

2017



Progetto Ematologia Romagna

COME SI SELEZIONANO I GENI MUTATI “DRIVER” DELLA EMOPATIA IN ESAME

Giorgia Simonetti, PhD

Dipartimento di Medicina Specialistica, Diagnostica e Sperimentale, Università di Bologna



2017

Mutazioni «driver» e mutazioni «passenger»

DRIVER: mutazioni che conferiscono un vantaggio alla cellula cancerosa e hanno un ruolo nella trasformazione/progressione.

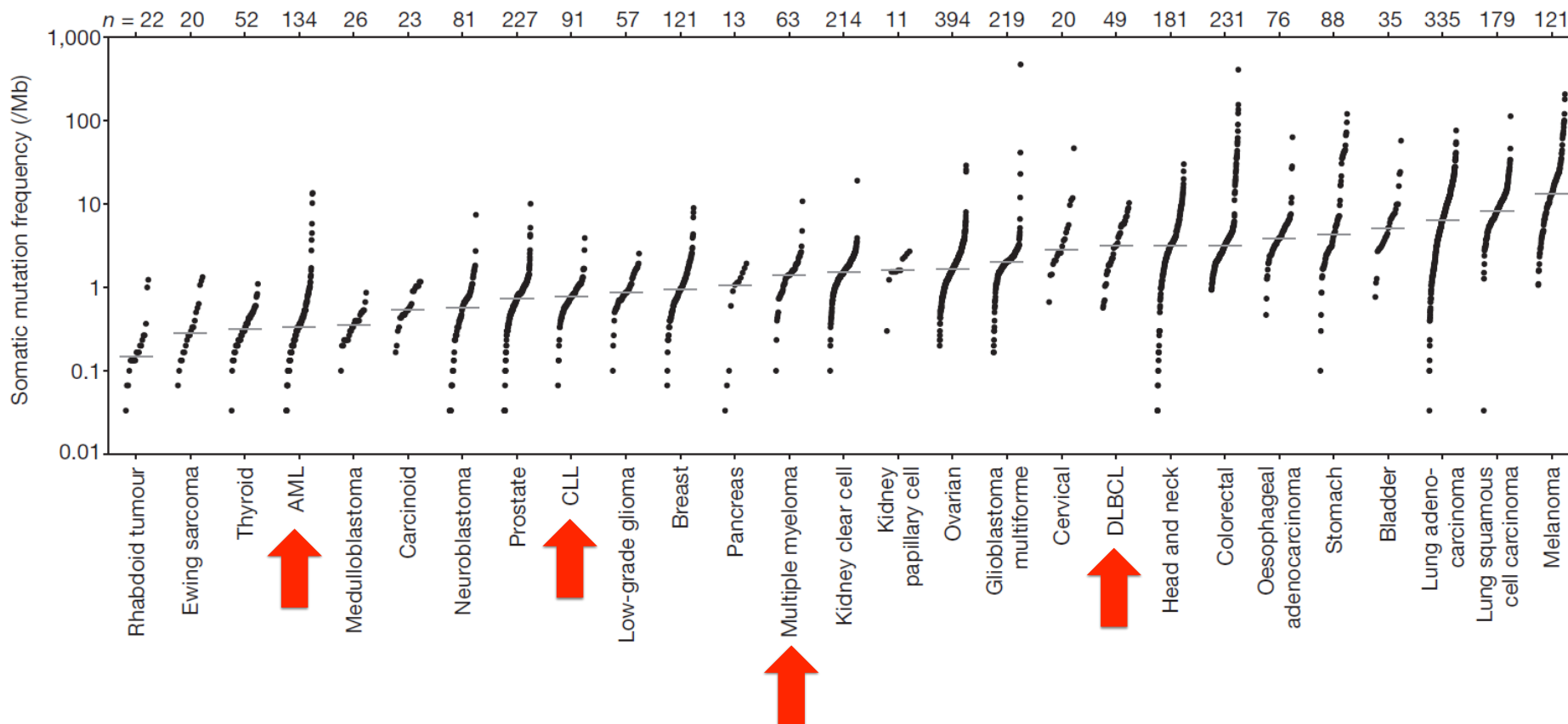
PASSENGER: mutazioni che emergono come conseguenza dell'instabilità genetica del tumore e non hanno un ruolo fondamentale nella sua insorgenza.





