

**Genexpressionsprofile
zur Risikoabschätzung
und Prädiktion des
Therapieansprechens
beim Mammakarzinom**

3. Genexpressionsprofile zur Risikoabschätzung und Prädiktion des Therapieansprechens beim Mammakarzinom

Die Brustkrebsforschung der letzten Jahrzehnte hat gezeigt, dass es sich bei diesem häufigsten Karzinom der Frau, nicht um eine einzelne, immer gleich verlaufende Erkrankung handelt. Vielmehr geht man davon aus, dass Brustkrebs eine sehr heterogene Erkrankung ist und das Krankheitsbild verschiedene Subtypen umfasst. Diese Heterogenität ist von großer Bedeutung für die angestrebte individualisierte Medizin, da sich die Subtypen des Brustkrebses sowohl hinsichtlich ihrer Prognose als auch ihres Therapieansprechens unterscheiden.

3.1. Molekulare Subtypen des Mammakarzinoms

Verschiedene histologisch unterscheidbare Subtypen des Mammakarzinoms sind der Pathologie schon lange bekannt und werden in die Diagnostik routinemäßig mit einbezogen [1]. Als zur Jahrtausendwende die Microarray-Technologie zur Bestimmung des gesamten zellulären Genexpressionsprofils Einzug in die Labore hielt, wurden auch sogenannte "intrinsische", molekulare Subtypen des Mammakarzinoms definiert [2]. Unterschieden wurde hier zwischen dem "Basal-like" Subtyp, dem "HER2-like" Subtyp und den beiden "Luminal A" und "Luminal B" Subtypen. Diese molekularen Subtypen zeigten Unterschiede in ihrer Prognose und dem Ansprechen auf medikamentöse Therapien [3]. So weist z.B. der Basal-like Brustkrebs eine schlechte Prognose auf [4], zeigt jedoch ein relativ gutes Ansprechen auf Chemotherapie [5–7]. In der folgenden Zeit wurde ver-

sucht, die durch Microarray-Analysen definierten Subtypen durch weniger aufwendige Techniken nachzuweisen, um sie einfacher im klinischen Alltag detektieren zu können. Verwendung fanden hierbei der Einsatz von RT-PCR-Methoden [8,9] oder Panels von immunhistochemischen Markern [10–12]. Vergleicht man die molekularbiologisch bestimmten Subtypen mit der Einteilung aufgrund der bereits aus der pathologischen Begutachtung verfügbaren Parameter wie Hormonrezeptor- und HER2-Status sowie histologisches Grading oder Ki-67, so zeigt sich, dass tripel-negative Karzinome ein gutes Surrogat für den basal-like Subtyp darstellen können. Weiterhin repräsentieren HER2-positive Karzinome gut den HER2-like Subtyp. Mammakarzinome der "luminalen" Subtypen sind im Allgemeinen Östrogen-Rezeptor (ER)-positiv, wobei die Unterscheidung von Luminal A und Luminal B am schwierigsten zu definieren ist. Vorgeschlagen wurde als mögliche einfache Definition z.B. die Gleichsetzung von Luminal B mit ER-positiven high grade (G3) Tumoren sowie ER+/HER2+ doppelt positiven Karzinomen [3,13,14] sowie die weitere Hinzunahme des Progesteron-Rezeptors (PgR) [15] (Tab. 3.1). Allerdings liegt die Übereinstimmung dieser Surrogat-Einteilungen mit den durch Genexpressionsprofile bestimmten Subtypen im Allgemeinen nur im Bereich von 75 % [16]. Auf der anderen Seite ist jedoch anzumerken, dass auch die ursprüngliche Definition der molekularen Subtypen selbst aufgrund von Expressionsprofilen mit großen Unsi-

Molekularer Subtyp	Basal-like	HER2-like	Luminal A	Luminal B
ER-positiv	0-19 %	25-59 %	91-100 %	91-100 %
PR-positiv	6-13 %	25-30 %	70-74 %	41-53 %
HER2-positiv	9-13 %	66-71 %	8-11 %	15-24 %
Ki-67	high	high	low	high
Grade G3	88-93 %	55-89 %	13-30 %	41-62 %
Prognose	schlecht	schlecht	gut	mittel/schlecht
Chemotherapie-Benefit	hoch	mittel	niedrig	mittel

Tab. 3.1: Molekulare Subtypen und immunhistochemische Marker (abgewandelt nach [16]).

cherheiten behaftet ist, wie verschiedene Arbeiten gezeigt haben [17-19].

Zusätzlich zu den oben genannten wurden noch weitere Subtypen beschrieben, die jedoch durch dieses einfache System nicht bestimmbar sind. Dazu gehört zum einen der *Normal-like* Subtyp, für den jedoch nicht klar ist, inwieweit er artifiziell aufgrund des Anteils von gesundem Gewebe in der Tumorprobe auftreten kann. Zum anderen wurden noch zwei weitere Subtypen des tripel-negativen Mammakarzinoms entdeckt, nämlich der *molecular-apocrine*- [20] und der *Claudin-Low*-Subtyp [21], die jedoch nur etwa ein Drittel der tripel-negativen Karzinome repräsentieren [22].

Eine mögliche biologische Erklärung für das Auftreten der verschiedenen Brustkrebssubtypen lässt sich aus dem Stammzell-Konzept der Entwicklung der weiblichen Brustdrüse ableiten. Es wird dabei angenommen, dass die maligne Transformation an verschiedenen Punkten der Reifung von Vorläuferzellen (Progenitorzellen) auftreten kann [23]. Die speziellen Differenzierungseigenschaften der entsprechenden *cell of origin* werden dabei quasi eingefroren und spiegeln sich im Tumorsubtyp, seinen intrinsischen Eigenschaften und damit auch in Prognose und therapeutischen Ansatzmöglichkeiten wider [24].

