



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Aus der Klinik für Hämatologie und Onkologie der
Universität zu Lübeck

Direktor: Professor Dr. med. Nikolas von Bubnoff

Effizienzevaluation von Diagnostikempfehlungen eines molekularen Tumorboards

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

Vorgelegt von
Paul Lennart Tiemann aus Altena

Lübeck 2025

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Nikolas von Bubnoff

Kobetreuerin: Prof. Dr. rer. nat. Silke Szymczak

2. Berichterstatter: PD Dr. med. Steffen Deichmann

Tag der mündlichen Prüfung: 02.04.2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 07.04.2025

Promotionskommission der Sektion Medizin

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	5
EINLEITUNG	9
MATERIAL UND METHODEN	16
HINWEIS ZUR ETHIK.....	16
DAS MOLEKULARE TUMORBOARD (MTB) AM UNIVERSITÄREN CANCER CENTER SCHLESWIG-HOLSTEIN (UCCSH)	16
<i>Die MTB-Besprechung</i>	17
<i>Die Recherchebesprechung</i>	19
<i>Technische Durchführung der Diagnostik</i>	21
DATENERFASSUNG: FORM	25
DATENERFASSUNG: KRITERIEN FÜR DEN EIN- UND AUSSCHLUSS VON PATIENTEN UND DIAGNOSTIKEMPFEHLUNGEN	26
DATENANALYSE: STATISTISCHE AUSWERTUNG	29
ERGEBNISSE	65
PATIENTENKOLLEKTIV UND ALLGEMEINE DATEN	65
PATIENTENTHERAPIEEMPFEHLUNGSRATE (PTER)	68
DIAGNOSTIKTHERAPIEEMPFEHLUNGSRATE (DTER)	68
TURNAROUND-TIMES	70
IDENTIFIZIERTE ALTERATIONEN.....	71
DISKUSSION	74
KERNERGEBNISSE	74
PATIENTENKOLLEKTIV.....	75
ORGANISATION DES MTB.....	77
AUSSCHLUSSKRITERIEN	77
PATIENTENTHERAPIEEMPFEHLUNGSRATE (PTER)	78
DIAGNOSTIKTHERAPIEEMPFEHLUNGSRATE (DTER)	81
TURNAROUND-TIMES	84
EINFLUSS DIAGNOSTISCHER BREITE AUF PTER	86

<i>Anzahl der Diagnostikempfehlungen</i>	86
<i>WES vs. Panel: DTER</i>	87
<i>WES vs. Panel: Evidenzlevel (LoE) und Ln(PFSr)</i>	88
<i>WES vs. Panel: Sequenziertiefe (Coverage)</i>	90
<i>WES vs. Panel: Biomarkergruppen</i>	91
WES – DURCH RATIONALES PANEL ERSETZBAR?	92
ZUSAMMENFASSUNG	95
LITERATURVERZEICHNIS	98
ANHÄNGE	105
DANKSAGUNGEN	114
LEBENS LAUF	116

Abkürzungsverzeichnis

<u>Abkürzung</u>	<u>Bedeutung</u>
Abb.	Abbildung
bp	Basenpaare
DDR	DNA-Schadensreparatur
df	Anzahl der Freiheitsgrade (Statistik)
dMMR	Defizienz der DNA-Mismatch-Reparatur
DNPM	Deutsches Zentrum für personalisierte Medizin
DTER	Diagnostiktherapieempfehlungsrate
DV200	Anteil in % an Fragmenten mit >200 Nukleotiden
ETT	Empfehlungs-Turnaround-Time
FFPE	Formalin-fixiert Paraffin-eingebettet
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
GATK	Genomic Analysis Toolkit
H _a	Alternativhypothese
HRD	Homologe-Rekombination-Defizienz

IE	Immunevasion
IHC	Immunhistochemie
IKMB	Institute of Clinical Molecular Biology
Indel	Insertion/Deletion
Ln(PFSr)	natürlicher Logarithmus der PFSr
LoE	Level of Evidence; Evidenzlevel
m	männlich
MSI	Mikrosatelliteninstabilität
MTB	Molekulares Tumorboard
MTT	Material-Turnaround-Time
N	Anzahl
n.b.	nicht bekannt
NEC	neuroendokrines Karzinom
NET	neuroendokriner Tumor
NGS	Next-Generation-Sequencing
nNGM	Netzwerk Genomischer Medizin

OTHER	andere Diagnostik (in dieser Arbeit als feststehende Diagnostikart definiert)
OTH	anderer Biomarker
p	p-Wert (Statistik)
PAM	PI3K-AKT-mTOR
Panel	Next-Generation-Panel (in dieser Arbeit als feststehende Diagnostikart definiert)
PFSr	Progression-Free-Survival-Ratio
PTER	Patiententherapieempfehlungsrate
RIN	RNA-Integrität
RME	RAS-MEK-ERK
RNA	RNA-Sequenzierung (in dieser Arbeit als feststehende Diagnostikart definiert)
S.	Seite
s.o.	siehe oben
SNV	Einzel-Nukleotid-Varianten
Tab.	Tabelle
TK	Tyrosinkinase
TMB	Tumormutationslast

UCCSH	Universitäres Cancer Center Schleswig-Holstein
VAF	Varianten-Allel-Frequenz
VEP	Variant Effect Predictor
vgl.	vergleiche
VUS	Variante unklarer Signifikanz
w	weiblich
WES	Whole-Exome-Sequenzierung
WGS	Whole-Genome-Sequenzierung
ZPM	Zentren für personalisierte Medizin

Einleitung

Bereits vor über 100 Jahren etablierte Paul Ehrlich das Konzept der „Chemotherapie“. Darunter verstand er eine für die Pathophysiologie einer Erkrankung spezifisch wirksame Substanz, die bei möglichst geringen Nebenwirkungen eine ursächliche und nicht nur symptomatische Therapie erlaubt¹. Ein entscheidender Schritt zur spezifischen Krebstherapie war die Entdeckung der antiproliferativen Wirkung der Stickstoff-Loste in den 1940er-Jahren (diskutiert in ²). Erst damit und mit den zahlreichen nachfolgenden Zytostatika war eine wirksame systemische Therapie maligner Erkrankungen möglich². Obwohl über Jahrzehnte in der systemischen Krebstherapie nur kleine Schritte hin zu der von Ehrlich konzeptionierten „magic bullet“ gemacht wurden^{2,3}, nahm das Verständnis der Pathophysiologie maligner Erkrankungen deutlich zu⁴⁻⁷. Therapeutische Fortschritte gingen dabei oftmals mit diagnostischen Fortschritten Hand in Hand. So wurde mit der Möglichkeit der Diagnostik des Hormonrezeptorstatus beim Mammakarzinom der Grundstein für eine individuelle Hormontherapie – und damit die personalisierten Krebstherapie – gelegt^{8,9}. Der 1996 zugelassene Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib stellte schließlich einen weiteren Meilenstein der molekular zielgerichteten Krebstherapie nach heutigem Verständnis dar: Hier ist mit dem 1961 identifizierten Philadelphia-Chromosom erstmals eine diagnostizierbare molekulare Alteration gleichzeitig Ursache der Krebserkrankung und Angriffspunkt des Therapeutikums – und damit die Idee einer „magic bullet“ prinzipiell erfüllt^{2,10,11}. Zahlreiche molekular gerichtete Therapien folgten, etwa die EGFR-Inhibitoren¹² oder die ALK-Inhibitoren¹³ – im August 2023 sind 184 zielgerichtete Krebstherapeutika von der FDA zugelassen¹⁴.

Die Spezifität der zielgerichteten Krebstherapeutika führt nicht nur zu dem Vorteil der verhältnismäßig geringen Toxizität bei guter Wirksamkeit, da die Therapieziele besonders die Tumorzellen betreffen, sondern auch zu dem Erfordernis einer molekularen Diagnostik, um Patienten einer personalisierten zielgerichteten Therapie zuzuführen: Es zeigte sich, dass eine Biomarkerstratifizierung, also eine molekulardiagnostische Personalisierung der Therapie, sich in vielen Fällen positiv auf das Therapieansprechen auswirkt¹⁵⁻¹⁷. Jedoch ergibt sich aus der Spezifität der Therapien auch ein potenziell schneller Wirkverlust, sobald sich das molekulare Ziel – etwa aufgrund klonaler Selektion oder einer Neumutation – verändert. Dieser Umstand verkompliziert die zielgerichtete Krebstherapie erheblich, da somit die ohnehin vorhandene molekulare Heterogenität der Tumoren zusätzlich durch Resistenzen erhöht wird und häufig bereits nach einigen Monaten der Therapie eine diagnostische Reevaluation zur Auswahl einer neuen Therapie erfolgen muss¹⁸. Gleichzeitig hat die molekulare Diagnostik erst seit einigen Jahren als Next-Generation-Sequencing (NGS) eine Geschwindigkeit und Bezahlbarkeit erreicht, die ihren Einsatz in der klinischen Routine ermöglichen^{19,20}. Während zu Beginn des Jahrtausends die Sequenzierung des ersten menschlichen Genoms ein Budget von etwa 3 Milliarden Dollar und 13 Jahre Zeit kostete^{21,22}, ist mit heutigen Methoden ein Preis von etwa 1000 Dollar und eine Umsetzung innerhalb von wenigen Wochen möglich^{23,24}. Somit kann davon ausgegangen werden, dass auch zukünftig den Fortschritten in der Diagnostik weitere Fortschritte in der Therapie folgen werden, da mit der breiten Verfügbarkeit der Diagnostik sowie einem Zuwachs der Rechen- und Speicherleistung bei sinkenden Kosten die Implementierung der zielgerichteten Krebstherapien in der breiten Bevölkerung sinnvoll möglich und die Entwicklung neuer Substanzen damit ökonomisch wesentlich attraktiver wird.

Mit dem kontinuierlich hinzukommenden Wissen über die molekularen Pathomechanismen von Krebserkrankungen geht ein enormer Zuwachs verfügbarer zielgerichteter Therapien einher²⁵⁻²⁷. Das damit verbundene rasant wachsende Wissen auf dem Gebiet der molekularen Krebstherapie ist allerdings zunehmend schwieriger für einzelne Behandelnde zu überblicken und erfordert daher eine interdisziplinäre Zusammenarbeit in der direkten Patientenversorgung²⁸. Diese Erkenntnis führte vor etwa 10 Jahren zur Entstehung erster molekularer Tumorboards (MTB), die in der Regel aus Onkologen, Pathologen, Genetikern, Molekularbiologen, Bioinformatikern, Systembiologen und teilweise weiteren Disziplinen bestehen^{28,29}. Das gemeinsame Ziel der unterschiedlichen MTBs ist es, auf Grundlage molekularer Diagnostik personalisierte Empfehlungen hinsichtlich therapeutischer Maßnahmen für Krebspatienten auszusprechen. In der Regel weist das Patientenkollektiv seltene oder fortgeschrittene Erkrankungen auf, sowohl hämatologische als auch solide Tumoren sind in MTBs vertreten^{29,30}. Einige der Boards beschränken sich auf einzelne Tumorentitäten, andere arbeiten entitätenübergreifend^{31,32}. Da in vielen Fällen bei den in MTBs vorgestellten Patienten aufgrund der fortgeschrittenen oder seltenen Erkrankung keine leitliniengerechte Versorgung mehr möglich ist, wird ein relevanter Anteil der Therapieempfehlungen off-label, also ohne Zulassung der Therapie für die vorliegende Erkrankungssituation, ausgesprochen^{30,31}. Somit wird deutlich, dass eine Orientierung an allgemeingültigen Richtlinien wie Arzneimittelzulassungen oder Behandlungsleitlinien bei Weitem nicht ausreichend für die Therapieempfehlung im Kontext eines MTB ist. Vielmehr zeigt gerade die in vielen Fällen mögliche Aussprache einer off-label-Empfehlung, wie jene etablierten Werkzeuge mit dem rasanten Entwicklungstempo der molekularen Medizin nicht schritthalten können.

An diesem Punkt trägt ein MTB in verschiedener Hinsicht zur klinischen Patientenversorgung bei: Zum einen ist durch eine aufwendige Literaturrecherche, die in MTBs von Experten der molekularen Krebstherapie durchgeführt werden kann, eine hochaktuelle Berücksichtigung der Studienlage möglich, die sich in Leitlinien üblicherweise erst Jahre später widerspiegelt. Zum anderen werden durch die Multidisziplinarität des MTB die Fachkenntnisse der unterschiedlichen Disziplinen vereint, sodass eine individuelle Therapieempfehlung auf molekularer Grundlage überhaupt erst möglich wird. Daneben wird ein höheres Maß an Selbstüberprüfung gewährleistet, das extreme Einzeleinschätzungen abfedern kann und möglicherweise zukünftig auch bei der Begründung einer Therapieempfehlung vor den Kostenträgern hilfreich sein könnte.

Eine zentrale Rolle in MTBs spielt die Art der Diagnostik, auf die sich die Patientendiskussionen stützen. Bisher dominieren hier die Genpanels auf Basis des Next-Generation-Sequencing (NGS), allerdings wächst vor dem Hintergrund der sinkenden Preise der Einsatz breiter Sequenzierungsdiagnostiken wie der Whole-Exome-Sequenzierung (WES), der Whole-Genome-Sequenzierung (WGS) oder der RNA-Sequenzierung (RNA) zunehmend^{30,33,34}.

Von besonderem Interesse ist der Vergleich der WES mit den NGS-Panels, da beide Diagnostikarten Alterationen auf DNA-Ebene effizient und bezahlbar identifizieren können^{23,24}: Bei der WES wird das gesamte Exom, also der für Proteine codierende Teil des Genoms, sequenziert. Dieser Teil entspricht nur etwa 1-5% des Genoms, enthält aber ca. 85% der bekannten pathogenen Varianten³⁵. Bei NGS-Panels hingegen können ausschließlich Alterationen in Gensequenzen identifiziert werden, die im Vorhinein ausgewählt wurden³⁶⁻³⁹.

Dem Vorteil der WES gegenüber dem NGS-Panel, potenziell zusätzliche relevante Alterationen zu identifizieren, steht der Nachteil einer in vielen Fällen etwas geringeren Sensitivität in der Detektion der Mutationen gegenüber – diese ist direkt abhängig von der Sequenziertiefe (Coverage), die bei der WES aufgrund der insgesamt größeren Anzahl an Basenpaaren aus Kostengründen häufig niedriger ist als bei einem NGS-Panel^{40,41}. Aufgrund sinkender Kosten ist allerdings ein Anstieg der gewählten Coverage für die WES zu erwarten^{23,24}. Koeppel et al.⁴² zeigen in einem Review eine Detektionsrate von 95% in der WES im Vergleich zum Panel als Referenz (100%), während LaDuca et al.⁴³ in-silico eine Rate von 99,7% zeigen (Coverage WES hier bei >20X).

Eine weitere Hürde zum breiten Einsatz der WES im Vergleich zum NGS-Panel ist der höhere Zeitaufwand von in der Regel mehreren Wochen bis Monaten im Vergleich zu einigen Tagen bis wenigen Wochen bei einer Paneldiagnostik^{30,44}. Zudem erfordert die Interpretation der Ergebnisse einer WES aufgrund der häufig unklaren klinischen Relevanz der identifizierten Alterationen eine umfangreiche und individuelle Beurteilung von hierfür kompetentem Personal³⁰, während in einem NGS-Panel üblicherweise Varianten identifiziert werden, deren klinische Bedeutung bereits gut bekannt ist, da gezielt die entsprechenden Gensequenzen sequenziert werden. Ein zusätzlicher informatorischer Aufwand besteht im Falle der WES außerdem darin, dass eine Differenzierung von Signal to Noise, also den relevanten zu den nicht relevanten Daten der Analyse, stattfinden muss.

Insgesamt ergeben sich somit einige Herausforderungen in den Rahmenbedingungen der WES, die sich allerdings durch eine Steigerung der Sequenziertiefe und spezialisierte Auswertungsalgorithmen bei sinkenden Preisen perspektivisch relativieren dürften. Demgegenüber steht als zentraler Vorteil die

potenziell größere Wahrscheinlichkeit der Identifikation einer therapielevanten molekularen Alteration bei einer deutlich größeren Abdeckung der infrage kommenden Bereiche des Genoms. Zudem entsteht bei systematischem Sammeln der WES-Ergebnisse und wissenschaftlicher Auswertung eine stetig wachsende Datenbasis, die Erkenntnisse über die molekulare Landschaft der Patientenpopulation liefert^{45,46}.

Die existierenden Studien zu MTBs befassen sich überwiegend mit einer jeweils immer gleichen Diagnostik für alle untersuchten Patienten, die meist entweder eine WES oder ein NGS-Panel ist^{30,37–39}. Die vorliegende retrospektive Arbeit hingegen beschäftigt sich mit einem MTB, in dem die durchzuführende Diagnostik interdisziplinär patientenindividuell aus allen verfügbaren Diagnostikarten ausgewählt wurde. Damit besteht die Möglichkeit, unter vergleichbaren Rahmenbedingungen insbesondere einen Vergleich von WES und NGS-Panels, aber auch weiteren gängigen Diagnostikarten durchzuführen. In der Auswertung werden verschiedene Einflussfaktoren auf die Effektivität der Diagnostik wie das Jahr der Durchführung oder die Tumorentität untersucht und kritisch beleuchtet. Zudem erfolgt eine Auswertung der identifizierten Alterationen in Abhängigkeit der Tumorentität und der durchgeführten Diagnostik.

Eine wichtige untersuchte Zielgröße ist dabei der Anteil der MTB-Patienten mit erfolgreicher Aussprache einer molekular basierten Therapieempfehlung unter Einbezug aller durchgeführten Diagnostiken im MTB (Patiententherapieempfehlungsrate, PTER). Zusätzlich wird als weitere Zielgröße der Anteil der durchgeführten molekularen Diagnostiken im MTB untersucht, der für sich allein genommen zu einer Therapieempfehlung führt (Diagnostiktherapieempfehlungsrate, DTER).

Unter kritischer Zusammenschau der ausgewerteten Daten zielt diese Arbeit auf die Forschungsfrage ab, welches diagnostische Vorgehen zielführend für die Identifikation therapierelevanter Alterationen ist.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass ein größerer Umfang der Molekulardiagnostik im Vergleich zu einem niedrigeren Umfang derselben mit einer höheren Wahrscheinlichkeit zu einer Therapieempfehlung führt.

Material und Methoden

Hinweis zur Ethik

Die zuständigen Ethikkommissionen in Lübeck und Kiel genehmigten dem Betreuer der hier vorliegenden Arbeit, Herrn Prof. Dr. med. Nikolas von Bubnoff, der gleichzeitig Leiter der zugrundeliegenden Studie "Registerstudie des Molekularen Tumorboards des Universitären Cancer Centers Schleswig-Holstein (UCCSH-MTB-Register)" ist, alle im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen.

Ethikkommission Universität zu Lübeck: Aktenzeichen 21-259; Datum: 26.11.2021
(Anhang 8)

Ethikkommission Christian-Albrechts-Universität zu Kiel: Aktenzeichen B 301/22;
Datum: 03.11.2022 (Anhang 9)

Das molekulare Tumorboard (MTB) am universitären Cancer Center Schleswig-Holstein (UCCSH)

Methodisch zentral ist in dieser Arbeit die statistische Auswertung des seit 2018 bestehenden molekularen Tumorboards des Universitären Cancer Centers Schleswig-Holstein (UCCSH). Hier werden in 14-tägigem Rhythmus Patienten mit Krebserkrankungen, vorwiegend in fortgeschrittenen Stadien oder mit seltenen

Entitäten, vorgestellt. Dabei sind grundsätzlich keine Limitationen hinsichtlich der Entität gesetzt. Zum MTB angemeldet werden können zum einen Patienten, die eine fortgeschrittene Tumorerkrankung aufweisen, wenn alle verfügbaren Standardtherapien durchlaufen wurden oder keine erfolgsversprechende Therapieoption besteht, sowie zum anderen Patienten, die einen ungewöhnlichen klinischen Verlauf aufweisen⁴⁷.

Die Sitzungen des MTB sind stets interdisziplinär und bestehen aus Onkologen, Pathologen, Bioinformatikern, Molekularbiologen, Pharmazeuten, Humangenetikern und klinischen Experten der jeweils vorgestellten Tumorentitäten.

Die MTB-Besprechung

Erstes Ziel des MTB bei Neuvorstellung eines Patienten ist die individuelle Auswahl einer geeigneten weiterführenden Diagnostik unter Berücksichtigung von Faktoren wie Tumorentität, Erkrankungsstadium, Vortherapie, bereits vorliegender diagnostischer Befunde, Allgemeinzustand und Alter des Patienten (Abb. 1). Regelmäßig wird eine Kombination mehrerer diagnostischer Verfahren empfohlen. Diese werden in dieser Arbeit in die Kategorien Immunhistochemie (IHC), Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), Genpanel-Sequenzierung auf Basis eines Next-Generation-Sequencing (Panel), Whole-Exome Sequenzierung (WES) und RNA-Sequenzierung (RNA) eingeteilt. In Einzelfällen wird dabei eine Priorisierung der Patienten bezüglich der Empfehlung der zu dem Zeitpunkt nicht über die gesetzlichen Krankenkassen abrechenbaren Diagnostiken WES und RNA

vorgenommen, seit 2022 wird jedoch in der großen Mehrheit der Fälle eine WES empfohlen. Die Anwesenheit eines Pathologen im MTB ermöglicht eine Auskunft über vorliegende Gewebeprobe des betreffenden Patienten, sodass im Bedarfsfall noch im MTB mit der Organisation einer Probenentnahme begonnen werden kann. Zudem kann der Pathologe weitere Angaben zur Einordnung vorliegender pathologischer Befunde machen, etwa zur Entitätsabgrenzung in unklaren Fällen.

Im Anschluss an das MTB erfolgt die systematische Dokumentation einer Vielzahl an Daten zu den diskutierten Fällen. Diese dienen sowohl zu Forschungszwecken – falls der jeweilige Patient eingewilligt hat, an einer Registerstudie teilzunehmen – als auch zur weiteren Organisation der Diagnostik. So werden unter anderem die Erstellung benötigter Anforderungen, eine eventuelle Gewebeentnahme, der Verlauf der WES- und RNA-Sequenzierung und die rechtzeitige Wiedervorstellung organisiert.

Die empfohlene Diagnostik wird von verschiedenen Institutionen umgesetzt: Die Institute für Pathologie des UKSH führen die IHC, die FISH und die NGS-Panels durch (Abb. 1). Darüber hinaus erfolgt hier auch die Probenaufbereitung zum Versand für die in anderen Institutionen durchgeführten Sequenzierungen (Abb. 1). Bis zum 1. Quartal 2022 erfolgten diese bei dem Tübinger Anbieter CeGaT GmbH, seitdem werden die WES im Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB) in Kiel durchgeführt (Abb. 1). Die RNA-Sequenzierungen werden weiterhin bei der CeGaT GmbH durchgeführt (Abb. 1). In selteneren Fällen ist eine empfohlene Diagnostik nicht von diesen Institutionen umsetzbar, dann kommt eine Zusammenarbeit mit weiteren Partnern zum Tragen, etwa mit dem Institut für Pathologie der Universität Greifswald für die immunhistochemische Bestimmung von GD2.

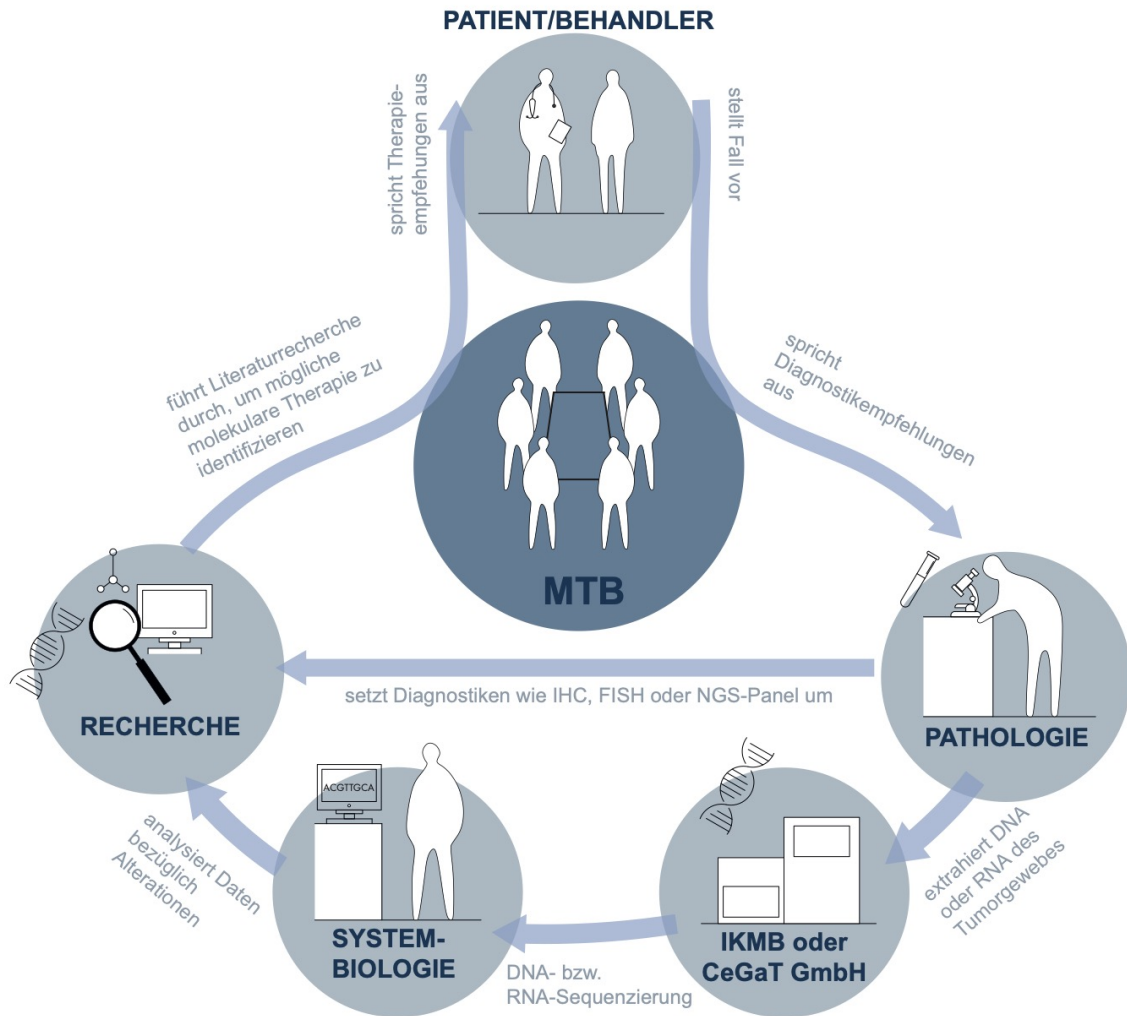


Abbildung 1: Ablauf des MTB am UCCSH.

Die Recherchebesprechung

Nach Durchführung der empfohlenen Diagnostik werden die Befunde in einer wöchentlich stattfindenden Recherchebesprechung diskutiert (Abb. 1). Das anwesende Recharteam ist ebenfalls interdisziplinär und besteht aus

Onkologen, Molekularbiologen, klinischen Entitätenexperten und Bioinformatikern. Zudem wird es in den Besprechungen durch einen Pathologen unterstützt.

Ziel der Recherchebesprechung ist zum einen die Vorbereitung von Diagnostikempfehlungen für entweder neu angemeldete oder bereits vorgestellte, eine weitere Diagnostik benötigende, Patienten. So können bereits erste Beschlussvorschläge als Diskussionsgrundlage für die MTB-Diskussion erarbeitet werden und die Verfügbarkeit des für die Diagnostik notwendigen Gewebes kann bei Bedarf geprüft werden. Zum anderen besteht die Aufgabe der Recherchebesprechung in der Vorstellung der diagnostischen Befunde durch die Systembiologen und die Pathologen. Dabei erfolgt bereits eine erste Diskussion der identifizierten Varianten hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz, dazu werden die gesammelten Befunde in Zusammenschau gebracht und in ihrem Verhältnis zueinander beurteilt. Ziel ist es dabei, therapeutisch ansprechbare (targetierbare) Alterationen auszumachen (Abb. 1).

Vor diesen Gesichtspunkten werden die diskutierten Alterationen im Zeitraum zwischen den Recherchebesprechungen in Einzelarbeit mittels einer Literaturrecherche geprüft. Zum Einsatz kommen dabei verschiedene Datenbanken, um zunächst die Funktionalität detektierter Varianten zu bewerten und eine mögliche zielgerichtete Therapie gegenüber anderen Optionen einzuordnen. Darüber hinaus wächst die Kenntnis des Recharteams bezüglich targetierbarer molekularer Alterationen mit wachsender Fallzahl des MTB stetig, sodass in Fällen mit bereits bekannter Alteration lediglich eine Überprüfung des bekannten Wissens auf Aktualität erfolgen muss.

In der Recherchebesprechung der folgenden Woche werden die Ergebnisse der einzelnen Mitglieder des Recharteams vorgestellt und die dabei

vorgeschlagenen Formulierungen individueller Therapieempfehlungen erneut interdisziplinär diskutiert.

Diese Empfehlungsvorschläge bilden die Basis der Falldiskussion des betreffenden Patienten in der nächstmöglichen MTB-Sitzung. Ziel ist es hier, alle auf der durchgeführten Diagnostik basierenden Therapieoptionen in ihrer Evidenz sowie in ihrer zu erwartenden Wirksamkeit und Toxizität zu beurteilen und zu priorisieren (Abb. 1).