2017

Eterogeneità mutazionale nel cancro

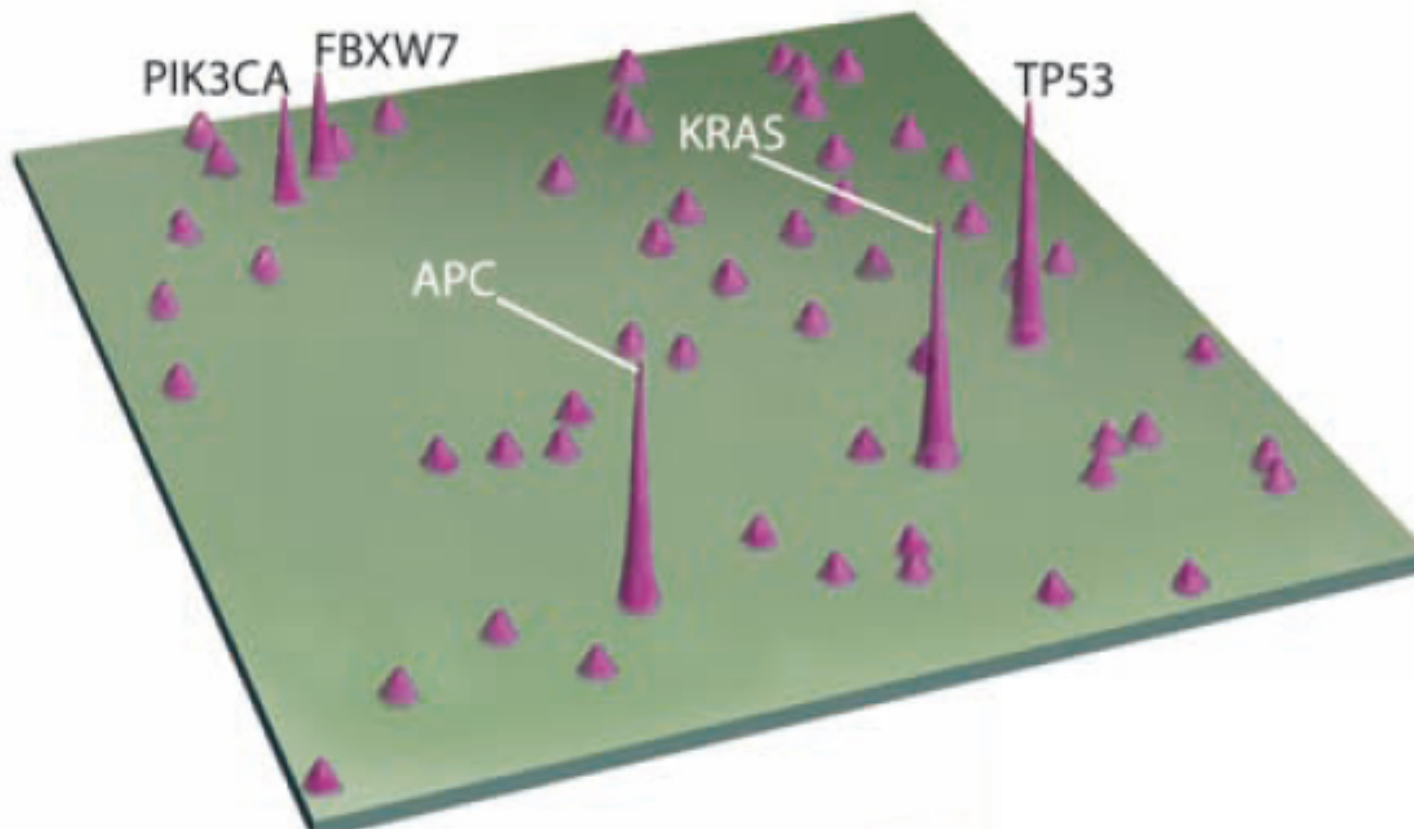


Lawrence et al. *Nat. Letter* 2014



2017

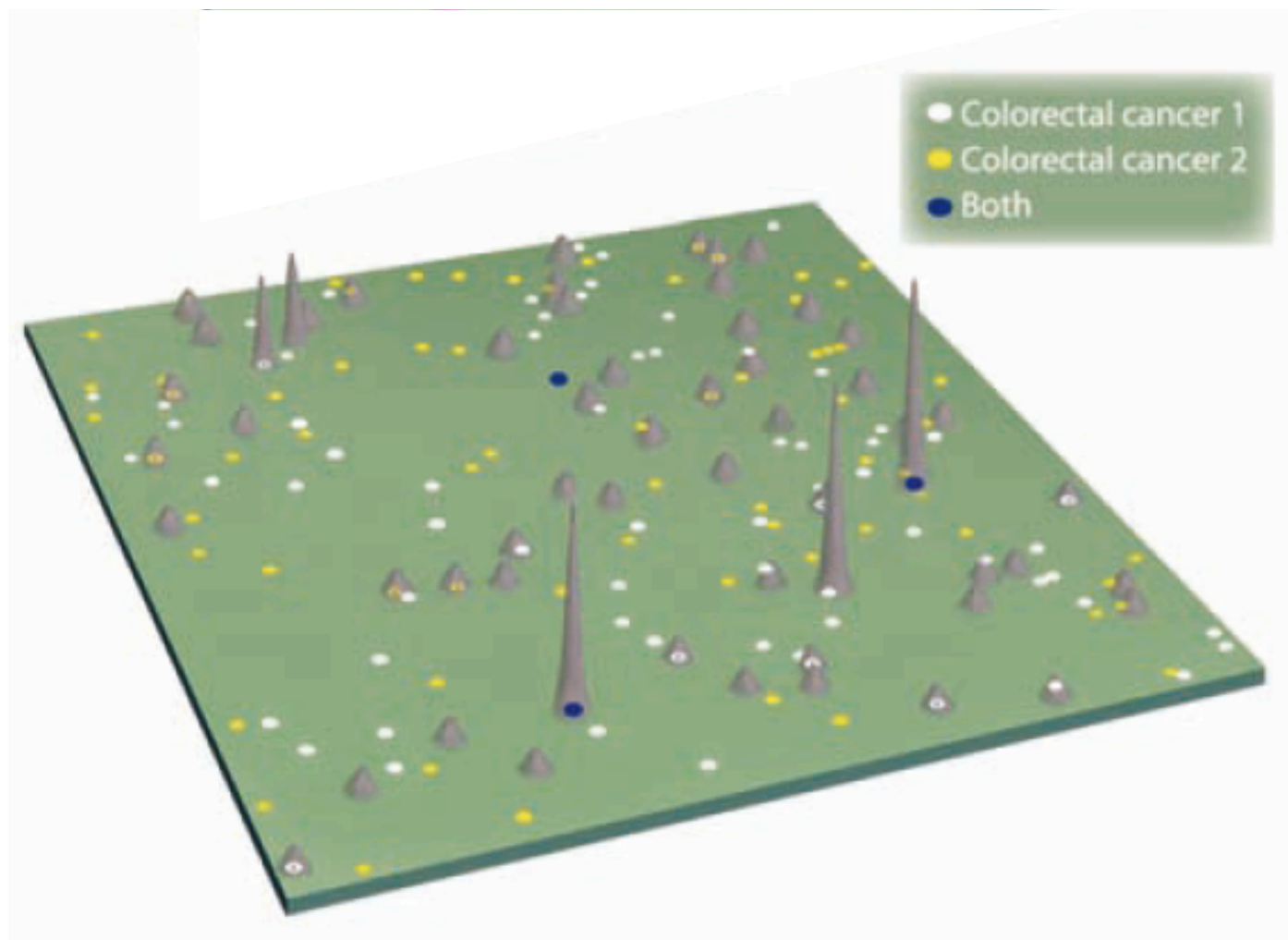
Il «paesaggio» mutazionale dei tumori





2017

Eterogeneità mutazionale intra-tumore





2017

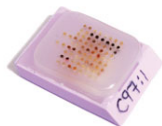
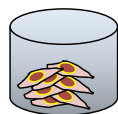
Analisi del profilo genomico delle emopatie in NGS

Next generation sequencing

Campione tumorale

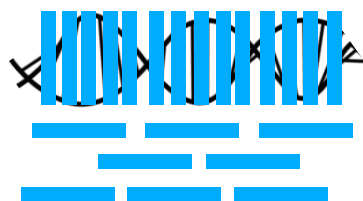


Biopsia
liquida



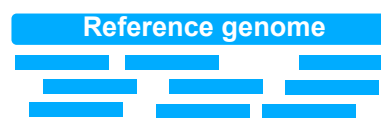
Biopsia
solida

Sequenziamento



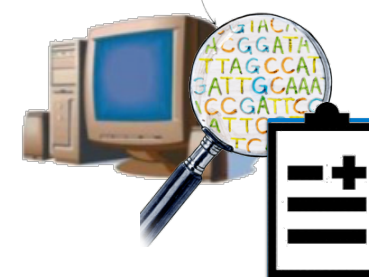
- Piccola quantità di DNA
- Pannelli di mutazioni
- Sequenziamento contemporaneo di più campioni

