

Kartläggning av genetiska förändringar i blodcancer för förbättrad kunskap, diagnostik och behandling – en nationell multicenterstudie inom Genomic Medicine Sweden

Vetenskaplig frågeställning

Den övergripande målsättningen med denna nationella multicenterstudie är att identifiera genetiska förändringar i blodcancersjukdomar med den nya generationens sekvenseringsteknik (NGS) för att öka vår kunskap om varför dessa sjukdomar uppkommer och för att på sikt möjliggöra förbättrad diagnostik, behandling och överlevnad för dessa patienter. Mer specifikt avser projektet att:

1. Utveckla och utvärdera breda genpaneler (200-500 gener) för att studera förekomsten av genetiska förändringar vid blodcancer och öka vår kunskap om de genetiska mekanismer som ligger bakom uppkomsten av dessa sjukdomar. Vidare avser vi att undersöka om breda genpanelanalyser kan möjliggöra förbättrad diagnostik, prognosbedömning, uppföljning och val av behandling för patienter som insjuknar i blodcancer.
2. Analysera hela genomet och hela transkriptomet vid akuta leukemier och andra myeloiska maligniteter (MDS, MPN och KML) för att undersöka om dessa mer omfattande analyser kan påvisa nya genetiska avvikelser i de sjuka cellerna och om dessa metoder i framtiden kan leda till förbättrad klinisk diagnostik och behandling vid akuta leukemier eller andra myeloiska sjukdomar.
3. Bygga upp en nationell databas inom Genomic Medicine Sweden (GMS Nationella Genomikplattform) där erhållna datamängder samlas för att möjliggöra populationsbaserade studier i syfte att bättre förstå varför blodcancersjukdomar uppstår och hur framtida diagnostik och behandling kan förbättras.

Områdesöversikt

Hematologiska maligniteter (blodcancersjukdomar) drabbar ungefär 4 500 personer i Sverige per år och utgör 7 procent av all cancer. Blodcancer utgör en av de vanligaste orsakerna till cancerdöd i Sverige. Mer kunskap om orsakerna till uppkomst av blodsjukdomar behövs för att utveckla en förbättrad diagnostik samt en mer individanpassad behandling och uppföljning (Flach et al., 2020).

Blodcancersjukdomar kännetecknas av en omfattande klinisk och biologisk heterogenitet och utgörs huvudsakligen av akut myeloisk leukemi (AML), myelodysplastiskt syndrom (MDS), kronisk myeloisk leukemi (KML), myeloproliferativa neoplasier (MPN), akut lymfatisk leukemi (ALL), kronisk lymfatisk leukemi (KLL), multipelt myelom (MM) samt olika former av lymfom. På genetisk nivå ses såväl återkommande punktmutationer som mindre och större strukturella kromosomförändringar. Dessa genetiska förändringar uppstår i normala, ofta omogna, blodceller som därmed gradvis expanderar på bekostnad av den normala blodbildningen. Funna genetiska förändringarna i blodcancerceller har lett till en dramatiskt ökad kunskap om hur dessa sjukdomar uppstår och är idag av helt central betydelse för diagnos, prognosbedömning, val av behandling samt för utvärdering av behandlingssvar. Samtliga hematologiska maligniteter beskrivs i WHO-klassifikationen och antalet undergrupper är idag

uppe i närmare 200 (Swerdlow et al., 2017). För flertalet av dessa undergrupper utgör genetiska förändringar en bas för klassifikationen.

