



„Liquid biopsy“ in der gastrointestinalen Onkologie: Hype oder bald Realität?

Einleitung

Gastrointestinale Onkologie

Das Spektrum der gastrointestinalen Onkologie umfasst Tumoren des Pankreas, Kolons, Rektums, Magens, der Speiseröhre, der Leber und der Gallenwege/Gallenblase. Sie gehören zu den häufigsten Tumorarten und weltweit zu den häufigsten krebserkrankten Todesursachen [1]. Gastrointestinale Tumoren insgesamt tragen weltweit signifikant zur Gesamtzahl der neu diagnostizierten Krebserkrankungen bei [2]. In Deutschland allein erkranken jedes Jahr ca. 500.000 Männer und Frauen an einer Krebserkrankung. Das kolorektale Karzinom (KRK) stellt im Bereich der gastrointestinalen Onkologie die dritthäufigste Krebstodesursache in Deutschland dar, trotz sinkender Inzidenz [3]. Im Gegensatz dazu zeigt das Pankreaskarzinom („pancreatic ductal adenocarcinoma“, PDAC) eine steigende Inzidenz: Seit Ende der 1990er-Jahre sind die altersstandardisierten Erkrankungs- und Sterberaten angestiegen, insbesondere in den höheren Altersgruppen ab 65 Jahre. Die absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle hat für beide Geschlechter über die Jahre in Deutschland kontinuierlich zugenommen, auch aufgrund der demografischen Entwicklung [3]. Schätzungen zufolge werden in den 28 Ländern der Europäischen Union (EU) bis 2025 etwa 111.500 Menschen (55.000 Männer und 56.500 Frauen) an einem PDAC versterben. Die Zahl der registrierten Krebstodesfälle im Jahr

2010 wird um fast 50% bis zum Jahr 2025 zunehmen (45% bei Männern und 49% bei Frauen). Prognostiziert wird, dass das PDAC die dritthäufigste Krebstodesursache in der EU werden könnte, nach Lungenkarzinomen und dem KRK [4]. Ähnliche Daten existieren für die USA [5].

Allgemeines zur „liquid biopsy“: zirkulierende Tumor-DNA, zirkulierende Tumorzellen, Exosomen und miRNA

Seit jeher stellt die Untersuchung von Gewebe, gewonnen mittels Biopsie, einen Eckpfeiler in der Diagnostik und Therapie von diversen Krankheiten, nicht nur in der Onkologie, dar [6] und gilt als Goldstandard. Neben der histopathologischen Diagnosestellung ist mittels Tumorgewebeanalytik ebenso eine molekulare Charakterisierung möglich, worauf therapeutische Entscheidungen zunehmend fußen [7]. Jedoch hat diese „Spotlight-Diagnostik“ zu nur einem singulären Zeitpunkt erhebliche Limitationen („single biopsy bias“ [8]), da z. B. therapiebedingte Veränderungen in der genetischen Zusammensetzung eines Tumors nicht erfasst werden und eine sequenzielle Anpassung von Therapiestrategien nicht möglich ist, es sei denn die Biopsie wird repetitiv wiederholt, was mit Komplikationen und einer erheblichen Belastung für die Patienten einhergeht. Die moderne Präzisionsonkologie versucht, eine Vielzahl an molekularen Informationen über den jeweiligen Tumor auch in der zeitlichen Dimension zu erheben,

um letztlich ein optimales Outcome für den jeweiligen Patienten zu erreichen. Dazu sind wiederholte molekulare Analysen eines Tumors unabdingbar.

Die Aufmerksamkeit richtet sich dabei auf minimal-invasive Ansätze in Form der „liquid biopsy“. Unter einer „liquid biopsy“ versteht man dabei die Analyse von tumorabgeleiteten Nukleinsäuren aus Körperflüssigkeiten, insbesondere aus Blut. Dabei können diese zellulär gebunden sein in Form von zirkulierenden Tumorzellen („circulating tumor cells“, CTC) oder frei vorliegen in Form von zirkulierender Tumor-DNA („circulating tumor DNA“, ctDNA), nichtkodierender RNA, sog. *microRNA* (miRNA) oder in Form von Mikrovesikeln (Exosomen). **Abb. 1** gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Analyte einer blutbasierten „liquid biopsy“ und deren Ursprünge bzw. Methoden der Freisetzung.

Die ctDNA wird im Rahmen aktiver spontaner [9–11] und passiver Sekretion (Apoptose, Nekrose, insuffiziente Clearance; [12–15]) von Tumorzellen in den Blutstrom abgegeben. Es ist wissenschaftlich erwiesen, dass „liquid biopsies“ repräsentativ für das Tumorgenom sind [16] und molekulare Veränderungen von gastrointestinalen Tumoren in Körperflüssigkeiten abbilden [17]. Häufig ist ctDNA stark fragmentiert [18] mit Fragmentlängen im Mittel von 166 bp [19]. Die ctDNA ist durch das Vorhandensein von (tumorspezifischen) Mutationen definiert und kann durch einzelne Punktmutationen ebenso wie Amplifikationen, Rearrangements und Aneuploidie nachgewiesen werden [20].

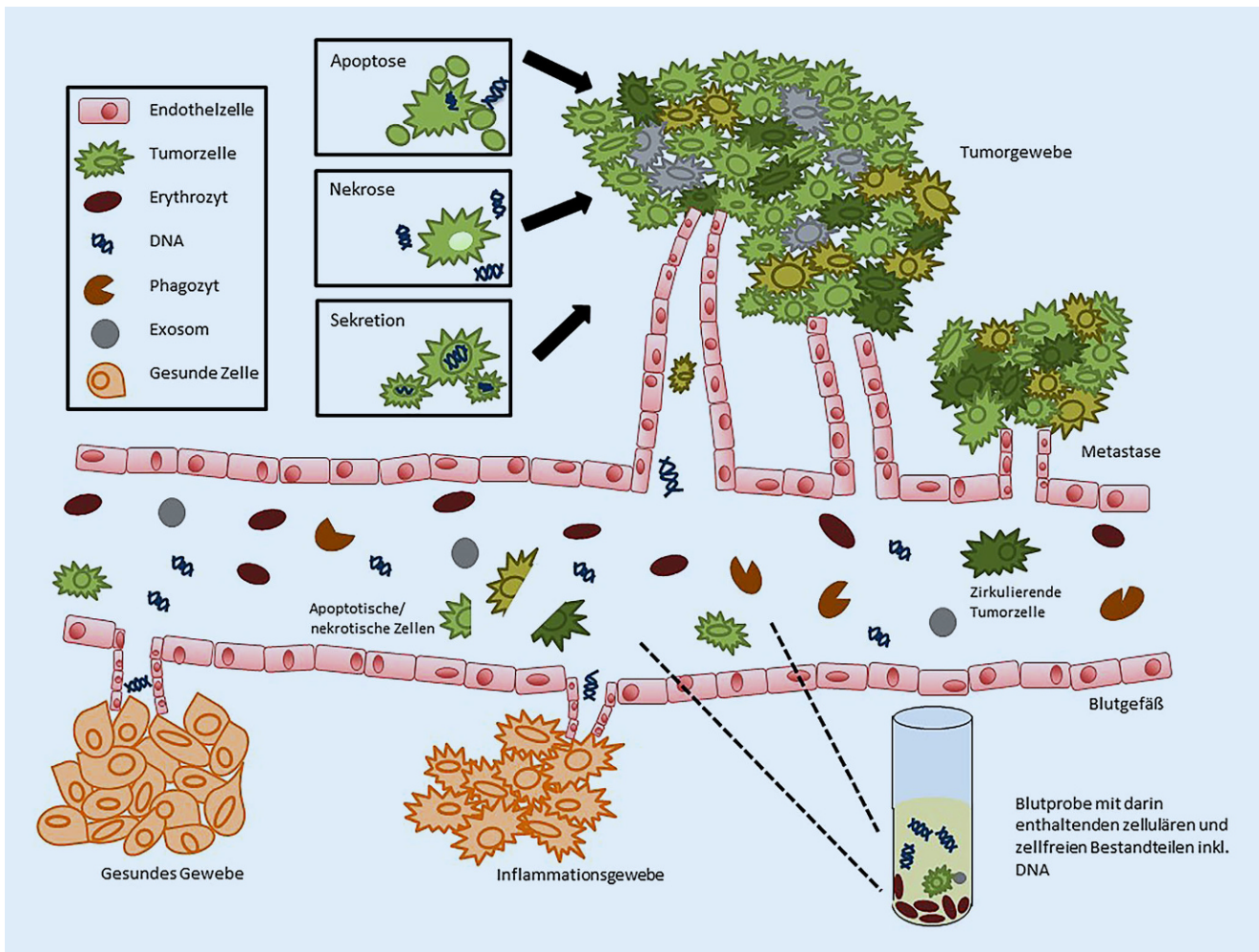


Abb. 1 ▲ Schematische Darstellung einer blutbasierten „liquid biopsy“. Dargestellt sind einerseits die einzelnen Analyte wie zirkulierende Tumor-DNA oder zirkulierende Tumorzellen. Andererseits sind die Ursprungsorte dieser Zielmoleküle und deren Freisetzung schematisch skizziert