Analisi dati



- Sostituzione di basi
- Brevi inserzioni e delezioni

Report clinico

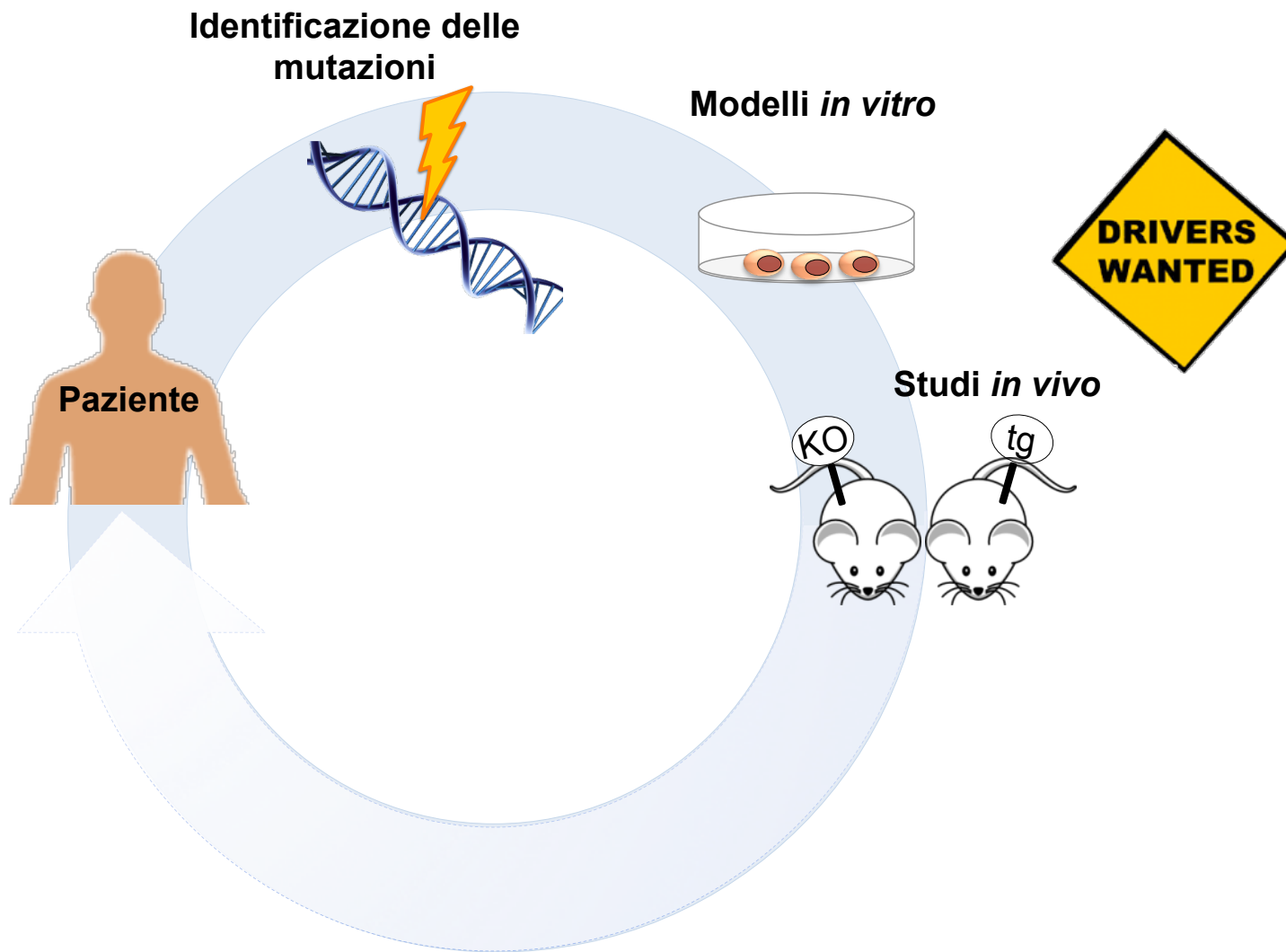


- Impatto biologico
- SNP
- COSMIC



2017

Dal profilo genomico alle mutazioni «driver»





2017

Approcci computazionali per l'identificazione di mutazioni e geni «driver»

- Analisi funzionale dei residui aminoacidici mutati
- Analisi della posizione della mutazione nel gene
- Domini della proteina noti per il coinvolgimento nel cancro

- Conservazione biologica della regione genica coinvolta
-

G. Pasquini

| | |
|---|-------------------|
| Predizione dell'impatto funzionale di una singola mutazione | SIFT |
| | Polyphen-2 |
| | Mutation Assessor |
| | Condel |
| | FATHMM |
| | CHASM |
| Identificazione di geni «driver» attraverso coorti di pazienti | transFIC |
| | MuSiC |
| | MutSigCV |
| | OncodriveFM |
| | OncodriveCLUST |
| Identificazione di moduli «driver» attraverso coorti di pazienti | Active Driver |
| | MEMo |
| | HotNet |