3.2. Gezielte Entwicklung von Gensignaturen

Die oben genannten intrinsischen molekularen Subtypen des Mammakarzinoms wurden a priori durch *“unsupervised”* Methoden identifiziert. Das Ziel solcher Methoden ist, zunächst zu definieren, welche immanenten Subklassen einer Erkrankung unterschieden werden können, unabhängig von einem möglichen prognostischen Zusammenhang. Erst im anschließenden Vergleich der dabei identifizierten Gruppen mit den klinischen Parametern wurde die prognostische Bedeutung der intrinsischen molekularen Subtypen beobachtet. Ein solcher *“unsupervised”* Ansatz zur Analyse von Genexpressionsprofilen wurde auch in anderen Arbeiten erfolgreich beim Mammakarzinom eingesetzt [25]. Ein ganz unterschiedliches Vorgehen wird dagegen in *“supervised”* Analysen verfolgt. Hier werden Gewebeproben zu Beginn aufgrund der Unterschiede im Krankheitsverlauf der Patientinnen oder z.B. ihrem Ansprechen auf eine therapeutische Intervention eingeteilt. Daraufhin wird dann versucht, durch bioinformatische Methoden eine Gensignatur aus dem gesamten Genexpressionsprofil zu bestimmen, die sich als Prädiktor für die Prognose der Patientin oder das therapeutische Ansprechen eignen könnte [26]. Eine solche supervised Analyse führte zur Identifikation der *“70-Gen-Signatur”* durch Arbeitsgruppen des niederländischen Krebsinstituts in Amsterdam [27,28], auf der der MammaPrint®-Test beruht. Hierbei wurden durch Microarray-Analyse bestimmte Genexpressionsprofile von 78 nodal-negativen Patientinnen mit Mammakarzinomen, die keine adjuvante Therapie erhalten hatten, verwendet, und zwei Gruppen von Patientinnen verglichen: Solche mit einem Rezidiv innerhalb von 5 Jahren und solche mit einem Rezidiv-freien Intervall von mindestens 5 Jahren [27]. Durch ein ähnliches Vorgehen wurde auch die Rotterdam-76-Gen-Signatur identifiziert [29,30]. Ebenfalls durch eine supervised Analyse-Strategie von Microarray-Daten wurde die *“Genomic Grade”* Signatur entwickelt. Wobei hier als Stratifizierungsparameter nicht der Krankheitsverlauf der Patientinnen Verwendung fand, sondern das histologische *Grading* von einer Kohorte von Tumoren, die vom Pathologen entweder als G1 oder als G3 kategorisiert worden waren [31]. Ein äußerst kritischer Punkt, der beim Einsatz von supervised Methoden unbedingt zu beachten ist, besteht im Problem des multiplen Testens, das zur Inflation des Signifikanzniveaus führt [32]. Trotz der Verwendung entsprechender statistischer Methoden wie der Kontrolle der *False Discovery Rate*, ist daher die Validierung von identifizierten Signaturen an unabhängigen Kohorten zwingend notwendig, um das Maß des *“Overfittings”* der Methode zu bestimmen [33]. Um dieses Problem zu einem gewissen Grade zu reduzieren, bietet sich der *“Kandidaten-Gen-Ansatz”* an. Er wurde z.B. bei der Entwicklung des Recurrence Score® (RS) verwendet. Ausgangspunkt war hier ein mittels qPCR an Paraffinmaterial bestimmtes Expressionsprofil von 250 Kandidatengenen, die aufgrund von Literatur, Studiendaten und publizierten Microarray-Analysen ausgewählt wurden [34,35]. Nur diese relativ geringe Zahl an Markern (Genen) wurde für die Findungsanalyse in einer Kohorte von 447 Patientinnen eingesetzt. Aufgrund des Zusammenhangs mit dem Auftreten von Rezidiven wurden 16 Gene ausgewählt und ein prognostischer Algorith-

mus entwickelt, der weitere 5 Referenz-Gene einschloss. Dieser prospektiv-entwickelte Algorithmus wurde dann an einer unabhängigen retrospektiven Kohorte (NASBP-B14) validiert [35]. Ein ähnliches Vorgehen wurde auch für die Entwicklung des EndoPredict®-Tests angewandt [36].

3.3. Prognostische Multigen-tests

Im Folgenden sollen einige Gensignaturen und daraus entwickelte Multigentest kurz vorgestellt und verglichen werden. Meist liegt die primäre Bedeutung der Tests vor allem in der Abschätzung der Prognose der Patientin, auch wenn spätere Überprüfungen z.T. eine prädiktive Wertigkeit der Signaturen für das Therapieansprechen aufgezeigt haben. Weiterhin fällt auf, dass sich viele der Gensignaturen in ihrem prognostischen Wert gleichen und sich auch die Einteilung der Patientinnen stark überschneidet, selbst wenn keine Überlapung zwischen den untersuchten Gene besteht [26]. Nachfolgende Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ursache dieser Redundanz größtenteils darin liegt, dass die meisten prognostischen Gensignaturen vor allem die Proliferation des Tumors bestimmen [37]. Diese ist wiederum mit einer Vielzahl unterschiedlicher Marker korreliert, die letztendlich vergleichbare Informationen liefern. Die größte Rolle spielt die Proliferation dabei für die Unterschiede in der Prognose von ER-positiven Mammakarzinomen (Luminal A und Luminal B), wohingegen tripel-negative (TNBC) und HER2-positive Karzinome meist generell durch einer höhere proliferative Aktivität gekennzeichnet sind. Daher werden Tumoren dieser letzteren beiden Gruppen (TNBC, HER2-positiv) auch von fast allen Gensignaturen größtenteils einer schlechten Prognose zugeordnet. Der große Einfluss der Proliferation kann weiterhin dazu beitragen, dass gerade jene Patientinnen mit einem ungünstigen Testergebnis von der adjuvanten Chemotherapie profitierten und die prognostischen Tests dadurch eine gewisse prädiktive Wertigkeit besitzen [38-40].

■ MammaPrint® Assay / 70-Gen-Signatur

Der MammaPrint® Assay der Firma Agendia basiert auf der Entwicklungsarbeit von Rosetta Pharmaceuticals Inc. und dem Niederländischen Krebsinstitut (NKI) [27]. Wie oben bereits angespro-

chen, wurden in diesen Untersuchungen Microarray-Analysen von 78 Tumoren prämenopausaler, nodal-negativer Brustkrebspatientinnen durchgeführt. Die durch *supervised* Analyse entwickelte 70-Gen-Signatur wurde in einer zweiten Studie von 234 prämenopausalen Patientinnen ohne weitere adjuvante Therapie validiert [28], deren Wertalderdings durch den Einschluss der 78 Fälle der Findungskohorte eingeschränkt wird. Weitere Studien konnten die prognostische Wertigkeit der Gensignatur auch für andere Gruppen (z.B. postmenopausale Patientinnen, neoadjuvante Therapie) bestätigen [40,42,43]. Der aufgrund dieser Signatur von Agendia entwickelte kommerzielle MammaPrint® Assay verwendet zudem zur Standardisierung die mRNA-Expression von insgesamt 1900 Genen. Bis vor Kurzem konnte der MammaPrint® Assay nur an Frischgewebe durchgeführt werden und der Versand der Proben war nur durch ein spezielles Transport-Medium (RNA*Retain*™, Asuragen Inc., Austin, TX) möglich. Seit 2012 ist die Durchführung des MammaPrint® Assays auch mit Paraffin-Material möglich und wird gemeinsam mit weiteren Tests zur molekularen Subtypisierung (Blueprint®, TargetPrint®, TheraPrint®) angeboten (s.u.). Zur abschließenden Evaluation der klinischen Wertigkeit des Tests wurde die prospektive MINDACT-Studie, deren Rekrutierung 2011 abgeschlossen wurde, durchgeführt. In ihrem Rahmen soll die Wertigkeit von MammaPrint® im Vergleich zu den üblichen klinischen Variablen bei Patientinnen mit 0-3 befallenen Lymphknoten untersucht werden [44]. Zwei weitere prospektive klinische Studien, bei denen MammaPrint® eingesetzt wird, sind die neoadjuvanten I-SPY1- und I-SPY2-Trials [45, 46].