Die individuellen ctDNA-Konzentrationen im Blut von Patienten sind krankheitsstadien- und damit tumorlastabhängig [21]. In bestimmten Situationen, wie beispielsweise nach einer kurativ intendierten Operation, sind die nachweisbaren Konzentrationen sehr gering. Der erfolgte Quantensprung bei „liquid biopsies“ ist daher nicht zuletzt technologiegetrieben. Innovative Analysemethoden, wie *Next Generation Sequencing* (NGS) oder die Entwicklung neuer digitaler Technologien der Polymerasekettenreaktion („polymerase chain reaction“, PCR) bis hin zur Einzelzellanalyse, erbrachte eine enorme Sensitivitätssteigerung in der Detektion von tumorspezifischen Varianten in „liquid biopsies“, wenn diese in sehr geringer Konzentration vorliegen [22].

In Bezug auf gastrointestinale Malignome wird über den Nachweis von ctDNA bei 73 % der KRK-Patienten, 57 % der Ösophaguskarzinompatienten und 48 % der Patienten mit PDAC berichtet, während ctDNA bei mehr als 75 % der Patienten mit fortgeschrittenem Tumorleiden nachweisbar war [21]. Einige Herausforderungen sind bei der ctDNA-Analytik allerdings zu meistern, dazu zählen:

1. die Diskriminierung von ctDNA und physiologisch im Blut vorkommender zellfreier DNA,
2. der Umgang mit teils sehr niedrigen Konzentrationen von ctDNA und
3. die genaue Quantifizierung der Anzahl von mutierten Fragmenten in einer Probe [20, 23–25].

„Liquid biopsies“ können aufgrund ihrer repetitiven Analysierbarkeit und ihrer nicht- oder wenig invasiven Verfügbarkeit die Limitationen des „single biopsy bias“ überwinden und stellen somit einen vielversprechenden Ansatz für die Diagnostik, das Therapiemonitoring, die Prognoseabschätzung und für die Adressierung prädiktiver Fragestellungen dar [26]. ■ **Tab. 1** gibt einen Überblick über die verschiedenen Anwendungsgebiete und die Vorteile einer „liquid biopsy“.

Neben ctDNA werden die Quantifizierung und molekulare Untersuchung von CTC ebenfalls der „liquid biopsy“ zugeordnet. Erstmals im späten 20. Jahrhundert entdeckt sind CTC intakte Krebszellen, die sowohl aus dem Primärtumor als auch aus Metastasen stammen können [27]. CTC kommen im Blut von Pa-

J. Gastroenterol. Hepatol. Erkr. 2022 · 20:45–54 <https://doi.org/10.1007/s41971-022-00129-w>
 © Der/die Autor(en) 2022

A. W. Berger · T. Seufferlein

„Liquid biopsy“ in der gastrointestinalen Onkologie: Hype oder bald Realität?

Zusammenfassung

In den letzten 10 Jahren sind „liquid biopsies“ bei gastrointestinalen Tumorerkrankungen deutlich in den Fokus der Wissenschaft und Forschung gerückt. Bei den neuen, blutbasierten Biomarkern, die unter dem Sammelbegriff der „liquid biopsies“ zusammengefasst werden, geht es in erster Linie um die Analyse von zirkulierender Tumor-DNA („circulating tumor DNA“, ctDNA), zirkulierenden Tumorzellen („circulating tumor cells“, CTC), zirkulierenden Mikrovesikeln (sog. Exosomen) und nichtkodierenden RNA-Molekülen (microRNA, miRNA). Für die klinische Nutzbarkeit sind besonders die einfache und flächendeckende Verfügbarkeit, aber auch zeitnahes Vorliegen von Ergebnissen wichtig,

um auf dem Boden molekularer Analytik von „liquid biopsies“ klinische Entscheidungen treffen zu können. Hierfür bieten sich sog. Targeted-sequencing-Ansätze für die Analytik an, bei denen die Sequenzierung einzelner, ausgewählter Gene im Fokus steht, u. a. durch Nutzung hochsensitiver digitale PCR-Technologien. Durch „liquid biopsies“ können eine Reihe relevanter Fragestellungen adressiert werden. Neben der nichtinvasiven Diagnostik, beispielsweise bei technisch für eine Punktion schwierig zugänglichen Tumoren, sind die Überwachung unter Therapie und das Erkennen einer minimalen Resterkrankung, beispielsweise nach kurativer Therapie eines Pankreas- oder kolorektalen

Karzinoms, mögliche Einsatzgebiete. Der aktuelle Stand der Wissenschaft zu „liquid biopsies“ im Feld der gastrointestinalen Onkologie mit besonderem Fokus auf das Pankreas- und kolorektale Karzinom wird in dieser Übersichtsarbeit adressiert. Handelt es sich bei „liquid biopsies“ um einen vorübergehenden Hype, oder könnte deren Einsatz bald klinischer Routine werden?

Schlüsselwörter

Pankreaskarzinom · Kolorektales Karzinom · Zirkulierende Tumor-DNA · Zirkulierende Tumorzellen · „Liquid biopsy“

Liquid Biopsies in Gastrointestinal Oncology: Hype or Soon to Be Reality?

Abstract

In the last 10 years, liquid biopsies in gastrointestinal cancer have received significant attention in science and research. New blood-based biomarkers, collectively known as liquid biopsies, are primarily directed at the analysis of circulating tumor DNA (ctDNA), circulating tumor cells (CTC), circulating microvesicles (exosomes), and non-coding RNA molecules (microRNA, miRNA). Important for clinical use is not only these tests be readily availability, but also that the results are provided in a timely manner so that clinical decisions can be made based on the molecular analysis of liquid

biopsies. For this purpose, so-called targeted sequencing approaches, which focus on the sequencing of selected genes, e.g., by using highly sensitive digital PCR technologies, are available. Liquid biopsies can be used to address a number of relevant questions. In addition to noninvasive diagnostics using liquid biopsies (e.g., in tumors where a biopsy is technically difficult to obtain), therapy monitoring and the detection of minimal residual disease (e.g., after curative treatment of pancreatic or colorectal cancer) are possible areas of application. In this review, the current

state of the art of liquid biopsies in the field of gastrointestinal oncology with a special focus on pancreatic and colorectal cancer is presented. Are liquid biopsies a temporary hype or could their use soon be part of clinical routine?

Keywords

Pancreatic neoplasms · Colorectal neoplasms · Circulating tumor DNA · Circulating neoplastic cells · Liquid biopsy

tienten mit verschiedenen Tumoren in unterschiedlichen Mengen vor, meist in geringer Konzentration (1–10 Zellen pro 10 ml Blut im Vergleich zu 10^7 – 10^8 Leukozyten; [28]). Beispielsweise beim KRK aller Stadien waren CTC in nur 36,2 % der Fälle nachweisbar, im Stadium IV in bis zu 60,7 % [29]. Durch Kombination unterschiedlicher technischer Isolations- und Analyseverfahren von CTC könnten die Detektionsraten gesteigert werden [30].

Ein weiterer Ansatzpunkt der „liquid biopsy“ sind microRNA, sog. miRNA. Dabei handelt es sich um kleine, nicht-kodierende RNA, die die genetische Expression posttranskriptionell regulieren und bei zahlreichen Tumorleiden fehlreguliert sind [31]. Die miRNA in Kör-

perflüssigkeiten werden als zirkulierende miRNA bezeichnet [32].

