

TGA 2022 • Tumorgenetische Arbeitstagung

Akademie Humangenetik

Eine Einrichtung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik e.V.

Programm













34. Tumorgenetische Arbeitstagung 2022
12. - 14.5.2022, Barsinghausen bei Hannover

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 GmbH & Co. KG	1.800,00	Messestand
	ADS Biotec Ltd.	2.800,00	Unternehmens-Kurzpräsentation, Messestand
	AHF analysentechnik AG	1.800,00	Messestand
	GEPADO GmbH	1.800,00	Messestand
	Jazz Pharmaceuticals Germany GmbH	4.500,00	Industrie-Symposium, Stand auf der Tagung
	MetaSystems Probes GmbH	1.800,00	Messestand
	Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG	1.800,00	Messestand
	Mission Bio	2.800,00	Unternehmens-Kurzpräsentation, Messestand
	Stemcell Technologies	1.050,00	Kleiner Messestand
	ZYTOMED Systems GmbH	1.800,00	Messestand

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

wir freuen uns sehr, Sie herzlich auf unserer 34. Tumorgenetischen Arbeitstagung begrüßen zu dürfen. Natürlich freuen wir uns, dass die Corona-Lage es zu diesem Termin ermöglicht hat, die Veranstaltung im geplanten Umfang stattfinden zu lassen.

Unser Veranstaltungsort Barsinghausen gehört zur Region Hannover und liegt im geschichtsträchtigen Calenberger Land südwestlich der Landeshauptstadt am Fuße des Deisters. Sehenswert ist neben dem Kloster Barsinghausen und der Klosterkirche auch das Besucherbergwerk „Zechenpark“. Barsinghausen ist aber nicht nur für die idyllischen Höhenzüge unseres Hausgebirges mit seinen grandiosen Ausblicken bekannt, auch die Fußballwelt richtet ihr Augenmerk regelmäßig auf das Deisterstädtchen: Die deutsche Nationalmannschaft veranstaltet jährlich Trainingsworkshops im Sporthotel Fuchsbachtal, in welchem unsere nächste Tagung stattfinden wird.

Wir freuen uns auf ein spannendes Programm mit wissenschaftlichen Vorträgen, einem Industriesymposium mit Industrieausstellung sowie einem MTA-Workshop. Und vor allem darauf, gemeinsam mit Ihnen die aktuellsten Erkenntnisse aus Wissenschaft und Diagnostik zu vertiefen.

Ihre Gudrun Göhring

Tagungsleitung

Prof. Dr. med. Gudrun Göhring
Institut für Humangenetik der MHH
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover

Tagungsort

Sporthotel Fuchsbachtal
Bergstraße 54
30890 Barsinghausen

Tagungsausrichter

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

Informationen

www.tumorgenetische-arbeitstagung.de

Programmablauf

Änderungen vorbehalten

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

**Donnerstag
12.05.2022**

Raum: Niedersachsen

14:30 – 15:00	Begrüßung (Gudrun Göhring, Hannover)
15:00 – 15:30	ADS Biotec
15:30 – 16:00	Mission Bio
16:00 – 17:00	Kaffeepause in der Industrieausstellung
	Qualitätssicherung
	Vorsitz: Harald Rieder, Düsseldorf
17:00 – 17:45	<ul style="list-style-type: none"> • Ergebnisse der Ringversuche Tumorzytogenetik (Harald Rieder, Düsseldorf) • Ergebnisse der Ringversuche FISH-Analyse (Claudia Haferlach, München)
17:45 – 18:00	Das Tagungschromosom 5 (Sönke Arps, Hamburg)
18:00 – 18:30	Das große Barsinghausen Quiz der Tumorgenetik (Oskar A. Haas)
18:45	Fototermin für Gruppenfoto
19:00	Abendessen im Sporthotel Fuchsbachtal Barsinghausen

**Freitag
13.05.2022**

Raum: Niedersachsen

08:45 – 09:45	Jazz Pharmaceuticals Symposion "Neue Methoden der AML-Diagnostik"
08:45	Einführung in die Diagnostik der AML-MRC Gudrun Göhring, Hannover
08:50	Whole Genome Sequencing im Rahmen der AML-Diagnostik Gudrun Göhring, Hannover
09:00	Oxford Nanopore (ONT) - erste Ergebnisse Michael Heuser, Hannover

09:10	FISH-Sonden-Panel zur schnellen Diagnostik der AML-MRC Detlef Haase, Göttingen
09:20	Diskussion Moderation: Gudrun Göhring
09:45–10:15	Kaffeepause in der Industrieausstellung
10:15– 11:45	1. Session Hämatologische Neoplasien (Vorsitz: Lana Harder) <ul style="list-style-type: none"> • ❖ Jonathan Lühmann: IKZF1plus under investigation: Optical Genome Mapping to detect additional alterations • Anna Riedel: MNX1 activating enhancer hijacking events in acute myeloid leukemia • ❖ Hannah Casper: Klonale Evolution der AML unter CPX351 Therapie - Eine unizentrisch retrospektive Datenanalyse • ❖ Paolo Mazzeo: Klonale Evolution bei Niedrigrisiko-MDS
11:45– 12:15	Vergabe des Lore-Zech-Preises 2022 Laudatio und Vortrag des Preisträgers / der Preisträgerin
12:15– 13:15	Mittagspause in der Industrieausstellung
13:15– 14:30	MTA-Workshop // parallel Sitzung der TGA-Programmkommission
14:30– 15:15	2. Session Neue Methoden in der Tumorgenetik (Vorsitz: Detlef Haase) <ul style="list-style-type: none"> • ❖ Ariane Hallermayr: Liquid biopsy in cancer diagnosis and treatment from SNV/CNV analysis • Tanja Hinrichsen: Hereditäre alpha-Tryptasämie (HaT): Messung von TPSAB1-Kopienzahlveränderungen mittels ddPCR • Martin Wendlandt: Development of a targeted Short-read RNA sequencing workflow to extend genomic cancer diagnostics
15:15– 15:45	Kaffeepause in der Industrieausstellung
15:45– 16:45	Talkshow: „Aus dem Nähkästchen geplaudert“ Moderation: Alisa Förster und Yvonne Behrens Gäste: Prof.in Christa Fonatsch und Prof.in Brigitte Schlegelberger
Ab 17:30	Überraschungsprogramm

