



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

**Für die Kommission Mamma: Prof. Dr. Volkmar Müller, Prof. Dr. Wolfgang Janni
Für die Kommission Translationale Forschung: PD Dr. Brigitte Rack, Prof. Dr. Tanja Fehm
Unter Mitarbeit von Prof. Dr. Klaus Pantel**

Hintergrund

Bei Patientinnen mit Mammakarzinom kommt es bereits früh im Krankheitsverlauf zu einer hämatogenen Streuung von Tumorzellen. Der immunzytochemische Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark ist bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom vielfach als ein unabhängiger Prognosefaktor beschrieben worden (1-3). Disseminierte Tumorzellen lassen sich auch im Blut nachweisen und werden als zirkulierende Tumorzellen (CTC) bezeichnet. Der Tumorzellnachweis im Blut ist für die Patientinnen weniger belastend und erlaubt einfach durchführbare wiederholte Bestimmungen. Eine unseres Erachtens entscheidende Anforderung an ein in der klinischen Praxis anwendbares System zum Nachweis von CTC ist die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen in einem klinischen Multicenter-Setting, das auch den Versand von Proben und die Bestimmung in mehreren Zentren beinhaltet. Ein wichtiger Fortschritt konnte mit der Entwicklung eines Systems (CellSearch™) zur standardisierten und weitgehend automatisierten Anreicherung mit immunzytochemischem Nachweis von CTC erzielt werden (4, 5). Dieses System wird derzeit in mehreren Zentren in Deutschland vor allem im Rahmen von klinischen Studien einschließlich Ringversuchen eingesetzt, deren Ergebnisse teilweise publiziert sind (6-8). CellSearch ist derzeit von der FDA als einziges Testverfahren zum Nachweis von CTC bei metastasierten Mammakarzinompatientinnen z.B. im Rahmen des Therapiemonitorings zugelassen. Im Nachfolgenden wird die Bedeutung von CTC in der klinischen Anwendung kurz zusammengefasst. Vor dem Hintergrund neuer Studienergebnisse, aber auch der teils missbräuchlichen kommerziellen Anwendung wird die Stellungnahme der AGO Kommission Mamma gemeinsam mit der AGO Kommission Translationale Forschung aktualisiert.

Bedeutung des Nachweises von CTC in der metastasierten Situation

1. CTC als prognostischer Faktor beim metastasierten Mammakarzinom

In der palliativen Therapiesituation ist die Identifikation von metastasierten Patientinnen mit ungünstiger Prognose hinsichtlich der weiteren Therapiewahl von klinischer Relevanz. Cristofanilli et al. beschrieben im Rahmen einer prospektiven Studie, dass der Nachweis von mehr als 5 Tumorzellen im



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

Blut mit einem signifikant kürzeren Überleben bei metastasierten Patientinnen assoziiert ist (4). Diese prognostische Relevanz unter Verwendung von CellSearch und des Cut-off levels von 5 CTC/7,5ml Blut konnte mittlerweile durch eine Vielzahl von Studien bestätigt werden. Andere, kommerziell erhältliche Verfahren konnten in einem direkten Vergleich in der deutschen Multicenter-Studie DETECT im Gegensatz zu CellSearch keine prognostische Wertigkeit demonstrieren (9). In einer Metaanalyse wurden die Daten von 1944 Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom unter Verwendung des CellSearch-Systems untersucht. 47% der Patientinnen wiesen bei Erstuntersuchung 5 oder mehr CTC auf. Der Nachweis von CTC war mit einem signifikant kürzeren Progressionsfreien Überleben (Hazard Ratio [HR] 1,92) und Gesamtüberleben assoziiert (HR 2,78). Darüber hinaus hatte die erneute Blutentnahme nach 3-5 Wochen eine prognostische Relevanz: Das mediane Gesamtüberleben für Patientinnen mit einer wiederholten CTC-Zahl unter 5 betrug 41,5 Monate verglichen mit 13,1 Monaten bei persistierend mehr als 5 CTC. Der Nachweis von CTC war der Bestimmung von Tumormarkern überlegen (10-12). Eine Testung auf CTC mit dem CellSearch System wird gegenwärtig von den Empfehlungen der AGO Kommission Mamma als mögliche Option für die Prognoseabschätzung mit der Empfehlung „+“ bewertet, beispielsweise für eine Risikoabschätzung vor dem Hintergrund einer Entscheidung über die Aggressivität einer Therapie in der metastasierten Situation.

