

# Veranderende (moleculaire) diagnostiek en behandelmogelijkheden in het licht van de gereviseerde WHO-richtlijnen bij pediatrische hersentumoren

Changing (molecular) diagnostics in the light of the revised WHO guidelines for pediatric brain tumors

dr. J. van der Lugt<sup>1</sup>, dr. S.L.A. Plasschaerts<sup>2</sup>, dr. D.G. van Vuurden<sup>3</sup> en prof. dr. C.M. Zwaan<sup>1</sup>

## SAMENVATTING

Hersentumoren zijn geassocieerd met de hoogste kanker-gerelateerde mortaliteit bij kinderen. Voor veel verschillende pediatrische hersentumoren is de afgelopen decennia nauwelijks progressie geboekt in overleving. Wel is er een enorme vooruitgang in het doorgronden van de biologische mechanismen door middel van genoom-‘sequencing’ en in het in kaart brengen van epigenetische veranderingen. Dit heeft geleid tot nieuwe subcategorieën van bestaande hersentumoren, maar ook tot hele nieuwe entiteiten. De nieuwe gereviseerde WHO-criteria voor hersentumoren van 2016 heeft dan ook voor het eerst moleculaire criteria toegevoegd aan de bestaande histologische diagnoses voor tal van hersentumoren. Dit is waarschijnlijk een opmaat naar steeds meer moleculair gedreven diagnostiek met de hoop behandelingschema's hierop te kunnen aanpassen en precisiebehandeling te kunnen inzetten. In dit artikel worden de veranderingen in de (moleculaire) diagnostiek voor kinderhersentumoren besproken en de mogelijkheden en moeilijkheden die dit oplevert.

(NED TIJDSCHR ONCOL 2018;15:15-23)

## SUMMARY

Brain tumors are associated with the highest cancer-related mortality in children. For many different pediatric brain tumors, very little progress has been made in overall survival. However, enormous progress has been made by unraveling the biological mechanism by high-throughput sequencing and mapping of epigenetic aberrations. This has led to new subcategories of existing brain tumors, but also to complete new entities. Therefore, the new revised 2016 WHO classification of tumors of the central nervous system have for the first time added molecular criteria to existing histological diagnoses for many brain tumors. This will probably evolve more and more towards a molecular driven diagnostic approach with adjustment of treatment protocols and deploying targeted drugs. This article discusses the changes in (molecular) diagnostics for pediatric brain tumors and the implications it may have in daily practice.

<sup>1</sup>kinderoncoloog, afdeling Kinderoncologie, Erasmus MC-Sophia Rotterdam, <sup>2</sup>kinderoncoloog, afdeling Kinderoncologie, Prinses Maxima Centrum, <sup>3</sup>kinderoncoloog, afdeling Kinderoncologie, VU medisch centrum. Correspondentie graag richten aan dhr. dr. J. van der Lugt, kinderoncoloog, afdeling Kinderoncologie, kamer 2454, Wytemaweg 80, 3015 CN Rotterdam, tel.: 010 704 24 26, e-mailadres: j.vanderlugt@erasmusmc.nl  
Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** diagnostiek, pediatrische hersentumoren, WHO-richtlijnen

**Keywords:** diagnostics, pediatric braintumor, WHO guidelines

## INLEIDING

Met gemiddeld 120 nieuwe gevallen per jaar is de heterogene groep van hersentumoren de meest voorkomende solide maligniteit bij kinderen (bron: SKION basisregistratie). Toch wordt de laatste jaren nauwelijks progressie geboekt in overleving. Waar bij de hemato-oncologie veel nieuwe geneesmiddelen aan de horizon verschijnen met een groot potentieel, is er in de behandeling van hersentumoren nog veel werk te verzetten. Hersentumoren zijn doodsoorzaak nummer 1 als het gaat om kanker-gerelateerde mortaliteit bij kinderen.<sup>1</sup> Vooral bij tumoren als hooggradige gliomen (waaronder het diffuus intrinsieke ponsglioom; DIPG) en ependymomen is de afgelopen decennia nauwelijks verbetering in overleving bereikt. Daarnaast zijn de korte- en langetermijneffecten van chirurgie, cytotoxische chemotherapie en met name bestraling vaak significant en blijvend. De ontwikkeling van nieuwe medicijnen met doelgerichte therapie is daarom juist voor deze patiëntengroep van groot belang.

Een snel toenemende kennis van de moleculaire genetica, epigenetica en cellulaire 'pathways' heeft steeds meer inzicht gegeven in het genetisch profiel van de verschillende hersentumoren bij kinderen.<sup>2</sup> Dit heeft geleid tot de ontdekking van specifieke mutaties en de identificatie van moleculaire subtypen met meer prognostische waarden en mogelijk een aanzet tot effectievere en minder toxische behandelingen. In de dagelijkse praktijk worden DNA-methyleringsanalyse en hersentumor-specifieke 'next-generation sequencing' (NGS) steeds vaker ingezet naast de klassieke pathologisch-morfologische diagnostiek. Dat er een kleine revolutie gaande is blijkt ook uit het feit dat er in de 'Revised 4<sup>th</sup> Edition of the WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (2016)' voor het eerst moleculaire parameters zijn geïncorporeerd om onderscheid te maken tussen de verschillende hersentumoren.<sup>3</sup>

De ontwikkeling met betrekking tot de diagnostiek bij hersentumoren gaat door met een enorme vaart, waarbij de vraag gerechtvaardigd is of bij elke pediatrie hersentumor alle diagnostiek moet worden ingezet. Ten eerste moet worden gestreefd om minimaal aan de diagnostische criteria van de WHO te voldoen. Maar daarnaast is het voorstelbaar dat bij elke tumor klassieke histopathologie, een methylering-'array' NGS wordt ingezet. Op deze manier kunnen we, voor elke tumor, steeds beter tot een geïntegreerde diagnose komen en potentiële 'targets' voor behandeling identificeren.