Den nya generationens sekvenseringsteknik (NGS) gör det möjligt att med mycket hög upplösning identifiera genetiska förändringar på DNA- eller RNA-nivå (Kamps et al., 2017). Tekniken möjliggör att man effektivt och till rimliga kostnader kan sekvensbestämma utvalda delar av genomet med s.k. genpaneler eller kartlägga hela genomet (whole-genome sequencing, WGS). Genom att sekvensera genomet på RNA-nivå (RNA-sekvensering eller whole-transcriptome sequencing, WTS) kan man studera uttrycket av alla gener och även påvisa s.k. fusionsgener som utgör centrala sjukdomsorsakande förändringar vid blodcancersjukdomar (Haferlach, 2020; Matsukawa and Aplan, 2020). Samtidigt som genpaneler idag används i ökande utsträckning vid handläggning av patienter med blodcancersjukdomar är kunskaperna om den kliniska betydelsen av flera varianter begränsad.

Ett utmärkt exempel på genetiska förändringar som kan påvisas med olika genetiska analysmetoder utgörs av kromosomala translokationer (Mertens et al., 2015). Sådana förändringar används redan idag som diagnostiska och prediktiva behandlingsmarkörer vid flera typer av leukemier och lymfom. Ett exempel på sådana förändringar är en translokation mellan kromosomerna 9 och 22, t(9;22), som leder till en fusion mellan generna *BCR* och *ABL1* vid KML. Utvecklingen av hämmare av fusionsgenen *BCR/ABL1* utgör idag ett paradexempel på s.k. precisionsmedicin där en patient på basen av en påvisad genetisk förändring kan erhålla en riktad behandling som medför en i det närmaste normal överlevnad jämfört med normalbefolkningen (Bower et al., 2016). Andra exempel på genetiska förändringar där riktad behandling idag finns utgörs t.ex. av aktiverande mutationer i generna *FLT3*, *JAK2* och *IDH1/2* (Winer and Stone, 2019)

Under senare år har det klarlagts att ca 1-10% av patienter med blodcancersjukdom, beroende av vilken sjukdom som föreligger, har en medfödd (nedärvd) variant som ger en ökad risk för utveckling av blodcancer (Furutani and Shimamura, 2017). Detta kan vara av klinisk betydelse för den enskilda patienten då behandling och uppföljning kan påverkas. Även nära släktingar kan vara bärare av samma medfödda variant och därmed löpa en ökad risk att insjukna. En sådan släkting bör i sådana fall inte användas som donator vid en eventuell stamcellstransplantation. I WHO klassifikationen anges 10 undergrupper av ärftlig predisposition för hematologisk malignitet som beror på mutationer i enskilda gener och i takt med den ökade kartläggningen av genetiska förändringar i dessa sjukdomar upptäcks fler undergrupper (Baliakas et al., 2019)

Sammanfattningsvis har teknikutvecklingen i form av NGS gjort det möjligt att med hög upplösning påvisa genetiska förändringar på DNA- och RNA-nivå i blodcancersjukdomar, vilket ger viktiga ledtrådar till varför dessa sjukdomar uppkommer och samtidigt har lett till utvecklingen av nya målinriktade behandlingar. Ett flertal av dessa förändringar utgör även en viktig bas för den klinisk handläggning av dessa patientgrupper. Kunskapen är emellertid ännu begränsad avseende den kliniska betydelsen av flertalet förändringar som förekommer vid blodcancersjukdomar och om mer omfattande genetiska analyser kan leda till förbättrad diagnostik, prognosbedömning, uppföljning och behandlingsval vid dessa sjukdomar.

Projektbeskrivning

Organisation

Aktuellt forskningsprojekt leds av Genomic Medicine Sweden (GMS) och arbetsutskottet för hematologi (GMS-Hematologi). GMS utgör ett nationellt initiativ för att accelerera införandet av precisionsmedicin i Sverige med hjälp av storskaliga sekvenseringstekniker. Projektet är

uppbyggt kring regioner med universitetssjukvård, och formeringen av sju regionala Genomiska Medicin Centra (i Umeå, Örebro, Uppsala, Stockholm, Linköping, Göteborg och Lund) som utgör ett samarbetsorgan för de olika specialiteter som bedriver laboratoriediagnostik. GMS finansieras av Vinnova och medfinansieras av samtliga ingående parter. GMS har en styrgrupp bestående av samtliga dekaner för de medicinska fakulteterna samt de regionala forskningsdirektörerna från motsvarande regioner och representanter för industri och patientorganisationer.