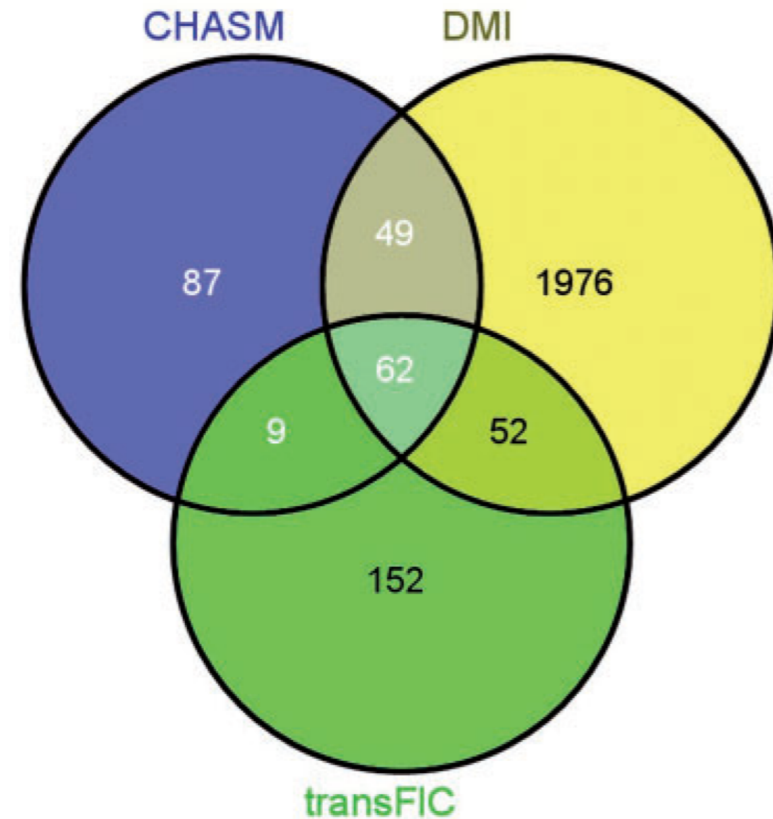
2017

Strategie computazionali per l'identificazione delle mutazioni «driver»

Cancer-specific high-throughput annotation of somatic mutations

Driver mutation identification

- Metodi basati sulla predizione dell'impatto funzionale della mutazione (es. transFIC).
- Metodi basati su machine learning, che utilizzano un classificatore basato su dataset noti di mutazioni «driver» e «passenger» (es. CHASM e DMI).
- Metodi basati sulla differenza di frequenza fra mutazioni «driver» e «passenger» (es. Mutsig).



