCR result it was still possible to detect a crucial chromosomal aberration. (2) Additional methods should be widely established in the routine diagnostic (e.g long-distance inverse PCR and RNA sequencing) to identify a larger proportion of recombination events. (3) Functional studies are required to investigate the mechanisms involved in the leukemogenic activity for developing new therapeutic strategies

❖ Genotyp-Phänotyp-Assoziation bei Personen mit Keimbahnveränderungen in TP53

Johannes Wagner

Email: j.wagner@humangenetik-berlin.de

Co-Autor/en: Dirk Korinth¹, Frank Lüthen², Eun-Kyung Suk¹

¹ Praxis für Humangenetik, Berlin

² Diagenom GmbH, Rostock

Seit der Erstbeschreibung des Li-Fraumeni-Syndroms vor über 50 Jahren und der Identifikation von Keimbahnveränderungen im TP53-Gen als dessen Ursache circa 20 Jahre später hat sich, insbesondere mit Etablierung des Next-Generation Sequencing und dessen breiter Anwendung bei Personen mit Verdacht auf ein familiäres Tumorsyndrom, die Wahrnehmung des assoziierten Phänotyps stark gewandelt. In vielen Fällen lässt sich eine Eigen- und Familienanamnese erheben, die außerhalb der klassischen klinischen Kriterien für eine Diagnosestellung liegt. Als eine mögliche Erklärung wird wiederkehrend eine Assoziation zur zugrundeliegenden Mutationsart diskutiert.

Wir berichten von einer Familie, in der die brasilianische Founder-Mutation Arg337His im TP53-Gen nachgewiesen wurde. Aufgrund der populationsspezifischen Häufigkeit und variabler Krankheitsmanifestation unterstreicht diese Variante beispielhaft die Schwierigkeit für valide Früherkennungsempfehlungen in den betroffenen Familien.

Sclerosing epitheloid fibrosarcoma in a patient harboring multiple germline variants in tumor predisposition genes

Jutta Bradtke

Email: Jutta.Bradtke@uk-gm.de

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg

Co-Autor/en: Mottok, A., Lüdecke, G., Bräuninger, A., Gattenlöhner, S.

Sclerosing epitheloid fibrosarcoma (SEF) is a rare variant of fibrosarcoma, arising in the deep soft tissue of the lower extremities and the abdomen/retroperitoneum. SEF frequently involves visceral organs and typically affects adults with a median age of 45 years. It is characterized by a more aggressive clinical course compared to low grade fibromyxoid sarcoma evidenced by higher local recurrence and metastatic rates. SEF commonly metastasizes to the lung and bones. Since its first description in 1995 molecular studies have identified recurrent genetic alterations with EWSR1::CREB3L1 fusions representing the most common molecular aberration. Here, we report on a 31-year old male patient with a 6 month history of pelvic/renal pain and suspicion of nephrolithiasis. Imaging revealed a kidney tumor, measuring up to 4.9 cm and a biopsy was performed subsequently. Histologically the tumor was composed of middle-sized, spindle-shaped cells with a relatively low proliferation index. Differential diagnoses of carcinoma, malignant melanoma and lymphoma were excluded based on immunohistochemical workup. As the patient presented with bone and lung lesions, further molecular studies were performed and EWSR1 exon 8 :: CREB3L1 exon 6 fusion transcripts were detected, rendering the final diagnosis of SEF. The patient underwent nephrectomy and lung segment excision, the latter confirming metastasis of SEF with the identical gene fusion. Extended molecular analysis of the tumor using the Illumina TSO500-panel revealed pathogenic mutations in BRCA2 and APC. The tumor mutational burden was low (<10). Further analysis did not show any evidence of HRD. Variant allele frequencies of BRCA2 and APC were suspicious of germline variants, leading to further follow up. Germline origin was confirmed and in addition revealed the typical CHEK2 founder mutation c.1100del. In summary, this case highlights the relevance of thorough molecular and genetic analyses for the correct classification and prognostication of malignancies and the identification of potential therapeutic targets. It also emphasizes the necessity of interdisciplinary cooperation to optimize patient care and counselling

Capture RNA-seq as supplement to DNA germline testing to increase diagnostic yield

Florentine Scharf¹

Email: Jutta.Bradtke@uk-gm.de

MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, Munich, Germany

Co-Autor/en: Martin Wendlandt¹, Taisya Volodina, Thomas Keßler¹, Sabrina Angerbauer¹, Verena Steinke-Lange^{1,2}, Elen Samadashvili¹, Andreas Laner¹, Tobias Wohlfrom¹, Elke Holinski-Feder^{1,2}, Julia MA Pickl^{1,2}

¹ MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, Munich, Germany;

² Medizinische Klinik und Poliklinik IV, Campus Innenstadt, Klinikum der Universität München, Munich, Germany

Introduction: Hereditary tumor syndromes are responsible for 5-10% of cancers. Accurate identification of causal genetic variants in affected patients is highly important in patient management. The diagnostic rate of whole-exome sequencing (WES), which is the current state-of-the-art molecular diagnostics approach, is between 30-50% across studies. Whole-genome sequencing (WGS) is estimated to increase the diagnostic rate by 5%. To further uplift diagnostic rates, high-throughput functional studies like RNA-seq are highly desired that reclassify variants of uncertain significance (VUS). **Methods:** We developed a cost-efficient high-throughput capture RNA-seq approach for the analysis of RNA phenotypes in 49 cancer-associated genes from PAXgene RNA samples. **Results:** We achieved ultra-high coverage sequencing data with of ~20,000 mean target coverage and on average 88% of exons covered with >50 read depth. As proof-of principle, we could verify aberrant phenotypes in 81% (26/32) of tumor syndrome patients with known pathogenic variants, as we could successfully identify aberrant splicing and allelic loss. Further, we were able to reclassify 16% (5/31) VUS cases as pathogenic. **Conclusion:** Our workflow provides high quality RNA-Seq data, which allow the assessment of splicing events and allelic imbalance, and can be automated for high sample throughput. This work represents the basis for future implementation of targeted RNA-Seq in cancer diagnostics.