Samstag
14.05.2022

Raum: Niedersachsen

08:45 – 09:45

3. Session

Prädispositionssyndrome (Vorsitz: Evelin Schröck)

- ❖ **Andreas Niederprüm:** Cowden Syndrome and aortic dissection caused by a contiguous gene deletion syndrome
- **Dennis Kraemer:** Rasopathie mit Urothelkarzinom
- ❖ **Katharina Knaust:** Transcript Capture and Ultra-Deep Long Read RNA Sequencing to Diagnose Lynch Syndrome
- ❖ **Alisa Förster:** The Good, the Bad and the Ugly: Detektion und Klassifizierung von TP53-Varianten

09:45 – 10:15

Kaffeepause in der Industrieausstellung

10:15 – 11:30

4. Session

Solide Tumoren und Hämatookogenetik (Vorsitz: Steffi Urbschat)

- **Heidrun Holland:** SNP array analyses, subtelomere FISH and biophysical investigations in glioblastoma stem like cells and primary glioblastoma tissue
- **Julie Schanz:** Klonale Resistenz auf FLT3-Inhibitoren
- ❖ **Paolo Mazzeo:** Diagnostics and functional profiling of a treatment-resistant case of T-cell large granular lymphocytic leukemia

11:30 – 11:45

Abstimmung Vortragspreis 2022

11:45 – 12:00

Tagungsrückblick 2022

12:00 – 12:15

Vorschau auf die nächste Tagung 2023

12:15 – 12:45

Abschlussveranstaltung

Verleihung des Vortragspreises
Danksagung und Verabschiedung

12:45

Ende der Tagung

Dr. rer. nat. Yvonne Lisa Behrens

Beruflicher Werdegang

Heute: Stellvertretende Teamleitung Hämatonkogenetik Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

Heute: Wissenschaftlicher Mitarbeiterin am Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

01/2015 - 12/2018: Doktorandin, Forschungsgruppe „Chromosomale Instabilität“, Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

09/2014 - 12/2014: Wissenschaftliche Hilfskraft, Forschungsgruppe „Chromosomale Instabilität“, Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

Akademische Laufbahn

12/2018: Promotion zum Dr. rer. nat.

08/2014: Master of Science, Universität Duisburg-Essen, Studiengang: Medizinische Biologie

09/2012: Bachelor of Science, Universität Bremen, Studiengang: Biologie



Der Lore Zech-Preis wird verliehen für die Arbeit

A novel classification of hematologic conditions in patients with Fanconi anemia

Yvonne Lisa Behrens, Göhring G, Bawadi R, Cöktü S, Reimer C, Hoffmann B, Sängler B, Käfer S, Thol F, Erlacher M, Niemeyer CM, Baumann I, Kalb R, Schindler D, Kratz CP..

Email: Behrens.Yvonne@mh-hannover.de

Die Fanconi Anämie (FA) gehört zu der Gruppe der angeborenen Erkrankungen mit Knochenmarkversagen (BMF). Patienten mit einer FA haben ein erhöhtes Risiko ein myelodysplastisches Syndrom (MDS) oder eine akute myeloische Leukämie (AML) zu entwickeln. Das Knochenmark (KM) von FA Patienten ist typischerweise hypozellulär und kann anderen Erkrankungen, wie z.B. einer refraktären Zytopenie des Kindesalters (RCC), ähneln. Für die Diagnose eines FA-MDS reicht das Vorliegen von Zytopenien und Myelodysplasien in der Regel nicht aus. Für die Diagnose einer FA assoziierten myeloischen Neoplasie müssen entweder eine erhöhte Blastenzahl und/oder andere eindeutige Zeichen einer Transformation (Duplikation von 3q (3q+), Deletion in 7q (7q-), Monosomie 7 (-7), komplex aberranter Karyotyp) vorliegen. Bisher gibt es keine international akzeptierte Klassifikation hämatologischer Erkrankungen bei Patienten mit FA. Eine Klassifikation ist für klinische Entscheidungsprozesse (z.B. Indikation zur hämatopoetische Stammzell-transplantation) wichtig.

In unserer Arbeit entwickelten wir eine neue Klassifikation mit 5 Untergruppen. Für den Algorithmus wurde der Begriff "Aberration mit indeterminiertem Potential" (AIP) vorgeschlagen, um zytogenetische Aberrationen zu beschreiben, die nicht zwingend mit einer Transformation einhergehen (z.B. Duplikation von 1q (1q+), Deletion in 6p (6p-) oder Deletion in 7p (7p-)). Die 5 Untergruppen sind folgendermaßen definiert: (1) FA-BMF: <5% Blasten im KM und <2% Blasten im peripheren Blut (PB) und keine zytogenetischen Aberrationen; (2) FA-AIP: <5% Blasten im KM und <2% Blasten im PB

und AIP; (3) FA-MDS-non-EB (FA-MDS-ohne Blastenzexzess; bei Kindern auch FA-RCC genannt): <5% Blasten im KM und <2% Blasten im PB und Vorliegen einer zytogenetischen Aberration, die eindeutig mit einer Transformation assoziiert ist; (4) FA-MDS-EB (FA-MDS mit Blastenzexzess): Blastenanteil von $\geq 5\%$ bis <20% im KM oder $\geq 2\%$ bis <20% im PB; (5) FA-AML: Blastenanteil von $\geq 20\%$ im PB und/oder KM. Die neue Klassifikation wurde anhand von 86 Patienten des deutschen FA Registers gemeinsam mit EWOG-MDS evaluiert.