Sowohl die Recherchebesprechungen als auch die MTB-Sitzungen finden grundsätzlich parallel physisch und virtuell statt, zum Einsatz kommt dazu das Videokonferenzprogramm Vidyo. Somit ist es möglich, Teilnehmer aus dem UKSH Campus Kiel und dem UKSH Campus Lübeck zusammenzubringen. Auch können so externe Krankenhäuser und Arztpraxen als Patientenzuweiser unkompliziert am MTB teilnehmen.

Technische Durchführung der Diagnostik

Der Vollständigkeit halber werden hier die Methoden der technischen Durchführung und bioinformatischen Auswertung der Diagnostik des MTB dargestellt. Diese waren nicht praktischer Teil der vorliegenden Arbeit. Die Beschreibungen wurden von den verantwortlichen Bereichen zur Verfügung gestellt.

Durchführung der Sequenzierungen

Die Whole-Exome-Sequenzierung erfolgt an Tumorgewebe, während die komplementäre Keimbahn-DNA aus peripherem Blut oder gesundem Gewebe der Wangenschleimhaut gewonnen wird.

Es werden für die WES möglichst tumorzellreiche Regionen aus Formalin-fixierten Paraffin-eingebetteten (FFPE) Gewebeproben der Patienten verwendet. Hieraus wird die DNA mit dem AllPrep DNA/RNA FFPE Kit (Qiagen) isoliert. Die DNA-Qualitätskontrolle wird mit einer fluoreszenzbasierten Quantifizierungsmethode (Qubit, Thermo Fisher Scientific) durchgeführt. Das Twist Human Core Exome Kit mit RefSeq und Mitochondrial Panel (Twist Bioscience) wird für die Erstellung und Anreicherung der Bibliothek verwendet.

Für die RNA-Sequenzierung wird ebenfalls FFPE-Gewebe verwendet. Zunächst wird auch die RNA dem AllPrep DNA/RNA FFPE Kit (Qiagen) isoliert. Die isolierte RNA wird einer RNA-Qualitätskontrolle unterzogen, bei der eine fluoreszenzbasierte Quantifizierungsmethode und eine Fragmentlängenanalyse eingesetzt werden, um die RNA-Integrität (RIN), den Fragmentierungsgrad (DV200; Anteil in Prozent an Fragmenten mit >200 Nukleotiden) und die Menge der vorhandenen RNA zu bestimmen. Je nach Menge und/oder Qualität der RNA werden unterschiedliche Kits zur Bibliothekserstellung verwendet: Für wenig fragmentierte RNA (DV200 >30%) das KAPA RNA HyperPrep Kit mit RiboErase (HMR) Globin (Roche) und für stark fragmentierte RNA (DV200 <30%) oder RNA mit niedriger Konzentration das SMART-Seq Stranded Kit (Takara).

Sowohl die WES als auch die RNA-Sequenzierung werden mittels des NovaSeq 6000-Systems der Firma Illumina durchgeführt. Am IKMB erfolgt dies mit einer Coverage von >400X für das Tumorgewebe und >200X für die Keimbahnkontrolle bei 2x150 Basenpaaren (bp) Paired End Reads. Bei der Firma CeGaT liegt die Coverage bei 180X bzw. 120X bei 2x101 bp Paires End Reads.

Bioinformatrische Auswertung der Sequenzierungen

Für die Analyse der WES werden zwei Workflows verwendet: Die MIRACUM-Pipe und der Genomic Analysis Toolkit (GATK)-Workflow für somatische Mutationen⁴⁸. Die MIRACUM-Pipe trimmt die fastq-Eingabedateien mit Trimmomatic⁴⁹ und bestimmte die Qualität vorher und nachher mittels FastQC⁵⁰. Das anfängliche Alignment erfolgt mittels bwa-mem2⁴⁸, das für die nachfolgenden Schritte der Statistik, Sortierung, Duplikatentfernung und Indexierung verwendet wird. Zur Korrektur von Mappingfehlern wird ein Indel-Realignment mit GATK⁵¹ durchgeführt, gefolgt von der Fixierung der Mate-Pairs mit Picard-Tools und dem GATK-Workflow zur Rekalibrierung der Basenqualitätswerte. Varianten werden mit VarScan2⁵² ermittelt und mit ANNOVAR⁵³ annotiert. Die Kopienzahlen werden mit ControlFREEC⁵⁴ ausgewertet. Für zusätzliche Biomarker wird eine Kombination aus Sequenza⁵⁵ und scarHRD⁵⁶ für einen Score für homologe Rekombinationsdefizite (HRD) verwendet, während MSIsensor-pro⁵⁷ Daten bezüglich des Mikrosatellitenstatus (MSI) liefern. Daneben wird der BRCAness-Score berechnet (Cut-off $\geq 20\%$ ⁵⁸). Für den GATK-Workflow werden rohe FASTQ-Reads mittels fastq v0.23.2⁵⁹ getrimmt (Adapter- und Qualitätswerte) und die

getrimmten Reads mit bwa-mem2 auf GRCh37/hg19 gemappt⁴⁸. Die resultierenden SAM-Dateien werden mit den picard-Tools (v2.26.10) bereinigt, sortiert und in das BAM-Format konvertiert. Anschließend werden die Paarinformationen korrigiert, Duplikate entfernt und eine Rekalibrierung der Basenqualität mit picard tools und dbSNP v138 durchgeführt. Einzel-Nukleotid-Varianten (SNVs) und kurze Insertionen und Deletionen (Indels) werden gemäß den von GATK bereitgestellten Best Practices für das Callen somatischer Mutationen identifiziert⁵¹. Der Mutect2-Algorithmus⁶⁰ wird im Tumor-Normal-Matching-Modus mit gnomAD-Varianten als Keimbahn-Ressource und die GATK-Whole-Genome-Panel-Daten als Normalpanel angewendet. Zusätzlich wird Strelka2⁶¹ verwendet, um somatische Varianten zu Callen, wobei die Best Practices für somatisches Callen (einschließlich MANTA v1.6.0) im Callverfahren befolgt werden. Alle Varianten werden mit Variant Effect Predictor (VEP v105-GRCh37) annotiert. Die Integration der Ergebnisse der Variantencalls von VarScan2 (MIRACUM-Pipe), Mutect2 und Strelka2 (beide GATK-basierte Arbeitsabläufe) erfolgt automatisch nach Abschluss beider Arbeitsabläufe. Für beide Workflows werden nur nicht-synonyme Mutationen gecallt, die mit einer Varianten-Allel-Häufigkeit von >5 % identifiziert und mit einer Minor-Allel-Häufigkeit von <0,1 % vom Exome Aggregation Consortium oder gnomAD aufgelistet werden. Einzelnukleotidvariationen werden nach ClinVar, COSMIC, dbSNP, TARGET db, Drug-Gene-Interaction und CADD (v1.6; ⁶² und ⁶³) und DANN klassifiziert.

Die RNA-Seq-Daten werden zunächst mit fastq getrimmt und mit STARfusion (v1.11.0) auf GRCh38 abgebildet, um Genfusionen zu identifizieren. Zusätzlich werden FusionCatcher (v1.33, ⁶⁴) und arriba (v2.3.0, 10.1101/ ⁶⁵) verwendet, um

Genfusionen vorherzusagen. Genexpressionsprofile werden mit kallisto v0.46.1 abgerufen⁶⁶.

Institute für Pathologie, UKSH Kiel/Lübeck

Die Diagnostik in den Instituten für Pathologie umfasst alle gängigen Verfahren. Es gibt keine formellen Einschränkungen hinsichtlich der Diagnostik. Maßgeblich sind allein die Empfehlungen des MTB und die technische Umsetzbarkeit. Als Standardpanel werden allerdings das Oncomine Focus Panel⁶⁷ in Kiel sowie das Cancer Hotspot Panel⁶⁸ der Firma Thermo Fisher Scientific in Lübeck verwendet.

Datenerfassung: Form

Für die vorliegende Arbeit wurde eine Registertabelle in Microsoft Excel zur gezielten Datenerfassung erstellt. Quellen der Daten waren zum einen zwei Arbeitstabellen des molekularen Tumorboards, die zur systematischen Erfassung versorgungsrelevanter Daten dienen, und zum anderen das Krankenhausinformationssystem Orbis der Firma Dedalus. Hier wurden Dokumente der klinischen Versorgung wie Befunde der Pathologie, des MTB und externer Diagnostik sowie Arztbriefe und organisatorische Einträge zu Prozeduren wie Blut- oder Tumorgewebeentnahmen genutzt.

Die Registertabelle enthält jeweils einen eigenen Abschnitt für die Diagnostikarten IHC, FISH, NGS-Panel, WES, RNA und andere, diesen Kategorien nicht

zuzuordnende Diagnostik (OTHER). Falls bei einem Patienten Diagnostiken aus mehreren der genannten Kategorien empfohlen wurden, so wurden diese als separate Diagnostikempfehlungen gezählt.

Erfasst wurde der Prozess von der Diagnostikempfehlung bis zur potenziellen Therapieempfehlung einschließlich der relevanten zeitlichen und inhaltlichen Zwischenschritte wie Datum der Befundübermittlung einer abgeschlossenen Diagnostik oder Verfügbarkeit von Gewebeproben.

Datenerfassung: Kriterien für den Ein- und Ausschluss von Patienten und Diagnostikempfehlungen

Grundsätzlich wurden in die Registertabelle alle Patienten eingeschlossen, die im Zeitraum vom 07.09.2018 bis zum 13.05.2022 im MTB vorgestellt wurden. Die Ergebnisse der im genannten Zeitraum ausgesprochenen Diagnostikempfehlungen wurden in die Auswertung einbezogen, wenn sie bis zum 30.09.2022 abgeschlossen wurden. Patienten, für die nicht alle für einen Analyseendpunkt notwendigen Daten erfassbar waren, wurden für diesen Endpunkt ausgeschlossen, allerdings in die Auswertung anderer, erfassbarer Endpunkte, eingeschlossen.

Es erfolgte sowohl für jeden Patienten mitsamt aller hinzugehöriger Diagnostikempfehlungen als auch für jede einzelne Diagnostikempfehlung eine Prüfung anhand folgender Ausschlusskriterien (Abb. 2, 3):

Ausschlussgründe Patienten

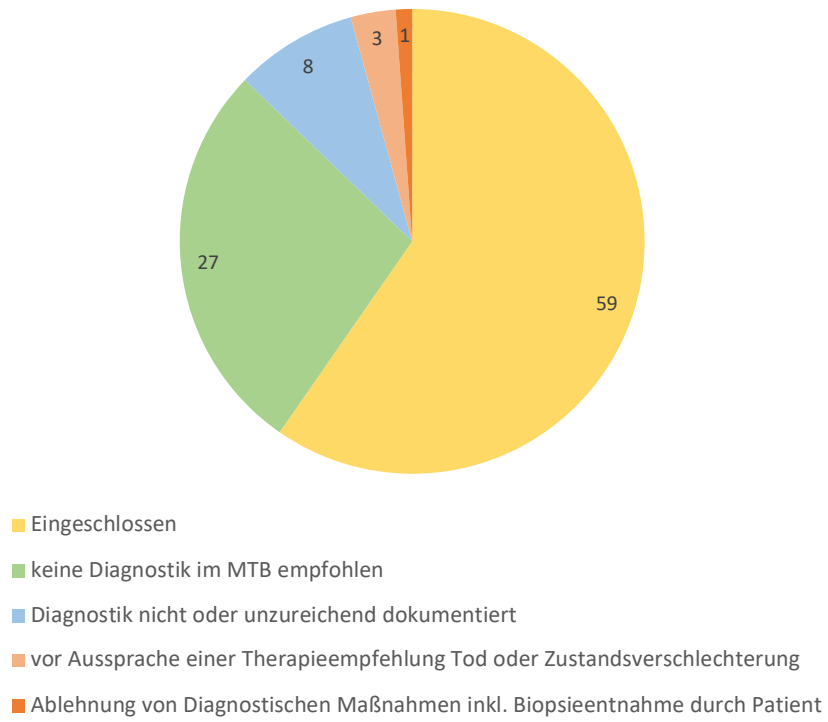


Abbildung 2: Ein- und Ausschluss der Patienten in %.

Ausschlussgründe Diagnostikempfehlungen

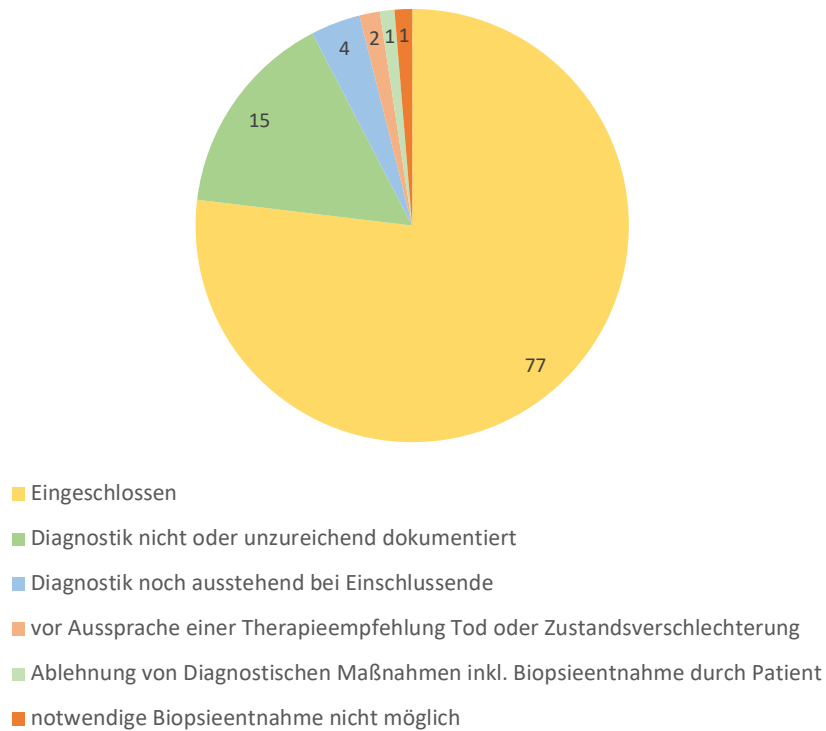


Abbildung 3: Ein- und Ausschluss der Diagnostikempfehlungen in %. Einschlussende: 30.09.2022

Nach Abschluss der Datenerfassung erfolgte eine Auswertung in deskriptiver und schließender Statistik. Dabei wurden insbesondere folgenden Frage adressiert:

Welches diagnostische Prozedere führt zu einer möglichst hohen Therapieempfehlungsrate?

Bietet die WES gegenüber den NGS-Panels einen signifikanten Vorteil bei der Identifikation therapierelevanter Alterationen?

Wäre die WES in der untersuchten Kohorte durch ein rational ausgewähltes NGS-Panel bei vergleichbarer Effektivität ersetzbar?

Datenanalyse: Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mithilfe des Statistikprogrammes Jamovi (Version 2.3). Es erfolgte eine statistische Beratung durch das Institut für Medizinische Biometrie und Statistik (IBMS) der Universität zu Lübeck mit dem Schwerpunkt „Auswertung des progressionsfreien Überlebens“.

Zu unterscheiden sind zwei unterschiedliche Arten der Auswertung, die in dieser Arbeit parallel durchgeführt wurden: Zum einen wurde eine Stratifizierung nach Patienten vorgenommen, sodass Analysen bezogen auf die Patienten mit ihren individuellen diagnostischen Kombinationen ermöglicht wurden, zum anderen erfolgte eine Stratifizierung nach Diagnostikempfehlung, um Analysen bezogen auf einzelne Diagnostikarten zuzulassen. Somit ergeben sich als Maß für den Erfolg der Diagnostik in Bezug auf die Aussprache von Therapieempfehlungen zwei unterschiedliche Endpunkte: In der patientenbezogenen Auswertung ist dies die Patiententherapieempfehlungsrate (PTER), die definiert ist als der Anteil der Patienten mit mindestens einer Therapieempfehlung an allen Patienten mit mindestens einer umgesetzten Diagnostik:

$$PTER = \frac{\text{Patienten mit } \geq 1 \text{ Therapieempfehlung}}{\text{Patienten mit } \geq 1 \text{ umgesetzten Diagnostik}}$$

In der diagnostikbezogenen Auswertung dagegen ist das entsprechende Maß die Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER), die definiert ist als der Anteil der umgesetzten Diagnostikempfehlungen, der zu einer Therapieempfehlung führt:

$$DTER = \frac{\text{Diagnostikempfehlungen mit nachfolgender Therapieempfehlung}}{\text{umgesetzte Diagnostikempfehlungen}}$$

Um den Anteil an Patienten mit erfolgreich umgesetzter Diagnostik darzustellen, wurde eine Ausschlussrate definiert und berechnet:

$$\text{Ausschlussrate} = \left(1 - \frac{\text{Patienten mit abgeschlossener MTB-Diagnostik}}{\text{ursprünglich registrierte Patienten mit geplanter Diagnostik}}\right) \times 100$$

Darüber hinaus erfolgte eine Auswertung der in der Diagnostik identifizierten therapielevanten Alterationen. Bei der Kategorisierung der in den Sequenzierungen festgestellten Alterationen nach betroffenem zellulären Signalweg wurde eine Einteilung nach Horak et al.³⁰ vorgenommen (vgl. Abb. 23).

Die Umsetzung der Therapieempfehlungen sowie das klinische Ansprechen wurden von Laura Klinko erfasst und primär ausgewertet. Nach Zusammenführung der Datensätze erfolgte die gemeinsame statistische Auswertung mit dem klinischen Endpunkt der Progression-Free-Survival-Ratio (PFSr). Diese ist durch folgende Formel definiert:

$$PFSr = \frac{PFS2}{PFS1}$$

PFS1 = progressionsfreies Überleben unter der letzten systemischen Therapie vor Implementation der vom MTB empfohlenen Therapie

PFS2 = progressionsfreies Überleben unter der vom MTB empfohlenen Therapie

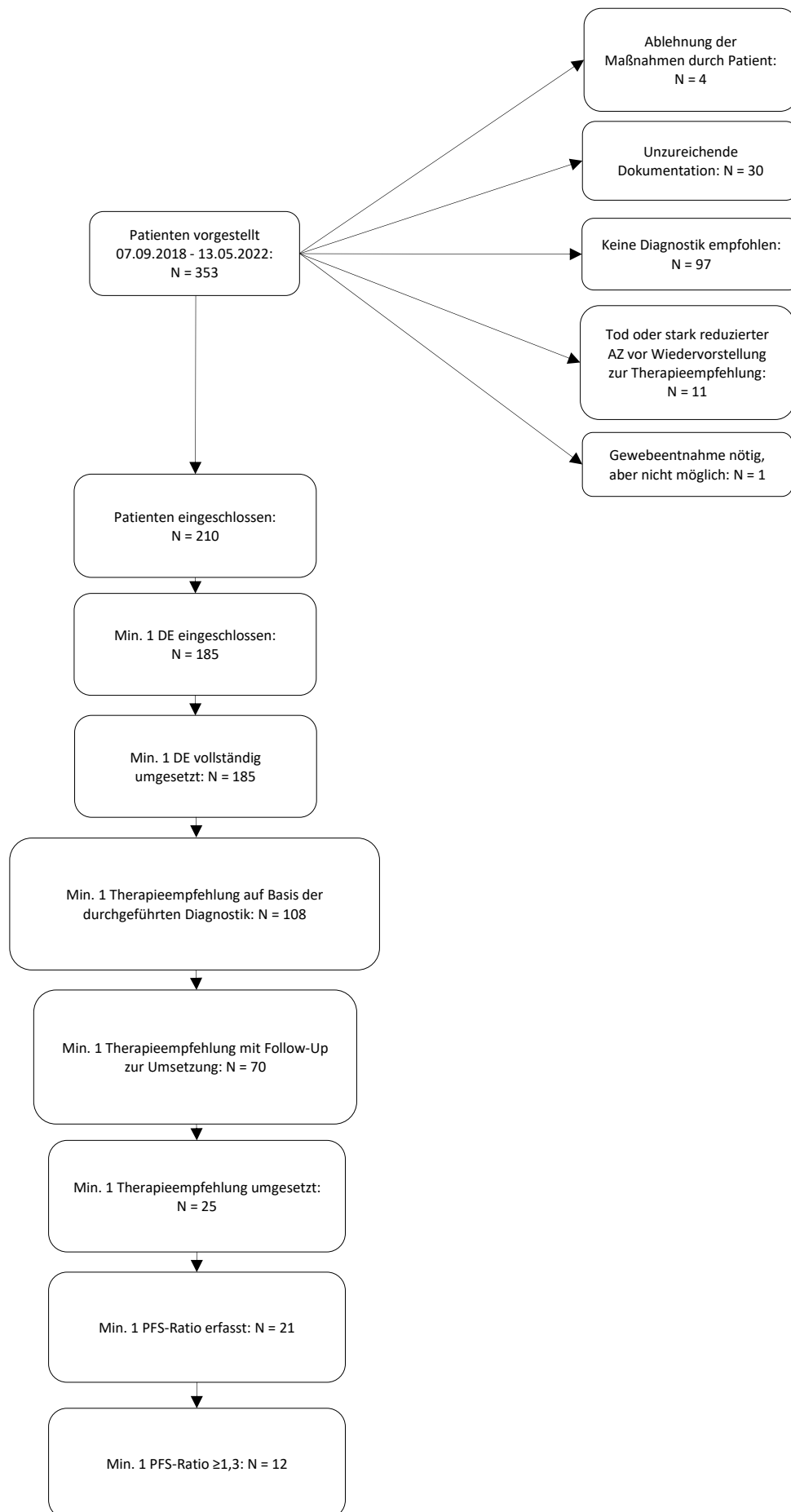
PFS1 und PFS2 wurden jeweils in Tagen gemessen, Beginn des Intervalls war der letzte Progress vor Einleitung der Therapie und Ende des Intervalls war der erste Progress nach Einleitung der Therapie. Ein Progress galt als eingetreten, wenn entweder radiologisch oder laborchemisch ein Fortschreiten der Erkrankung zu beobachten war.

Da der ausgewertete Datensatz der PFSr einer rechtsschiefen Verteilung folgt, wurde in dieser Arbeit der natürliche Logarithmus gebildet ($\ln(\text{PFSr})$), sodass annähernd eine Normalverteilung entsteht und auch dies fordernde statistische Auswertungen möglich sind (Anhang 5). Daraus folgt, dass der Schwellenwert für eine Überlegenheit der MTB-Therapie bei null liegt, positive Werte zeigen ein längeres Ansprechen auf die MTB-Therapie als auf die Vortherapie.

In der deskriptiven Patienten- und Diagnostikauswertung erfolgte unter anderem eine Betrachtung der in Tabelle 1 und Abbildung 3 dargestellten Parameter.

	Gesamt (N=210)
Geschlecht	
w	120 (57.1%)
m	90 (42.9%)
Alter	
Durchschnitt (Standardabweichung)	55,4 (14,1)
Spannweite	15,0 - 95,0
Jahr	
2018	2 (1,0%)
2019	30 (14,3%)
2020	66 (31,4%)
2021	67 (31,9%)
2022	45 (21,4%)
N MTB-Vorstellungen pro Patient	
Durchschnitt (Standardabweichung)	2,2 (0,9)
Spannweite	1,0 - 6,0
N Diagnostikempfehlungen	
Durchschnitt (Standardabweichung)	2,2 (1,0)
Spannweite	1,0 - 5,0
N Diagnostikempfehlungen vollständig durchgeführt	
Durchschnitt (Standardabweichung)	1,6 (1,0)
Spannweite	0,0 - 5,0
N Therapieempfehlungen	
Durchschnitt (Standardabweichung)	0,6 (0,7)
Spannweite	0,0 - 3,0
IHC empfohlen	
ja	137 (65,2%)
nein	73 (34,8%)
FISH empfohlen	
ja	50 (23,8%)
nein	160 (76,2%)
Panel empfohlen	
ja	79 (37,6%)
nein	131 (62,4%)
WES empfohlen	
ja	132 (62,9%)
nein	78 (37,1%)
RNA empfohlen	
ja	39 (18,6%)
nein	171 (81,4%)
OTHER empfohlen	
ja	21 (10,0%)
nein	189 (90,0%)

Tabelle 1: Patientenkollektiv (w = weiblich; m = männlich; Jahr = Jahr der ersten Vorstellung des Patienten im MTB; IHC/FISH/Panel/WES/RNA/OTHER empfohlen = min. eine Diagnostikempfehlung in der jeweiligen Diagnostikart wurde bei dem jeweiligen Patienten empfohlen).



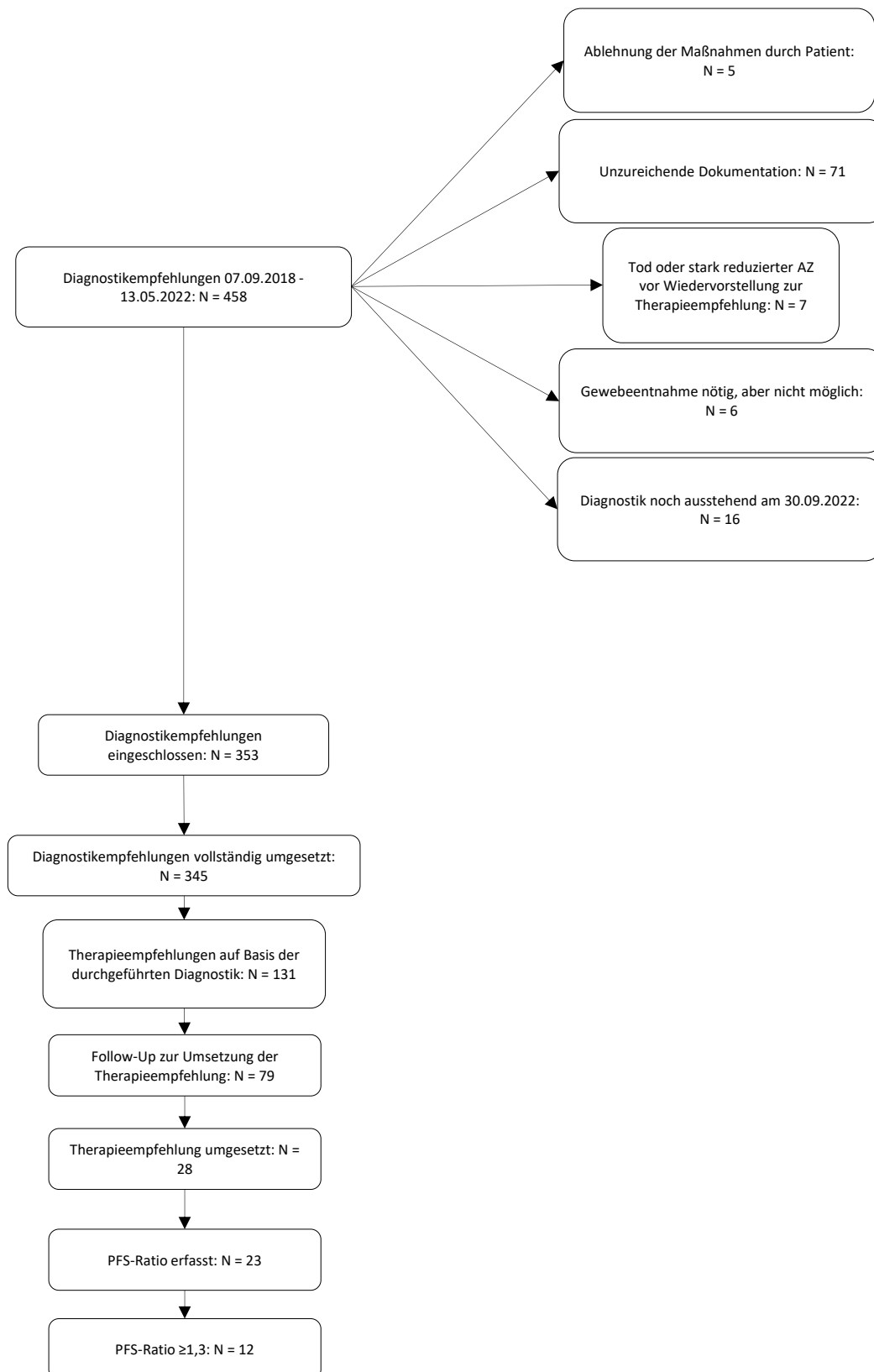


Abbildung 4: Flussdiagramm der im MTB vorgestellten Patienten sowie ausgesprochenen Diagnostikempfehlungen. DE = Diagnostikempfehlung; PFS-Ratio = progression-free-survival-ratio; AZ = Allgemeinzustand.

Die zeitliche Entwicklung des MTB am UCCSH wurde deskriptiv nach Anzahl der Empfehlungen und Anzahl der erfolgreichen Durchführungsschritte der Diagnostik ausgewertet (Abb. 5, 6).