Auch die Analyse von Exosomen stellt einen vielversprechenden Ansatz der „liquid biopsy“ dar. Exosomen sind kleine extrazelluläre Vesikel, die Nukleinsäuren, Proteine und Lipide enthalten und durch Exozytose sezerniert werden [64]. Sie spielen eine wichtige Rolle bei Proliferation, Metastasierung, Immunantwort und Arzneimittelresistenz von Tumorzellen. Ihre technische Isolation und Analytik ist komplex, für die nichtinvasive Diagnostik von Tumorerkrankungen im Gastrointestinaltrakt weisen sie, nach Optimierung der technischen Abläufe und Standardisierung

der Analytik, aber ein hohes Potenzial auf.

„Liquid biopsy“ als diagnostischer, prognostischer und prädiktiver Biomarker

Pankreaskarzinom

Früherkennung

KRAS-Genmutationen treten bei mehr als 90 % der PDAC-Fälle auf und sind geeignet, um in ctDNA beim PDAC hochsensitiv nachgewiesen und quantifiziert zu werden [33]. Der limitierende Faktor gerade in frühen Stadien eines PDAC ist die geringe Menge an vorhandener ctDNA [34, 35]. Es ist jedoch davon

Tab. 1 Übersicht über verschiedene Anwendungsgebiete einer blutbasierten „liquid biopsy“ in der gastrointestinalen Onkologie

Anwendung und Vorteile
Kein „single biopsy bias“
Früherkennung von Malignomen des Gastrointestinaltrakts auf nichtinvasivem Weg
Detektion eines Frührezidivs nach kurativer Therapie, vor allem beim Pankreas- und kolorektalem Karzinom
Blutbasierte molekulare Charakterisierung, insbesondere <i>RAS</i> beim kolorektalen Karzinom
Dynamisches Therapiemonitoring, Beurteilung von Therapieansprechen bzw. -versagen
Beurteilung von Prognosekriterien wie rezidivfreiem und Gesamtüberleben
Identifizierung neuer Therapietargets durch sequenzielles molekulares Monitoring

auszugehen, dass mit zunehmender Sensitivität der ctDNA-Nachweistechniken die Rolle dieser Biomarker an Bedeutung gewinnen kann. Mittels digitaler PCR konnte gezeigt werden, dass die Gesamtmenge an ctDNA bei Patienten mit PDAC signifikant höher ist als bei Patienten mit benignen Pankreasneoplasien oder gesunden Kontrollen („healthy controls“, HC; [36]). Auch die Nutzung von NGS-basierten Genpanels für andere Mutationen, wie *SMAD4*, *CDKN2A*, *ROS1*, *BRAF* und *TP53*, könnte zu einer höheren Ausbeute in der ctDNA-Diagnostik beim frühen PDAC führen [37–39]. Die Kombination von tumorspezifischen Mutationen, wie *GNAS* und *KRAS*, können helfen, Patienten mit prämaligen intraduktalen papillären muzinösen Neoplasien (IPMN) von gutartigen Pankreastumoren zu unterscheiden [36]. Auch Kombinationen von unterschiedlichen Analyten bieten sich an, um die diagnostische Aussagekraft von „liquid biopsies“ zu verbessern. Massenspektroskopische Analysen von Proteinen früher PDAC-Stadien zeigen Thrombospondin 2 (THBS2) als möglichen Biomarker für die Frühdetektion eines PDAC [40]. Ein kombiniertes Biomarkerpanel, das die quantitative Menge an ctDNA, CA 19-9 und THBS2 umfasst, konnte die diagnostische Aussagekraft signifikant verbessern, insbesondere bei der Erkennung eines PDAC im Stadium I und der Unterscheidung von PDAC zu chronischer Pankreatitis (CP) und IPMN [41]. Es fehlen jedoch eindeutige Standards in der ctDNA-Analytik und es existieren unterschiedliche Cutoff-Werte für THBS2 [41, 42]. Neben der rein quantitativen Messung haben verschiedene Ansätze versucht, spezi-

fische epigenetische Veränderungen in der ctDNA als mögliches Instrument zur nichtinvasiven Diagnose von PDAC zu identifizieren. Beispielsweise wurden 5-Hydroxymethylcytosin-Signaturen oder andere Methylierungsmuster in ctDNA bei Patienten mit PDAC im Vergleich zu HC untersucht [43, 44]. Vor kurzem wurde auch die Methylierung des Promotors von *ADAMTS1*- und *BNC1*-Genen als Nachweisverfahren für ctDNA in PDAC beschrieben [45].

Auch blutbasierte miRNA-Panels können, im Gegensatz zu CA 19-9 allein, helfen, Patienten mit PDAC von HC zu unterscheiden [46]. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass miRNA als Biomarker für Vorläuferläsionen von PDAC verwendet werden kann [47], was sie als potenzielles Screening Tool in der asymptomatischen Population interessant macht. Insbesondere miRNA-642b, miRNA-885-5p und miRNA-22 zeigten eine hohe Sensitivität (91 %) und Spezifität (91 %) zur blutbasierten Detektion von frühen Stadien des PDAC [34].

Exosomenanalysen zeigen vielversprechende Ergebnisse in der Früherkennung eines PDAC. Glypican-1-positive (GPC+) zirkulierende Exosomen sind bei Patienten mit PDAC im Vergleich zu HC nachweisbar [48]. Bei Patienten mit PDAC gelang der Nachweis von *KRAS*-Mutationen in zirkulierender exosomaler DNA (exoDNA) im Frühstadium [49]. Auch verschiedene Formen exosomaler RNA (*CCDC88A*, *ARF6*, *Vav3* und *WASF2*) im Blut können zur Früherkennung eines PDAC herangezogen werden, ebenfalls exosomale kleine nukleoläre RNA-Moleküle (sog. snoRNA: *SNORA14B*, *SNORA18*,

SNORA25, *SNORA74A* und *SNORD22*; [50]). Spezifische exosomale miRNA-Signaturen (miRNA-10b, miRNA-21, miRNA-30c, miRNA-181a und miRNA-let7a) können dabei sogar den exosomalen GPC1- oder Plasma-CA-19-9-Spiegeln bei der Diagnose eines PDAC und der Differenzierung zwischen PDAC und CP überlegen sein [51].

Überwachung nach Operation

Der Nachweis von ctDNA im Blut von Patienten nach onkologischer Resektion eines PDAC kann ein Rezidiv anzeigen und ist ein Prädiktor für ein kürzeres rezidivfreies Überleben und Gesamtüberleben [52]. Das Überleben von Patienten mit Nachweis von *KRAS*-Mutationen in ctDNA war signifikant kürzer als bei Patienten ohne Mutationen [53, 54]. Der Unterschied war besonders deutlich bei Patienten mit einer *KRAS*(G12V)-Mutation in ctDNA [55]. Rezidive können durch ctDNA-Analytik 6,5 Monate früher erkannt werden, als durch eine Computertomographie [56]. Dabei ist die Detektion von *KRAS*-Mutationen in ctDNA ein sensitiveres Tool im Vergleich zu CA 19-9 allein [57]. Bei Patienten mit positivem ctDNA-Status vor und während einer adjuvanten Systemtherapie kam es in 90 % zu einer Krankheitsprogression während der Tumornachsorge verglichen mit nur 25 % der ctDNA-negativen Patienten [58]. In einer Studie mit inoperablen PDAC-Patienten, die mit FOLFIRINOX (Folinsäure, Fluorouracil, Irinotecan und Oxaliplatin) behandelt wurden, war die fehlende ctDNA-Nachweisbarkeit während der Chemotherapie mit partieller Remission oder stabiler Erkrankung assoziiert [59].

Therapiemonitoring

Die ctDNA-Nachweisrate bei metastasiertem PDAC variiert stark zwischen 40 und 80 % [52, 60]. Auch in der palliativen Therapiesituation ist der Nachweis von ctDNA zu Beginn einer Erstlinientherapie mit einem schlechteren Überleben assoziiert [52, 58, 61–63]. Patienten mit positiver ctDNA haben eine frühere Progression nach Beginn einer Radiochemotherapie beim lokal fortgeschrittenen PDAC und ein kürzeres rezidivfreies Überleben nach sekundärer Resektion

im Vergleich zu ctDNA-negativen Patienten [64]. In einer großen Kohorte mit insgesamt 354 Patienten wurde in einer multivariaten Analyse (ctDNA und 2 methylierte Marker: *HOXD8* und *POU4F1*) ctDNA als unabhängiger prognostischer Marker für das progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben gefunden [65].