60 Patienten (70%) wurden in die Gruppe FA-BMF eingeordnet. Die übrigen 26 Patienten (30%) zeigten klonale chromosomale Aberrationen. Insgesamt wurde bei 15 dieser Patienten (58%) eine myeloische Neoplasie diagnostiziert: FA-MDS-non EB (n=8), FA-MDS-EB (n=2) und FA-AML (n=5). Diese Patienten zeigten ein rekurrentes Muster chromosomaler Aberrationen (3q+, 7q-/-7 und komplex aberranter Karyotyp). Es gab keine Patienten mit einem erhöhten Blastenanteil im PB und/oder KM, die einen normalen Karyotyp aufwiesen. 10 Patienten wurden in die Gruppe FA-AIP eingeordnet - diese Patienten zeigten ein anderes Muster rekurrenter Aberrationen, wie z.B. 1q+, 6p- und 7p-. Einige Patienten zeigten mehrere Jahre lang einen stabilen Klon ohne Transformation.

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

❖ The Good, the Bad and the Ugly: Detektion und Klassifizierung von TP53-Varianten

Alisa Förster

Email: foerster.alisa@mh-hannover.de

Institut für Humangenetik, Medizinische Hochschule Hannover

Co-Autor/en: Tim Ripperger, Bernd Auber, Gunnar Schmidt

Veränderungen im TP53-Gen gehören zu den häufigsten somatischen Varianten in malignen Tumoren des Menschen. Darüber hinaus führen konstitutionelle TP53-Varianten zu dem autosomal-dominant vererbten Li-Fraumeni Syndrom. Dieses geht mit einer deutlich erhöhten Erkrankungswahrscheinlichkeit für maligne Tumoren, darunter unter anderem früh auftretende Brustkrebserkrankungen, Sarkome, Nebennierenrindenzinome und Gehirntumore, einher. Bisher sind in Literatur und Datenbanken ca. 29.900 somatische und 1.530 konstitutionelle TP53-Varianten erfasst (<https://tp53.isb-cgc.org/>). Beim Nachweis einer TP53-Variante kann in einigen Fällen initial keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Veränderung somatisch oder konstitutionell vorliegt. In DNA aus Blutzellen identifizierte somatische Veränderungen können zudem auch im Rahmen einer clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) auftreten. Dies muss bei der Interpretation des Befundes und interdisziplinären Betreuung der Patient*innen berücksichtigt werden. Zur Klärung sind gegebenenfalls weitere Untersuchungen an anderen Patientenmaterialien erforderlich. Für die Klassifizierung von TP53-Genveränderungen hat das Clinical Genome Resource TP53 Variant Curation Expert Panel (ClinGen TP53 VCEP) Spezifizierung der ACMG/AMP-Richtlinien veröffentlicht (Fortuno et al., 2021). Nach diesen Kriterien werden TP53-Varianten spezifisch im Hinblick auf deren biologische Eigenschaften und die gegebenenfalls damit einhergehenden klinischen Symptome bewertet. Dies ist insbesondere wichtig, um eine korrekte Diagnosestellung verbunden mit angemessenen Empfehlungen zu gewährleisten. Im Rahmen dieser Arbeit geben wir einen Überblick zur Nutzung der spezifizierten ACMG/AMP-Kriterien des ClinGen TP53 VCEPs. Weiterhin werden anhand von aktuellen Fallbeispielen das Auftreten und die Detektion von somatischen als auch fraglichen Keimbahnvarianten diskutiert, mit dem Ziel Schwierigkeiten als auch Möglichkeiten der TP53-Diagnostik zu illustrieren.

❖ Liquid biopsy in cancer diagnosis and treatment from SNV/CNV analysis

Ariane Hallermayr^{1,2,3}

Email: ariane.hallermayr@mgz-muenchen.de

MGZ - Medizinisch Genetisches Zentrum

Co-Autor/en: Tobias Wohlfrom¹, Verena Steinke-Lange^{1,4}, Anna Benet-Pagès^{1,5}, Florentine Scharf¹, Ellen Heitzer^{6,7,8}, Ulrich Mansmann⁹, Christopher Haberl¹⁰, Maike de Wit^{11,12}, Holger Vogelsang¹³, Markus Rentsch^{14,15}, Elke Holinski-Feder^{1,4}, Julia MA Pickl^{1,4}

¹ MGZ – Medizinisch Genetisches Zentrum, Munich, Germany;

² Pettenkofer School of Public Health, Munich, Germany;

³ Institute for Medical Information Processing, Biometry, and Epidemiology –IBE, LMU Munich, Munich, Germany;

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

⁵ Institute of Neurogenomics, Helmholtz Zentrum München - German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany;

⁶ Institute of Human Genetics, Diagnostic and Research Center for Molecular Biomedicine (Austria), Medical University of Graz, Graz, Austria;

⁷ BioTechMed-Graz, Graz, Austria;

⁸ Christian Doppler Laboratory for Liquid Biopsies for Early Detection of Cancer, Graz, Austria;

⁹ Institute for Medical Information Processing, Biometry, and Epidemiology –IBE, LMU Munich, Munich, Germany;

¹⁰ Department of Oncology and Hematology, Barmherzige Brüder, Klinikum St. Elisabeth, Straubing, Germany;

¹¹ Department of Hematology, Oncology and Palliative Medicine, Vivantes Klinikum Neukoelln, Berlin, Germany;

¹² Department of Oncology, Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikum, Berlin, Germany;

¹³ Department of General, Visceral, Thoracic and Endocrine Surgery, Klinikum Garmisch-Partenkirchen, Teaching Hospital, Ludwig Maximilian University Munich, Garmisch-Partenkirchen, Germany;

¹⁴ Department of General, Visceral and Thorax Surgery, Klinikum Ingolstadt, Ingolstadt, Germany;

¹⁵ Department of General, Visceral, Vascular and Transplant Surgery, University Hospital Munich, Ludwig-Maximilians University of Munich, Campus Großhadern, Munich, Germany