■ Oncotype DX®

Einer der ersten und gleichzeitig am besten untersuchten prognostischen Multigen-Tests ist der Oncotype DX® Assay. Mithilfe einer quantitativen PCR wird das Expressionsprofil anhand der RNA, die aus dem Paraffinblock des Primärtumors isoliert wird, mittels fünf Referenzgenen und 16 weitere Gene bestimmt, die durch ihren Zusammenhang mit Angiogenese, Proliferation, Invasion und Metastasierung eine prognostische Bedeutung für das Auftreten eines Brustkrebsrezidivs besitzen. Aufgrund eines speziell entwickelten Algorithmus entsprechend der Wertigkeit der einzelnen Fakto-

ren wird der sogenannte Recurrence Score® entwickelt, der sich am Risiko für eine Metastasierung innerhalb von 10 Jahren nach Erstdiagnose orientiert [35]. Dabei wurde ursprünglich eine *Low-Risk* Gruppe bei Werten unter 18, eine *Intermediate-Risk* Gruppe bei Werten von 18-30 und eine *High-Risk* Gruppe (>30) definiert. In einer Validierungsstudie konnte bei nodal-negativen Patientinnen gezeigt werden, dass die *High-Risk* Gruppe hinsichtlich ihrer Prognose von einer zusätzlichen Chemotherapie deutlich profitiert, während ein solcher Effekt in der *Low-Risk* Gruppe nur minimal ist [38]. Die Ergebnisse zur intermediären Risiko Gruppe sind jedoch noch unklar. Hier werden von der prospektiven Studie (*Trial Assigning Individualized Options for Treatment TAILORx*) erste Ergebnisse für 2014 erwartet. Albain et al. [47] konnten zudem für nodal-positive Karzinome zeigen, dass Patientinnen mit einem hohem Recurrence Score®, die eine CAF Chemotherapie erhielten, ein signifikant längeres krankheitsfreies Überleben aufwiesen, verglichen mit jenen, die eine alleinige Tamoxifen Therapie erhalten hatten. In der *Low-Risk* und *Intermediate-Risk* Gruppe hingegen, war dieser Vorteil nicht zu beobachten. In 2011 wurde der RxPONDER Trial (SWOG S1007) gestartet [48], in welchem Oncotype DX® bei nodal-positiven Patientinnen eingesetzt wird und auch ein Vergleich mit dem PAM50 Assay (s.u.) erfolgt. Bei neoadjuvant behandelten Patienten zeigt sich ein positiver Zusammenhang zwischen Recurrence Score® und der Rate an pathologischen Komplettremissionen [39]. Analysen zur Reproduzierbarkeit des Testergebnisses demonstrieren, dass die Heterogenität des Tumors bei ein und derselben Patientin nur geringe Auswirkungen auf den Recurrence Score® besitzt [49]. Durch den Einsatz von Oncotype DX® scheint in bis zu 18 % der Fälle auf eine Chemotherapie verzichtet werden zu können [50, 51]. Auch im Rahmen der prospektiven, randomisierten Plan B Studie wurde demonstriert, dass anhand eines konservativen Recurrence Score® Schwellenwertes von 11 ca. 20 % der Patientinnen eine Chemotherapie erspart werden konnte [52]. Vergleiche von PAM50 und Oncotype DX® wiesen darauf hin, dass die *Low-Risk* Gruppe vor allem Luminal-A Tumoren enthält [53]. Die Korrelationsanalyse aus der Plan B Studie zeigt jedoch, dass die *Low-Risk* Subgruppe, nur aus ca. 2/3 der Luminal A Tumoren (basierend auf einer immun-

histochemischen Definition u.a. mittels Ki-67) besteht [52]. Obwohl es sich weiterhin in den meisten Fällen mit hohem Recurrence Score® um G3 Tumoren handelt, sind doch bis zu 70 % aller histologisch als G3 eingestuften Karzinome nicht in der Gruppe mit hohem Recurrence Score®. Der klinische Stellenwert der Diskordanzen zwischen molekularen Subtypen, Recurrence Score® und klassischen Prognosefaktoren soll im Rahmen weiterer Studien geklärt werden. Als ein zusätzlicher Vorteil des Oncotype DX®-Assays wird die Bestimmung von ER, PgR und HER2 anhand der mRNA diskutiert. Für den Vergleich von ER- und PgR-Bestimmung durch Immunhistochemie (leitlinienbasiert) und der mRNA-Messung durch Oncotype DX® zeigten sich gute Konkordanzraten [54,55], bezüglich der HER2-Bestimmung bestanden jedoch beträchtliche Diskrepanzen [56,57].

■ Intrinsische Subtypen und IHC4 Score

Obwohl wie bereits einleitend angesprochen die durch Genexpressionsprofile bestimmten intrinsischen Subtypen nicht direkt auf die Standardparameter ER, PgR, und HER2 übertragbar sind, so lassen sie sich doch mit Hilfe dieser Marker und zusätzlichem Grading bzw. einem Proliferationsmarker wie Ki-67 in gewisser Weise reproduzieren. Dieses Vorgehen wurde so auch in den St. Gallen-Empfehlungen vorgeschlagen und entsprechende therapeutische Konsequenzen abgeleitet [14]. Aufgrund der drei Rezeptoren und Ki-67 lässt sich ein immunhistochemischer Score (IHC4) erstellen. Die prognostische Wertigkeit des IHC4 Score zeigte bei einem Sub-Kollektiv von 1125 Patientinnen mit ER-positivem Brustkrebs in der ATAC-Studie (Tamoxifen vs. Anastrozol), die keine zusätzliche Chemotherapie erhalten hatten, vergleichbare Ergebnisse wie der Oncotype DX® Test [58].

■ Intrinsische Subtypen aufgrund des PAM50 Assays

Der PAM50 Assay erlaubt eine Unterscheidung der vier intrinsischen Subtypen durch eine quantitative PCR, die an RNA aus Paraffingewebe isoliert, durchgeführt wird [8,9]. Zudem wurde von NanoString Technologies Inc ein PAM50 Assay für das nCounter® Analyse System [59] unter der Bezeichnung Prosigna™ entwickelt. PAM50 beruht auf den in den ursprünglichen Arbeiten von Perou und Sorlie beschriebenen knapp 2000 “intrinsic

genes”, die auf 50 Markergene reduziert wurden. Zusätzlich wird mit dem PAM50 Assay nach einem speziell entwickelten Algorithmus ein *risk of recurrence Score* (ROR) berechnet [8]. In einer auf dem San Antonio Breast Cancer Symposium 2011 vorgestellten Analyse im Rahmen der TransATAC Studie war der ROR Score dem IHC4 Score zumindest gleichwertig und dem Oncotype DX® in prognostischer Hinsicht zum Teil überlegen [60]. Speziell ordnete der ROR Score hier eine kleinere Zahl von Patienten der intermediären Risikogruppe zu. Bei einer auf dem IMPAKT Meeting 2012 vorgestellten Analyse aus der GEICAM 9906 Studie zeigte sich, dass die immunhistochemische Definition des molekularen Subtyps und der quantitative IHC4-Score eine vergleichbare prognostische Aussagekraft hatten, während die Definition anhand von PAM50 einen signifikant höheren prognostischen Wert aufwies [61].

■ **Intrinsische Subtypen durch BluePrint®**

Auch von Agendia, dem Anbieter des MammaPrint® Assays, wird seit 2010 ein Test angeboten, der es erlauben soll, die intrinsischen Subtypen zu bestimmen. Der als BluePrint® bezeichnete Assay verwendet 80 Gene und definiert die drei Gruppen Basal-like, HER2, und Luminal [62]. Die erweiterte Unterscheidung zwischen dem Luminal A und Luminal B Subtyp kann durch zusätzliche Anwendung des MammaPrint® Assays ermittelt werden. In drei Studien mit insgesamt über 1200 Patientinnen, die auf dem San Antonio Breast Cancer Symposium 2012 präsentiert wurden [63-65], zeigten sich Übereinstimmungen zwischen Immunhistochemie von ER/PgR/HER2 und BluePrint® für 85-96 % der Luminal Tumoren sowie 80-98 % der TNBC/Basal-Like Tumoren, aber nur 39-58 % der HER2-positiven Subgruppe.