De werkwijze hoe om te gaan met diagnostiek is nog niet landelijk afgestemd, maar kan mogelijk, ook met de verdere centralisatie van de kinderoncologische zorg, steeds beter worden geprotocolleerd en gecentraliseerd.

In dit artikel zal de veranderende diagnostiek worden be-

sproken, de mogelijkheden en moeilijkheden die dit biedt en eventuele therapeutisch consequenties voor de toekomst.

## WHO-RICHTLIJNEN

Gedurende de afgelopen 100 jaar was de classificatie van hersentumoren gebaseerd op microscopische eigenschappen van het tumorweefsel. Er werd door de patholoog met behulp van een microscoop gekeken naar de morfologie van de tumorcellen en de gelijkenis op normale hersencellen, aangevuld met specifieke kleuringen. Daarnaast bestond er een graderingssysteem dat gebaseerd was op de uitkomst van de tumor wanneer je deze niet zou behandelen. Hoe slechter die uitkomst, hoe hoger de gradering (I-IV). Met de gereviseerde WHO-criteria van 2016 kwam er verandering in deze manier van classificeren en werden voor het eerst moleculaire karakteristieken geïncorporeerd in de classificatie van hersentumoren.<sup>3</sup> Door genotype en fenotype te integreren ontstaat er een grotere mate van objectiviteit en biologische homogeniteit, met als gevolg een grotere diagnostische precisie. De nomenclatuur in deze gereviseerde WHO-classificatie is gebaseerd op een histopathologische diagnose, gevolgd door aanvullende genetische typing. Een voorbeeld hiervan is het diffuus astrocytoom, IDH-mutant. Als in deze tumor deze mutant niet wordt gevonden, wordt de tumor getypeerd als diffuus astrocytoom, IDH-wildtype.

Dit artikel richt zich op de meest belangrijke veranderingen in deze WHO-classificatie die betrekking hebben op de meest voorkomende kinderhersentumoren (zie ook *Tabel 1*).

## MEDULLOBLASTOMEN

Voor het medulloblastoom, een primitieve embryonale tumor van het cerebellum, wordt als enige entiteit in de nieuwe WHO 2016-criteria, apart een histologische alsook een moleculaire indeling gegeven. De histologische indeling is in essentie ongewijzigd ten opzichte van de criteria van 2007 (zie *Tabel 1*). De moleculaire subtypen zijn hieraan toegevoegd.

Het (epi)genetische landschap van het medulloblastoom is de laatste jaren uitgebreid in kaart gebracht door meerdere onderzoeksgroepen met als resultaat een consensusartikel in 2012 van Taylor et al.<sup>4</sup> Dit leidde tot vier genetisch gedefinieerde subgroepen, elk met een onderscheidende genexpressie-, mutatie/kopienummerverandering en methyloompriem, evenals typische demografische, histologische en prognostische kenmerken.

## HET WNT-GEACTIVEERDE MEDULLOBLASTOOM

Hierbij staat deregulatie van de Wingless (Wnt)-'pathway' centraal. WNT is betrokken bij onder andere celspecificatie, celproliferatie en celmigratie. De subgroep van WNT-geacti-

**TABEL 1.** Frequent voorkomende CNS-tumoren bij kinderen en de belangrijkste veranderingen volgens de nieuwe WHO-richtlijnen

WHO 2007-classificatie	WHO revised criteria 2016
<b>Gliale tumoren</b>	<b>Gliale tumoren</b>
Pilocytic astrocytoma	Pilocytic astrocytoma
Pilomyxoid astrocytoma	Pilomyxoid astrocytoma
Subependymal giant cell astrocytoma	Subependymal giant cell astrocytoma
Pleomorphic xanthoastrocytoma	Pleomorphic xanthoastrocytoma
Diffuse astrocytoma	Diffuse astrocytoma, IDH-mutant Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype Diffuse astrocytoma, IDH-NOS
Gemistocytic astrocytoma	Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant
Fibrillary astrocytoma	-
Protoplasmic astrocytoma	-
Anaplastic astrocytoma	Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype Anaplastic astrocytoma, NOS  Anaplastic pleomorphic astrocytoma
Glioblastoma	Glioblastoma, IDH-wildtype
Giant cell glioblastoma	Giant cell glioblastoma
Gliosarcoma	Gliosarcoma Epithelioid glioblastoma Glioblastoma, IDH-mutant Glioblastoma, NOS  Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant
Gliomatosis cerebri	-
Oligodendroglioma	Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted Oligodendroglioma, NOS
Anaplastic oligodendroglioma	Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted Anaplastic oligodendroglioma, NOS
Oligoastrocytoma	Oligoastrocytoma*, NOS
Anaplastic oligoastrocytoma	Anaplastic oligoastrocytoma, NOS
<b>Ependymal tumors</b>	<b>Ependymal tumors</b>
Subependymoma	Subependymoma
Myxopapillary ependymoma	Myxopapillary ependymoma

