



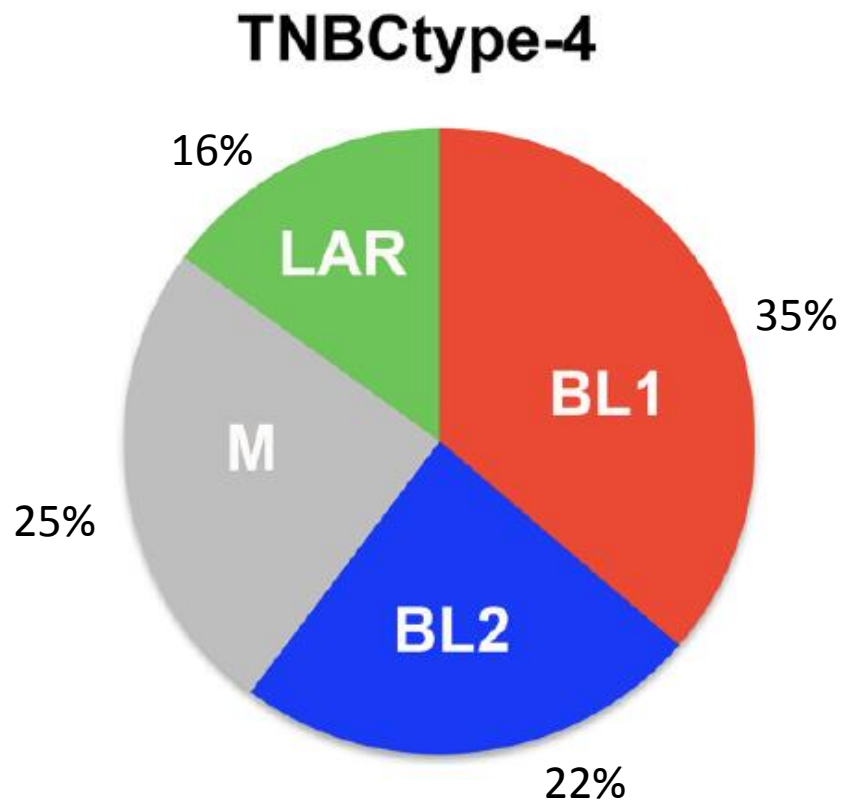
Detektion von DNA Repair deficiency BRCA, BRCAness, HRD und Co – Wie selektionieren wir die Patientinnen richtig?

Prof. Dr. med. Frederik Marmé
Nationales Centrum für Tumorerkrankungen und
Universitätsfrauenklinik Heidelberg



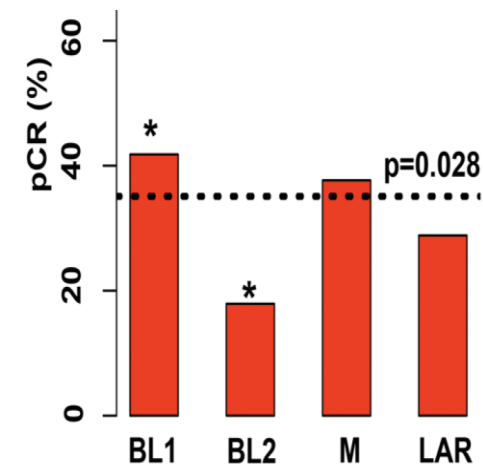
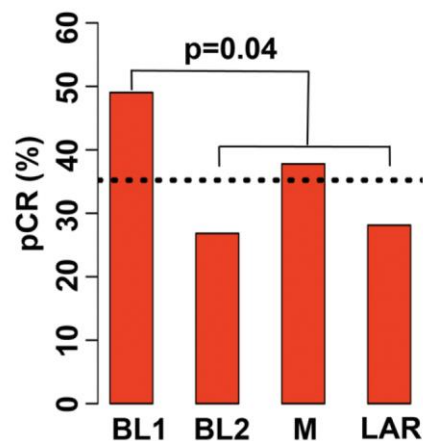
Warum ist DNA Reparatur so interessant?

- **BRCA-assoziierte Tumorzellen zeigen präklinisch besondere Sensitivität gegenüber Platinsalzen und PARP-Inhibitoren**
- **Beides klinisch zugänglich**
 - aktuell sind beim Ovarialkarzinom zugelassen bzw. Zulassung im Laufe des Jahres erwartet:
 - Olaparib (FDA/EMA): Phase II und Phase III (Solo2; SGO 3/2017)
 - Rucaparib (FDA): Phase II
 - Niraparib (erwartet 2017 FDA/EMA): Phase III (Nova; ESMO 2016)
 - bei Mammakarzinom:
 - Pressemitteilung: Olaparib positive Phase III beim BRCA^{mt} MBC (OlympiAD)
 - Daten zu Brightness für den ASCO erwartet
- **Aufgrund der phänotypischen Ähnlichkeit von BRCA1-assoziierten MaCas mit TNBCs bzw. Basal-like MaCas wurde historisch meist der TNBC Subtyp als Surrogat für Defekte der Homologen Rekombination**



Basal like 1: höchste pCR Rate

Basal like 2: niedrigste pCR Rate



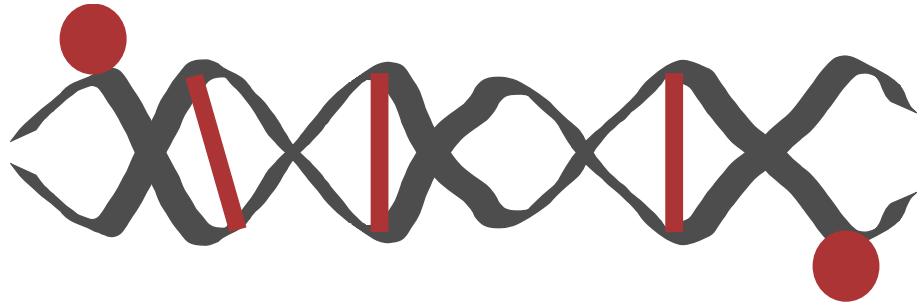
TNBCtype-4

Reklassifikation von IM und MSL entsprechend der zweitstärksten Korrelation mit den übrigen Subtypen



- **Sichere Identifikation der Patientinnen die WIRKLICH profitieren**
 - Vermeidung von Übertherapie z.B. Addition von Carboplatin / PARPi zu (neo)adjuvanten Therapie von TNBCs
- **Vergrößerung des Patientenpopulation, die von Platin, PARPi etc. profitieren über TNBCs und BRCA-assoziierte MaCas hinaus**

Rationale für Platinsalze bei *BRCA*-assoziierten Tumoren



Platinsalze führen zu intra- und inter-Strang Crosslinks

Replikation → Doppelstrangbrüche



Reparatur:

Homologe Rekombination (HR): fehler“frei“
Nicht-homologes End-joining (NHEJ): fehleranfällig

NHEJ: error prone

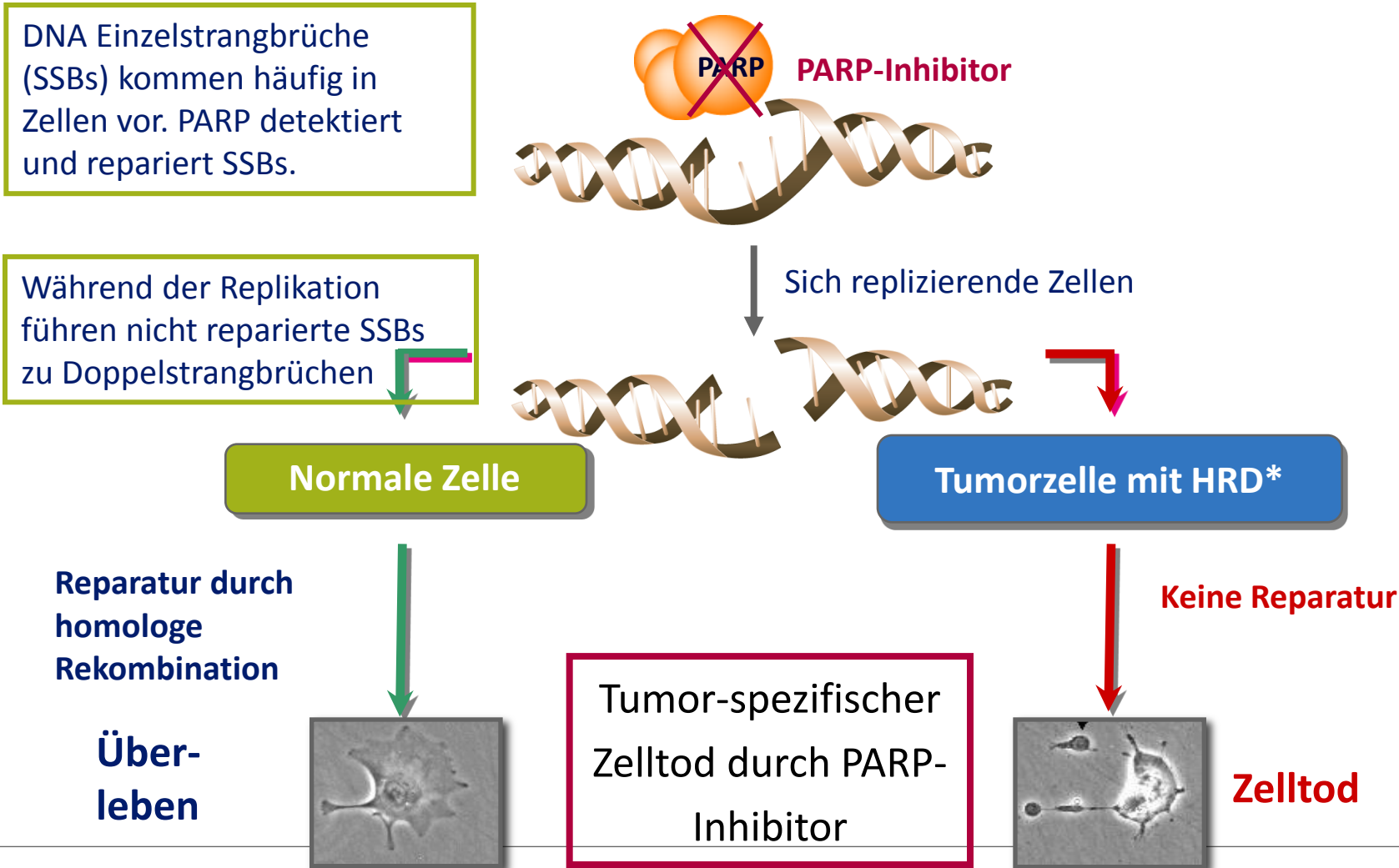
HR: error free

BRCA ist ein wichtiger Bestandteil der HR-Maschinerie

HR-Defizienz führt zu genomischer Instabilität und Sensitivität gegenüber Doppelstrangbruch induzierenden Substanzen



Wirkmechanismus von PARP - Inhibitoren



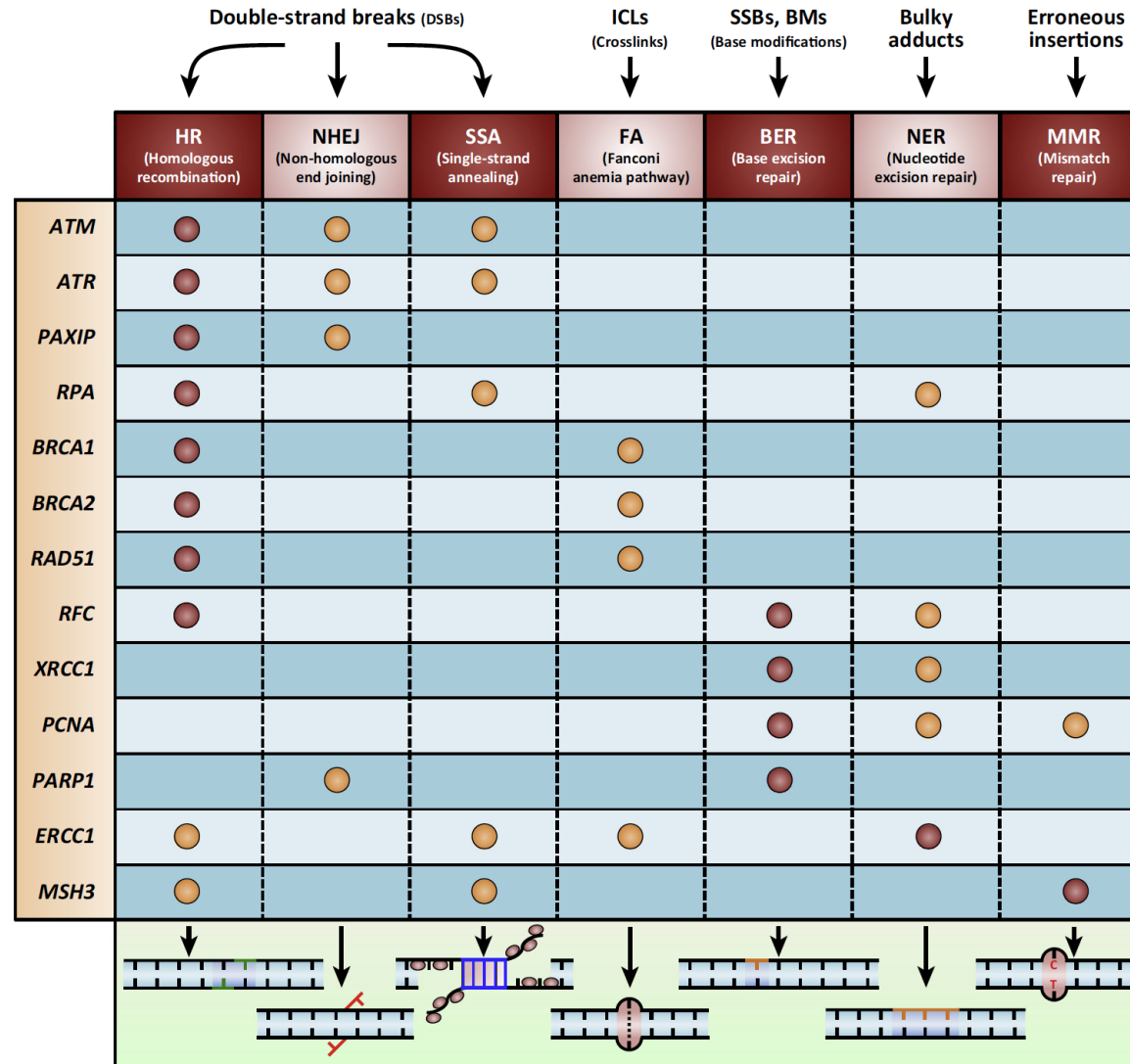
*Homologe Rekombination-Reparaturdefekt



Wie kommt es zu Homologen Rekombinations Defizienz (HRD)?