2. CTC im Rahmen des Therapiemonitorings

Das frühe Erkennen einer Progression unter Therapie ist eine weitere relevante Fragestellung. Hier konnten ebenfalls Christofanilli und Mitarbeiter zeigen, dass die Tumorzellpersistenz unter laufender first-line Therapie mit einer besonders schlechten Prognose assoziiert ist (4, 13). In der amerikanischen Studie SWOG (Southwest Oncology Group) S0500 wurde überprüft, ob ein frühzeitiger Therapiewechsel bei Tumorzellpersistenz (≥ 5 Tumorzellen) im Vergleich zum Therapiewechsel erst bei bildgebend sichtbarem Progress mit einem Überlebensvorteil assoziiert ist.. Der prognostische Wert des Nachweises von CTC und auch der Persistenz von CTC konnte bestätigt werden. Allerdings zeigte sich im Gesamtüberleben der beiden Behandlungsarme kein Unterschied, der frühe Wechsel einer Therapie brachte keinen Vorteil für die Patientinnen. Dies wird als Hinweis darauf gedeutet, dass bei den Patientinnen mit Persistenz von CTC eine generelle Therapieresistenz vorliegt, die auch durch alleinige Änderung der Chemotherapie nicht zu überkommen ist (14). Aufgrund dieser Studienergebnisse rät die



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

AGO Kommission Mamma von einer Therapieentscheidung basierend allein auf der Dynamik von CTC ab, da die therapeutischen Konsequenzen und Alternativen derzeit erst in klinischen Studien überprüft werden. In begründeten Einzelfällen (z. B. Unverträglichkeit der Therapie) können jedoch CTC Messungen dazu dienen, schon frühzeitig unwirksame Therapien zu beenden bei CTC-Persistenz, um Alternativkonzepte anzubieten.

3. CTC zur Optimierung der Therapie durch Identifikation von „Targets“ für therapeutische Ansätze

Falls eine Metastasierung auftritt, wird - auch von der AGO Mamma - die Re-Evaluierung therapierelevanter Marker empfohlen z.B. HER2, ER, und PR. Da die zirkulierenden Tumorzellen den Phänotyp der Zellen mit dem Potential der hämatogenen Disseminierung widerspiegeln, kann möglicherweise durch die Charakterisierung von CTC eine Therapieoptimierung erfolgen (15). Meng et al. konnten bei metastasierten Patientinnen mit HER2-negativem Primärtumor HER2-positive CTC nachweisen. Diese Patientinnen wurden mit Trastuzumab (Herceptin™) behandelt und zeigten hierauf eine Tumorremission (16). Die Datenlage für die prognostische und prädiktive Relevanz des Nachweises von HER2 auf CTC wird insgesamt allerdings als noch nicht als gesichert bewertet (17). Hierfür sind weitere Studien notwendig. Eine methodische Studie der DETECT-Studiengruppe der AG Tumorzelldissemination der Deutschen Gesellschaft für Senologie zur Expression von HER2 auf CTC ist abgeschlossen (7), eine klinische Studie zum Einsatz einer Therapie mit Lapatinib bei Patientinnen mit HER2-negativem Primärtumor und HER2-positiven CTC läuft gegenwärtig (DETECT III). Somit ist die Indikationsstellung für den Einsatz einer zielgerichteten Therapie gegen HER2 auf Basis des HER2-Status zirkulierender Tumorzellen noch nicht als klinischer Standard anzusehen.

Ein anderer, in einer Reihe von Forschungsprojekten gut untersuchter Ansatz ist der AdnaTest Breast. Das Verfahren arbeitet mit einem RNA-basierten Test. Ein Vorteil dieses Systems ist die Möglichkeit, verschiedene Marker wie Steroidrezeptoren und HER2 sowie Stammzellmarker simultan zu untersuchen (18, 19). In einer Studie konnte eine Konkordanz bei der Detektion mit dem CellSearch System gezeigt werden (20). Größere prospektive Studien zur prädiktiven und prognostischen Relevanz stehen aber noch aus.



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

Adjuvante Therapie

Prognosefaktoren im Stadium der nicht metastasierten Primärerkrankung sollen beispielsweise Patientinnen identifizieren, die von einer Chemotherapie profitieren. Einzelne Studien, wie auch eine Metaanalyse konnten eine prognostische Relevanz des Nachweises von CTC bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom zeigen (21-25). Allerdings gibt es keine Bestätigung, dass aus diesen vorläufigen Ergebnissen therapeutische Konsequenzen zum Vorteil für die Patientinnen gezogen werden können. Diese Fragestellung wird unter anderem gegenwärtig in der SUCCESS-C Studie und in der 2014 gestarteten Studie „TREAT CTC“ untersucht (26). Derzeit sollte folglich die Detektion von CTC beim primären Mammakarzinom außerhalb von Studien aufgrund der noch jungen Datenlage und der fraglichen klinischen Konsequenz nur in begründeten Einzelfällen, wie dem Mangel anderer konklusiver Therapieentscheidungsgrundlagen eingesetzt werden.