Transformed functional impact for cancer

G. Pasquini

Zhang et al. *Brief Bioinf.* 2014



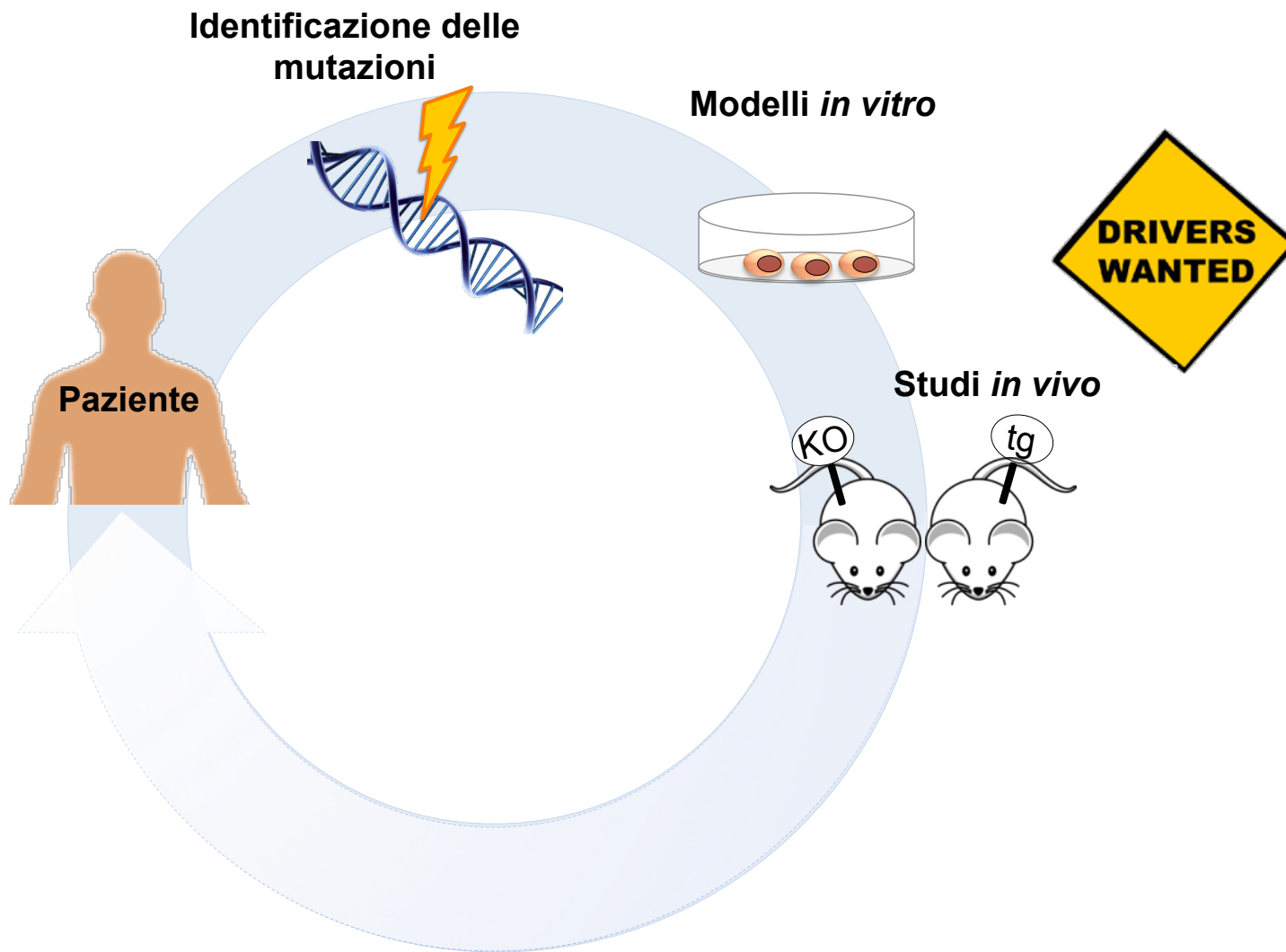
2017





2017

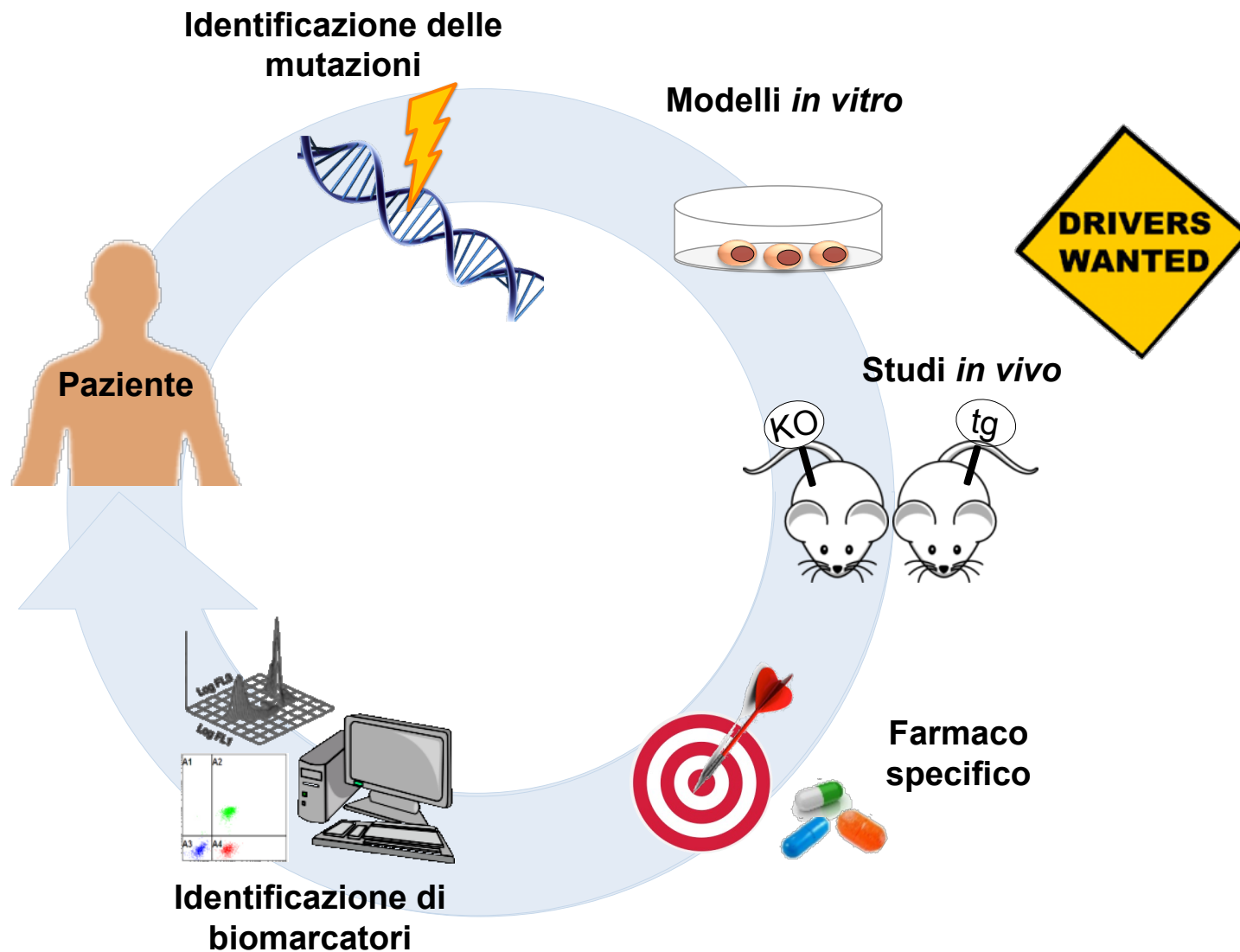
Dal profilo genomico alle mutazioni «driver»





2017

Dalle mutazioni «driver» alla terapia personalizzata



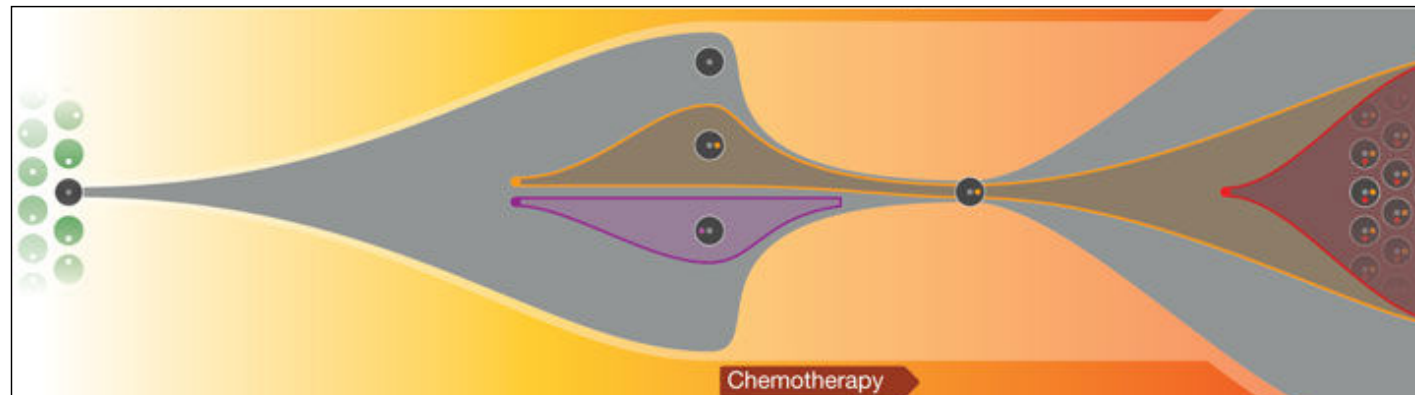
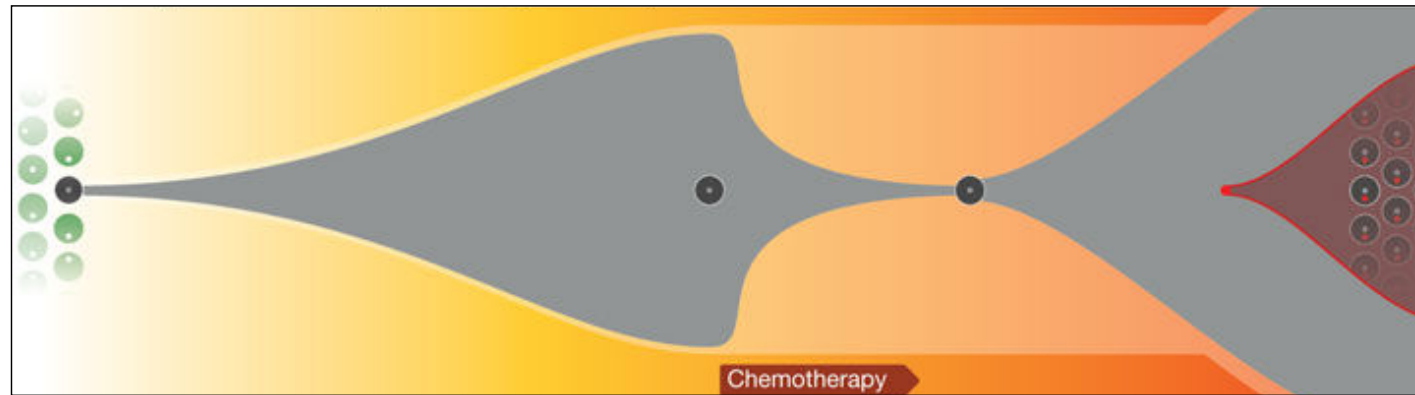