- die häufigsten inaktivierende Mutationen (Keimbahn und somatische) finden sich in **BRCA 1 & 2** (ca. 15% der TNBCs)
 - zusätzlich VUS
- darüber hinaus seltene Mutationen in einer Vielzahl von HR-assoziierten Genen
 - deren Bedeutung für Risiko, Prognose und Prädiktion ist weit schwieriger zu klären, da sie noch deutlich seltener sind [z.B. **PALB2 (1.2%) and BARD1, RAD51D, RAD51C, and BRIP1 (0.3% to 0.5%)**]
- Mechanismen der Inaktivierung sind nicht auf Mutationen beschränkt, sondern wesentlich vielfältiger
 - Mutationen, größere Strukturelle Aberationen, Methylierung, Expressionsverlust, Regulation über miRNAs, etc.
- Dies umfassend molekularbiologisch zu erfassen, ist sehr komplex und aufwendig

Das Zusammenspiel verschiedener DNA-Reparaturmechanismen ist extrem Komplex

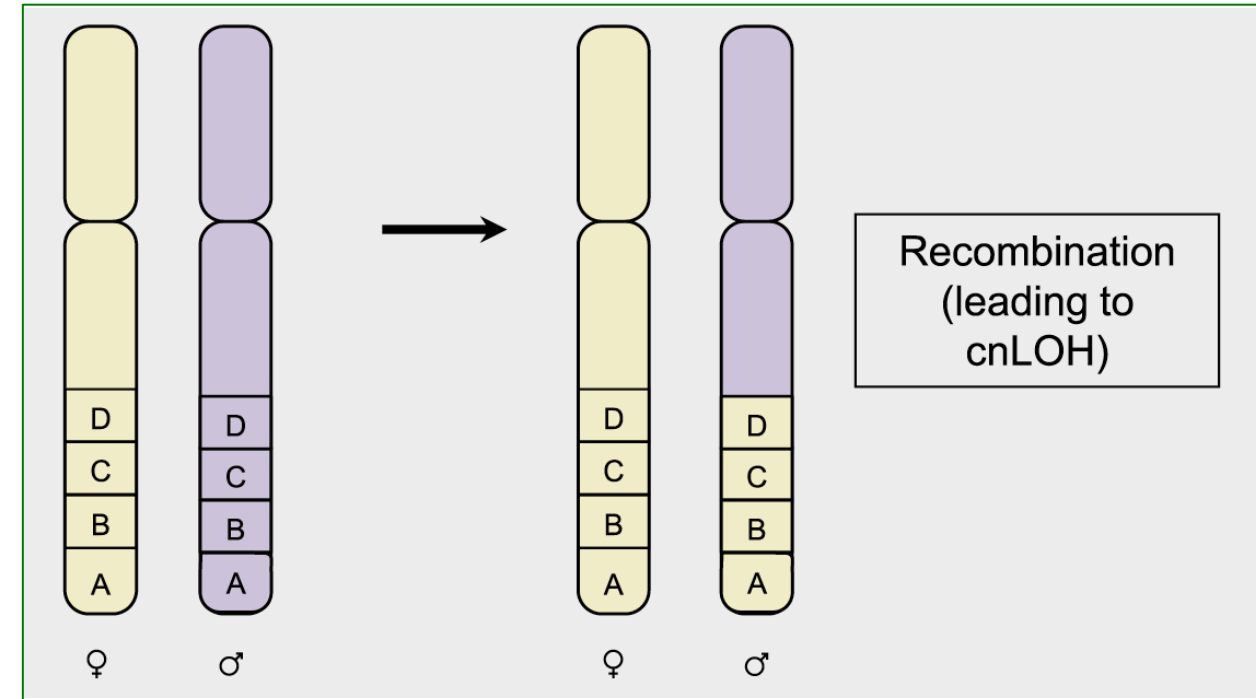
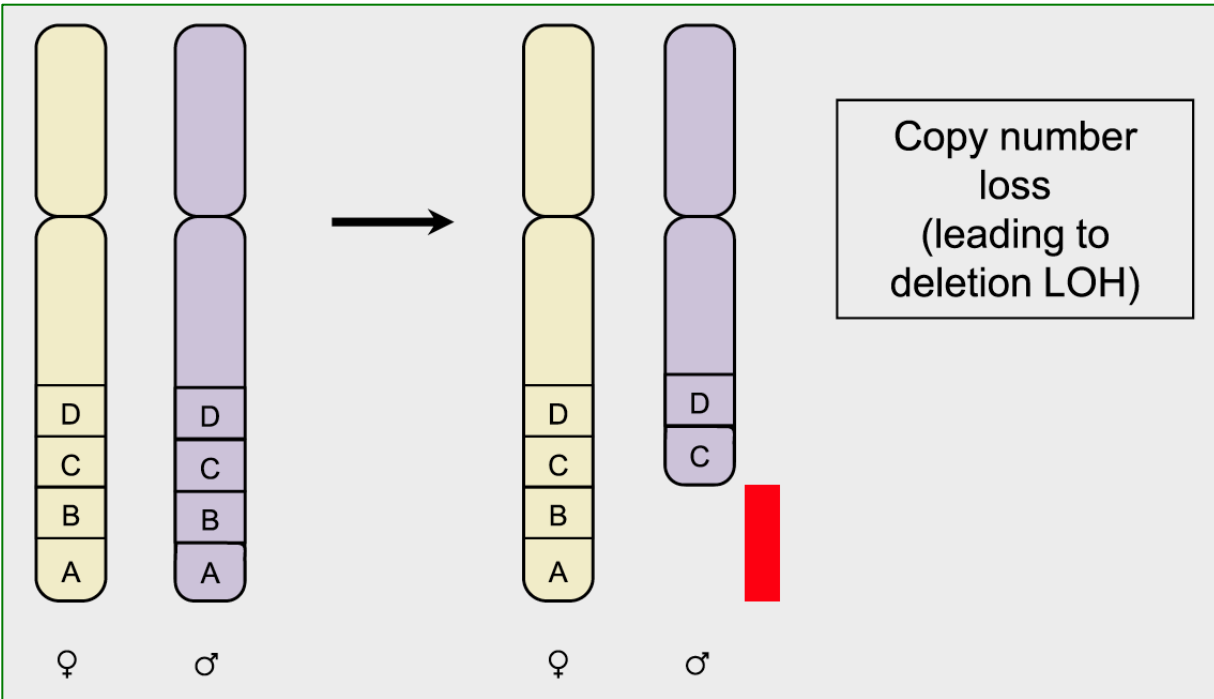
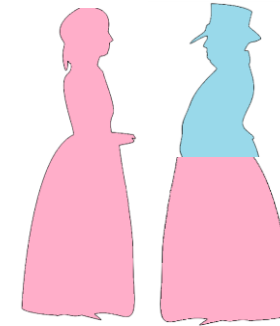
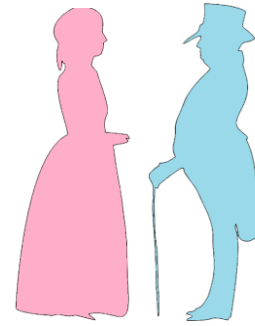
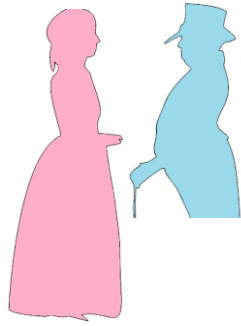
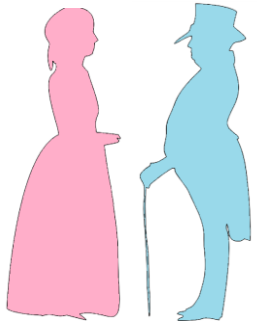


TRENDS in Genetics

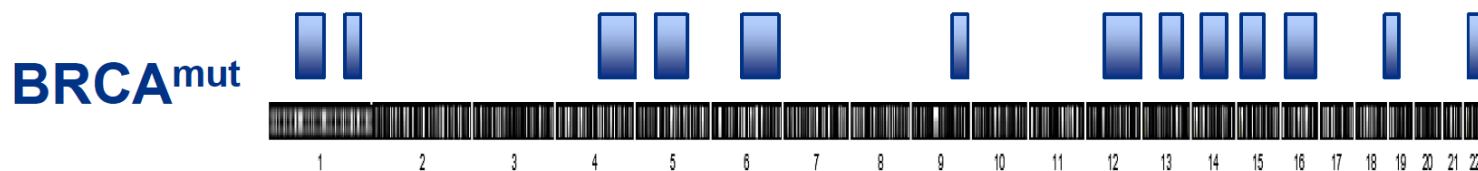
Wie kann man die Spuren der Homologen Rekombinationsdefekte nachweisen?

ANALYSE DER SPUREN, DIE EINE HRD IM GENOM
HINTERLÄSST:
ERFASSEN GENOMISCHER „NARBEN“

Verlust der Heterozygosität (LOH): Zeichen einer HRD



HRD verursacht einen genomweiten Verlust von Heterozygosität (LOH) der mittels Next Generation Sequencing erfasst werden kann

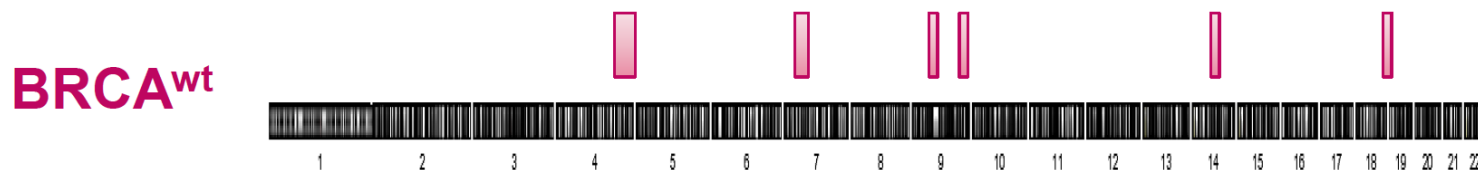


„Genomische Narben“



Hypothese:

Tumore mit **starkem LOH** als Zeichen einer HRD ist PARPi-sensibel



Hypothese:

Tumore mit **geringem LOH** sind HRD kompetent und PARPi-resistent

Chromosome No.

LOH/HRD: verschiedene Auswertungsalgorithmen

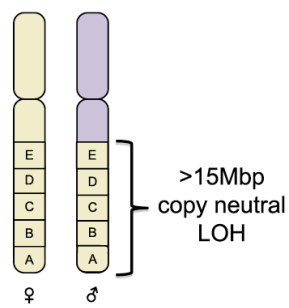
Anzahl der LOH-Regionen, die länger sind als 10-15 Mb

Anzahl der LOH-Regionen, die kürzer sind als 10-15 Mb

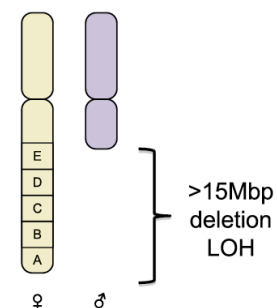
Anzahl der LOH-Regionen an spezielle Loci des Genoms

Weitere...