Liquid biopsy (LB) for non-invasive disease monitoring of cancer patients is progressing towards routine clinical practice. So far, the main focus is on circulating tumor DNA (ctDNA) analysis, targeting actionable somatic hotspot variants to support therapy decisions. Whole-genome sequencing (WGS) of ctDNA provides a promising tool for real-time monitoring of treatment response, as well as early diagnosis for all cancer patients. We analytically and clinically validated targeted hotspot assays and untargeted WGS for ctDNA detection and / or quantification. Mutant variant allele frequencies (VAFs) in plasma were measured by BRAF p.V600E and KRAS p.G12/p.G13 ddPCR assays in 22 colorectal cancer (CRC) patients. Further, Liquid biopsy Fragmentation, Epigenetic signature and Copy Number Alteration analysis (LIFE-CNA) based on WGS with 5x coverage was performed in 253 plasma samples collected from 55 healthy individuals and 50 CRC patients. Clinical validity of targeted hotspot assays for residual disease detection and treatment monitoring was confirmed in 18 CRC patients with R0 resection of the primary tumor and 7 CRC patients treated with chemotherapy, respectively. While ctDNA detection predicted molecular residual disease (MRD) or disease recurrence in a total of 4/5 patients, ctDNA quantities were associated with response or resistance to chemotherapy in 7/7 patients. To extend the benefits of ctDNA analysis to all cancer patients we developed LIFE-CNA to reliably distinguish healthy individuals from CRC patients based on SCNAs, global and regional fragmentation profiles and chromatin signatures. Clinical validity of LIFE-CNA was established by analyzing follow-up samples of CRC patients throughout treatment. We were able to show that changes in SCNA profiles and chromatin signatures can be associated with treatment response or disease progression. Further, by combining global and regional fragmentation into an integrated machine learning classifier CRC patients are correctly identified with 84% sensitivity at 95% specificity with an area under the curve (AUC) of 0.97. We proof analytical and clinical validity of our targeted hotspot assays to determine recurrence and progression in CRC. In addition, we developed and validated a cost-effective and sensitive method for untargeted ctDNA analysis, which may expand the detection of residual disease and recurrence, as well as treatment monitoring to all cancer patients.

Hereditäre alpha-Tryptasämie (HaT): Messung von TPSAB1-Kopienzahlveränderungen mittels ddPCR

Tanja Hinrichsen

Email: tanja.hinrichsen@medizinische-genetik.de

MVZ Martinsried GmbH

Die HaT findet sich mit einer Prävalenz von 4-6% in der westlichen Bevölkerung und ist ein autosomal-dominant vererbtes genetisches Merkmal, das durch erhöhte Keimbahnkopien vom Gen TPSAB1 verursacht wird. Dies führt zu einer erhöhten basalen Serumtryptase (BST). Die Erkrankung ist nahezu vollständig penetrant, jedoch mit unterschiedlicher Expressivität, so dass Personen mit HaT einheitlich erhöhte BST-Werte (fast überall >8ng/mL), aber unterschiedliche damit assoziierte Phänotypen aufweisen. Es ist eine Vielzahl von Symptomen beschrieben, jedoch sollte eine TPSAB1-Genotypisierung bei Patienten mit folgenden Symptomen erfolgen: einer Mastzellaktivierung, Anaphylaxie in der Vorgeschichte, gastrointestinalen Symptomen, die mit nächtlichem Erwachen verbunden sind, oder Darmentzündungen, die nicht auf die Therapie ansprechen oder atypisch sind, sowie BST-Werten >8ng/mL. Der Tryptase-Locus enthält vier für Tryptase kodierende Gene (TPSG1, TPSB2, TPSAB1 und TPSD1) und liegt in der Chromosomenregion 16p13.3. Die sekretierten Formen der Tryptase, die von klinischen Laboren gemessen und als BST-Wert angegeben werden, codieren jedoch nur TPSB2 und TPSAB1. Während angenommen wird, dass TPSB2 nur Beta-Tryptase-Isoformen codiert, codiert der TPSAB1-Locus entweder Alpha- oder Beta-Isoformen. Lange wurde angenommen, dass Individuen jeweils eine Kopie von TPSB2 und TPSAB1 haben. Basierend auf der Expression der Tryptase-Isoform an diesen zwei genetischen Loci wurden in der Literatur drei kanonische Genotypen beschrieben, die nicht mit einer HaT einhergehen: $\beta\beta:\beta\beta$, $\beta\alpha:\beta\beta$ oder $\beta\alpha:\beta\alpha$ (beide Alpha-Tryptase-Kopien auf unterschiedlichen Allelen). Bei erhöhtem BST-Wert kann eine erhöhte TPSAB1-Kopienzahl in Form von Duplikationen oder Triplikationen auf einem Allel vorliegen; dies wird dann als HaT klassifiziert. Dabei besteht ein Gendosiseffekt zwischen der Anzahl zusätzlicher TPSAB1-Kopien, dem BST-Wert und dem Schweregrad der klinischen Symptome. Beobachtungen zeigen, dass zahlreiche klinische Ähnlichkeiten zwischen Personen mit HaT und Personen mit klonalen und nicht-klonalen Mastzell(MC)-Erkrankungen, einschließlich MC-Aktivierungssyndrom (MCAS) und systemischer Mastozytose (SM) bestehen. So zeigt sich eine erhöhte Prävalenz von HaT bei diesen Patienten, was mit einer häufigeren und/oder schwereren Anaphylaxie sowie vermehrten Mastzellmediator-assoziierten Symptomen bei SM verbunden ist.