Schlussfolgerung

Die aktuell vorgestellten Studien sprechen für eine klinische Relevanz des Nachweises von CTC im Blut – vor allem in der metastasierten Situation. Metaanalysen unterstreichen die prognostische Relevanz in der adjuvanten und metastasierten Situation (10, 21). Aufgrund der sich verfestigenden Daten halten wir den Einsatz des FDA-zertifizierten CellSearch Systems zur Unterstützung der klinischen Entscheidungsfindung in bestimmten Einzelfällen für sinnvoll. Einen kommerziellen Einsatz anderer propagierter Nachweisverfahren halten wir vor dem Hintergrund der vorliegenden Daten derzeit für nicht gerechtfertigt.



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

Literatur

1. Diel IJ, Kaufmann M, Costa SD, Holle R, von Minckwitz G, Solomayer EF, Kaul S, Bastert G. Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: prognostic value in comparison with nodal status. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1652-8.
2. Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne M, Coombes RC, Schlimok G, Diel I, Gerber B, Gebauer G, Pierga JY, Marth C, Oruzio D, Wiedswang G, Solomayer E, Kundt G, Strobl B, Fehm T, Wong GY, Bliss J, Vincent-Salomon A, Pantel K. International Pooled Analysis of Prognostic Significance of Bone Marrow Micrometastasis in Patients with Stage I, II, or III Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:793-802.
3. Fehm T, Braun S, Müller V, Janni W, Marth C, Pantel K, Schindlbeck C, Solomayer E. A concept for the standardized detection of disseminated tumor cells in bone marrow of patients with primary breast cancer and its clinical implementation. *Cancer.* 2006;107:885-92.
4. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, Reuben JM, Doyle GV, Allard WJ, Terstappen LW, Hayes DF. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2004;351:781-91.
5. Riethdorf S, Fritsche H, Müller V, Rau T, Schindlbeck C, Rack B, Janni W, Coith C, Beck K, Janicke F, Jackson S, Gornet T, Cristofanilli M, Pantel K. Detection of Circulating Tumor Cells in Peripheral Blood of Patients with Metastatic Breast Cancer: A Validation Study of the CellSearch System. *Clin Cancer Res.* 2007;13:920-8.
6. Riethdorf S, Müller V, Zhang L, Rau T, Loibl S, Komor M, Roller M, Huober J, Fehm T, Schrader I, Hilfrich J, Holms F, Tesch H, Eidtmann H, Untch M, von Minckwitz G, Pantel K. Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvant GeparQuattro trial. *Clin Cancer Res.* 2010;16:2634-45.
7. Fehm T, Müller V, Aktas B, Janni W, Schneeweiss A, Stickeler E, Lattrich K, Löhberg C, Solomayer E, Rack B, Riethdorf S, Klein C, Schindlbeck C, Brocker K, Kasimir-Bauer S, Wallwiener D, Pantel K. HER2 status of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: a prospective, multicenter trial. *Breast Can Res Treat.* 2010;124:403-12.
8. Ignatiadis M, Riethdorf S, Bidard FC, Vaucher I, Khazour M, Rothe F, Metallo J, Rouas G, Payne RE, Coombes RC, Teufel I, Andergassen U, Apostolaki S, Politaki E, Mavroudis D, Bessi S, Pestrin M, Di Leo A, Campion M, Reinholz M, Perez E, Piccart M, Borgen E, Naume B, Jimenez J, Aura CM, Zorzino L, Cassatella MC, Sandri MT, Mostert B, Sleijfer S, Kraan J, Janni W, Fehm T, Rack B, Terstappen L, Repollet M, Pierga JY, Miller C, Sotiriou C, Michiels S, Pantel K. International study on inter-reader variability for circulating tumor cells in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2014;16:R43.
9. Müller V, Riethdorf S, Rack B, Janni W, Fasching P, Solomayer E, Aktas B, Kasimir-Bauer S, Pantel K, Fehm T. Prognostic impact of circulating tumor cells assessed with the CellSearch Assay™ and AdnaTest Breast™ in metastatic breast cancer patients: the DETECT study. *Breast Cancer Res.* 2012;14:R118.
10. Bidard F-C, Peeters DJ, Fehm T, Nolé F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, Grisanti S, Generali D, Garcia-Saenz JA, Stebbing J, Caldas C, Gazzaniga P, Manso L, Zamarchi R, de Lascoiti AF, De Mattos-Arruda L, Ignatiadis M, Lebofsky R, van Laere SJ, Meier-Stiegen F, Sandri M-T, Vidal-Martinez J, Politaki E, Consoli F, Bottini A, Diaz-Rubio E, Krell J, Dawson S-J, Raimondi C, Rutten A, Janni W, Munzone E, Carañana V, Agelaki S, Almici C, Dirix L, Solomayer E-F, Zorzino L, Johannes H, Reis-Filho JS, Pantel K, Pierga J-Y, Michiels S. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *The Lancet Oncology.* 2014; Published Online March 11.
11. Cristofanilli M. Circulating tumour cells: telling the truth about metastasis. *The Lancet Oncology.* 2014;15:365-6.
12. Pierga JY, Hajage D, Bachelot T, Delaloge S, Brain E, Campone M, Dieras V, Rolland E, Mignot L, Mathiot C, Bidard FC. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial