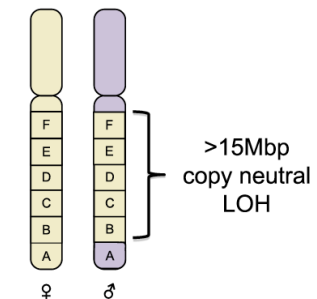
Bisher unklar, was die beste Methode ist, bzw. welche Kombination



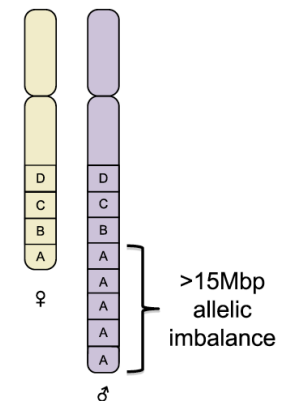
HRD	NtAi	LST
1	1	1



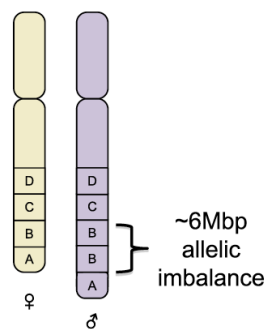
HRD	NtAi	LST
1	1	1



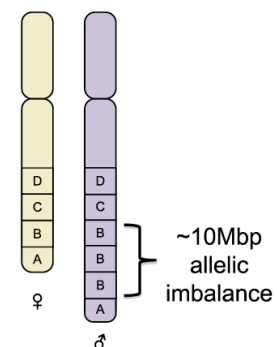
HRD	NtAi	LST
1	0	1



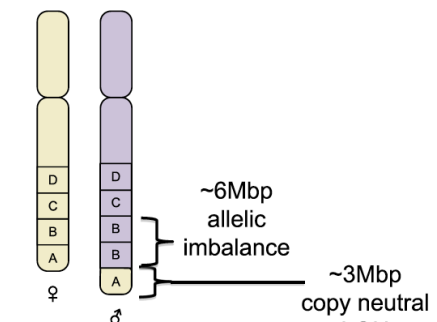
HRD	NtAi	LST
0	1	1



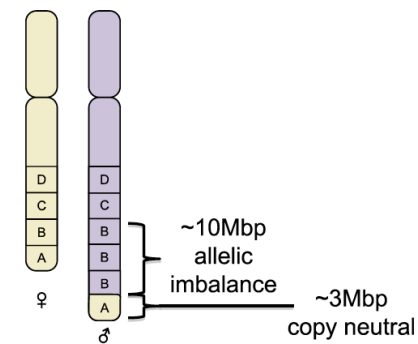
HRD	NtAi	LST
0	0	0



HRD	NtAi	LST
0	0	1



HRD	NtAi	LST
0	1	0



HRD	NtAi	LST
0	1	1

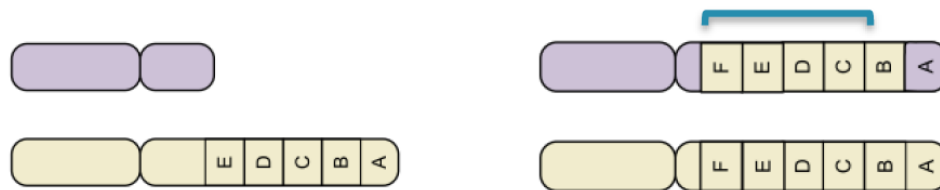


- Myriad
- Foundation Medicine
- Nant
- Biomarin
- Quiagen
-
-

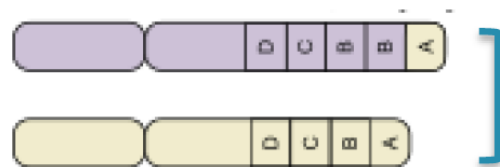


Myriad myChoice HRD Test als Beispiel

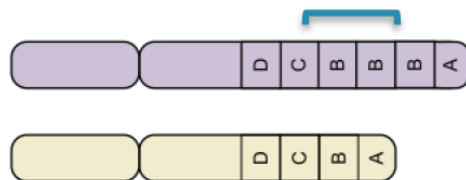
(1) **HRD-score** = number of long LOH regions > 15 Mb $<$ chromosome arm



(2) **Telomeric Allelic Imbalance (TAI)**



(3) **Large-scale transitions (LST)** = number of chromosomal breaks > 10 Mb



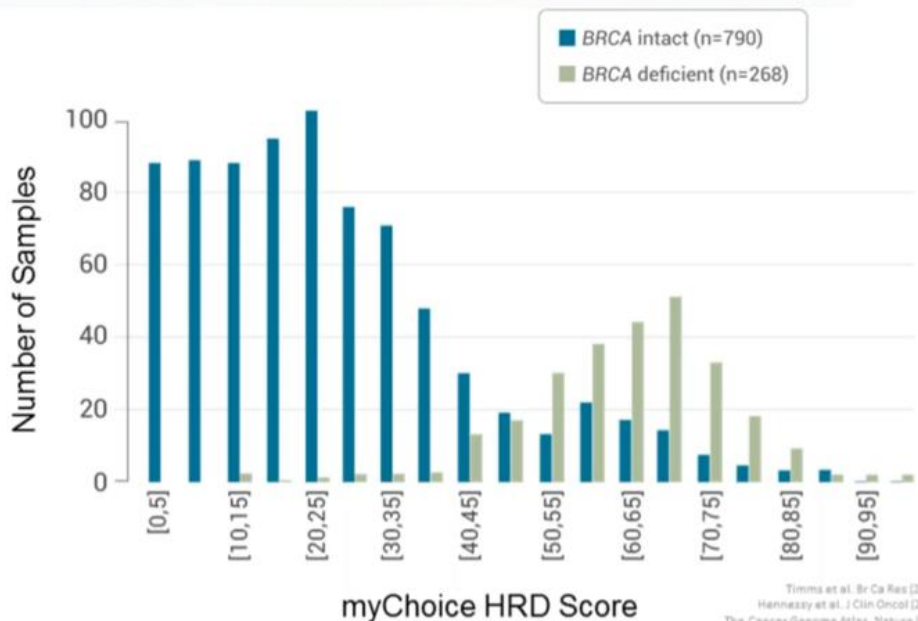
HRD + TAI + LST

= **combined HRD-score**



Myriad myChoice HRD Test als Beispiel

myChoice HRD score distribution is bimodal



Timms et al. Br Ca Res (2014) 16:475-483
Hennessy et al. J Clin Oncol (2010) 28:3570-76
The Cancer Genome Atlas. Nature (2012) 490: 63-70
The Cancer Genome Atlas. Nature (2011) 474: 609-615



Overview of Mills data from SGO: Bivariate Analysis of Dichotomous Scores

	PFS		OS	
High/Low	P Value	HR	P Value	HR
HRD	0.009	0.72	2x10 ⁻⁴	0.60
LOH	0.3	0.89	0.4	0.89
HRD	0.007	0.68	0.003	0.62
TAI	0.8	0.96	0.4	0.87
HRD	0.045	0.73	0.008	0.62
LST	0.4	0.87	0.4	0.88

- None of the individual component scores reached significance for either PFS or OS.
- **The HRD score is a better predictor of outcomes for platinum treated patients than the individual biomarker component scores.**

Mills et al. SGO 2016



AKTUELLE KLINISCHE DATEN ZUR SELEKTION VON PATIENTINNEN FÜR PLATIN UND PARP-INHIBITOREN



1. Randomisiert *versus* einarmig
 2. Add-on Design *versus* Head-to-Head Vergleich
 3. (Neo)adjuvanz *versus* metastasiertes MaCa
 4. archiviertes *versus* aktuelles Material für Biomarker
-
- **abhängig davon ist die Frage, die überhaupt beantwortet werden kann**
 - misst der Biomarker generelle Chemosensitivität?
 - ist der Biomarker spezifisch prädiktiv für z.B. Platin, PARPi etc. ?



GBG/AGOB STUDIEN ALS INTERNATIONAL FÜHRENDE GRUPPE IM INDIKATIONSBEREICH „KLINISCHE ROLLE VON BRCA ZUR THERAPIEPRÄDIKTION“