■ **BCI (“two gene ratio”) und Genomic Grade Index**

Der *Genomic Grade Index* wurde wie oben beschrieben zur Verbesserung des histologischen *Gratings*, speziell der besseren Klassifizierung der intermediären Gruppe der G2 Tumore entwickelt [31]. In mehreren Untersuchungen wurde seine prognostische Wertigkeit vor allem bei ER-positiven Karzinomen sowie auch seine prädiktive Bedeutung für das Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie bestätigt [66,67]. Der GGI basiert auf 97 Genen, deren Expression hauptsäch-

lich mit der Proliferation assoziiert ist, und erlaubt daher auch die prognostisch wichtige Unterscheidung zwischen Luminal A und Luminal B Tumoren. Während der Test ursprünglich durch Affymetrix Profiling an Frischgewebe durchgeführt wurde, existierten auch Ansätze, die eine Bestimmung über qPCR auch am Paraffinblock ermöglichen. In Europa war der Test unter dem Namen MapQuantDx™ Genomic Grade der Firma Ipsogen erhältlich. Der Test wurde jedoch zwischenzeitlich auf 5 Gene reduziert und mit dem “two-gene expression ratio” Assay zum Breast Cancer Index® (BCI; bioTheranostics Inc. San Diego) vereinigt [68]. Der “two-gene expression ratio” Assay ist ein auf quantitativer PCR basierender Assay, der das Verhältnis der Expression der beiden Genen HOXB13 und IL17BR zueinander bestimmt. Auch er ist als Marker für das Rezidivrisiko von ER-positiven nodal-negativen Mammakarzinomen beschrieben [69] und konnte in mit Tamoxifen behandelten Kollektiven bestätigt werden [70-72].

■ **EndoPredict®**

Der EndoPredict® ist ein Test, der ebenfalls auf einer quantitativen PCR an Paraffinmaterial des Tumors beruht. Er wird von der Firma Sividon angeboten und misst und verrechnet die Expression von acht Krebs-assoziierten Genen sowie drei Referenzgenen. Die Gene wurden aufgrund von Microarray-Daten selektiert und der Algorithmus an PCR-Messungen weiterer Proben entwickelt. Anschließend wurde der Test an 1702 Patientinnen der ABCSG-6 und ABCSG-8 Studien validiert [36,73]. Der Test kombiniert die Daten aus der RNA-Analyse mit den klinischen Daten zum Nodalstatus und Tumorgroße im sogenannten EPclin Score. Damit nimmt er eine gewisse Sonderstellung unter den anderen angesprochenen Assays ein. Die Analyse erfolgt dezentral in molekularbiologisch arbeitenden Laboren, die für den Test zertifiziert wurden [74].

■ **Mammostrat®**

Der Mammostrat® Test untersucht fünf Marker (p53, HTF9C, CEACAM5, NDRG1 and SLC7A5) immunhistochemisch am Paraffingewebe. Aus den Färberegebnissen wird ein prognostischer Score (3 Gruppen) berechnet [75]. An ER-positiven Mammakarzinomen der NSABP B14 und B20 Studie zeigte der Score eine prognostische

Wertigkeit [76]. Der Test wurde weiterhin auch mit dem Oncotype DX® verglichen [77].

3.4. Prädiktive Gensignaturen für das Ansprechen auf Chemo- oder Hormontherapie

Zur Prädiktion des Ansprechens auf neoadjuvante Chemotherapie bei Brustkrebs wurden bereits eine ganze Reihe von Gensignaturen ermittelt und publiziert [5,6,78-81]. Einige dieser Signaturen ließen sich auch in unabhängigen Kollektiven validieren [82], jedoch ist ihre Bedeutung im Allgemeinen auf die Anwendung in ER-positiven oder in gemischten Kollektiven beschränkt. Bei tripel-negativem Brustkrebs (TNBC) zeigt leider keine einzige der bisherigen publizierten Gensignaturen eine Prädiktion des Ansprechens auf neoadjuvante Chemotherapie [83]. Auch neue spezifische prognostische Signaturen für TNBC [22] sind in dieser prädiktiven Hinsicht für eine klinische Entscheidungsfindung leider noch nicht geeignet [84]. Wie oben bereits genannt, zeigen einige der eigentlich prognostischen Signaturen auch eine gewisse prädiktive Relevanz. So weisen z.B. sowohl PAM50 [85,85] als auch Oncotype DX® bezüglich adjuvanter [38,47] Chemotherapie sowie neoadjuvanter Chemotherapie [39] einen prädiktiven Wert auf. Der Einsatz von PAM50 nach einer neoadjuvanten endokrinen Therapie könnte weiterhin eine Bedeutung zur Detektion von Therapie-resistenten Zellen besitzen [86]. Für den Bereich der endokrinen Therapie wurden auch weitere spezielle Signaturen erfolgreich entwickelt. So basiert der "Sensitivity to endocrine therapy" (SET) Index auf der Annahme, dass die Aktivität ER-regulierter Gene aussagekräftiger hinsichtlich der Sensitivität gegenüber endokriner Therapie ist, als der ER-Status allein. Im SET-Index werden 165 durch Genexpressionsanalyse identifizierte Gene verrechnet, die mit der Expression von ER signifikant korrelierten. In der initialen Studie [87] wurden an einer Tamoxifen-behandelten Kohorte Schwellenwerte für drei Risikoklassen entwickelt und anschließend an einer unabhängigen zweiten Kohorte validiert. Durch den Vergleich mit Kohorten ohne adjuvante Behandlung konnte zudem gezeigt werden, dass der SET-Index den Benefit von einer Tamoxifen-Behandlung vorhersagt und nicht einen reinen prognostischen Faktor darstellt [87]. Die prädiktive Bedeutung des SET-Index und

seine Unabhängigkeit von anderen Signaturen konnte kürzlich auch in einer verblindeten Studie unabhängig validiert werden [88]. Durch Kombination des SET-Index mit weiteren Signaturen für das Ansprechen bzw. Nicht-Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie wurde zudem ein komplexer genomischer Prädiktor entwickelt, der es erlaubt, bereits vor der neoadjuvanten Therapie das spätere krankheitsfreie Überleben (DFS) von gleicher Güte vorherzusagen wie es eine pathologische Komplettremission (pCR) erlaubt [89].