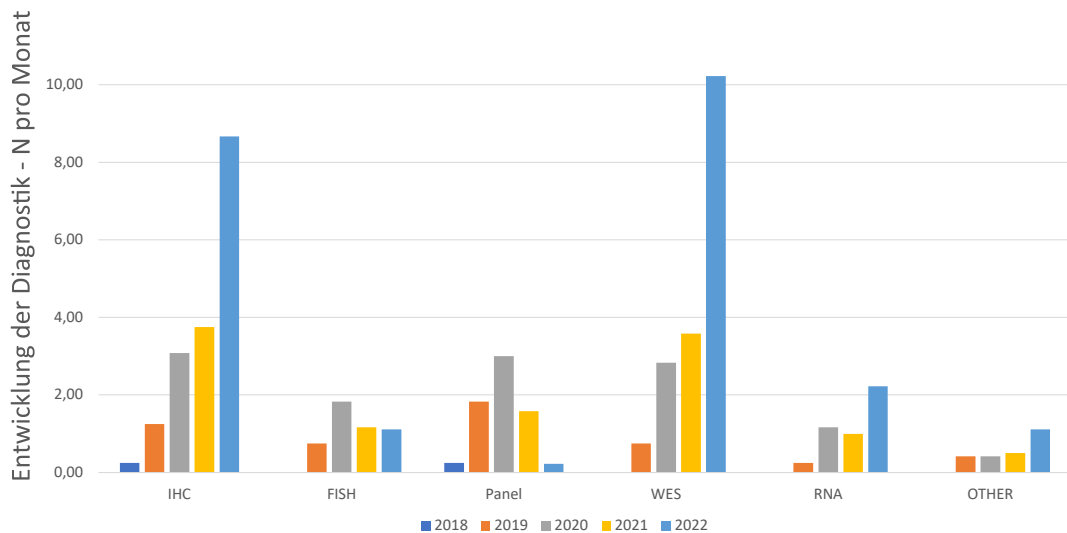


Abbildung 5: Anzahl der Diagnostikempfehlungen pro Monat nach Diagnostikart und Jahr.

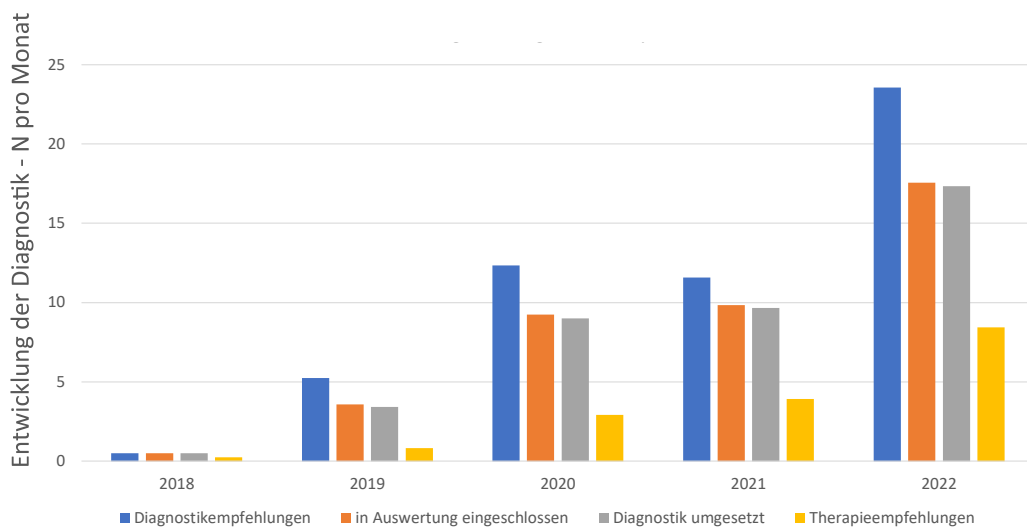


Abbildung 6: Entwicklung der Diagnostik in Anzahl N pro Monat, gruppiert nach Einschluss in die Auswertung, Umsetzung und aus der Diagnostik folgender Therapieempfehlung sowie nach Jahr.

Die Patienten mit durchgeführter IHC sowie durchgeführtem Panel wurden jeweils nach Art des IHC-Markers bzw. nach Art des Panels deskriptiv ausgewertet (Abb. 7, 8).

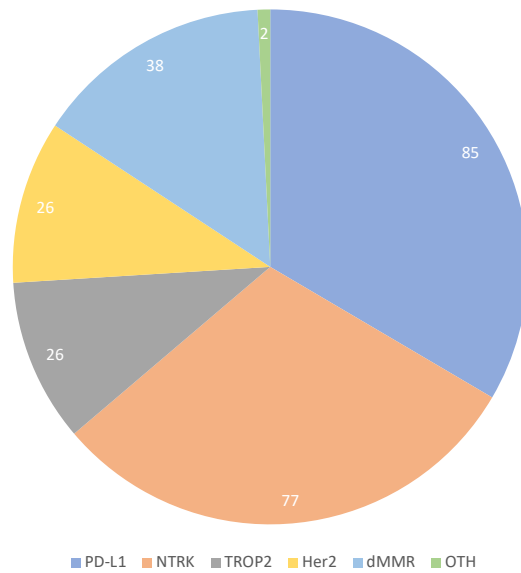


Abbildung 7: Anzahl der Patienten mit Empfehlung zu den IHC-Markern PD-L1, NTRK, TROP-2, Her2, dMMR und anderen (OTH).

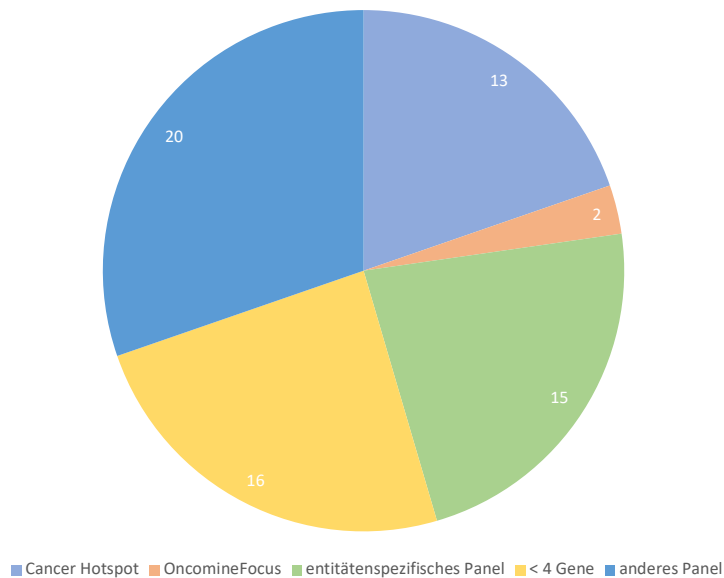


Abbildung 8: Anzahl der Patienten mit durchgeführtem NGS-Panel nach Art des Panels gruppiert. Das Cancer Hotspot Panel prüft 50 Gene, das OncomineFocus Panel prüft 52 Gene.

Es erfolgte eine Auswertung der PTER in Abhängigkeit der Anzahl umgesetzter Diagnostikempfehlungen (Abb. 9). Zusätzlich wurde die Korrelation der Anzahl an umgesetzten Diagnostikempfehlungen mit der Anzahl an Therapieempfehlungen bei demselben Patienten untersucht. Dazu wurde der Spearman's-Rho-Korrelationskoeffizient berechnet (Tab. 2; Abb. 10).

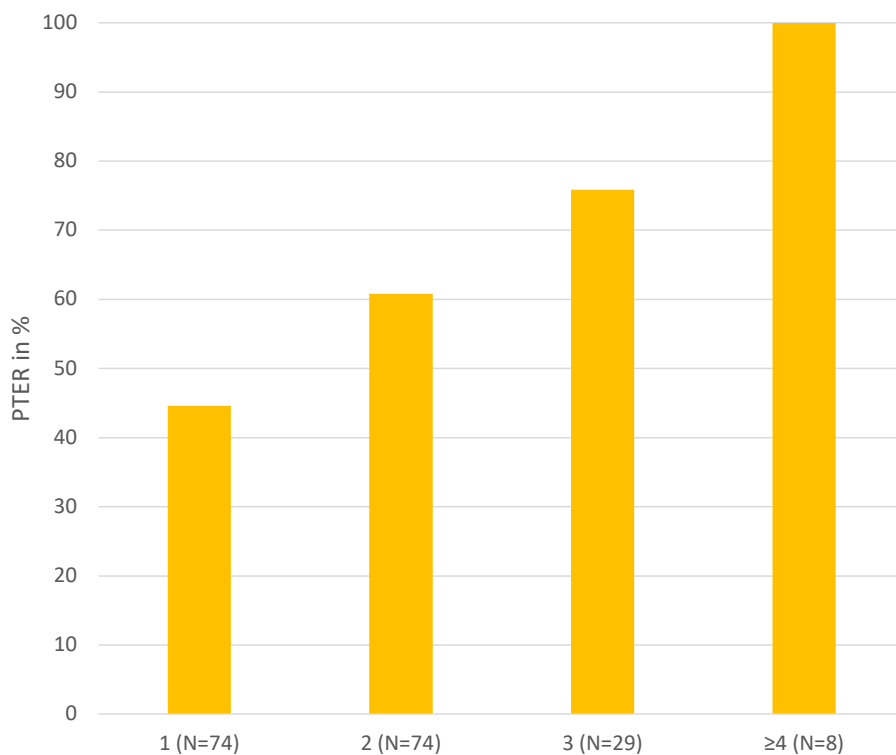


Abbildung 9: Patiententherapieempfehlungsrate (PTER) nach Anzahl der umgesetzten Diagnostikempfehlungen gruppiert. In Klammern steht jeweils die Anzahl an Patienten in der jeweiligen Gruppe.

		N Therapieempfehlungen
N Diagnostikempfehlungen umgesetzt	Spearman's rho	0.462
	p-Wert	<.001
	N	210

Tabelle 2: Korrelation zwischen Anzahl (N) umgesetzter Diagnostikempfehlungen und Anzahl (N) Therapieempfehlungen.

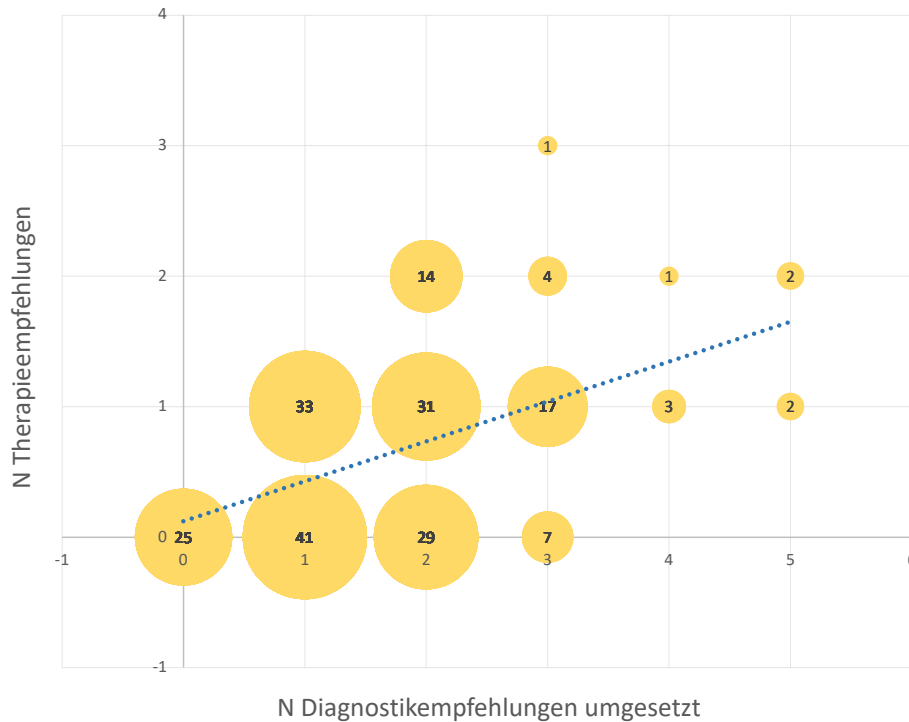


Abbildung 10: Korrelationsdiagramm für die Korrelation zwischen Anzahl (N) umgesetzter Diagnostikempfehlungen und Anzahl (N) Therapieempfehlungen bei demselben Patienten. Der Durchmesser der Datenpunkte ist abhängig von der zugrundeliegenden Fallzahl der jeweiligen Kombination aus N Diagnostikempfehlungen umgesetzt und N Therapieempfehlungen. Diese Fallzahl ist im Zentrum eines jeden Datenpunktes angegeben.

Zur Analyse der PTER in Abhängigkeit des Jahres der ersten Vorstellung des Patienten im MTB wurde neben einer deskriptiven Darstellung auch ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt (Abb. 11).

≥1 Therapieempfehlung	Jahr				Gesamt
	2019	2020	2021	2022	
nein	18	37	23	7	85
ja	12	29	44	22	107
Gesamt	30	66	67	29	192

χ ² Tests			
	Wert	df	p
χ ²	14.2	3	0.003
N	192		

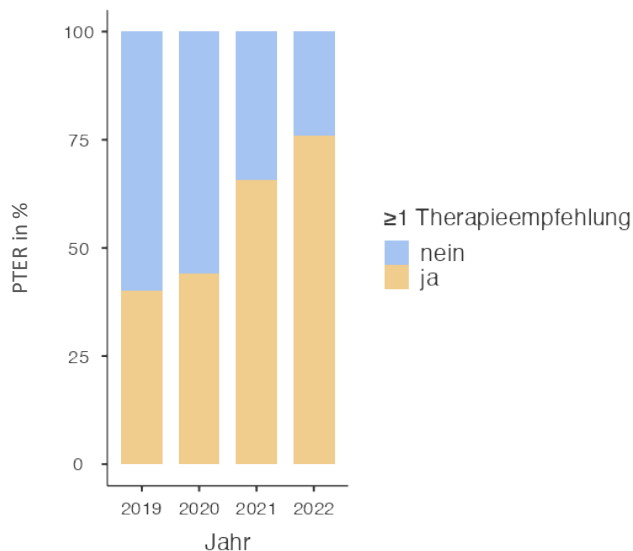


Abbildung 11: Patiententherapieempfehlungsrate (PTER), gruppiert nach Jahr der ersten Vorstellung im MTB. Der durchgeführte Chi-Quadrat-Test ist signifikant. Nicht berücksichtigt wurde das Jahr 2018 aufgrund sehr niedriger Fallzahl (N=2). Ausgeschlossen wurden für diese Auswertung Patienten, bei denen zum Zeitpunkt des Einschliessendes bereits empfohlene Diagnostik noch ausstehend, also noch nicht umgesetzt, war (N=16).

Die Diagnostikarten NGS-Panel und WES wurden direkt miteinander verglichen. Dazu wurde für die Patienten mit umgesetzter Therapieempfehlung, die auf WES oder Panel basierte, die Ln(PFSr) sowie der Anteil der Patienten mit PFSr $\geq 1,3$ in Abhängigkeit der Diagnostikart untersucht. Hierbei wurden ein T-Test und ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt (Abb. 12, 13).

t-Test für unabhängige Stichproben

	Statistik	df	P	Mittlere Differenz	Std.-fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall		Effektstärke	95% Konfidenzintervall			
						Untere	Obere		Untere	Obere		
Ln(PFSr)	Student's t	-1.67	18.0	0.112	-1.01	0.603	-2.27	0.258	Cohens d	-0.864	-1.99	0.339

Anmerkung. $H_a: \mu_{\text{Panel}} \neq \mu_{\text{WES}}$

Deskriptivstatistik für die Gruppen

	Gruppe	N	Mittelwert	Median	Std.-abw.	Std.-fehler
Ln(PFSr)	Panel	5	-0.479	-0.232	1.02	0.458
	WES	15	0.529	0.763	1.20	0.311

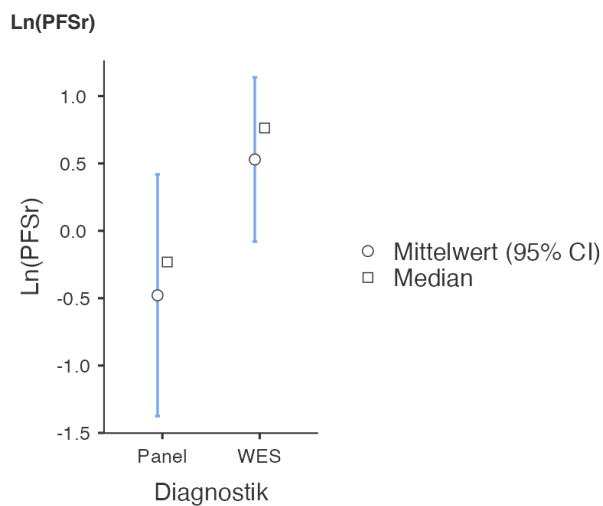


Abbildung 12: Ln(PFSr), gruppiert nach Art der Diagnostik, auf der die umgesetzte Therapie basiert (nur WES und NGS-Panel berücksichtigt). Der durchgeführte T-Test zeigt keinen signifikanten Unterschied beider Gruppen. Zusätzlich sind der Mittelwert mit dem 95%-Konfidenzintervall sowie der Median für beide Gruppen dargestellt.

PFSr $\geq 1,3$	Diagnostik		Gesamt
	WES	PANEL	
nein	5	4	9
ja	10	1	11
Gesamt	15	5	20

χ^2 Tests

	Wert	df	p
χ^2	3.30	1	0.069
N	20		

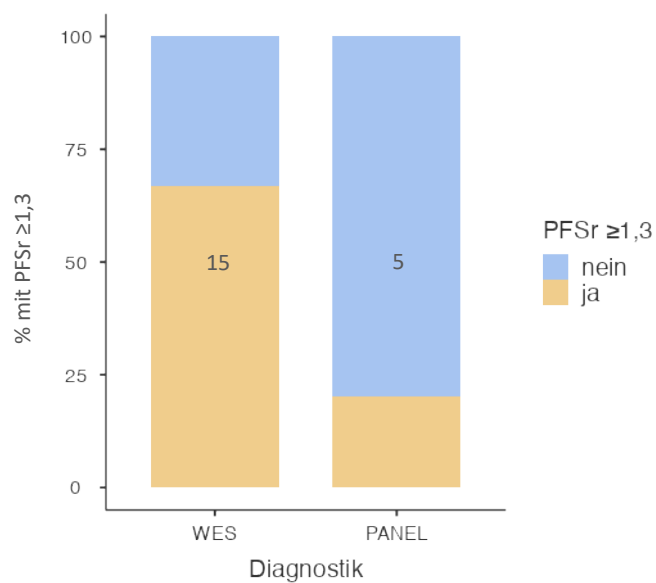


Abbildung 13: Anteil der umgesetzten Therapieempfehlung mit PFSr $\geq 1,3$, gruppiert nach Art der Diagnostik, auf der die umgesetzte Therapie basiert (nur WES und NGS-Panel berücksichtigt). Mittig in den Blöcken des Diagramms ist die jeweils zugrundeliegende Fallzahl angegeben. Der durchgeführte Chi-Quadrat-Test zeigt keinen signifikanten Unterschied beider Gruppen.

Der Zusammenhang zwischen der Art der durchgeführten Diagnostik und der Wahrscheinlichkeit einer darauf basierenden Therapieempfehlung wurde deskriptiv nach Tumorentität (Abb. 14-16; Anhang 1-3) sowie mittels Chi-Quadrat-Test untersucht (Tab. 3).

N umgesetzte Diagnostikempfehlungen	N	N	N	N	N	N	N
Diagnostikart	IHC	FISH	Panel	WES	RNA	OTHER	gesamt
Anal	1	0	0	1	0	0	2
Gallenwege/Leber	3	2	1	6	0	0	12
Harnblase	1	2	2	1	0	1	7
Mamma	26	12	17	22	4	3	84
Gebärmutterhals	1	0	3	2	1	1	8
Kolorektal	11	1	3	6	0	0	21
CUP	3	2	1	5	3	1	15
Endometrium	2	2	1	1	0	0	6
Magen/Ösophagus	4	0	1	4	1	0	10
Kopf/Hals	3	5	6	6	3	0	23
Hämatologisch	0	0	0	1	0	0	1
Lunge	1	0	1	3	1	0	6
Melanom	0	0	2	0	1	0	3
Mehrere	3	1	1	3	0	0	8
NEC / NET	8	2	1	7	1	3	22
Osteosarkom	0	0	0	1	0	0	1
andere	7	1	4	6	3	0	21
Ovar	5	2	6	1	0	0	14
Pankreas	19	3	14	7	1	0	44
Prostata	2	0	0	2	0	0	4
Weichgewebssarkom	9	3	1	13	4	1	31
Schilddrüse	0	1	1	0	0	0	2
gesamt	109	39	66	98	23	10	345

DTER: ≤20% >20% >40% >60% >80%

Abbildung 14: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) farbcodiert in Abhängigkeit der Diagnostikart und der Tumorentität. Für jede Kombination aus Diagnostikart und Tumorentität ist zudem die Anzahl N der in dieser Kombination durchgeführten Diagnostikempfehlungen angegeben.

N umgesetzte Diagnostikempfehlungen	N	N	N	N	N	N	N
IHC-Marker	PD-L1	NTRK	TROP2	Her2	dMMR	andere IHC-Marker	gesamt
Anal	1	1	0	0	1	0	3
Gallenwege/Leber	1	2	0	2	0	0	5
Harnblase	1	1	0	0	0	0	2
Mamma	21	19	7	4	9	1	61
Gebärmutterhals	0	1	0	0	1	0	2
Kolorektal	10	9	1	2	1	0	23
CUP	1	1	0	2	0	0	4
Endometrium	0	0	0	1	1	0	2
Magen/Ösophagus	3	1	1	0	2	1	8
Kopf/Hals	3	2	1	2	1	0	9
Hämatologisch	0	0	0	0	0	0	0
Lunge	0	1	1	0	0	0	2
Melanom	0	0	0	0	0	0	0
Mehrere	2	2	1	2	2	0	9
NEC / NET	7	7	3	0	2	0	19
Osteosarkom	0	0	0	0	0	0	0
andere	5	7	3	0	3	0	18
Ovar	6	3	0	3	4	0	16
Pankreas	16	14	6	8	7	0	51
Prostata	1	1	0	0	2	0	4
Weichgewebssarkom	7	5	2	0	2	0	16
Schilddrüse	0	0	0	0	0	0	0
gesamt	85	77	26	26	38	2	254

DTER: ≤20% >20% >40% >60% >80%

Abbildung 15: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) farbcodiert in Abhängigkeit des durchgeführten IHC-Markers und der Tumorentität. Für jede Kombination aus IHC-Marker und Tumorentität ist zudem die Anzahl N der in dieser Kombination durchgeführten Diagnostikempfehlungen angegeben.

N umgesetzte Diagnostikempfehlungen	N	N	N	N	N	N
	Cancer Hotspot	Oncomine Focus	entitätsspez. Panel	< 4 Gene	anderes Panel	gesamt
Anal	0	0	0	0	0	0
Gallenwege/Leber	0	0	0	0	1	1
Harnblase	0	0	0	1	1	2
Mamma	6	0	0	3	8	17
Gebärmutterhals	0	0	0	0	3	3
Kolorektal	1	0	1	0	1	3
CUP	0	0	0	0	1	1
Endometrium	0	0	0	1	0	1
Magen/Ösophagus	0	0	0	0	1	1
Kopf/Hals	1	2	1	0	2	6
Hämatologisch	0	0	0	0	0	0
Lunge	0	0	0	1	0	1
Melanom	0	0	0	2	0	2
Mehrere	0	0	1	0	0	1
NEC / NET	1	0	0	0	0	1
Osteosarkom	0	0	0	0	0	0
andere	1	0	1	2	0	4
Ovar	1	0	1	3	1	6
Pankreas	2	0	10	2	0	14
Prostata	0	0	0	0	0	0
Weichgewebssarkom	0	0	0	0	1	1
Schilddrüse	0	0	0	1	0	1
gesamt	13	2	15	16	20	66

DTER: ≤20% >20% >40% >60% >80%

Abbildung 16: Diagnostiktherapieempfehlungsrates (DTER) farbcodiert in Abhängigkeit des durchgeführten NGS-Panels und der Tumorentität. Für jede Kombination aus NGS-Panel und Tumorentität ist zudem die Anzahl N der in dieser Kombination durchgeführten Diagnostikempfehlungen angegeben. Das Cancer Hotspot Panel prüft 50 Gene, das OncomineFocus Panel prüft 52 Gene.

Therapieempfehlung	Diagnostik						Gesamt
	IHC	FISH	Panel	WES	RNA	OTHER	
ja	15	4	22	82	6	2	131
nein	94	35	44	16	17	8	214
Total	109	39	66	98	23	10	345

χ^2 Tests

	Wert	df	p
χ^2	130	5	<.001
N	345		

Tabelle 3: Chi-Quadrat Test. Untersucht wird der Zusammenhang zwischen der Diagnostikart und der Aussprache einer darauf basierenden Therapieempfehlung (DTER). Der Test ist signifikant.

Zusätzlich wurde für die WES und die Paneldiagnostik ein gesonderter Chi-Quadrat-Test durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen der Diagnostikart und der DTER zu untersuchen (Abb. 17). Da über die untersuchten Jahre hinweg die NGS-Panels zunehmend seltener und die WES häufiger empfohlen wurden und gleichzeitig eine insgesamt steigende DTER zu beobachten war (Abb. 6), erfolgte eine Testung für jedes einzelne Jahr seit 2019, um die zeitliche Entwicklung der Diagnostikwelt berücksichtigen zu können (Abb. 18). Im Jahr 2018 wurden keine WES durchgeführt, sodass für dieses Jahr kein Vergleich möglich war.

Therapieempfehlung	Diagnostik		Gesamt
	Panel	WES	
nein	44	16	60
ja	22	82	104
Gesamt	66	98	164

χ^2 Tests

	Wert	df	p
χ^2	43.1	1	<.001
N	164		

	Wert
Odds ratio	10.3

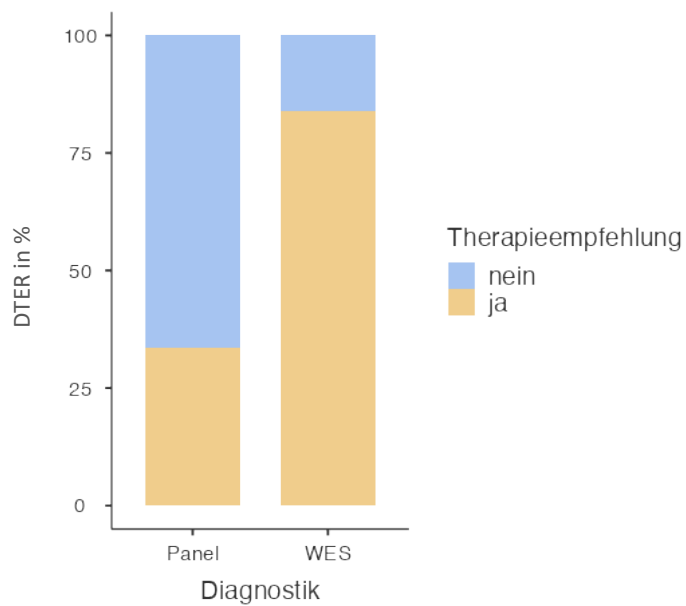


Abbildung 17: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) für WES und NGS-Panel im direkten Vergleich. Der durchgeführte Chi-Quadrat-Test ist signifikant.

Jahr	Therapieempfehlung	Diagnostik		Gesamt
		Panel	WES	
2019	nein	14	0	14
	ja	2	6	8
	Gesamt	16	6	22
2020	nein	21	4	25
	ja	10	20	30
	Gesamt	31	24	55
2021	nein	8	6	14
	ja	9	31	40
	Gesamt	17	37	54
2022	nein	1	6	7
	ja	0	25	25
	Gesamt	1	31	32
Total	nein	44	16	60
	ja	21	82	103
	Gesamt	65	98	163

χ^2 Tests				
Jahr	Wert	df	p	
2019	χ^2	14.44	1	<.001
	N	22		
2020	χ^2	14.23	1	<.001
	N	55		
2021	χ^2	5.77	1	0.016
	N	54		
2022	χ^2	3.69	1	0.055
	N	32		
Gesamt	χ^2	44.33	1	<.001
	N	163		

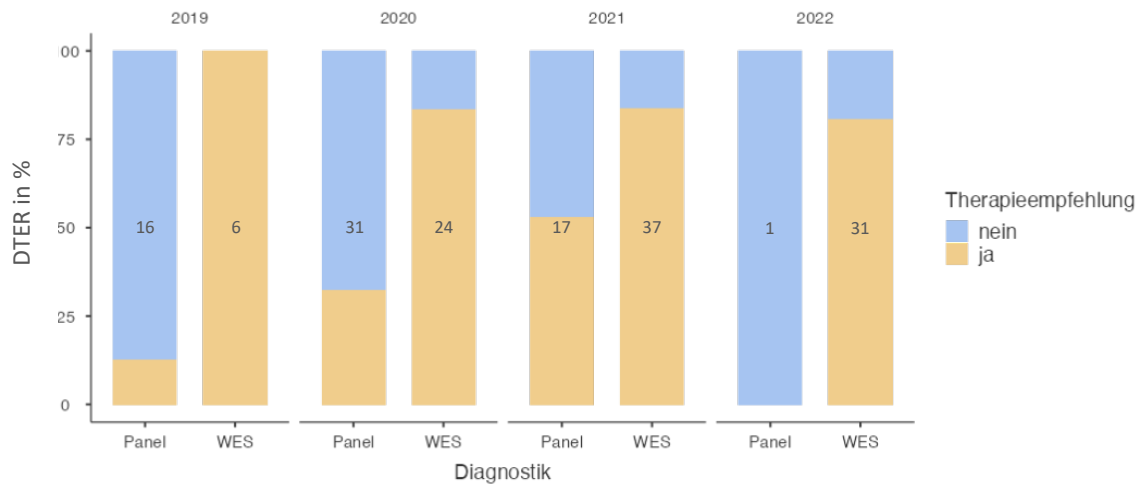


Abbildung 18: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) für WES und NGS-Panel in Abhängigkeit des Jahres der Diagnostikempfehlung. Mittig in den Blöcken des Diagramms ist die jeweils zugrundeliegende Fallzahl angegeben. Das Jahr 2018 ist aufgrund sehr geringer Fallzahl (N=1) aus dieser Auswertung ausgeschlossen worden. Der Chi-Quadrat-Test für den Vergleich von WES und Panel ist mit Ausnahme des Jahres 2022 (N=1 für Panel, daher nur bedingt aussagekräftig) signifikant.