WHO 2007-classificatie	WHO revised criteria 2016
Ependymoma	Ependymoma
Cellular	Cellular
Papillary	Papillary
Clear cell	Clear cell
Tanycytic	Tanycytic
Anaplastic ependymoma	Anaplastic ependymoma Ependymoma, RELN fusion-positive
<b>Embryonal tumors</b>	<b>Embryonal tumors</b>
Medulloblastoma	Medulloblastoma, histologically defined
Medulloblastoma, classic	Medulloblastoma, classic
Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	Medulloblastoma, desmoplastic/nodular
Medulloblastoma with extensive nodularity	Medulloblastoma with extensive nodularity
Medulloblastoma large cell/anaplastic	Medulloblastoma large cell/anaplastic
	Medulloblastoma, genetically defined Medulloblastoma, WNT-activated Medulloblastoma, SHH-activated and TP53-mutant Medulloblastoma, SHH-activated and TP53-wildtype Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH Medulloblastoma, group 3 Medulloblastoma, group 4
CNS primitive neuroectodermal tumor (PNET)	-
	Embryonal tumor with multilayered rosettes, C19MC-altered Embryonal tumor with multilayered rosettes, NOS
CNS Neuroblastoma	CNS Neuroblastoma
CNS Ganglioneuroblastoma	CNS Ganglioneuroblastoma
Medulloepithelioma	Medulloepithelioma
Ependymoblastoma	-
Atypical teratoid/rhabdoid tumor	Atypical teratoid/rhabdoid tumor CNS embryonal tumor with rhabdoid features

veerde medulloblastomen vertegenwoordigt ongeveer 10% van het totaal. Het kenmerkt zich door een centrale lokalisatie in de achterste schedelgroeve, het voorkomen op 'hogere' leeftijd (mediaan van 10 jaar) en een in de regel klassieke histologie. De prognose is uitstekend met een overleving >90%.<sup>5</sup> In 85% van de gevallen wordt een *CTNNB1*-mutatie gevonden en 15% van de tumoren draagt een *TP53*-mutatie bij zich.<sup>6</sup> Dit laatste is niet geassocieerd met Li-Fraumeni, noch met een slechtere prognose. Andere frequent (maar niet exclusief) voorkomende mutaties in deze subgroep zijn *APC*, *DDX3X* en *SMARCA4*.<sup>6</sup>

### HET SHH-GEACTIVEERDE MEDULLOBLASTOOM

De Sonic Hedgehog (Shh)-'pathway' heeft een regulerende rol bij de groei van ledematen en vingers en de ontwikkeling van de hersenen. Bij Shh-medulloblastomen is deze 'pathway' gedereguleerd. De Shh-groep behelst ongeveer 25-30% van alle medulloblastomen. In tegenstelling tot de WNT-geactiveerde-subgroep, heeft een *TP53*-mutatie direct effect op de prognose, met name in combinatie met MYCN- en *GLI2*-amplificatie is de prognose zeer matig.<sup>7</sup> Er wordt dan ook verschil gemaakt tussen Shh-medulloblastomen, *P53*-wildtype en Shh-medulloblastoom, *P53*-mutant. De *P53*-mutanten hebben in 25% van de gevallen ook een *P53*-mutatie in hun kiembaan. Medulloblastomen met 'extensive nodularity' en medulloblastomen van het nodulair desmoplastische type zijn zeer sterk geassocieerd met deze moleculaire subgroep.

Naast de *P53*-mutatie is leeftijd van diagnose een belangrijke factor, waarbij zuigelingen een uitstekende overleving hebben, maar volwassenen een stuk minder, en kinderen (zonder *P53*-mutatie) daar tussenin zitten. Ook de genetische mutaties zijn erg verschillend over de verschillende leeftijds-categorieën. Zo hebben zuigelingen het meest een *SUFU*-mutatie en de volwassenen in 30% van de gevallen een *SMO*-mutatie.<sup>8</sup>

### MEDULLOBLASTOMEN VAN GROEP 3 EN 4

Bij medulloblastomen van groep 3 en 4 is niet duidelijk sprake van deregulatie van een specifieke 'pathway'. Groep 3 vertegenwoordigt ongeveer 25% van alle medulloblastomen, groep 4 35%. Het ontbreekt in deze groepen aan specifieke 'driver-mutaties', maar er worden wel regelmatig structurele mutaties gevonden, waarvan *SMARCA4* een van de meest voorkomende is. Ook het isochromosoom 17q speelt een grote rol bij groep 3 en 4 medulloblastomen. Groep 3 heeft de slechtste prognose, het is histologisch geassocieerd met het anaplastische type en in 50% van de gevallen worden metastasen gevonden. Als bij deze metastatische ziekte ook nog een isochromosome 17q of een

MYCC-amplificatie wordt gevonden, is de prognose uitermate somber.<sup>9,10</sup>

Groep 4 heeft over het algemeen een betere prognose en een klassieke histologie. De MYCN-amplificatie die bij Shh een slechtere prognose geeft, heeft in deze groep niet een direct effect op de overleving. Een chromosoom 17-'gain' of een chromosoom 11-verlies geeft in deze groep een gunstigere prognose.<sup>10</sup>

De WHO-classificatie adviseert om voor medulloblastoom de histologie en moleculaire subtypering als geïntegreerde diagnose te noemen, bijvoorbeeld 'klassiek medulloblastoom, wnt activated' of 'Desmoplastisch medulloblastoom, SHH activated, P53 wildtype'.