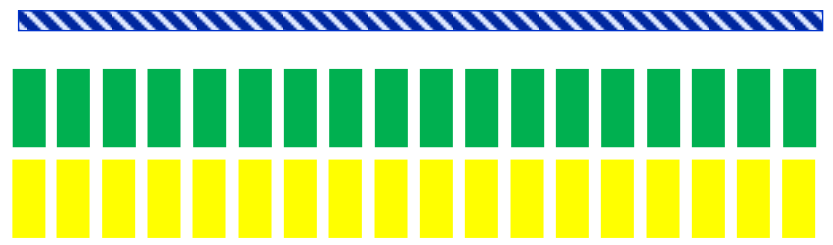


Therapy in TNBC subgroup

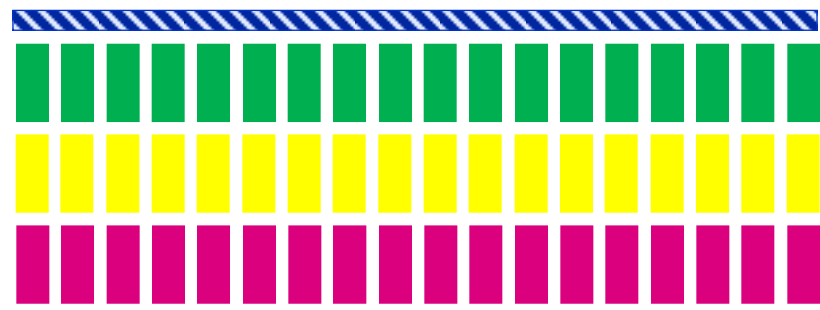
N=315
centrally
confirmed
TNBC

R

PM



PMCb



Surgery

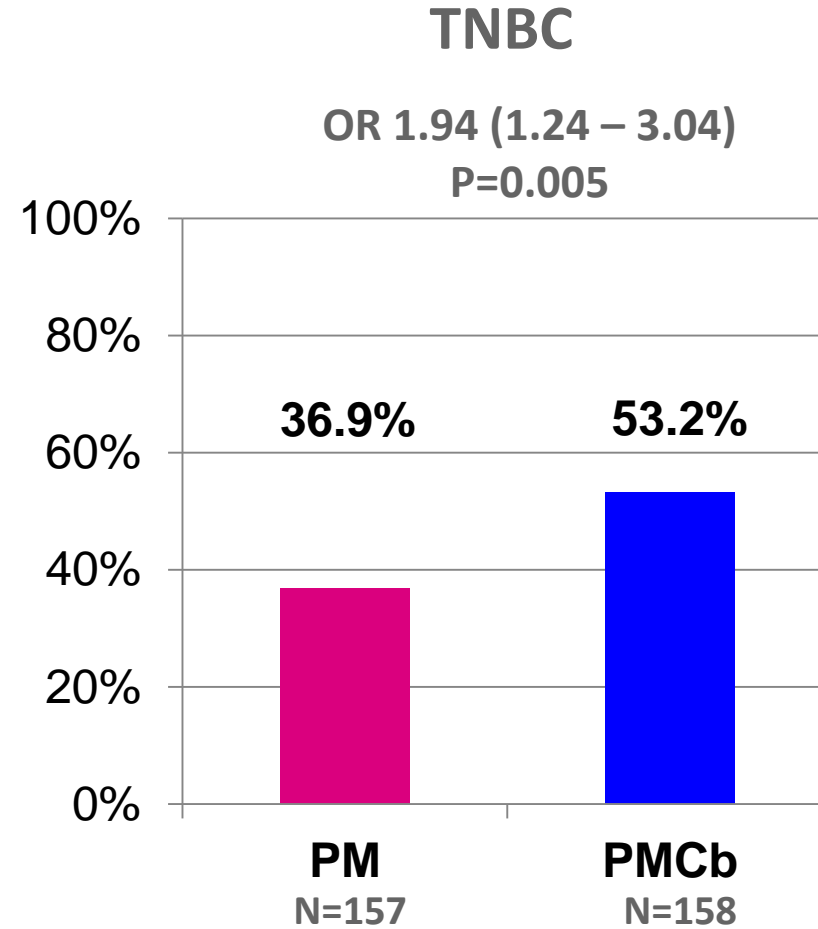
Paclitaxel 80 mg/m² q1w

Non-pegylated liposomal doxorubicin (M) 20 mg/m² q1w

Carboplatin AUC 1.5-2 q1w

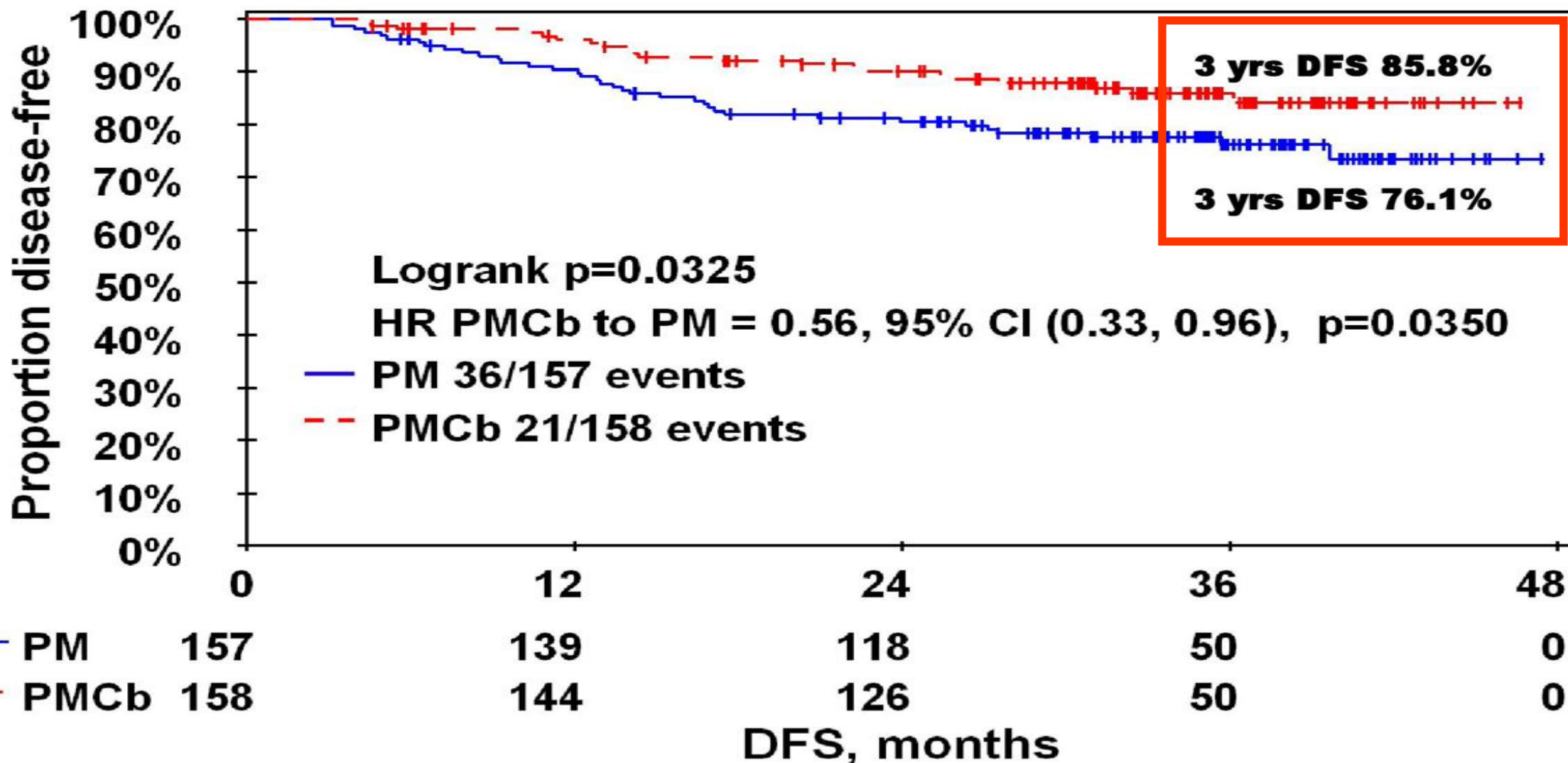
Bevacizumab 15 mg/kg q3w

pCR Rates (ypT0 ypN0) in TNBCs

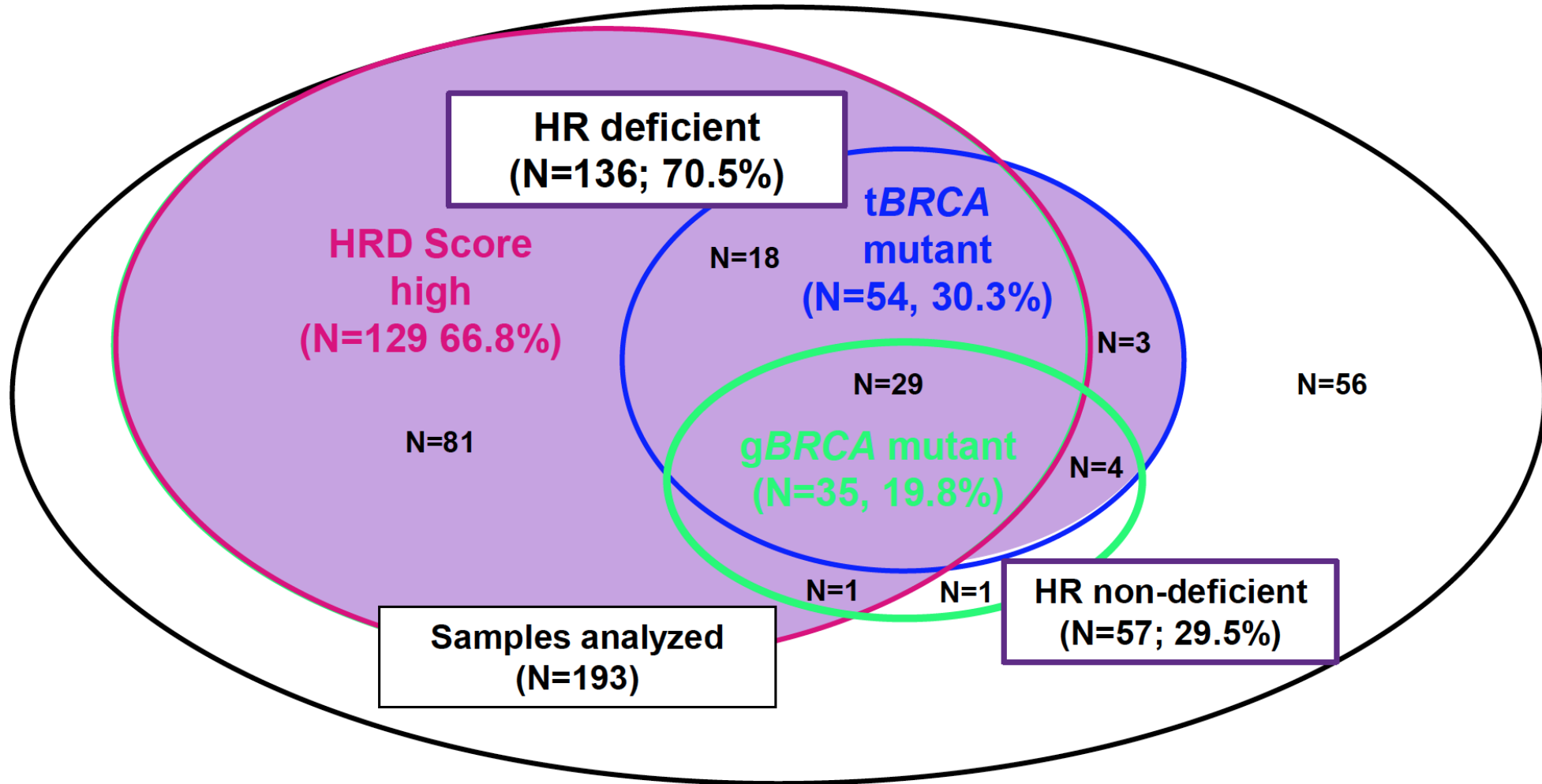




DFS: Effect of Carboplatin in TNBC



GeparSixto: HRD & BRCA Status





pCR Rates by gBRCA Status and Carboplatin in TNBC



Effekt nach Keimbahnmutationsstatus

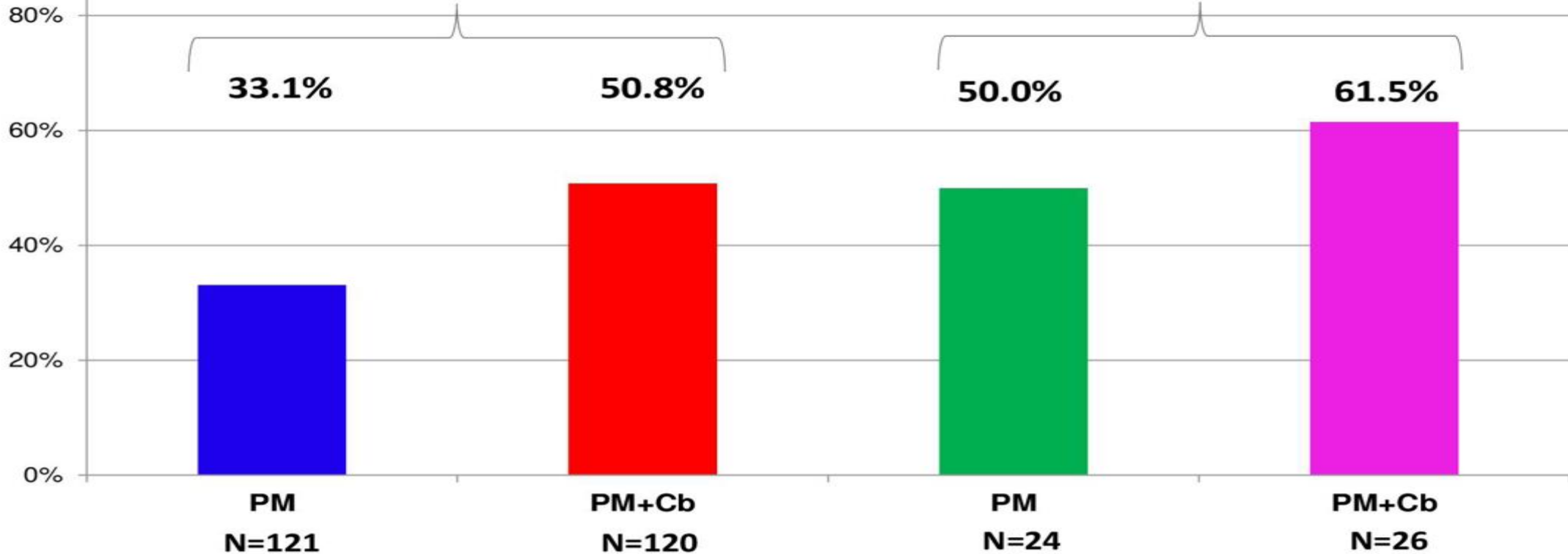
ypT0 ypN0

gBRCA wt

OR 2.09 (1.24-3.53)
P=0.005

gBRCA mut

OR 1.60 (0.52-4.93)
P=0.413





pCR Rates by HR Deficiency

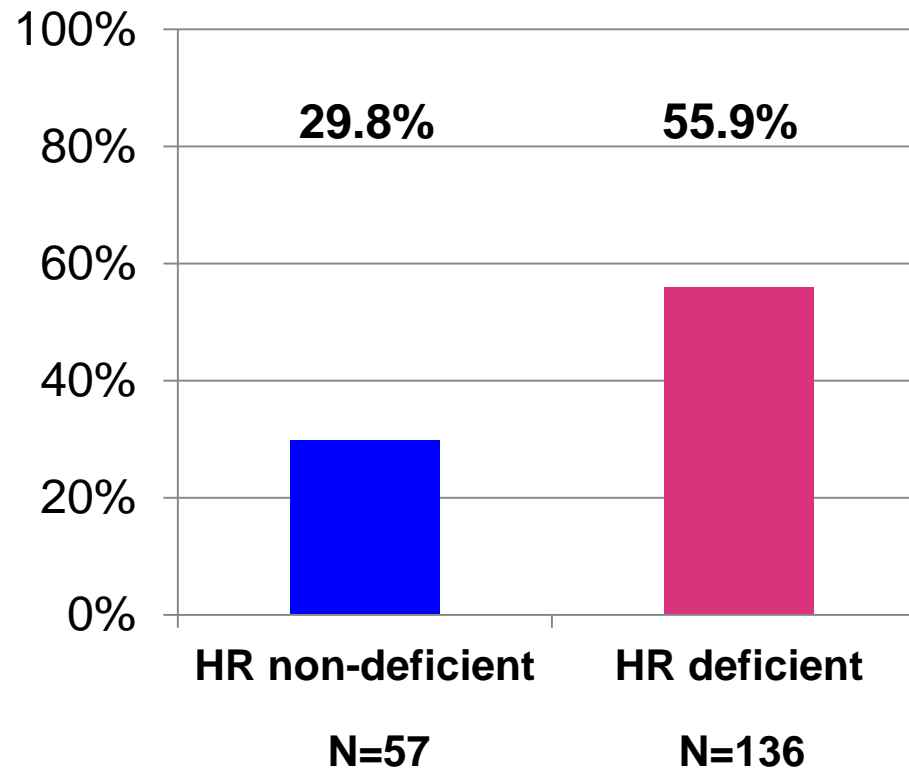
(treatment arms combined)

Effekt nach HRD status

ypT0/is ypN0

OR 2.98 (1.54-5.77)

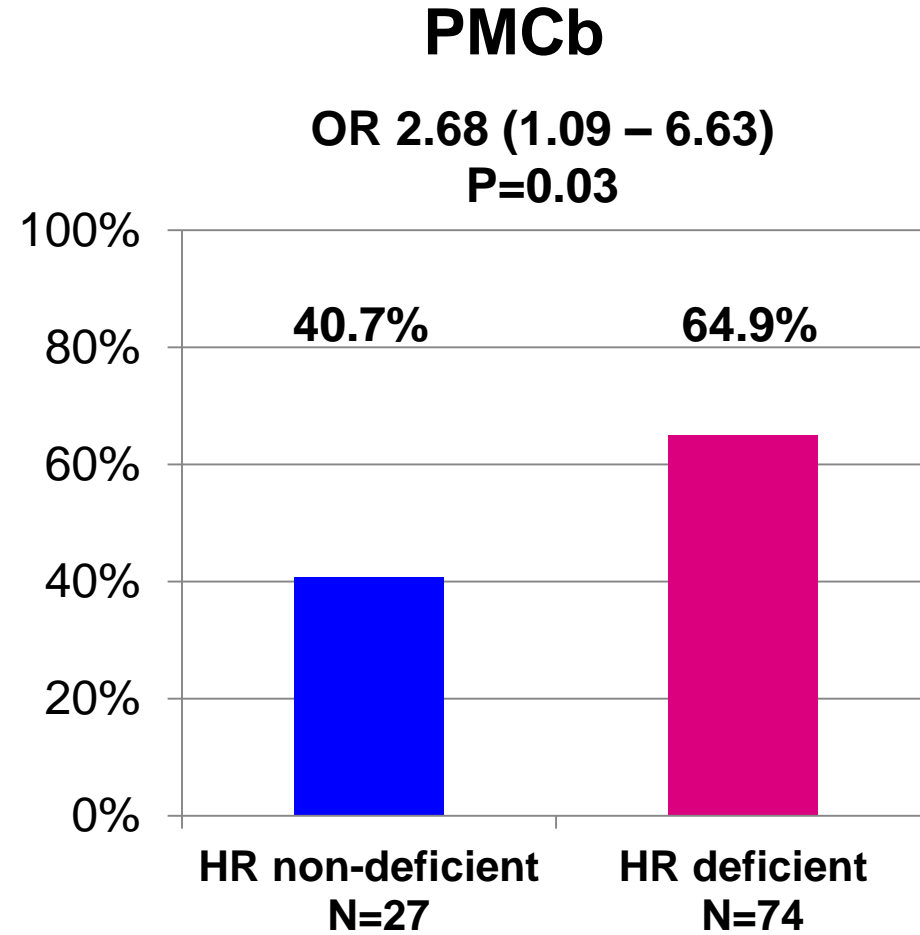
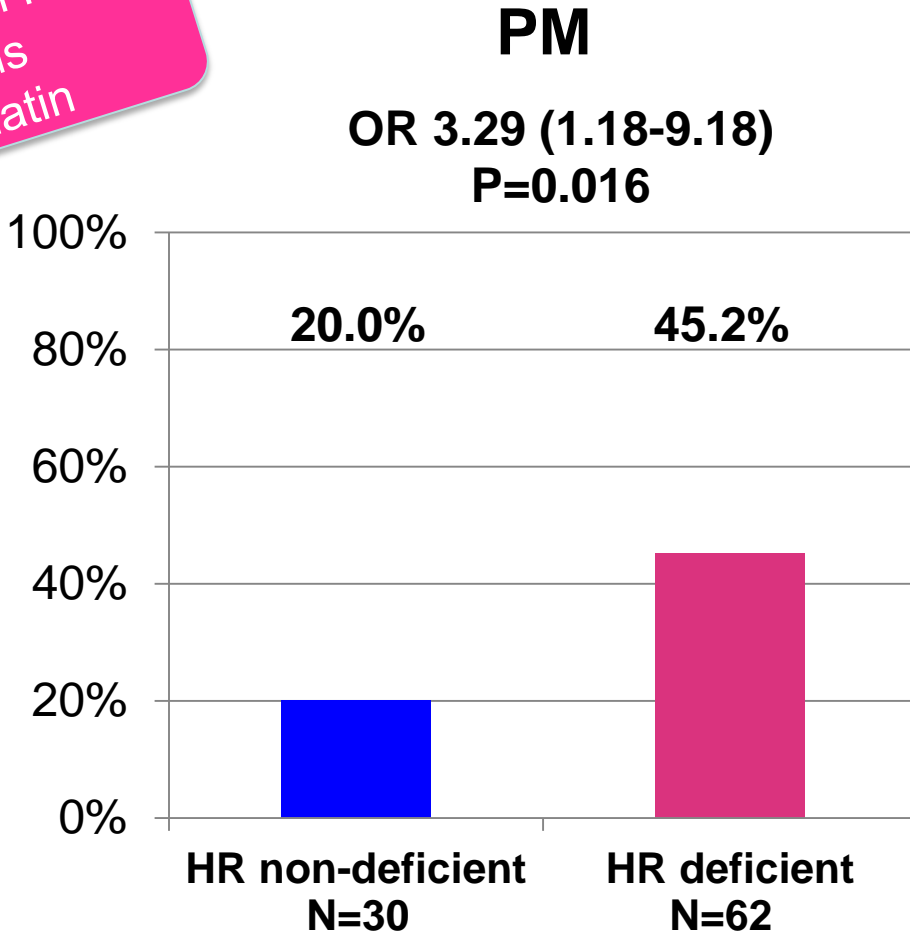
P<0.001





