

# Molekylär patologi – nyckeln till målinriktad cancerbehandling

HELTÄCKANDE MOLEKYLÄR TUMÖRKARAKTERISERING GER MÖJLIGHET ATT UNDERSÖKA SAMTLIGA BEHANDLINGSLTERNATIV MED EN ANALYS

**Anders Edsjö**, överläkare, klinisk genetik och patologi, Region Skåne; Lunds universitet

**Richard Palmqvist**, professor, överläkare, klinisk patologi, Region Västerbotten; Umeå universitet

**Felix Haglund**, docent, specialistläkare, klinisk patologi och cytologi, Karolinska universitetssjukhuset; Karolinska institutet

**Gisela Helenius**, docent, Universitetssjukhuset Örebro, Region Örebro län; Örebro universitet

**Oscar Lindqvist**, specialistläkare, klinisk patologi och cytologi, Universitetssjukhuset i Linköping

**Henrik Fagman**, universitetslektor, specialistläkare, Sahlgrenska universitetssjukhuset; Göteborgs universitet

**Johan Botling**, docent, överläkare, klinisk patologi, Akademiska sjukhuset; Uppsala universitet  
● [johan.botling@igp.uu.se](mailto:johan.botling@igp.uu.se)

## Framväxten av prediktiv molekylär patologi i Sverige

Vid millennieskiftet introducerades den första hämmaren av tillväxtfaktorreceptorn HER2 (protein som kodas av genen ERBB2) för behandling av bröstcancer. Därefter har ett stort antal läkemedel riktade mot tillväxtfaktorer och signalmolekyler nedströms dessa godkänts för behandling av olika solida tumörer [1]. Gemensamt för dessa behandlingar är att de endast är verksamma mot tumörer med specifika molekylära förändringar, oftast aktiverande mutationer som stimulerar tumörens fortsatta tillväxt och överlevnad. Lungcancer (som rutinmässigt undersöks avseende generna EGFR, ALK, ROS1 och BRAF), kolorektalcancer (KRAS, NRAS, BRAF, MSI) och maligna melanom (BRAF) är i dag de tumörformer som föranleder majoriteten av behandlingsprediktiva analyser inom mo-

»Som ett resultat ... har en sekvensbaserad klinisk diagnostik vuxit fram som ... ökat i omfattning och gått från enstaka analyser till genpaneler ...«

lekylär patologi. Som ett resultat av detta informationsbehov har en sekvensbaserad klinisk diagnostik vuxit fram som i takt med ett ökat behov av information och en snabb teknisk utveckling både ökat i omfattning och gått från enstaka analyser till genpaneler analyserade med NGS, nya generationens sekvensering, även kallad massiv parallell DNA-sekvensering. Figur 1A visar den dramatiska ökningen av molekylära tumöranalyser, en fyrdubbling från ca 3 000 till 12 000 test mellan 2011 och 2019. Figuren visar också att NGS nu är den helt dominerande analysmetoden vid landets molekylärpatologiska laboratorier.

Ett konkret exempel är icke-småcellig lungcancer, där tumörerna hos ca 10 procent av patienterna innehåller en aktiverande mutation i tillväxtgenen EGFR. Påvisandet av en sådan mutation är kopplat till god effekt av behandling med riktade läkemedel, så kallade tyrosinkinashämmare. Här har möjligheten att behandla mot fler molekylära mål lett till ett tydligt skifte från selektiv analys av EGFR-genen till användande av mindre NGS-paneler, som utöver mutationer i EGFR kan fånga upp förändringar i upp emot

ett 50-tal gener relevanta för tumörens biologi och som ibland är vägledande avseende ytterligare behandlingsalternativ (Figur 1B) [2].

Det blev relativt snart tydligt att cytologiskt material utgör ett värdefullt alternativ för patienter där vävnadsmaterialet är otillräckligt [3]. Under senare tid har även analyser av cirkulerande tumör-DNA i plasma tillkommit som en möjlighet att detektera mutationer i tumörer som är svåra eller riskabla att nå via biopsiering eller punktionscytologi. Ofta handlar det om patienter med tumörer som progredierar under pågående terapi.

Under senare år har olika typer av kromosomala rearrangemang (involverande kinasgener som till exempel ALK och ROS1) visat sig ge upphov till fusionsproteiner som kan hämmas av specifika cancerläkemedel. Detta har också stimulerat utvecklingen av RNA-baserade analyser som på ett enklare sätt kan detektera dessa jämfört med DNA-baserad teknologi. Trots att RNA är känsligare för nedbrytning och kräver särskilda metodologiska hänsyn växer dessa analyser i antal och betydelse (Figur 1C).