Delprojekt och Arbetsplan

Denna multicenterstudie består av tre huvudsakliga delprojekt som sammanfattas nedan:

Delprojekt 1:

Syfte: Utveckla och utvärdera breda genpaneler för att studera förekomsten av genetiska förändringar vid blodcancer och undersöka betydelsen av dessa avvikelser för sjukdomsuppkomst och klinisk handläggning.

Vetenskapliga frågeställningar: Kan man med breda genpaneler upptäcka kliniskt relevanta genetiska förändringar vid blodcancersjukdom? Vilka genetiska förändringar upptäcks med sådana paneler och vilken betydelse har de för uppkomsten av blodcancer? Kan dessa breda genpaneler leda till förbättrad framtida diagnostik, prognosbedömning, uppföljning och behandling?

Arbetsplan: I detta delprojekt utvecklas nya och bredare genpaneler (200-500 gener) för analys av blodcancersjukdomar. Panelerna inkluderar gener som ofta är muterade i blodcancer, och är designade för att identifiera punktmutationer, mindre insertioner/deletioner och större kopietalsförändringar. Två separata genpaneler utvecklas; en för myeloiska och en för lymfatiska blodcancersjukdomar. Efter intern analytisk validering av panelerna vid deltagande laboratorier utförs även en nationell kvalitetsutvärdering (s.k. ringtrial) för att säkerställa reproducerbarhet i undersökningarna vid deltagande regionala laboratorier. Därefter kommer panelerna att erbjudas för inklusion i den aktuella studien. Enskilda laboratorier kan efter intern validering komma att använda aktuella paneler i rutindiagnostik. Cirka 4 500 vuxna personer insjuknar årligen i någon av de sjukdomar som avses att inkluderas (AML, MDS, KML, MPN, ALL, KLL, MM, samt lymfom). Projektet kommer att sträva efter att inkludera merparten av nämnda patientgrupper, men pga svårigheter att erhålla adekvat material, ålder och sjukdomsstadium uppskattas inklusionsgraden till ca 70%. Detta innebär att uppskattningsvis ca 3 000 patienter med maligna hematologiska sjukdomar kommer att inkluderas årligen. Projektet beräknas pågå under 5 år, dvs totalt ca 15 000 patienter kommer att inkluderas. Beroende på diagnosmisstanke tas efter att informerats samtycke har erhållits (se bilagd patientinformation), som led i rutinmässig provtagning benmärgsprov, blodprov eller lymfkörtelbiopsi. Detta vävnadsmaterial används dels för rutinmässig genetisk/hematopatologisk diagnostik, dels för extraktion av DNA och RNA från tumörceller inom ramen för studien. För att säkert kunna avgöra att funna genetiska avvikelser endast föreligger i blodcancer cellerna kommer ofta även prov från normalvävnad att tas. Beroende på diagnos tas prov från huden (hudbiopsi) efter bedövning alternativt som ett skrap från munslemhinnan eller insamling av hår, naglar eller friska blodceller som kan isoleras ur det tagna blod-, benmärgs- eller lymfkörtelprovet eller från ett remissionsprov. Efter genpanel- och bioinformatisk analys filtreras de fynd fram som är av klinisk betydelse enligt utarbetade rutiner vid deltagande laboratorier och inkluderande (behandlande) läkare meddelas provsvaret. För hantering av eventuella oväntade bifynd, se separat rubrik nedan. Övrig information lagras i regionala databaser och överförs sedan till GMS Nationella

Genomikplattform (NGP) som är under uppbyggnad (se delprojekt 3) för att besvara nämnda vetenskapliga frågeställningar. Kliniska variabler och behandlingsresultat tas från de åtta nationella hematologiska kvalitetsregister som ingår i Blodcancerregistret. I vissa undergrupper kan det också bli aktuellt att använda andra sekvenseringsbaserade metoder (se delprojekt 2) eller mer riktade genetiska analyser vid diagnos eller uppföljning efter given behandling.