SNP array analyses, subtelomere FISH and biophysical investigations in glioblastoma stem like cells and primary glioblastoma tissue

Heidrun Holland

Email: Heidrun.Holland@medizin.uni-leipzig.de

Sächsischer Inkubator für Klinische Translation (SIKT) und Medizinische Fakultät

Co-Autor/en: Vivian-Pascal Brandt, Josef Käs, Thomas Fuhs, Emilyy Streubel, Caroline Sander, Jürgen Meixensberger, Ulf Nestler

According to WHO classification 2016, Glioblastoma is described as high grade Glioma with an astrocytic differentiation. The Glioblastoma stem-like cells (GSCs) are considered to be responsible for cancer therapy resistance and contribute to tumor initiation, maintenance and recurrence. Only few data exist about a combination of genetic and biophysical investigations in GSCs vs primary glioblastoma tissue. Therefore, the aim of the present study was the combination of genetic analyses and biophysical investigations to improve our knowledge about minor genetic differences and biophysical characteristics in GSCs vs GBM tissue. Primary glioblastoma tissue were obtained from patients and GSCs were cultivated by serum-free media. The stem cell properties of GSCs were confirmed by immunofluorescent expression of Nestin and SOX2. Genome wide high resolution SNP array (Affymetrix CytoScan 750 Array) and subtelomere FISH were performed to compare chromosomal regions between GSCs vs GBM tissue. The various growth behaviour of GSCs vs GBM as well as their different viscoelastic properties were investigated. Applying SNP array analyses, we identified for GBM described genetic aberrations, e.g. gain of 7p22.3-q34, gain of 7q36.1-q36.3, and loss of 10p15.3-q26.3. Furthermore, we could confirm previously described minor differences in the genetic profile of GSCs vs GBM tissue. Using subtelomere FISH we identified losses of chromosome 3, 4 and 6 in GSCs, which were not detected in primary GBM tissue. Additionally performed biophysical analyses (viscoelastic measurements with Atomic Force Microscope, and Life Cell Imaging) visualized the differences between GSCs vs GBM tissue. Our results may help to get more information about the molecular and biophysical pathomechanisms of glioblastoma. It still needs more investigations on this field to improve therapy possibilities and to clarify physical processes and properties as key determinant of tumor progression.

❖ Transcript Capture and Ultra-Deep Long Read RNA Sequencing to Diagnose Lynch Syndrome

Katharina Knaust

Email: RitaKatharina.Knaust@mqz-muenchen.de

MGZ Medizinisch Genetisches Zentrum München

Co-Autor/en: Florentine Scharf, Vincent Schwenk, Rafaela Magalhaes Leal Silva, Martin Wendlandt, Tanja Häusser, Julia M.A. Pickl, Verena Steinke-Lange, Andreas Laner, Monika Morak, Elke Holinski-Feder, Dieter A. Wolf

Introduction: Genomic variants in hereditary cancer genes often increase the risk of tumorigenesis due to aberrant splicing and allelic imbalances in mRNA expression. While DNA sequencing efficiently identifies genomic variants, many variants are graded as ACMG Class 3 with unclear pathogenic significance. The International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSiGHT) recommends complementary RNA analysis as a potential solution to this problem. Here, we tested the diagnostic utility of single-molecule long-read mRNA sequencing for the diagnosis of Lynch Syndrome. RNA of 16 patients with known pathogenic variants and two patients with variants of unknown significance in mismatch repair genes were evaluated using Oxford Nanopore Technologies (ONT) sequencing. **Material / Methods:** RNA isolated from peripheral blood mononuclear cell cultures was subjected to Oxford Nanopore's PCR-based cDNA sequencing. A transcript capture step was added to enrich mRNA of 123 cancer genes for ultra-deep sequencing. Puromycin treatment of the cell cultures was performed to block degradation of aberrant transcripts by nonsense-mediated mRNA decay (NMD). **Results:** An ultra-high average sequencing depth of up to 13,000x was achieved enabling comprehensive analysis of cancer-associated transcripts. A set of 16 patients with confirmed pathogenic/likely pathogenic variants in DNA mismatch repair genes was evaluated. Our capture-seq approach confirmed pre-existing DNA and RNA data (RT-PCR) for all 16 patients. In addition, two cases previously graded as variants of unknown significance were re-evaluated. PMS2 variant c.163+5 G>C which showed inconclusive results by RT-PCR, was found to result in skipping of exon 2 in ~60% of the reads, resulting in re-classification of the variant to ACMG Class 4 (likely pathogenic). MSH6 variant c.628-4G>C did not alter mRNA splicing thus classifying this intronic variant as likely benign (ACMG Class 2). **Conclusions and Outlook:** Our workflow provides ultra-deep and high quality long-read RNA-seq data. Assessment of these data facilitates variant interpretation and increases diagnostic yield in Lynch Syndrome. The newly gathered information allowed for re-classification of variants of unknown significance. Going forward, the procedure shows potential for automating laboratory steps and bioinformatics evaluation, suggesting that routine application in a diagnostic clinical setting is feasible.

❖ IKZF1plus under investigation: Optical Genome Mapping to detect additional alterations

Jonathan Lukas Lühmann

Email: Luehmann.Jonathan@mh-hannover.de

Medizinische Hochschule Hannover – Institut für Humangenetik

Co-Autor/en: Josephine Kater, Lena Wendeburg, Anja Möricke, Gunnar Cario, Martin Schrappe, Brigitte Schlegelberger, Martin Stanulla, Doris Steinemann

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer occurring in children with around 600 newly identified cases every year in Germany. Leukemic cells are characterized by structural and numeric genomic aberrations (e.g., t(9;22), high hyperdiploidy), which strongly correlate with prognosis and clinical outcome. However, a large proportion of ALLs cannot be assigned to a distinct subgroup and are hence, classified as B-other. Within the B-other group the IKZF1plus-profile was described as a copy-number based stratification profile with very poor prognosis if combined with slow or even poor MRD response at the end of induction. However, it is unknown so far, if this profile presents as a surrogate for other underlying variants that have not been captured within routine diagnostics. Using optical genome mapping (OGM), a DNA-based method to detect all types structural variants including balanced translocations, inversions and insertions, we retrospectively investigated IKZF1del/IKZF1plus ALL samples (ALL-BFM 2000/2009) and searched for genomic aberrations driving or contributing to the poor prognosis for these patients. Applying OGM we detected several recurrent stratification markers associated with poor prognosis such as an ins(12;9) leading to a ETV6::ABL1 fusion, an inv(9) leading to a PAX5::JAK2 fusion, t(5;5) leading to a EBF1::PDGFRB fusion or patients with an intrachromosomal amplification 21 (iAMP21). Additionally, we identified a novel NPAT::JAK2 fusion resulting from a t(9;11). In summary, our preliminary data show that IKZF1del/IKZF1plus-ALL carry additional markers that might be the drivers of the disease. A retrospective analysis of these ALLs will help to understand different treatment outcomes within these patient groups and to better stratify the patients in the future.