Gesondert betrachtet wurden die Fälle, in denen sequenziell zunächst ein Panel und anschließend eine WES durchgeführt wurden (Tab. 4).

Sequenzielle Durchführung Panel - WES	11	<i>% an Fällen mit sequenziell durchgeführter WES (N=11)</i>
WES führt zu ThE	10	91
WES führt zu keiner ThE	1	9

Tabelle 4: Fälle mit sequenzieller Durchführung von zuerst NGS-Panel und im weiteren zeitlichen Verlauf WES. Die mittlere Spalte zeigt die Anzahl N der jeweiligen Fälle. ThE=Therapieempfehlung

Die Zeit in Tagen von der Empfehlung einer Diagnostik bis zur darauf basierenden Therapieempfehlung wurde als Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) definiert. In Abgrenzung dazu wurde die dazu analoge Zeit ab Vorhandensein allen für die Diagnostik notwendigen Materials als Material-Turnaround-Time (MTT) definiert. Beide Größen wurden mittels natürlichen Logarithmus transformiert, um eine Normalverteilung zu erreichen und damit die Anwendung dies erfordernder statistischer Tests zu ermöglichen (Anhang 6, 7).

ETT und MTT wurden deskriptiv nach Diagnostikart gruppiert ausgewertet (Tab. 5; Abb. 19). Für WES und Panel wurden beide Größen mittels T-Test miteinander verglichen (Abb. 20).

	Diagnostik	ETT	MTT	Ln(ETT)	Ln(MTT)
N	IHC	80	68	80	68
	FISH	30	27	30	27
	Panel	51	44	51	44
	WES	96	61	96	61
	RNA	23	16	23	16
	OTHER	8	5	8	5
Mittelwert	IHC			4.01	3.53
	FISH			4.10	3.68
	Panel			3.81	3.40
	WES			4.52	4.01
	RNA			4.35	4.30
	OTHER			3.85	3.50
Median	IHC	56.0	39.5	4.03	3.67
	FISH	63.0	38.0	4.14	3.64
	Panel	42.0	29.5	3.74	3.38
	WES	84.0	53.0	4.43	3.97
	RNA	80.0	75.0	4.38	4.32
	OTHER	56.0	36.0	3.99	3.58
Standardabweichung	IHC	60.3	33.8	0.802	0.805
	FISH	89.3	71.5	0.830	0.787
	Panel	80.6	58.3	0.841	0.779
	WES	84.9	41.9	0.591	0.482
	RNA	58.4	55.5	0.558	0.491
	OTHER	81.4	47.0	1.12	1.01

Tabelle 5: Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) und Material-Turnaround-Time (MTT) in Abhängigkeit der durchgeführten Diagnostikart. Um eine Normalverteilung zu erreichen, wurden beide Größen mittels natürlichen Logarithmus (Ln) transformiert, sodass u.a. der Mittelwert aussagekräftig berechnet werden kann.

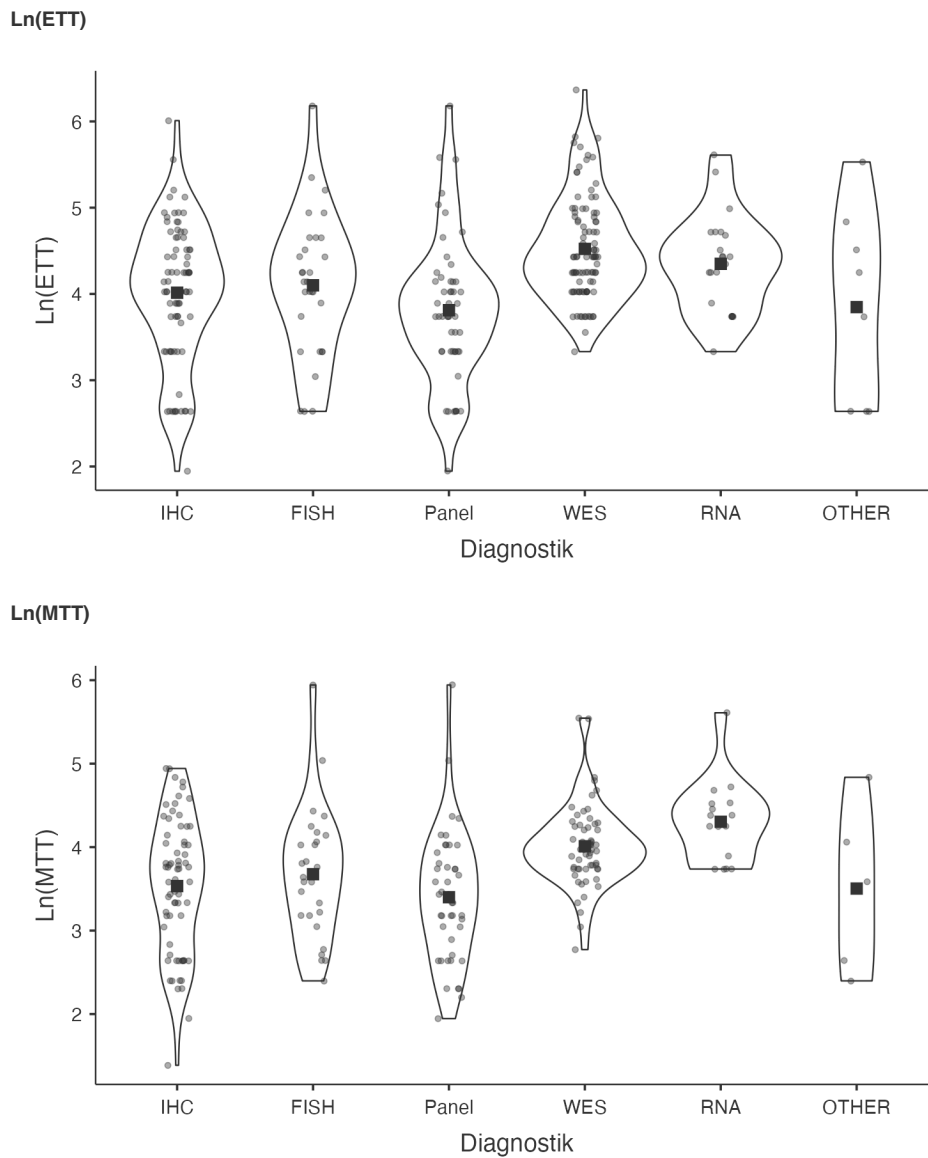


Abbildung 19: Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) und Material-Turnaround-Time (MTT) in Abhängigkeit der Diagnostikart. Um eine Normalverteilung zu erreichen, wurden beide Größen mittels natürlichen Logarithmus (Ln) transformiert. Die Mittelwerte sind als schwarze Quadrate in die Violinendiagramme eingezeichnet.

	Statistik	df	p	Mittlere Differenz	Std.-fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall		Cohens d	Effektstärke	95% Konfidenzintervall	
						Untere	Obere			Untere	Obere
Ln(ETT)	Student's t	-5.97 ^a	145	<.001	-0.711	0.119	-0.947	-0.476	-1.034	-1.43	-0.635
Ln(MTT)	Student's t	-4.95 ^a	103	<.001	-0.610	0.123	-0.855	-0.366	-0.979	-1.41	-0.535

Anmerkung. $H_a \mu_{\text{Panel}} \neq \mu_{\text{WES}}$

^a Der Levene-Test ist signifikant ($p < 0,05$), was auf eine Verletzung der Annahme gleicher Varianzen hindeutet

Deskriptivstatistik für die Gruppen

	Gruppe	N	Mittelwert	Median	Std.-abw.	Std.-fehler
Ln(ETT)	Panel	51	3.81	3.74	0.841	0.118
	WES	96	4.52	4.43	0.591	0.0604
Ln(MTT)	Panel	44	3.40	3.38	0.779	0.117
	WES	61	4.01	3.97	0.482	0.0617

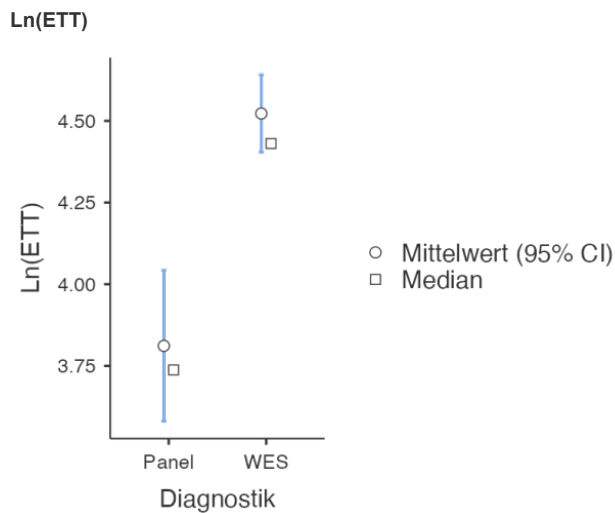


Abbildung 20: T-Test für den Vergleich von WES und Panel hinsichtlich der Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) sowie der Material-Turnaround-Time (MTT). Um eine Normalverteilung zu erreichen, wurden beide Größen mittels natürlichen Logarithmus (Ln) transformiert. Für beide Größen zeigt sich ein signifikanter Unterschied. Zusätzlich sind der Mittelwert mit dem 95%-Konfidenzintervall sowie der Median für beide Gruppen dargestellt.

Die ETT wurde deskriptiv sowie mittels T-Test nach Vorhandensein der notwendigen Gewebeprobe zum Zeitpunkt der Diagnostikempfehlung gruppiert ausgewertet (Tab. 6; Abb. 21).

	Gewebe intern vorhanden?	Ln(ETT)
N	ja	122
	nein	111
Mittelwert	ja	3.91
	nein	4.38
Median	ja	4.03
	nein	4.34
Standardabweichung	ja	0.794
	nein	0.742

Tabelle 6: Deskriptive Auswertung der Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) in Abhängigkeit davon, ob zum Zeitpunkt der Diagnostikempfehlung das notwendige Gewebe intern (am UKSH) vorlag oder nicht. Um eine Normalverteilung zu erreichen, wurde die Größe mittels natürlichen Logarithmus (Ln) transformiert.

t-Test für unabhängige Stichproben

	Statistik	df	p	Mittlere Differenz	Std.-fehler der Differenz	95% Konfidenzintervall		Effektstärke	95% Konfidenzintervall			
						Untere	Obere		Untere	Obere		
Ln(ETT)	Student's t	-4.63	231	<.001	-0.467	0.101	-0.666	-0.269	Cohens d	-0.607	-0.875	-0.338

Anmerkung. $H_a: \mu_{ja} \neq \mu_{nein}$

Deskriptivstatistik für die Gruppen

	Gruppe	N	Mittelwert	Median	Std.-abw.	Std.-fehler
Ln(ETT)	ja	122	3.91	4.03	0.794	0.0719
	nein	111	4.38	4.34	0.742	0.0704

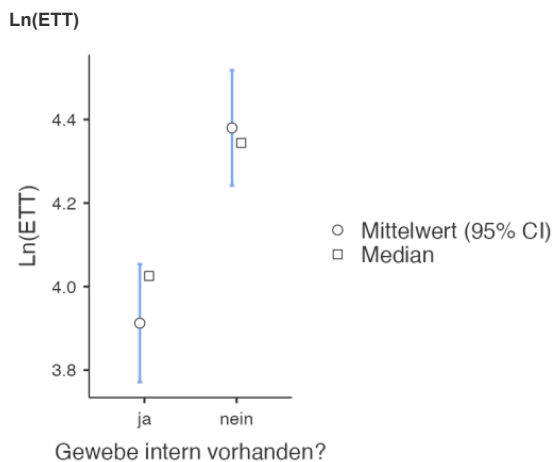


Abbildung 21: T-Test für die Empfehlungs-Turnaround-Time (ETT) in Abhängigkeit davon, ob zum Zeitpunkt der Diagnostikempfehlung das notwendige Gewebe intern (am UKSH) vorlag oder nicht. Um eine Normalverteilung zu

erreichen, wurde die Größe mittels natürlichen Logarithmus (Ln) transformiert. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied der beiden Gruppen. Zusätzlich sind der Mittelwert mit dem 95%-Konfidenzintervall sowie der Median für beide Gruppen dargestellt.

Die in der Diagnostik identifizierten therapierelevanten Alterationen wurden nach betroffenem Gen oder Mutationssignatur bzw. nach IHC-Marker eingeteilt und in ihrer Häufigkeit nach Entitäten geordnet dargestellt (Abb. 22). Zudem wurden die Alterationen aus WES, Panel und RNA acht Biomarkergruppen entsprechend der Einteilung von Horak et al.³⁰ zugeordnet. Grundlage hierfür waren die bei der Alteration involvierten zellulären Pfade und Prozesse (Abb. 23).

Panel	multiple Treibermutationen											
	ATM	BRAF	HER2	KRAS	MET	PS3	PIK3CA	PIK3CB	PTEN	RB1	SED2B	gesamt
Anal												
Gallenwege/Leber												
Harnblase												
Mamma	1	1	1	1	1	1	6	1	1	1	1	15
Gebärmutterhals							1					1
Kolorektal												
CUP												
Endometrium												
Magen/Ösophagus	1				1		1					3
Kopf/Hals							3					3
Hämatologisch												
Lunge												
Melanom												
Mehrere												
NEC / NET				1			1					2
Osteosarkom												
andere				1								1
Ovar					1							1
Pankreas				5			1					6
Prostata												
Weichgewebssarkom												
Schilddrüse												
gesamt	1	1	1	1	7	2	1	1	1	1	13	32

IHC	gesamt		
	HER2	PD-L1	TROP2
Anal			
Gallenwege/Leber	1		1
Harnblase			
Mamma		2	2
Gebärmutterhals			
Kolorektal		1	1
CUP			
Endometrium			
Magen/Ösophagus			
Kopf/Hals			
Hämatologisch			
Lunge			
Melanom			
Mehrere		1	1
NEC / NET		1	1
Osteosarkom			
andere		1	1
Ovar			2
Pankreas	1	1	5
Prostata			7
Weichgewebssarkom			
Schilddrüse			
gesamt	2	3	10

FISH	gesamt			
	HER2	FGFR1	FGFR3	ROS1
Anal				
Gallenwege/Leber				
Harnblase				
Mamma	1		1	2
Gebärmutterhals				
Kolorektal				
CUP				
Endometrium				
Magen/Ösophagus	1			1
Kopf/Hals				
Hämatologisch				
Lunge				
Melanom				
Mehrere				
NEC / NET				
Osteosarkom				
andere				
Ovar				
Pankreas		1		1
Prostata				
Weichgewebssarkom				
Schilddrüse				
gesamt	1	1	1	4

RNA	gesamt					
	BCOR-CCNB3	EGFR	ERBB3	EZH2	FGFR2-IVALT1	FGFR3
Anal						
Gallenwege/Leber						
Harnblase						
Mamma		1			1	2
Gebärmutterhals		1				1
Kolorektal						
CUP		1				1
Endometrium						
Magen/Ösophagus						
Kopf/Hals				1		1
Hämatologisch						
Lunge						
Melanom						
Mehrere						
NEC / NET						
Osteosarkom						
andere				1		1
Ovar						
Pankreas						
Prostata						
Weichgewebssarkom	1					1
Schilddrüse						
gesamt	1	1	2	1	1	7

OTHER	gesamt				
	AKT1	BRCA2	MSI	RAD54L	TMB
Anal					
Gallenwege/Leber					
Harnblase		1			1
Mamma					
Gebärmutterhals	1		1	1	1
Kolorektal					
CUP					
Endometrium					
Magen/Ösophagus					
Kopf/Hals					
Hämatologisch					
Lunge					
Melanom					
Mehrere					
NEC / NET					
Osteosarkom					
andere					
Ovar					
Pankreas					
Prostata					
Weichgewebssarkom					
Schilddrüse					
gesamt	1	1	1	1	5

Anzahl: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10+

Abbildung 22: Identifizierte therapierelevante Alterationen, sortiert nach Diagnostikart. Die Anzahl der Alterationen ist für jede Zeile der Diagramme numerisch angegeben und zusätzlich farbcodiert. Jede Zeile entspricht einer Tumorentität. Für die WES sind alle Gene, die auch im Cancer Hotspot Panel V2 enthalten sind, blau hervorgehoben. *dMMR: nur anteilig im CHPv2 abgedeckt (nur MLH1); dies ist für drei Fälle relevant, in denen die Mutation auch im CHPv2 identifizierbar gewesen wäre.



Abbildung 23: Anzahl der in WES, NGS-Panel und RNA-Sequenzierung identifizierten therapierelevanten Alterationen nach Biomarkergruppe. Die Einteilung erfolgte in die von Horak et al. ³⁰ verwendeten Gruppen, die auf den involvierten zellulären Pfaden und Prozessen basieren. IE = Immunevasion, DDR = DNA-Schadensreparatur, PAM = PI3K-AKT-mTOR, RME = RAS-MEK-ERK, TK = Tyrosinkinase, CC = Zellzyklus, DEV = Entwicklungsregulation, OTH = andere.

Um die WES als Alternative zum NGS-Panel zu bewerten, wurde das Cancer Hotspot Panel v2 (CHPv2) der Firma Thermo Fisher Scientific als entitätenunspezifisches Panel mit 50 Genen ausgewählt. Es wurde im Sinne eines virtuellen Panels bestimmt, welche der in der WES nachgewiesenen therapielevanten Alterationen auch im CHPv2 identifizierbar gewesen wären. Dazu wurde für jede Therapieempfehlung, die auf Basis einer durchgeführten WES ausgesprochen wurde, geprüft, ob das veränderte Gen grundsätzlich im CHPv2 abgefragt wird. Außerdem wurde untersucht, ob die in der WES zur Therapieempfehlung führende Variante innerhalb dieses Gens im CHPv2 identifizierbar ist. Letzteres ist Voraussetzung für die Ableitung einer Therapieempfehlung.

Auf dieser Grundlage wurden drei Gruppen gebildet:

- A) Therapieempfehlungen, die auch auf Basis eines CHPv2 aussprechbar gewesen wären, weil die konkrete Alteration dort abgefragt wird
- B) Therapieempfehlungen, die nur auf Basis einer WES aussprechbar waren, weil nur das Gen, nicht aber die konkrete Variante Teil des CHPv2 ist
- C) Therapieempfehlungen, die ebenfalls nur auf Basis einer WES aussprechbar gewesen wären, weil weder das Gen, noch die konkrete Variante Teil des CHPv2 sind (Abb. 24).

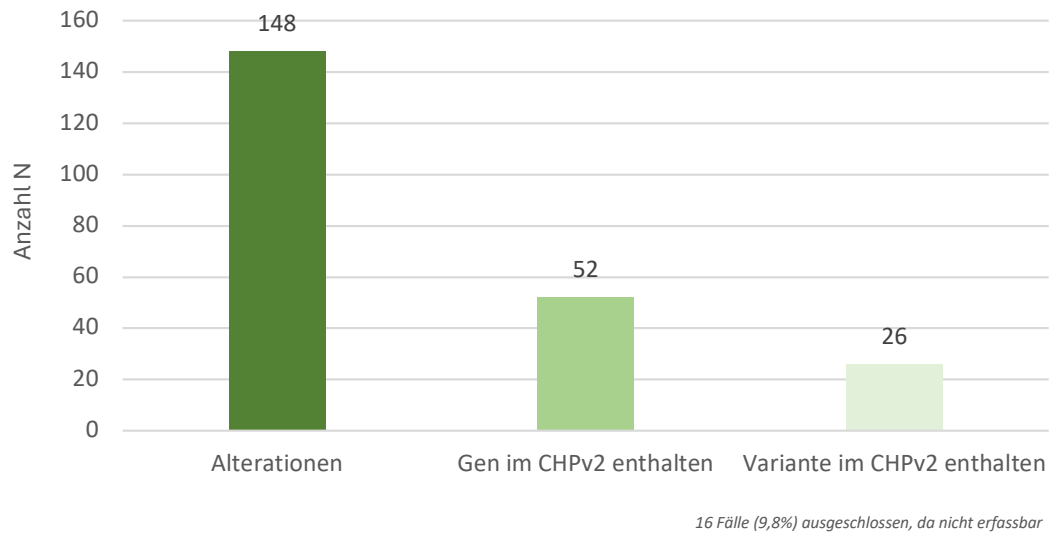


Abbildung 24: Vergleich der WES mit dem Cancer Hotspot Panel V2 (CHPv2): Von 148 in der WES identifizierten therapierelevanten Alterationen wäre bei 52 das betroffene Gen im CHPv2 enthalten gewesen und bei 26 wäre darüber hinaus auch die konkret alterierte Variante identifizierbar gewesen (im Text Gruppe A). 16 Fälle wurden in dieser Analyse ausgeschlossen, da die Identifizierbarkeit der Alteration im CHPv2 nicht erfassbar war.

Mittels deskriptiver Darstellung wurde die Ln(PFSr) in Abhängigkeit davon, ob das therapierelevante Gen im CHPv2 enthalten ist, verglichen (Tab. 7; Abb. 25).

	Gen im CHPv2 enthalten?	Ln(PFSr)
N	ja	5
	nein	10
Mittelwert	ja	0.199
	nein	0.695
Median	ja	0.567
	nein	1.05
Standardabweichung	ja	1.16
	nein	1.25
Minimum	ja	-1.84
	nein	-1.57
Maximum	ja	0.999
	nein	2.07

Tabelle 7: Ln(PFSr) der WES-basierten Therapieumsetzungen. Gruppirt wurde in Abhängigkeit davon, ob das therapierelevant alterierte Gen auch im CHPv2 enthalten ist.

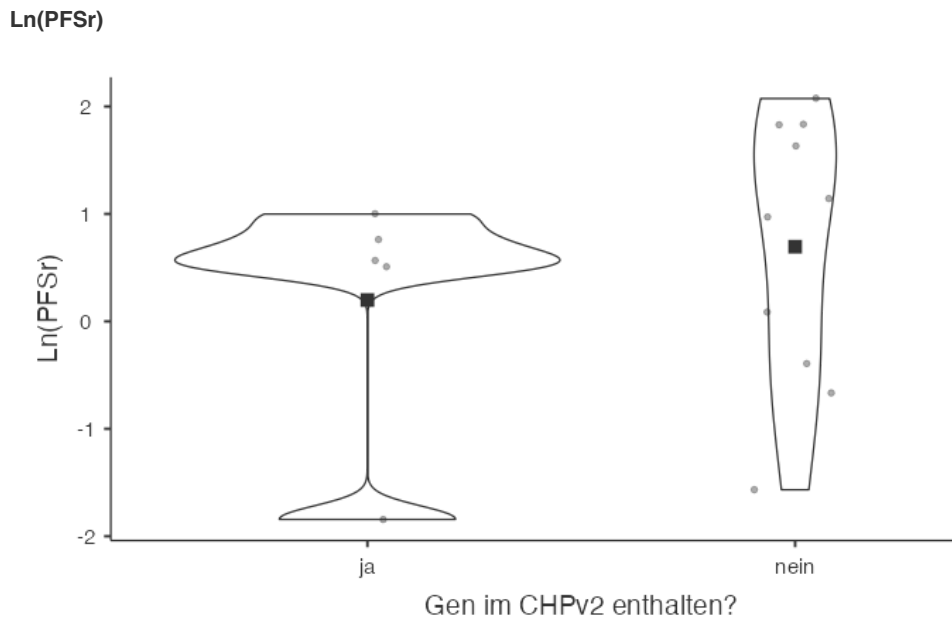


Abbildung 25: $\text{Ln}(\text{PFSr})$ der WES-basierten Therapieumsetzungen. Gruppirt wurde in Abhängigkeit davon, ob das therapierelevant alterierte Gen auch im CHPv2 enthalten ist. Im Violinendiagramm sind die Mittelwerte jeweils als schwarzes Quadrat eingezeichnet. CHPv2 = Cancer Hotspot Panel v2.

Zusätzlich wurden die Evidenzlevel (LoE für English Level of Evidence) der Gruppen A und B deskriptiv sowie mittels Chi-Quadrat-Test miteinander verglichen (Abb. 26).

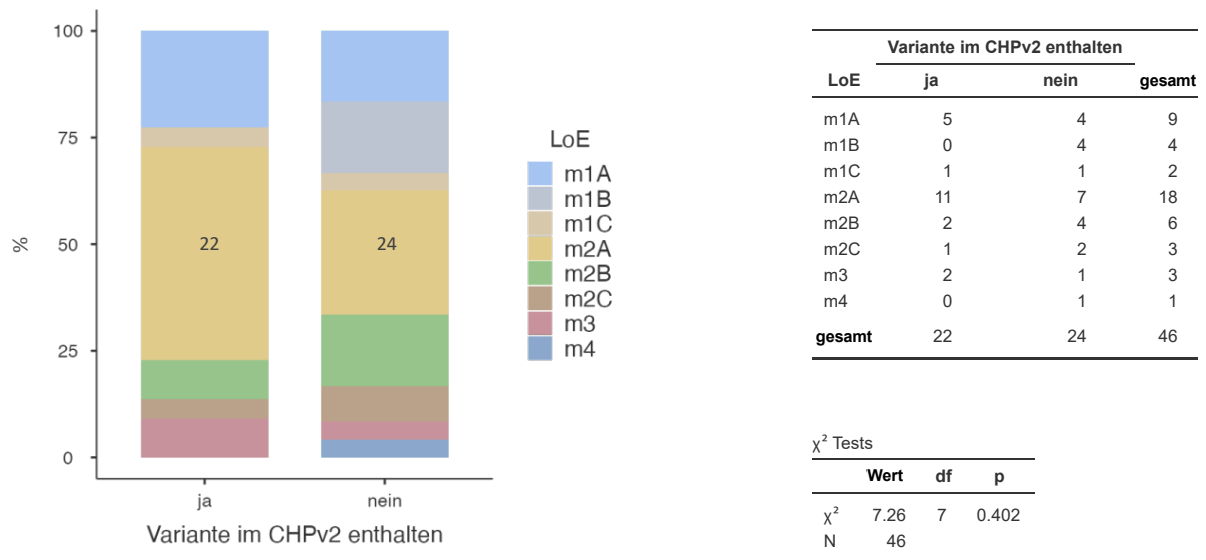


Abbildung 26: Evidenzlevel (LoE) der WES-basierten Therapieempfehlungen. Gezeigt sind nur die Fälle, in denen das veränderte Gen auch im Cancer Hotspot Panel v2 (CHPv2) enthalten ist. Unterschieden wird hier, ob auch die exakte veränderte Variante im CHPv2 sequenziert wird („ja“, im Text Gruppe A) oder nicht („nein“, im Text Gruppe B). Es zeigt sich im Chi-Quadrat-Test kein signifikanter Unterschied. Sechs Fälle wurden aufgrund nicht erfassbarer LoE von dieser Auswertung ausgeschlossen.

Schließlich wurde auf Grundlage der Häufigkeiten der in der WES identifizierten Gene und Mutationssignaturen ausgewertet, welche Genzusammenstellung ein Panel ergeben würde, das 95%, 90%, 80% oder 50% dieser Alterationen abgedeckt hätte (Abb. 27).

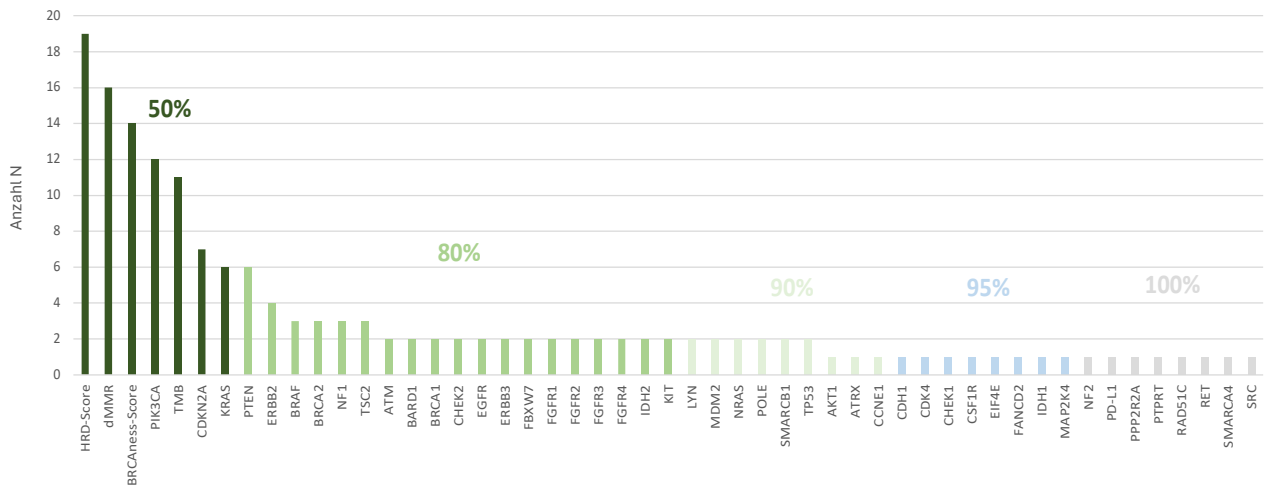


Abbildung 27: Anzahl der betroffenen Gene und Mutationssignaturen an allen in der WES identifizierten therapielevanten Alterationen. Die Farbcodierung zeigt, mithilfe welcher Gene und Mutationssignaturen bereits 50%, 80%, 90% und 95% der therapielevanten Alterationen identifizierbar gewesen wären. Dabei sind die Gene von links nach rechts aufzusummieren.

Des Weiteren wurde die Ln(PFSr) deskriptiv nach Diagnostikart ausgewertet, um Rückschlüsse über die klinische Bedeutung einer Therapieempfehlung in Abhängigkeit der zugrundeliegenden Diagnostikart zu gewinnen (Abb. 28).