2017

Da una mutazione «driver» ad un'altra: il processo di evoluzione clonale

Diagnosi

Ricaduta



Cell type:

● Normal ● AML

Mutations:

● Founding (cluster 1)

● Primary specific (cluster 2)

● Relapse enriched (cluster 3)

● Relapse enriched (cluster 4)

● Relapse specific (cluster 5)

○ Random mutations in HSCs

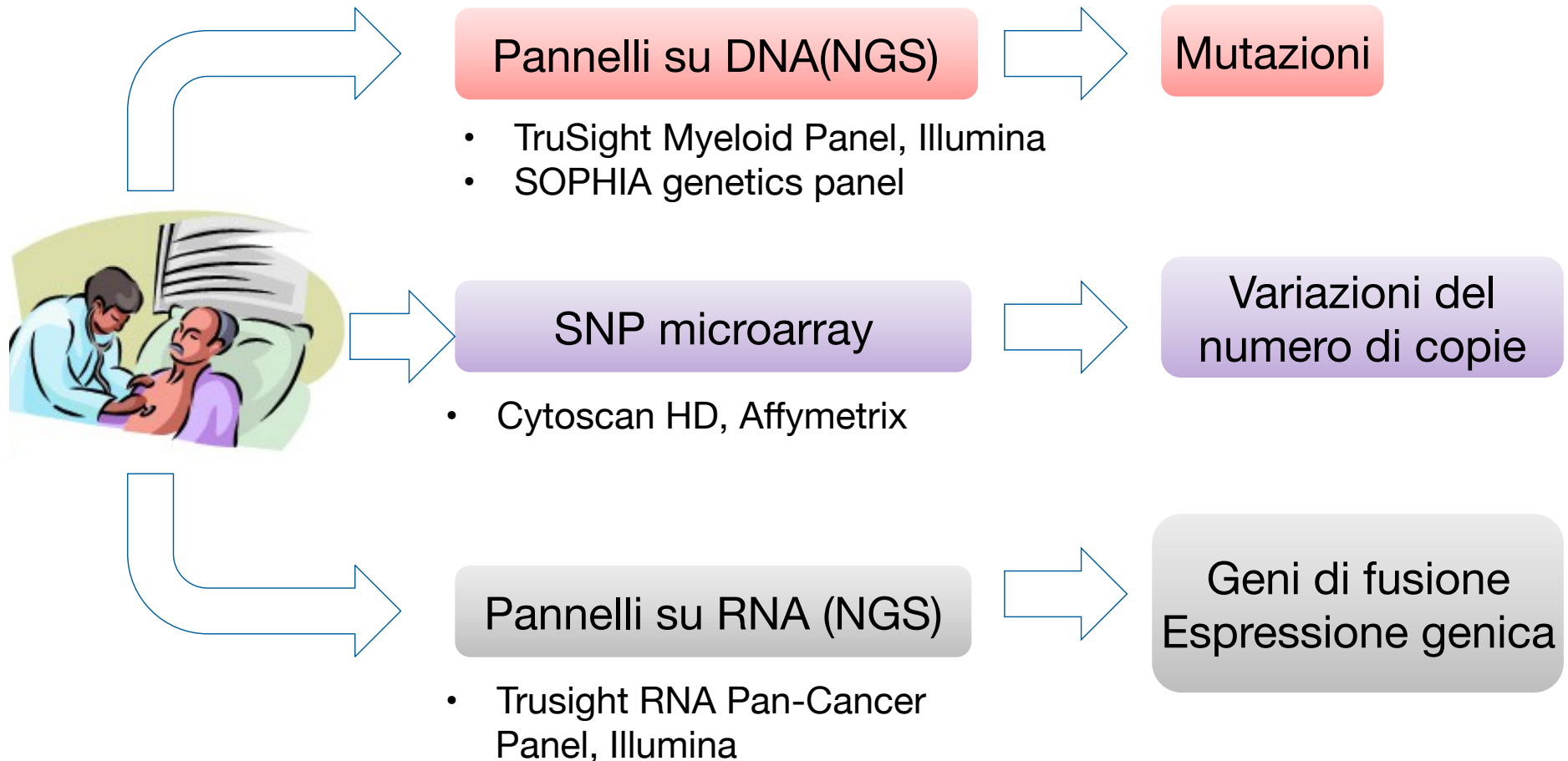
☆ Pathogenic mutations

Ding et al. *Nature*. 2012



2017

Un nuovo percorso diagnostico per i pazienti affetti da Leucemia Acuta Mieloide





2017 Pannelli per analisi di mutazioni in NGS nelle neoplasie mieloidi: la nostra esperienza

TruSight Myeloid Sequencing Panel

| | | | | |
|--------|----------|-------|--------|-------|
| ABL1 | CEBPA | HRAS | MYD88 | SF3B1 |
| ASXL1 | CSF3R | IDH1 | NOTCH1 | SMC1A |
| ATRX | CUX1 | IDH2 | NPM1 | SMC3 |
| BCOR | DNMT3A | IKZF1 | NRAS | SRFS2 |
| BCORL1 | ETV6/TEL | JAK2 | PDGFRA | STAG2 |
| BRAF | EZH2 | JAK3 | PHF6 | TET2 |
| CALR | FBXW7 | KDM6A | PTEN | TP53 |
| CBL | FLT3 | KIT | PTPN11 | U2AF1 |
| CBLB | GATA1 | KRAS | RAD21 | WT1 |
| CBLC | GATA2 | MLL | RUNX1 | ZRSR2 |
| CDKN2A | GNAS | MPL | SETBP1 | |

- 15 geni interi
- Regioni “hotspot” di 39 geni



Myeloid Solution Panel

| | | | | | |
|-------|--------|--------|-------|--------|-------|
| ABL1 | ASXL1 | BRAF | CALR | CBL | CEBPa |
| CSF3R | DNMT3A | ETV6 | EZH2 | FLT3 | HRAS |
| IDH1 | IDH2 | JAK2 | KIT | KRAS | MPL |
| NPM1 | NRAS | PTPN11 | RUNX1 | SETBP1 | SF3B1 |
| SRSF2 | TET2 | TP53 | U2AF1 | WT1 | ZRSR2 |