3.5. Zukünftige Entwicklungen und "Second Generation" Signaturen

Im "IMPAKT 2012 Working Group Consensus Statement" zur klinischen Anwendung von prognostischen Multigen-Tests vertrat die Mehrheit der Autoren die Ansicht, dass analytische und klinische Validität von Oncotype DX® und MammaPrint® überzeugend sind, jedoch noch keiner der Assays eine robuste Evidenz bezüglich einer praktischen klinischen Relevanz besitzt, indem eine Änderung der Behandlung aufgrund eines Testergebnisses das klinische Outcome verbessert [90]. Die Autoren schlagen vor, Modelle zu entwickeln, die den Einfluss klinisch-pathologischer Prognosefaktoren [91] mit Expressions-Assays integrieren und den klinischen Nutzen in prospektiven Studien zu validieren. Zum Teil wurde für prognostische Signaturen beobachtet, dass sich ihre Aussagekraft in erster Linie auf Frührezidive bezieht [30], was durch entsprechende primäre Findungskollektive verursacht sein könnte. Allerdings zeigen aktuelle Analysen, dass auch Spätrezidive durch RNA-Expressionstests wie EndoPredict® oder BCI identifiziert werden können [72,92]. Auch die aktuellen Empfehlungen der AGO-Kommission Mamma (März 2014) nehmen zu kommerziell erhältlichen Multigen-Tests Stellung (☞ Tab. 3.2), wobei die neuen Ergebnisse zu späten Rezidiven Berücksichtigung fanden. Bezüglich der klinischen Bedeutung der Tests empfiehlt die Kommission eine mögliche Anwendung ausschließlich bei ausgewählten Patientinnen (☞ Tab. 3.3). Im Falle von ER-positiven Tamoxifen-behandelten Tumoren zeigen die meisten Tests eine hohe Konkordanz zueinander [93]. Den kommerziell verfügbaren Tests mit den entsprechenden Gensignaturen ist

	70-Gen-Signatur (MammaPrint®) [§]	21-Gen-Recurrence-Score (Oncotype DX®) [§]	8-Gen-Signatur (EndoPredict®) [§]	PAM 50 (Prosigna®) [§]
Hersteller	Agendia	Genomic Health	Sividon	Nano String
Assay-Typ	70-Gen-Assay	21-Gen-Recurrence-Score	11-Gen-Assay	50-Gen-Assay
Gewebetyp	Frischgewebe	FFPE	FFPE	FFPE
Technik	Microarrays für RNA	qRT-PCR	qRT-PCR	qRT-PCR
Zentrales Labor	ja	ja	nein	nein
Indikation und untersuchte Population	<ul style="list-style-type: none"> • prognostisch • N0-1, <61 Jahre 	<ul style="list-style-type: none"> • prognostisch • N0-1, ER+ • endokrin behandelt 	<ul style="list-style-type: none"> • prognostisch • (prä-)postmenopausal • N0-1, ER+HER2- • endokrin behandelt 	<ul style="list-style-type: none"> • prognostisch • postmenopausal • N0-1, ER+HER2- • endokrin behandelt
Klinische Validierung	ja	ja	ja	ja
Registrierung	FDA-Zulassung als "In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay (IVDMIA)"	Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) + College of American Pathologists (CAP)-accredited ref lab	CE-Zulassung	FDA 510(k)-Zulassung
Prognose nach 5 Jahren (Spätrezidive)	nicht separat gezeigt	nein	ja	ja
Prädiktive Aussage (Chemotherapie-Benefit)	gering untersucht	ja*	nicht gezeigt	nicht gezeigt
Prospektiv-retrospektive Evidenz (% rekrutierter Patienten)	Multicenter-Validierung	NSABP B-14 (14 %) NSABP B-20 (28 %) ECOG 2197 (16 %) SWOG 8814 (40 %) ATAC (30 %)	ABCSG 6 (19 %) ABCSG 8 (36 %)	MA.12 (59 %) MA.5 (66 %) ABCSG 8 (44 %) ATAC (16 %)
Prospektive Evidenz (ausstehend)	MINDACT (beendet)	TAILORX (N0, beendet) RxPONDER (N1, laufend)	-	-

Tab. 3.2: Vergleich kommerziell erhältlicher Multigen-Tests zur Prognose des Mammakarzinoms (Aktuelle Empfehlungen der AGO-Kommission Mamma vom 27.3.2014).

[§] Validierte klinische Daten nur für diesen Assay vorhanden.

* Studie durchgeführt vor HER2-Testung, HER2-positive Patienten können eingeschlossen worden sein.

Faktor	LoE2009	CTS	AGO
• 21-Gen-Recurrence-Score (Oncotype DX®) § (N0-1 ER+ HER2-, endokrin behandelt)			
- N0	I	B	+ *
- N1	II	B	+/-
• 8-Gensignatur (EndoPredict®) § (postmenopausal, N0-1 ER+ HER2-, endokrin behandelt)			
- N0	I	B	+ *
- N1	II	B	+/-
• 70-Gensignatur (MammaPrint®), N0-1			
• PAM 50 (Prosigna™) § (postmenopausal, N0-1 ER+ HER2-, endokrin behandelt)			
• IHC4 (zentrale Pathologie, publizierter Algorithmus) #			
	I	B	+/-

Tab. 3.3: Evidenzlevel zur klinische Bedeutung von Multigen-Tests nach den aktuellen Empfehlungen der AGO-Kommission Mamma (März 2014). * Sollte nur bei ausgewählten Patientinnen angewandt werden, wenn alle anderen Kriterien keine Therapieentscheidung zulassen. § Validierte klinische Daten nur verfügbar für diesen Assay. # Cuzick et al., J Clin Oncol 29: 4273-4278, 2011.

gemein, dass sie generell vor allem Tumoren vom Luminal A Subtyp, also ER-positiven Mammakarzinomen mit niedriger Proliferation, eine gute Prognose zuweisen. Auf der anderen Seite werden ER-negative Karzinome und HER2-positiv sowie solche vom Luminal-B Subtyp, also ER-positiv Tumore mit hoher Proliferation, von praktisch allen Gensignaturen als "high-risk" eingeordnet [3]. Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass auch innerhalb dieser Gruppen wie z.B. tripel-negativen Karzinome (TNBC) Subgruppen mit sehr deutlichen Unterschieden in ihrer Prognose zu differenzieren sind [22]. Diese Ergebnisse wurden nur möglich durch Subtyp-spezifische Analysen, bei denen die molekularen Subtypen getrennt untersucht wurden [3,84]. So erlauben Gensignaturen, die die Infiltration der Tumorgewebe durch verschiedene Arten von Immunzellen bestimmen, innerhalb der ER-negativen Karzinome prognostische Unterschiede zu differenzieren und auch das Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie vorherzusagen [94-96]. Solche Signaturen, die nur unter Verwendung eines speziellen Subtypen entwickelt werden, um den Einfluss der Subtypen selbst auf Prognose und Prädiktion zu umgehen, werden als Signaturen der "zweiten Generation" bezeichnet.

Ein anderes Beispiel für mögliche zukünftige Entwicklungen liefert das Projekt "RecurrenceOnline". Die Strategie dieses nicht-kommerziellen Ansatzes

ist es, an Stelle von individuellen Assays eine verbreitete Microarray-Plattform (Affymetrix) zu verwenden, um ein globales Genexpressionsprofil einer Tumorprobe zu erstellen, das anschließend die Auswertung entsprechend eines Test-Algorithmus erlaubt und auch auf zukünftige Auswertungsmöglichkeiten flexibel reagieren kann [97]. Ähnliche Überlegungen existieren zur Whole Genome Sequenzierung von Tumoren. Die explosive Entwicklung in den Jahren 2011-2013 mit der Publikation von über 1.000 Genomsequenzen von Mammakarzinomen hat gezeigt, dass sich zwar auch auf genomischer Ebene Unterschiede zwischen den molekularen Subtypen finden, jedoch nur eine äußerst geringe Zahl von Mutationen redundant auftritt [98-101]. Nur für drei Gene wurden bei mindestens 10 % aller Patientinnen Mutationen gefunden (TP53, PIK3CA und GATA3), nur sechs Gene fanden sich bei mindestens 5 % der Patientinnen verändert. Die Mehrheit der etwa 20.000 identifizierten somatischen Mutationen bei 500 Patientinnen traten dagegen nur sporadisch auf [101]. Erst eine weitere massive Zunahme der Fallzahlen der Tumorgenom-Sequenzierung kann hier eine Korrelation dieser seltenen Ereignisse mit der Krankheitsentwicklung ermöglichen. Trotzdem ist zu erwarten, dass durch das rapide Vorschreiten der Methodik der personalisierten Tumorsequenzierung auch genetische Korrelate und mögliche Ursachen für die durch Genexpression-

stest identifizierten, klinisch relevanten Subgruppen des Mammakarzinoms identifiziert werden können.