	Diagnostik	Ln(PFSr)
N	RNA	1
	WES	15
	IHC	1
	Panel	5
	FISH	1
Mittelwert	RNA	0.998
	WES	0.529
	IHC	0.258
	Panel	-0.479
	FISH	-1.24
Median	RNA	0.998
	WES	0.763
	IHC	0.258
	Panel	-0.232
	FISH	-1.24
Standardabweichung	RNA	NaN
	WES	1.20
	IHC	NaN
	Panel	1.02
	FISH	NaN
Minimum	RNA	0.998
	WES	-1.84
	IHC	0.258
	Panel	-1.86
	FISH	-1.24
Maximum	RNA	0.998
	WES	2.07
	IHC	0.258
	Panel	0.762
	FISH	-1.24

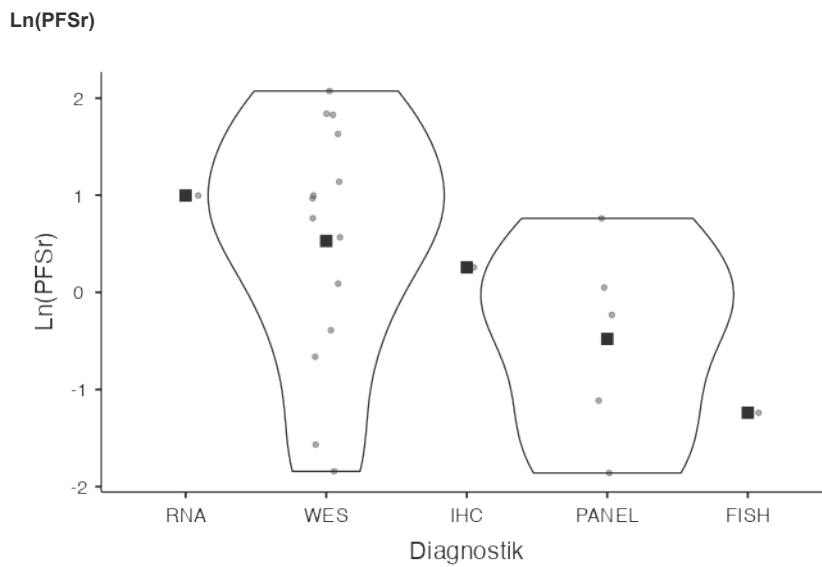


Abbildung 28: Ln(PFSr), gruppiert nach Art der Diagnostik, auf der die umgesetzte Therapieempfehlung basiert. Im Violinendiagramm sind die Mittelwerte jeweils als schwarzes Quadrat eingezeichnet.

Es erfolgte darüber hinaus eine Einteilung aller ausgesprochenen Therapieempfehlungen in Evidenzlevel (Tab. 8; Abb. 29). Dabei wurde die Einteilung der ZPM (Zentren für personalisierte Medizin)⁶⁹ verwendet, wobei m1A dem LoE der höchsten und m4 dem LoE der niedrigsten Qualität entspricht. Deskriptiv ausgewertet wurde der Anteil der insgesamt acht möglichen Evidenzlevel innerhalb der einzelnen Diagnostikarten. Jeder durchgeführten Diagnostik, die zu einer Therapieempfehlung führte, wurde – wenn möglich - ein Evidenzlevel zugeordnet, bei mehreren Therapieempfehlungen auf Grundlage derselben durchgeführten Diagnostik bei demselben Patienten wurde lediglich das höchste Evidenzlevel einbezogen (Abb. 29). Für die Diagnostikarten WES und Panel wurden die ordinalskalierten Evidenzlevel mittels Chi-Quadrat-Test verglichen (Tab. 9).

Diagnostik	LoE								gesamt
	m1A	m1B	m1C	m2A	m2B	m2C	m3	m4	
IHC	0	5	0	2	8	0	0	0	15
FISH	0	0	0	3	0	0	0	0	3
Panel	4	2	3	9	0	1	1	0	20
WES	21	4	4	39	4	1	2	2	77
RNA	0	0	1	2	1	1	1	0	6
OTHER	2	0	0	0	0	0	0	0	2
gesamt	27	11	8	55	13	3	4	2	123

Tabelle 8: Evidenzlevel (LoE) der Therapieempfehlungen in Abhängigkeit der zugrundeliegenden Diagnostikart. Bei mehreren Therapieempfehlungen auf Basis derselben durchgeführten Diagnostik bei einem Patienten wurde nur das höchste LoE gewertet.

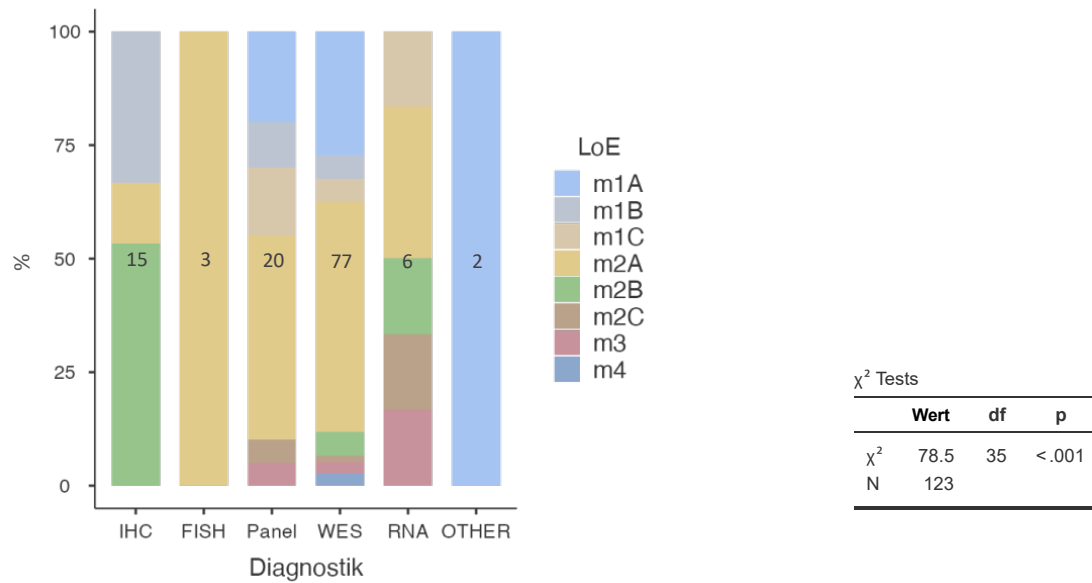


Abbildung 29: Evidenzlevel (LoE) der Therapieempfehlungen in Abhängigkeit der zugrundeliegenden Diagnostikart. Bei mehreren Therapieempfehlungen auf Basis derselben durchgeführten Diagnostik bei einem Patienten wurde nur das höchste LoE gewertet. Der durchgeführte Chi-Quadrat-Test ist signifikant.

	Wert	df	p
χ^2	6.05	7	0.534
N	97		

Tabelle 9: Chi-Quadrat-Test für die Höhe der Evidenzlevel in Abhängigkeit der zugrundeliegenden Diagnostikart. Betrachtet wurden hierbei nur WES und Panel. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

Ergebnisse

Patientenkollektiv und allgemeine Daten

Im Zeitraum vom 07. September 2018 bis zum 13. Mai 2022 wurden 353 Patienten in 102 MTB-Meetings besprochen (Abb. 4). Insgesamt erhielten davon 252 Patienten (71%) mindestens eine Diagnostikempfehlung, von denen 210 (83%) die definierten Einschlusskriterien erfüllten und damit in die weitere Auswertung eingeschlossen wurden (Abb. 4). Bei 185 dieser Patienten (88% der eingeschlossenen Patienten) wurde mindestens eine Diagnostik vollständig umgesetzt (Abb. 4). Daraufhin erhielten 108 Patienten (58% der Patienten mit vollständig umgesetzter Diagnostik) eine Therapieempfehlung auf Basis der durchgeführten Diagnostik (Abb. 4). Das entspricht 31% (108/353) der insgesamt besprochenen Patienten, 43% (108/252) der Patienten mit Diagnostikempfehlung und 51% (108/210) der eingeschlossenen Patienten (Abb. 4). Nach der in dieser Arbeit definierten Formel (siehe Material und Methoden) ergibt sich eine Ausschlussrate von 28%:

$$\text{Ausschlussrate (MTB UCCSH)} = \left(1 - \frac{185}{353-97}\right) \times 100 = 28\% \text{ (Abb. 4).}$$

Weitere Patienten erhielten eine Therapieempfehlung, die nicht auf im MTB durchgeführter Diagnostik basierte, sondern auf Grundlage von Vorbefunden in Kombination mit einer Literaturrecherche möglich war (27% der MTB-

Falldiskussionen mit Therapieempfehlung basierten auf Vordiagnostik, Quelle: Laura Klinke, unveröffentlichte Daten). In solchen Fällen wird in der Regel keine weitere Diagnostik empfohlen wird (97 von 353 Patienten (27%); Abb. 4). Da die Auswertung der Diagnostik im MTB Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist, werden Patienten ohne eine solche hier nicht weiter berücksichtigt.

Abgesehen von diesem Grund war für den Ausschluss von Patienten und Diagnostikempfehlungen jeweils eine unzureichende Dokumentation die häufigste Ursache (8% der ausgeschlossenen Patienten bzw. 15% der ausgeschlossenen Diagnostikempfehlungen; Abb. 2, 3). Weil die Diagnostik zum Zeitpunkt des Einschliessendes der Arbeit noch ausstehend, also noch nicht umgesetzt war, wurden 4% der Diagnostikempfehlungen nicht weiter nachverfolgt (Abb. 3).

Alle Daten zum Follow-Up nach Aussprache der jeweiligen Therapieempfehlung, also die Umsetzung und das klinische Ansprechen der Therapie, wurden von Laura Klinke erfasst; die Auswertung erfolgte anteilig gemeinsam.

Für 70 Patienten war zum Zeitpunkt der Auswertung ein Follow-Up zur Therapieumsetzung vorhanden (65% der Patienten mit Therapieempfehlung), davon erhielten 25 (36%) mindestens eine empfohlene Therapie (Abb. 4). Für 21 dieser Patienten (84%) ließ sich eine PFSr bestimmen, die bei 12 (57%) mindestens 1,3 betrug (Abb. 4). Dieser Endpunkt der PFSr von mindestens 1,3 wird in vielen Publikationen zu MTBs verwendet und daher hier zur Herstellung einer Vergleichbarkeit ebenfalls angewandt^{30,70-72}.

Von den 210 eingeschlossenen Patienten waren 57% weiblich, das Durchschnittsalter lag bei 55 Jahren (Median 57 Jahre; Tab. 1). Das Alter variierte zwischen 15 und 95 Jahren (Tab. 1). 85% der Patienten wurden 2020 oder später erstmals im MTB vorgestellt (Tab. 1). Im Mittel wurden 2,2

Diagnostikempfehlungen und 0,6 Therapieempfehlungen pro Patienten ausgesprochen (Tab. 1). Eine Empfehlung zum NGS-Panel erhielten 38%, eine Empfehlung zur WES 63% der Patienten (Tab. 1). Die IHC war mit 65% die am häufigsten empfohlene Diagnostikart (Tab. 1).

Die eingeschlossenen Patienten wurden in durchschnittlich 2,2 MTB-Meetings besprochen (Tab. 1).

Es erhielten 15 Patienten sequenziell Empfehlungen zu einem NGS-Panel und nachfolgend zur WES, in davon 11 Fällen wurde die WES durchgeführt. Eine Therapieempfehlung auf Basis der WES konnte in 10 Fällen (91% der 11 durchgeführten Fälle) ausgesprochen werden (Tab. 4).

Die häufigsten Tumorentitäten waren das Mammakarzinom (20%), das Pankreaskarzinom (13%) und die Weichgewebssarkome (9%; Tab. 10).

	Gesamt (N=210)
Entität	
Mamma	41 (19.5%)
Pankreas	27 (12.9%)
Weichgewebssarkom	19 (9.0%)
andere	18 (8.6%)
Kolorektal	14 (6.7%)
Kopf/Hals	11 (5.2%)
Gallenwege/Leber	10 (4.8%)
CUP	9 (4.3%)
NEC / NET	9 (4.3%)
Ovar	9 (4.3%)
Gebärmutterhals	5 (2.4%)
Harnblase	5 (2.4%)
Lunge	5 (2.4%)
Magen/Ösophagus	5 (2.4%)
Prostata	5 (2.4%)
Mehrere	4 (1.9%)
Anal	3 (1.4%)
Endometrium	3 (1.4%)
Melanom	3 (1.4%)
Hämatologisch	2 (1.0%)
Schilddrüse	2 (1.0%)
Osteosarkom	1 (0.5%)

Tabelle 10: Anzahl der Patienten nach Tumorentität.

Patiententherapieempfehlungsrate (PTER)

Es zeigte sich ein Zusammenhang der Anzahl an umgesetzten Diagnostikempfehlungen mit der Häufigkeit einer Therapieempfehlung: Wurde nur eine Diagnostikempfehlung umgesetzt, erhielten im Durchschnitt 45% der Patienten eine Therapieempfehlung (N=74), dieser Anteil steigt bei einer Anzahl von drei umgesetzten Diagnostiken (N=29) auf 76% an und erreichte bei vier oder mehr umgesetzten Diagnostiken (N=8) sogar 100% (Abb. 9). Dieser Zusammenhang lässt sich durch die signifikant positive Korrelation der Anzahl an umgesetzten Diagnostikempfehlungen mit der Anzahl an Therapieempfehlungen stützen ($p < 0,001$; Tab. 2; Abb. 10).

Im zeitlichen Verlauf von 2019 bis 2022 lässt sich ein Anstieg der PTER von 40% im Jahr 2019 auf 76% im Jahr 2022 beobachten (Abb. 11). Dieser Zusammenhang zwischen Jahr und PTER ist im Chi-Quadrat-Test signifikant ($p = 0,003$; Abb. 11).

Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER)

Innerhalb der einzelnen Diagnostikkategorien variierte der Anteil der umgesetzten Diagnostiken, der zu einer Therapieempfehlung führte (DTER), erheblich (Abb. 14). Dieser Zusammenhang ließ sich auch im Chi-Quadrat-Test signifikant nachweisen ($p < 0,001$; Tab. 3). So ergab sich aus nur 10% der FISH eine Therapieempfehlung, während dieser Anteil für NGS-Panels bei 33% und für die

WES bei 84% lag (N durchgeführt: FISH=39; Panel=66; WES=98; Tab. 3; Abb. 14; Anhang 1).

Der für den Unterschied der DTER zwischen WES und NGS-Panel durchgeführte Chi-Quadrat-Test fiel signifikant aus ($p < 0,001$; Odds ratio 10,3; N=164; Abb. 17). Auch in der Subanalyse der einzelnen Jahre seit Einführung der WES im UCCSH-MTB zeigte sich ein Unterschied zwischen den beiden Diagnostikarten zugunsten der WES (Abb. 18). Bis auf das Jahr 2022, in dem nur ein Panel durchgeführt wurde, wurde für alle Jahre Signifikanz erreicht (Abb. 18).

Auch in Abhängigkeit der Entität ließen sich Unterschiede in den DTER der einzelnen Diagnostikarten feststellen: So führte etwa die IHC bei nur 8% (2/26) der Patienten mit Mammakarzinom, aber bei 37% (7/19) der Patienten mit Pankreaskarzinom zu einer Therapieempfehlung (Abb. 14; Anhang 1). Bei beiden Entitäten war das TROP2 der am häufigsten auffällige Marker (Abb. 15; Anhang 2).

In die Diagnostikgruppen IHC, FISH, Panel und OTHER zählten jeweils verschiedene diagnostische Tests. Die bei der größten Anzahl an Patienten durchgeführten IHC-Marker waren PD-L1 und NTRK (Abb. 7), wobei beide mit DTER von 4% und 0% kaum oder gar nicht zu Therapieempfehlungen führten (Abb. 15; Anhang 2). Insgesamt zeigten sich sehr unterschiedliche DTER für die einzelnen IHC-Marker, auch in Bezug auf die Entität: So erreichte TROP2 mit 38% die höchste DTER, für das Pankreaskarzinom lag die DTER von TROP2 sogar mit 83% noch deutlich höher (Abb. 15; Anhang 2).

Da FISH-Diagnostiken in der Regel sehr gezielt und häufig auf Grundlage des Befundes einer vorher im MTB durchgeführten Diagnostik empfohlen werden, erscheint eine Gruppierung der untersuchten Gene als nicht sinnvoll.

In der Gruppe der NGS-Panels wurden in 16 von 66 Fällen (24%) weniger als vier Gene sequenziert (Abb. 8). In keinem dieser Fälle wurde eine Therapieempfehlung ausgesprochen (Abb. 16). Unter Ausschluss dieser Fälle ergibt sich eine DTER von 44% für die NGS-Paneldiagnostik insgesamt (33% bei Einschluss der Fälle). Ansonsten erreichten alle Arten von NGS-Panels vergleichbare DTER von 40-50% (Abb. 16). Die beiden häufigsten Panels „Cancer Hotspot“ und „OncomineFocus“ prüfen jeweils 50 bzw. 52 Gene^{67,68}.x

Da in die Diagnostikgruppe „OTHER“ sehr heterogene Testverfahren eingehen, erscheint eine Gruppierung dieser als nicht weiterführend.

Zu berücksichtigen ist die teilweise kleine Fallzahl in den aus Diagnostik und Entität kombinierten Gruppen (Abb. 14-16).

Turnaround-Times

Hinsichtlich ETT und MTT unterschieden sich WES und Panel im T-Test signifikant (Median: ETT: 84 vs. 42 Tage; MTT: 53 vs. 30 Tage; jeweils $p < 0,001$; Tab. 5; Abb. 19, 20). Die ETT war im T-Test signifikant kürzer, wenn alle benötigten Gewebeproben zum Zeitpunkt der Diagnostikempfehlung am UKSH vorhanden waren (Median nach Auflösen des natürlichen Logarithmus: 56 vs. 77 Tage; $p < 0,001$; Tab. 6; Abb. 21).

Identifizierte Alterationen

Die durchgeführte Diagnostik erbrachte 227 therapierelevante Alterationen. Als entitätenspezifische Häufungen ließen sich in NGS-Panels und WES beispielsweise Varianten in PIK3CA für das Mammakarzinom und KRAS für das Pankreaskarzinom detektieren (Abb. 22). Insbesondere die in der WES ermittelten Mutationssignaturen dMMR (Defizienz der DNA-Mismatch-Reparatur, hierzu werden in dieser Arbeit sowohl Mutationen in den Genen für die Proteine MLH1, MSH2, MSH6, PMS1 und PMS2 als auch eine Mikrosatelliteninstabilität (MSI) gezählt), BRCAness-Score, HRD-Score (Homologe Rekombination-Defizienz-Score) und TMB (Tumormutationslast) führten häufig zu einer Therapieempfehlung – der HRD-Score machte mit 19 von 164 (12%) den größten Anteil der therapierelevanten Alterationen aus (Abb. 22). In der IHC war mit 10 von 15 therapierelevanten Alterationen ein pathologischer TROP2-Score (definiert als >100) als Alteration dominierend, wobei das Pankreaskarzinom die Hälfte der Fälle ausmachte (Abb. 22).

Die Einteilung der in WES, NGS-Panel und RNA identifizierten therapierelevanten Alterationen in Biomarkergruppen nach Horak et al.³⁰ zeigte ein gemeinsames Dominieren der Gruppen DNA-Schadensreparatur (DDR), PI3K-AKT-mTOR (PAM), Immunevasion (IE), Tyrosinkinase (TK) und RAS-MEK-ERK (RME), denen je 12 bis 26% der Alterationen zuzuordnen waren (Abb. 23). Im Vergleich zur WES machte bei den NGS-Panels die Gruppe IE keinen und die Gruppe DDR einen geringeren Anteil aus, dafür waren hier PAM und RME häufiger (Abb. 23). Von den nur sieben therapierelevanten Alterationen, die mittels RNA identifiziert wurden, waren fünf der Gruppe TK zuzuordnen (Abb. 23).

Von den 148 in der WES detektierten Alterationen wären 26 (18%) im CHPv2 identifizierbar gewesen (Gruppe A), bei 52 (28%) wäre zwar das betroffene Gen im CHPv2 berücksichtigt, allerdings nicht die betroffene Sequenz (Abb. 24). Die Ln(PFSr) unterschied sich nicht signifikant in Abhängigkeit davon, ob das therapierelevante Gen, das mittels WES als pathologisch alteriert identifiziert wurde, im CHPv2 enthalten ist (Tab. 7; Abb. 25).

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass durch Sequenzierung des jeweils gesamten Gens im CHPv2 doppelt so viele therapierelevante Alterationen identifizierbar gewesen wären wie durch das konservative Vorgehen, bei dem nur ausgewählte Genabschnitte berücksichtigt werden (52 vs. 26; Abb. 24). Die dabei zusätzlich möglichen Therapieempfehlungen wären hinsichtlich des Evidenzlevels voraussichtlich nicht signifikant unterschiedlich (Abb. 26).

Um die WES als breite Sequenzierungsdiagnostik hinsichtlich ihrer Ersetzbarkeit durch ein an die Patientenkohorte des MTB angepasstes NGS-Panel einzuschätzen, wurden die Häufigkeiten der in der WES identifizierten therapierelevanten Alterationen bestimmt. Bereits mit vier Genen und den Mutationssignaturen HRD, BRCAness, dMMR und TMB wären 50% der Therapieempfehlungen möglich gewesen (Abb. 27). Mit weiteren 19 Genen wären 80% WES-Abdeckung erreicht, um 95% abzudecken, wären noch 18 weitere Gene und mit der MSS eine weitere Signatur notwendig (Abb. 27). Zu berücksichtigen ist hierbei, dass jeweils das gesamte Gen in der WES sequenziert wird, während NGS-Panels sich häufig auf ausgewählte Genabschnitte beschränken.

Die $\ln(\text{PFSr})$ in Abhängigkeit der Diagnostikart, die der umgesetzten Therapieempfehlung zugrunde lag, konnte nur für WES und NGS-Panel vergleichend ausgewertet werden, weil in den anderen Diagnostikarten jeweils nur ein Fall mit umgesetzter Therapieempfehlung auswertbar war.

Für die umgesetzten Therapieempfehlungen zeigte sich im T-Test kein signifikanter Unterschied für die $\ln(\text{PFSr})$ in Abhängigkeit davon, ob die Therapieempfehlung auf einer WES oder auf einem NGS-Panel basierte (Abb. 12). Dennoch waren bei der niedrigen Fallzahl von $N=20$ tendenziell höhere Werte für die WES-basierten Therapieempfehlungen erkennbar (Mittel $\ln(\text{PFSr})$: 0,529 für WES vs. -0,479 für Panel, entspricht nach Transformation in PFSr 1,7 vs. 0,62; Abb. 12). Analog dazu war auch der Anteil an Patienten mit $\text{PFSr} \geq 1,3$ im Chi-Quadrat-Test nicht signifikant unterschiedlich, aber für die WES-basierten Therapieempfehlungen tendenziell höher (10 von 15 vs. 1 von 5; Abb. 13).

Die Auswertung der Evidenzlevel ergab für WES und Panel keinen signifikanten Unterschied (Tab. 9; Abb. 29).

Diskussion

Kernergebnisse

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass in der untersuchten Patientenkohorte der Einsatz einer WES als Sequenzierungsdiagnostik sowie die Durchführung mehrerer Diagnostikarten effektiv zur Identifikation therapierelevanter Alterationen ist. Bedacht werden muss hier eine mögliche Verzerrung durch individuelle Unterschiede in der Vordiagnostik der Patienten.

Der Vergleich von WES und NGS-Panel legt nahe, dass die Etablierung eines für MTB-Patienten zusammengestellten NGS-Panels weniger erfolgsversprechend ist als der Einsatz einer WES, da die fortgeschrittenen und meist multipel vorthera-pierten Tumoren eine zu heterogene Mutationslandschaft für die Abdeckung durch ein Panel aufweisen – dies zeigen auch Armenia et al.⁴⁶ - und sich kein signifikanter Unterschied der PFSr zwischen WES- und panelbasierten Therapieempfehlungen zeigte (Abb. 12, 13).

Daneben zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass möglicherweise die Tumorentität einen Einfluss auf den Erfolg der durchgeführten Diagnostikart hat, sodass eine rationale Anpassung der Diagnostikempfehlungen an die Tumorentität zukünftig denkbar wäre (Abb. 14-16; Anhang 1-3). Zu berücksichtigen ist hier eine mögliche Verzerrung durch die unterschiedlichen Leitlinienempfehlungen zur molekularen Diagnostik, die dazu führen, dass je nach Entität in unterschiedlichem Maße Vordiagnostik erfolgt^{73,74}.

Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv dieser Arbeit reiht sich mit einem durchschnittlichen Patientenalter von 55 Jahren (Median 57; Tab. 1) in andere in der Literatur beschriebene MTBs ein: Bourien et al.³⁹ und Behel et al.³⁷, die wie diese Arbeit keine Limitationen bezüglich des Alters aufweisen, nennen Altersmediane von 59 und 54 Jahren. Horak et al.³⁰ schließen über 50-jährige Patienten nur im Falle einer seltenen Entität ein und erreichen so ein medianes Alter von 45 (w) und 46 (m). In der letztgenannten Studie spiegelt sich die differierende Patientenkohorte auch in der Verteilung der Entitäten wieder, so sind hier die Weichgewebssarkome die am häufigsten auftretende Gruppe, gefolgt von neuroendokrinen und adrenalen sowie hepatopankreatikobiliären Tumoren³⁰. Aber auch Bourien et al.³⁹ nennen mit Lungenkarzinomen und kolorektalen Karzinomen Entitäten als Häufigste, die in der vorliegenden Arbeit allenfalls in mittlerer Häufigkeit auftraten (Tab 4). Mit 76% stellen bei Behel et al.³⁷ die Lungenkarzinome sogar die herausragende Mehrheit der Fälle da; bei Horak et al.³⁰ sind 76% der Fälle als seltene Entität klassifiziert.

Somit ergibt sich in verschiedenen interdisziplinären MTBs eine sehr unterschiedliche Häufigkeitsverteilung der Entitäten. Vor dem Hintergrund der entitätenspezifischen Unterschiede in der Frequenz therapierelevanter Alterationen muss daher eine mögliche Einschränkung der Vergleichbarkeit beachtet werden.

In dieser Arbeit erfolgte die Zuweisung der Patienten zum MTB in Abhängigkeit der klinischen Notwendigkeit des individuellen Patienten, die Initiative zur Anmeldung lag beim behandelnden Arzt. Die Zugangsvoraussetzungen für

Patienten zum MTB waren gering (siehe Material und Methoden). Dies kommt als Ursache für den relativ hohen Anteil an Pankreaskarzinomen (zweithäufigste Entität, 13%) und den niedrigen Anteil an Lungenkarzinomen (2%) infrage (Tab. 10): Während für das Pankreaskarzinom die molekulare Diagnostik bislang eine noch begrenzte Rolle in der leitliniengerechten Therapieentscheidung spielt⁷⁴, ist sie in bereits umfangreichem Maß Teil der Leitlinien für Lungenkarzinome⁷⁵. Darüber hinaus werden Patienten mit Lungenkarzinomen am UKSH regelhaft dem nationalen Netzwerk Genomischer Medizin (nNGM) zugeführt, sodass eine Diagnostik im dortigen Rahmen stattfindet und das MTB nur bei negativem Befund zum Einsatz kommt. Es ist daher anzunehmen, dass im Einzugsbereich des MTB am UCCSH ein großer Teil der Patienten mit Lungenkarzinom bereits durch weitere, oft leitliniengerechte Versorgungsformen eine molekular basierte Therapie erhält, während bei Pankreaskarzinomen häufiger auf das MTB als letzte Instanz zurückgegriffen werden muss. Dies unterstreicht die Relevanz des MTB für Entitäten mit bislang wenig Etablierung der Molekulardiagnostik im Versorgungsalltag.

Die weit gefassten formalen Einschlusskriterien des untersuchten MTB führen zu einer heterogenen Situation der bereits vor der MTB-Anmeldung durchgeführten molekularen Diagnostiken der Patienten. Daraus ergeben sich ebenfalls heterogene Diagnostikempfehlungen, die somit einschließlich ihrer Ergebnisse einer Verzerrung unterworfen sind – bereits durchgeführte Diagnostiken werden in der Regel nicht erneut empfohlen (Abb. 14; Anhang 4).

Organisation des MTB

Das MTB des UCCSH spricht einen erheblichen Anteil der Therapieempfehlungen auf Grundlage vorbestehender molekulardiagnostischer Befunde aus (27% der MTB-Falldiskussionen mit Therapieempfehlung basieren auf Vordiagnostik, unveröffentlichte Daten zur Verfügung gestellt von Laura Klinken), sodass in vielen Fällen keine weitere Diagnostik empfohlen wird (97 von 353 Patienten (27%) (Abb. 4)). Dieses Vorgehen weisen viele Literaturreferenzen nicht auf^{30,39}, sodass für einen sinnvollen Vergleich der Daten am ehesten eine Auswertung der Patienten mit Diagnostikempfehlung infrage kommt. Ein gänzlich anderes Vorgehen wählen Behel et al.³⁷, die im MTB ausschließlich Molekulardiagnostik diskutieren, die im Vorhinein vom behandelnden Onkologen empfohlen wurde. Auch diese Vorgehensweise erlaubt jedoch keinen unmittelbaren Vergleich mit der vorliegenden Arbeit, da die Auswahl der Diagnostik dann vom Behandler abhängig ist und in dieser Hinsicht nicht für alle Patienten gleiche Bedingungen gelten.