- 10 geni interi
- “Regioni “hotspot” di 20 geni



E. Franchini, E. Zuffa, M.T. Bochicchio, C. Venturi, M. Raffini, E. Ottaviani



2017

Mutazioni «actionable» nelle neoplasie mieloidi

| | | | | | |
|---------------|-----------------|--------------|---------------|--------------|--|
| <i>ABL1</i> | <i>CEBPA</i> | <i>HRAS</i> | <i>MYD88</i> | <i>SF3B1</i> | |
| <i>ASXL1</i> | <i>CSF3R</i> | <i>IDH1</i> | <i>NOTCH1</i> | <i>SMC1A</i> | |
| <i>ATRX</i> | <i>CUX1</i> | <i>IDH2</i> | <i>NPM1</i> | <i>SMC2</i> | |
| <i>BCOR</i> | <i>DNMT3A</i> | <i>IKZF1</i> | <i>NRAS</i> | <i>SRFS2</i> | |
| <i>BCORL1</i> | <i>ETV6/TEL</i> | <i>JAK2</i> | <i>PDGFRA</i> | <i>STAG2</i> | |
| <i>BRAF</i> | <i>EZH2</i> | <i>JAK3</i> | <i>PHF6</i> | <i>TET2</i> | |
| <i>CALR</i> | <i>FBXW7</i> | <i>KDM6A</i> | <i>PTEN</i> | <i>TP53</i> | |
| <i>CBL</i> | <i>FLT3</i> | <i>KIT</i> | <i>PTPN11</i> | <i>U2AF1</i> | |
| <i>CBFB</i> | <i>GATA1</i> | <i>KRAS</i> | <i>RAD21</i> | <i>WT1</i> | |
| <i>CBLC</i> | <i>GATA2</i> | <i>MLL</i> | <i>RUNX1</i> | <i>ZRSR2</i> | |
| <i>CDKN2A</i> | <i>GNAS</i> | <i>MPL</i> | <i>SETBP1</i> | | |

AG221 Venetoclax

AG120 Venetoclax

Ruxolitinib

Azacitidine Decitabine

Vemurafenib

Sorafenib Midstaurin Quizartinib AC220 ASP2215

Cobimetinib

Cobimetinib

Cobimetinib

Idasanutlin Decitabine


Oncogeni noti

OncodriveMUT

bioMarker-db

bioActivity-db

Report di mutazioni

| Sample Id | Gene | Protein change | Consequence | Domain | ▲Oncogenic classification  |
|----------------|---------------|----------------|-------------|------------------------|---|
| Search here... | | | | | |
| CLL092 | <u>CHD2</u> | p.R836P | Missense | <u>Helicase_C</u> | ^ predicted driver: tier 1 |
| CLL092 | <u>NOTCH1</u> | p.Q2409* | Nonsense | | ^ predicted driver: tier 2 |
| CLL092 | <u>DCHS2</u> | p.P2791H | Missense | | ▼ predicted passenger |
| CLL092 | <u>LPIN1</u> | p.S463F | Missense | | ▼ predicted passenger |
| CLL092 | <u>TGFB2</u> | p.T209A | Missense | <u>TGFb_propeptide</u> | ▼ predicted passenger |

Mutazioni «actionable»

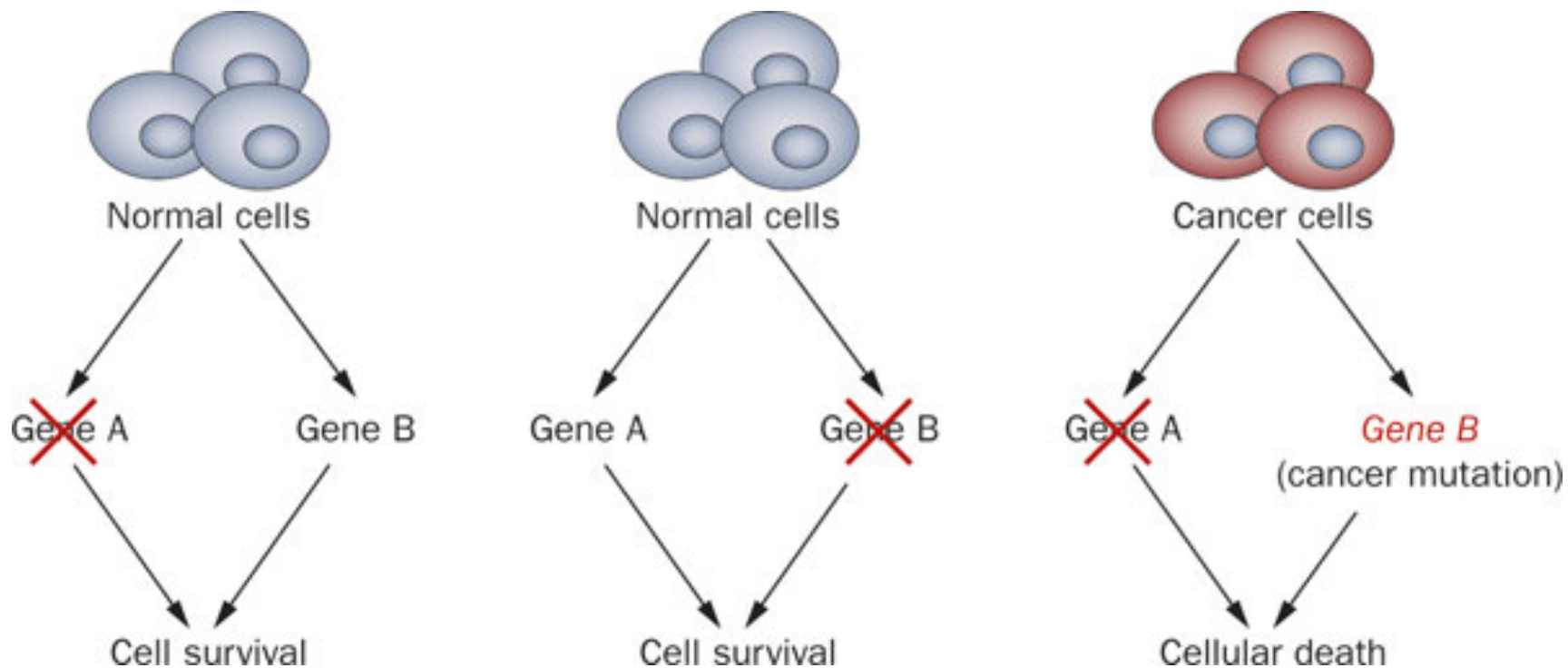
| Sample Id | Observed alteration | Biomarker | Drugs  | Effect  | Tumor type | ▲Evidence level  | Reference |
|---------------|--|-----------------|---|--|------------|---|---|
| Search here.. | | | | | | | |
| CLL092 |  <u>NOTCH1 (Q2409*)</u> | ▲ NOTCH1acti... | OMP-52M51 (NOTCH1 inhibitor) | Responsive | CANCER | ^ Early trials | NCT01703572 NCT01703572 |
| CLL092 |  <u>NOTCH1 (Q2409*)</u> | ▲ NOTCH1acti... | Gamma secretase inhibitors (Ro...) | Responsive | CANCER | ^ Early trials | NCT01703572 NCT01703572 |