De moleculaire groepen leggen veel prognostisch gewicht in de schaal. Hierdoor worden oorspronkelijk risicofactoren zoals de 'gross total resection' (GTR) versus 'near total resection' (NTR) van de primaire tumor minder relevant.<sup>11</sup>

Behalve medulloblastomen hebben ook andere embryonale tumoren aanzienlijke veranderingen ondergaan in hun classificatie. Zo is de term 'primitieve neuro-ectodermale tumor' (PNET) geschrapt uit het diagnostische lexicon. Uit de studie van Sturm et al. bleek dat de embryonale histologie van CNS-PNET's niet overeenkomt met een homogene moleculaire klasse.<sup>12</sup> Deze groep van zeer agressieve, slecht gedifferentieerde embryonale tumoren is deels vervangen door de nieuw entiteit 'embryonal tumor with multilayered rosettes (ETMR), *C19MC*-altered'. Op basis van hoge-resolutie moleculaire technieken bleek dat het ependymoblastoom, het medullo-epithelium en de embryonale tumor met veel neuropils en echte rosettes (ETANTR), alle de *C19MC*-mutatie hadden en derhalve kunnen worden gezien als een en dezelfde diagnose. Daarom vallen alle tumoren met deze amplificatie onder deze nieuwe entiteit onafhankelijk van de histologie.

Als de histopathologie van een tumor wel overeenkomt met een ETMR, maar de amplificatie ontbreekt, zal het een NOS-toevoeging krijgen of als medullo-epithelium worden gekwalificeerd.

De ATRT blijft als embryonale tumor ongewijzigd, maar een moleculaire/IHC-bevestiging van inactiviteit van of het *SMARCB1*-gen (*INI1*) of het *SMARCA4*-gen (*BRG1*), is een vereiste. Als dit niet aanwezig is, spreekt men van een CNS embryonale tumor met rhabdoïde eigenschappen.

### HOOGRADIGE GLIOMEN

Het diffuus midline glioom, H3 K27M-mutant, gedefinieerd als een infiltratief hooggradig glioom van de midline met voornamelijk astrocytaire differentiatie en een K27M-mutatie in H3F3A of in HIST1H3b, is ook nieuw opgenomen in de WHO-criteria. Tachtig procent van de gliomen in de

**TABEL 2.** Overwegingen/advies ten aanzien van diagnostiek bij pediatrische hersentumoren.

Tumorcategorie	Methylerings-'array'	Neuropanel voor prognostische/ diagnostische markers	Genomische afwijkingen/ mutaties van bijzondere interesse*
Laaggradige tumoren	<b>Niet vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: wel bijdragend, zeker in geval van twijfel	<b>Niet vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: wel doen, kan initieel beperkt blijven tot BRAF-KIAA en BRAFV600	<b>BRAFV600</b> <b>BRAFKIAA</b> NF1, NF2 CDKN2A MYB/MYBL
Hooggradige gliomen	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: IDH 1/2 vereist voor WHO, maar gezien vele mutaties advies standaard het hele panel te doen	IDH, TP53 H3 K27, ACVR1, BCOR, ATRX, MYC <b>EGFR</b> <b>PTEN</b>
Ependymomen	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>	<b>Niet vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: bij recidief zeker verrichten. Bij primaire tumor waarde nog beperkt	RELA-fusie, YAP-fusie, Posterior fossa A-groep en posterior fossa B-groep (dit komt allen naar voren uit de methylering)
Medulloblastomen	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: voor WHO alleen TP53 en WNT van belang (ook aan te tonen met IHC). Zijn wel meerdere genetische veranderingen met prognostische waarden, dus advies hele panel te doen	TP53 <b>SMARCA4</b> , GLI2, MYCN Chromosoom 17 veranderingen als: 17p deletie, 17q gain, of isochromosomie 17q monosomie 6 SMO PTCH SUFU
Overige hooggradige tumoren (o.a. ATRT)	<b>Vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: wel bijdragend, zeker gezien grote discrepantie pathologie en moleculair bij de (voormalige) PNET-groep	<b>Niet vereist voor WHO-classificatie</b>  Advies: wel bijdragend, zeker gezien grote discrepantie pathologie en moleculair bij de (voormalige) PNET-groep. Advies wel in te zetten	C19MC <b>SMARCB1</b> <b>SMARCA4</b>

\* Genomische afwijkingen/mutaties van bijzondere interesse houdt in: (epi)genetische veranderingen die typerend zijn voor de entiteit en/of prognostische waarden hebben en/of als mogelijk 'target' kunnen dienen voor behandeling. De mutaties die dik zijn gedrukt zijn een 'target' voor therapie waarvoor een studie beschikbaar is.

pons hebben deze mutatie, waardoor een groot deel van de DIPG's hieronder vallen. Ook tumoren die het histologisch beeld laten zien van een WHO-graad II diffuus astrocytoom worden door deze mutatie alsnog als WHO-graad IV geclassificeerd. Voor HGG in het spinale kanaal en in de thalamus wordt deze mutatie in 50% van de gevallen gevonden. Gliomen die de H3 K27M-mutaties missen worden histologisch

geclassificeerd en gegradeerd, gevolgd door een analyse van IDH1/2-mutatie en 1p/19q co-deletie (zie onder). In de meest recente WHO-classificatie is de mutatiestatus van het IDH-gen, IDH-mutant of IDH-wildtype toegevoegd aan de classificatie van hooggradige gliomen (zie Tabel 1).