## Heltäckande genomisk profilering

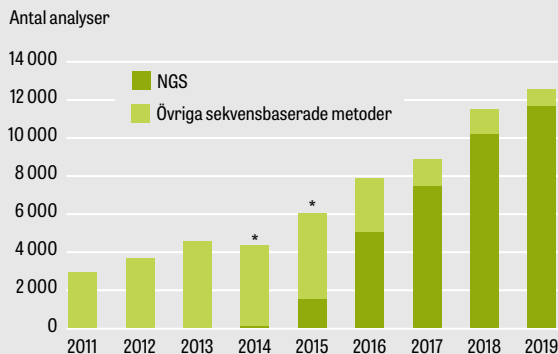
Det kunskapsmässiga språng som tagits vad gäller den grundläggande molekylära förståelsen av cancer, inte minst via projektet »The Cancer Genome Atlas« [4], har bidragit till en rad viktiga kunskapsdatabaser som COSMIC, cBioPortal och MyCancergenome och

### HUVUDBUDSKAP

- Molekylär kunskap om tumörutveckling leder till allt fler målinriktade cancerbehandlingar.
- Heltäckande molekylär tumörkaraktärisering ger möjlighet att undersöka samtliga behandlingsalternativ med en analys.
- Arbetsutskottet för solida tumörer inom Genomic Medicine Sweden samarbetar för att etablera regional och nationell infrastruktur för storskalig tumörsekvensering och kopplad dataanalys i sjukvården.
- Utvecklingen ställer nya krav på vården, bland annat när det gäller kunskapsöverföring och rekrytering av nya kompetenser.
- Långsiktiga mål är specifik cancerterapi för varje enskild patient, bättre möjlighet att bedriva kliniska behandlingsstudier och koppling av molekylära tumördata till landets cancerregister.

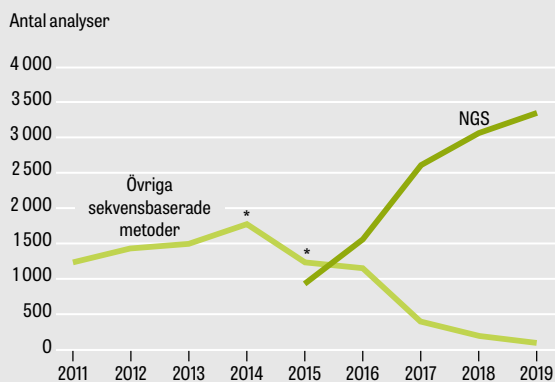
**FIGUR 1. Analysmetoder 2011–2019**

**A. Sekvensbaserade analyser av solida tumörer 2011–2019. Icke-småcellig lungcancer, kolorektalcancer och melanom. DNA och RNA**



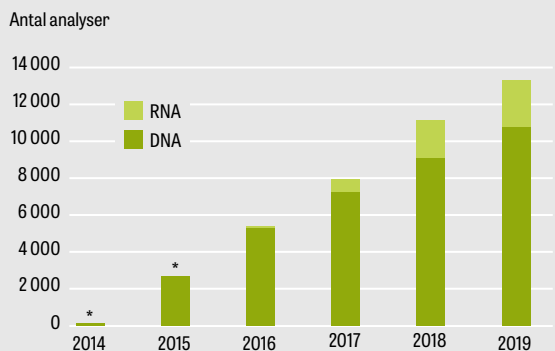
Sammanslagda siffror för sekvensering med frågeställning icke-småcellig lungcancer, kolorektalcancer och maligna melanom.

**B. EGFR-analyser vid icke-småcellig lungcancer**



Analys av EGFR med riktad PCR-analys eller via genpanel med hjälp av NGS.