Unter verschiedenen palliativen Therapielinien beim PDAC konnte gezeigt werden, dass es sinnvoll sein kann, einen kombinierten Score aus *KRAS* und *TP53*-Mutationen in ctDNA zu generieren, um die ctDNA besser quantifizieren zu können. Die dynamischen Veränderungen eines solchen Scores unter palliativer Systemtherapie spiegeln dabei ein Therapieansprechen respektive -versagen wider [38].

Auch für die Analyse von CTC für das Therapiemonitoring beim PDAC gibt es Daten. Dabei gilt der Nachweis von CTC als unabhängiger prognostischer Parameter für ein schlechtes Gesamtüberleben [66]. Bei Patienten

mit fluorouracilbasierter Chemotherapie ging die Nachweisbarkeit von CTC nach dem ersten Therapiezyklus deutlich zurück und apoptotische CTC konnten nachgewiesen werden, die als Marker für Ansprechen auf die entsprechende Therapie dienen können [67, 68]. CTC, die bestimmte Markerprofile von tumorinitiierenden Zellen, wie CD133 und CD44, exprimierten, waren signifikant mit einem schlechteren Überleben assoziiert [69].

Zusammengefasst bieten Liquid-biopsy-Analysen vielversprechende Werkzeuge zur Früherkennung, Prognoseabschätzung und Überwachung des Therapieansprechens beim PDAC. Die besten Daten existieren hier für die ctDNA-Analytik, insbesondere nach onkologischer Resektion, zur Früherkennung eines Rezidivs. Es bleiben jedoch noch viele Fragen offen und die „liquid biopsy“ beim PDAC erfordert noch weitere Studienanstrengungen, um eine optimale klinische Anwendbarkeit zu erreichen.

Kolorektales Karzinom

Früherkennung und Screening auf „minimal residual disease“

Patienten mit einem KRK weisen höhere Mengen an im Blut frei zirkulierender Gesamt-DNA auf als Gesunde [70]. Bei ca. der Hälfte (46%) der Patienten mit Kolonkarzinom im Stadium I ist ctDNA nachweisbar [71], beim lokal fortgeschrittenen Rektumkarzinom bei über 70% [21]. Das unterstreicht das Potenzial, ctDNA in das KRK-Screening zu integrieren.

Ist ctDNA im Blut bei Patienten mit resektablem KRK präoperativ und unmittelbar postoperativ nachweisbar, ist dies mit einem kürzeren rezidivfreien Überleben assoziiert [72]. Es gilt wissenschaftlich als erwiesen, dass das Vorhandensein von ctDNA eine minimale Resterkrankung („minimal residual disease“, MRD) beim KRK anzeigen kann, die definiert ist als das okkulte, in der Bildgebung nicht sichtbare Vorhandensein von Tumorzellen

Hier steht eine Anzeige.

nach einer kurativen Therapie. Patienten mit resektablem KRK im Stadium II haben bei positivem ctDNA-Nachweis postoperativ ein deutlich kürzeres rezidivfreies Überleben im Vergleich zu Patienten mit negativem ctDNA-Status [73–75]. Diese multivariaten Analysen zeigten, dass ctDNA ein unabhängiger Biomarker für ein Rezidiv nach kurativer Therapie eines KRK war. Mehrere klinische Studien, wie z. B. DYNAMIC II (ACTRN12615000381583), COBRA (NCT0406810), CIRCULATE (NCT04120701) und C-TRAK TN (NCT03145961), laufen derzeit, um die Frage zu klären, ob ctDNA als Surrogatbiomarker für MRD in größeren Patientenkohorten gesehen werden kann oder ob der Nachweis von ctDNA nach einer (eigentlich) kurativen operativen Therapie eine zusätzliche (adjuvante) Therapie im Stadium II nach sich ziehen sollte.

Bezogen auf miRNA als „liquid biopsy“ konnte eine kürzlich publizierte Arbeit zeigte, dass zirkulierende miRNA möglicherweise zur Krebsfrüherkennung eines KRK genutzt werden könnten. Die miRNA-21 konnte hier als ein interessanter Biomarker für die nichtinvasive KRK-Diagnose identifiziert werden und miRNA-200a, miRNA-200b, miRNA-200c und miRNA-141 waren mit der KRK-Prognose assoziiert [76]. Patienten mit metastasierter Erkrankung im Vergleich zu Patienten ohne Metastasen zeigen außerdem einen signifikanten Anstieg von miRNA-141, miRNA-200a, miRNA-200b, miRNA-203a und miRNA-122 im Blut und eine erhöhte miRNA-122 war mit einer schlechteren Prognose assoziiert [77]. Auch miRNA-31-, miRNA-141- und miRNA-16-Spiegel sind potenzielle Biomarker für die Früherkennung eines Krankheitsrezidivs in der Tumornachsorge eines KRK [78].

Therapiemonitoring und Monitoring der Tumorevolution

Beim mKRK korreliert die Detektion von ctDNA stark mit dem Krankheitsverlauf. Bei initialer Diagnose im Stadium IV ist ctDNA bei 80–90 % der Patienten nachweisbar [79, 80] und die ctDNA-Level sind mit der Tumormasse assoziiert [81]. Ebenfalls korreliert die initiale ctDNA-Konzentration mit Lebermetastasierung

[82], progressionsfreiem Überleben [83] und Gesamtüberleben [80, 84]. Änderungen des ctDNA-Profiles unter Systemtherapie können einen Hinweis auf eine Krankheitsprogression geben [80, 85] und klonale Resistenz anzeigen [86–88]. Um den Zusammenhang zwischen molekularen Veränderungen der ctDNA und dem Ansprechen auf die Erstlinientherapie beim mKRK zu untersuchen, wird häufig auch die molekulare Mutationslast („molecular mutational burden“, MMB) zu Studienbeginn berechnet und als Surrogatparameter benutzt. Patienten mit niedriger MMB zeigen dabei ein längeres Gesamtüberleben als solche mit hoher MMB. Korrespondierend dazu war die errechnete MMB (aus 6 Genen: *TRIM24*, *SPEN*, *RNF43*, *PRKARIA*, *KRAS* und *KDM5C*) im Vergleich zum Therapiestart bei Patienten mit partieller Remission oder stabiler Erkrankung signifikant niedriger als bei Patienten mit progredienter Erkrankung [89].

Ein vielversprechender Einsatz der „liquid biopsy“ ist die Detektion erworbener Resistenzen unter EGFR-Blockade [90]. Mittels ctDNA-Analytik kann die Dynamik der klonalen Evolution mit größerer Präzision im Vergleich zu Tumorebiopsien erfasst werden [91, 92]. Insbesondere das Auftreten von initial niederfrequenten molekularen Veränderungen (vor allem in *RAS*) unter dem selektiven Druck einer Anti-EGFR-Therapie in initial „Ras-Wildtyp“-Tumoren kann mit der Expansion bereits bestehender resistenter Tumorsubklone zusammenhängen und zu einer Progredienz der Erkrankung durch erworbene Resistenz führen. Ein Abfall dieser Veränderungen in „liquid biopsies“ in anti-EGFR-freier Therapiezeit hingegen kann unter Umständen eine Situation anzeigen, die eine Anti-EGFR-Reexposition ermöglicht [93, 94]. Um den Nutzen dieser ctDNA-basierten Reexpositionstrategie zu untersuchen, wurden in der Drittlinien-Phase-II-CRICKET-Studie ctDNA-Analysen bei Patienten durchgeführt, die eine Resistenz gegen die Erstlinientherapie mit Cetuximab und Irinotecan erworben hatten [95]. In dieser Studie wurden bei keinem der Patienten, die auf eine erneute Anti-EGFR-Therapie ansprachen, *RAS*-Mutationen in ctDNA

gefunden, was zu einem längeren progressionsfreien Überleben bei diesen Patienten im Vergleich zu denen mit *RAS*-mutierter ctDNA-Baseline führt. Dies untersuchte auch die CHRONOS-Studie (NCT03227926). Geeignete Patienten mussten ein objektives Ansprechen und dann eine Progression in einer beliebigen Behandlungslinie mit einem Anti-EGFR-Antikörper gezeigt haben. Darüber hinaus wurde vor Start der Anti-EGFR-Reexposition ein *RAS*-, *BRAF*- und *EGFR*-Ektodomänen-Wildtyp-Status in ctDNA dokumentiert. Eine Gesamtansprechrate von 30% führte zum Erreichen des primären Endpunkts und liegt deutlich über vergleichbaren Daten in fortgeschrittenen Therapielinien. Diese Phase-II-Studie war die erster ihrer Art, die „liquid biopsies“ interventionell als Einschlusskriterium integrierte und eindrucksvoll das prädiktive Potenzial der ctDNA-Charakterisierung zeigte. Parallel ließen sich in den sequenziellen ctDNA-Analysen neue interessante Alterationen, wie beispielsweise *MET*-Amplifikationen, zeigen, die unter Umständen auch therapeutischen Nutzen haben könnten [88].