Deze mutatie wordt nauwelijks gezien bij kinderen en is bij volwassenen geassocieerd met een betere prognose. HGG bij kinderen zal dus bij afwezigheid van histonmutaties vaak worden getypeerd als IDH-wildtype.

Volledige deletie van zowel de korte arm van chromosoom 1 (1p) en de lange arm van chromosoom 19 (19q) (1p/19q co-deletie) is de moleculaire handtekening van oligodendrogliomen en is ook toegevoegd aan de diagnostiek van deze tumoren. Het is zelfs zo dat wanneer deze co-deletie ontbreekt, in aanwezigheid van een IDH-mutatie, de diagnose oligodendroglioom niet mag worden gesteld, zelfs als het histologisch beeld hier wel bij past. Dit zal dan als een astrocytoma worden afgeven. Tumoren met eigenschappen van een glioblastoom die IDH-gemuteerd zijn en een 19 (19q) (1p/19q co-deletie) hebben, zullen worden afgegeven als een anaplastisch oligodendroglioom. Door deze nieuwe classificatie komt de term oligoastrocytoma in principe te vervallen.<sup>13</sup> De moleculaire diagnostiek is dus bepalend. Bij kinderen met een oligodendroglioom ontbreken vaak de typerende IDH-mutatie en de co-deletie. Totdat deze tumoren beter worden begrepen, wordt bij deze groep de term oligodendroglioom NOS gebruikt.<sup>3</sup>

## EPENDYMOMEN

Voor ependymomen is het enige moleculaire kenmerk dat is opgenomen in de WHO-criteria de RELA-fusie. Het RELA-fusiegen bestaat uit een fusie tussen het *C11orf95*- en *RELA*-gen en zorgt voor een aberrante activatie van de 'nuclear factor-kB (NFkB) signaling pathway'. De RELA-fusie bij ependymomen vertegenwoordigen 70% van de pediatrie supratentoriële ependymomen. Uit een grote studie kwam naar voren dat RELA-fusie-positieve tumoren een agressiever beloop kennen met een slechtere prognose in vergelijking met de RELA-negatieve (supratentoriële) tumoren.<sup>14</sup> Behalve de RELA-fusie-ependymomen werden bij deze studie nog acht andere (moleculaire) subgroepen geïdentificeerd; deze zijn vooralsnog niet overgenomen door de WHO. Sommige van deze acht subtypen hadden een uitgesproken betere prognose, zoals de subependymomen en de YAP-1-positieve ependymomen. Ook wordt in dit artikel, op basis van epigenetica, onderscheid gemaakt tussen een posterior fossa A-ependymoom en het veel zeldzamere posterior fossa B-ependymoom. De laatst genoemde heeft een beduidend betere prognose. Het is dus denkbaar dat deze moleculaire gunstigere groepen een goede overleving houden met minder (radio)therapie. Maar dit is vooralsnog onvoldoende uitgezocht. In de nieuwe Europese studie voor de eerstelijnsbehandeling bij ependymomen zal deze vraag niet worden beantwoord, omdat er geen moleculair onderscheid wordt gemaakt bij het toewijzen aan een behandeling in dit protocol.

Gezien de weinige veranderingen die de laaggradige gliomen hebben ondergaan in de nieuwe WHO-criteria, laten we deze hier buiten beschouwing (zie Tabel 1).

## WHO-RICHTLIJNEN EN 'BEYOND'

De 'WHO revised criteria 2016' geven geen aanbevelingen hoe en welke moleculaire veranderingen te testen. Gezien de snelle veranderingen en de toenemende beschikbaarheid van moleculaire diagnostiek is dit waarschijnlijk een goede keuze. De vraag is of de diagnostiek zich moet beperken tot het voldoen aan de WHO-criteria of dat er breder moet worden gekeken. Het moge duidelijk zijn dat er evidente meerwaarde is bij twijfel over een diagnose of als er een 'target' moet worden gevonden bij een uitbehandelde patiënt. Maar is een uitgebreide mutatieanalyse en een methylerings-'array' bij een laaggradig glioom zinvol? Het lijkt logisch en leerzaam uitgebreider te testen, maar waar ligt de grens, wat is onderzoek en wat is klinische zorg? In Tabel 2 proberen we een advies te formuleren wanneer wat te testen.