pCR Rates by Treatment Arms (ypT0/is ypN0)

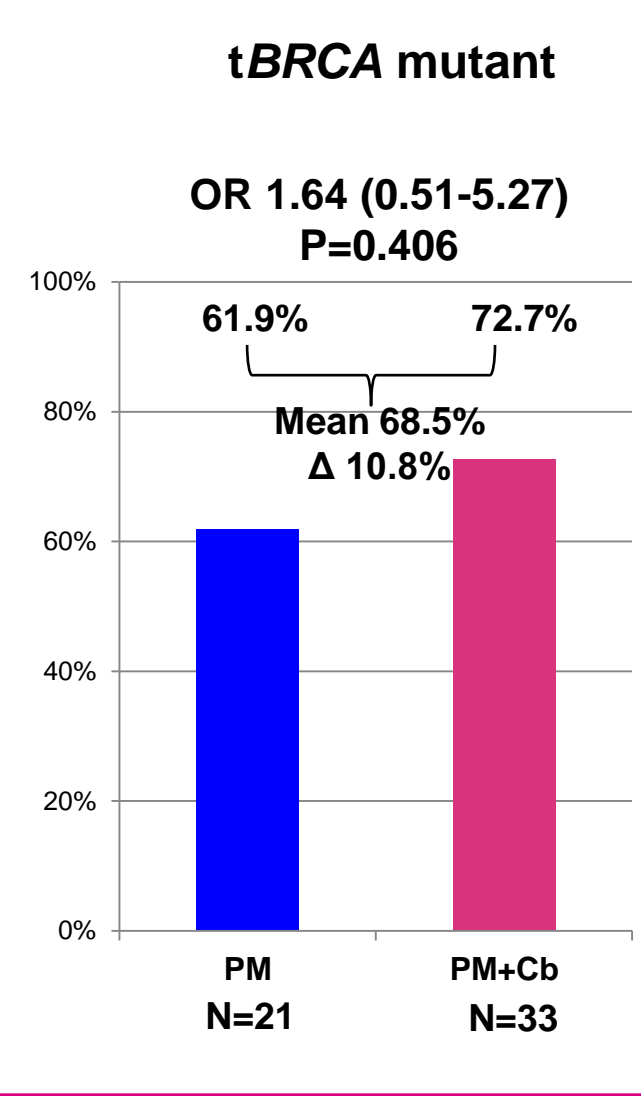
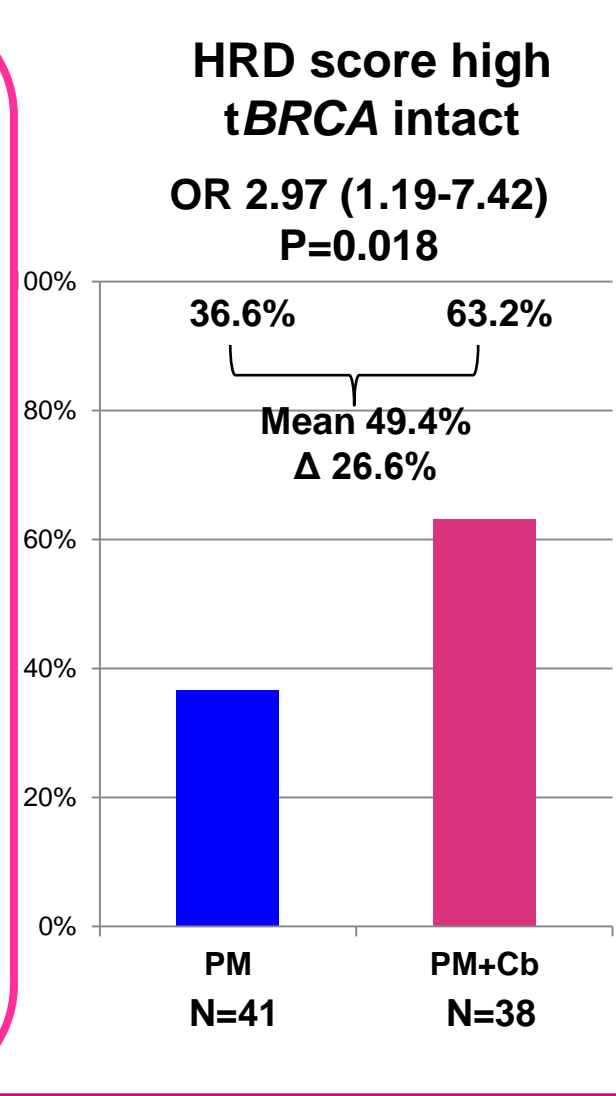
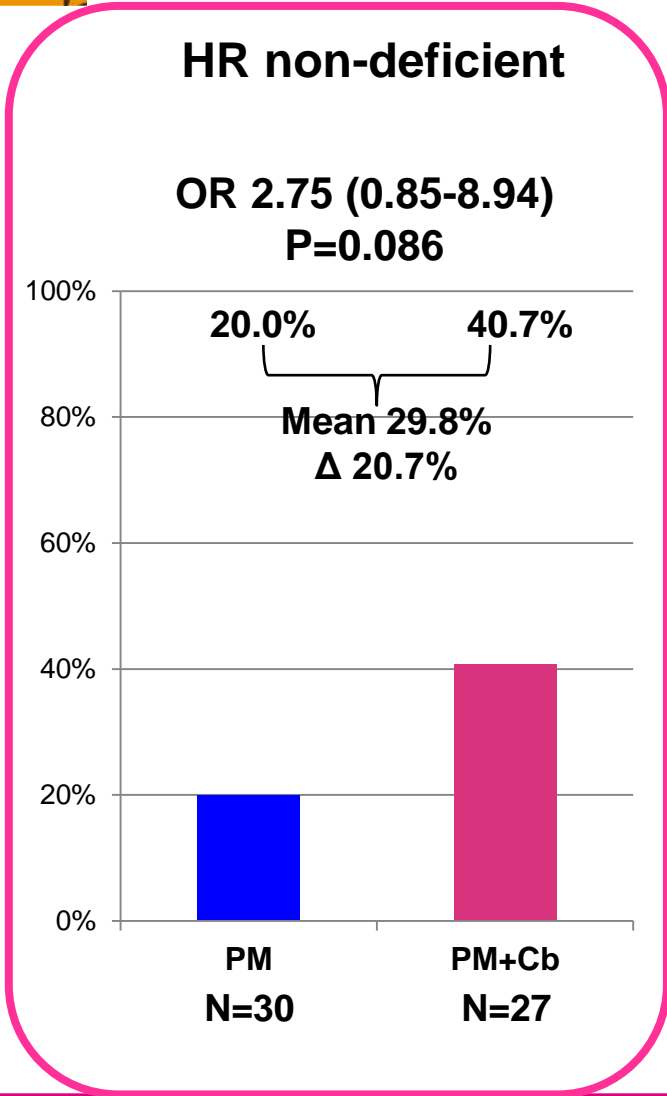
Effekt nach HRD status +/- Platin



Test for interaction p=0.769



pCR Rates by Treatment and According to HR Deficiency Status (ypT0/is ypN0)



GeparSixto TNBC: Event-free Survival (EFS) Homologous Recombination Deficiency (HRD)

Figure 5. Univariate model for EFS overall & in subgroups

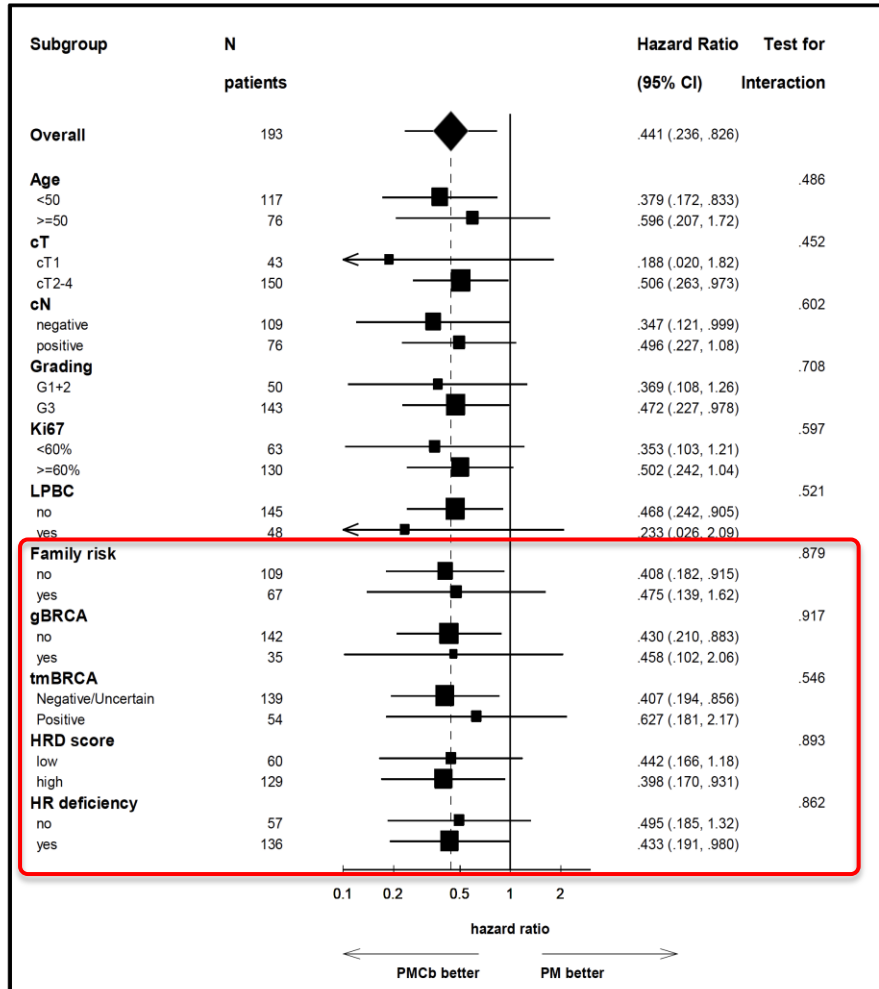


Table 1. Multivariate model for EFS

Predictor	Value	HR	95 % CI	p-value
HRD	yes vs. no	0.632	0.333-1.201	0.1662
Arm	PMCb vs. PM	0.478	0.253-0.905	0.0202
age	≥ 50 vs. <50	0.576	0.292-1.139	0.1052
cT	cT2-4 vs. cT1	2.507	0.880-7.144	0.0538
cN	N+ vs. N0	2.483	1.301-4.740	0.0048
Grading	G3 vs. G1-2	1.088	0.535-2.214	0.8151
Ki67	≥ 60% vs. <60%	1.208	0.578-2.523	0.6116
LPBC	yes vs. no	0.376	0.146-0.967	0.0231