Auch bei Patienten mit *BRAF* (V600E)-mutiertem mKRK könnte ctDNA ein relevanter Biomarker sein, um Ansprechen einer Therapie mit dem *BRAF*-Inhibitor Encorafenib vorherzusagen. Die ctDNA-Analysen zeigten, dass die Mehrheit der Patienten mit fortgeschrittenem mKRK in der BEACON-Studie (NCT02928224) bei Therapiestart eine im Blut nachweisbare *BRAF*(V600E)-Mutation aufwies. Erhöhte Ansprechraten wurden bei mit Triplett- (Encorafenib plus Binimetinib plus Cetuximab) oder Dublett-Therapie (Encorafenib plus Cetuximab) behandelten Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet, unabhängig von der detektierten Allelfrequenz. Patienten mit einer höheren Allelfrequenz für *BRAF* (V600E) zeigten allerdings eine schlechtere Prognose [96].

Eine Vielzahl an Daten existiert zum prognostischen Stellenwert von miRNA beim mKRK. Neben der bereits beschriebenen miRNA-200-Familie ist miRNA-141 am häufigsten mit der KRK-Prognose verbunden [76], aber auch miRNA-Pa-

nels (miRNA-96, miRNA-203, miRNA-141 und miRNA-200b) werden als Kandidaten mit potenziellem Wert für die KRK-Prognose diskutiert [97]. Auch ein Zusammenhang zwischen niedrigeren Plasmaspiegeln von miRNA-96 und miRNA-200b und einem besseren Gesamtüberleben beim mKRK ist beschrieben [97]. Unter Hinzunahme des KRK-Tumormarkers CEA konnte die diagnostische Genauigkeit von KRK im Stadium IV im Vergleich zu beiden letztgenannten Markern allein verbessert werden [98]. Herauszuheben ist noch miRNA-200c, dessen Plasmaspiegel positiv mit Lymphknotenmetastasierung, Fernmetastasierung und Prognose korreliert und einen unabhängiger Prädiktor für Lymphknotenmetastasierung und Tumorrezidiv darstellt [99].

Fazit

In vielerlei Punkten adressieren „liquid biopsies“ klinisch relevante Fragestellungen in der gastrointestinalen Onkologie. Die ctDNA gilt für die „liquid biopsy“ als der am intensivsten beforschte Ansatzpunkt und hat aufgrund der relativen Einfachheit der ctDNA-Isolation aus einer einfachen Blutentnahme eine vielversprechende Zukunft. Es ist wissenschaftlich erwiesen, dass ctDNA repräsentativ für das Tumorgenom ist.

Zur nichtinvasiven Diagnostik gastrointestinaler Tumorerkrankungen gibt es spannende und vielversprechende Daten zum PDAC. Hier wissen wir inzwischen, über die eigentliche Diagnostik hinaus, dass der anhaltende Nachweis von ctDNA nach „kurativer“ Resektion mit einem schlechten progressionsfreien und Gesamtüberleben vergesellschaftet ist [52, 58, 61–65]. Auch beim KRK im Stadium II gibt es gute Daten dafür, dass ein positiver ctDNA-Status postoperativ ein Warnsignal ist und als Argument für eine adjuvante Weiterbehandlung nach kurativer onkologischer Resektion gelten kann. Internationale Studien dazu laufen. Hier könnte aus dem Hype bald Realität werden.

Vor Start einer Erstlinienchemotherapie beim mKRK soll u. a. der RAS-Status bestimmt werden. Hier empfiehlt die deutsche S3-Leitlinie „Kolorektales Kar-

zinom“ bereits dessen Durchführbarkeit anhand von ctDNA als „Kann“-Empfehlung, falls die Bestimmung des Mutationsstatus aus dem Gewebe nicht möglich sein sollte. Hier ist „liquid biopsy“ bereits Realität!

Unter Therapie können „liquid biopsies“ ein nichtinvasives Werkzeug zur Therapieüberwachung sein, beispielsweise beim KRK, wo das Auftreten RAS-mutierter Klone im Blut mit einer erworbenen Resistenz gegenüber Anti-EGFR-Therapiestrategien verbunden zu sein scheint [90–94]. Das Verschwinden dieser Klone in „liquid biopsies“ kann einen Wildtypzustand anzeigen und eine Reexposition von Anti-EGFR-Strategien ermöglichen [90].

Auch unter Therapie in ctDNA neu auftretende Alterationen, wie *MET*-Amplifikationen, zeigen eine Tumorevolution unter dem Selektionsdruck der Therapie an und könnten durch „liquid biopsy“ neu entdeckte und therapeutisch nutzbare Zielstrukturen entschlüsseln [88].

Ein großes Hindernis ist nach wie vor die international nicht standardisierte Technik der „liquid biopsy“, einerseits zur Isolation, andererseits zur Quantifizierung und molekularen Charakterisierung der unterschiedlichen Liquid-biopsy-Analyte. Einige internationale Initiativen, wie CANCER-ID [100], BloodPAC [101] und SPIDIA4P [102], arbeiten an der Standardisierung von Liquid-biopsy-Verfahren, um sie einfacher und schneller in klinischen Labors durchführbar zu machen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Thomas Seufferlein
Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum Ulm, Department für Innere Medizin
Albert-Einstein-Allee 23, 89081 Ulm, Deutschland
thomas.seufferlein@uniklinik-ulm.de

Funding. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A.W. Berger und T. Seufferlein geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2020) CA Cancer J Clin 70:7
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F (2021) CA A Cancer J Clin 71:209
3. Erdmann F, Spix C, Katalinic A, Christ M, Folkerts J, Hansmann J, Kranzhöfer K, Kunz B, Manegold K, Penzkofer A, Tremel K, Vollmer G, Weg-Remers S, Barnes B, Buttman-Schweiger N, Dahm S, Fiebig J, Franke M, Gurung-Schönfeld I, Haberland J, Imhoff M, Kraywinkel K, Starker A, von Berenberg-Gossler P, Wienecke A (2021) Krebs in Deutschland für 2017/2018
4. Ferlay J, Partensky C, Bray F (2016) Acta Oncol 55:1158
5. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A (2021) CA A Cancer J Clin 71:7
6. Diamantis A, Magiorkinis E, Koutseli H (2009) Folia Histochem Cytobiol 47:191
7. Heitzer E, Haque IS, Roberts CES, Speicher MR (2019) Nat Rev Genet 20:71
8. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A, Tarpey P, Varela I, Phillimore B, Begum S, McDonald NQ, Butler A, Jones D, Raine K, Latimer C, Santos CR, Nohadani M, Eklund AC, Spencer-Dene B, Clark G, Pickering L, Stamp G, Gore M, Szallasi Z, Downward J, Futreal PA, Swanton C (2012) N Engl J Med 366:883
9. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A (2002) Trends Immunol 23:549
10. Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K (2011) Nat Rev Cancer 11:426
11. Viorritto ICB, Nikolov NP, Siegel RM (2007) Clin Immunol 122:125
12. Anker P, Stroun M, Maurice PA (1975) Cancer Res 35:2375
13. Rogers JC, Boldt D, Kornfeld S, Skinner A, Valeri CR (1972) Proc Natl Acad Sci U S A 69:1685
14. Stroun M, Anker P (1972) Biochem J 128:100P–101P