3.6. Literatur

1. Weigelt B, Reis-Filho JS. Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 718–30
2. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–52
3. Kaufmann M, Pusztai L. Use of standard markers and incorporation of molecular markers into breast cancer therapy: Consensus recommendations from an International Expert Panel. *Cancer* 2011; 117: 1575–82
4. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001; 98: 10869–74
5. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 5678–85
6. Rody A, Karn T, Solbach C, et al. The *erbb2+* cluster of the intrinsic gene set predicts tumor response of breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy with docetaxel, doxorubicin and cyclophosphamide within the GEPARTRIO trial. *Breast* 2007; 16: 235–40
7. Minckwitz G von, Untch M, Blohmer J, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 1796–804
8. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 1160–7
9. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 5222–32
10. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 5367–74
11. Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 1368–76
12. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, et al. *Ki67* index, *HER2* status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009; 101: 736–50
13. Hugh J, Hanson J, Cheang MCU, et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 1168–76
14. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H. Strategies for subtypes - dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann. Oncol.* 2011; 22: 1736–47
15. Prat A, Cheang MCU, Martín M, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal a breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 203–9
16. Reis-Filho JS, Pusztai L. Gene expression profiling in breast cancer: classification, prognostication, and prediction. *Lancet* 2011; 378: 1812–23
17. Weigelt B, Mackay A, A'Hern R, et al. Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 339–49
18. Mackay A, Weigelt B, Grigoriadis A, et al. Microarray-Based Class Discovery for Molecular Classification of Breast Cancer: Analysis of Interobserver Agreement. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 2011; 103: 662–73
19. Weigelt B, Pusztai L, Ashworth A, Reis-Filho JS. Challenges translating breast cancer gene signatures into the clinic. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9: 58–64
20. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene* 2005; 24: 4660–71
21. Prat A, Parker JS, Karginova O, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010; 12: R68
22. Rody A, Karn T, Liedtke C, et al. A clinically relevant gene signature in triple negative and basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011; 13: R97
23. Prat A, Perou CM. Mammary development meets cancer genomics. *Nat Med* 2009; 15: 842–4
24. Visvader JE. Cells of origin in cancer. *Nature* 2011; 469: 314–22
25. Ahr A, Holtrich U, Karn T, Kaufmann M. Gene-expression profiling and identification of patients at high risk of breast cancer. *Lancet* 2002; 360: 174
26. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 790–800
27. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530–6

28. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 1999–2009
29. Wang Y, Klijn JGM, Zhang Y, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 671–9
30. Desmedt C, Piette F, Loi S, et al. Strong time dependence of the 76-gene prognostic signature for node-negative breast cancer patients in the TRANSBIG multicenter independent validation series. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 3207–14
31. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98: 262–72
32. Simon R, Radmacher MD, Dobbin K, McShane LM. Pitfalls in the use of DNA microarray data for diagnostic and prognostic classification. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003; 95: 14–8
33. Simon R. Roadmap for developing and validating therapeutically relevant genomic classifiers. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 7332–41
34. Cronin M, Pho M, Dutta D, et al. Measurement of gene expression in archival paraffin-embedded tissues: development and performance of a 92-gene reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *Am. J. Pathol.* 2004; 164: 35–42
35. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 2817–26
36. Filipits M, Rudas M, Jakesz R, et al. A New Molecular Predictor of Distant Recurrence in ER-Positive, HER2-Negative Breast Cancer Adds Independent Information to Conventional Clinical Risk Factors. *Clinical Cancer Research* 2011; 17: 6012–20
37. Wirapati P, Sotiriou C, Kunkel S, et al. Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures. *Breast Cancer Res.* 2008; 10: R65
38. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3726–34
39. Gianni L, Zambetti M, Clark K, et al. Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 7265–77
40. Straver ME, Glas AM, Hannemann J, et al. The 70-gene signature as a response predictor for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2010; 119: 551–8
41. Yang M, Rajan S, Issa AM. Cost effectiveness of gene expression profiling for early stage breast cancer: a decision-analytic model. *Cancer* 2012; 118: 5163–70
42. Wittner BS, Sgroi DC, Ryan PD, et al. Analysis of the MammaPrint breast cancer assay in a predominantly postmenopausal cohort. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2988–93
43. Mook S, Schmidt MK, Weigelt B, et al. The 70-gene prognosis signature predicts early metastasis in breast cancer patients between 55 and 70 years of age. *Ann. Oncol.* 2010; 21: 717–22
44. Rutgers E, Piccart-Gebhart MJ, Bogaerts J, et al. The EORTC 10041/BIG 03-04 MINDACT trial is feasible: results of the pilot phase. *Eur. J. Cancer* 2011; 47: 2742–9
45. Barker AD, Sigman CC, Kelloff GJ, Hylton NM, Berry DA, Esserman LJ. I-SPY 2: an adaptive breast cancer trial design in the setting of neoadjuvant chemotherapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2009; 86: 97–100
46. Esserman LJ, Berry DA, DeMichele A, et al. Pathologic complete response predicts recurrence-free survival more effectively by cancer subset: results from the I-SPY 1 TRIAL - CALGB 150007/150012, ACRIN 6657. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 3242–9
47. Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 55–65
48. Gonzalez-Angulo AM, Barlow WE, Gralow JR, et al. A Randomized Phase III Clinical Trial of Standard Adjuvant Endocrine Therapy +/- Chemotherapy in Patients (pts) with 1-3 Positive Nodes, Hormone Receptor (HR)-Positive and HER2-Negative Breast Cancer with Recurrence Score (RS) of 25 or Less: SWOG S1007. *Cancer Research* 2011: Abstract OT1-03-01
49. Habel LA, Shak S, Jacobs MK, et al. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. *Breast Cancer Res.* 2006; 8: R25
50. Eiermann W, Rezai M, Kümmel S, Kühn T, Warm M, Friedrichs K, Schneeweiss A, Markmann S, Eggemann H, Hilfrich J, Jackisch C, Witzel I, Eidtmann H, Bachinger A, Hell S, Blohmer J. The 21-gene recurrence score assay impacts adjuvant therapy recommendations for ER-positive, node-negative and node-positive early breast cancer resulting in a risk-adapted change in chemotherapy use. *Ann. Oncol.* 2013; 24: 618-24
51. de Boer RH, Baker C, Speakman D, Chao CY, Yoshizawa C, Mann GB. The impact of a genomic assay (Oncotype DX) on adjuvant treatment recommendations in early breast cancer. *Med. J. Aust.* 2013; 199: 205-8