Delprojekt 2:

Syfte: Analysera hela genomet och hela transkriptomet vid akuta leukemier och andra myeloiska maligniteter (MDS, MPN och KML) för att undersöka om dessa mer omfattande analyser kan påvisa nya genetiska avvikelser i maligna celler och om dessa metoder i framtiden kan leda till förbättrad klinisk diagnostik och behandling av dessa blodcancersjukdomar.

Vetenskapliga frågeställningar: Kan en mer omfattande analys (WGS och WTS) av akuta leukemier och andra myeloiska maligniteter upptäcka helt nya genetiska förändringar av betydelse för uppkomsten av dessa sjukdomar? Kan dessa metoder i framtiden ersätta dagens genetiska diagnostik? Vilka hälsovinster och kostnader uppstår i så fall?

Arbetsplan: I detta delprojekt avser vi att använda en mer omfattande genetisk analys och undersöka om sekvensering av hela genomet på DNA- (WGS) och RNA-nivå (WTS) kan påvisa nya genetiska förändringar i de sjuka cellerna hos patienter med akuta leukemier eller övriga myeloiska maligniteter och om dessa metoder kan ersätta de metoder som idag används inom klinisk rutindiagnostik (t.ex. kromosomanalys, fluorescent in situ hybridisering, arrayanalyser, PCR-analyser mm). WGS kommer att utföras med relativt hög täckning (90x) av blodcancercellerna och 30x täckning av normal referensvävnad. Bioinformatiska analyser utförs för att påvisa punktmutationer, mindre och större strukturella varianter samt kopietalsförändringar som endast förekommer i de sjuka cellerna genom att jämföra med normalvävnad. WTS utförs med en täckning motsvarande 50 miljoner sekvensläsningar (read-pairs) per prov i syfte att undersöka om genfusioner föreligger och om genuttrycksmönster kan användas för att förbättra klassificeringen av undersökta sjukdomar. Delprojektet kommer initialt att fokusera på akuta leukemier men även andra myeloiska maligniteter (MDS, MPN och KML) kommer att inkluderas. Totalt avser vi att inkludera cirka 450 vuxna patienter som insjuknar i akut leukemi (ALL och AML). Vid misstanke om AML eller ALL eller annan myeloisk malignitet, tas efter det att informerat samtycke har erhållits (se bilagd patientinformation), som led i rutinemässig provtagning benmärgsprov eller blodprov. Detta vävnadsmaterial används dels för rutinemässig genetisk/hematopatologisk diagnostik, dels för extraktion av DNA och RNA från tumörceller inom ramen för studien. För att säkert kunna avgöra att funna genetiska avvikelser endast föreligger i de sjuka blodcancercellerna kommer normalvävnad att tas. Beroende på diagnos kommer prov från huden (hudbiopsi) efter bedövning att tas alternativt kommer skrap från munslemhinnan eller insamling av hår, naglar eller friska blodceller (remissionsprov) att användas som normal vävnad. Efter sekvensering och bioinformatisk analys filtreras de fynd som är av klinisk betydelse fram enligt utarbetade rutiner vid deltagande laboratorier och inkluderande (behandlande) läkare meddelas provsvaret. För hantering av eventuella oväntade bifynd, se separat rubrik nedan. Erhållna datamängder lagras i regionala databaser och överförs sedan till GMS Nationella Genomikplattform (NGP) som är under uppbyggnad (se delprojekt 3) för att besvara nämnda vetenskapliga frågeställningar. Kliniska variabler och behandlingsresultat tas från de åtta nationella hematologiska kvalitetsregister som ingår i Blodcancerregistret.