15. Bi F, Wang Q, Dong Q, Wang Y, Zhang L, Zhang J (2020) *Am J Transl Res* 12:1044
16. Murtaza M, Dawson S-J, Tsui DWY, Gale D, Forshew T, Piskorz AM, Parkinson C, Chin S-F, Kingsbury Z, Wong ASC, Marass F, Humphray S, Hadfield J, Bentley D, Chin TM, Brenton JD, Caldas C, Rosenfeld N (2013) *Nature* 497:108
17. Saini A, Pershad Y, Albadawi H, Kuo M, Alzubaidi S, Naidu S, Knuttinen M-G, Oklu R (2018) *Diagnostics* 8:75
18. Moulriere F, Robert B, Arnau Peyrotte E, Del Rio M, Ychou M, Molina F, Gongora C, Thierry AR (2011) *Plos One* 6:e23418
19. Moulriere F, Rosenfeld N (2015) *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:3178
20. Diaz LA, Bardelli A (2014) *J Clin Oncol* 32:579
21. C. Bettgeowda, M. Sausen, R.J. Leary, I. Kinde, Y. Wang, N. Agrawal, B.R. Bartlett, H. Wang, B. Lubber, R.M. Alani, E.S. Antonarakis, N.S. Azad, A. Bardelli, H. Brem, J.L. Cameron, C.C. Lee, L.A. Fecher, G.L. Gallia, P. Gibbs, D. Le, R.L. Giuntoli, M. Goggins, M.D. Hogarty, M. Holdhoff, S.-M. Hong, Y. Jiao, H.H. Juhl, J.J. Kim, G. Siravegna, D.A. Laheru, C. Lauricella, M. Lim, E.J. Lipson, S.K.N. Marie, G.J. Netto, K.S. Oliner, A. Olivi, L. Olsson, G.J. Riggins, A. Sartore-Bianchi, K. Schmidt, -M. Shih, S.M. Oba-Shinjo, S. Siena, D. Theodorescu, J. Tie, T.T. Harkins, S. Veronese, T.-L. Wang, J.D. Weingart, C.L. Wolfgang, L.D. Wood, D. Xing, R.H. Hruban, J. Wu, P.J. Allen, C.M. Schmidt, M.A. Choti, V.E. Velculescu, K.W. Kinzler, B. Vogelstein, N. Papadopoulos, L.A. Diaz, *Science translational medicine* 6, 224ra24 (2014)
22. Dahl E, Klotten V (2015) *Pathologie* 36:572
23. Diehl F, Li M, Dressman D, He Y, Shen D, Szabo S, Diaz LA, Goodman SN, David KA, Juhl H, Kinzler KW, Vogelstein B (2005) *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:16368
24. Diehl F, Schmidt K, Choti MA, Romans K, Goodman S, Li M, Thornton K, Agrawal N, Sokoll L, Szabo SA, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA (2008) *Nat Med* 14:985
25. Holdhoff M, Schmidt K, Donehower R, Diaz LA (2009) *J Natl Cancer Inst* 101:1284
26. Croitoru VM, Cazacu IM, Popescu I, Paul D, Dima SO, Croitoru AE, Tanase AD (2021) *Front Med* 8:721666
27. Ashworth TR (1869) A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Australas Med J* 14:146–147
28. Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connolly MC, Rao C, Tibbe AGJ, Uhr JW, Terstappen LWMM (2004) *Clin Cancer Res* 10:6897
29. Sastre J, Maestro ML, Puente J, Veganzones S, Alfonso R, Rafael S, Garcia-Saenz JA, Vidaurreta M, Martín M, Arroyo M, Sanz-Casla MT, Díaz-Rubio E (2008) *Ann Oncol* 19:935
30. Gorges TM, Stein A, Quidde J, Hauch S, Röck K, Riethdorf S, Joosse SA, Pantel K (2016) *PLoS ONE* 11:e155126
31. Iorio MV, Croce CM (2012) *EMBO Mol Med* 4:143
32. Yamada NO, Senda T (2021) *Med Mol Morphol* 54:193
33. Bailey P, Chang DK, Nones K, Johns AL, Patch A-M, Gingras M-C, Miller DK, Christ AN, Bruxner TJC, Quinn MC, Nourse C, Murtaugh LC, Harliwong I, Idrisoglu S, Manning S, Nourbakhsh E, Wani S, Fink L, Holmes O, Chin V, Anderson MJ, Kazakoff S, Leonard C, Newell F, Waddell N, Wood S, Xu Q, Wilson PJ, Cloonan N, Kassahn KS, Taylor D, Quek K, Robertson A, Pantano L, Mincarelli L, Sanchez LN, Evers L, Wu J, Pinese M, Cowley MJ, Jones MD, Colvin EK, Nagrial AM, Humphrey ES, Chantrell LA, Mawson A, Humphris J, Chou A, Pajic M, Scarlett CJ, Pinho AV, Giry-Laterriere M, Rooman I, Samra JS, Kench JG, Lovell JA, Merrett ND, Toon CW, Epari K, Nguyen NQ, Barbour A, Zeps N, Moran-Jones K, Jamieson NB, Graham JS, Duthie F, Oien K, Hair J, Grützmann R, Maitra A, Iacobuzio-Donahue CA, Wolfgang CL, Morgan RA, Lawlor RT, Corbo V, Bassi C, Rusev B, Capelli P, Salvia R, Tortora G, Mukhopadhyay D, Petersen GM, Munzy DM, Fisher WE, Karim SA, Eshleman JR, Hruban RH, Pilarsky C, Morton JP, Sansom OJ, Scarpa A, Musgrove EA, Bailey U-MH, Hofmann O, Sutherland RL, Wheeler DA, Gill AJ, Gibbs RA, Pearson JV, Waddell N, Biankin AV, Grimmond SM (2016) *Nature* 531:47
34. Takai E, Yachida S (2016) *World J Gastroenterol* 22:8480
35. Riva F, Dronov OI, Khomenko DI, Huguet F, Louvet C, Mariani P, Stern M-H, Lantz O, Proudhon C, Pierga J-Y, Bidard F-C (2016) *Mol Oncol* 10:481
36. Berger AW, Schwerdel D, Costa IG, Hackert T, Strobel O, Lam S, Barth TF, Schröppel B, Meining A, Büchler MW, Zenke M, Herrmann PC, Seufferlein T, Kleger A (2016) *Gastroenterology* 151:267
37. Adamo P, Cowley CM, Neal CP, Mistry V, Page K, Dennison AR, Isherwood J, Hastings R, Luo J, Moore DA, Howard PJ, Miguel ML, Pritchard C, Manson M, Shaw JA (2017) *Oncotarget* 8:87221
38. Berger AW, Schwerdel D, Ettrich TJ, Hann A, Schmidt SA, Kleger A, Marienfeld R, Seufferlein T (2018) *Oncotarget* 9:2076
39. Park G, Park JK, Son D-S, Shin S-H, Kim YJ, Jeon H-J, Lee J, Park W-Y, Lee KH, Park D (2018) *Sci Rep* 8:11631
40. Kim J, Hoffman JP, Alpaugh RK, Rhim AD, Rhim AD, Reichert M, Stanger BZ, Furth EE, Sepulveda AR, Yuan C-X, Won K-J, Donahue G, Sands J, Gumbs AA, Zaret KS (2013) *Cell Rep* 3:2088