FAZIT: Platin neoadjuvant in TNBC in verschiedenen Biomarkergruppen

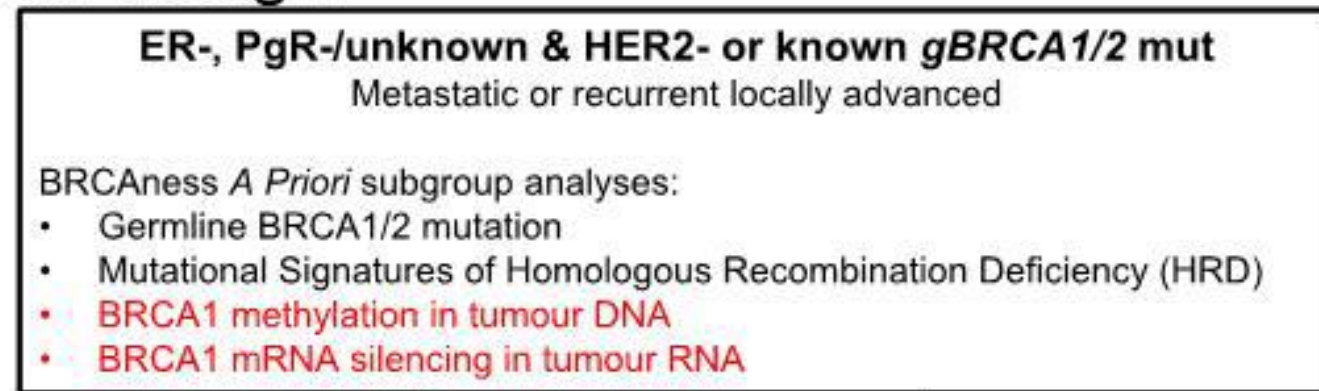
- **Nachweis einer BRCA Mutation oder ein positiver HRD Test sind mit höheren pCR Raten und besserem EFS assoziiert - unabhängig von Behandlungsarm**
 - HRD und BRCA^{mt} weisen auf eine höhere Chemosensibilität hin
- **die Addition von Platin zu Anthrazyklinen/Taxanen ist in allen Biomarkergruppen mit einer höheren pCR Rate und einem besseren EFS assoziiert**
 - TNBC insgesamt
 - BRCA-Keimbahnmutation und Wildtyp
 - somatische BRCA Mutation und Wildtyp
 - Myriad myChoice HRD positive und negative Tumore
 - **Biomarker negative Patientinnen**
- **weder BRCA-Mutationsstatus noch der HRD Test erlauben eine Selektion von Patientinnen für eine Platin-haltige Therapie**

TNT-Studie mTNBC *Carbo* vs *Docetaxel* Phase III: BRCAness Biomarker

San Antonio Breast Cancer Symposium December 6-10, 2016

3

TNT Trial design



376 patients Randomised
(1:1)

Carboplatin (C)
AUC 6 q3w, 6 cycles

On progression,
crossover if appropriate

Docetaxel (D)
100mg/m² q3w, 6 cycles

Docetaxel (D)
100mg/m² q3w, 6 cycles

On progression,
crossover if appropriate

Carboplatin (C)
AUC 6 q3w, 6 cycles

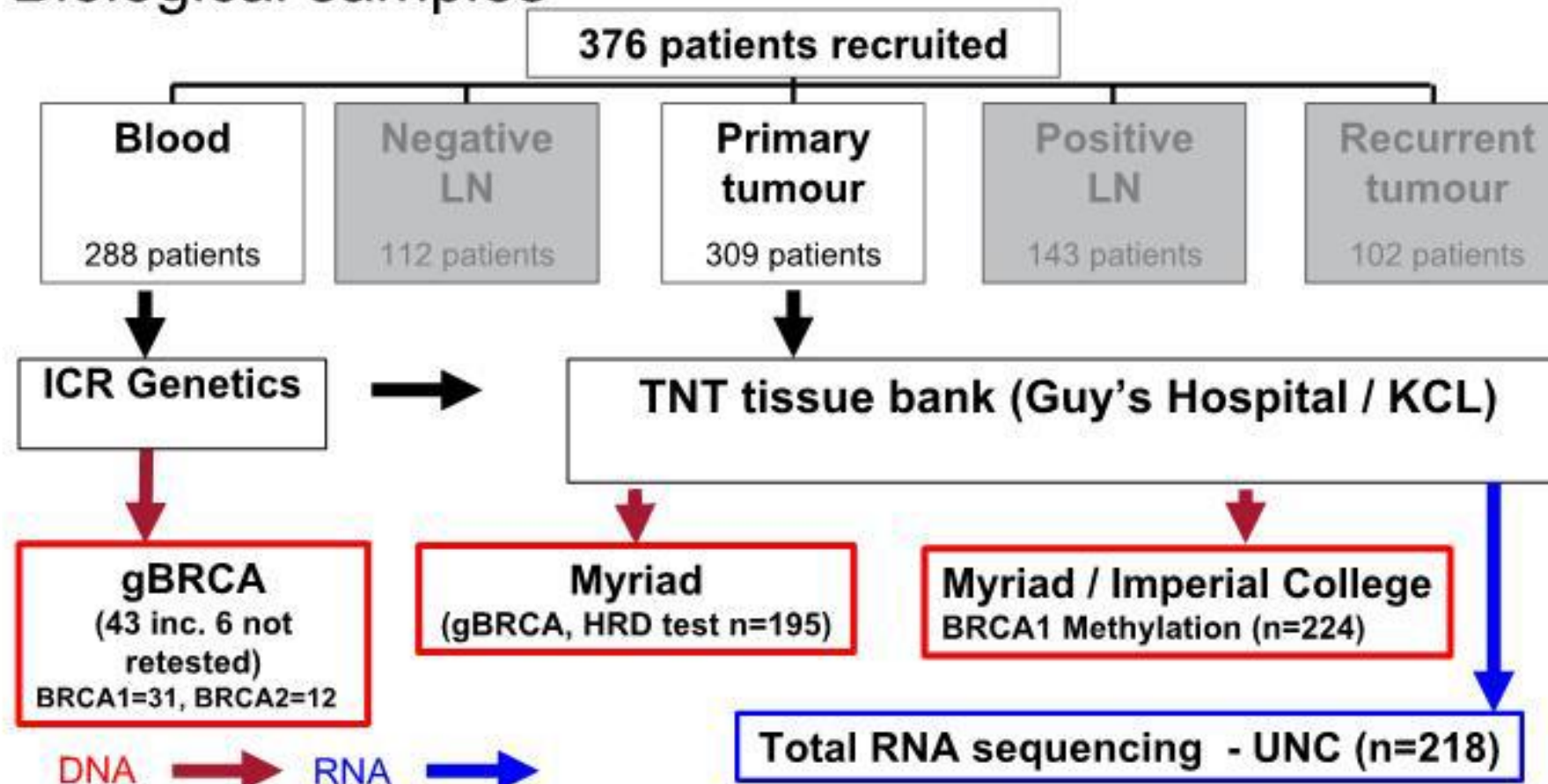
This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

TNT-Studie mTNBC *Carbo vs Docetaxel* Phase III: BRCAness Biomarker

San Antonio Breast Cancer Symposium December 6-10, 2016

4

Biological samples



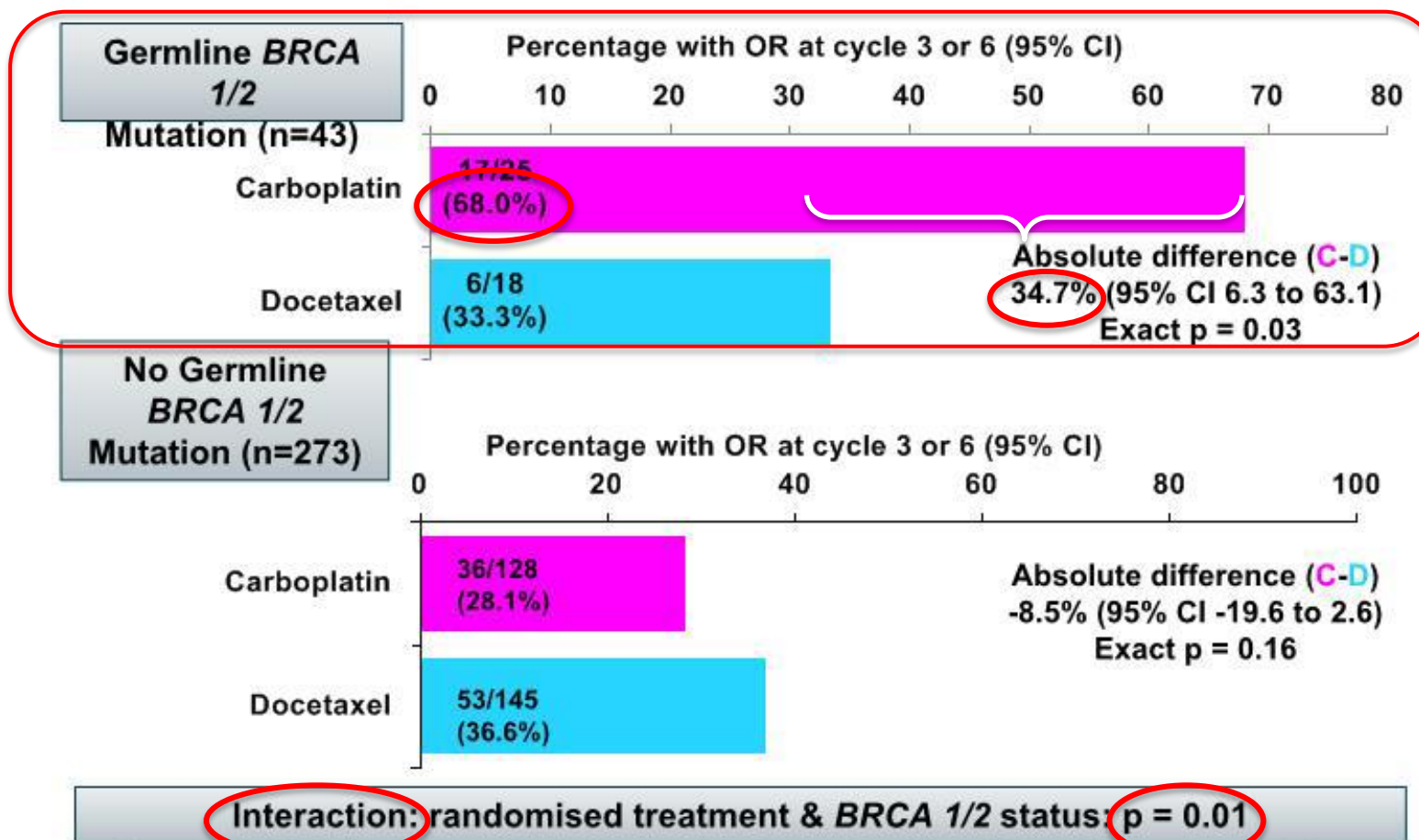
This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tn-t-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

TNT-Studie: ORR nach BRCA1/2-Status

San Antonio Breast Cancer Symposium, December 9-13, 2014

17

Objective response – BRCA 1/2 status



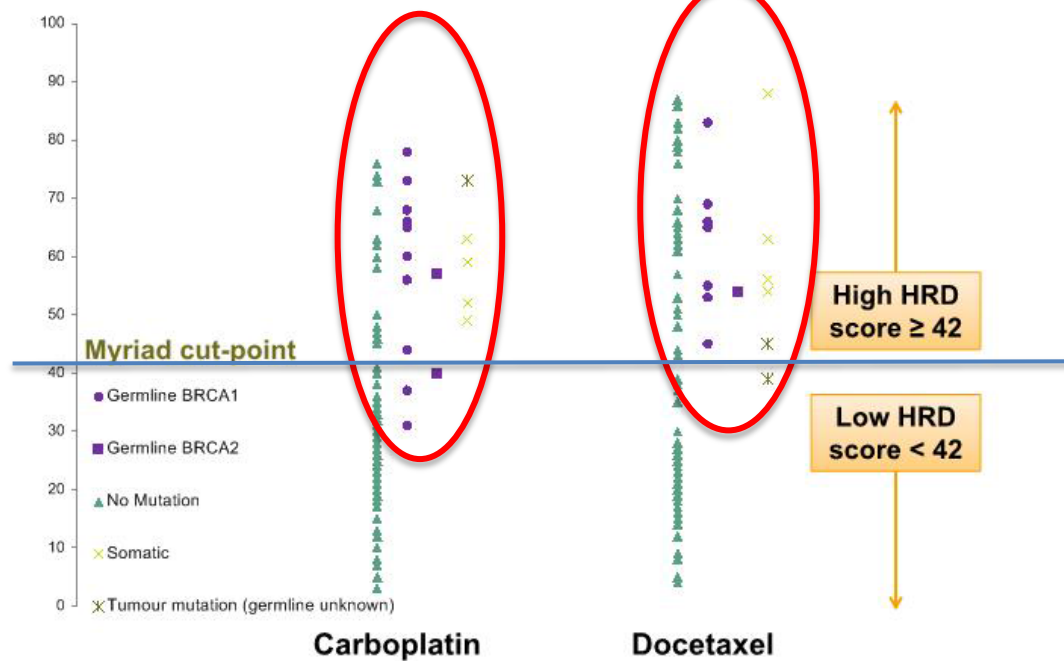
This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