Glioblastoma tissue vs glioblastoma stem-like cells: comparison of genetic, biophysical and bioinformatical properties

Vivian-Pascal Brandt

Email: vivian.brandt@medizin.uni-leipzig.de

Universität Leipzig - Sächsischer Inkubator für Klinische Translation (SIKT)

Co-Autor/en: Heidrun Holland, Emily Streubel, Stefan Hoehme, Caroline Sander, Ulf Nestler

Glioblastoma (GB) is defined as a high grade glioma with an astrocytic differentiation, according to the classification of WHO in 2016. Currently, Glioblastoma stem-like cells (GSCs) are discussed to be responsible for tumour initiation, maintenance and recurrence as well as cancer therapy resistance. Investigations on glioblastoma and / or GSCs concerning comparative genetic analyses and computational model-based studies are still limited. Therefore, we performed comparative investigations for genetic differences as well as biophysical properties of GSCs vs GB tissue. These investigations were complemented by subsequent bioinformatical spatio-temporal modeling to enlarge our knowledge about the slightly different properties of GSC vs GB tissue. Primary tumor tissue were recovered by surgery and GSCs were obtained by cultivation in serum-free media. Applying immunofluorescent markers Nestin and SOX2, the stem cell characteristics of GSCs were confirmed. Genome wide high resolution SNP array (Affymetrix CytoScan 750 Array) and subtelomere FISH were performed to compare minor genetic differences of GSCs vs GB tissue. Furthermore, the different viscoelastic properties were investigated and Live-Cell Imaging for 72 hours were carried out for the identification of different growth behaviour. Additionally, bioinformatical spatio-temporal modeling were performed. Applying SNP array analyses, we identified previously described genetic alterations for GB, e.g. gain of 7p22.3-q34, gain of 7q36.1-q36.6, and loss of 10p15.3-q26.3. SNP array and subtelomere FISH analyses revealed losses of chromosome 3, 4, and 6 in GSCs, but were not detected in primary GB tissue. Measurements of viscoelastic properties as well as Live-Cell Imaging revealed the differences between GSCs vs GB tissue. Additionally performed bioinformatical spatio-temporal modeling using TiSim software reproduced the qualitative behaviour well for cell-cell adhesion and cell motility and provided further indications for differences between GSCs vs GB tissue. Our results could improve the understanding of molecular and biophysical processes. Further comparative investigations of genetic analyses and biomechanical processes of GB tissue vs GSCs could be a further step for increasing the knowledge of tumor progression.

❖ Genome-wide analysis of DNA methylation reveals epigenetic differences between cutaneous melanoma and melanocytic nevi

Simon Schwendinger

Email: simon.schwendinger@i-med.ac.at

Institut für Humangenetik, Medizinische Universität Innsbruck

Co-Autor/en: Wolfram Jaschke, Van Anh Ngyuen, Jürgen Hench, Johannes Zschocke, Matthias Schmuth, Emina Jukic

Introduction: Cutaneous melanoma (CM) is a malignant neoplasm of the skin characterized by a high burden of somatically acquired mutations and heavily distorted genome structures. Aberrant DNA methylation was previously described as an important contributor to tumorigenesis and disease progression in CM. The presented work focuses on the genetic and epigenetic characterization of CM samples using next generation sequencing (NGS) and microarray-based methylome analysis. **Materials and Methods:** Macrodissected FFPE samples of CM samples and melanocytic nevi (MN) specimen were investigated by NGS with a custom hybridization-capture based sequencing approach targeting approximately 150 genes recurrently altered in various malignant neoplasms. CM, MN and control skin samples were analyzed using a genome-wide DNA methylation array. Methylome analysis was performed by dimensional reduction of the methylation data using Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP). In a subsequent analysis, differential methylation between CM and MN was exploited in detail. **Results:** Genetic analysis of CM revealed the previously described subtypes of the disease harboring genetic alterations in one of the MAPK pathway associated genes BRAF, NRAS and NF1 or a triple-wildtype (TWT) status. MAPK-altered neoplasms presented a genomic structure different from TWT cases. DNA methylome analysis by UMAP revealed a clear segregation of CM samples from MN and control skin. One sample presented a completely different methylome pattern as well as a distinct genetic profile. In-depth analysis of differential methylation between CM and MN revealed big differences between the two entities affecting the gene regulation in general rather than specific oncogenic drivers. **Conclusions:** The presented work reveals comprehensive DNA methylation differences between CM and MN. It shows that whole-genome methylation analysis is able to robustly distinguish the two entities and may be a promising tool for the diagnostic workup of melanocytic skin lesions in the future.





Ostseesaal 1



Radisson Blu Hotel Rostock

Wir freuen uns auf die 36. Tumorgenetische Arbeitstagung 2024!