Um eine Vergleichbarkeit mit einem möglichst großen Anteil der verfügbaren Studien zu ermöglichen, wurde in dieser Arbeit bei Vergleichen mit anderen MTBs nur der Anteil der Patienten mit mindestens einer Diagnostikempfehlung berücksichtigt.

Ausschlusskriterien

Die Literaturreferenzen nennen ähnliche Gründe für den Ausschluss von Patienten wie die vorliegende Arbeit (Abb. 2, 3), etwa eine fehlende Verfügbarkeit von

Gewebe, eine Ablehnung der diagnostischen Maßnahmen von Patientenseite, Tod oder Zustandsverschlechterung sowie mangelnde Dokumentation^{30,38}. Die Häufigkeitsverteilung der Gründe variiert in Abhängigkeit des konkreten Studiendesigns.

Der Anteil an Patienten ohne Diagnostikempfehlung (Abb. 2) als häufiger Ausschlussgrund ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass das MTB am UCCSH zur Zeit der Auswertung in einigen Fällen (27%, s.o.) bereits auf Basis von Vordiagnostik Therapieempfehlungen aussprach. Eine weitere Diagnostik war dann meist nicht nötig.

Die Ausschlussrate – berechnet nach der in dieser Arbeit definierten Formel (siehe Material und Methoden) - liegt bei Horak et al. bei 36%³⁰ und bei Trédan et al. bei 23%³⁸. Die vorliegende Arbeit reiht sich mit 28% unter den Patienten mit mindestens einer Diagnostikempfehlung in die Literaturangaben ein (Abb. 4).

Patiententherapieempfehlungsrate (PTER)

Ein wesentlicher Kennwert der Effektivität eines MTB ist der Anteil an Patienten, der eine Therapieempfehlung vom MTB erhält. Horak et al. diskutieren Patienten erst nach erfolgreich abgeschlossener Diagnostik. Für diese Gruppe ergibt sich in jener Arbeit eine Empfehlungsrate von 88%. Gemessen an allen ursprünglich registrierten Patienten liegt die Rate hingegen bei 49%, da ein relevanter Anteil der Patienten ausgeschlossen wurde oder trotz abgeschlossener Diagnostik keine Diskussion erfolgte. Auch werden hier sowohl eine diagnostische Reevaluation als

auch eine genetische Beratung und eine Therapieempfehlung als Empfehlung gewertet, während die hier vorliegende Arbeit alleine Therapieempfehlungen in die Empfehlungsrate einbezieht³⁰.

Behel et al. gelingt es bei 159 von 339 diskutierten Fällen (47%), eine neue Therapieempfehlung auszusprechen³⁷. Berücksichtigt werden muss hier jedoch, dass weiteren 133 Patienten eine Fortführung der aktuellen Therapie empfohlen wird, wobei in dieser Gruppe in nur 50 Fällen das Fehlen eines molekularen Targets die Ursache für diese Entscheidung war. In den anderen Fällen lagen verschiedene nicht-biologische Gründe vor³⁷.

Somit wird deutlich, dass ein direkter Vergleich der Empfehlungsraten schwierig ist. Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit der unterschiedlich aufgebauten und ausgewerteten MTBs verwenden Larson et al.³² unter anderem die Formel

$$\text{Frequenz ansprechbarer Mutationen} = \frac{\text{Anzahl Patienten mit ansprechbarer Mutation}}{\text{Gesamtzahl Patienten mit MTB-Vorstellung}} \times 100$$

Um den Einfluss von Unterschieden im Ausschlussverfahren des jeweiligen MTBs – etwa ein Ausschluss vor vs. nach umgesetzter Diagnostik – sowie Unterschiede in der Organisation der Diagnostikempfehlungen – etwa eine Diagnostik für alle Patienten vs. eine flexible, sequenzielle Folge mehrerer Diagnostiken – zu vermeiden, bietet sich als Alternative hierzu die oben bereits definierte Formel für die Patiententherapieempfehlungsrate an (siehe Material und Methoden):

$$\text{PTER} = \frac{\text{Anzahl Patienten mit Therapieempfehlung basierend auf MTB-Diagnostik}}{\text{Gesamtzahl Patienten mit vollständig durchgeführter MTB-Diagnostik}} \times 100$$

In Tabelle 11 sind die PTER von fünf in der Literatur beschriebenen MTBs, die aufgrund einer möglichst guten Vergleichbarkeit ausgewählt wurden, dargestellt. Mit 58% (108/185) reihen sich die vorberichteten Daten dieser Arbeit in die Literatur ein (Tab. 11; Abb. 4).

Autoren	Jahr	der Diagnostik	PTER
	Publikation		<i>ermittelt aus berichteten Daten</i>
Behel et al. ³⁷	2022	Panel	47% (159/339)
Trédan et al. ³⁸	2019	Panel	35% (699/1980)
Bourien et al. ³⁹	2020	Panel	42% (48/113)
Horak et al. ³⁰	2021	WGS/WES/RNA- Seq	77% (1138/1484)
Bryce et al. ³³	2017	WES/Panel	67% (92/138)**

*Tabelle 11: Patiententherapieempfehlungsrate (PTER) verschiedener in der Literatur berichteter MTBs. In Klammern angegeben ist hinter jeder PTER die Anzahl der Patienten mit Therapieempfehlung basierend auf MTB-Diagnostik sowie die Gesamtzahl der Patienten mit vollständig durchgeführter MTB-Diagnostik des jeweiligen MTB. WGS=Whole Genome Sequencing. ** hier keine Angabe zur Anzahl der Patienten mit Therapieempfehlung, daher Anzahl an Patienten mit therapeutisch zielgerichtet adressierbarer Alteration als Zähler verwendet.*

Der Vergleich der vorliegenden Daten zur WES mit der Literatur ist dadurch limitiert, dass eine systematische Auswertung von MTBs mit WES-basierter Diagnostik bisher nur in begrenztem Umfang vorliegt. Vor dem Hintergrund der

günstiger werdenden breiten Sequenzierungsdiagnostiken wird voraussichtlich in Zukunft eine Reevaluation vergleichbarer Datensätze erfolgen.

In dieser Arbeit ist die PTER über die untersuchten Jahre hinweg auf zuletzt 76% angestiegen (Abb. 11). Mögliche Erklärungen hierfür könnten die wachsende wissenschaftliche Literatur zu molekular basierten Krebstherapien sowie die steigende Zahl verfügbarer molekular gerichteter Therapeutika sein, die die Grundlage für die Recherche des MTB sind und damit die Wahrscheinlichkeit einer Therapieempfehlung maßgeblich beeinflussen. Ein weiterer Grund könnte der zunehmende Anteil an Patienten mit Empfehlung zur WES als einer offenbar sehr effektiven Diagnostik zur Identifikation therapierelevanter Alterationen sein (Abb. 5, 14).

Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER)

Eine Besonderheit des MTB am UCCSH ist die Diversität der empfohlenen und durchgeführten Diagnostik. Gängiger ist das Vorgehen etwa von Horak et al. oder Trédan et al.^{30,38}, ein festgelegtes diagnostisches Verfahren bei allen Patienten anzuwenden. Dies hat den großen Vorteil der wesentlich besseren Vergleichbarkeit der Fälle innerhalb der Studie. Vor dem Hintergrund einer möglichst patientenzentrierten und dabei kosteneffizienten klinischen Versorgung ist hingegen auch das Vorgehen von Behel et al.³⁷ oder dem MTB am UCCSH nachvollziehbar.

Um dennoch sinnvoll schließende Statistik zuzulassen und damit Aussagen über generelle Gruppenzusammenhänge zu ermöglichen, wurde in dieser Arbeit neben der Patientenauswertung, wie sie in vielen Studien zu finden ist, auch eine separate Auswertung der einzelnen Diagnostikarten durchgeführt (siehe Material und Methoden). Dies erlaubt etwa ein Subgruppieren nach Entität und durchgeführter Diagnostik, das Aussagen zu konkreten Kombinationen beider zulässt. Berücksichtigt werden muss dabei die teilweise geringe Fallzahl der kombinierten Gruppen und die möglichen Verzerrungen durch Vorselektion der Patienten, etwa durch unterschiedliche Vordiagnostiken in Abhängigkeit der Entität (s.o.).

Problematisch ist die Heterogenität innerhalb einiger Diagnostikarten: Während WES und RNA-Sequenzierung standardisiert abliefen und damit eine gute Vergleichbarkeit bieten, zählen in die Diagnostikarten IHC, FISH, Panel und OTHER jeweils viele unterschiedliche Konstellationen an untersuchten Markern, die patientenindividuell empfohlen wurden. So unterscheiden sich insbesondere die NGS-Panels deutlich, unter anderem in ihrer Genanzahl (Abb. 8). Die Fälle mit weniger als vier sequenzierten Genen erbrachten in keinem der 16 Fälle eine Therapieempfehlung (Abb. 16), wobei berücksichtigt werden muss, dass insbesondere in dieser Gruppe eigentlich mit einer besonders gezielten und den Vorbefunden sowie der klinischen und pathologischen Patientensituation angepassten Auswahl der zu sequenzierenden Gene zu rechnen ist.

Somit muss berücksichtigt werden, dass die Einteilung der Diagnostik in die genannten Gruppen ein Versuch zur besseren Auswertbarkeit darstellt, der kaum dem hohen Maß an individueller Komplexität des MTB gerecht werden kann.

Die Anzahl an Vorstellungen im MTB pro Patienten ist am UCCSH nicht limitiert. Insbesondere aufgrund der flexiblen und in ihrer Art kaum begrenzten Diagnostik ist so eine höhere PTER bei besserer Kosteneffizienz denkbar, da die Diagnostik prinzipiell stufenweise breiter werden oder an die diagnostischen Befunde angepasst werden kann. Damit einher geht die mögliche Verzerrung in der Auswertung einer Therapieempfehlung, die zwar formal einer einzelnen Diagnostikart zugeschrieben wird, allerdings in Wirklichkeit auf der Kombination mehrerer Diagnostikarten basiert, die in zeitlicher und logischer Folge empfohlen wurden. Ein Beispiel hierfür könnte eine WES sein, die durch Detektion einer Alteration Anlass für eine FISH des betroffenen Gens bietet, in der dann die Alteration bestätigt und eine Therapieempfehlung – formal auf Basis der FISH – ausgesprochen wird. Solche Konstellationen kommen allerdings in nur drei Fällen vor (betroffene Gene: FGFR1, FGFR3, ERBB2; in keinem Fall ist eine Therapieumsetzung dokumentiert).

Auch die Auswahl der Diagnostikkombination des einzelnen Patienten ist durch ihren individuellen Charakter Verzerrungen unterworfen: So ist anzunehmen, dass die Vorkenntnisse der Teilnehmer des MTB hinsichtlich der zu erwartenden Alterationshäufigkeiten und damit der Erfolgsaussichten der einzelnen Diagnostikarten die Entscheidungsfindung beeinflussen.

Die in dieser Arbeit festgestellten deutlichen Unterschiede der DTER in Abhängigkeit der Entität und Diagnostikart bilden unter anderem entitätenspezifische Häufungen von Alterationen ab, etwa TROP2 in der IHC (DTER 83% für Pankreaskarzinom; Abb. 15) oder KRAS-Mutationen (10 von 17 Fällen in WES und NGS-Panel sind Pankreaskarzinome; Abb. 22), die

möglicherweise in Zukunft in größerem Maße bereits in der leitliniengerechten Molekulardiagnostik identifiziert werden.

Auf der anderen Seite dürfte die ausgeprägtere leitliniengerechte Molekulardiagnostik etwa beim Mammakarzinom einen reduzierenden Einfluss auf die niedrige Rate an etwa IHC-basierten Therapieempfehlungen im MTB haben (Abb. 15)⁷³.

Die besonders niedrigen DTER von Markern wie PD-L1 mit 4% oder NTRK und dMMR mit 0% (Abb. 15) fallen im Kontext der Literatur auf : So weisen Chegade et al. bei cerebral metastasierten Mammakarzinomen, also in Fällen, die mit dem Patientenkollektiv des MTB vergleichbar sind, in 15% der Fälle immunhistochemisch einen positiven PD-L1-Status nach (in dieser Arbeit 0% für Mammakarzinom; Abb. 15)⁷⁶. Camy et al. finden sogar in 24% der cerebralen Metastasen unterschiedlicher Primärtumore eine immunhistochemisch nachweisbare PD-L1-Expression⁷⁷. Eine denkbare Erklärung für diese Differenzen könnte eine sich unterscheidende Tumorbiologie in den untersuchten Kohorten sein, die etwa auf unterschiedliche Vorselektionen zurückzuführen sein könnte.

Turnaround-Times

Die Auswertung der ETT zeigt erwartungsgemäß, dass das interne Vorhandensein aller für die Diagnostik notwendigen Gewebeproben die Zeit von der Diagnostikempfehlung bis zur Therapieempfehlung in dieser Arbeit signifikant verkürzt (Tab. 6; Abb. 21). Am MTB des UCCSH ist eine vorliegende aktuelle Gewebeprobe des Tumors keine Zugangsvoraussetzung, da zum Teil erst in der

MTB-Diskussion die Notwendigkeit und Art der erforderlichen Gewebeproben in Abhängigkeit der empfohlenen Diagnostik abschließend beurteilbar ist. Aufgrund der Heterogenität der Diagnostik ist darüber hinaus die Organisation komplexer und damit weniger effizient als bei einem MTB, das eine immer gleiche Diagnostik bei allen Patienten anwendet.

Schwierig ist daher die Vergleichbarkeit der Turnaround-Times ETT und MTT mit denen aus anderen MTBs der Literatur. Horak et al. zählen die Tage von der Registrierung des Patienten bis zur MTB-Diskussion, in welcher in jener Publikation die Diagnostik bereits abgeschlossen ist³⁰. Dabei sinkt die Zeitspanne von ca. 160 Tagen im Jahr 2013 auf 44 Tage 2018 ab³⁰. Am ehesten vergleichbar sind diese Werte mit der MTT dieser Arbeit, weil Horak et al. Patienten ausschließen, für die kein Gewebe verfügbar ist – somit sind Verzögerungen durch eine notwendige Gewebeentnahme nicht möglich³⁰.

Die ETT und MTT sind für die WES in dieser Arbeit signifikant länger als für die Paneldiagnostik (Tab. 5; Abb. 19, 20). Als ursächlich hierfür kann der bei der WES größere technische Aufwand, die umfangreiche bioinformatische Auswertung und die notwendige Zusammenarbeit mit der Firma CeGaT oder dem IKMB einschließlich der damit verbundenen Versendung von Gewebeproben angenommen werden. Um bei eingetretenem Tumorprogress zeitnah eine Therapie bereitstellen zu können, ist somit das Panel die schnellere und in dieser Hinsicht der WES überlegene Diagnostik. Durch eine Verbesserung der zeitlichen Effizienz, unter anderem durch einen höheren Automatisierungsgrad in der bioinformatischen Auswertung, ist allerdings für die Zukunft eine Beschleunigung der WES anzunehmen⁷⁸.

Einfluss diagnostischer Breite auf PTER

Anzahl der Diagnostikempfehlungen

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl an Diagnostikempfehlungen und der Anzahl an Therapieempfehlungen besteht (Tab. 2; Abb. 10). Bei einer Anzahl von vier oder mehr Diagnostikempfehlungen pro Patienten wird eine PTER von 100% erreicht, wobei die geringe Fallzahl von 9 in dieser Untergruppe berücksichtigt werden muss (Tab. 2; Abb. 9). Dennoch reiht sich der Wert plausibel in die überproportionale Zunahme der PTER mit jeder weiteren Diagnostikempfehlung ein (Abb. 9). Möglich ist in diesen Fällen eine initial hohe oder eine im Verlauf der MTB-Diskussionen sich ansammelnde Anzahl an Diagnostikempfehlungen, etwa aufgrund von ausbleibender Möglichkeit zur Therapieempfehlung. Somit wären mehrere Verzerrungen denkbar: Zum einen könnten Patienten, bei denen die Teilnehmer des MTB nur eine geringe Trefferquote für viele Diagnostikarten erwarten, eine folglich geringere Anzahl an Diagnostikempfehlungen erhalten. Bei diesen Patienten wäre die Wahrscheinlichkeit einer Therapieempfehlung von vorneherein unterdurchschnittlich, was die geringere PTER in dieser Gruppe erklären könnte. Zum anderen wäre aber auch denkbar, dass Patienten mit bereits durchgeführter Diagnostik ohne Therapieempfehlung, die daraufhin eine weitere Diagnostikempfehlung erhalten, für diese eine geringere DTER zu erwarten haben, weil die Diagnostik nur als zweite Wahl ausgesprochen wurde. Dies würde den erfassten Daten entweder widersprechen oder darauf hindeuten, dass sie den

positiven Effekt einer Aussprache von mehreren Diagnostikempfehlungen auf die PTER sogar unterschätzen.

Insgesamt bleibt die Einordnung der festgestellten Assoziation allerdings schwierig, da den Diagnostikempfehlungen im untersuchten MTB keine einheitlichen Auswahlkriterien zugrunde liegen (siehe Material und Methoden).

WES vs. Panel: DTER

Für die WES wurde eine signifikant höhere DTER als für die NGS-Panels erreicht (Abb. 17). Berücksichtigt werden muss hierbei, dass mit einem Anteil von 24% auch Sequenzierungen von sehr wenigen (<4) Genen in die Gruppe der NGS-Panels einfließen (Abb. 8), sodass die vorliegenden Ergebnisse nicht repräsentativ für große Panels sind. Aber auch der Vergleich verschiedener anderer MTBs deutet auf eine Überlegenheit der breiten Diagnostik mit WES oder WGS hin (Tab. 11).

Auch in den Fällen, in denen sequenziell erst ein NGS-Panel und nachfolgend eine WES empfohlen wurde, kann die hohe DTER von 91% der durchgeführten WES als Hinweis auf eine Überlegenheit in der Detektion therapierrelevanter Alterationen im Vergleich zum NGS-Panel gewertet werden (Tab. 4). Zu beachten ist hierbei die geringe Fallzahl von nur 11 sequenziell nach NGS-Panel durchgeführten WES (Tab. 4).

Ramarao-Milne et al. können in einem in-silico-Vergleich von unter anderem WES und Hotspot-Panel (TruSeq Amplicon-Panel; 48 Gene^{79,80}) zeigen, dass mehr therapierrelevante Alterationen in der WES identifiziert werden können als im

Hotspot-Panel⁷⁹. Als naheliegende Ursache ist anzunehmen, dass besonders für fortgeschrittene und vielfach systemisch vortherapierte Krebserkrankungen, wie sie im MTB die Regel sind, die Mutationslage deutlich von der in der jeweiligen Entität insgesamt beobachteten abweicht. Somit sind klassische Hotspot-Panels insbesondere in dieser Patientengruppe offenbar der WES hinsichtlich der PTER unterlegen. Koepfel et al. zeigen, dass bei 38% der Patienten eine WES zusätzlich zum Panel weitere relevante Varianten identifizierte⁴².

WES vs. Panel: Evidenzlevel (LoE) und Ln(PFSr)

Ramarao-Milne et al. zeigen in ihrer Arbeit, dass die zusätzlichen, in der breiten Diagnostik einschließlich WES identifizierbaren, Alterationen vor allem Therapieempfehlungen mit tendenziell niedrigerer Evidenz ermöglichten⁷⁹. Die Therapien, die auch basierend auf der Paneldiagnostik möglich gewesen wären, hatten eine bessere Evidenzgrundlage⁷⁹. In der vorliegenden Arbeit hingegen konnte dieser Zusammenhang für den Vergleich von WES und Panel - bei niedriger Fallzahl - nicht nachgewiesen werden (Tab. 8, 9; Abb. 29).

Bei einer besseren Evidenzgrundlage der Therapieempfehlungen könnte ein besseres klinisches Ansprechen erwartet werden³⁰. Ein Unterschied dieser Art zwischen WES und Panel ist – passend zu dem fehlenden Unterschied in den LoE - in dieser Arbeit allerdings nicht nachzuweisen gewesen. In der WES-Gruppe konnten sogar tendenziell höhere Ln(PFSr) beobachtet werden (Abb. 12, 13).

Ein denkbarer Grund für die tendenziell höheren Ln(PFSr) bei der WES könnte eine größere Auswahl an Therapieempfehlungen sein. Relevant ist hierfür, dass in

der WES Varianten unklarer Signifikanz (VUS) detektiert werden können, die in NGS-Panels üblicherweise nicht auffallen. Diese werden mittels Literaturrecherche auf ihre Relevanz und therapeutische Ansprechbarkeit überprüft, sodass sich hier in einigen Fällen zusätzliche Therapieempfehlungen – wenn auch mit niedriger Evidenz - ergeben können.

Aber auch bereits durch die Identifikation von mehreren bekannten Varianten mittels WES kann das beste Target ausgewählt werden, während bei der Paneldiagnostik häufiger nur eine Therapiemöglichkeit zur Auswahl steht. Auch zeigt sich, dass bestimmte Therapieklassen mit überdurchschnittlichen Therapieerfolgsaussichten⁸¹⁻⁸³ – etwa Immuncheckpointinhibitoren – häufiger auf Basis einer WES empfohlen werden, weil dort die dafür notwendigen Mutationssignaturen – etwa die TMB – enthalten sind (Abb. 23).

Zugleich zeigte die Auswertung der WES-Daten mittels eines virtuellen CHPv2, dass durch die Sequenzierung des jeweils gesamten Gens im Panel – anstatt des konventionellen Vorgehens des CHPv2, nur ausgewählte Hotspot-Regionen zu berücksichtigen - für die untersuchte Patientengruppe die Anzahl an therapierelevanten Alterationen hätte verdoppelt werden können (Abb. 24). Dabei ergaben sich für die zusätzlich möglichen Therapieempfehlungen keine signifikant unterschiedlichen Evidenzlevel (Abb. 26). Daraus lässt sich ein weiterer Hinweis darauf ableiten, dass vor dem Hintergrund der aktuell verfügbaren Evidenzgrundlage kleinere Panels wie das CHPv2 in der untersuchten Patientengruppe einen großen Anteil der möglichen therapierelevanten Alterationen nicht identifizieren können. Gleichzeitig ist mit verhältnismäßig geringem Aufwand eine deutliche Erhöhung der Wahrscheinlichkeit einer

Therapieempfehlung anzunehmen.

Da alle genannten Punkte eine vorteilhafte Situation für Patienten mit durchgeführter WES annehmen lassen, kann für die betrachtete Kohorte davon ausgegangen werden, dass die WES-basierten Therapieempfehlungen den panelbasierten im klinischen Ansprechen nicht unterlegen sind. Berücksichtigt werden muss vor allem die geringe Fallzahl von 20 (Abb. 12).

WES vs. Panel: Sequenziertiefe (Coverage)

Häufig als Vorteil der NGS-Panels angeführt wird die größere Sequenziertiefe (Coverage), also die durchschnittliche Anzahl an Reads jedes einzelnen Nukleotids. Bei einer hohen Coverage werden potenziell weniger Alterationen übersehen, sodass die Sensitivität der Sequenzierungen direkt hiervon abhängig ist^{84,85}.

In dieser Arbeit wurde die WES mit Coverages von 200-400x durchgeführt (siehe Material und Methoden), während beispielsweise das CHPv2 der Firma Thermo Fisher Scientific mit einer Coverage von über 500x arbeitet⁸⁶. Bei solch hohen Sequenziertiefen erscheint es allerdings fraglich, ob ein relevanter Unterschied in der Detektion therapierelevanter Alterationen besteht, da insbesondere die Identifikation von Alterationen mit einer niedrigen Varianten-Allel-Frequenz (VAF) – die also nur in einem kleinen Anteil der untersuchten Zellen vorkommen – von einer Erhöhung der Coverage profitiert. Diese sind allerdings mit sinkender VAF zunehmend unbedeutend für die therapeutische Ansprache, da ein großer Anteil

der Tumorzellen das molekulare Ziel gar nicht enthält und daher der Therapie nicht zugänglich wäre.

In Fällen, in denen bei geringem Tumorzellgehalt eine WES keine therapierelevante Alteration identifizieren kann, könnte allerdings der zusätzliche Einsatz einer gezielteren Methode, etwa eines Panels, sinnvoll sein.

WES vs. Panel: Biomarkergruppen

Die Auswertung der in den Sequenzierungsdiagnostiken identifizierten therapierelevanten Alterationen nach Biomarkergruppe zeigte, dass die Gruppen Immunevasion (IE) und DNA-Reparatur (DDR) in der WES häufiger vorkamen als in der Paneldiagnostik (Abb. 23). Begründet werden kann dies mit den in der WES verfügbaren Mutationssignaturen HRD-Score, dMMR, BRCAness-Score und TMB, die hier einen großen Anteil der therapierelevanten Alterationen ausmachen und mittels der durchgeführten NGS-Panels in der Regel nicht erfasst werden (Abb. 22, 23). Insbesondere die Gruppe IE ist hier von klinischer Bedeutung, da die hierin zählenden Immuncheckpointinhibitoren im Allgemeinen mit einem im Vergleich mit anderen verfügbaren Krebstherapien besonders guten klinischen Ansprechen verbunden sind⁸¹⁻⁸³. Ein größerer Anteil an Empfehlungen zu Immuntherapien ist daher als vorteilhaft für den Patienten zu werten und spricht für den Einsatz der WES.

WES – durch rationales Panel ersetzbar?

Die Auswertung der WES in dieser Arbeit zeigte, dass bereits mit einer kleinen Anzahl an sequenzierten Genen und Mutationssignaturen ein großer Teil der Therapieempfehlungen möglich gewesen wäre (3 Gene + 4 Signaturen: 50%; 22 Gene + 4 Signaturen: 80%; Abb. 27). In diesen Fällen wäre also ein an die Patientengruppe des MTB angepasstes NGS-Panel, das die Mutationssignaturen abdeckt, mit recht hoher Wahrscheinlichkeit zielführend gewesen. Andererseits wiesen 42 von 51 (82%) der Gene und Signaturen eine Häufigkeit unter den untersuchten Patienten von weniger als 2% (≤ 3 von 164 therapielevanten Alterationen) auf (Abb. 27). Somit zeigt sich, dass die Alterationslage bei dem untersuchten Patientenkollektiv abgesehen von den Signaturen und wenigen entitätenspezifischen Schwerpunktmutationen (etwa PIK3CA für das Mammakarzinom und KRAS für das Pankreaskarzinom; Abb. 22) sehr heterogen ist, was die Ableitung eines für einen Großteil der Patienten im MTB sinnvollen NGS-Panels schwierig macht. Die Identifikation von häufig auftretenden Mutationen sollte optimalerweise zukünftig ohnehin im Rahmen einer frühen Leitliniendiagnostik erfolgen, sodass die Existenzberechtigung eines MTB sich nicht aus der Sequenzierung der Hotspotvarianten, sondern der selten mutierten Gene ergibt. Somit besteht die Notwendigkeit der Identifikation eines klinisch und ökonomisch sinnvollen diagnostischen Vorgehens, das nicht allein auf der Abdeckung insgesamt bei Krebspatienten häufig beobachteter Alterationen basieren kann – für diesen Anspruch erscheint eine WES wesentlich geeigneter als ein NGS-Panel.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass aufgrund der Häufigkeit der Therapieempfehlungen auf Basis der Mutationssignaturen diese in der MTB-Diagnostik unbedingt benötigt werden – und damit eine umfangreiche Sequenzierungsdiagnostik wie etwa die WES. Fraglich ist, ob eine Implementierung der Signaturen in ein rational ausgewähltes Panel zielführend wäre – hierfür wären zwei Möglichkeiten denkbar: Entweder müsste eine große Anzahl an Genen sequenziert werden, sodass sich die Vorteile des Panels gegenüber der WES verkleinern würden, oder es müsste eine Vereinfachung der Signaturen auf Basis einer geringeren Anzahl an sequenzierten Genen erfolgen – das wiederum dürfte die Aussagekraft der Ergebnisse schmälern und die Vergleichbarkeit mit der Literatur erschweren^{87,88}.

Neben den genannten Vorteilen für die direkte Patientenversorgung bietet die WES zudem durch die regelhafte Identifikation von Varianten unklarer Signifikanz (VUS) einen entscheidenden Beitrag zum Erkenntnisgewinn über die Mutationslandschaft der vorliegenden Krebserkrankungen. Grundlage hierfür ist allerdings die systematische Auswertung, Sammlung und Vernetzung der Sequenzierungsergebnisse.

Für die Zukunft denkbar wäre die Etablierung einer künstlichen Intelligenz, die auf Basis der individuellen Patientendaten wie genauer histologischer Entität, molekulardiagnostischen Vorbefunden und durchlaufenen Vortherapien einschließlich des jeweiligen Ansprechens eine Prognose der zu erwartenden Alterationen macht. Auf dieser Basis wäre eine rationale Auswahl zu sequenzierender Gene möglich, sodass ein deutlicher Anstieg der Zeit- und

Kosteneffizienz bei möglicherweise sogar steigender DTER zu erwarten wäre. Limitierend dürfte hierbei die bisher unzureichende Datenlage sein, benötigt würden hunderttausende Datensätze zu Mutationslandschaft und allen genannten Einflussfaktoren von Krebspatienten, die eine möglichst vergleichbarer Form aufweisen müssten. Vor diesem Hintergrund sind nationale und internationale Kooperationen zur harmonisierten Datenerfassung unabdingbar, etwa das Deutsche Netzwerk für personalisierte Medizin (DNPM)⁸⁹.