Vi kommer även att göra en hälsoekonomisk utvärdering av WGS/WTS jämfört med dagens genetiska diagnostik, med syftet att studera vilka hälsovinster och kostnader som uppstår vid introducering av helgenom/transkriptom inom klinisk rutindiagnostik. För

hälsoekonomisk utvärdering kommer Socialstyrelsens patientregister (PAR SV, PAR OV) samt läkemedelsregistret (LMED) att användas efter att tillstånd inhämtats.

Delprojekt 3:

Syfte: Bygga upp en nationell databas inom Genomic Medicine Sweden (GMS Nationella Genomikplattform) där erhållna datamängder samlas för att möjliggöra populationsbaserade studier i syfte att bättre förstå varför blodcancersjukdomar uppstår och hur framtida diagnostik och behandling kan förbättras

Vetenskapliga frågeställningar: Kan harmoniserade genetiska analyser av blodcancersjukdomar på nationell nivå, tillsammans med strukturerad lagring och delning av data, leda till förbättrad kunskap om varför leukemi uppstår? Kan man genom nationella och populationsbaserade analyser bättre förstå den kliniska betydelsen av funna genetiska förändringar? Kan man genom dessa nationellt harmoniserade analyser underlätta inklusion i kliniska behandlingsstudier?

Arbetsplan: För att möjliggöra populationsbaserade studier kommer resultat från analyserna i delprojekt 1 och 2 initialt att lagras och analyseras regionalt och sedan överförs till GMS Nationella Genomikplattform (NGP) som byggs upp inom GMS. Inom projektet kommer informerat samtycke att inhämtas från deltagarna för att erhållna sekvensdata skall kunna delas för forsknings- och utvecklingsändamål (se bilagd patientinformation). Samtliga deltagande parter har säkra beräknings- och lagringslösningar som uppfyller uppsatta krav med s.k. begränsad tillgång (restricted access). Inom NGP kommer även en variantdatabas att byggas upp som möjliggör visualisering av somatiskt förvärvade varianter på populationsnivå. I samverkan med nationella kvalitetsregister för blodcancersjukdomar (Blodcancerregistret) kommer vi att undersöka om enskilda genetiska förändringar eller en kombination av dessa är kopplade till kliniska parametrar såsom ålder, kön, klinisk diagnos, överlevnad, risk för återfall och behandlingsresultat (se vetenskapliga frågeställningar). Vidare tas lösningar fram som möjliggör säker delning av erhållna data med olika internationella initiativ som bedriver forskning inom blodcancersjukdomar under förutsättning att dessa initiativ uppfyller uppställda krav på datasäkerhet. Genom de nationellt harmoniserade analyserna som byggs upp i delprojekt 1 och 2, kopplat med standardisering av lagring av erhållna data är avsikten också att öka möjligheten för patienter med blodcancersjukdomar att delta i kliniska studier som bedrivs i samverkan med GMS.

Hantering av bifynd

Det primära syftet med den aktuella studien är att identifiera genetiska varianter i blodcancer celler, s.k. förvärvade (somatiska) varianter för att öka vår kunskap om varför dessa sjukdomar uppkommer och för att på sikt möjliggöra förbättrad behandling och överlevnad för dessa patienter. Förvärvade varianter skall skiljas från s.k. konstitutionella (medfödda) varianter som föreligger i kroppens alla celler och som kan medföra en ökad risk för att utveckla en ärftlig sjukdom och att släktingar är bärare av samma varianter. Då även normalvävnad används som jämförelsematerial inom forskningsprojektet kan varianter i gener som medför ärftlig benägenhet för en sjukdom påträffas som bifynd. Bifynden kan indelas i två huvudsakliga grupper: 1) Medfödda varianter av betydelse för utvecklingen av blodcancersjukdom samt 2) Medfödda varianter av betydelse för annan ärftlig sjukdom än blodcancersjukdom.