❖ „Cowden Syndrome and aortic dissection caused by a contiguous gene deletion syndrome“

Niederprüm, Andreas

Email: andreas_niederpruem@yahoo.de

Universitätsinstitut für Medizinische Genetik Oldenburg

Co-Autor/en: Dikow, Nicola, Hirsch, Steffen, Geldon, Laura, Körfer, Daniel, Erhart, Philipp

Ein 38-jähriger Patient wurde mit einer Aortendissektion vom Typ Stanford B notoperiert. Im Alter von 42 Jahren erlitt der Patient zusätzlich einen N-STEMI. Im Forschungsrahmen wurde eine Deletion auf Chromosom 10 (Chr10(GRCh38):879255_12_89014450del) festgestellt, die das ACTA2 Gen umfasst. Varianten in ACTA2 sind ursächlich für eine Prädisposition für thorakale Aortendissektionen. Der Deletionsbereich auf Chromosom 10 beinhaltet neben ACTA2 zwei weitere krankheitsassoziierte Gene: PTEN und FAS. Das Vorliegen pathogener loss-of-function Varianten des Tumorsuppressorgens PTEN verursacht typischerweise das Cowden-Syndrom. Pathogene Varianten des FAS Gens sind mit autolympfoproliferativen Erkrankungen assoziiert. Eine darauffolgende humangenetische Phänotypisierung des Patienten zeigte eine Markozephalie, Trichilemmone der Mundschleimhaut, Vierfingerfurchen, sowie eine Syndaktylie der dritten und vierten Zehen, jeweils beidseits. Der Patient erkrankte zudem im Alter von 15 Jahren an einem Hodenkarzinom und im Alter von 35 Jahren wurde eine Epilepsie diagnostiziert. Es besteht zudem eine auffällige Familienanamnese: Die Großmutter mütterlicherseits erkrankte mit 46 Jahren an Brustkrebs und verstarb im gleichen Jahr. Die Mutter erkrankte mit 44 Jahren einseitig an Brustkrebs, mit 56 Jahren auf der kontralateralen Seite und verstarb 61-jährig. Die Symptome des Patienten, sowie die Familienanamnese waren klinisch vereinbar mit einem Cowden-Syndrom. Eindeutige Symptome einer lymphoproliferativen Erkrankung fanden sich nicht. Eine abschließende Diagnostik war jedoch nicht möglich, da der Patient im Alter von 43 Jahren plötzlich an ungeklärter Ursache verstarb. Handelt es sich bei der hier beschriebenen Deletion um ein intrafamiliäres sporadisches Ereignis oder tragen möglicherweise weitere Cowden-Syndrom-PatientInnen ein erhöhtes kardiologisches und lymphoproliferatives Risiko? Die vorliegende Deletion stellt ein contiguous gene deletion syndrome im klassischen Sinne dar und wurde bisher nicht in der Literatur beschrieben. Der Patient hinterlässt zwei Brüder und eine Nichte. Ein Bruder trägt die gleiche Deletion auf Chromosom 10 und zeigt ebenfalls Symptome eines Cowden-Syndroms.

MNX1 activating enhancer hijacking events in acute myeloid leukemia

Anna Riedel

Email: anna.riedel@dkfz.de

Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg

Co-Autor/en: Justyna Wierzbińska, Aurore Touzart, Etienne Sollier, Simge Kelekçi, Dieter Weichenhan, Anastasija Pejkovska, Ashish Goyal, Charlotte Meinen, Matthias Schlesner, Umut Toprak, Frank Westermann, Benedikt Brors, Daniel Lipka, Lars Bullinger, Philipp Greif, Michael Lübbert, Florian Heidel, Thomas Fischer, Claudia Gebhardt, Brigitte Schlegelberger, Gudrun Göhring, Ekaterina Jahn, Hartmut Döhner, Konstanze Döhner, Ruud Delwel, Pavlo Lutsik, Christoph Plass

Acute myeloid leukemia (AML) is often classified by recurrent chromosomal rearrangements. Besides recurrent translocations, abnormalities involving chromosome 7 are among the most frequent chromosomal aberrations. Historically, these deleted regions would have been associated with the location of a tumor suppressor gene but so far, no candidate has been put forward. New studies show that structural variations can also interfere with chromosome topology and epigenetic gene regulation. Thus, a deletion could also activate a gene by restructuring topologically associating domains. We screened 3,000 AML samples and found upregulation of Motor Neuron and Pancreas Homeobox 1 (MNX1) in 1.4% of the cases. All these cases had structural abnormalities involving chromosome 7 which juxtapose the MNX1 promoter and regions containing strong hematopoietic enhancers such as ETV6, MYB, and CDK6. We hypothesize that MNX1 is a proto-oncogene activated in a subgroup of AMLs via enhancer hijacking events. Enhancer candidates will be validated in luciferase assays and their interaction with the MNX1 promoter will be characterized using CRISPR/Cas9-generated model systems and epigenomic profiling methods.