52. Gluz O et al. S4-3: Prospective Comparison of Risk Assessment Tools in Early Breast Cancer (Recurrence Score, uPA/PAI-1, Central Grade, and Luminal Subtypes): Final Correlation Analysis from the Phase III WSG-Plan B Trial. *Cancer Research* 2012: Abstract S4-3
53. Kelly CM, Bernard PS, Krishnamurthy S, et al. Agreement in risk prediction between the 21-gene recurrence score assay (Oncotype DX®) and the PAM50 breast cancer intrinsic Classifier™ in early-stage estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncologist* 2012; 17: 492–8
54. Badve SS, Baehner FL, Gray RP, et al. Estrogen- and progesterone-receptor status in ECOG 2197: comparison of immunohistochemistry by local and central laboratories and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction by central laboratory. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 2473–81
55. Gluz O et al. Prospective comparison of recurrence score and independent central pathology assessment of prognostic tools in early breast cancer (BC): Focus on HER2, ER, PR, Ki-67 results from the phase III WSG-Plan B trial. *ASCO Meeting Abstracts* 552 2012: 552
56. Christgen M, Harbeck N, Gluz O, Nitz U, Kreipe HH. Recognition and handling of discordant negative human epidermal growth factor receptor 2 classification by Oncotype DX in patients with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 3313-4; author reply 3314-5
57. Dabbs DJ, Klein ME, Mohsin SK, Tubbs RR, Shuai Y, Bhargava R. High false-negative rate of HER2 quantitative reverse transcription polymerase chain reaction of the Oncotype DX test: an independent quality assurance study. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 4279–85
58. Czuzick J, Dowsett M, Pineda S, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 4273–8
59. Geiss GK, Bumgarner RE, Birditt B, et al. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs. *Nat. Biotechnol.* 2008; 26: 317–25
60. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, Sidhu K, Dunbier AK, Cowens JW, Ferree S, Storhoff J, Schaper C, Czuzick J. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 2783-90
61. Prat A, Cheang MC, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, Tyldesley S, Gelmon K, Bernard PS, Nielsen TO, Perou CM. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 203-9
62. Krijgsman O, Roepman P, Zwart W, et al. A diagnostic gene profile for molecular subtyping of breast cancer associated with treatment response. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012; 133: 37–47
63. Cristofanilli M, Turk M, Kaul K, et al. Molecular Subtyping Improves Stratification of Patients into Diagnostically More Meaningful Risk Groups. *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2012: P3-05-01
64. Viale G, Slaets L, Bogaerts J, Rutgers E, van't Veer L, Piccart-Gebhart MJ, de Snoo FA, Stork-Sloots L, Russo L, Dell'Orto P, van den Akker J, Glas A, Cardoso F; TRANSBIG Consortium & the MINDACT Investigators. High concordance of protein (by IHC), gene (by FISH; HER2 only), and microarray readout (by Target-Print) of ER, PgR, and HER2: results from the EORTC 10041/BIG 03-04 MINDACT trial. *Ann. Oncol.* 2014; 25: 816-23
65. Glück S, de Snoo F, Peeters J, Stork-Sloots L, Somlo G. Molecular subtyping of early-stage breast cancer identifies a group of patients who do not benefit from neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res. Treat.* 2013; 139: 759-67
66. Liedtke C, Hatzis C, Symmans WF, et al. Genomic grade index is associated with response to chemotherapy in patients with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 3185–91
67. Toussaint J, Sieuwerts AM, Haibe-Kains B, et al. Improvement of the clinical applicability of the Genomic Grade Index through a qRT-PCR test performed on frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BMC Genomics* 2009; 10: 424
68. Ma X, Salunga R, Dahiya S, et al. A five-gene molecular grade index and HOXB13:IL17BR are complementary prognostic factors in early stage breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2601–8
69. Ma X, Hilsenbeck SG, Wang W, et al. The HOXB13:IL17BR expression index is a prognostic factor in early-stage breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 4611–9
70. Goetz MP, Suman VJ, Ingle JN, et al. A two-gene expression ratio of homeobox 13 and interleukin-17B receptor for prediction of recurrence and survival in women receiving adjuvant tamoxifen. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 2080–7
71. Jansen MPH, Sieuwerts AM, Look MP, et al. HOXB13-to-IL17BR expression ratio is related with tumor aggressiveness and response to tamoxifen of recurrent breast cancer: a retrospective study. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 662–8
72. Sgroi DC, Sestak I, Czuzick J, Zhang Y, Schnabel CA, Schroeder B, Erlander MG, Dunbier A, Sidhu K, Lopez-Knowles E, Goss PE, Dowsett M. Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-

- positive breast cancer: a prospective comparison of the breast-cancer index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population. *Lancet Oncol.* 2013; 14: 1067-76
73. Dubsy P, Filipits M, Jakesz R, et al. EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer. *Ann. Oncol.* 2013; 24: 640-7
74. Kronenwett R, Bohmann K, Prinzler J, et al. Decentral gene expression analysis: analytical validation of the Endopredict genomic multianalyte breast cancer prognosis test. *BMC Cancer* 2012; 12: 456
75. Ring BZ, Seitz RS, Beck R, et al. Novel prognostic immunohistochemical biomarker panel for estrogen receptor-positive breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3039-47
76. Ross DT, Kim C, Tang G, et al. Chemosensitivity and stratification by a five monoclonal antibody immunohistochemistry test in the NSABP B14 and B20 trials. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 6602-9
77. Acs G, Kiluk J, Loftus L, Laronga C. Comparison of Oncotype DX and Mammostrat risk estimations and correlations with histologic tumor features in low-grade, estrogen receptor-positive invasive breast carcinomas. *Mod. Pathol.* 2013; 26: 1451-60
78. Ayers M, Symmans WF, Stec J, et al. Gene expression profiles predict complete pathologic response to neoadjuvant paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 2284-93
79. Hess KR, Anderson K, Symmans WF, et al. Pharmacogenomic predictor of sensitivity to preoperative chemotherapy with paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 4236-44
80. Thuerigen O, Schneeweiss A, Toedt G, et al. Gene expression signature predicting pathologic complete response with gemcitabine, epirubicin, and docetaxel in primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 1839-45
81. Juul N, Szallasi Z, Eklund AC, et al. Assessment of an RNA interference screen-derived mitotic and ceramide pathway metagene as a predictor of response to neoadjuvant paclitaxel for primary triple-negative breast cancer: a retrospective analysis of five clinical trials. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 358-65
82. Tabchy A, Valero V, Vidaurre T, et al. Evaluation of a 30-gene paclitaxel, fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide chemotherapy response predictor in a multicenter randomized trial in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 5351-61
83. Popovici V, Chen W, Gallas BG, et al. Effect of training-sample size and classification difficulty on the accuracy of genomic predictors. *Breast Cancer Res.* 2010; 12: R5
84. Karn T, Pusztai L, Holtrich U, et al. Homogeneous datasets of triple negative breast cancers enable the identification of novel prognostic and predictive signatures. *PLoS ONE* 2011; 6: e28403
85. Cheang MCU, Voduc KD, Tu D, et al. Responsiveness of intrinsic subtypes to adjuvant anthracycline substitution in the NCIC.CTG MA.5 randomized trial. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18: 2402-12
86. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, et al. Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype - ACOSOG Z1031. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 2342-9
87. Symmans WF, Hatzis C, Sotiriou C, et al. Genomic index of sensitivity to endocrine therapy for breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 4111-9
88. Karn T, Hatzis C, Symmans F, et al. 12O_PR: SET Index Predicts Response to Endocrine Therapy Rather Than Prognosis Independently of Other Genomic Signatures in a Blinded Validation Study. *Cancer Research* 2012: Abstract P2-10-17
89. Hatzis C, Pusztai L, Valero V, et al. A genomic predictor of response and survival following taxane-anthracycline chemotherapy for invasive breast cancer. *JAMA* 2011; 305: 1873-81
90. Azim HA, Michiels S, Zagouri F, et al. Utility of prognostic genomic tests in breast cancer practice: The IMPAKT 2012 Working Group Consensus Statement. *Ann. Oncol.* 2013; 24: 647-54
91. Tang G, Cuzick J, Costantino JP, et al. Risk of recurrence and chemotherapy benefit for patients with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: recurrence score alone and integrated with pathologic and clinical factors. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 4365-72
92. Dubsy P, Brase JC, Jakesz R, Rudas M, Singer CF, Greil R, Dietze O, Luisser I, Klug E, Sedivy R, Bachner M, Mayr D, Schmidt M, Gehrman MC, Petry C, Weber KE, Fisch K, Kronenwett R, Gnant M, Filipits M; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (ABCSSG). The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2- breast cancer patients. *Br. J. Cancer.* 2013; 109: 2959-64
93. Prat A, Parker JS, Fan C, et al. Concordance among gene expression-based predictors for ER-positive breast cancer treated with adjuvant tamoxifen. *Ann. Oncol.* 2012; 23: 2866-73
94. Rody A, Holtrich U, Pusztai L, et al. T-cell metagene predicts a favorable prognosis in estrogen receptor-