I delprojekt 1 analyseras blodcancer cellerna med genpanelanalyser där 200-500 gener undersöks som tidigare har beskrivits vara förändrade vid blodcancersjukdomar. Ett 20-tal av

de gener som undersöks med aktuella genpaneler kan vara förändrade både i tumörcellerna (förvärvad variant) och samtidigt ha nedärvts från någon av föräldrarna (nedärvd variant). Vid dessa fall föreligger förändringen sålunda i båda anlagen. Även i de fall man vid en genpanelanalys finner att en variant i ett anlag föreligger i ca 50% av cellerna eller om ett särskilt mönster av varianter föreligger kan detta inge stark misstanke om att en ärftlig benägenhet för blodcancersjukdom föreligger. Om en ärftlig variant för blodcancersjukdom påvisas eller om misstanke därom föreligger så kommer behandlande läkare att informeras, kompletterande analyser att utföras inom rutinsjukvård och fynden meddelas patienten. Genetisk vägledning kommer då att erbjudas genom remiss till klinisk genetisk verksamhet inom sjukvården då nära släktingar kan vara bärare av samma genetiska förändring som kan medföra en ökad risk för att insjukna i blodcancersjukdom. Detta utgör ett rutinförfarande vid redan etablerade genetiska analyser inom sjukvården och ett flertal av de som medverkar i det aktuella forskningsprojektet är specialister i klinisk genetik med mångårig erfarenhet av att erbjuda genetisk vägledning.

I delprojekt 2 kommer patienter som insjuknar i akut leukemi (AML och ALL) samt andra myeloiska maligniteter (MDS, MPN och KML) även att erbjudas att delta i en mer omfattande analys med sekvensering av hela genomet (WGS). Även vid dessa analyser kommer förändringar att eftersökas som endast föreligger i de sjuka cellerna, men då normalmaterial används som jämförelsematerial finns en risk att man som oväntat fynd påträffar medfödda varianter av betydelse för ärftliga sjukdomar. Som framgår ovan kan bifynden indelas i två grupper: 1) Medfödda varianter av betydelse för blodcancersjukdom, vilka handläggs som i delprojekt 1 enligt ovan samt 2) Medfödda varianter av betydelse för ärftlig sjukdom annan än blodcancersjukdom. Avseende den senare gruppen (grupp 2) finns det idag >4 000 gener där varianter är beskrivna som leder till en fenotyp inkluderande en rad olika ärftliga sjukdomstillstånd som inte är relevanta för den aktuella studien (t.ex. ärftlig bröstcancer, neurologisk sjukdom mm). Inom projektet kommer sådana varianter inte att aktivt eftersökas. Skulle sådan variant ändå påträffas (bifynd) kommer patienten i samband med givande av informerat samtycke att ha möjlighet att ta del av eller avböja att erhålla denna information (s.k. opt-in eller opt-out förfarande; se patientinformation). Om patienten önskar ta del av denna information, kommer behandlande läkare att meddelas och genetisk vägledning att erbjudas.

Betydelse

Genom att utveckla nationellt harmoniserade NGS-baserade analyser som möjliggör populationsbaserade undersökningar av patienter som insjuknar i blodcancersjukdomar kommer vår kunskap om varför dessa sjukdomar uppstår att öka samtidigt som detta på sikt förhoppningsvis kommer att leda till förbättrad diagnostik, prognosbedömning, uppföljning och behandling för dessa patienter. Genom att data samlas i GMS Nationella Genomikplattform ger projektet även unika möjligheter för framtida forskning inom blodcancersjukdomar.