41. Berger AW, Schwerdel D, Reinacher-Schick A, Uhl W, Algül H, Friess H, Janssen K-P, König A, Ghadimi M, Gallmeier E, Bartsch DK, Geissler M, Staib L, Tannapfel A, Kleger A, Beutel A, Schulte L-A, Kornmann M, Ettrich TJ, Seufferlein T (2019) *Theranostics* 9:1280
42. Kim J, Bamlet WR, Oberg AL, Chaffee KG, Donahue G, Cao X-J, Chari S, Garcia BA, Petersen GM, Zaret KS (2017) *Sci Transl Med* 9(398):eaah5583. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah5583>
43. Guler GD, Ning Y, Ku C-J, Phillips T, McCarthy E, Ellison CK, Bergamaschi A, Collin F, Lloyd P, Scott A, Antoine M, Wang W, Chau K, Ashworth A, Quake SR, Levy S (2020) *Nat Commun* 11:5270
44. Li S, Wang L, Zhao Q, Wang Z, Lu S, Kang Y, Jin G, Tian J (2020) *Front Genet* 11:596078
45. Eissa MAL, Lerner L, Abdelfatah E, Shankar N, Canner JK, Hasan NM, Yaghoobi V, Huang B, Kerner Z, Takaesu F, Wolfgang C, Kwak R, Ruiz M, Tam M, Pisanic TR, Iacobuzio-Donahue CA, Hruban RH, He J, Wang T-H, Wood LD, Sharma A, Ahuja N (2019) *Clin Epigenet* 11:59
46. Schultz NA, Dehlendorff C, Jensen BV, Bjerregaard JK, Nielsen KR, Bojesen SE, Calatayud D, Nielsen SE, Yilmaz M, Holländer NH, Andersen KK, Johansen JS (2014) *JAMA* 311:392
47. Xue Y, Abou Tayoun AN, Abo KM, Pipas JM, Gordon SR, Gardner TB, Barth RJ, Suriawinata AA, Tsongalis GJ (2013) *Cancer Genet* 206:217
48. Melo SA, Luecke LB, Kahler C, Fernandez AF, Gammon ST, Kaye J, LeBleu VS, Mittendorf EA, Weitz J, Rahbari N, Reissfelder C, Pilarsky C, Fraga MF, Pivnicka-Worms D, Kalluri R (2015) *Nature* 523:177
49. Allenson K, Castillo J, San Lucas FA, Scelo G, Kim DU, Bernard V, Davis G, Kumar T, Katz M, Overman MJ, Foretova L, Fabianova E, Holcatova I, Janout V, Meric-Bernstam F, Gascoyne P, Wistuba I, Varadhachary G, Brennan P, Hanash S, Li D, Maitra A, Alvarez H (2017) *Ann Oncol* 28:741
50. Kitagawa T, Taniuchi K, Tsuboi M, Sakaguchi M, Kohsaki T, Okabayashi T, Saibara T (2019) *Mol Oncol* 13:212
51. Lai X, Wang M, McElyea SD, Sherman S, House M, Korc M (2017) *Cancer Lett* 393:86
52. Pietrasz D, Pécuchet N, Garlan F, Didelot A, Dubreuil O, Doat S, Imbert-Bismut F, Karoui M, Vaillant J-C, Taly V, Laurent-Puig P, Bachet J-B (2017) *Clin Cancer Res* 23:116
53. Earl J, Garcia-Nieto S, Martinez-Avila JC, Montans J, Sanjuanbenito A, Rodriguez-Garrote M, Lisa E, Mendia E, Lobo E, Malats N, Carrato A, Guillen-Ponce C (2015) *BMC Cancer* 15:797
54. Perets R, Greenberg O, Shentzer T, Semenisty V, Epelbaum R, Bick T, Sarji S, Ben-Izhak O, Sabo E, Hershkovitz D (2018) *Oncologist* 23:566
55. Kinugasa H, Nouse K, Miyahara K, Morimoto Y, Dohi C, Tsutsumi K, Kato H, Matsubara T, Okada H, Yamamoto K (2015) *Cancer* 121:2271
56. Sausen M, Phallen J, Adliff V, Jones S, Leary RJ, Barrett MT, Anagnostou V, Parpart-Li S, Murphy D, Li QK, Hruban CA, Scharpf R, White JR, O'Dwyer PJ, Allen PJ, Eshleman JR, Thompson CB, Klimstra DS, Linehan DC, Maitra A, Hruban RH, Diaz LA, von Hoff DD, Johansen JS, Drebin JA, Velculescu VE (2015) *Nat Commun* 6:7686
57. Kruger S, Heinemann V, Ross C, Diehl F, Nagel D, Ormanns S, Liebmann S, Prinz-Bravin I, Westphalen CB, Haas M, Jung A, Kirchner T, von Bergwelt-Baildon M, Boeck S, Holdenrieder S (2018) *Ann Oncol* 29:2348
58. Tjensvoll K, Lapin M, Buhl T, Oltedal S, Steen-Ottosen KB, Gilje B, Søreide JA, Javle M, Nordgård O, Smaaland R (2016) *Mol Oncol* 10:635
59. Wei T, Zhang Q, Li X, Su W, Li G, Ma T, Gao S, Lou J, Que R, Zheng L, Bai X, Liang T (2019) *Mol Cancer Ther* 18:196
60. Kim MK, Woo SM, Park B, Yoon K-A, Kim Y-H, Joo J, Lee WJ, Han S-S, Park S-J, Kong S-Y (2018) *Clin Chem* 64:726
61. Chen H, Tu H, Meng ZQ, Chen Z, Wang P, Liu LM (2010) *Eur J Surg Oncol* 36:657
62. Chen L, Zhang Y, Cheng Y, Zhang D, Zhu S, Ma X (2018) *Gene* 679:328
63. Srijker M, Soer EC, de Pastena M, Creemers A, Balduzzi A, Beagan JJ, Busch OR, van Delden OM, Halfwerk H, van Hooft JE, van Lienden KP, Marchegiani G, Meijer SL, van Noesel CJ, Reinten RJ, Roos E, Schokker S, Verheij J, van de Vijver MJ, Waasdorp C, Wilmsink JW, Ylstra B, Besselink MG, Bijlsma MF, Dijk F, van Laarhoven HW (2020) *Int J Cancer* 146:1445
64. Caliez O, Pietrasz D, Ksontini F, Doat S, Simon J-M, Vaillant J-C, Taly V, Laurent-Puig P, Bachet J-B (2022) *Dig Liver Dis.* <https://doi.org/10.1016/j.dld.2022.01.126>
65. Pietrasz D, Wang-Renault S, Taieb J, Dahan L, Postel M, Durand-Labrunie J, Le Malicot K, Mulot C, Rinaldi Y, Phelip J-M, Doat S, Blons H, de Reynies A, Bachet J-B, Taly V, Laurent-Puig P (2022) *Br J Cancer* 126:440
66. Bidard FC, Huguet F, Louvet C, Mineur L, Bouché O, Chibaudel B, Artru P, Desseigne F, Bachet JB, Mathiot C, Pierga JY, Hammel P (2013) *Ann Oncol* 24:2057
67. Ren C, Han C, Zhang J, He P, Wang D, Wang B, Zhao P, Zhao X (2011) *Cancer Biol Ther* 12:700
68. Torphy RJ, Tignanelli CJ, Kamande JW, Moffitt RA, Herrera Loeza SG, Soper SA, Yeh JJ (2014) *Plos One* 9:e89474