negative and HER2-positive breast cancers. *Breast Cancer Res.* 2009; 11: R15

95. Bianchini G, Qi Y, Alvarez RH, et al. Molecular anatomy of breast cancer stroma and its prognostic value in estrogen receptor-positive and -negative cancers. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 4316–23

96. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 105–13

97. Györfy B, Benke Z, Lánckzy A, et al. RecurrenceOnline: an online analysis tool to determine breast cancer recurrence and hormone receptor status using microarray data. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012; 132: 1025–34

98. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science* 2013; 339: 1546–58

99. Garraway LA, Lander ES. Lessons from the cancer genome. *Cell.* 2013; 153: 17-37

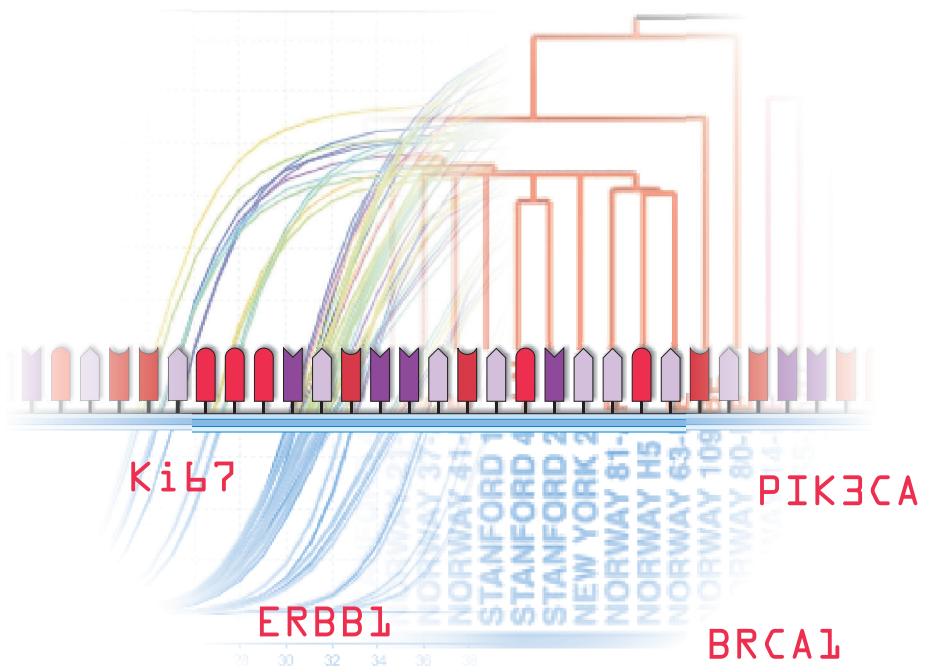
100. Karn T. High-throughput gene expression and mutation profiling: current methods and future perspectives. *Breast Care (Basel).* 2013; 8: 401-6

101. Koboldt DC, Fulton RS, McLellan MD, et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012; 490: 61–70

Tumorbiologie und Diagnostik des primären Mammakarzinoms

Dr. Martina Vetter
Dr. Eva Kantelhardt

unter Mitarbeit von
Dr. Frank Bartel, Dr. John C. Castle,
Dr. Oleg Gluz, Priv.-Doz. Dr. Thomas Karn,
Dr. Anthony Kong, Prof. Dr. Hans Kreipe,
Priv.-Doz. Dr. Cornelia Liedtke, Prof. Dr. Volkmar Müller,
Prof. Dr. Klaus Pantel, Priv.-Doz. Dr. Brigitte Rack,
Priv.-Doz. Dr. Sabine Riethdorf, Prof. Dr. Claus M. Schlotter,
Prof. Dr. Marcus Schmidt, Prof. Dr. Christoph Thomssen,
Prof. Dr. Claudia Wickenhauser, Priv.-Doz. Dr. Isabell Witzel



Tumorbiologie und Diagnostik des primären Mammakarzinoms

Der klinische Fortschritt im Bereich Diagnostik und Früherkennung des Mammakarzinoms ist heute mit dem Anspruch der Patientinnen auf eine personalisierte Medizin eng verbunden. Auch eine verbesserte Prognose der Erkrankung durch eine an die Patientin und den Tumor angepasste Therapie ist zu verzeichnen. Immer mehr Patientinnen können kurativ behandelt werden. Neue vielversprechende zielgerichtete Medikamente erfordern den Nachweis von Zielstrukturen am Tumorgewebe. Für den methodisch und klinisch validierten Einsatz von Biomarkern für die Therapieentscheidung im klinischen Alltag ist die Sachkenntnis der Kliniker gefragt.

Das vorliegende Buch zur Tumorbiologie und Diagnostik des Mammakarzinoms gibt einen Überblick über diese anspruchsvolle Thematik. Erfahrene Autoren aus der Grundlagenforschung, der translationalen Forschung und der Klinik haben ihr Fachwissen klar formuliert und prägnant zusammengefasst.

Dieses Lehrbuch vermittelt die Inhalte zur Biologie, Diagnostik und Therapie des Mammakarzinoms inklusive verschiedener angewandter Techniken und klinischer Studien und stellt die komplexen Zusammenhänge anschaulich dar. Es hilft interessierten Laien, Lernenden in Studium und Ausbildung, jungen Berufsanfängern und sicher auch erfahrenen Pflegenden und Klinikern, den so wichtigen Überblick auf dem sich rasch weiter entwickelnden Gebiet der Tumorbiologie zu gewinnen und zu bewahren.

ISBN 978-3-8374-1492-9