Development of a targeted Short-read RNA sequencing workflow to extend genomic cancer diagnostics

Martin Wendlandt

Email: martin.wendlandt@mgz-muenchen.de

MGZ - Medizinisch Genetisches Zentrum, München

Co-Autor/en: Elen Samadashvili, Verena Steinke-Lange, Florentine Scharf, Tobias Wohlfrom, Elke Holinski-Feder, Julia MA Pickl

RNA sequencing (RNA-Seq) provides valuable information on the pathomechanisms of sequence variants including aberrant splicing events and gene expression. Combination of RNA-Seq with standard DNA analysis can therefore increase the diagnostic yield of genetic testing. However, due to the complexity of the transcriptome complete RNA-Seq analysis may result in low coverage of regions of interest. We developed a targeted approach to enrich and analyse the transcripts of 123 cancer associated genes. In detail, mRNA capture was performed on total RNA samples derived from peripheral blood and short-read whole transcriptome library preparation was followed by target enrichment using probe hybridization and capture. We performed extensive efficiency and quality testing to identify optimal protocol conditions. We achieved ultra-high coverage sequencing data with mean target coverage over 19.000 with up to 93% of exons with >50X mean sequencing depth. To test our diagnostic workflow, we analyzed the samples of eight Lynch syndrome patients with known pathogenic mismatch repair variants. We were able to identify the effect of seven variants that resulted in reduced allelic expression through exon skipping and loss of splice acceptor site. Additionally, we confirmed that one variant, which results in reduced protein activity and interaction, had no effect on splice efficiency. Our protocol provides high quality RNA-Seq data enabling further interpretation and classification of sequence variants and therefore increasing the diagnostic yield in cancer patients. The workflow design can be automated for high sample throughput and represents the basis for future implementation of targeted RNA-Seq in cancer diagnostics.

❖ Diagnostics and functional profiling of a treatment-resistant case of T-cell large granular lymphocytic leukemia

Paolo Mazzeo

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

Co-Autor/en: Evgenii Shumilov, Lena Aperdannier, Sabrina Becker, Elena Oberle, Christina Ganster, Nicole Schmidt, Nora Ksionsko, Detlef Haase, Philip Ströbel and Raphael Koch

Introduction: T-cell large granular lymphocytic leukemia (T-LGL) is characterized by a persistent T-cell clone with surface markers of activated T-cells and clonal rearrangement of T-cell receptor (TCR) gene. Clinical presentation is typically dominated by cytopenia and associated infections, splenomegaly and autoimmune phenomena. On a molecular level, up to 40% of T-LGL cases show mutations in STAT3. We here report on a young patient with atypical presentation, challenging diagnosis by standard criteria and methotrexate-(MTX) refractory clinical course. **Patient & Material:** A 28-year-old patient with an isolated transfusion dependent anemia. BM aspirate showed an isolated hypoplasia/aplasia of erythropoiesis. Computed tomography (CT) was performed for staging. PCR analysis for T cell clonality, chromosome banding analysis, fluorescence in situ hybridization (FISH,) and targeted next generation sequencing (NGS) were performed on peripheral blood (PB) and bone marrow (BM) samples. Ex vivo-drug treatment and dynamic BH3 profiling were performed on treatment-resistant T-LGL cells. **Results:** BM biopsy confirmed the diagnosis of pure red cell aplasia (PRCA) causing severe anemia. In PB there were no signs of lymphocytosis or abnormal lymphocyte morphology, however, flow cytometry revealed a prominent CD3/CD8 T cell population and inverted CD4/CD8 ratio, for which monoclonal TCR rearrangement was detected. CT scan showed considerable hepatosplenomegaly. The histopathological workup of a liver biopsy revealed T-cell infiltrates with above mentioned TCR rearrangements and STAT3 c.1981G>T (p.D661Y) mutation, together confirming the diagnosis of T-LGL with infiltration of the liver and associated PRCA. Upon diagnosis, treatment with prednisone and MTX was initiated, but the patient showed a refractory clinical course. Ex vivo drug treatment and dynamic BH3 profiling on treatment-resistant T-LGL cells revealed sensitivity to a STAT3 inhibitor (C1889) with increased apoptotic priming and functional dependence on the anti-apoptotic protein MCL1. **Conclusion:** These findings highlight atypical organ involvement and treatment resistance in a case of STAT3-mutated T-LGL. Ex vivo drug treatment and dynamic BH3 profiling suggest a functional role of the anti-apoptotic protein MCL1 for targeted therapeutic strategies.

Klonale Resistenz auf FLT3-Inhibitoren

Julie Schanz

Email: julie.schanz@med.uni-goettingen.de

Universitätsmedizin Göttingen

Co-Autor/en: Christina Ganster, Katayoon Shirneshan, Elzbieta Brzuszkiewicz, Katharina Rittscher, Paolo Mazzeo, Maria Kamper, Lea Eder, Detlef Haase

Etwa 30% der AML-Patienten zeigen bei Erstdiagnose eine FLT3-Mutation. Beim Großteil handelt es sich um interne Tandemduplikationen (ITD), Mutationen in der Tyrosinkinasedomäne (TKD) werden seltener beobachtet. FLT3-Mutationen führen zu einer konstitutiven Aktivierung nachgeschalteter Signalwege, was zu einer erhöhten Proliferation, verminderter Apoptose und Hemmung der myeloischen Differenzierung führt. Die Prognose hängt von der Allellast und dem Vorhandensein von Co-Mutationen ab. FLT3-positive Patienten werden mit Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) behandelt. Wir berichten über zwei Patienten, bei denen verschiedene Klone bzw. Zellpopulationen unterschiedlich gut auf den TKI angesprochen haben. Die erste Patientin wurde als AML mit rekurrenten genetischen Anomalien diagnostiziert. Die Zytogenetik war unauffällig. Es wurden Mutationen in den Genen DNMT3A, FLT3-TKD, NRAS, RUNX1, WT1 und eine MLL-PTD nachgewiesen. Zytomorphologisch zeigten sich 90% Blasten. Immunphänotypisch wurde neben den myeloischen Blasten auch eine dominante Monozytenpopulation nachgewiesen. Die Standardchemotherapie plus TKI führte zu stable disease (47% Blasten) mit sehr gutem Ansprechen der FLT3-TKD und schlechterem Ansprechen der anderen Mutationen. Nach einer Salvagetherapie mit 5-Aza/Venetoclax erfolgte die allogene Stammzelltransplantation (SZT). Der zweite Patient wurde mit einer akuten biphänotypischen Leukämie (myeloische und T-Zell Reihe) diagnostiziert. Die initial nachgewiesenen genetischen Aberrationen waren: TP53-Deletion, 13q14-Deletion, partielle Trisomie 3q, FLT3-ITD, RUNX1-Mutation. Die Standardchemotherapie plus TKI führte zu einer zytomorphologischen Remission ohne Blastennachweis, die Klongröße der genetischen Marker war signifikant reduziert. Im Rezidiv 12 Monate nach allogener SZT waren zusätzlich zu den bekannten Mutationen eine Trisomie 21, eine Trisomie 11 und Mutationen in TP53 (jetzt double-hit) und IKZF1 nachweisbar. Die IKZF1-Mutation konnte der CD3+ Zellpopulation zugeordnet werden, alle anderen der CD34+ Zellpopulation. Retrospektive Analysen von vor dem Rezidiv werden zeigen, ob die IKZF1-Variante dem Spender zuzuordnen ist. Unsere beiden Fälle zeigen, dass eine Resistenz bzw. ein Ansprechen unterschiedlicher genetischer Aberrationen auf eine Therapie auch auf parallel vorliegende aberrante Zellpopulationen zurückzuführen sein kann. Das Vorhandensein unterschiedlich gut ansprechender Klone kann die Anpassung des Therapiekonzeptes erforderlich machen.