69. Poruk KE, Blackford AL, Weiss MJ, Cameron JL, He J, Goggins M, Rasheed ZA, Wolfgang CL, Wood LD (2017) *Clin Cancer Res* 23:2681
70. Berger AW, Schwerdel D, Welz H, Marienfeld R, Schmidt SA, Kleger A, Ettrich TJ, Seufferlein T (2017) *PLoS ONE* 12:e174308
71. Tie J, Wang Y, Kinde I, Steel M, Elsaleh H, Singh MS, Turner NH, Tran B, Strausberg R, Diaz LA, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P (2015) *JCO Clin Cancer Inform* 33:518
72. Benhaim L, Bouché O, Normand C, Didelot A, Mulot C, Le Corre D, Garrigou S, Djadi-Prat J, Wang-Renault S-F, Perez-Toralla K, Pekin D, Poulet G, Landi B, Taieb J, Selvy M, Emile J-F, Lecomte T, Blons H, Chatellier G, Link DR, Taly V, Laurent-Puig P (2021) *Eur J Cancer* 159:24
73. Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, Silliman N, Tacey M, Wong H-L, Christie M, Kosmider S, Skinner I, Wong R, Steel M, Tran B, Desai J, Jones I, Haydon A, Hayes T, Price TJ, Strausberg RL, Diaz LA, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P (2016) *Sci Transl Med* 8:346ra92
74. Tie J, Cohen JD, Wang Y, Li L, Christie M, Simons K, Elsaleh H, Kosmider S, Wong R, Yip D, Lee M, Tran B, Rangiah D, Burge M, Goldstein D, Singh M, Skinner I, Faragher I, Croxford M, Bampton C, Haydon A, Jones IT, Karapetis CS, Price T, Schaefer MJ, Ptak J, Dobbyn L, Silliman N, Kinde I, Tomasetti C, Papadopoulos N, Kinzler K, Vogelstein B, Gibbs P (2019) *Gut* 68:663
75. Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, Sharma S, Salari R, Sethi H, Knudsen M, Nordentoft I, Wu H-T, Tin AS, Heilskov Rasmussen M, Vang S, Shchegrova S, Frydendahl Boll Johansen A, Srinivasan R, Assaf Z, Balcioglu M, Olson A, Dashner S, Hafez D, Navarro S, Goel S, Rabinowitz M, Billings P, Sigurjonsson S, Dyrskjot L, Swenerton R, Aleshin A, Laurberg S, Husted Madsen A, Kannerup A-S, Stribolt K, Palmelund Krag S, Iversen LH, Gotschalck Sunesen K, Lin C-HJ, Zimmermann BG, Lindbjerg Andersen C (2019) *JAMA Oncol* 5:1124
76. Rapado-González Ó, Álvarez-Castro A, López-López R, Iglesias-Canle J, Suárez-Cunqueiro MM, Muinelno-Romay L (2019) *Cancers*. <https://doi.org/10.3390/cancers11070898>
77. Maiertaler M, Benner A, Hoffmeister M, Surowy H, Jansen L, Knebel P, Chang-Claude J, Brenner H, Burwinkel B (2017) *Int J Cancer* 140:176
78. Yuan Z, Baker K, Redman MW, Wang L, Adams SV, Yu M, Dickinson B, Makar K, Ulrich N, Böhm J, Wurscher M, Westerhoff M, Medwell S, Moonka R, Sinanan M, Fichera A, Vickers K, Grady WM (2017) *Br J Cancer* 117:1202
79. Bidard F-C, Kiavue N, Ychou M, Cabel L, Stern M-H, Madic J, Saliou A, Rampanou A, Decraene C, Bouché O, Rivoire M, Ghiringhelli F, Francois E, Guimbaud R, Mineur L, Khemissa-Akouf F, Mazard T, Moussata D, Proudhon C, Pierga J-Y, Stanbury T, Thézenas S, Mariani P (2019) *Cells*. <https://doi.org/10.3390/cells8060516>
80. Garland F, Laurent-Puig P, Sefrioui D, Siauve N, Didelot A, Sarafan-Vasseur N, Michel P, Perkins G, Mulot C, Blons H, Taieb J, Di Fiore F, Taly V, Zaanan A (2017) *Clin Cancer Res* 23:5416
81. Symonds EL, Pedersen SK, Murray DH, Jedi M, Byrne SE, Rabbitt P, Baker RT, Bastin D, Young GP (2018) *Clin Epigenet* 10:63
82. Bachet JB, Bouché O, Taieb J, Dubreuil O, Garcia ML, Meurisse A, Normand C, Gornet JM, Artru P, Louafi S, Bonnetain F, Thiot-Bidault A, Baumgaertner I, Coriat R, Tougeron D, Lecomte T, Mary F, Aparicio T, Marthey L, Taly V, Blons H, Vernerey D, Laurent-Puig P (2018) *Ann Oncol* 29:1211
83. Taberero J, Lenz H-J, Siena S, Sobrero A, Falcone A, Ychou M, Humblet Y, Bouché O, Mineur L, Barone C, Adenis A, Yoshino T, Goldberg RM, Sargent DJ, Wagner A, Laurent D, Teufel M, Jeffers M, Grothey A, van Cutsem E (2015) *Lancet Oncol* 16:937
84. Spindler KLG, Pallisgaard N, Andersen RF, Brandslund I, Jakobsen A (2015) *PLoS ONE* 10:e108247
85. Tie J, Kinde I, Wang Y, Wong HL, Roebert J, Christie M, Tacey M, Wong R, Singh M, Karapetis CS, Desai J, Tran B, Strausberg RL, Diaz LA, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Gibbs P (2015) *Ann Oncol* 26:1715
86. Diaz LA, Williams RT, Wu J, Kinde I, Hecht JR, Berlin J, Allen B, Bozic I, Reiter JG, Nowak MA, Kinzler KW, Oliner KS, Vogelstein B (2012) *Nature* 486:537
87. Misale S, Yaeger R, Hobor S, Scala E, Janakiraman M, Liska D, Valtorta E, Schiavo R, Buscarino M, Siravegna G, Bencardino K, Cercek A, Chen C-T, Veronese S, Zanoni C, Sartore-Bianchi A, Gambacorta M, Gallicchio M, Vakiani E, Boscaro V, Medico E, Weiser M, Siena S, Di Nicolantonio F, Solit D, Bardelli A (2012) *Nature* 486:532
88. Sartore-Bianchi A, Pietrantonio F, Lonardi S, Mussolin B, Rua F, Fenocchio E, Amatu A, Corallo S, Manai C, Tosi F, Manca P, Daniel F, Torri V, Vanzulli A, Cappello G, Marchiò C, Sapino A, Marsoni S, Siena S, Bardelli A (2021) *JCO Clin Cancer Inform* 39:3506
89. Shi M, Yuan H, Ji J, Zhang S, Li Q, Chen Y, Gong X, Zhu Z, Zhang J (2022) *Ther Adv Med Oncol* 14:17588359211070643
90. Manca P, Corallo S, Busico A, Lonardi S, Corti F, Antoniotti C, Procaccio L, Clavarezza M, Smioldo V, Tomasello G, Murialdo R, Sartore-Bianchi A, Racca P, Pagani F, Randon G, Martinetti A, Sottotetti E, Palermo F, Perrone F, Tamborini E, Prisciandaro M, Raimondi A, Di Bartolomeo M, Morano F, Pietrantonio F (2021) *Clin Cancer Res* 27:2505
91. Pietrantonio F, Vernieri C, Siravegna G, Mennitto A, Berenato R, Perrone F, Ghoghini A, Tamborini E, Lonardi S, Morano F, Picciani B, Busico A, Volpi CC, Martinetti A, Battaglin F, Bossi I, Pellegrinelli A, Milione M, Cremolini C, Di Bartolomeo M, Bardelli A, de Braud F (2017) *Clin Cancer Res* 23:2414
92. A.R. Parikh, I. Leshchiner, L. Elagina, L. Goyal, C. Levovitz, G. Siravegna, D. Livitz, K. Rhrissorakrai, E.E. Martin, E.E. van Seventer, M. Hanna, K. Slowik, F. Utro, C.J. Pinto, A. Wong, B.P. Danysh, F.F. de La Cruz, I.J. Fetter, B. Nadres, H.A. Shahzade, J.N. Allen, L.S. Blaszkowsky, J.W. Clark, B. Giantonio, J.E. Murphy, R.D. Nipp, E. Roeland, D.P. Ryan, C.D. Weekes, E.L. Kwak, J.E. Faris, J.Y. Wo, F. Aguet, I. Dey-Guha, M. Hazar-Rethinam, D. Dias-Santagata, D.T. Ting, A.X. Zhu, T.S. Hong, T.R. Golub, A.J. Iafrate, V.A. Adalsteinsson, A. Bardelli, L. Parida, D. Juric, G. Getz, R.B. Corcoran, *Nature medicine* 25, 1415 (2019)
93. Cremolini C, Rossini D, Dell'Aquila E, Lonardi S, Conca E, Del Re M, Busico A, Pietrantonio F, Danesi R, Aprile G, Tamburini E, Barone C, Masi G, Pantano F, Pucci F, Corsi DC, Pella N, Bergamo F, Rofi E, Barbara C, Falcone A, Santini D (2019) *JAMA Oncol* 5:343
94. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, Ponzetti A, Cremolini C, Amatu A, Lauricella C, Lamba S, Hobor S, Avallone A, Valtorta E, Rospo G, Medico E, Motta V, Antoniotti C, Tatangelo F, Bellosillo B, Veronese S, Budillon A, Montagut C, Racca P, Marsoni S, Falcone A, Corcoran RB, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Siena S, Sartore-Bianchi A, Bardelli A (2015) *Nat Med* 21:795
95. Cremolini C, Antoniotti C, Lonardi S, Aprile G, Bergamo F, Masi G, Grande R, Tonini G, Mescoli C, Cardellino GG, Coltelli L, Salvatore L, Corsi DC, Lupi C, Gemma D, Ronzoni M, Dell'Aquila E, Marmorino F, Di Fabio F, Mancini ML, Marucci L, Fontanini G, Zagonel V, Boni L, Falcone A (2018) *JAMA Oncol* 4:529
96. Kopetz S, Murphy DA, Pu J, Yaeger R, Ciardiello F, Desai J, van Cutsem E, Wasan HS, Yoshino T, Elez E, Golden A, Zhu Z, Zhang X, Taberero J (2022) *JCO Clin Cancer Inform* 40:162
97. Sun Y, Liu Y, Cogdell D, Calin GA, Sun B, Kopetz S, Hamilton SR, Zhang W (2016) *Oncotarget* 7:11434
98. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, Harris CC, Chen K, Hamilton SR, Zhang W (2011) *Plos One* 6:e17745
99. Toiyama Y, Hur K, Tanaka K, Inoue Y, Kusunoki M, Boland CR, Goel A (2014) *Ann Surg* 259:735
100. Cancer-ID. <https://www.cancer-id.eu/>. Zugegriffen: 5. Mai 2022
101. BLOODPAC. <https://www.bloodpac.org/>. Zugegriffen: 5. Mai 2022
102. SPIDIA4P. <https://www.spidia.eu/>. Zugegriffen: 5. Mai 2022

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Hier steht eine Anzeige.