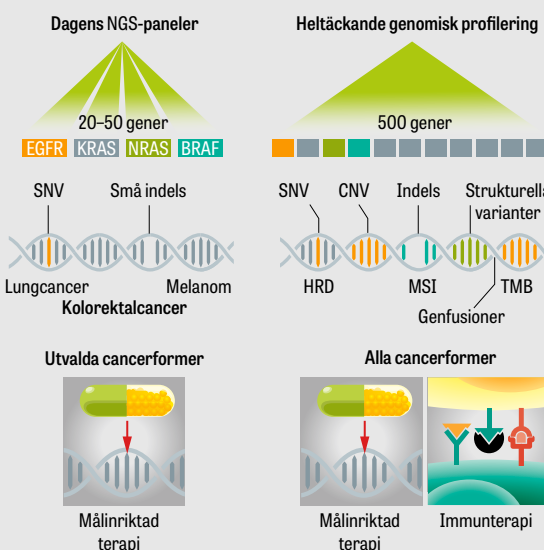
**C. NGS-baserade analyser av solida tumörer 2014–2019**



Andel analyser där DNA respektive RNA analyserats oavsett frågeställning med NGS som metod.

► Data insamlade från samtliga kliniska laboratorier med enheter för molekylär patologi under 2011–2019 med uppdelning mellan massiv parallell DNA-sekvensering (nya generationens sekvensering, NGS) och övriga riktade analysmetoder. Asterisk anger att data för åren 2014–2015 ej är fullständiga.

**FIGUR 2. Heltäckande genomisk profilering, CGP**



► Dagens små etablerade små NGS-paneler (till vänster) är anpassade för att fungera på små provmaterial som biopsier och cytologiska prov, har hög diagnostisk sensitivitet och specificitet och är riggade för att hantera effekter av formalin på tumörvävnader. Nackdelen är att de är inriktade mot enstaka tumörformer och tekniskt framför allt detekterar mindre mutationer i ett begränsat antal gener. Forskningsinriktade globala tekniker (helgenomsekvensering, helexomsekvensering och RNA-sekvensering) kan täcka alla människans gener på DNA- respektive RNA-nivå och detektera alla olika typer av genetiska aberrationer i tumörvävnaden – det vill säga även strukturella kromosomaberrationer, kopietsförändringar, genfusioner och mutationssignaturer. Nackdelen är att de är dyra, tar längre tid att köra, genererar enorma mängder data att hantera för sjukvården och inte är anpassade till små formalinfixerade biopsier. I stora målinriktade NGS-paneler (heltäckande genomisk profilering, CGP) selektteras alla aberrationer med relevans för behandling och tumörtyponing från forskningsteknikerna med bibehållen diagnostisk prestanda från de små NGS-panelerna när det gäller anpassning till rutinsjukvårdens prov. Förkortningar: SNV/indels = mindre mutationer; CNV = kopietsförändringar; MSI = mikrosatellitinstabilitet; HRD = speciell typ av defekt DNA-reparation; TMB = tumörmutationsbörda.

åtföljts av en snabb utveckling av nya målinriktade läkemedel. Utvecklingen har skapat ett behov av en analysmetod där man i samma test kan detektera alla kända måltavlor för läkemedelsbehandling och alla typer av molekylära förändringar som krävs för modern behandlingsprediktiv och prognostisk karakterisering av maligna tumörer. Dagens NGS-paneler som används i klinisk rutin är till sin omfattning mindre och vanligen inriktade på enstaka tumörformer, vilket är olämpligt om ett brett förutsättningslöst sökande efter behandlingsalternativ är önskvärt eller när tumördiagnosen är oklar. Målet med så kallad heltäckande genomisk profilering, CGP (comprehensive genomic profiling), ett koncept som lanserats på senare tid, är att i en analys kombinera den etablerade, riktade NGS-analysens fördelar med erfarenheter från en kombination av olika breda forskningsanalyser – och att samtidigt minimera nackdelarna med respektive analysstrategi (se Figur 2). De mest kända etablerade lösningarna för detta är CGP-panelerna MSK-IMPACT, FoundationOne, och TSO500 [5-7], där ca 350–500 gener analyseras med en och samma panel.

### Genomic Medicine Sweden och solida tumörer

Det nationella initiativet för precisionsmedicin, Genomic Medicine Sweden (GMS, genomicmedicine.se/), började formuleras 2017 och bedriver sedan 2018 ett koordinerat arbete med stöd från Vinnova. GMS bygger upp såväl en gemensam infrastruktur för analys och lagring av data som regionala genomiska medicincentrum, GMC, med landets sju universitetssjukhus som noder och universitetet på dessa orter som deltagande parter. Målen för GMS arbetspaket för solida tumörer inkluderar implementering av bred genpanelbaserad molekyllär karakterisering av tumörer, analysmetoder för cirkulerande tumör-DNA samt en nationell harmoniserad struktur för multidisciplinära behandlingskonferenser för molekyllär målinriktad terapi.