De mogelijke meerwaarde van uitgebreide diagnostiek wordt beschreven door Kline et al. in een studie bij 31 (voorgeselecteerde) pediatrie patiënten met een hersentumor.<sup>15</sup> Door middel van NGS werden bij alle patiënten 510 met kanker geassocieerde genen gesequenced op zowel perifeer bloed als tumormateriaal. Bij 19% van de patiënten werd de oorspronkelijke diagnose geamendeerd en in 35% van de gevallen werd een pathologische mutatie gevonden in de kiembaan. Een mutatie met een potentieel aangrijpingspunt voor een (nieuw) medicijn werd bij 61% van de patiënten gevonden. Een aantal patiënten is ook daadwerkelijk gestart met gerichte medicatie. Het effect hiervan zal later worden gepubliceerd door deze groep. Vergelijkbare resultaten worden gerapporteerd door Sahm et al. en Ramkisson et al.<sup>16,17</sup> De auteurs concluderen dat deze uitgebreide diagnostiek steeds meer de standaard moet worden en dat ze dit in hun instituut voor alle patiënten bij diagnose al in kaart willen brengen. Een belangrijke toevoeging die wordt gemaakt, is dat het ook logistiek haalbaar zou moeten zijn. Afhankelijk van de urgentie van de behandeling is wachten soms geen optie. Daarnaast is het belangrijk dat wordt nagedacht over een neuropanel voor de NGS. Op welke mutaties wordt getest en hoe houd je het panel zowel up-to-date als beheersbaar.

## BEHANDELCONSEQUENTIES

Tot op heden levert het in kaart brengen van de (epi)genetica vooral een diagnostische verrijking op. Vage entiteiten worden vervangen door duidelijkere, moleculaire omschrijvingen, subclassificaties zijn aangebracht binnen bestaande diagnoses met prognostische betekenis en steeds meer drijvende mutaties worden in kaart gebracht. Helaas is deze



**TABEL 3.** Fase 1/2-studies die open zijn in Nederland voor kinderen met hersentumoren.

<b>Titel studie</b>	Phase I open label, dose escalation trial to determine the MTD, safety, PK and efficacy of afatinib monotherapy in children aged 2 years to <18 years with recurrent/refractory neuroectodermal tumours, rhabdomyosarcoma and/or other solid tumours with known ErbB pathway deregulation regardless of tumour histology	Phase I-II study of Vinblastine in Combination with Nilotinib in Children, Adolescents, and Young Adults with Refractory or Recurrent Low-Grade Glioma	A phase I/II, multicenter, open-label, dose escalation study of safety and pharmacokinetics of cobimetinib in pediatric and young adult patients with previously treated solid tumors
<b>Geneesmiddel(len) + 'target**</b>	Afatinib ErbB-'pathway'	Vinblastine met of zonder nilotinib PDGFA/B	Cobimetinib RAS/RAF/MEK/ERK-'pathway'
<b>Hersentumoren mogelijk geschikt voor inclusie</b>	Recidief/refractair Hooggradige gliomen Diffuus intrinsieke pons Laaggradige gliomen Ependymomen Medulloblastomen (+ alle andere met ErbB-'pathway'-deregulatie)	Recidief: Laaggradige gliomen  Primaire diagnose: Opticusglioom bij bekende neurofibromatose type 1	Recidief: Hooggradige gliomen Diffuus intrinsieke pons Laaggradige gliomen Atypische teratoïde rhabdoïde tumor
<b>Status studie</b>	Open voor inclusie, expansiefase	Open voor inclusie	Open voor inclusie
<b>Titel studie</b>	A phase I study of the EZH2 inhibitor tazometostat in Pediatric Subjects with relapsed or refractory INI1-negative tumors or synovial sarcoma	ABT-414 alone or ABT-414 plus temozolomide versus lomustine or temozolomide for recurrent glioblastoma: a randomized phase II study of the EORTC Brain Tumor Group. <i>For pediatric patients it is either ABT-414 alone or in combination with temozolomide (up to the investigator)</i>	Phase Ib/II Clinical Trial of Nivolumab Monotherapy and Nivolumab in Combination with Ipilimumab in Pediatric Subjects with High Grade Primary CNS Malignancies
<b>Geneesmiddel(len) + 'target**</b>	Tazometostat EZH2 (bij tumoren met verlies van INI1 of SMARCA4-mutatie)	ABT-414 (Antibody-Drug Conjugate) EGFR (amplificatie)	Nivolumab +/- ipilimumab (immuunmodulatie) PD(L)-1
<b>Hersentumoren mogelijk geschikt voor inclusie</b>	Recidief/refractair Atypische teratoïde rhabdoïde tumor chordomen Andere INI1-negatieve tumoren	Primaire diagnose Hooggradige gliomen	Hooggradige gliomen Diffuus intrinsieke pons Ependymomen Medulloblastomen Andere hooggradige hersentumoren
<b>Status studie</b>	Open voor inclusie	Open voor inclusie	Open voor inclusie
<b>Titel studie</b>	Phase II open-label global study to evaluate the effect of dabrafenib in combination with trametinib in children and adolescent patients with BRAF V600 mutation positive relapsed or refractory High Grade Glioma (HGG)		
<b>Geneesmiddel(len) + 'target**</b>	Dabrafenib + trametinib BRAFV600		
<b>Hersentumoren mogelijk geschikt voor inclusie</b>	Recidief/refractair Hooggradige gliomen		
<b>Status studie</b>	In voorbereiding		

\*\*Targets' hoeven niet voor alle studies aantoonbaar te zijn voor inclusie.

## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Voor de diagnostiek bij pediatrische hersentumoren moet minimaal worden voldaan aan de WHO-richtlijnen van 2016.
- 2** Methylering-‘arrays’ en ‘next-generation sequencing’ kunnen bijdragen aan betere categorisering van de hersentumoren en mogelijke ‘targets’ bieden voor gerichte therapie (in studieverband).
- 3** Het uitgebreid inzetten van moleculaire diagnostiek zal steeds meer inzicht geven over de genese en het subcategoriseren van de verschillende tumoren, maar hoeft voor de individuele patiënt niet altijd voordeel op te leveren.

verbetering nog niet direct terug te zien in een betere overleving of minder morbiditeit. Gerichte medicatie blijft helaas nog achter op de snelle moleculaire diagnostiek, vaak betreffende de medicamenten ‘pathway inhibitors’, meer dan echt gerichte medicatie. Een positieve uitzondering hierop zijn de BRAF-remmers als dabrafinib en vemurafinib (al dan niet in combinatie met trametinib). In een fase 1-studie met dabrafinib liet een substantieel deel van de kinderen met HGG en LGG een radiologische respons zien.<sup>18</sup> Helaas vindt bij het gebruik van remmers regelmatig reactivatie van de signaaltransductieroute plaats via een alternatieve ‘pathway’. Zo kan resistentie optreden bij gebruik van BRAF-remmers en lijkt de combinatie met een MEK-remmer meer succesvol. Epigenetische veranderingen door histonmodificaties zijn ook een interessante ‘target’. De werking van HDAC-remmers is nog niet geheel duidelijk en het effect op de signaaltransductieroutes en de bredere effecten op epigenetica zijn niet goed voorspelbaar. Daarnaast zijn HDAC-remmers substraat voor effluxpompen in de bloed-hersenbarrière, waardoor ze minder goed in de hersenen komen.

Er is een toenemend aantal studies dat zich richt op deze groep. In Tabel 3 staan de fase 1/2-studies voor kinderen met hersentumoren die open zijn of binnenkort open gaan. Ook bij eerstelijnsbehandelingen doen nieuwe middelen hun intrede. Bij het ‘upfront’-protocol voor laaggradige gliomen (vaak BRAF-KIAA-positief) zal trametinib, een MEK-remmer, mogelijk worden onderzocht op effectiviteit in vergelijking met conventionele chemotherapie.

Verder zal bij het ontwerpen van nieuwe studies steeds vaker rekening worden gehouden met moleculaire varianten. In de nieuwe studie voor medulloblastomen zullen de WNT-‘activerende’ tumoren minder intensief chemo- en radiotherapie ontvangen. Het nadeel van het steeds verder subclassificeren is dat het er steeds kleinere groepen ontstaan en er hierdoor slimme studiedesigns moeten komen om toch antwoord te krijgen op de onderzoeksvragen. Zo zijn er inmiddels van de posterior fossa A-ependymomen alweer 10 subtypen omschreven.

## BLOED-HERSENBARRIÈRE

De effectiviteit van nieuwe geneesmiddelen die aangrijpen op bovenbeschreven specifieke ‘targets’ op hersentumoren wordt naast expressie van deze ‘targets’ mede bepaald door de aanwezigheid van de bloed-hersenbarrière (BHB). In veel tumoren, zoals bijvoorbeeld hooggradig glioom en DIPG, is deze barrière grotendeels intact.<sup>19</sup> Dit speelt waarschijnlijk een belangrijke rol in de beperkte effectiviteit van veel geneesmiddelen bij deze ziektebeelden, aangezien een intacte BHB ondoordringbaar is voor >90% van de medicijnen op de markt, hetgeen een farmacokinetische uitdaging vormt. Alleen medicatie met hele specifieke eigenschappen kan passief worden doorgelaten over de BHB. Als medicijnen al de BHB passeren, worden deze vervolgens onderworpen aan een tweede ‘verdedigingslinie’ van de hersenen, de zogenoemde ABC-transporters. Dit zijn pompsystemen die medicatie effectief de tumorcellen en hersenen uit kunnen pompen.

In meerdere preklinische en klinische studies wordt momenteel gepoogd op innovatieve manieren de BHB te passeren. Door middel van microkatheters kan medicatie rechtstreeks in de tumor worden gebracht, zogenoemde ‘convection-enhanced delivery’ (CED).<sup>20</sup> Implanteerbare CED-systemen bieden de mogelijkheid om patiënten zo meerdere keren te behandelen met verschillende cytotoxische therapieën.<sup>21</sup> Een andere techniek is ‘High Intensity Focused Ultrasound’ (HIFU). Hierbij wordt de BHB met behulp van ultrasonische geluidstrillingen tijdelijk en locatie specifiek geopend voor medicatie.<sup>22</sup> Nog weer een andere manier om de BHB te moduleren is door middel van selectieve intra-arteriële chemotherapie (SIAC), waarmee hoge lokale doses van antikanker-middelen via arteriën in/nabij de tumor worden toegediend.