Der Grundsätzliche Einsatz künstlicher Intelligenz in MTBs wird bereits diskutiert⁹⁰. Cheng et al. können beispielsweise zeigen, dass mittels des auf künstlicher Intelligenz basierenden Werkzeugs „AlphaMissense“ 89% der Missense-Varianten bezüglich ihrer phänotypischen Bedeutung eingeteilt werden können. Bisher waren auf konventionellem Weg erst etwa 2% der etwa 4 Millionen bekannten Missense-Varianten als pathogen oder nicht pathogen klassifizierbar^{78,91}.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, welches diagnostische Vorgehen in einem molekularen Tumorboard (MTB) zielführend für die Identifikation therapierelevanter Alterationen ist. Dazu wurde eine retrospektive Auswertung von 353 Patienten mit 458 Diagnostikempfehlungen durchgeführt, die in den Jahren 2018 bis 2022 am MTB des Universitären Cancer Centers Schleswig-Holstein (UCCSH) vorstellig waren.

Untersuchte Endpunkte waren insbesondere der Anteil an Patienten, der eine Therapieempfehlung nach abgeschlossener Diagnostik erhielt (Patiententherapieempfehlungsrate, PTER) und der Anteil der abgeschlossenen Diagnostikempfehlungen, der zu einer Therapieempfehlung führte (Diagnostiktherapieempfehlungsrate, DTER). Letzterer wurde unter anderem nach Art der Diagnostik und Tumorentität sowie der Kombination beider stratifiziert.

Ein besonderer Fokus lag auf dem Vergleich der beiden Sequenzierungsdiagnostiken Whole-Exome-Sequenzierung (WES) und NGS-Panel (Panel), die in ihrer Effektivität hinsichtlich PTER und DTER, aber auch des progressionsfreien Überlebens mittels Progression-Free-Survival-Ratio (PFSr) (Daten hierzu erfasst von Laura Klinke, Auswertung gemeinsam) kritisch beurteilt wurden.

Im Ergebnis hat die vorliegende Arbeit einen Vorteil durch eine große diagnostische Breite gezeigt: Sowohl die Aussprache mehrerer Diagnostikempfehlungen als auch die Durchführung der breiten WES im Vergleich zu einem Panel sind signifikant mit der Aussprache von Therapieempfehlungen verbunden (Tab. 2; Abb. 9, 10, 14, 17). Die meisten in der WES identifizierten

therapielevanten Alterationen wären im Cancer Hotspot Panel v2 als untersuchtes Referenzpanel nicht identifizierbar gewesen (Abb. 24). Dabei sind die auf WES basierenden Therapieempfehlungen hinsichtlich des klinischen Ansprechens (Ln(PFSr)) den auf Panels basierenden nicht unterlegen (Abb. 12).

Es ergibt sich zudem ein Hinweis darauf, dass die Tumorentität einen Einfluss auf die DTER hat (Abb. 14-16; Anhang 1-3). Bei besserer Datenlage kann dieser zukünftig gegebenenfalls zu einem stärker entitätenspezifischen Vorgehen bei der Auswahl der Diagnostikempfehlungen führen.

Berücksichtigt werden müssen bei der Interpretation der vorliegenden Daten insbesondere die in einigen Auswertungen geringen Fallzahlen (Abb. 14-16) sowie die Heterogenität innerhalb der Diagnostikarten (Abb. 7, 8) und in der Auswahl der Diagnostikempfehlungen.

Das MTB am UCCSH ordnet sich hinsichtlich der PTER mit 58% in die Literaturlandschaft der MTBs ein^{30,33,37-39}. Unterschiede zu den Referenzen^{30,33,38,39} sind vor allem die individuelle Diagnostik und die geringen Zugangsvoraussetzungen für Patienten, die einen Vergleich erschweren, aber eine Auswertung unter besonders realitätsnahen Bedingungen ermöglichen.

Abschließend deuten die vorliegenden Daten in Zusammenschau mit der diesbezüglichen Literatur darauf hin, dass der Einsatz einer Kombination aus mehreren Diagnostikarten einschließlich einer WES ein effektives Vorgehen zur Identifikation therapierelevanter Alterationen bei Patienten in einem MTB ist. Die Berücksichtigung der Tumorentität könnte zukünftig zu einer rationaleren Auswahl der Diagnostikempfehlungen beitragen.

Die Hypothese einer höheren Rate an Therapieempfehlungen im Falle einer umfangreicheren Molekulardiagnostik im Vergleich zu einer Molekulardiagnostik mit geringerem Umfang wird für die untersuchte Patientengruppe bestätigt (Tab. 3; Abb. 9, 10, 14, 17, 18).

Literaturverzeichnis

1. Ehrlich P. *Chemotherapie. Von Seiner Exzellenz Wirklicher Geheimer Rat Professor Doktor Paul Ehrlich.*; 1913.
2. DeVita VT Jr, Chu E. A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Res.* 2008;68(21):8643-8653. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-6611
3. Williams KJ. The introduction of “chemotherapy” using arsphenamine - the first magic bullet. *J R Soc Med.* 2009;102(8):343-348. doi:10.1258/jrsm.2009.09k036
4. Huggins C. Endocrine-induced regression of cancers. *Science.* 1967;156(3778):1050-1054. doi:10.1126/science.156.3778.1050
5. Brennan MJ. Endocrinology in cancer of the breast. Status and prospects. *Am J Clin Pathol.* 1975;64(6):797-809. doi:10.1093/ajcp/64.6.797
6. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science.* 1976;194(4260):23-28. doi:10.1126/science.959840
7. Frost P, Fidler IJ. Biology of metastasis. *Cancer.* 1986;58(2 Suppl):550-553. doi:10.1002/1097-0142(19860715)58:2+<550::aid-cncr2820581324>3.0.co;2-z
8. Feherty P, Farrer-Brown G, Kellie AE. Oestradiol receptors in carcinoma and benign disease of the breast: an in vitro assay. *Br J Cancer.* 1971;25(4):697-710. doi:10.1038/bjc.1971.85
9. Tagnon HJ. Antiestrogens in treatment of breast cancer. *Cancer.* 1977;39(6 Suppl):2959-2964. doi:10.1002/1097-0142(197706)39:6<2959::aid-cncr2820390682>3.0.co;2-2
10. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med.* 1996;2(5):561-566. doi:10.1038/nm0596-561
11. Nowell PC. The minute chromosome (Ph1) in chronic granulocytic leukemia. *Blut.* 1962;8:65-66. doi:10.1007/BF01630378
12. EGFR antagonists in cancer treatment - PubMed. Accessed April 17, 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18337605/>
13. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn MJ, De Pas T, Besse B, Solomon BJ, Blackhall F, Wu YL, Thomas M, O’Byrne KJ, Moro-Sibilot D, Camidge DR, Mok T, Hirsh V, Riely GJ, Iyer S, Tassell V, Polli A, Wilner KD, Jänne PA. Crizotinib versus Chemotherapy in Advanced ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2385-2394. doi:10.1056/NEJMoa1214886
14. Targeted Therapy Drug List by Cancer Type - NCI. Published August 29, 2023. Accessed September 13, 2023. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/targeted-therapies/approved-drug-list>
15. Jardim DL, Schwaederle M, Wei C, Lee JJ, Hong DS, Eggermont AM, Schilsky RL, Mendelsohn J, Lazar V, Kurzrock R. Impact of a Biomarker-Based Strategy on Oncology Drug Development: A Meta-analysis of Clinical Trials Leading to FDA Approval. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(11):djv253. doi:10.1093/jnci/djv253
16. Schwaederle M, Zhao M, Lee JJ, Eggermont AM, Schilsky RL, Mendelsohn J, Lazar V, Kurzrock R. Impact of Precision Medicine in Diverse Cancers: A Meta-Analysis of Phase II Clinical Trials. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2015;33(32):3817-3825. doi:10.1200/JCO.2015.61.5997
17. Schwaederle M, Zhao M, Lee JJ, Lazar V, Leyland-Jones B, Schilsky RL, Mendelsohn J, Kurzrock R. Association of Biomarker-Based Treatment Strategies With Response Rates and Progression-Free Survival in Refractory Malignant Neoplasms: A Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2016;2(11):1452-1459. doi:10.1001/jamaoncol.2016.2129
18. Yang S, Zhang Z, Wang Q. Emerging therapies for small cell lung cancer. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 2019;12(1):47. doi:10.1186/s13045-019-0736-3
19. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:387-402. doi:10.1146/annurev.genom.9.081307.164359
20. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed.*

2013;98(6):236-238. doi:10.1136/archdischild-2013-304340

21. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*. 2003;300(5617):286-290. doi:10.1126/science.1084564

22. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431(7011):931-945. doi:10.1038/nature03001

23. Subbiah V, Kurzrock R. Challenging Standard-of-Care Paradigms in the Precision Oncology Era. *Trends Cancer*. 2018;4(2):101-109. doi:10.1016/j.trecan.2017.12.004

24. Hamamoto R, Koyama T, Kouno N, Yasuda T, Yui S, Sudo K, Hirata M, Sunami K, Kubo T, Takasawa K, Takahashi S, Machino H, Kobayashi K, Asada K, Komatsu M, Kaneko S, Yatabe Y, Yamamoto N. Introducing AI to the molecular tumor board: one direction toward the establishment of precision medicine using large-scale cancer clinical and biological information. *Exp Hematol Oncol*. 2022;11(1):82. doi:10.1186/s40164-022-00333-7

25. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(6):353-365. doi:10.1038/s41571-018-0002-6

26. Mullard A. 2018 FDA drug approvals. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(2):85-89. doi:10.1038/d41573-019-00014-x

27. Mullard A. 2019 FDA drug approvals. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19(2):79-84. doi:10.1038/d41573-020-00001-7

28. Schwaederle M, Parker BA, Schwab RB, Fanta PT, Boles SG, Daniels GA, Bazhenova LA, Subramanian R, Coutinho AC, Ojeda-Fournier H, Datnow B, Webster NJ, Lippman SM, Kurzrock R. Molecular Tumor Board: The University of California San Diego Moores Cancer Center Experience. *The Oncologist*. 2014;19(6):631-636. doi:10.1634/theoncologist.2013-0405

29. Tafe LJ, Gorlov IP, de Abreu FB, Lefferts JA, Liu X, Pettus JR, Marotti JD, Bloch KJ, Memoli VA, Suriawinata AA, Dragnev KH, Fadul CE, Schwartz GN, Morgan CR, Holderness BM, Peterson JD, Tsongalis GJ, Miller TW, Chamberlin MD. Implementation of a Molecular Tumor Board: The Impact on Treatment Decisions for 35 Patients Evaluated at Dartmouth-Hitchcock Medical Center. *The Oncologist*. 2015;20(9):1011-1018. doi:10.1634/theoncologist.2015-0097

30. Horak P, Heining C, Kreutzfeldt S, Hutter B, Mock A, Hülleln J, Fröhlich M, Uhrig S, Jahn A, Rump A, Gieldon L, Möhrmann L, Hanf D, Teleanu V, Heilig CE, Lipka DB, Allgäuer M, Ruhnke L, Laßmann A, Endris V, Neumann O, Penzel R, Beck K, Richter D, Winter U, Wolf S, Pfütze K, Georg C, Meißburger B, Buchhalter I, Augustin M, Aulitzky WE, Hohenberger P, Kroiss M, Schirmacher P, Schlenk RF, Keilholz U, Klauschen F, Folprecht G, Bauer S, Siveke JT, Brandts CH, Kindler T, Boerries M, Illert AL, von Bubnoff N, Jost PJ, Spiekermann K, Bitzer M, Schulze-Osthoff K, von Kalle C, Klink B, Brors B, Stenzinger A, Schröck E, Hübschmann D, Weichert W, Glimm H, Fröhling S. Comprehensive Genomic and Transcriptomic Analysis for Guiding Therapeutic Decisions in Patients with Rare Cancers. *Cancer Discov*. 2021;11(11):2780-2795. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0126

31. Luchini C, Lawlor RT, Milella M, Scarpa A. Molecular Tumor Boards in Clinical Practice. *Trends Cancer*. 2020;6(9):738-744. doi:10.1016/j.trecan.2020.05.008

32. Larson KL, Huang B, Weiss HL, Hull P, Westgate PM, Miller RW, Arnold SM, Kolesar JM. Clinical Outcomes of Molecular Tumor Boards: A Systematic Review. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:PO.20.00495. doi:10.1200/PO.20.00495

33. Bryce AH, Egan JB, Borad MJ, Stewart AK, Nowakowski GS, Chanan-Khan A, Patnaik MM, Ansell SM, Banck MS, Robinson SI, Mansfield AS, Klee EW, Oliver GR, McCormick JB, Huneke NE, Tagtow CM, Jenkins RB, Rumilla KM, Kerr SE, Kocher JPA, Beck SA, Fernandez-Zapico ME, Farrugia G, Lazaridis KN, McWilliams RR. Experience with precision genomics and tumor board, indicates frequent target identification, but barriers to delivery. *Oncotarget*. 2017;8(16):27145-27154. doi:10.18632/oncotarget.16057

34. Tarawneh TS, Rodepeter FR, Teply-Szymanski J, Ross P, Koch V, Thölken C, Schäfer JA, Gremke N, Mack HID, Gold J, Riera-Knorrenschild J, Wilhelm C, Rinke A, Middeke M, Klemmer A, Romey M, Hattesoehl A, Jesinghaus M, Görg C, Figiel J, Chung HR, Wündisch T, Neubauer A, Denkert C, Mack EKM. Combined Focused Next-Generation Sequencing Assays to Guide Precision Oncology in Solid Tumors: A Retrospective Analysis from an Institutional Molecular Tumor Board. *Cancers*. 2022;14(18):4430. doi:10.3390/cancers14184430

35. van Dijk EL, Auger H, Jaszczyszyn Y, Thermes C. Ten years of next-generation

sequencing technology. *Trends Genet TIG*. 2014;30(9):418-426. doi:long

36. Martínez-Fernández P, Pose P, Dolz-Gaitón R, García A, Trigo-Sánchez I, Rodríguez-Zarco E, Garcia-Ruiz Mj, Barba I, Izquierdo-García M, Valero-García J, Ruiz C, Lázaro M, Carbonell P, Gargallo P, Méndez C, Ríos-Martín JJ, Palmeiro-Uriach A, Camarasa-Lillo N, Forteza-Vila J, Calabria I. Comprehensive NGS Panel Validation for the Identification of Actionable Alterations in Adult Solid Tumors. *J Pers Med*. 2021;11(5). doi:10.3390/jpm11050360

37. Behel V, Noronha V, Choughule A, Shetty O, Chandrani P, Kapoor A, Bondili SK, Bajpai J, Kumar R, Pai T, Bal M, Gurav M, Bapat P, Mittal N, Menon S, Patil V, Menon N, Dutt A, Prabhaskar K. Impact of Molecular Tumor Board on the Clinical Management of Patients With Cancer. *JCO Glob Oncol*. 2022;8:e2200030. doi:10.1200/GO.22.00030

38. Trédan O, Wang Q, Pissaloux D, Cassier P, de la Fouchardière A, Fayette J, Desseigne F, Ray-Coquard I, de la Fouchardière C, Frappaz D, Heudel PE, Bonneville-Levard A, Fléchon A, Sarabi M, Guibert P, Bachelot T, Pérol M, You B, Bonnin N, Collard O, Leyronnas C, Attignon V, Baudet C, Sohier E, Villemin JP, Viari A, Boyault S, Lantuejoul S, Paindavoine S, Treilleux I, Rodriguez C, Agrapart V, Corset V, Garin G, Chabaud S, Pérol D, Blay JY, ProFiLER investigators. Molecular screening program to select molecular-based recommended therapies for metastatic cancer patients: analysis from the ProFiLER trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2019;30(5):757-765. doi:10.1093/annonc/mdz080

39. Bourien H, Lespagnol A, Campillo-Gimenez B, Felten-Vinot I, Metges JP, Corre R, Lesimple T, le Marechal C, Boussemart L, Kammerer-Jacquet SF, le Gall E, Denoual F, de Tairac M, Galibert MD, Mosser J, Edeline J. Implementation of a molecular tumor board at a regional level to improve access to targeted therapy. *Int J Clin Oncol*. 2020;25(7):1234-1241. doi:10.1007/s10147-020-01661-6

40. Aoyagi Y, Kano Y, Tohyama K, Matsudera S, Kumaki Y, Takahashi K, Mitsumura T, Harada Y, Sato A, Nakamura H, Sueoka E, Aragane N, Kimura K, Onishi I, Takemoto A, Akahoshi K, Ono H, Ishikawa T, Tokunaga M, Nakagawa T, Oshima N, Nakamura R, Takagi M, Asakage T, Uetake H, Tanabe M, Miyake S, Kinugasa Y, Ikeda S. Clinical utility of comprehensive genomic profiling in Japan: Result of PROFILE-F study. *PloS One*. 2022;17(3):e0266112. doi:10.1371/journal.pone.0266112

41. Kong SW, Lee IH, Liu X, Hirschhorn JN, Mandl KD. Measuring coverage and accuracy of whole-exome sequencing in clinical context. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2018;20(12):1617-1626. doi:10.1038/gim.2018.51

42. Koeppl F, Bobard A, Lefebvre C, Pedrero M, Deloger M, Boursin Y, Richon C, Chen-Min-Tao R, Robert G, Meurice G, Rouleau E, Michiels S, Massard C, Scoazec JY, Solary E, Soria JC, André F, Lacroix L. Added Value of Whole-Exome and Transcriptome Sequencing for Clinical Molecular Screenings of Advanced Cancer Patients With Solid Tumors. *Cancer J Sudbury Mass*. 2018;24(4):153-162. doi:10.1097/PPO.0000000000000322

43. LaDuca H, Farwell KD, Vuong H, Lu HM, Mu W, Shahmirzadi L, Tang S, Chen J, Bhide S, Chao EC. Exome sequencing covers >98% of mutations identified on targeted next generation sequencing panels. *PLoS ONE*. 2017;12(2):e0170843. doi:10.1371/journal.pone.0170843

44. Charo LM, Eskander RN, Sicklick J, Kim KH, Lim HJ, Okamura R, Lee S, Subramanian R, Schwab R, Shatsky R, Plaxe S, Kato S, Kurzrock R. Real-World Data From a Molecular Tumor Board: Improved Outcomes in Breast and Gynecologic Cancers Patients With Precision Medicine. *JCO Precis Oncol*. 2022;6:e2000508. doi:10.1200/PO.20.00508

45. Monies D, Abouelhoda M, AlSayed M, Alhassnan Z, Alotaibi M, Kayyali H, Al-Owain M, Shah A, Rahbeeni Z, Al-Muhaizea MA, Alzaidan HI, Cupler E, Bohlega S, Faqeh E, Faden M, Alyounes B, Jaroudi D, Goljan E, Elbardisy H, Akilan A, Albar R, Aldhalaan H, Gulab S, Chedrawi A, Al Saud BK, Kurdi W, Makhseed N, Alqasim T, El Khashab HY, Al-Mousa H, Alhashem A, Kanaan I, Algoufi T, Alsaleem K, Basha TA, Al-Murshedi F, Khan S, Al-Kindy A, Alnemer M, Al-Hajjar S, Alyamani S, Aldhekri H, Al-Mehaidib A, Arnaout R, Dabbagh O, Shagrani M, Broering D, Tulbah M, Alqassmi A, Almugbel M, AlQuaiz M, Alsaman A, Al-Thihli K, Sulaiman RA, Al-Dekhail W, Alsaegh A, Bashiri FA, Qari A, Alhomadi S, Alkuraya H, Alsebayel M, Hamad MH, Szonyi L, Abaalkhail F, Al-Mayouf SM, Almojalli H, Alqadi KS, Elsiey H, Shuaib TM, Seidahmed MZ, Abosoudah I, Akleh H, AlGhoniaim A, Alkharfy TM, Al Mutairi F, Eyaid W, Alsharbary A, Sheikh FR, Alshahbani FI, Alsonbul A, Al Tala S, Balkhy S, Bassiouni R, Alenizi AS, Hussein MH, Hassan S, Khalil M, Tabarki B, Alshahwan S, Oshi A, Sabr

- Y, Alsaadoun S, Salih MA, Mohamed S, Sultana H, Tamim A, El-Haj M, Alshahrani S, et al. The landscape of genetic diseases in Saudi Arabia based on the first 1000 diagnostic panels and exomes. *Hum Genet.* 2017;136(8):921-939. doi:10.1007/s00439-017-1821-8
46. Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D, Gao J, Kundra R, Reznik E, Chatila WK, Chakravarty D, Han GC, Coleman I, Montgomery B, Pritchard C, Morrissey C, Barbieri CE, Beltran H, Sboner A, Zafeiriou Z, Miranda S, Bielski CM, Penson AV, Tolonen C, Huang FW, Robinson D, Wu YM, Lonigro R, Garraway LA, Demichelis F, Kantoff PW, Taplin ME, Abida W, Taylor BS, Scher HI, Nelson PS, de Bono JS, Rubin MA, Sawyers CL, Chinnaiyan AM, Schultz N, Van Allen EM. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat Genet.* 2018;50(5):645-651. doi:10.1038/s41588-018-0078-z
47. Molekulares Tumorboard (MTB). Accessed November 3, 2023. <https://www.uksh.de/uccsh/mtb-path-342,15653.html>
48. Md V, Misra S, Li H, Aluru S. *Efficient Architecture-Aware Acceleration of BWA-MEM for Multicore Systems.*; 2019. doi:10.48550/arXiv.1907.12931
49. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinforma Oxf Engl.* 2014;30(15):2114-2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170
50. Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. Accessed March 17, 2023. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
51. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M, DePristo MA. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res.* 2010;20(9):1297-1303. doi:10.1101/gr.107524.110
52. Koboldt DC, Zhang Q, Larson DE, Shen D, McLellan MD, Lin L, Miller CA, Mardis ER, Ding L, Wilson RK. VarScan 2: Somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. *Genome Res.* 2012;22(3):568-576. doi:10.1101/gr.129684.111
53. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(16):e164. doi:10.1093/nar/gkq603
54. Boeva V, Popova T, Bleakley K, Chiche P, Cappo J, Schleiermacher G, Janoueix-Lerosey I, Delattre O, Barillot E. Control-FREEC: a tool for assessing copy number and allelic content using next-generation sequencing data. *Bioinforma Oxf Engl.* 2012;28(3):423-425. doi:10.1093/bioinformatics/btr670
55. Favero F, Joshi T, Marquard AM, Birkbak NJ, Krzystanek M, Li Q, Szallasi Z, Eklund AC. Sequenza: allele-specific copy number and mutation profiles from tumor sequencing data. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2015;26(1):64-70. doi:10.1093/annonc/mdl479
56. Sztupinski Z, Diossy M, Krzystanek M, Reiniger L, Csabai I, Favero F, Birkbak NJ, Eklund AC, Syed A, Szallasi Z. Migrating the SNP array-based homologous recombination deficiency measures to next generation sequencing data of breast cancer. *NPJ Breast Cancer.* 2018;4:16. doi:10.1038/s41523-018-0066-6
57. MSIsensor-pro: Fast, Accurate, and Matched-normal-sample-free Detection of Microsatellite Instability - PubMed. Accessed March 17, 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32171661/>
58. Hübschmann D, Jopp-Saile L, Andresen C, Krämer S, Gu Z, Heilig CE, Kreutzfeldt S, Teleanu V, Fröhling S, Eils R, Schlesner M. Analysis of mutational signatures with yet another package for signature analysis. *Genes Chromosomes Cancer.* 2021;60(5):314-331. doi:10.1002/gcc.22918
59. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinforma Oxf Engl.* 2018;34(17):i884-i890. doi:10.1093/bioinformatics/bty560
60. Cibulskis K, Lawrence MS, Carter SL, Sivachenko A, Jaffe D, Sougnez C, Gabriel S, Meyerson M, Lander ES, Getz G. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *Nat Biotechnol.* 2013;31(3):213-219. doi:10.1038/nbt.2514
61. Strelka2 Small Variant Caller. Published online February 21, 2023. Accessed March 17, 2023. <https://github.com/Illumina/strelka>
62. Kircher M, Witten DM, Jain P, O’Roak BJ, Cooper GM, Shendure J. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nat Genet.* 2014;46(3):310-315. doi:10.1038/ng.2892
63. Rentzsch P, Schubach M, Shendure J, Kircher M. CADD-Splice-improving genome-wide

variant effect prediction using deep learning-derived splice scores. *Genome Med.* 2021;13(1):31. doi:10.1186/s13073-021-00835-9

64. Nicorici D, Şatalan M, Edgren H, Kangaspeska S, Murumägi A, Kallioniemi O, Virtanen S, Kilkku O. FusionCatcher – a tool for finding somatic fusion genes in paired-end RNA-sequencing data. Published online November 19, 2014:011650. doi:10.1101/011650

65. Uhrig S, Ellermann J, Walther T, Burkhardt P, Fröhlich M, Hutter B, Toprak UH, Neumann O, Stenzinger A, Scholl C, Fröhling S, Brors B. Accurate and efficient detection of gene fusions from RNA sequencing data. *Genome Res.* 2021;31(3):448-460. doi:10.1101/gr.257246.119

66. Bray NL, Pimentel H, Melsted P, Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat Biotechnol.* 2016;34(5):525-527. doi:10.1038/nbt.3519

67. oncomine-focus-assay-performance-white-paper.pdf. Accessed September 14, 2023. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/Vector-Information/oncomine-focus-assay-performance-white-paper.pdf>

68. TFS-AssetsLSGbrochuresIon-AmpliSeq-Cancer-Hotspot-Panel-Flyer.pdf. Accessed September 14, 2023. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FSLSG%2Fbrochures%2FIon-AmpliSeq-Cancer-Hotspot-Panel-Flyer.pdf>

69. Evidenzgraduierung MTB_ZPM_V01_Juni2019.pdf. Google Docs. Accessed September 1, 2023. https://drive.google.com/file/u/0/d/1Bhdxsd5U9we1dNjmV_Sc760uZaeEc9uS/view?usp=sharing&pli=1&usp=embed_facebook

70. Von Hoff DD, Stephenson JJ, Rosen P, Loesch DM, Borad MJ, Anthony S, Jameson G, Brown S, Cantafio N, Richards DA, Fitch TR, Wasserman E, Fernandez C, Green S, Sutherland W, Bittner M, Alarcon A, Mallery D, Penny R. Pilot study using molecular profiling of patients' tumors to find potential targets and select treatments for their refractory cancers. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2010;28(33):4877-4883. doi:10.1200/JCO.2009.26.5983

71. Clinical Outcomes of Patients with Rare and Heavily Pretreated Solid Tumors Treated according to the Results of Tumor Molecular Profiling. Accessed January 11, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4972920/pdf/BMRI2016-4627214.pdf>

72. Massard C, Michiels S, Ferté C, Le Deley MC, Lacroix L, Hollebecque A, Verlingue L, Ileana E, Rosellini S, Ammari S, Ngo-Camus M, Bahleda R, Gazzah A, Varga A, Postel-Vinay S, Loriot Y, Even C, Breuskin I, Auger N, Job B, De Baere T, Deschamps F, Vielh P, Scoazec JY, Lazar V, Richon C, Ribrag V, Deutsch E, Angevin E, Vassal G, Eggermont A, André F, Soria JC. High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial. *Cancer Discov.* 2017;7(6):586-595. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-1396

73. S3-Leitlinie Mammakarzinom. Published 2021. Accessed February 4, 2024. https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/fileadmin/user_upload/Downloads/Leitlinien/Mammakarzinom_4_0/Version_4.4/LL_Mammakarzinom_Langversion_4.4.pdf

74. Seufferlein T, Mayerle J, Böck S, Brunner T, Ettrich TJ, Grenacher L, Gress TM, Hackert T, Heinemann V, Kestler A, Sinn M, Tannapfel A, Wedding U, Uhl W. S3-Leitlinie zum exokrinen Pankreaskarzinom – Langversion 2.0 – Dezember 2021 – AWMF-Registernummer: 032/010OL. *Z Für Gastroenterol.* 2022;60(11):e812-e909. doi:10.1055/a-1856-7346

75. Langer T. Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. Published online 2022.

76. Chehade R, Qazi MA, Ennis M, Sahgal A, Das S, Nofech-Mozes S, Jerzak KJ. PD-L1 expression in breast cancer brain metastases. *Neuro-Oncol Adv.* 2022;4(1):vdac154. doi:10.1093/oaajnl/vdac154

77. Camy F, Karpathiou G, Dumollard JM, Magne N, Perrot JL, Vassal F, Picot T, Mobarki M, Forest F, Casteillo F, Hathroubi S, Froudarakis M, Peoc'h M. Brain metastasis PD-L1 and CD8 expression is dependent on primary tumor type and its PD-L1 and CD8 status. *J Immunother Cancer.* 2020;8(2):e000597. doi:10.1136/jitc-2020-000597

78. Cheng J, Novati G, Pan J, Bycroft C, Žemgulytė A, Applebaum T, Pritzel A, Wong LH, Zielinski M, Sargeant T, Schneider RG, Senior AW, Jumper J, Hassabis D, Kohli P, Avsec Ž. Accurate proteome-wide missense variant effect prediction with AlphaMissense. *Science.* 2023;381(6664):eadg7492. doi:10.1126/science.adg7492