Längst har arbetet kommit med en DNA-baserad genpanel för analys av relevanta förändringar i 560 cancerassocierade gener. Urvalet av gener har i grunden gjorts utifrån kliniska behov, där konsensusdokument och kontakter med vårdprogramsgupper varit viktiga. Utöver detta ingår gener där påvisade förändringar kan utgöra grund för inklusion i pågående studier, liksom gener av tumörbiologisk betydelse. Panelens storlek och design möjliggör även fastställande av mikrosatellitinstabilitet och tumörmutationsbörda [8], två frågeställningar som dagens generation av kliniskt använda NGS-paneler inte kan besvara och som får en ökande betydelse för att förutse svar på onkologisk immunterapi. En första version av en RNA-baserad genpanel för detektion av fusionsgener har också konstruerats och utvärderats under hösten 2020. Panelerna planeras för implementering vid alla regionala noder inom GMS under 2021.

### Det kliniska värdet av bred precisionsdiagnostik

CGP kommer att spela en central roll inom patologin för förfinad molekyllär subtypning av tumörer. Det har blivit uppenbart att den morfologiska klassifikationen av cancersjukdomar i många fall behöver kompletteras med genetisk profilering. Det gäller, utöver de maligniteter som karakteriserats molekyllärt under en längre tid, även exempelvis hjärntumörer, ovarial-

**»Den molekyllära patologin kommer att påverka en allt större del av behandlingsbesluten inom onkologin.«**

cancer och bröstcancer. Den molekyllära patologin kommer att påverka en allt större del av behandlingsbesluten inom onkologin. Inom en treårsperiod förväntas en lång rad nya läkemedel bli tillgängliga för behandlingar som är specifikt riktade mot molekyllära rubbningar eller har mutationsmönster som underlag för behandling med immunstimulerande läkemedel.

Vår utvecklade CGP-panel för molekyllär karakterisering kommer att användas i två kliniska studier: MEGALiT, som är inriktad på att hitta experimentell behandling för patienter som saknar fortsatta etablerade behandlingsalternativ [9], och PLUTO som är in-

### FAKTA 1. Kliniska exempel

- En man kom till akuten med svår andnöd. Utredning visade lungcancer med vätska i lungsäcken. NGS-analys visade att tumören innehöll en ovanlig mutation i EGFR (som hade missats med tidigare PCR-baserad diagnostik). Tablettbehandling med EGFR-hämmare gjorde att tumören krympte, vätskan i lungsäcken försvann och patienten återgick till sitt vanliga liv.
- En kvinna hade en tumör av oklar typ i buken, så kallad CUP, cancer med okänt ursprung. En bred sekvenseringsanalys med stor CGP-panel visade att tumören hade så kallad mikrosatellitinstabilitet (MSI) och hög tumörmutationsbörda (TMB). Fynden gjorde att man ur ett molekyllärt perspektiv kunde överväga tumörursprung i tjocktarm eller livmoder och att immunterapi kunde övervägas som ett av många onkologiska behandlingsalternativ.
- En man med spritt malignt melanom hade flyttats till intensivvårdsavdelning på grund av organsvikt. Riktad snabbanalys av mutationer i BRAF gav positivt svar samma dag i väntan på den bredare NGS-analys som blev klar tre dagar senare och som gav en helhetsbild av tumörens molekyllärgenetik. Behandling med BRAF-hämmare sattes in omedelbart och fick en god effekt.

riktad på att studera större svenska kohorter av lungcancerpatienter som behandlas med målinriktade läkemedel. Dessutom öppnar den nationella ansatsen mot bred molekyllär profilering en möjlighet att länka en patients molekyllära tumörprofil till kliniska data i landets cancerregister. Detta ger möjlighet att bedriva klinisk forskning på »real world data« och kan fungera som bas för hälsoekonomiska analyser vid införande och utvärdering av behandlingseffekten av nya riktade läkemedel och den kopplade diagnostiken.

### Nya krav på sjukvården

En nationell satsning på IT-infrastruktur inom vården behövs för att hantera de stora datamängder som genereras vid bred molekyllär tumörkarakterisering. Utvecklingen ställer också krav på nya yrkeskompetenser. Bioinformatiker, med en bakgrund inom både datavetenskap och molekyllärbiologi, behövs för att analysera rådata från sekvensering i olika steg. Kliniska molekyllärbiologer och sjukhusgenetiker finns redan inom sjukvården men ställs inför delvis nya och utmanande frågeställningar. Patologer behöver väga samman de alltmer komplexa molekyllära fynden med all övrig information som histologi och immunhistokemi.