## CONCLUSIE

Hersentumoren maken een turbulente tijd door. De vele voorbeelden in de literatuur, en hierboven beschreven veranderingen, benadrukken de kracht van moleculaire subgro-



pen als extra hulpmiddel in de diagnostiek, en mogelijk behandeling van hersentumoren bij kinderen. In de meeste gevallen verbetert deze bijkomende biologische informatie duidelijk de patiëntstratificatie in termen van resultaatvoorspelling en identificatie van therapeutische aangrijpingspunten. Complexe genoombrede methyloom- en transcriptoomprofielering en de identificatie van specifieke moleculaire veranderingen zullen deel uit gaan maken van het diagnostisch arsenaal en hiermee de komende versies van de WHO-classificatie beïnvloeden. Het is aan de klinici de taak de recente ontwikkelingen te volgen, in het juiste perspectief te plaatsen qua behandelconsequenties en toe te passen, zodat optimale patiëntenzorg en vooruitstrevend onderzoek hand in hand kunnen blijven gaan. De ontwikkeling van gerichte medicatie dient naast identificatie van de juiste tumor-specifieke ‘targets’ ook rekening te houden met farmacokinetische beperkingen over een vaak (deels) intacte bloed-hersenbarrière bij deze tumoren.

## REFERENTIES

1. Pui CH, Gajjar AJ, Kane JR, et al. Challenging issues in pediatric oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 2011;8(9):540-9.
2. Northcott PA, Pfister SM, Jones DT. Next-generation (epi)genetic drivers of childhood brain tumours and the outlook for targeted therapies. *Lancet Oncol* 2015;16(6):e293-302.
3. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016;131(6):803-20.
4. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2012;123(4):465-72.
5. Ellison DW, Onilude OE, Lindsey JC, et al. beta-catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: the United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee. *J Clin Oncol* 2005;23(31):7951-7.
6. Jones DT, Jager N, Kool M, et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. *Nature* 2012;488(7409):100-5.
7. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, et al. Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *J Clin Oncol* 2013;31(23):2927-35.
8. Kool M, Jones DT, Jager N, et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothed inhibition. *Cancer Cell* 2014;25(3):393-405.
9. Shih DJ, Northcott PA, Remke M, et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *J Clin Oncol* 2014;32(9):886-96.
10. Northcott PA, Shih DJ, Peacock J, et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. *Nature* 2012;488(7409):49-56.
11. Thompson EM, Hielscher T, Bouffet E, et al. Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol* 2016;17(4):484-95.
12. Sturm D, Orr BA, Toprak UH, et al. New brain tumor entities emerge from molecular classification of CNS-PNETs. *Cell* 2016;164(5):1060-72.
13. Sahm F, Reuss D, Koelsche C, et al. Farewell to oligastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2014;128(4):551-9.
14. Pajtler KW, Witt H, Sill M, et al. Molecular classification of ependymal tumors across all CNS compartments, histopathological grades, and age groups. *Cancer Cell* 2015;27(5):728-43.
15. Kline CN, Joseph NM, Grenert JP, et al. Targeted next-generation sequencing of pediatric neuro-oncology patients improves diagnosis, identifies pathogenic germline mutations, and directs targeted therapy. *Neuro Oncol* 2017;19(5):699-709.
16. Sahm F, Schrimpf D, Jones DT, et al. Next-generation sequencing in routine brain tumor diagnostics enables an integrated diagnosis and identifies actionable targets. *Acta Neuropathol* 2016;131(6):903-10.
17. Ramkissoon SH, Bandopadhyay P, Hwang J, et al. Clinical targeted exome-based sequencing in combination with genome-wide copy number profiling: precision medicine analysis of 203 pediatric brain tumors. *Neuro Oncol* 2017;19(7):986-96.
18. No authors listed. Dabrafenib effective in pediatric glioma. *Cancer Discov* 2017;7(1):OF5.
19. Caretti V, Zondervan I, Meijer DH, et al. Monitoring of tumor growth and post-irradiation recurrence in a diffuse intrinsic pontine glioma mouse model. *Brain Pathol* 2011;21(4):441-51.
20. Zhou Z, Singh R, Souweidane MM. Convection-enhanced delivery for diffuse intrinsic pontine glioma treatment. *Curr Neuropharmacol* 2017;15(1):116-28.
21. Lewis O, Woolley M, Johnson D, et al. Chronic, intermittent convection-enhanced delivery devices. *J Neurosci Methods* 2016;259:47-56.
22. Burgess A, Hynynen K. Microbubble-assisted ultrasound for drug delivery in the brain and central nervous system. *Adv Exp Med Biol* 2016;880:293-308.

ONTVANGEN 27 OKTOBER 2017, GEACCEPTEERD 11 DECEMBER 2017.

### GEbruikt Neuropanel ERASMUS MC

Genen/chromosomen geanalyseerd met 'next generation targeted sequencing' (NGTS)-analyse, neuropanel V3.1  
 Coderende sequentie: ATRX, CDKN2A, CDKN2B, CIC, DAXX, DDX3X, FUBP1, NF1, NF2, PTCH1, PTCH2, PTEN, SETD2, SMO, SUFU, TRAF7 en TP53.

Mutatiehotspots: ACVR1 (exon 6, 7, 8 en 9), AKT (3), ALK (20, 22, 23, 24, 25), BRAF (11, 15), CTNNB1 (3), EGFR (exon 3, 7, 15), FGFR1 (12, 14, 15), H3F3A (2), H3F3B (2), HIST1H3B (1), HIST1H3C (1), IDH1 (4), IDH2 (4), KLF4 (4) en PIK3CA (10, 21).  
 Niet-coderende sequentie: TERT-promoter.

Copynummervariatie o.a. met behulp van single nucleotide polymorfismen (SNP's): chromosoom 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 19, 22 en X.

Detectielimiet: 20% neoplastische cellen.