❖ Klonale Evolution der AML unter CPX351 Therapie - Eine unizentrisch retrospektive Datenanalyse

Hannah Casper

Email: hannah.casper@web.de

Co-Autor/en: Detlef Haase

Diese retrospektive Analyse untersucht das Ansprechen verschiedener molekular – und zytogenetischer Zellklone auf eine Therapie mit CPX351 bei Patienten mit einer MRC-Typ AML. Ziel der Beobachtung war, herauszufinden, welche genetischen Profile, definiert durch Molekular- und Zytogenetik, am besten auf die Therapie ansprechen. Dazu wurde das Material von 20 Patienten mit einer MRC-AML verwendet. Diese wiesen molekulargenetische Veränderungen nicht nur in den häufigsten bei einer AML mutierten Genen (wie DNMT3A, FLT3 und TP531), sondern auch in seltener mutierten Genen (wie BCOR, CEBPA, STAG2) auf. Des Weiteren zeigten etwa ein Drittel der Patienten auch zytogenetische Auffälligkeiten. Diese dienten letztendlich eher dem genetischen Monitoring im Remissionsstatus. Wie erwartet konnte gezeigt werden, dass zwei der drei DTA Mutationen (hier betreffend DNMT3A und TET2) schlechter auf die Therapie ansprechen als andere Mutationen. Unerwartet gut sprachen Klone mit ASXL1 – Mutation (die dritte DTA Mutation) auf die Therapie an. Es wird explizit auf drei Fälle eingegangen, die einen beispielhaften Verlauf zeigen.

❖ Klonale Evolution bei Niedrigrisiko-MDS

Paolo Mazzeo

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

Bei MDS ist der genetische Status für die Risikostratifizierung von entscheidender Bedeutung. Eine klonale Evolution (kE) kann den klinischen Verlauf der Krankheit signifikant negativ beeinflussen. Häufig wird eine kE lediglich bei Hochrisikopatienten und bei AML-Transformation untersucht. In unserer Studie haben wir uns auf die kE bei Patienten mit initial niedrigem Risiko (nR) konzentriert. Eine Chromosomenbandenanalyse und eine molekulare Karyotypisierung war von allen Patienten verfügbar. Wir führten longitudinale FISH-Analysen und Sequenzierungen (bis zu 49 Gene) durch. Um die kE engmaschig zu verfolgen wurden die genetischen Analysen überwiegend an CD34+ peripheren Blutzellen durchgeführt und aus ethischen Gründen weniger engmaschig an Knochenmarkszellen. Wir untersuchten 70 MDS-Patienten mit sehr niedrigem (N=23), niedrigem (N=28) und intermediärem Risiko (N=16) gemäß IPSS-R (bei N=3 nicht verfügbar). Das mediane (med.) Alter bei der Erstdiagnose (ED) betrug 71 Jahre (26-87). Bei der ED war die Zytogenetik bei 49/70 (70%) Patienten unauffällig. Die med. Beobachtungszeit betrug 34 Monate (1-109). Das med. Gesamtüberleben und die med. Zeit bis zur AML-Transformation wurden in unserer Kohorte nicht erreicht. 26/70 (37%) unserer nR-Patienten weisen eine kE auf. Bemerkenswert ist, dass bei 22/26 eine kE beobachtet wurde, ohne dass eine krankheitsmodifizierende Therapie eingesetzt wurde. Die med. Zeit von der ED bis zur ersten kE betrug 24 Monate (1-109). Die häufigsten im Rahmen einer kE erworbenen somatischen Mutationen waren TET2, 6x; SRSF2, RUNX1, KRAS, ETV6, BCOR, ASXL1, je 2x; bzgl. zytogenetischer Aberrationen wurden +8, 5x; 7q-, 3x; 5q- und 17p-, je 2x am häufigsten beobachtet. Bei 20/70 Patienten haben wir eine klinische Krankheitsprogression mit Anstieg der Blastenzahl beobachtet. Durch umfassende genetische Analysen können wir zeigen, dass eine kE auch bei nR-MDS rel. häufig zu beobachten ist. Bisher zeigen unsere Daten, dass eine kE bei nR-MDS nicht immer mit einer schnellen klinischen Progression einhergeht. Wir beabsichtigen jedoch, den Zusammenhang zwischen kE und klinischer Progression in unserer Patientenkohorte genauer zu analysieren. Dies könnte die klinische Entscheidungsfindung im Hinblick auf eine Änderung der therapeutischen Strategien unterstützen. Unsere Daten belegen auch, dass selbst bei nR-MDS ein engmaschiges genetisches Monitoring aus dem peripheren Blut zur Kontrolle des Erkrankungsverlaufes sinnvoll sein kann und machbar.





Raum Niedersachsen



Sporthotel Fuchsbachtal

Wir freuen uns auf die 35. Tumorgenetische Arbeitstagung 2023!