79. Ramarao-Milne P, Kondrashova O, Patch AM, Nones K, Koufariotis LT, Newell F, Addala

- V, Lakis V, Holmes O, Leonard C, Wood S, Xu Q, Mukhopadhyay P, Naeini MM, Steinfort D, Williamson JP, Bint M, Pahoff C, Nguyen PT, Twaddell S, Arnold D, Grainge C, Basirzadeh F, Fielding D, Dalley AJ, Chittoory H, Simpson PT, Aoude LG, Bonazzi VF, Patel K, Barbour AP, Fennell DA, Robinson BW, Creaney J, Hollway G, Pearson JV, Waddell N. Comparison of actionable events detected in cancer genomes by whole-genome sequencing, in silico whole-exome and mutation panels. *ESMO Open*. 2022;7(4). doi:10.1016/j.esmoop.2022.100540
80. TruSeq Amplicon - Cancer Panel.
81. Carlino MS, Larkin J, Long GV. Immune checkpoint inhibitors in melanoma. *The Lancet*. 2021;398(10304):1002-1014. doi:10.1016/S0140-6736(21)01206-X
82. Marcus L, Fashoyin-Aje LA, Donoghue M, Yuan M, Rodriguez L, Gallagher PS, Philip R, Ghosh S, Theoret MR, Beaver JA, Pazdur R, Lemery SJ. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Tumor Mutational Burden-High Solid Tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2021;27(17):4685-4689. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-0327
83. Burtneß B, Harrington KJ, Greil R, Soulières D, Tahara M, Castro G de, Psyri A, Basté N, Neupane P, Bratland Å, Fueeder T, Hughes BGM, Mesía R, Ngamphaiboon N, Rordorf T, Ishak WZW, Hong RL, Mendoza RG, Roy A, Zhang Y, Gumuscu B, Cheng JD, Jin F, Rischin D, Lerzo G, Tatangelo M, Varela M, Zarba JJ, Boyer M, Gan H, Gao B, Hughes B, Mallesara G, Rischin D, Taylor A, Burian M, Fueeder T, Greil R, Barrios CH, Junior DO de C, Castro G, Franke FA, Giroto G, Lima IPF, Nicolau UR, Pinto GDJ, Santos L, Victorino AP, Chua N, Couture F, Gregg R, Hansen A, Hilton J, McCarthy J, Soulieres D, Ascui R, Gonzalez P, Villanueva L, Torregroza M, Zambrano A, Holeckova P, Kral Z, Melichar B, Prausova J, Vosmik M, Andersen M, Gyldenkerne N, Jurgens H, Putnik K, Reinikainen P, Gruenwald V, Laban S, Aravantos G, Boukovinas I, Georgoulas V, Psyri A, Kwong D, Al-Farhat Y, Csozi T, Erfan J, Horvai G, Landherr L, Remenar E, Ruzsa A, Szota J, Billan S, Gluck I, Gutfeld O, Popovtzer A, Benasso M, Bui S, Ferrari V, Licitra L, Nole F, Fujii T, Fujimoto Y, Hanai N, Hara H, et al. Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2019;394(10212):1915-1928. doi:10.1016/S0140-6736(19)32591-7
84. Xu C, Wu K, Zhang J, Shen H, Deng HW. Low-, high-coverage and two-stage DNA sequencing in the design of the genetic association study. *Genet Epidemiol*. 2017;41(3):187. doi:10.1002/gepi.22015
85. Lee S, Abecasis GR, Boehnke M, Lin X. Rare-variant association analysis: study designs and statistical tests. *Am J Hum Genet*. 2014;95(1):5-23. doi:10.1016/j.ajhg.2014.06.009
86. AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel.
87. Sung MT, Wang YH, Li CF. Open the Technical Black Box of Tumor Mutational Burden (TMB): Factors Affecting Harmonization and Standardization of Panel-Based TMB. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):5097. doi:10.3390/ijms23095097
88. Wang X, Xu Y, Zhang Y, Wang S, Zhang X, Yi X, Zhang S, Wang J. HRD-MILN: Accurately estimate tumor homologous recombination deficiency status from targeted panel sequencing data. *Front Genet*. 2022;13:990244. doi:10.3389/fgene.2022.990244
89. Medizin dnpm | DN für P. Über das DNPM. dnpm. Accessed September 14, 2023. <https://dnpm.de/de/ueber-uns/>
90. Hamamoto R, Koyama T, Kouno N, Yasuda T, Yui S, Sudo K, Hirata M, Sunami K, Kubo T, Takasawa K, Takahashi S, Machino H, Kobayashi K, Asada K, Komatsu M, Kaneko S, Yatabe Y, Yamamoto N. Introducing AI to the molecular tumor board: one direction toward the establishment of precision medicine using large-scale cancer clinical and biological information. *Exp Hematol Oncol*. 2022;11:82. doi:10.1186/s40164-022-00333-7
91. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, Collins RL, Laricchia KM, Ganna A, Birnbaum DP, Gauthier LD, Brand H, Solomonson M, Watts NA, Rhodes D, Singer-Berk M, England EM, Seaby EG, Kosmicki JA, Walters RK, Tashman K, Farjoun Y, Banks E, Poterba T, Wang A, Seed C, Whiffin N, Chong JX, Samocha KE, Pierce-Hoffman E, Zappala Z, O'Donnell-Luria AH, Minikel EV, Weisburd B, Lek M, Ware JS, Vittal C, Armean IM, Bergelson L, Cibulskis K, Connolly KM, Covarrubias M, Donnelly S, Ferriera S, Gabriel S, Gentry J, Gupta N, Jeandet T, Kaplan D, Llanwarne C, Munshi R, Novod S, Petrillo N, Roazen D, Ruano-Rubio V, Saltzman A, Schleicher M, Soto J, Tibbetts K, Tolonen C, Wade G, Talkowski ME,

Neale BM, Daly MJ, MacArthur DG. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-443. doi:10.1038/s41586-020-2308-7

Anhänge

DTER	%	%	%	%	%	%	%
Diagnostikart	IHC	FISH	Panel	WES	RNA	OTHER	gesamt
Anal	0			100			50
Gallenwege/Leber	33	0	0	100			58
Harnblase	0	0	0	100		100	29
Mamma	8	17	41	95	50	0	40
Gebärmutterhals	0		67	100	100	100	75
Kolorektal	9	0	0	67			24
CUP	0	0	0	80	33	0	33
Endometrium	0	0	0	100			17
Magen/Ösophagus	0		100	50	0		30
Kopf/Hals	0	20	50	100	33		48
Hämatologisch				100			100
Lunge	0		0	100	0		50
Melanom			0		0		0
Mehrere	33	0	0	67			38
NEC / NET	13	0	100	57	0	0	27
Osteosarkom				0			0
andere	29	0	25	50	33		33
Ovar	0	0	17	100			14
Pankreas	37	33	43	100	0		48
Prostata	0			50			25
Weichgewebssarkom	0	0	0	92	0	0	39
Schilddrüse		0	0				0
gesamt	14	10	33	84	26	20	38

Anhang 1: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) in % in Abhängigkeit der Diagnostikart und der Tumorentität.

DTER	%	%	%	%	%	%	%
IHC-Marker	PD-L1	NTRK	TROP2	Her2	dMMR	andere IHC-Marker	gesamt
Anal	0	0			0		0
Gallenwege/Leber	0	0		50			20
Harnblase	0	0					0
Mamma	0	0	29	0	0	0	3
Gebärmutterhals		0			0		0
Kolorektal	0	0	100	0	0		4
CUP	0	0		0			0
Endometrium				0	0		0
Magen/Ösophagus	0	0	0		0	0	0
Kopf/Hals	0	0	0	0	0		0
Hämatologisch							
Lunge		0	0				0
Melanom							
Mehrere	0	0	100	0	0		11
NEC / NET	14	0	0		0		5
Osteosarkom							
andere	20	0	33		0		11
Ovar	0	0		0	0		0
Pankreas	6	0	83	13	0		14
Prostata	0	0			0		0
Weichgewebssarkom	0	0	0		0		0
Schilddrüse							
gesamt	4	0	38	8	0	0	6

Anhang 2: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) in % in Abhängigkeit des durchgeführten IHC-Markers und der Tumorentität.

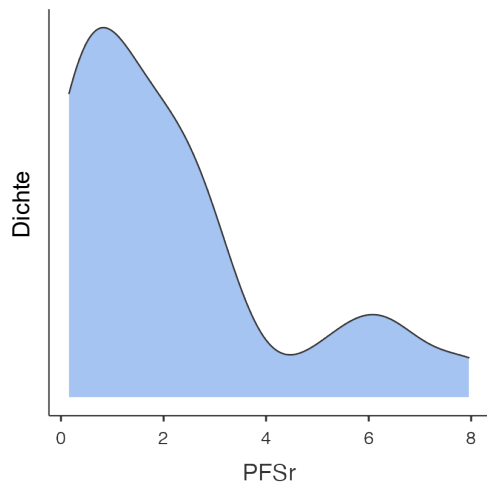
DTER	%	%	%	%	%	%
NGS-Panel	Cancer Hotspot	Oncomin e Focus	entitätenspe z. Panel	< 4 Gene	anderes Panel	gesamt
Anal						
Gallenwege/Leber					0	0
Harnblase				0	0	0
Mamma	50			0	50	41
Gebärmutterhals					67	67
Kolorektal	0		0		0	0
CUP					0	0
Endometrium				0		0
Magen/Ösophagus					100	100
Kopf/Hals	0	50	0		100	50
Hämatologisch						
Lunge				0		0
Melanom				0		0
Mehrere			0			0
NEC / NET	100					100
Osteosarkom						
andere	0		100	0		25
Ovar	100		0	0	0	17
Pankreas	50		50	0		43
Prostata						
Weichgewebssarkom					0	0
Schilddrüse				0		0
gesamt	46	50	40	0	45	33

Anhang 3: Diagnostiktherapieempfehlungsrate (DTER) in % in Abhängigkeit des durchgeführten NGS-Panels und der Tumorentität.

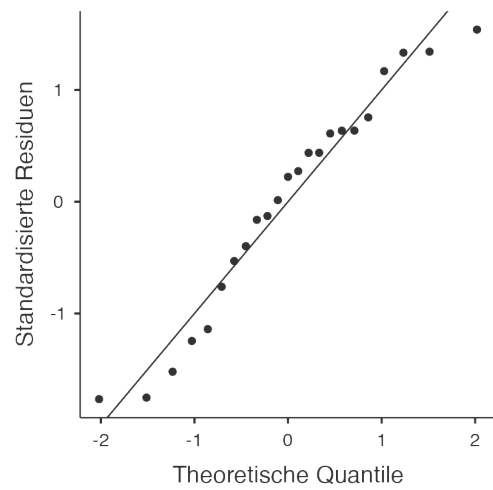
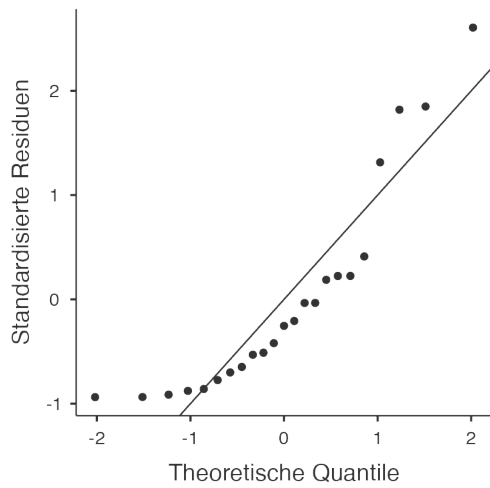
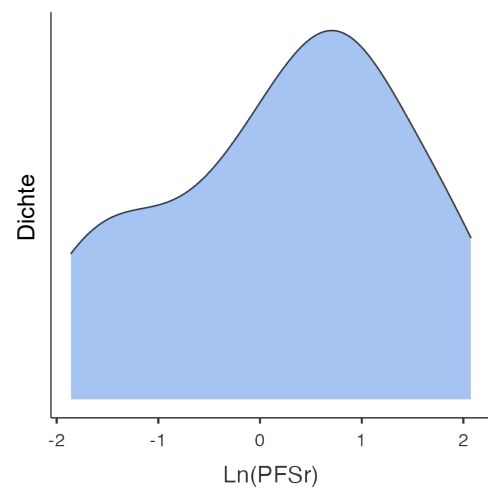
	Gesamt (N=353)
Diagnostik	
IHC	114 (32.3%)
FISH	42 (11.9%)
Panel	66 (18.7%)
WES	98 (27.8%)
RNA	23 (6.5%)
OTHER	10 (2.8%)
Gewebe vorhanden	
ja, intern	161 (45.6%)
ja, extern	9 (2.5%)
nein	118 (33.4%)
n.b.	65 (18.4%)
Durchgeführt	
ja	345 (97.7%)
nein	3 (0.8%)
unvollständig	5 (1.4%)
Therapieempfehlung	
ja	131 (37.1%)
nein	222 (62.9%)
Tage ab Diagnostikempfehlung	
N Fehlende	62
Durchschnitt (Standardabweichung)	85.2 (70.5)
Spannweite	7.0 - 483.0
Tage ab Material vorhanden	
N Fehlende	149
Durchschnitt (Standardabweichung)	51.1 (45.0)
Spannweite	4.0 - 381.0

Anhang 4: Eingeschlossene Diagnostikempfehlungen (n.b. = nicht bekannt).

PFSr

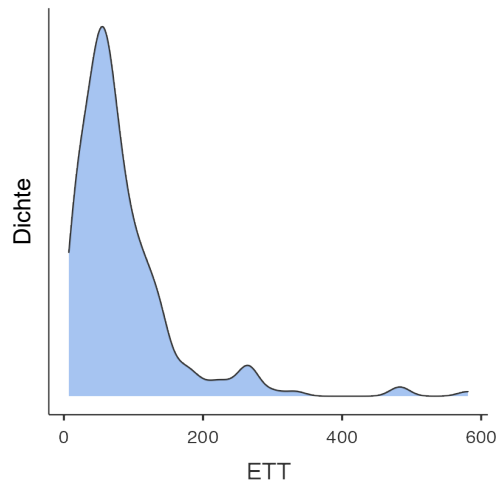


Ln(PFSr)

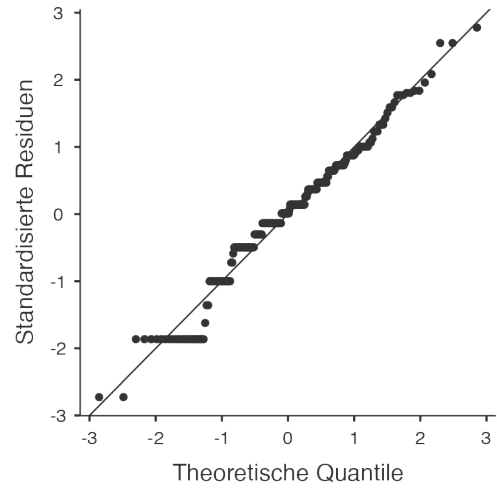
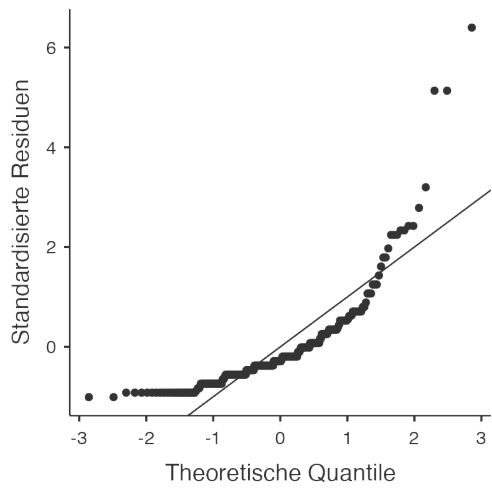
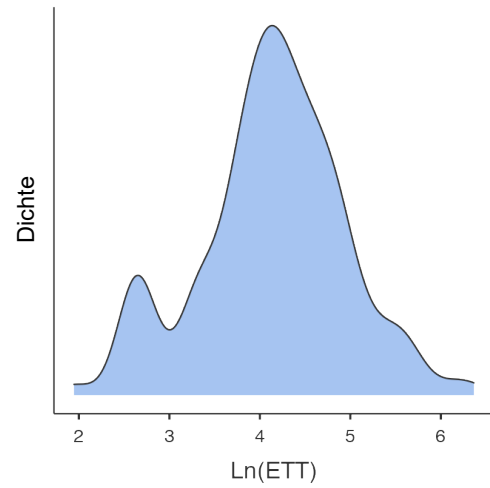


Anhang 5: Dichte und Q-Q-Diagramm der PFSr (links) und Ln(PFSr) (rechts) im direkten Vergleich.

ETT

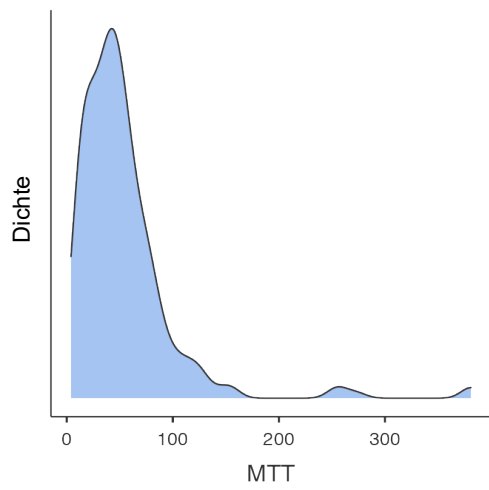


Ln(ETT)

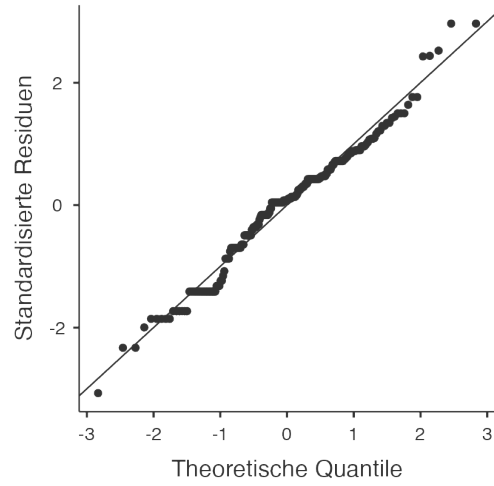
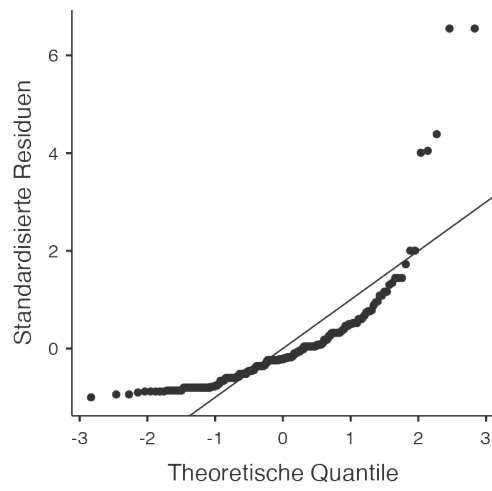
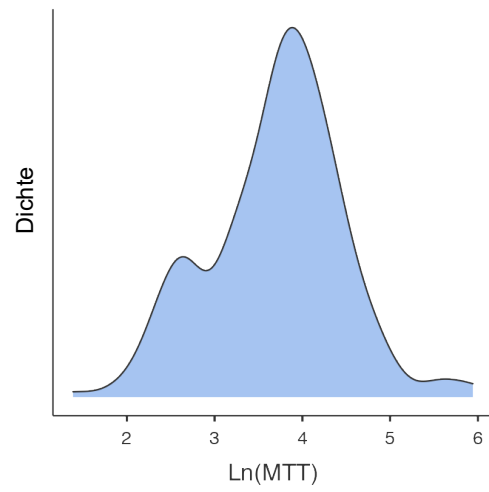


Anhang 6: Dichte und Q-Q-Diagramm der ETT (links) und Ln(ETT) (rechts) im direkten Vergleich.

MTT



Ln(MTT)



Anhang 7: Dichte und Q-Q-Diagramm der MTT (links) und Ln(MTT) (rechts) im direkten Vergleich.



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23562 Lübeck

Herrn
Prof. Dr. med. von Bubnoff
Klinik für Hämatologie und Onkologie
im Hause

Nikolas.vonbubnoff@uksh.de
Stephanie.Fliedner@uksh.de

Ethik-Kommission

Vorsitzender:

Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic

Stellv. Vorsitzender:

Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler

Geschäftsstelle:

Dr. phil. Angelika Hüppe
Dr. rer. nat. Inga Kaufhold
Janine Kurzaj-Erdmann
Doris Seuthe

E-Mail: ethikkommission@uni-luebeck.de

Website: www.uni-luebeck.de/forschung/kommissionen/ethikkommission

Aktenzeichen: 21-259

Datum: 26. November 2021 DS/IK

Sitzung der Ethik-Kommission am 01. Juli 2021, Nachreichung vom 18. November 2021

Antragsteller: Herr Prof. Dr. med. von Bubnoff

Titel: Registerstudie des Molekularen Tumorboards des Universitären Cancer Centers Schleswig-Holstein (Kurztitel: „UCCSH-MTB-Register“)

Sehr geehrter Herr Prof. von Bubnoff,

vielen Dank für Ihr o.g. Schreiben, in dem Sie unserem Wunsch nach weiteren Informationen zum Studienvorhaben nachkommen.

Folgende Unterlagen lagen vor:

- Ihr Anschreiben vom 18.11.20221

1. Studienprotokoll: UCCSH-MTB-Register

2. Basisformular: UCCSH-MTB-Register

3. Dokumentationsbogen: UCCSH-MTB-Register

4. Follow-Up Bogen: UCCSH-MTB-Register

5. Patientenaufklärung und Einwilligung: UCCSH-MTB-Registerstudie

6. Patientenaufklärung und Einwilligung: Vorhandene Bioproben

8. Patientenaufklärung + Einwilligung: MTB + Weiterführende Molekulardiagnostik (Klinische Versorgung, informativ beigelegt)

Die Kommission hat gegen die Durchführung der Studie **keine Bedenken**.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, ist die Kommission umgehend zu benachrichtigen.

Die Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung fordert in § 35 dazu auf, jedes medizinische Forschungsvorhaben mit Menschen zu registrieren. Daher empfiehlt die Kommission grundsätzlich die Studienregistrierung in einem öffentlichen Register (z.B. unter www.drks.de).

Die ärztliche und juristische Verantwortung des Studienleiters und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der

Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Datenschutzrechtliche Aspekte von Forschungsvorhaben werden durch die Ethikkommission grundsätzlich nur kursorisch geprüft. Dieses Votum / diese Bewertung ersetzt mithin nicht die Konsultation des zuständigen Datenschutzbeauftragten.

Mit freundlichem Gruß

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

Anhang 8: Votum der Ethikkommission der Universität zu Lübeck



Ethik-Kommission · Schwanenweg 20 · 24105 Kiel

Prof. Dr. med. Anne Letsch
UKSH Campus Kiel, Klinik für Innere Medizin II
Arnold-Heller-Str. 3, Haus
24105 Kiel

Vorab: anne.letsch@uksh.de

Postadresse:
Arnold-Heller-Straße 3 / Haus U 27
D-24105 Kiel
Telefon 04 31 / 500-14 191
Telefax 04 31 / 500-14 195
ethikkomm@email.uni-kiel.de

Datum: 03. November 2022

AZ.: B 301/22 (bitte stets angeben)
Studienplan: Register des Molekularen Tumorboards des Universitären Cancer Centers Schleswig-Holstein (UCCSH-MTB-Register)
Anschreiben 18Jul22; Studienprotokoll sign. 18Jul22; Basisformular v.18Jul22; Dokumentationsbogen; Follow Up Bogen MTB; Information und Einwilligung zum Register V2.1 v. 06Mai22; Information und Einwilligung zur Verwendung von bereits vorhandenen Bioproben in Begleitstudien zum Register V2.1 v. 06Mai22; Studienprotokoll zur Studie zum Register des MTB V2 v. 07Apr22; Voten der EK Lübeck v. 26Nov21; 15Dez21; 21Apr22; 25Apr22

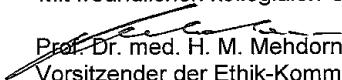
Studienleitung nat.: Prof. Dr. Nikolas von Bubnoff, UKSH Lübeck
Antragstellung und Studienleitung lokal: Prof. Dr. Anne Letsch, Dr. Lorenz Bastian, UKSH Kiel
In Kooperation: Institut für Pathologie, UKSH Kiel
Finanzierung: Eigenmittel
Antrag vom: 18. Juli 2022 (Eingang: 27. Oktober 2022)

Sehr geehrte Frau Kollegin Letsch,
wir bestätigen den Eingang des obengenannten Antrages zur Beratung gemäß § 15 Berufsordnung (BO) der Ärztekammer Schleswig-Holstein. Nach Durchsicht der Unterlagen durch die Geschäftsstelle und durch mich als Vorsitzenden der Ethik-Kommission bestehen gegen die Durchführung der Studie keine berufsethischen und berufsrechtlichen Bedenken.

Die im Folgenden aufgeführten Hinweise müssen beachtet werden:

1. Es wird darauf hingewiesen, dass, wenn keine studienspezifische Einwilligung vorliegt, Patientendaten für die Studie nur ausgewertet dürfen, wenn jeweils eine allgemeine Einwilligungserklärung zur Forschung und Weitergabe mit/von routinemäßig erhobenen Patientendaten unterschrieben wurde (Landeskrankenhausgesetz Schleswig-Holstein vom 01Jan21).
2. Ergebnissbögen, die im Rahmen der Studie verwendet werden, sollten grundsätzlich pseudonymisiert werden.
3. Wir empfehlen die Zusammenfassung der beiden Patienteninformationen (2 x 6 Seiten) in einem Dokument.
4. Es wird darauf hingewiesen, dass datenschutzrechtliche Aspekte grundsätzlich nur kurzfristig durch die Ethik-Kommissionen geprüft werden. Dieses Votum ersetzt nicht die Konsultation des zuständigen Datenschutzbeauftragten.
5. Künftige Änderungen der Studie sind der Ethik-Kommission anzuzeigen und machen gegebenenfalls eine erneute Beratung erforderlich.
6. Die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung dieser Studie verbleibt bei der Studienleitung.
7. Gemäß Deklaration von Helsinki **muss** der Ethik-Kommission nach Studienende ein Abschlussbericht vorgelegt werden.

Mit freundlichen kollegialen Grüßen


Prof. Dr. med. H. M. Mehdorn
Vorsitzender der Ethik-Kommission


Dr. med. Christine Glimcke
Geschäftsführung der Ethik-Kommission

Danksagungen

Liebe Leserinnen und Leser,

ich möchte mich von Herzen bei all den Menschen bedanken, die mich auf meinem Weg zur Promotion unterstützt haben. Ohne ihre Hilfe und Unterstützung wäre dieses Projekt nicht möglich gewesen.

Ein besonderer Dank geht an:

Herrn Prof. Dr. med. Nikolas von Bubnoff, meinen Doktorvater, der mich fachlich herausgefordert und inspiriert hat.

Frau Prof. Dr. rer. nat. Silke Szymczak, meine Kobetreuerin, die mich mit wertvollen Ratschlägen und Ideen unterstützt hat.

Frau Dr. rer. nat. Stephanie Fliedner, meine Mentorin, die mich mit ihrem Fachwissen, ihrer Geduld und ihrem Engagement begleitet hat.

Meinen Eltern und meiner gesamten Familie danke ich für ihre persönliche und finanzielle Unterstützung. Mein Vater hat mich zudem fachlich begleitet und ermutigt.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Freundin und Verlobten | bedanken. Sie hat mich in jeder Hinsicht unterstützt, sei es durch

aufmunternde Worte, gemeinsame Abende oder einfach nur ihre Liebe und Geduld.

Mit herzlichen Grüßen,

Paul Lennart Tiemann

Lebenslauf

NAME	Paul Lennart Tiemann
SPRACHKENNTNISSE	LCCI-Certificate (English for Business): Level C1
AUSBILDUNG	GESCHWISTER-SCHOLL-GYMNASIUM 2009 BIS 2017, ABITUR MIT DER NOTE 1,2 UNIVERSITÄT ZU LÜBECK STUDIUM DER HUMANMEDIZIN SEIT 2017 PHYSIKUM 2019 MIT DER BENOTUNG „GUT“ M2 2023 MIT DER BENOTUNG „GUT“
PROMOTION	SEIT 2021 PROMOTION IM BEREICH DER PRÄZISIONSONKOLOGIE PROF. VON BUBNOFF WISSENSCHAFTLICHE HILFSKRAFT, MOLEKULARES TUMORBOARD UNIVERSITY CANCER CENTER SCHLESWIG-HOLSTEIN (UCCSH) DEZEMBER 2021 BIS DEZEMBER 2022
FAMULATUR	FAMULATUR IN DER RHEUMATOLOGISCHEN TAGESKLINIK UKSH LÜBECK 17. FEBRUAR 2020 BIS 08. MÄRZ 2020 FAMULATUR IN DER KLINIK FÜR HÄMATOLOGIE UND ONKOLOGIE UKSH LÜBECK 26. JULI 2021 BIS 15. AUGUST 2021 FAMULATUR IN DER KLINIK FÜR INNERE MEDIZIN STADTKLINIK WERDOHL 30. AUGUST 2021 BIS 19. SEPTEMBER 2021 HAUSÄRZTLICHE FAMULATUR, PRAXIS DR. NAUMANN LÜBECK 21. FEBRUAR 2022 BIS 25. MÄRZ 2022 FAMULATUR IN DER ONKOLOGISCHEN PRAXIS DR. MARXSEN LÜBECK 12. SEPTEMBER 2022 BIS 25. SEPTEMBER 2022
PRAKTISCHES JAHR	1.TERTIAL SANA KLINIKEN LÜBECK, CHIRURGIE 20. NOVEMBER 2023 BIS 10. MÄRZ 2024 2.TERTIAL ALLGEMEINMEDIZIN PRAXIS VOR DEM MÜHLENTOR 11. MÄRZ 2024 BIS 30. JUNI 2024, <i>aktuell</i> 3.TERTIAL SANA KLINIKEN LÜBECK, INNERE MEDIZIN 01. JULI 2024 BIS 20. OKTOBER 2024, <i>geplant</i>

LÜBECK, 23.06.2024