Preliminära resultat

Arbetsutskottet GMS-hematologi och deltagande regionala centra (Lund, Göteborg, Linköping, Örebro, Stockholm, Uppsala och Umeå) har inom delprojekt 1 utvecklat en genpanel för myeloiska maligniteter (GMS-Myeloid 1.0). Preliminära resultat visar en god täckning över samtliga gener i panelen, att varianter som kan vara svåra att upptäcka (t.ex. inom generna *FLT3* och *CEBPA*) kan påvisas och att känsligheten att upptäcka varianter i

mindre kloner är god (2-3%). Genpanelen gör det också möjligt att påvisa s.k. kopietalsinformation, dvs överskott eller förlust av genetiskt material, vilket är förändringar som är viktiga att påvisa inom olika blodcancersjukdomar. För närvarande pågår arbete att utveckla en motsvarande panel för lymfatiska maligniteter. Inom delprojekt 2, har ett fåtal pilotprover analyserats med WGS och WTS. Preliminära resultat visar en god täckning över hela genomet, att varianter som påvisats med genpaneler även detekteras med WGS och att kopietalsinformation erhålls med mycket god upplösning. Preliminära resultat från WTS visar att kliniskt relevanta fusionsgener kan påvisas. För samtliga nämnda analyser har bioinformatiska metoder utvecklats för analys och tolkning av erhållna data. Inom GMS pågår f.n. arbete med att nationellt harmonisera såväl de laborativa som de bioinformatiska analyserna. Inom delprojekt 3 pågår inom GMS uppbyggnaden av NGP som i första hand skall möjliggöra säker lagring, beräkning och delning av de datamängder som genereras inom delprojekt 1-2.

Referenser

Baliakas P, Tesi B, Wartiovaara-Kautto U, Stray-Pedersen AR, Friis LS, Dybedal I, Hovland R, Jahnukainen K, Raaschou-Jensen K, Ljungman P, Rustad CF, Lautrup CK, Kilpivaara O, Kittang AO, Gr Nbæk K, Cammenga J, Hellström-Lindberg E, Andersen MK. Nordic Guidelines for Germline Predisposition to Myeloid Neoplasms in Adults: Recommendations for Genetic Diagnosis, Clinical Management and Follow-up. *Hemasphere*. 2019 Nov 4;3(6):e321. doi: 10.1097/HS9.0000000000000321.

Bower H, Björkholm M, Dickman PW, Höglund M, Lambert PC, Andersson TM. Life Expectancy of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Approaches the Life Expectancy of the General Population. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 20;34(24):2851-7. doi: 10.1200/JCO.2015.66.2866.

Flach J, Shumilov E, Joncourt R, Porret N, Novak U, Pabst T, Bacher U. Current concepts and future directions for hemato-oncologic diagnostics. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2020 Jul;151:102977. doi: 10.1016/j.critrevonc.2020.102977.

Furutani E, Shimamura A. Germline Genetic Predisposition to Hematologic Malignancy. *J Clin Oncol*. 2017 Mar 20;35(9):1018-1028. doi: 10.1200/JCO.2016.70.8644. Epub 2017 Feb 13.

Haferlach T. Advancing leukemia diagnostics: Role of Next Generation Sequencing (NGS) in acute myeloid leukemia. *Hematol Rep*. 2020 Sep 21;12(Suppl 1):8957. doi: 10.4081/hr.2020.8957.

Kamps R, Brandão RD, Bosch BJ, Paulussen AD, Xanthoulea S, Blok MJ, Romano A. Next-Generation Sequencing in Oncology: Genetic Diagnosis, Risk Prediction and Cancer Classification. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 31;18(2):308. doi: 10.3390/ijms18020308.

Matsukawa T, Aplan PD. Clinical and molecular consequences of fusion genes in myeloid malignancies. *Stem Cells*. 2020 Nov;38(11):1366-1374. doi: 10.1002/stem.3263.

Mertens F, Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. The emerging complexity of gene fusions in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jun;15(6):371-81. doi: 10.1038/nrc3947.

Swerdlow SH CE, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised Fourth Edition: 2017.

Winer ES, Stone RM. Novel therapy in Acute myeloid leukemia (AML): moving toward targeted approaches. *Ther Adv Hematol*. 2019 Jul 10;10:2040620719860645. doi: 10.1177/2040620719860645.