En utmaning som den molekyllära patologin delar med modern radiologi är en oundviklig ökning av bifynd av varierande medicinsk relevans. Om inte vårdkedjan optimeras för att hantera dessa kan de möjligheter bred molekyllär profilering erbjuder i stället komma att överskuggas av risken att överbelasta vården med onödiga utredningar och skapa svårhanterliga situationer för såväl patient som behandlande läkare. Nya analyser måste därför implementeras på ett genomtänkt sätt tillsammans med välstrukturerad information till patienterna [10, 11].

Behandlande kliniker måste också skaffa sig en allt

större molekylär förståelse av cancersjukdomar för att kunna använda resultaten i rationella behandlingsbeslut för patienten. För mer svårbedömda fall kan den slutgiltiga medicinska tolkningen av svaret kräva multidisciplinära team bestående av patolog, molekylärbiolog och behandlande kliniker. En lösning är särskilda behandlingskonferenser, så kallade »molecular tumor boards«, som också i de fall där det inte finns etablerade behandlingsalternativ kan undersöka möjligheter till inklusion i kliniska prövningar. ○

● Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Anders Edsjö har mottagit forskningsstöd från Amgen och Astra Zeneca

samt ersättning för föreläsningar och deltagande i rådgivande kommittéer från Amgen, Astra Zeneca, Bayer, Diaceutics och Roche. Richard Palmqvist har mottagit arvode för föreläsning och deltagande i rådgivande kommittéer från Amgen och MSD. Gisela Helenius har mottagit forskningsstöd från Roche samt ersättning för föreläsningar och deltagande i rådgivande kommittéer från Astra Zeneca och Bayer. Johan Botling har mottagit forskningsstöd från Bristol-Myers Squibb och Illumina samt föreläsning-arvoden från Astra Zeneca, MSD, Roche, Pfizer, Bristol-Myers Squibb, Boehringer Ingelheim, Novartis och Illumina.

● Per Levéen, Region Skåne, har sammanställt redovisade data kring genomförda analyser.

Citera som: *Läkartidningen. 2021;118:20209*

## REFERENSER

- Sun J, Wei Q, Zhou Y, et al. A systematic analysis of FDA-approved anticancer drugs. *BMC Syst Biol.* 2017;11(Suppl 5):87.
- Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):911-9.
- Hwang DH, Garcia EP, Ducar MD, et al. Next-generation sequencing of cytologic preparations: an analysis of quality metrics. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(10):786-94.
- Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, et al; Cancer Genome Atlas Research Network. Oncogenic signaling pathways in the cancer genome atlas. *Cell.* 2018;173(2):321-37.e10.
- Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med.* 2017;9(1):34.
- Kroeze LJ, de Voer RM, Kamping EJ, et al. Evaluation of a hybrid capture-based pan-cancer panel for analysis of treatment stratifying oncogenic aberrations and processes. *J Mol Diagn.* 2020;22(6):757-69.
- Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med.* 2017;23(6):703-13.
- Sholl LM, Hirsch FR, Hwang D, et al. The promises and challenges of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: a perspective from the International Association for the Study of Lung Cancer Pathology Committee. *J Thorac Oncol.* 2020;15(9):1409-24.
- van der Velden DL, Hoes LR, van der Wijngaart H, et al. The Drug Rediscovery protocol facilitates the expanded use of existing anticancer drugs. *Nature.* 2019;574(7776):127-31.
- Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19(1):4-23.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.

## SUMMARY

### Molecular pathology – the key to precision oncology

Rapidly expanding knowledge of the molecular landscape of cancers has resulted in the implementation of an increasing number of specific therapies targeted at tumors with specific molecular aberrations. In response to this development, new tools for predictive testing for molecular targets need to be implemented in routine health care. To achieve robust future molecular diagnostic pathology, and equal opportunity for patients to qualify for targeted therapy, the national working group for Solid Tumors in the initiative Genomic Medicine Sweden (GMS) aims to implement regional and national platforms for comprehensive genomic tumor profiling and linked analysis pipelines. Novel IT-infrastructure and recruitment of bioinformaticians and molecular biologists to hospital laboratories are paramount. The infrastructure will allow wider inclusion into clinical trials and supplement the national cancer registries with molecular »real world data« for research and evaluation of implemented cancer therapies and diagnostic procedures.