TNT Studie: HRD score

San Antonio Breast Cancer Symposium, December 9-13, 2014

21

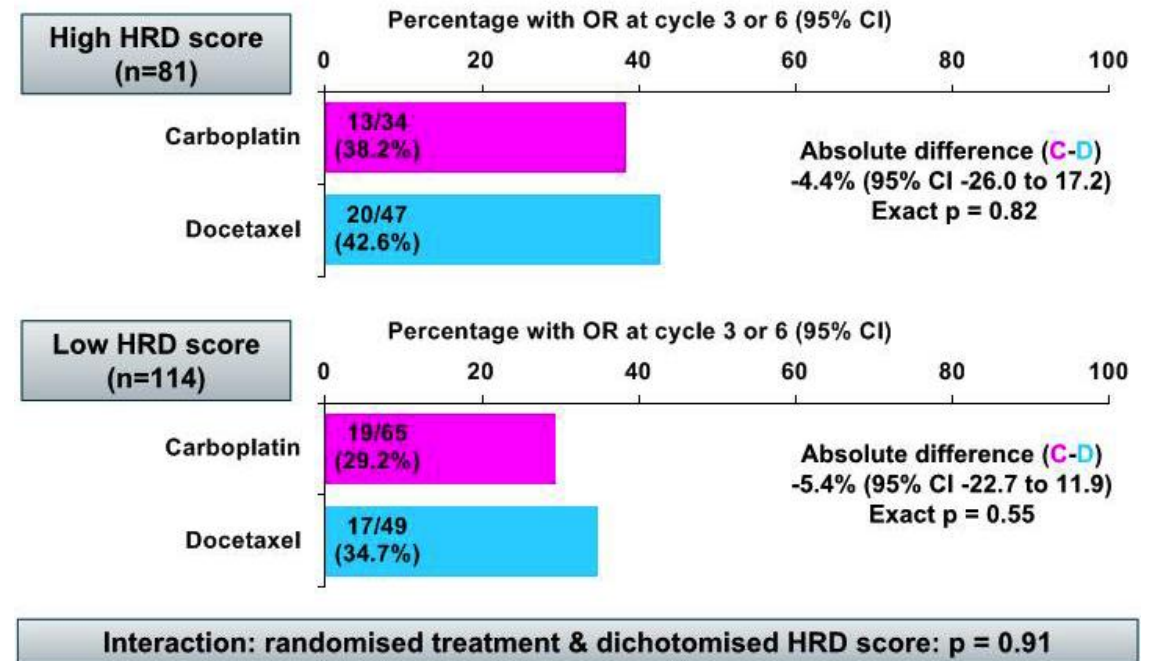
HRD score by BRCA 1/2 mutation



This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

Objective response – HRD score

22

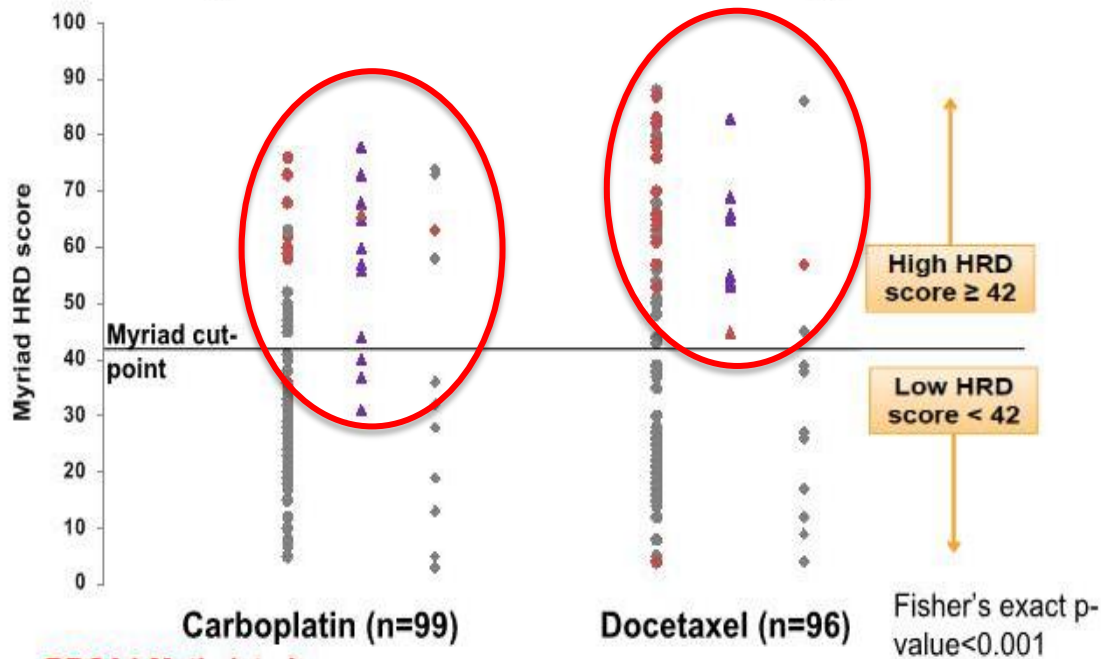


Beim metastasierten TNBC bisher nicht prädiktiv für die Wirksamkeit von Platin!
Einzige randomisierte Phase III; HRD score prospektiv, sekundäres Studienziel.

TNT Studie: BRCA1 Methylierung

San Antonio Breast Cancer Symposium December 6-10, 2011

BRCA1 methylated tumours also show high HRD Score

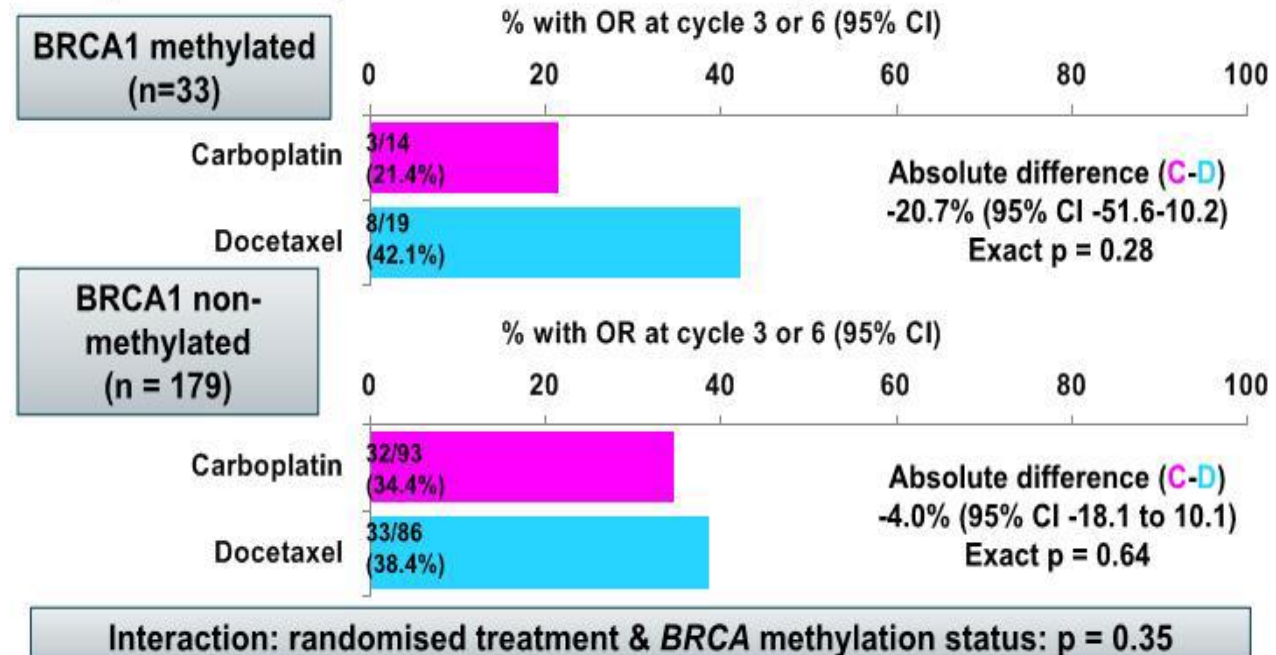


This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

San Antonio Breast Cancer Symposium December 6-10, 2016

Objective response – BRCA1 methylation

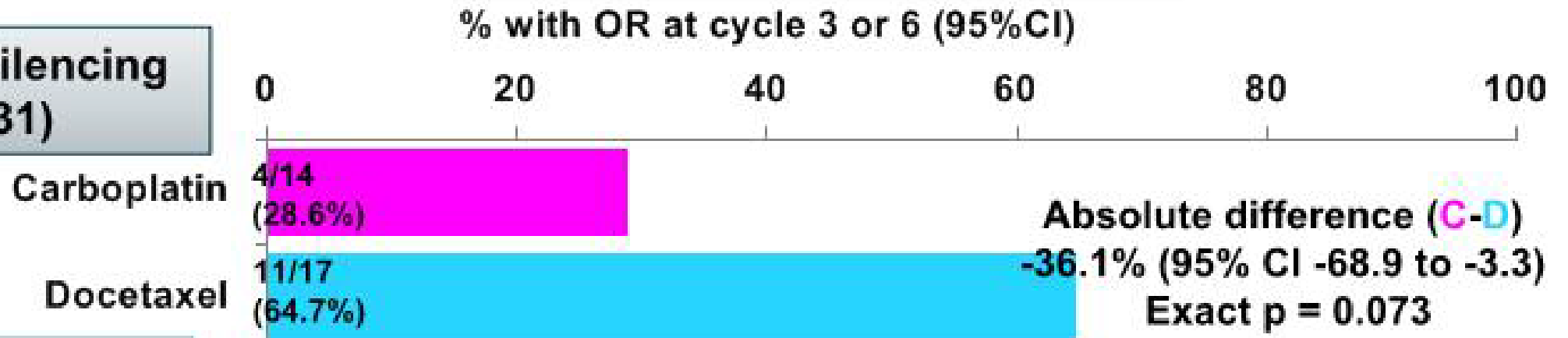
13



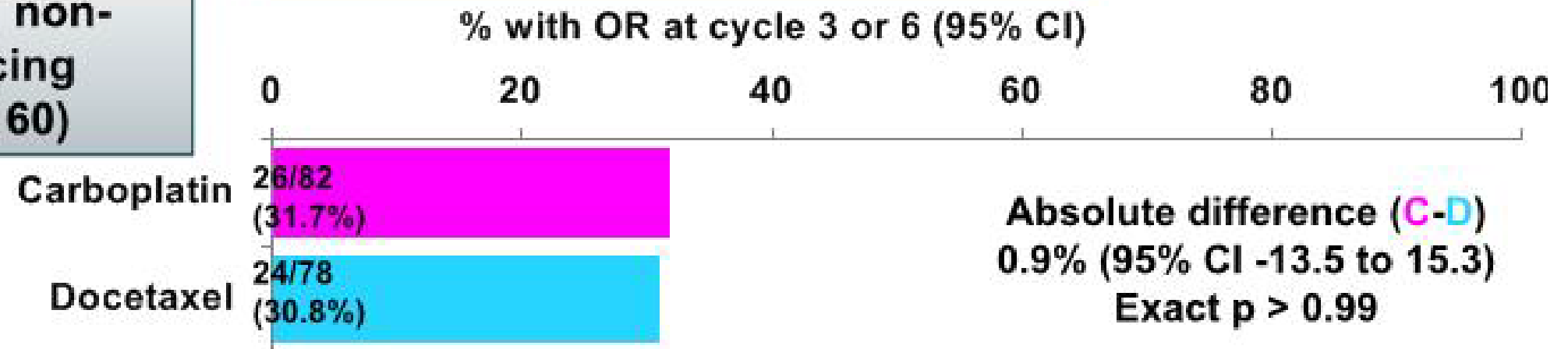
This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

Objective response – BRCA1 mRNA silenced

**BRCA1 silencing
(n=31)**



**BRCA1 non-silencing
(n = 160)**



Interaction: randomised treatment & BRCA 1 silencing status: p = 0.066

This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at tnt-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