**Nachweis zirkulierender Tumorzellen im Blut bei Patientinnen mit Mammakarzinom.
Stellungnahme der Kommissionen Mamma und Translationale Forschung der Arbeitsgemeinschaft
Gynäkologische Onkologie (AGO)
Stand August 2014**

- in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol.* 2012;23:618-24.
13. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, Doyle GV, Matera J, Allard WJ, Miller MC, Fritsche HA, Hortobagyi GN, Terstappen LW. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:1420-30.
 14. Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN, Winer EP, Leyland-Jones B, Srkalovic G, Tejwani S, Schott AF, O'Rourke MA, Lew DL, Doyle GV, Gralow JR, Livingston RB, Hayes DF. Circulating Tumor Cells and Response to Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: SWOG S0500. *J Clin Oncol.* 2014;Published Ahead of Print on June 2.
 15. Aktas B, Muller V, Tewes M, Zeitz J, Kasimir-Bauer S, Loehberg CR, Rack B, Schneeweiss A, Fehm T. Comparison of estrogen and progesterone receptor status of circulating tumor cells and the primary tumor in metastatic breast cancer patients. *Gynecol Oncol.* 2011;122:356-60.
 16. Meng S, Tripathy D, Shete S, Ashfaq R, Haley B, Perkins S, Beitsch P, Khan A, Euhus D, Osborne C, Frenkel E, Hoover S, Leitch M, Clifford E, Vitetta E, Morrison L, Herlyn D, Terstappen LW, Fleming T, Fehm T, Tucker T, Lane N, Wang J, Uhr J. HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:9393-8.
 17. Müller V, Alix-Panabieres C, Pantel K. Insights into minimal residual disease in cancer patients: implications for anti-cancer therapies. *Eur J Cancer.* 2010;46:1189-97.
 18. Fehm T, Hoffmann O, Aktas B, Becker S, Solomayer EF, Wallwiener D, Kimmig R, Kasimir-Bauer S. Detection and characterization of circulating tumor cells in blood of primary breast cancer patients by RT-PCR and comparison to status of bone marrow disseminated cells. *Breast Cancer Res.* 2009;11:R59.
 19. Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, Kimmig R, Fehm T. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res.* 2012;14:R15.
 20. Andreopoulou E, Yang LY, Rangel KM, Reuben JM, Hsu L, Krishnamurthy S, Valero V, Fritsche HA, Cristofanilli M. Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells (CTCs) in metastatic breast cancer (MBC): AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect versus Veridex CellSearch system. *Int J Cancer.* 2012;130:1590-7.
 21. Janni W, Rack B, Terstappen L, Pierga JY, Fehm T, Hall C, Groot M, Bidard FC, Meier-Stiegen F, Friedl TWP, Fasching PA, Lucci A. A Pooled Analysis of the Prognostic Relevance of Circulating Tumor Cells in Early Breast Cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium 2013.*
 22. Rack B, Schindlbeck C, Juckstock J, Andergassen U, Hepp P, Zwingers T, Friedl TW, Lorenz R, Tesch H, Fasching PA, Fehm T, Schneeweiss A, Lichtenegger W, Beckmann MW, Friese K, Pantel K, Janni W, Group SS. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106.
 23. Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, Krauspe S, Malarski N, Gajda M, Kroll T, Jorke C, Hammer U, Altendorf-Hofmann A, Rabenstein C, Pachmann U, Runnebaum I, Hoffken K. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse. *J Clin Oncol.* 2008;26:1208-15.
 24. Lucci A, Hall CS, Lodhi AK, Bhattacharyya A, Anderson AE, Xiao L, Bedrosian I, Kuerer HM, Krishnamurthy S. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. *Lancet Oncol.* 2012;13:688-95.
 25. Pierga JY, Bidard FC, Mathiot C, Brain E, Delaloge S, Giachetti S, de Cremoux P, Salmon R, Vincent-Salomon A, Marty M. Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. *Clin Cancer Res.* 2008;14:7004-10.
 26. Georgoulas V, Bozionelou V, Agelaki S, Perraki M, Apostolaki S, Kallergi G, Kalbakis K, Xyrafas A, Mavroudis D. Trastuzumab decreases the incidence of clinical relapses in patients with early breast cancer presenting chemotherapy-resistant CK-19mRNA-positive circulating tumor cells: results of a randomized phase II study. *Ann Oncol.* 2012;23:1744-50.