G. Pasquini



2017

Il concetto di «letalità sintentica»



Rahman et al. *Nat Rev Clin Oncol* .2010



2017

Il concetto di «letalità sintentica»



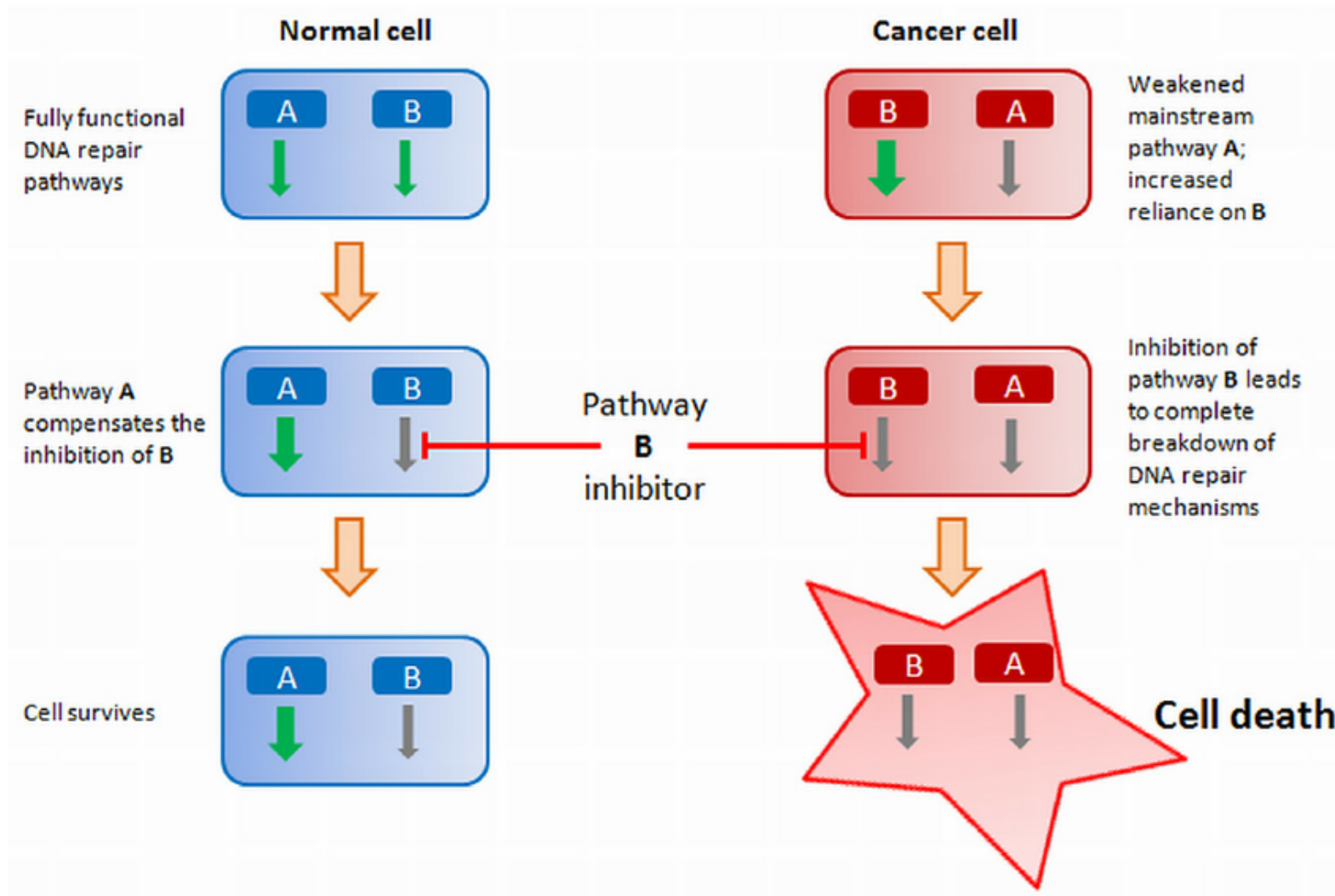
PROGETTO EMATOLOGIA – ROMAGNA

Cesena, 16 settembre 2017



2017

Letalità sintentica e riparo del danno al DNA



Liu et al. *Nucl Acid Res.* 2014



2017 Ciclo cellulare e risposta del danno al DNA quali bersagli per terapie basate sulla letalità sintetica

| Gene/Meccanismo A | Gene/Meccanismo B | Farmaco/i |
|------------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| <i>TP53</i> mut/spento | PLK1 up | Volasertib |
| | Metilazione del DNA | Decitabine |
| | ATR | Inibitore di ATR/CHK1 |
| <i>RAD50</i> mut/spento | ATR | Irinotecan + inibitore di ATR/CHK1 |
| <i>ATM</i> spento | ATR | Inibitore di ATR |
| <i>BRCA1/2</i> spento | PARP | Inibitore di PARP |
| Cohesin mut | PARP | Inibitore di PARP |
| CHK1 up | PKMYT1 up | Doxorubicin + inibitore di CHK1/ WEE1 |
| BCL2 up | <i>FLT3-ITD</i> | Venetoclax + Sorafenib |
| Deregolazione del proteasoma | PARP | Bortezomib + inibitore di PARP |
| | Aneuploidia | Bortezomib (+Volasertib) |

A. Ghelli Luserna di Rorà



Take-home message

- La conferma del ruolo “driver” di una mutazione si ottiene con studi *in vitro* ed *in vivo*.
- Sono stati sviluppati numerosi approcci bioinformatici per predire *in silico* l’impatto biologico di una mutazione e risalire a farmaci specifici.
- Il profilo genomico dell’emopatia in questione ottenuto mediante Next Generation Sequencing rappresenta il primo step per una terapia personalizzata.
- Un approccio combinato, basato sul concetto di letalità sintetica, rappresenta una nuova frontiera terapeutica.