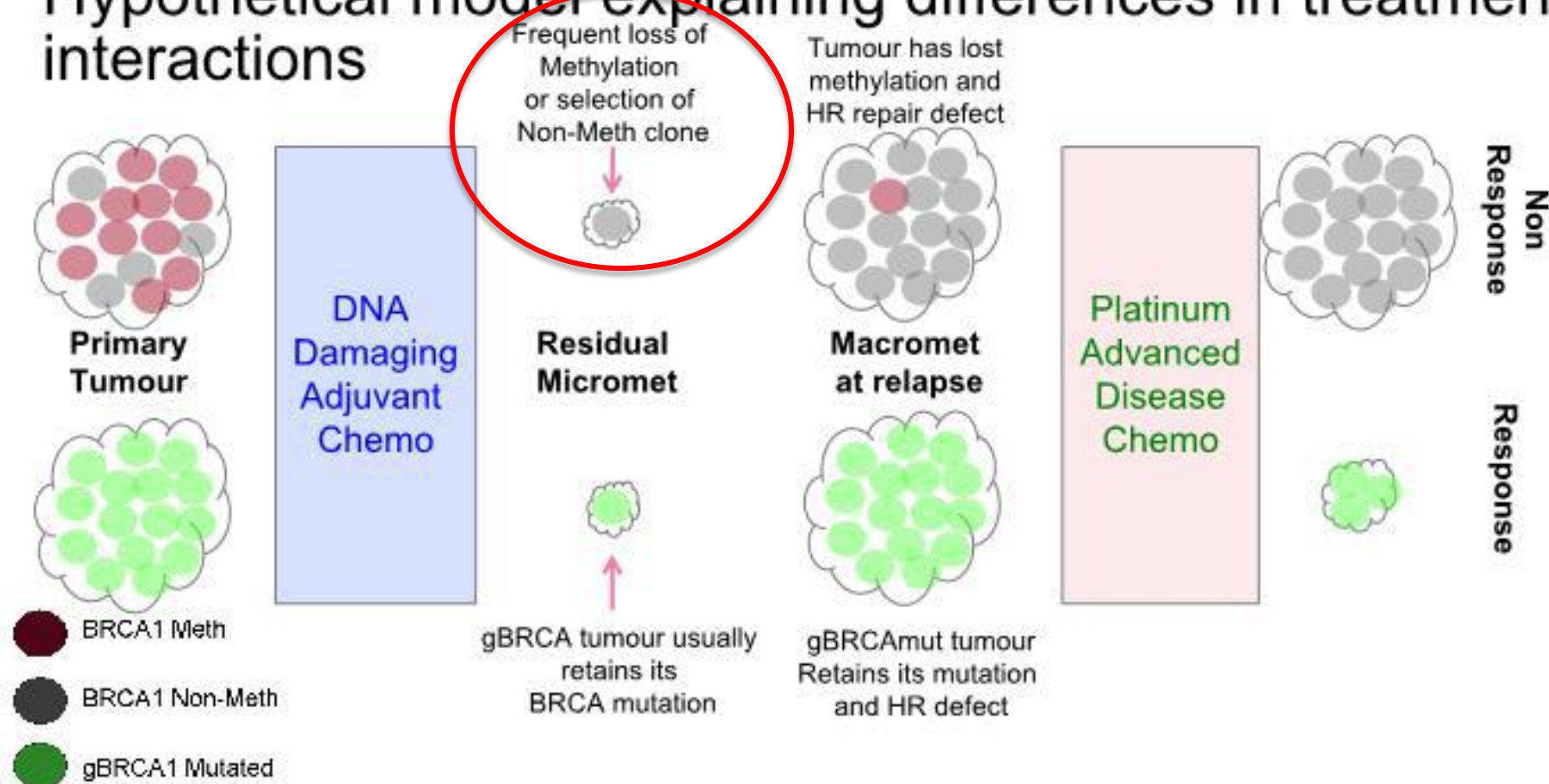
FAZIT: TNT BRCAness Biomarker

- nur BRCA Mutationen prädiktiv für Carboplatin (ORR und DFS) beim mTNBC
- HRD, BRCA Methylierung, BRCA1 mRNA silencing (alle gemessen im Primärtumor) ohne prädiktiven Wert
- Besonderheit der Studie:
 - Head-to-Head Vergleich
 - metastasiertes Setting & Testung am Primärtumor

Tutt's Hypothesis

San Antonio Breast Cancer Symposium December 6-10, 2016

Hypothetical model explaining differences in treatment interactions²⁷

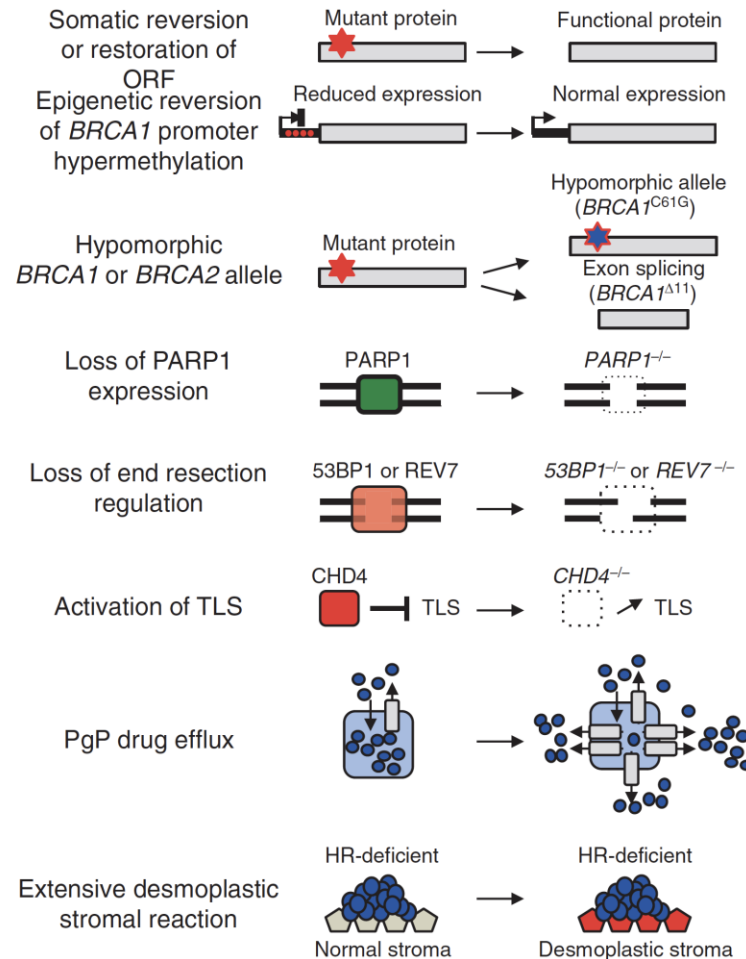


This presentation is the intellectual property of the author/presenter. Contact them at InI-icrctsu@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute

Limitationen von HRD und LOH Tests

HRD Assays erfassen eine „genomische Narbe“

- bleibt erhalten, auch wenn der Tumor eine Platin- bzw. PARPi-Resistenz entwickelt
- Auswege:
 - aktuelles Tumorgewebe testen
 - Resistenzmechanismen erfassen
 - funktionelle Assays (limitiert durch Erfordernis vitalen Gewebes und Behandlung mit DNA-Damigend agents etc.)

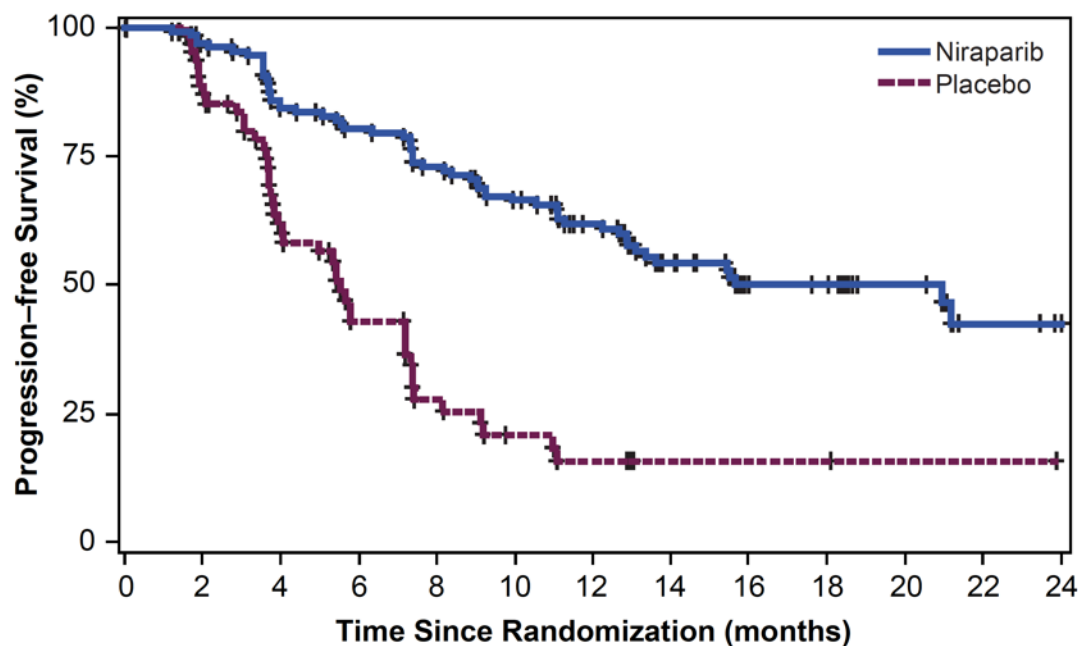


Mechanisms of resistance	PARPi	Cisplatin
Genetic reversion	Resistant	Resistant
Epigenetic reversion	Resistant	Resistant
Hypomorphic allele	Resistant	Resistant
Loss of PARP1 expression	Resistant	Sensitive
Loss of end resection regulation	Resistant	Sensitive (53BP1); sensitive (REV7)*
TLS activation	Resistant	Resistant
PgP drug efflux	Resistant	Sensitive
Extensive stromal reaction	Resistant**	Resistant

Blick über den Tellerrand

BRCA, HRD UND CO BEIM OVARIALKARZINOM

Progression-free Survival: gBRCAmut



Treatment	PFS Median (95% CI) (Months)	Hazard Ratio (95% CI) p-value	% of Patients without Progression or Death	
			12 mo	18 mo
Niraparib (N=138)	21.0 (12.9, NR)	0.27 (0.173, 0.410) p<0.0001	62%	50%
Placebo (N=65)	5.5 (3.8, 7.2)		16%	16%

PFS was analyzed using a 2-sided log-rank test using randomization stratification factors, and summarized using the Kaplan-Meier methodology. Hazard ratios with 2-sided 95% confidence intervals were estimated using a stratified Cox proportional hazards model, with the stratification factors used in randomization.

NR=not reached

Exploratory Analysis: PFS in Subgroups of Non-gBRCAmut Cohort



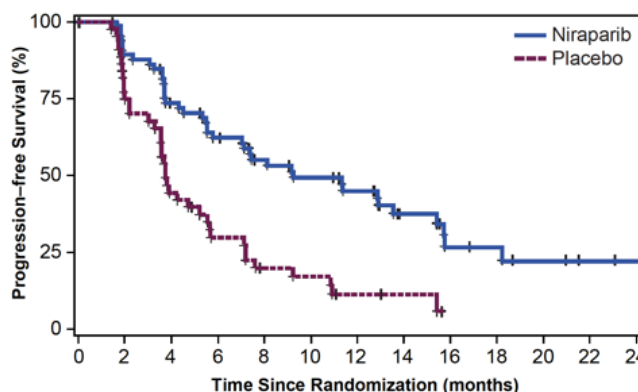
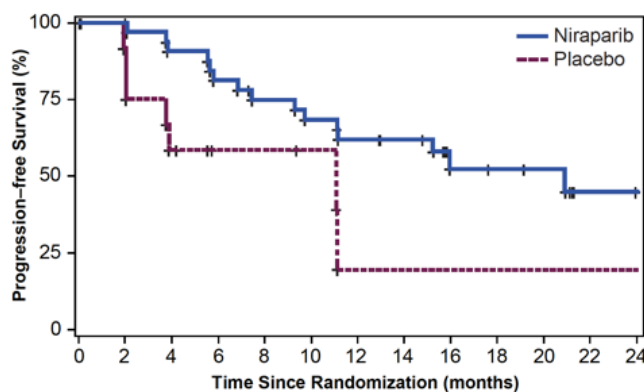
HRD-positive

sBRCAmut

Treatment	PFS Median (95% CI) (Months)	Hazard Ratio (95% CI) p-value	% of Patients without Progression or Death	
			12 mo	18 mo
Niraparib (N=35)	20.9 (9.7, NR)	0.27 (0.081, 0.903) p=0.0248	62%	52%
Placebo (N=12)	11.0 (2.0, NR)		19%	19%

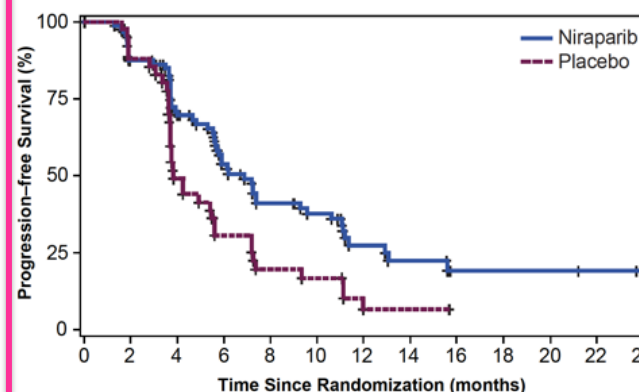
BRCAwT

Treatment	PFS Median (95% CI) (Months)	Hazard Ratio (95% CI) p-value	% of Patients without Progression or Death	
			12 mo	18 mo
Niraparib (N=71)	9.3 (5.8, 15.4)	0.38 (0.231, 0.628) p=0.0001	45%	27%
Placebo (N=44)	3.7 (3.3, 5.6)		11%	6%



HRD-negative

Treatment	PFS Median (95% CI) (Months)	Hazard Ratio (95% CI) p-value	% of Patients without Progression or Death	
			12 mo	18 mo
Niraparib (N=92)	6.9 (5.6, 9.6)	0.58 (0.361, 0.922) p=0.0226	27%	19%
Placebo (N=42)	3.8 (3.7, 5.6)		7%	7%



ähnlich wie in GeparSixto profitieren hier auch die Biomarker-negativen Patientinnen

NR=Not reached





- **Brightness (neoadjuvant, TNBC)**
- **GeparOla (neoadjuvant, BRCA mut, HRD high)**
- **Olympia (adjuvant, BRCA mut)**
- **OlympiaD (metastatic, BRCA mut)**
- **Brocade (metastatic, BRCA mut)**
- **EMBRACA (metastatic, BRCA mut)**
- **ABRAZO (metastatic, BRCA mut)**



- **bisherige HRD Assays bzw. BRCA Status nicht ausreichend für Patientenselektion**
- **die bisherigen Marker erfassen nicht alle Facetten die für die Wirksamkeit von Parp-Inhibitoren und Platin von Bedeutung sind**
–auch Nutzen in den Biomarker-negativen Gruppen zu sehen
–(G6, TNT, Nova)
- **wir haben viel gelernt, aber die Frage bleibt auch 2018 ein Thema**

HERZLICHEN
DANK!

Prof. Dr. med. Frederik Marmé
Sektionsleiter Translationale Gynäkologische Onkologie
Nationales Centrum für Tumorerkrankungen und
Universitätsfrauenklinik Heidelberg